



UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
NÚCLEO DE SUCRE  
ESCUELA DE CIENCIAS  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA

CALIDAD BACTERIOLÓGICA DEL AGUA DE LAS CUENCAS ALTA Y  
MEDIA DEL RÍO MANZANARES, ESTADO SUCRE, VENEZUELA  
(Modalidad: Investigación)

YDELYS JOSEFINA FUENTES ALVARADO

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADA EN BIOLOGÍA

CUMANÁ, 2008

CALIDAD BACTERIOLÓGICA DEL AGUA DE LAS CUENCAS ALTA Y  
MEDIA DEL RÍO MANZANARES, ESTADO SUCRE, VENEZUELA

Aprobado por:

---

Profa. María Iabichella  
Asesora

---

Jurado

---

Jurado

## INDICE GENERAL

AGRADECIMIENTO .....	i
DEDICATORIA .....	iii
LISTA DE FIGURAS .....	v
LISTA DE APENDICES .....	vii
RESUMEN.....	ix
INTRODUCCIÓN .....	1
METODOLOGÍA .....	6
Descripción del área de estudio .....	6
Diseño del muestreo.....	6
Análisis de las muestras .....	8
Colimetría.....	8
Prueba presuntiva .....	8
Prueba confirmativa .....	9
Aislamiento bacteriano.....	9
Determinación de clostridios totales .....	9
Identificación de enterobacterias.....	10
Citocromo oxidasa .....	10
Fermentación de azúcares y producción de ácido sulfídrico .....	10
Utilización de citrato .....	11
Motilidad y producción de indol y descarboxilación de la ornitina.....	11
Vía de la utilización de la glucosa.....	12
Descarboxilación de lisina .....	12
Determinación de los parámetros físico-químicos.....	13
Oxígeno disuelto .....	13
Nitritos .....	13
Nitratos.....	13

Amonio.....	14
Fosfatos .....	14
Análisis estadísticos .....	14
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	15
Coliformes totales .....	15
Coliformes fecales.....	19
Clostridios totales.....	24
Identificación bioquímica de enterobacterias.....	28
Parámetros Físico-Químicos .....	31
Temperatura .....	31
pH.....	34
Oxígeno disuelto .....	37
Amonio.....	40
Nitrito .....	43
Nitrato .....	46
Fosfato.....	48
Relación entre los recuentos bacterianos y los parámetros físicos-químicos .....	50
CONCLUSIONES .....	52
RECOMENDACIONES .....	54
BIBLIOGRAFÍA .....	55
APÉNDICES.....	65
ANEXO.....	I

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco inmensamente a la casa más alta, la Universidad de Oriente, por abrirme sus puertas y así formarme como una gran profesional.

A mi asesora Profesora María Iabichella, por brindarme sus consejos y colaborar conmigo en este mi tan anhelado sueño.

Al Instituto Oceanográfico de Venezuela y la Fundación Río Manzanares, por darme apoyo logístico y financiero en la realización de este trabajo. De igual manera a la Lic. Ivis Fermín y la TSU Sabrina Benítez por la colaboración prestada en la toma de muestras; también agradezco al TSU Deudedit Hernández por sus conocimientos brindados y ayuda en la realización de los análisis físico-químicos.

A mis grandes profesores, Prof. María Eugenia Álvarez, Norys Jordán, Julio D`Armas, Tania Ramírez, Yudi Figueroa, José Véliz, Aracelis Torres, Pedro López, en fin, a todos, por enseñarme lo maravillosa que es mi carrera.

A la Dirección de la Escuela de Ciencias, donde encontré a unas grandes amigas, Virginia Cumana y Wendy Ozolds, gracias por todo lo que me enseñaron y ayudaron en el transcurrir de mi carrera. También al Departamento de Biología donde dejo grandes amistades como lo son Sra. Gabriela Guillén, Sra. Gladys Urtiaga y el Sr. Frankis Campos, gracias por brindarme su bella amistad y estar siempre dispuestos a ayudarme.

A mi Madre, porque sin ti hoy no sería lo que soy, gracias por creer siempre en mí y sembrarme las ganas de salir adelante, por ti y para ti es este triunfo.

A la Familia Lárez López y Benítez Fariñas, por cobijarme en sus brazos y hacerme sentir como una más de su familia, muy especialmente a Carol y Roseulys mis amigas y hermanas, gracias por compartir conmigo este largo trayecto que nos tocó recorrer, no olviden nunca que <<No hay cosa imposible sino personas incapaces>> y ustedes me demostraron la capacidad que tenemos para llevar a cabo este tan anhelado sueño.

A mi compañera y amiga de tesis Yeticibell De la Rosa, por todo lo que tuvimos que pasar para llevar a cabo nuestras tesis, valió la pena amiga, gracias por todo lo que aprendimos juntas.

También a mis amigas y amigos de siempre, Tibusay, Elena, Adriana, Mariana, Norys, Carla, Eucaris, Lorelys, Hermes, Jiuver, Carlos Alberto y un montón de gente más, mil gracias por apoyarme y brindarme su amistad.

Y a todos los que dejé de nombrar por cuestión de espacio, pero que llevo en mi corazón donde el agradecimiento es infinito...**MIL GRACIAS!!**

## DEDICATORIA

Primero que nada quiero agradecer este trabajo a mi Dios, por estar allí siempre guiando e iluminando mi camino.

A mis padres Francisco y Luzmiria por traerme a este mundo, pero muy especialmente a mi madre, por apoyarme, por darme sus consejos en el momento más preciso, también por ser mi mejor ejemplo y mi mejor amiga. GRACIAS mami eres el oxígeno de mi vida, sabes que Te Amo.

A mis hermanos Luís Alfredo y Geniberth Rafael por confiar en mi y estar a mi lado siempre, son el mejor regalo que Dios y mis padres me han dado, además de ser los grandes compañeros de mi vida.

A mi adorada sobrina Ariannys Valentina, Chiqui este triunfo también es tuyo. Gracias por llegar a mi vida, eres la alegría de mi existir. Dios te bendiga siempre, cuenta conmigo, no lo olvides.

A mi esposo Isaac Rojas, por estar a mi lado, tanto en los buenos como malos momentos. Valió la pena los trasnochos mi amor, mil gracias por ser mi mejor amigo y el amor de mi vida.

A mis tíos y tías, por sus sabios consejos, pero en especial a tía Ydelicia y tía Osmelys, por brindarme su mano amiga en el transcurrir de mi vida y estar a mi lado para cuando mis padres se ausentaban, las adoro.



A mis primos y primas, que esto sea un estímulo más para lograr todas sus metas, y nunca olviden que <<El primer secreto del éxito es no tenerle miedo al fracaso>>.

A mis niños Paola Valentina, Paúl Alejandro, Luís Alexander, Luís Ángel y José Ángel, por hacerme ver la vida de otra manera, los adoro y sigan adelante hay mucho que recorrer...

También quiero dedicar este gran esfuerzo a un chiquitín que ha llegado a mi vida y quien de ahora en adelante será mis ojos y por quien viviré. Mi hijo Isaac Alejandro. Llegaste a recoger los frutos de este gran sacrificio, seré tú mejor ejemplo hijo y tu la alegría de mi vida. Dios te bendiga siempre.

## LISTA DE FIGURAS

Fig. 1. área de estudio .....	7
Fig. 2. Distribución del NMP de coliformes totales en las estaciones 1 a 15 de las cuencas alta y media del río Manzanares, estado Sucre, Venezuela, durante enero a julio de 2005.....	18
Fig. 3. Distribución del NMP de los coliformes totales en las estaciones 1 a 15 de las cuencas alta y media del río Manzanares, estado Sucre, Venezuela, durante agosto a octubre de 2005.....	19
Fig. 4. Distribución del NMP de coliformes fecales en las estaciones 1 a 15 de las cuencas alta y media del río Manzanares, estado Sucre, Venezuela, durante enero a julio de 2005.....	23
Fig. 5. Distribución del NMP de coliformes fecales en las estaciones 1 a 15 de las cuencas alta y media del río Manzanares, estado Sucre, Venezuela, durante agosto a octubre, de 2005.....	24
Fig. 6. Distribución del NMP de clostridios totales en las estaciones 1 a 15 de las cuencas alta y media del río Manzanares, estado Sucre, Venezuela, durante enero a julio de 2005.....	27
Fig. 7. Distribución del NMP de clostridios totales en las estaciones 1 a 15 de las cuencas alta y media del río Manzanares, estado Sucre, Venezuela, durante agosto a octubre, de 2005.....	28
Figura 8. Variación de la temperatura (°C) del agua del río Manzanares en las estaciones 1 a 15 durante enero a julio de 2005.....	33
Figura 9. Variación de la temperatura (°C) del agua del río Manzanares en las estaciones 1 a 15 durante agosto a octubre de 2005.....	34
Figura 10. Variación del pH del agua del río Manzanares en las estaciones 1 a 15 durante enero a julio de 2005,.....	36

Figura 11. Variación del pH del agua del río Manzanares en las estaciones 1 a 15 durante agosto a octubre de 2005.....	37
Figura 12. Variación de la concentración de oxígeno disuelto ( $\text{mg l}^{-1}$ ) del agua del río Manzanares en las estaciones 1 a 15 durante enero a julio de 2005. ....	38
Figura 13. Variación de la concentración de oxígeno disuelto ( $\text{mg l}^{-1}$ ) del agua del río Manzanares en las estaciones 1 a 15 durante agosto a octubre de 2005. ....	39
Figura 14. Variación de la concentración de amonio ( $\mu\text{mol l}^{-1}$ ) del agua del río Manzanares en las estaciones 1 a 15 durante enero a julio de 2005. ....	42
Figura 15. Variación de la concentración de amonio ( $\mu\text{mol l}^{-1}$ ) del agua del río Manzanares en las estaciones 1 a 15 durante agosto a octubre de 2005. ....	43
Figura 16. Variación de la concentración de nitrito ( $\mu\text{mol l}^{-1}$ ) del agua del río Manzanares en las estaciones 1 a 15 durante enero a julio de 2005. ....	45
Figura 17. Variación de la concentración de nitrito ( $\mu\text{mol l}^{-1}$ ) del agua del río Manzanares en las estaciones 1 a 15 durante agosto a octubre de 2005. ....	46
Figura 18. Variación de la concentración de nitrato ( $\mu\text{mol l}^{-1}$ ) del agua del río Manzanares en las estaciones 1 a 15 durante enero a julio de 2005. ....	47
Figura 19. Variación de la concentración de nitrato ( $\mu\text{mol l}^{-1}$ ) del agua del río Manzanares en las estaciones 1 a 15 durante agosto a octubre de 2005. ....	48
Figura 20. Variación de la concentración de fosfato ( $\mu\text{mol l}^{-1}$ ) del agua del río Manzanares en las estaciones 1 a 15 durante enero a julio de 2005. ....	49
Figura 21. Variación de la concentración de fosfato ( $\mu\text{mol l}^{-1}$ ) del agua del río Manzanares en las estaciones 1 a 15 durante agosto a octubre de 2005. ....	50

## LISTA DE APENDICES

Apéndice 1. Estaciones establecidas en las cuencas alta y media del río Manzanares. .....	65
Apéndice 2. Resumen del análisis de varianza para las densidades de coliformes totales, coliformes fecales y clostridios totales (NMP/100 ml) según las estaciones y los meses. ....	65
Apéndice 3. Análisis <i>a posteriori</i> de Duncan aplicado al NMP/100ml de coliformes totales entre estaciones. ....	66
Apéndice 4. Análisis <i>a posteriori</i> de Duncan aplicado al NMP/100ml de coliformes totales entre meses. ....	66
Apéndice 5. Análisis <i>a posteriori</i> de Duncan aplicado al NMP/100ml de coliformes fecales entre estaciones. ....	67
Apéndice 6. Análisis <i>a posteriori</i> de Duncan aplicado al NMP/100ml de coliformes fecales entre meses. ....	67
Apéndice 7. Análisis <i>a posteriori</i> de Duncan aplicado al NMP/100ml de clostridios totales entre meses. ....	68
Apéndice 8. Especies identificadas pertenecientes al grupo de enterobacterias en las 15 estaciones muestreadas. ....	68
Apéndice 9. Resumen de la relación entre el NMP de coliformes totales/100 ml y los parámetros físico-químicos estudiados durante enero a octubre de 2005. ....	69
Apéndice. 10. Resumen de la relación entre el NMP de coliformes fecales/100 ml y los parámetros físico-químicos estudiados durante enero a octubre de 2005. ....	69
Apéndice 11. Resumen de la relación entre el NMP de clostridios totales/100 ml y los parámetros físico-químicos estudiados durante enero a octubre de 2005. ....	70

Anexo 1. Variación promedio mensual de la pluviosidad en el área de estudio, según la Estación Meteorológica La Granja, de Cumanacoa, durante el período enero a octubre de 2005 (MPPAMB, 2005). .....I

## RESUMEN

El río Manzanares constituye un cuerpo de agua de vital importancia en la región Nor-Oriental de Venezuela; sin embargo, no está exento del deterioro causado por las descargas residuales que en ellas son vertidas. Esta situación condujo a realizar estudios de la calidad del agua en sus cuencas alta y media, a fin de conocer la condición sanitaria del mismo. Para esto se establecieron 15 estaciones en donde se realizaron muestreos mensuales para la determinación de coliformes totales (CT), coliformes fecales (CF) y clostridios totales, mediante la técnica de fermentación de tubos múltiples. Los microorganismos presentes en las muestras de agua se identificaron mediante pruebas bioquímicas. Adicionalmente, se midieron los parámetros físico-químicos: temperatura, pH, oxígeno disuelto, amonio, nitrito, nitrato y fosfato. En las estaciones analizadas los CT estuvieron comprendidos en un rango de  $9,3 \times 10^2$  a  $2,4 \times 10^6/100$  ml de muestra, los CF variaron entre  $7,5 \times 10^2$  y  $2,4 \times 10^6/100$  ml; estas densidades sobrepasaron a las permitidas por la Ley Orgánica del Ambiente para aguas subtipo 4A, destinadas al contacto humano total ( $<1000$  CT/100 ml y  $<200$  CF/100 ml), lo que está directamente relacionado con el aporte antrópico que se da continuamente en este cuerpo de agua. El número más probable de clostridios totales osciló entre  $4,6 \times 10^3$  y  $2,4 \times 10^4/100$  ml, valores que excedieron al límite recomendado por la Organización Mundial de la Salud para aguas tropicales (51 clostridios/100 ml). Los CT y CF presentaron diferencias estadísticamente significativas entre estaciones y entre meses, las mayores densidades se registraron en el mes de julio en la estación 2 (quebrada la Sequía), posiblemente, debido a las precipitaciones ocurridas en ese mes, que provocaron el arrastre de materiales al río, las más bajas se presentaron durante el mes de enero en las estaciones 1 y 9 (Manzanares-Yoraco y río Arenas), lo que pudo deberse a la poca precipitación que se dió para la época del muestreo y, por ende, menor entrada de materia orgánica al río. Los clostridios presentaron diferencias estadísticamente significativas entre meses, con mínimos valores en agosto, probablemente, debido a procesos de dilución; durante este mes ocurrieron algunas lluvias que aumentaron la renovación del agua y del sedimento por turbulencia y mezcla. Se encontró relación lineal significativa para los recuentos de CT y CF con el oxígeno disuelto y el fosfato y para clostridios el pH. Estas relaciones se pueden atribuir a la elevada carga orgánica, al uso de fertilizantes, entre otros factores, que son aprovechados por las bacterias y durante ese proceso consumen el oxígeno disuelto y generan productos que alteran el pH. *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp., y *Serratia* spp., fueron halladas frecuentemente en las diferentes estaciones, lo que demuestra la existencia de contaminación fecal en el área de estudio. Los resultados obtenidos permiten deducir que el río Manzanares presenta una baja calidad bacteriológica, lo cual representa un riesgo para la salud de las personas que lo utilizan para sus actividades diarias, particularmente *Salmonella*.

Palabras claves: Contaminación, coliformes, Río Manzanares.

## INTRODUCCIÓN

El agua y la salud son dimensiones inseparables de la población. La disponibilidad de agua de calidad es una condición indispensable, y más que otro factor, la calidad del agua condiciona la calidad de vida (Barrios, 1996).

Las aguas dulces, aunque constituyen una parte minoritaria del agua contenida en el planeta, son esenciales como fuente de agua potable, pero la excesiva introducción de sustancias orgánicas causa alteraciones físicas, químicas y biológicas que se traducen en contaminación; favoreciendo así el crecimiento de diversas especies de bacterias, algunas de las cuales son patógenas (Tuchkovenko y Rondón, 2002).

Las concentraciones de nutrientes en los medios acuáticos pueden variar desde extremadamente bajas, en el nivel de microgramos de materia por litro, a niveles próximos a los de medios de cultivo del laboratorio. La mezcla y el movimiento de los nutrientes, oxígeno disuelto y productos residuales que se producen en esos ambientes son los factores dominantes que controlan la comunidad microbiana (Prescott *et al.*, 1999).

En la actualidad, la contaminación del agua es un aspecto de gran relevancia, y se define como la introducción, por parte del hombre, de sustancias o energía que pueda ocasionar efectos perjudiciales en el ecosistema acuático (Food and Agriculture Organization, 1999). Cualquier desecho que sea descargado en un cuerpo de agua, va a modificar el equilibrio ecológico y la capacidad de esa corriente receptora para transformar tales desechos (Castellví, 1973). Los vertidos residuales, domésticos e industriales, así como la disposición inadecuada de desechos sólidos en

diversas partes y la aplicación de agroquímicos, pesticidas y plaguicidas en la agricultura, son fuentes permanentes de contaminación para el agua (Cuéllar, 2001).

Las aguas superficiales juegan un papel importante en la transmisión de agentes patógenos que son descargados a través de las heces (Barrios y Cañizares, 2001). El agua puede convertirse en un vehículo para la adquisición de diversas enfermedades en el ser humano. Actualmente, existen descritas más de 20 enfermedades en las que el agua actúa directa o indirectamente en su aparición, algunas de ellas con alto impacto en términos de morbilidad y mortalidad (Sánchez *et al.*, 2000).

El grupo de organismos coliformes es adecuado como indicador de contaminación bacteriana, ya que son habitantes comunes del tracto gastrointestinal tanto del hombre como de los animales de sangre caliente. Se encuentran presentes en grandes cantidades, permanecen por más tiempo en el agua que las bacterias patógenas y se comportan de igual manera que los patógenos (Tuchkovenko y Rondón, 2002).

Las materias fecales del hombre y de los animales contienen una gran variedad de microorganismos enteropatógenos como *Campylobacter*, *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*, *Aeromonas*, *Pasteurella*, *Francisella*, *Leptospira*, *Vibrio*, algunos protozoarios y varios grupos de virus. La presencia de estos organismos denota contaminación fecal, constituyendo un riesgo de transmisión de enfermedades para la población humana (Ferguson *et al.*, 1996).

Entre las bacterias coliformes fecales (CF), el clásico representante es *Escherichia coli*. Esta bacteria es responsable de varios tipos de infecciones en los humanos, tales como: infecciones a nivel del tracto urinario, enfermedades gastrointestinales, entre otras (Baudisová, 1997), es el indicador biológico más



utilizado y de mayor importancia en el estudio de la contaminación de las aguas (Fernández, 1984).

Otra bacteria utilizada como indicador de contaminación fecal lo constituye *Clostridium*. Este microorganismo es un bacilo Gram positivo, anaeróbico, perteneciente a la familia *Bacillaceae*, normalmente se localiza en las heces, pero se encuentra accidentalmente en suelos y aguas contaminadas (Prescott *et al.*, 1999). Sus esporas son inertes en sedimentos marinos y son un excelente marcador de la entrada de aguas residuales u otros contaminantes a un ecosistema (Mecray y Buchholtz, 1999).

El río Manzanares es uno de los más importantes de Venezuela, está ubicado en la región nororiental, del estado Sucre. Este cuerpo de agua presenta una problemática ambiental bastante compleja, pues la intensa actividad agrícola en su cuenca alta y media, el vertido de los desechos del Central Azucarero de Cumanacoa, las aguas negras provenientes de los asentamientos humanos en las márgenes del río y la presencia de empresas areneras, han ocasionado en los últimos años la modificación de los parámetros fisicoquímicos (Senior y Godoy, 1990); es por esta razón que ha sido objeto de numerosas investigaciones. Entre estos estudios se encuentran el de Maloney (1966) quien describió su historia geológica. López y Fernández (1967) asociaron la mortalidad de peces a problemas de contaminación. A partir de los años 70 se desarrollaron de manera más completa los estudios en el agua del río Manzanares, a consecuencia de los aportes contaminantes del Central Azucarero, reportándose altos valores de demanda de oxígeno y de materia orgánica (Okuda *et al.*, 1970; Ochoa, 1971). Fernández (1971, 1984) mostró el deterioro del agua del río por contaminación bacteriana, debido a la gran cantidad de desechos provenientes de las actividades del ser humano y de sólidos de diferente naturaleza que son depositados en sus márgenes. Lemus y Bastardo (1972) determinaron

coliformes, salmonelas y otras tifoideo-disentéricas en las aguas superficiales del río Manzanares. Senior y Godoy (1990) señalaron el impacto causado a las características físico-químicas del río y concluyeron que la elevada turbidez y el corto tiempo de residencia de las aguas son dos factores que limitan la producción fitoplanctónica y, en consecuencia, el consumo de elementos nutritivos en la zona alta e intermedia del ecosistema. Gutiérrez y Rivero (2000) determinaron que el río Guasdua contribuía de manera considerable en la variación de la mayoría de las variables fisicoquímicas en las aguas del río Manzanares. Márquez *et al.* (2002) demostraron que estas variables sobrepasan los valores reglamentados en la legislación para aguas de consumo humano e incluso para aguas de descarga a los cuerpos de aguas litorales. Mata (2004) señala que la similitud de los valores de los parámetros bacteriológicos y de las variaciones en las concentraciones de nutrientes tanto en la época de lluvia como la de sequía permite inferir la existencia de fuentes permanentes de contaminación a dicho ecosistema. Gutiérrez (2005) demostró un elevado índice de coliformes totales (CT), CF y *Clostridium* en el río debido a la fuerte descarga de materia orgánica.

Evaluar la calidad del agua implica analizar diversas variables físicas, químicas y biológicas, las cuales deben tener ciertas características para que este líquido sea considerado apto para un determinado uso (Iabichella, 1993). Desde el punto de vista de salud pública, el análisis bacteriológico de aguas es de gran importancia, ya que conduce a la enumeración, aislamiento e identificación de microorganismos indicadores de contaminación, cuya detección en aguas superficiales es de gran valor ya que indicaría la potencialidad de su transmisión hídrica (Pipes, 1988) y provee datos útiles para reglamentaciones de su calidad.

Debido a la degradación de la condición sanitaria del río Manzanares en sus cuencas alta y media y de la poca atención que han prestado las autoridades

competentes a este grave problema, en este trabajo se evaluó la calidad actual de sus aguas, a fin de conocer su nivel de contaminación, con miras al establecimiento de planes para su recuperación.

# METODOLOGÍA

## Descripción del área de estudio

El río Manzanares nace en el macizo montañoso oriental conocido como serranía del Turimiquire, considerado el más alto de la región, con 2 300 metros de altitud (González, 1980). Su origen se encuentra al norte del cerro Peonía; antes de penetrar el valle de Cumanacoa, se unen varios ríos que aumentan su caudal, desembocando en el mar, a la entrada del golfo de Cariaco. Su profundidad máxima está calculada en 4 metros aproximadamente, y su recorrido total se estima en 130 km (Fernández, 1984).

## Diseño del muestreo

En el área de estudio (Fig. 1) se establecieron 15 estaciones (apéndice 1), divididas de la siguiente manera: 6 estaciones (1-6) en la cuenca alta, desde río Manzanares-Yoraco hasta río Aricagua a  $10^{\circ} 18' 30''$  N;  $63^{\circ} 93' 41''$  O y  $10^{\circ} 26' 13''$  N;  $63^{\circ} 91' 16''$  O, respectivamente; y 9 estaciones (7-15) en la cuenca media, desde el puente de Cumanacoa hasta el sector las Areneras a  $10^{\circ} 27' 05''$  N;  $63^{\circ} 91' 55''$  O y  $10^{\circ} 22' 24''$  N;  $64^{\circ} 10' 08''$  O, respectivamente.

Se realizaron 9 muestreos mensuales en el área de estudio, comprendidos desde enero a octubre de 2005. En febrero no se realizó muestreo por razones de logística. Las muestras de agua se colectaron a una profundidad de 20-30 cm con ayuda de un envase plástico de 7 litros de capacidad, para asegurar que todos los parámetros a determinar pertenecieran a la misma parcela de agua. A partir de allí, se tomó una muestra para los análisis bacteriológicos en envase estéril Corning, y se

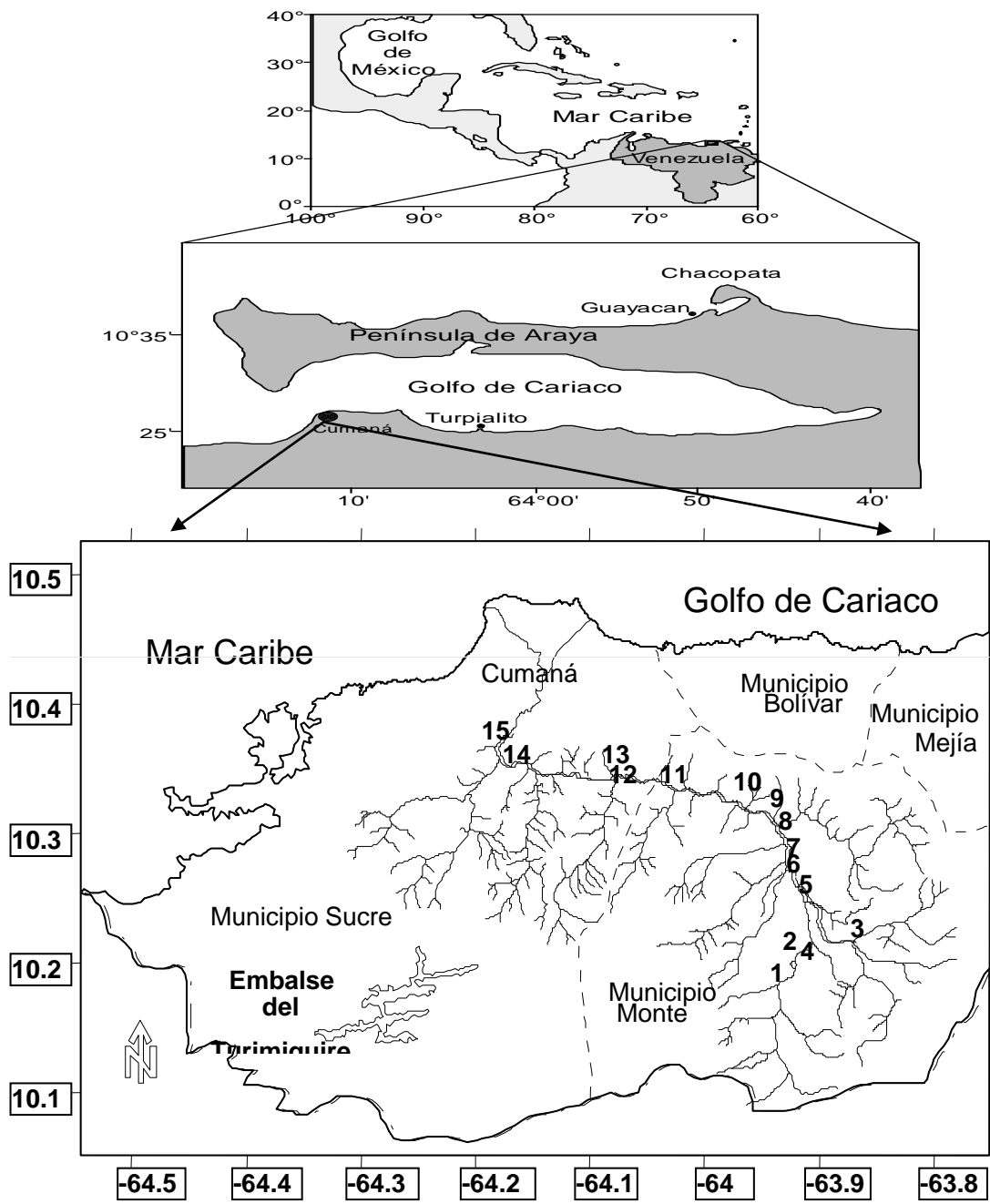


Fig. 1. área de estudio

procedió a la medición *in situ* de la temperatura con un termómetro de mercurio de 0,1°C de apreciación y el pH con pHmetro portátil de campo Orion de 0,01 unidades de apreciación. Finalmente, se tomaron muestras para los análisis de oxígeno disuelto, amonio, nitritos, nitratos y fosfatos. Las muestras se colocaron en cavas ( $\pm 4^{\circ}\text{C}$ ) para limitar el crecimiento bacteriano y se transportaron a los Laboratorios de Bacteriología Marina y Contaminación Bacteriana, y de Oceanografía Química del Instituto Oceanográfico de Venezuela, Núcleo de Sucre, Universidad de Oriente, para sus análisis.

## **Análisis de las muestras**

### Colimetría

Para la determinación de bacterias CT y CF se siguió la técnica del número más probable (NMP) o técnica de fermentación de tubos múltiples (APHA, 1992). A partir de las muestras de agua originales se realizaron diluciones (desde  $10^{-1}$  hasta  $10^{-4}$ ), con una micropipeta con punta estéril. Se tomó 1 ml del agua en estudio y se diluyó en un tubo de ensayo con 9 ml de agua destilada y así se consiguió la dilución  $10^{-1}$ , luego 1 ml de ésta se inoculó en un nuevo tubo y se obtuvo la dilución  $10^{-2}$ , y así sucesivamente hasta alcanzar la dilución  $10^{-4}$ .

### Prueba presuntiva

Se sembró por triplicado 1 ml de cada dilución en tubos con 10 ml de caldo lactosado (Himedia), provistos de una campana de Durham invertida para la colección de gas. Seguido a esto, se incubaron a  $35^{\circ}\text{C}$  durante 48 horas; la producción de gas indicó que la prueba fue presuntamente positiva con respecto a la presencia de bacterias coliformes.

## Prueba confirmativa

A partir de los tubos que resultaron con producción de gas en la prueba anterior, se realizó una prueba confirmatoria, inoculando por duplicado con asa estéril en tubos con caldo bilis verde brillante (Merck), provistos de una campana de Durham invertida; una serie se incubó a 35°C y la otra a 44,5°C durante 48 horas para la confirmación de CT y CF, respectivamente. La presencia de gas indicó que la prueba fue positiva.

## Aislamiento bacteriano

A partir de los tubos con caldo bilis verde brillante que resultaron positivos se sembraron por agotamiento directo en placas con agar MacConkey (Himedia) y se incubaron a 35°C por 24 horas. Este medio selectivo permitió el crecimiento de bacilos entéricos fermentadores de lactosa, por el efecto de sales biliares y cristal violeta (Koneman *et al.*, 1992). Las colonias lactosa positiva se inocularon en caldo nutritivo (Merck) e incubaron a 35°C por 24 a 48 horas. Al cabo de ese tiempo, se sembraron por agotamiento en placas con agar nutritivo (Merck) y se procedió a incubar por 24 horas a 35°C. Seguidamente, las colonias desarrolladas se aislaron para realizarle la coloración de Gram, de acuerdo a la técnica modificada por Hucker y Conn (1923), descrita en APHA (1992) y así verificar la pureza de los cultivos.

## **Determinación de clostridios totales**

Se realizó mediante la técnica del NMP según Gibbs y Freame (1965). A partir de las muestras de agua originales se realizaron diluciones seriadas (hasta  $10^{-2}$ ) con una micropipeta con punta estéril. Posteriormente, se sembró por triplicado 1 ml de cada dilución en tubos con medio reforzado para clostridios; seguidamente, se cubrió con una capa de parafina líquida estéril y se procedió a colocar los tubos en baño de

María por 30 minutos a una temperatura de 75°C, con el fin de eliminar otras bacterias u hongos. Luego se incubaron por 4 días a 30°C. Los tubos que presentaron turbidez y formación de coágulo blanco indicaron que la prueba fue positiva.

### **Identificación de enterobacterias**

Para la identificación de las especies bacterianas aisladas se efectuaron pruebas bioquímicas tales como:

#### Citocromo oxidasa

Esta prueba se basó en colocar un papel de prueba (papel filtro Wathman N-2) en una cápsula de Petri, posteriormente, se le añadieron 2 gotas del reactivo diclorhidrato de tetrametil parafenilendiamina al 1% (reacción de oxidasa). La colonia en estudio se frotó sobre el papel con ayuda de un palillo de madera. Se esperó un tiempo de aproximadamente 10 segundos para observar los resultados. Las bacterias productoras de la enzima citocromoxidasa, en presencia de oxígeno, producen un compuesto de color azul intenso de indofenol sobre el papel filtro (Koneman *et al.*, 1992). Las bacterias coliformes tienen reacción negativa a esta prueba mediante la formación de un color amarillo sobre el papel filtro comprobándose así la presencia de un microorganismo de la familia *Enterobacteriaceae*.

#### Fermentación de azúcares y producción de ácido sulfídrico

Las cepas de prueba se inocularon con aguja estéril por punción y estría en tubos con agar Kligler (Difco) inclinado, el cual fue ajustado a un pH de 7,4. Se incubaron a 35°C durante 24 horas. Una reacción negativa (alcalina) se visualizó por una coloración roja en el medio y una positiva (ácida) por una amarilla, mientras que



la producción de H<sub>2</sub>S se observó por la formación de un precipitado negro. Este medio permite la caracterización de las enterobacterias tomando en cuenta la capacidad de fermentar los carbohidratos lactosa y glucosa, así como también la formación de ácido sulfhídrico y gas carbónico (Koneman *et al.*, 1999)

#### Utilización de citrato

Se utilizó el agar citrato de Simmons (Bioxon) inclinado, a un pH de  $6,9 \pm 0,2$  y se inoculó con aguja estéril por punción y estría. Se incubó a 35°C durante 24 horas. La presencia de un color azul en el medio, indicó una reacción positiva. También se consideró como positiva la observación de un crecimiento bacteriano en la superficie del medio sin cambio aparente de color (Mac Faddin, 1990). Con esta prueba se observó si las bacterias utilizan citrato como única fuente de carbono y sales de amonio como única fuente de nitrógeno (Koneman *et al.*, 1992).

#### Motilidad y producción de indol y descarboxilación de la ornitina

Para estas pruebas se utilizó el agar motilidad-indol-ornitina (MIO, Himedia), ajustado a un pH de  $6,5 \pm 0,2$  y se inoculó por punción, incubándose a 35°C por 24 horas. En la prueba de motilidad se observó la capacidad de la bacteria de desplazarse en un medio semisólido y se interpretó por la observación de turbidez en el medio a partir de la línea de punción. La producción de indol se determinó por la formación de un anillo rojo fucsia brillante en la superficie del medio al agregar el reactivo de Kovacs, lo que indicó que la bacteria utilizó el triptófano como fuente nutritiva (Mac Faddin, 1990). En relación a la ornitina, su descarboxilación a diamina putrescina y anhídrido carbónico por la acción de la enzima ornitina-descarboxilasa, se comprobó por un viraje del indicador púrpura de bromocresol al amarillo, indicando que ocurrió la fermentación de la glucosa y un descenso de pH, permitiendo así la activación de las descarboxilasas. Posteriormente, debido a la liberación de manías, el medio

cambia a azul-violeta, indicando una reacción positiva.(Farmer *et al.*, 1985).

#### Vía de la utilización de la glucosa

Para la prueba de rojo de metilo la colonia se inoculó con aguja estéril en el medio rojo de metilo/Voges-Proskauer (RM/VP Difco) a un pH  $6,9 \pm 0,1$ . Se incubó a  $35\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas. La prueba positiva se evidenció por la aparición de un anillo de color rojo estable en la superficie del medio luego de agregar unas gotas del reactivo rojo de metilo, un color amarillo demostró un resultado negativo. A partir del medio RM/VP también se realizó la prueba de Voges-Proskauer, para esta prueba se interpretó la reacción como positiva si el medio presentaba un color rojo a rosado en la superficie del medio (presencia de acetoína), luego de agregarle al medio ya sembrado 0,6 ml de  $\alpha$ -naftol al 5% y posteriormente 0,2 ml de una solución de KOH al 40% (Mac Faddin, 1990). La prueba de rojo de metilo permitió comprobar la capacidad de un organismo de producir y mantener estables los productos ácidos terminales de la fermentación de la glucosa, y vencer la capacidad amortiguadora del sistema; mientras que la prueba de Voges-Proskauer permitió determinar la capacidad de algunos microorganismos de producir un producto final neutro, el acetilmetilcarbinol (acetoína), a partir de la fermentación de la glucosa (Mac Faddin, 1990).

#### Descarboxilación de lisina

La prueba se realizó en el medio lisina-hierro-agar (LIA, Difco), el cual fue ajustado a pH  $6,7 \pm 0,2$  y se inoculó con una aguja estéril por punción y estría. La descarboxilación de la lisina se observó por un cambio del indicador púrpura de bromocresol de amarillo a su color original (Mac Faddin, 1990).

## **Determinación de los parámetros físico-químicos**

### Oxígeno disuelto

Se analizó de acuerdo al método de Winkler, descrito por Strickland y Parsons (1972). Este método se fundamentó en la fijación del oxígeno presente en la muestra tras la adición de yoduro de sodio alcalinizado y una solución de sulfato de manganeso (II), lo que formó un precipitado. Seguidamente se acidificó la muestra con ácido sulfúrico concentrado; disolviéndose el precipitado y el manganeso volvió a su estado divalente. El yodo equivalente al oxígeno disuelto original se liberó y se tituló con tiosulfato de sodio 0,01 mol/l en presencia de almidón como indicador. Los resultados se expresaron en mg/l.

### Nitritos

Se estimaron según el método de Bendeschneider y Robinson (1952) descrito por Strickland y Parsons (1972). En un medio ácido los iones nitrito formaron un diazoico con la sulfanilamida. Posteriormente, el diazoico reaccionó con la N-naftiletildiamina para la formación de un compuesto, el cual se midió en un Spectronic 401 Milton Roy a una longitud de onda de 543 nm. Con este método se pudo alcanzar una precisión de  $\pm 0,01 \mu\text{mol/l}$ .

### Nitratos

Para la determinación de nitratos se aplicó el método descrito por Tréguer y Le Core (1975). Esta técnica se fundamentó en la reducción cuantitativa de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) a nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ), en presencia de cadmio (Cd). Esta reducción de iones nitrato a nitrito se efectuó pasando la muestra por una columna de cadmio que fue tratada

previamente con cobre (Wood *et al.*, 1976), para su posterior análisis en un sistema autoanalizador Technicon II.

#### Amonio

Se determinó por el método descrito por Koroleff (1969) el cual mide la totalidad del nitrógeno amoniacal presente en la muestra. Este método utilizó una solución de hipoclorito en medio básico, que se añade hasta el punto en que su exceso forma un complejo azul de indofenol. Para esta reacción se utilizó como catalizador el nitroprusiato de sodio. El indofenol formado fue medido con ayuda de un espectrofotómetro a una longitud de onda de 640 nm.

#### Fosfatos

Se analizaron por el método de Murphy y Riley (1962) descrito por Strickland y Parsons (1972). Se basa en la reacción de los iones ortofosfato presentes en la muestra con molibdato de amonio en presencia de antimonio (III), para la formación de un complejo de fosfomolibdato, el cual se redujo con ácido ascórbico a un complejo de azul de fosfomolibdeno. Seguidamente, se le midió la absorbancia en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 885 nm.

#### Análisis estadísticos

Con la ayuda del paquete estadístico Statgraphics plus 4.1 se realizó un análisis de varianza doble modelo I (ANOVA) para determinar si existían diferencias significativas en las densidades de CT, CF y clostridios totales entre las estaciones y los meses de muestreo; así como las pruebas *a posteriori* correspondientes. Se aplicó un análisis de regresión lineal simple para detectar si había relación entre la densidad de coliformes y clostridios con cada uno de los parámetros físico-químicos estudiados (Steel y Torrie, 1985).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo al decreto 883, publicado en la Gaceta Oficial de la República de Venezuela N° 5021 y de fecha 18 de diciembre de 1995, en la cual se dictan normas para la clasificación y el control de la calidad de los cuerpos de agua y vertidos o efluentes líquidos, las aguas de las cuencas alta y media del río Manzanares, se agrupan de acuerdo a su uso principal como agua de tipo 4, es decir, aguas destinadas a balnearios, deportes acuáticos, pesca deportiva, comercial y de subsistencia, y de tipo 4A, para el contacto humano total. La evaluación de la calidad bacteriológica en las aguas estudiadas se realizó según las normas establecidas en este decreto.

Los valores de CT, CF y clostridios fueron representados en gráficas con escalas logarítmicas ( $\text{Log}_{10}$ ) debido a las amplias variaciones registradas para todo el período de estudio.

### **Coliformes totales**

En las figuras 2 y 3 se muestra la distribución del NMP de CT en las estaciones 1 a 15 durante enero a octubre de 2005. Los valores fluctuaron entre  $9,3 \times 10^2$  hasta  $2,4 \times 10^6$  CT/100 ml, observándose presencia de coliformes en todas las estaciones y en todos los muestreos. En enero y marzo se detectó el menor número de CT ( $9,3 \times 10^2$  CT/100 ml) en las estaciones 1 y 12 (Manzanares-Yoraco y río Tataracual, respectivamente), lo que pudo deberse a la poca precipitación que se dió para la época del muestreo y por ende menor entrada de materia orgánica al río. Los máximos valores ( $2,4 \times 10^6$  CT/100 ml) fueron obtenidos en abril, junio, julio, agosto y septiembre en las estaciones 2, 3, 4, 7, 10 y 15 (quebrada La Sequía, río La Cuesta, quebrada Orinoco, puente de Cumanacoa, después de la Planta de Tratamiento de río

Arenas y Sector Las Areneras, respectivamente); a partir de abril, se observó un incremento en las precipitaciones (anexo 1) las cuales provocan el arrastre de materiales al río, además del que ocurre por la continua descarga de residuales domésticos e industriales sin tratamiento previo, estos desechos proporcionan una gran cantidad de nutrientes los cuales constituyen un factor primordial para el desarrollo de los microorganismos.

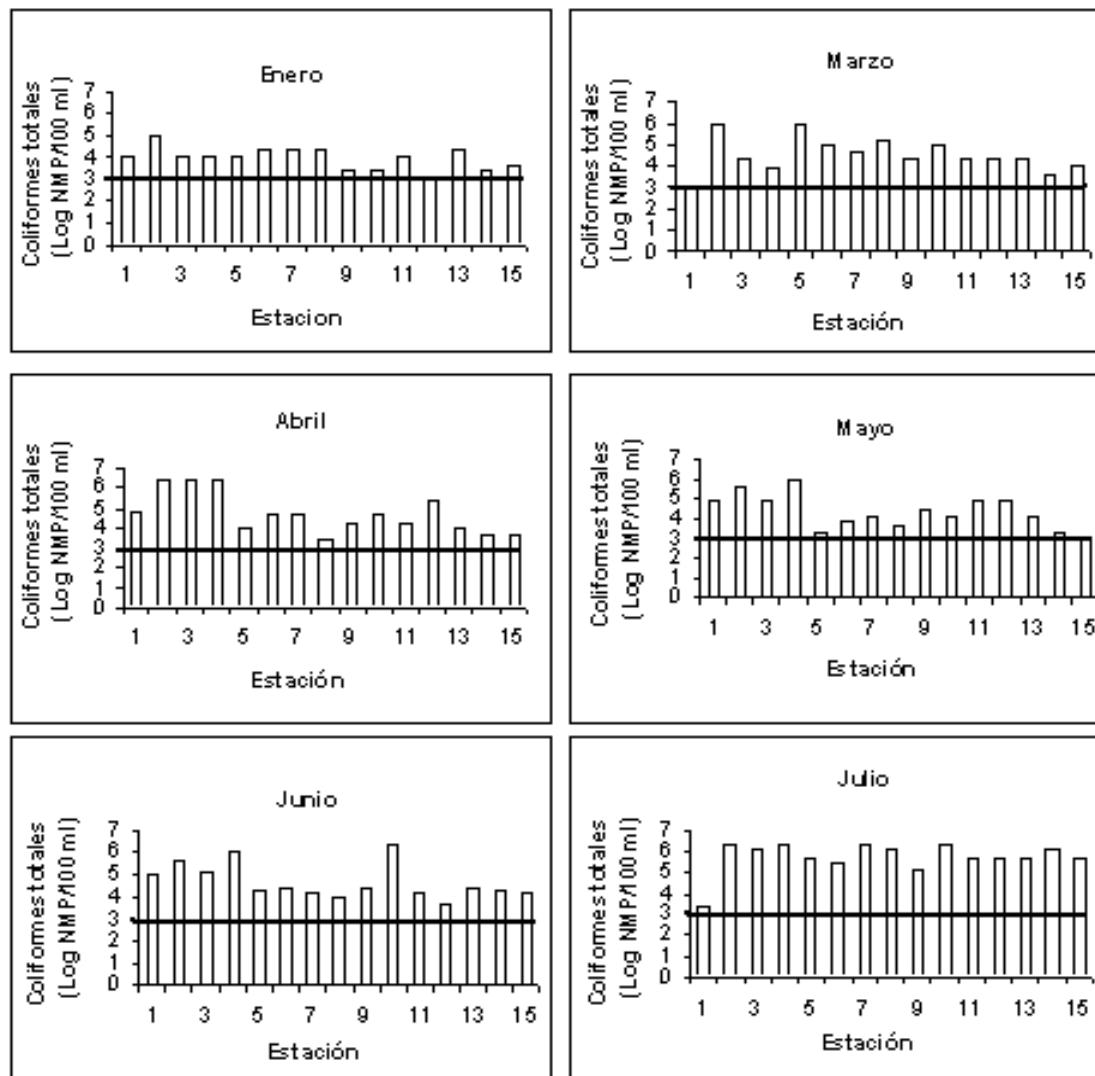
El análisis de varianza doble para la comparación de la densidad de CT (Apéndice 2) indicó la existencia de diferencias muy significativas entre estaciones ( $F_s = 2,20$  y  $P < 0,01$ ) y diferencias altamente significativas entre meses ( $F_s = 6,24$  y  $p < 0,001$ ). La prueba *a posteriori* de Duncan aplicada al NMP de CT entre estaciones (apéndice 3), mostró la existencia de 3 grupos homogéneos: un primer grupo formado por las estaciones 1, 12, 3, 9 y 6, destacándose la estación 1 con las menores concentraciones; posiblemente, debido a que es una zona donde la intervención antrópica es reducida. Un segundo grupo constituido por las estaciones 11, 8, 13, 14 y 7 y un último grupo por las estaciones 5, 15, 4, 10 y 2. La estación 2 fue la que reflejó la mayor concentración ( $6,97 \times 10^5$  CT/100 ml), lo que se atribuye a que es una zona de poco caudal, con olores desagradables y presencia de animales domésticos en su cauce. La prueba *a posteriori* de Duncan aplicada al NMP de CT entre meses (apéndice 4) mostró la existencia de 3 grupos homogéneos: un primer grupo conformado por enero, mayo, junio, octubre y abril, destacándose enero con la concentración más baja ( $1,40 \times 10^4$  CT/100 ml), un segundo grupo formado por los meses de marzo, agosto y septiembre y un tercer grupo por el mes de julio, donde se obtuvo la concentración más alta ( $8,43 \times 10^5$  CT/100 ml).

Las altas concentraciones de CT obtenidas en esta investigación son debido a los desechos de origen antropogénico y animal y a las lluvias acaecidas en estos meses que contribuyen al lavado de los suelos con la consecuente incorporación de contaminantes a este cuerpo de agua. Bitton y Harvey (1992) y Ferguson *et al.* (1996)

mencionan que las elevadas concentraciones de CT pueden deberse al aporte de bacterias procedentes de los residuales domésticos de las comunidades locales y a las precipitaciones, que arrastran bacterias y materia orgánica; estos factores además de incrementar la población bacteriana en el agua favorecen su supervivencia.

Los valores obtenidos en esta investigación fueron inferiores a los reportados por Fernández (1984), quien señala la presencia de organismos coliformes a niveles de  $10^5$  a  $10^8/100$  ml durante el período comprendido entre 1971 y 1980, y los asocia a la descarga de aguas servidas de las poblaciones asentadas en las riberas del Manzanares y por Barrios y Cañizares (2001) para el río Neverí, en Barcelona (Venezuela), que reportaron densidades de CT  $>10^6/100$  ml, y superiores a los de Godoy (1991), quien reportó contaminación fecal en las cercanías de la desembocadura del río Manzanares, con concentraciones promedio de  $10^4$ , asimismo, a los de Gutiérrez (2005) quien publicó valores de  $2,4 \times 10^5$  para las cuencas altas y media del río Manzanares.

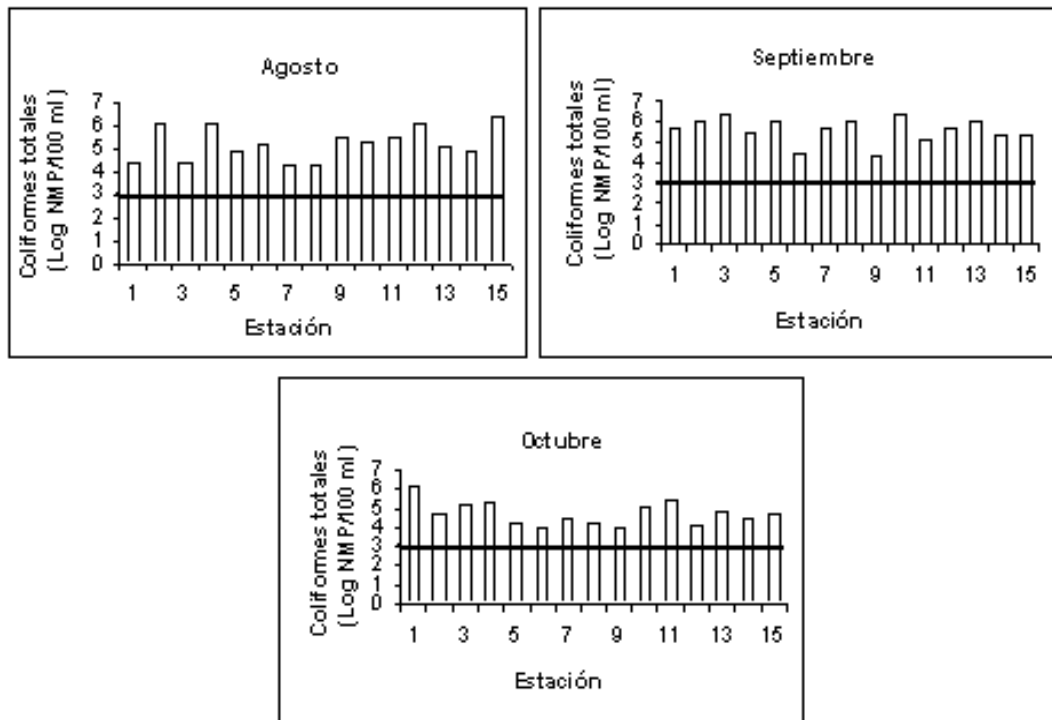
Es importante resaltar que las densidades encontradas, tanto en la cuenca alta como la media del río Manzanares, nos indican que no ha habido una solución a la problemática de la contaminación de este ecosistema, ya que desde hace muchos años se vienen realizando trabajos en este río y se observa que los niveles bacteriológicos



( — ) Límite permitido para aguas de contacto humano total.

Fig. 2. Distribución del NMP de coliformes totales en las estaciones 1 a 15 de las cuencas alta y media del río Manzanares, estado Sucre, Venezuela, durante enero a julio de 2005.





( ————— ) Límite permitido para aguas de contacto humano total.

Fig. 3. Distribución del NMP de los coliformes totales en las estaciones 1 a 15 de las cuencas alta y media del río Manzanares, estado Sucre, Venezuela, durante agosto a octubre de 2005.

van en aumento. El desarrollo de las poblaciones en sus riberas también ocasiona un mayor desequilibrio de las condiciones medioambientales del río. Las densidades de CT fueron superiores a los límites máximos permitidos por la Ley Orgánica del Ambiente por lo que esta agua no es apta para consumo humano.

### Coliformes fecales

En las figuras 4 y 5 se muestra la distribución del NMP de CF en las estaciones durante enero a octubre de 2005. Se detectaron densidades que fluctuaron entre  $2,3 \times 10^2$  y  $2,4 \times 10^6$  CF/100 ml. Todos los valores de CF que se registraron para la

cuenca alta y media del río Manzanares se encontraron por encima del límite máximo establecido en la normativa para aguas de tipo 4A (aguas de contacto humano total), de 200 CF en 100 ml.

En la estación 1 (Manzanares-Yoraco) fue donde se detectó el menor número de CF ( $2,3 \times 10^2$ /100 ml), posiblemente, pudo deberse a un menor aporte de residuales domésticos, ya que se observó una escasa actividad humana en esta zona. Las mayores densidades de CF fueron detectadas en abril, junio, julio, agosto y septiembre ( $2,4 \times 10^6$  CF/100 ml) en las estaciones 2, 4, 10 y 15 (Quebrada La Sequía, Quebrada Orinoco, Después de la Planta de Tratamiento de río Arenas y el Sector Las Areneras, respectivamente), coincidiendo con los meses y estaciones donde se observaron también abundantes precipitaciones y altos valores de CT, esto pudo deberse al aporte de materia orgánica y de nutrientes a través de desechos domésticos e industriales. Asimismo, las precipitaciones pueden provocar aumento de CF debido a posibles desbordamientos de los pozos sépticos de las viviendas cercanas al río. Vale resaltar que la presencia de CF debe ser interpretada como indicadora de la posible presencia de bacterias patógenas y cuanto mayor es su número, mayor es la posibilidad de encontrar bacterias patógenas.

En el análisis de varianza doble para CF (apéndice 2), se observaron diferencias altamente significativas entre estaciones ( $F_s=2,85$ ;  $p<0,001$ ) y entre meses ( $F_s=5,18$ ;  $p<0,001$ ). La prueba *a posteriori* de Duncan para comparar CF entre estaciones (apéndice 5) mostró la formación de 4 grupos homogéneos: un primer grupo constituido por la estación 9, donde se observó la menor concentración ( $6,30 \times 10^4$  CF/100 ml), un segundo grupo compuesto por las estaciones 6, 11 14, 13 y 1, el tercer grupo formado por las estaciones 12, 8, 5, 7, y 15 y el último grupo por las estaciones 3, 10, 4 y 2, las cuales presentaron las mayores concentraciones de CF, destacándose la estación 2 con la más alta concentración ( $1,02 \times 10^6$  CF/100 ml), esto pudo deberse a que esta zona se caracteriza por presentar poco caudal, con aguas claras pero con

olores desagradables y así como también animales domésticos que defecan en los márgenes del río. La prueba *a posteriori* de Duncan aplicada al NMP/100 ml de CF entre meses (apéndice 6), mostró la existencia de 4 grupos homogéneos: un primer grupo constituido por el mes de enero, con la menor concentración ( $1,63 \times 10^4$  CF/100 ml), un segundo grupo formado por mayo, octubre, marzo y junio, el tercer grupo constituido por agosto y abril, y el cuarto grupo por los meses de septiembre y julio, siendo estos dos últimos los que arrojaron los promedio más altos ( $7,66 \times 10^5$  y  $1,04 \times 10^6$  CF/100 ml respectivamente).

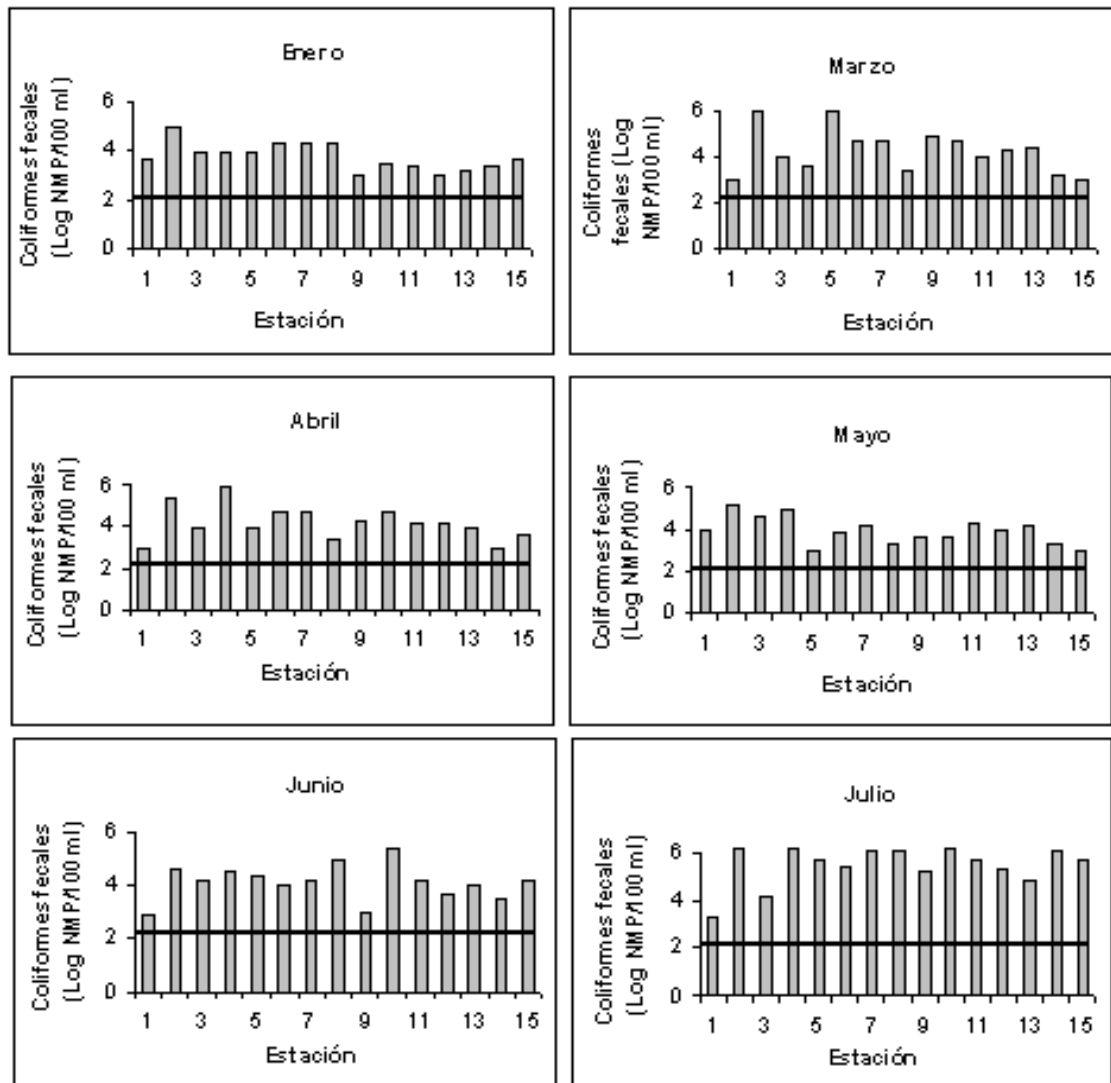
Vale resaltar que todos los grupos formados, tanto en las estaciones como en los muestreos, presentaron valores de CF mayores a los permitidos por la Ley Orgánica del Ambiente para aguas tipo 4A, posiblemente, relacionados con las intensas precipitaciones ocurridas durante algunos meses que pudieron provocar que las corrientes arrastraran materia orgánica, heces de animales y de humanos hacia el río; pero que indican también que el río Manzanares presenta contaminación fecal permanente.

Los resultados obtenidos en esta investigación fueron similares a los encontrados por Gutiérrez (2005) en las cuencas alta y media del río Manzanares ( $2,4 \times 10^5$  CF/100 ml), atribuyendo estos valores no sólo a los vertidos cloacales, sino también al material fecal producto de la cría de animales domésticos de sangre caliente y de animales salvajes, que llega a los márgenes del río por percolación y/o arrastre de lluvias. Barrios y Cañizares (2001) registraron también valores elevados ( $9 \times 10^6$  CF/100 ml) en el río Neverí, atribuidos a las urbanizaciones e invasiones marginales ubicadas a los márgenes del río, las cuales carecen de servicios sanitarios básicos, lo que conlleva al vertido de sus desechos al río y genera altos niveles de contaminación fecal. La situación de la contaminación del río Manzanares debe ser tomada en cuenta, debido a que sus aguas desembocan directamente en el golfo de Cariaco, afectando la calidad de las aguas costeras aledañas, entre ellas las playas de

San Luís, ocasionalmente la Bahía de Mochima, las cuales son áreas de interés turístico y recreacional, en general (Fernández, 1971; 1992; Iabichella, 1993).

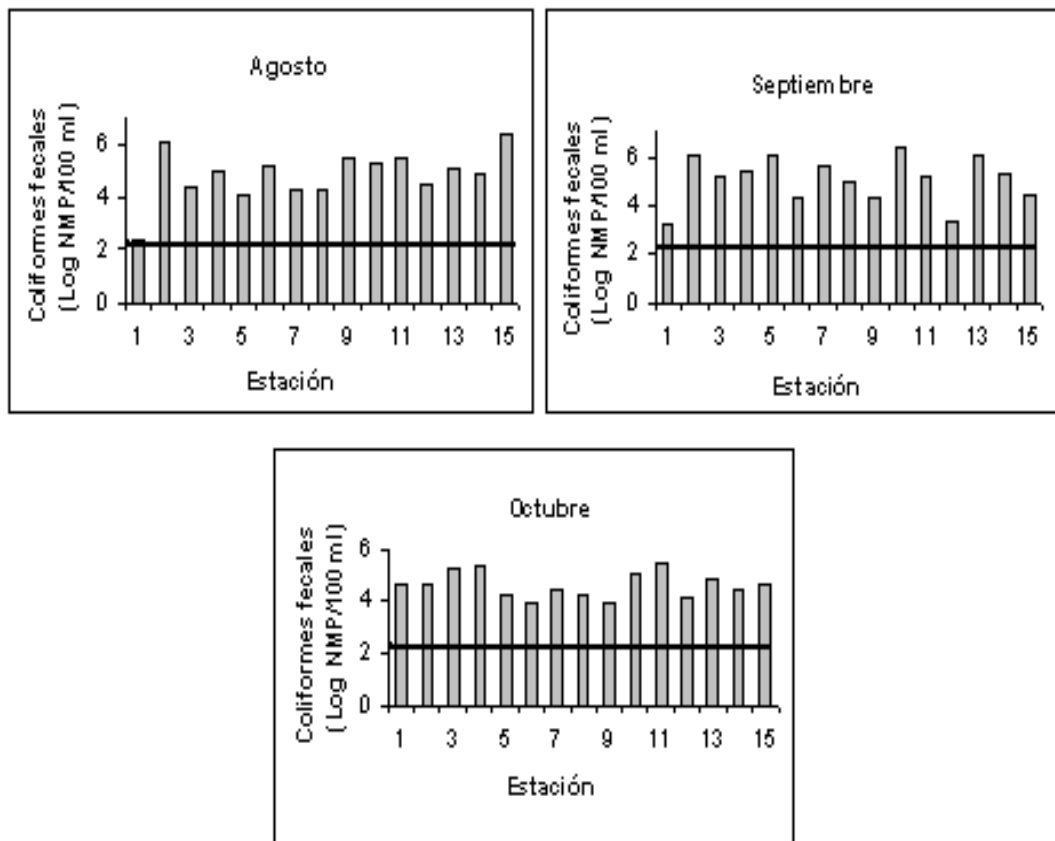
De acuerdo a los resultados obtenidos, en general, las estaciones estudiadas en la cuenca alta y cuenca media sobrepasaron los límites establecidos por la Ley Orgánica del Ambiente para aguas de contacto humano total, por lo tanto las aguas estudiadas no cumplen con los criterios recomendados para aguas destinadas a balnearios, deportes acuáticos, pesca deportiva, comercial y de subsistencia.

En estas estaciones se pudo notar contaminación fecal constante, ya que, tanto en la época de lluvia como de sequía, al río son vertidos desechos provenientes de las comunidades rurales asentadas en sus riberas, así como heces humanas y de animales esparcidas a sus alrededores, tal como se observa por la gran cantidad de desperdicios y malos olores que se presentan en algunos puntos del mismo que generan un aumento de este tipo de bacteria, las cuales comprometen las condiciones del río.



( ————— ) Límite permitido para aguas de contacto humano total.

Fig. 4. Distribución del NMP de coliformes fecales en las estaciones 1 a 15 de las cuencas alta y media del río Manzanares, estado Sucre, Venezuela, durante enero a julio de 2005.



( ————— ) Límite permitido para aguas de contacto humano total.

Fig. 5. Distribución del NMP de coliformes fecales en las estaciones 1 a 15 de las cuencas alta y media del río Manzanares, estado Sucre, Venezuela, durante agosto a octubre, de 2005.

### Clostridios totales

Las figuras 6 y 7 muestran la distribución del NMP de clostridios durante enero a octubre de 2005. Los valores de esta bacteria oscilaron desde  $2,4 \times 10^3$  hasta  $2,4 \times 10^4$  clostridios/100 ml. En el mes de agosto en la estación 1 (Manzanares-Yoraco) fue donde se registró el menor número de clostridios ( $2,4 \times 10^3$ /100 ml), lo que se debe posiblemente a los procesos de renovación de las aguas y del sedimento en esta zona producido por turbulencia y mezcla, que provocan dilución de sus densidades. Las

concentraciones más altas de esta bacteria se reportaron en la mayoría de las estaciones restantes ( $2,4 \times 10^4$  clostridios/100 ml), esto pudo deberse a la carga orgánica en descomposición presente en el río, lo que genera bajos niveles de oxígeno disuelto, permitiendo así la permanencia de estas bacterias. La presencia de clostridios en los cuerpos de agua puede indicar que el foco de contaminación es antiguo, dado que esta bacteria es capaz de sobrevivir por largos periodos de tiempo por su capacidad de formar esporas, lo cual le confiere la ventaja de persistir en el agua mucho más tiempo que los organismos del grupo coliformes (Gesche *et al.*, 2003).

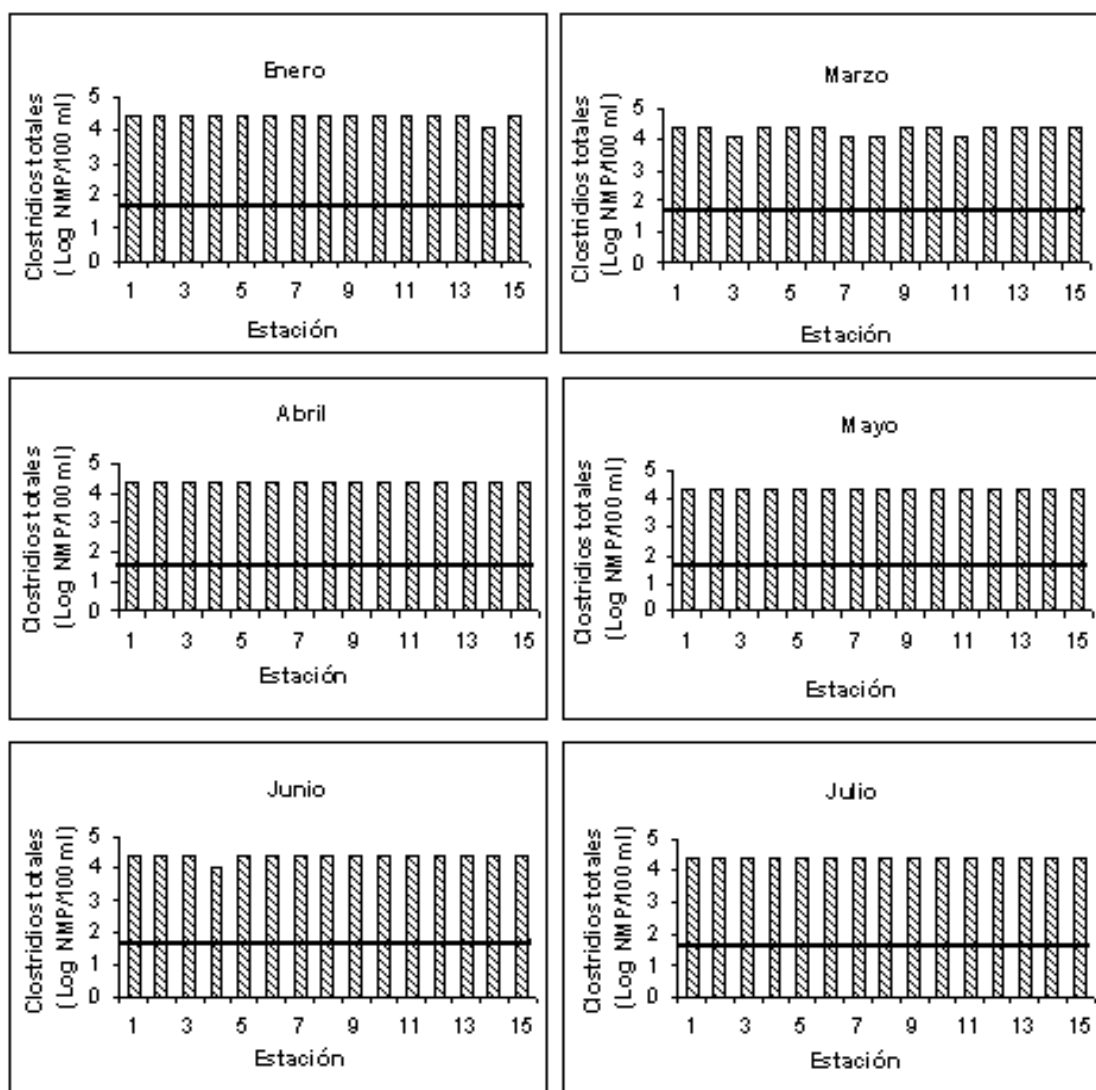
En el análisis de varianza doble para clostridios totales (apéndice 2) no se observaron diferencias significativas entre estaciones ( $F_s=1,35$ ;  $p>0,05$ ) pero si diferencias altamente significativas entre meses ( $F_s= 5,52$ ;  $p<0,001$ ). La prueba *a posteriori* de Duncan aplicada al NMP/100 ml de clostridios totales entre meses (apéndice 7), mostró la existencia de 2 grupos homogéneos: un primer grupo formado por el mes de agosto, el cual corresponde al mes con la menor concentración ( $1,62 \times 10^4$  clostridios/100 ml) y un segundo grupo formado por los meses de enero, marzo, abril, mayo, junio, julio, septiembre y octubre, con altas concentraciones de clostridios ( $2,40 \times 10^4$  clostridios/100 ml).

En Venezuela no existe una normativa que establezca un valor límite para esta bacteria anaeróbica; sin embargo, tomando en cuenta un reporte de la Organización Mundial de la Salud (World Health Organization, 1999), que sugiere 51 clostridios/100 ml para aguas dulces tropicales, los resultados obtenidos en esta investigación superan este valor, por lo que se categoriza las aguas del río Manzanares como un cuerpo de agua de mala calidad bacteriológica. Las altas concentraciones detectadas en este estudio se pueden atribuir no sólo a los aportes directos de las comunidades locales sino también a las precipitaciones que promueven la entrada de desechos fecales al cauce del río. La presencia de este microorganismo

en el agua debe servir de advertencia, ya que implica un riesgo para la salud puesto que clostridio puede estar asociado con infecciones pleuropulmonares anaeróbicas, septicemia, gangrena gaseosa, colecistitis gangrenosa (Koneman *et al.*, 1992).

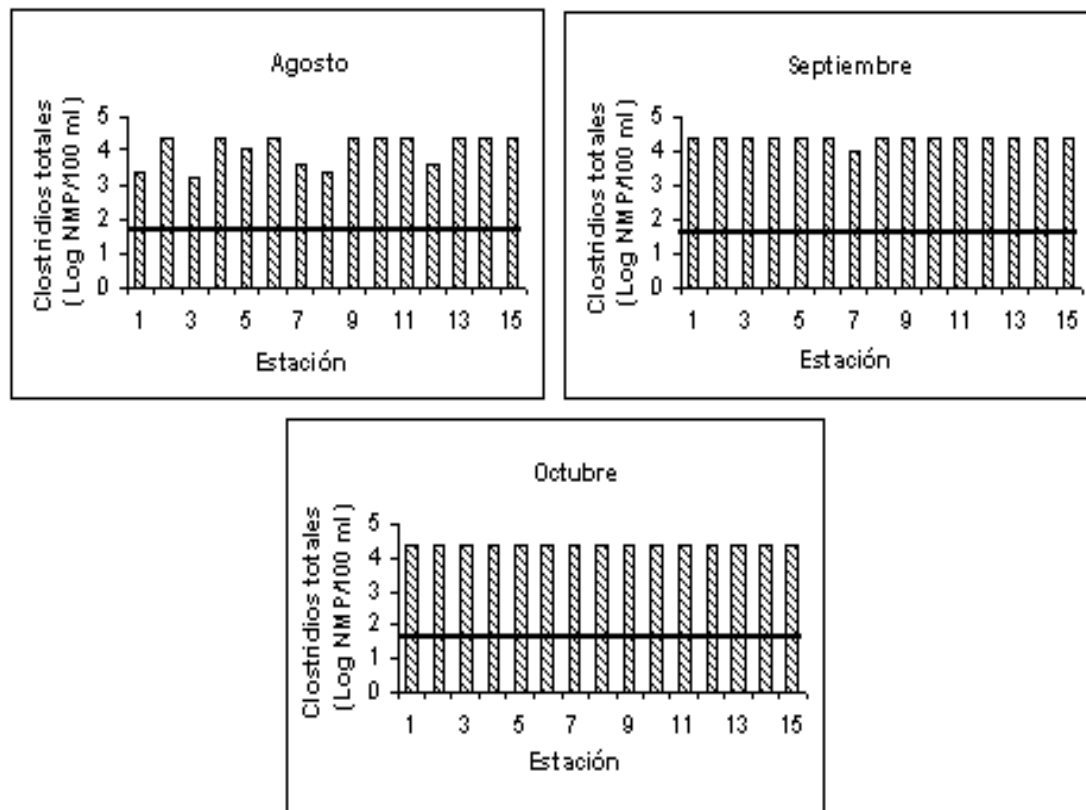
Valores similares a esta investigación fueron reportados por Zapata (2004) para la zona marino-costero del golfo de Cariaco, con variaciones entre  $6,0 \times 10^3$  y  $7 \times 10^5$  clostridios/100 ml y altas concentraciones hacia la desembocadura del río Carinicua, relacionándolo con los aportes de materia orgánica de los asentamientos urbanos, pero superiores a los reportados por Mata (2004), Rivas (2006) y Ortiz (2007) quienes encontraron valores de  $2,5 \times 10^2$ ;  $2,5 \times 10^3$  y  $9,3 \times 10^2$  atribuyendo esto a las fuertes descargas de materia orgánica.





( ——— ) Límite para aguas dulces tropicales, según WHO (1999).

Fig. 6. Distribución del NMP de clostridios totales en las estaciones 1 a 15 de las cuencas alta y media del río Manzanares, estado Sucre, Venezuela, durante enero a julio de 2005



( ————— ) Límite para aguas dulces tropicales, según WHO (1999)

Fig. 7. Distribución del NMP de clostridios totales en las estaciones 1 a 15 de las cuencas alta y media del río Manzanares, estado Sucre, Venezuela, durante agosto a octubre, de 2005.

### Identificación bioquímica de enterobacterias

Las especies bacterianas identificadas en este estudio (apéndice 8) fueron en su mayoría Gram negativas, pertenecientes al grupo de las enterobacterias, a excepción de *Pseudomonas* sp. Las bacterias identificadas fueron: *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *E. agglomerans*, *E. aerogenes*, *E. hafniae*, *Citrobacter diversus*, *C. freundii*, *Serratia rubidaea*, *S. liquefaciens*, *Proteus vulgaris*, *P. mirabilis*, *Shigella* sp., *Salmonella* sp., *Klebsiella pneumoniae*, y *Pseudomonas* sp.

perteneciente a la familia *pseudomonadaceae*. La zona estudiada del río Manzanares se caracteriza en su mayoría por presentar aguas turbias con olores desagradables y presencia de desechos de origen doméstico e industrial, lo que puede incidir en el tipo de bacterias que se puede encontrar en esta zona. Las especies aisladas no sólo provienen de fuentes fecales sino que además podemos encontrarlos en aguas de escorrentía, aguas superficiales, terrenos cultivados, entre otros, y son considerados patógenos oportunistas (Durán, 2000). Sin embargo, *Escherichia coli* fue la especie identificada con mayor frecuencia en todas las estaciones y en todos los muestreos, lo que sugiere contaminación fecal permanente y la posible presencia de microorganismos patógenos (Baudisová, 1997), representando así un riesgo para los usuarios. Awwah *et al.* (2001) señalaron que el incremento de organismos patógenos es un tópico de gran importancia, ya que en países en vía de desarrollo es una causa de mortalidad infantil. El crecimiento de la población a nivel mundial y el aumento del uso del agua para diferentes actividades, ha incrementado los niveles de contaminación. Esta contaminación está relacionada con los vertidos de origen doméstico e industrial a los cuerpos de agua (Fernández, 1984). En el caso de los residuales de origen doméstico, la carga contaminante está representada por los altos porcentajes de materia orgánica y microorganismos de origen fecal.

Los resultados obtenidos en esta investigación fueron similares a los encontrados por Lemus y Bastardo (1972), Fernández (1984) y Mata (2004) en este mismo cuerpo de agua, lo que pone en evidencia una alteración en la calidad de las aguas de este río como consecuencia del desarrollo de las actividades industriales y agrícolas. Barrios y Cañizares (2001) en el río Neverí (Barcelona, Venezuela), de igual forma encontraron especies como las identificadas en esta investigación, relacionándolo con la influencia de fuentes de contaminación similares a las del río Manzanares.

*Escherichia coli* se encuentra generalmente en deposiciones fecales recientes,

procedentes de animales de sangre caliente y de humanos (APHA, 1995). Las constantes descargas de residuales domésticos y cloacales pueden generar altos porcentajes de este microorganismo en el agua, lo que permite estimar el origen fecal de esta bacteria. *Enterobacter* sp. fue aislada frecuentemente durante la investigación. Se encuentra en el suelo, agua, cloacas, aire y en el tracto gastrointestinal del hombre y de otros animales (Quentin y Russell, 1991; Joklik *et al.*, 1995). *Enterobacter cloacae* y *E. agglomerans* son considerados patógenos oportunistas que afectan las vías urinarias, las vías respiratorias y las heridas cutáneas y, en ocasiones, causan septicemia y meningitis (Koneman *et al.*, 1992). Del género *Citrobacter* fueron aisladas dos especies, *C. freundii* y *C. diversus*, las cuales se identificaron con frecuencia en las estaciones estudiadas. Generalmente, se encuentran en aguas residuales, suelos y ambientes similares; particularmente *C. freundii*, se ha reportado como posible causante de diarrea cuando no existe otro patógeno asociado (Hadas *et al.*, 2000). En neonatos, *C. diversus* se ha aislado en casos de meningitis y abscesos cerebrales (Koneman *et al.*, 1992). *Serratia* sp. es reconocida como patógeno oportunista, se encuentra asociada a infecciones del tracto urinario, que son frecuentemente adquiridas en ambientes hospitalarios (Pelczar, 1996). *Proteus*, *Shigella*, *Salmonella* y *Klebsiella* fueron aislados con menor frecuencia en este estudio. *Proteus*, además de encontrarse distribuido en la naturaleza, también se encuentra en aguas contaminadas. *Proteus mirabilis* es la especie más común de este género y parece tener un papel importante en la descomposición de materia orgánica; es la más infecciosa; la infección más común es la del tracto urinario en los humanos y raramente puede causar enteritis. *Shigella* sp. es causante de la disentería bacilar y usualmente, es transmitida de persona a persona por la ruta oral-fecal a través de alimentos y agua contaminada, o vectores como las moscas que también diseminan la enfermedad (Gerardi y Horsfall, 1990). *Salmonella* sp. es uno de los géneros asociados con enfermedades transmitidas principalmente por el agua, causando gastroenteritis severas en humanos, ya que esta bacteria es de hábitos gastrointestinales y presenta capacidad de supervivencia muy limitada bajo

condiciones medio ambientales (Polo *et al.*, 1998). *Klebsiella pneumoniae* se encuentra en el tracto respiratorio y el intestino de humanos y animales, pero en bajo número. Además de ser la causante de algunos casos de neumonía aguda, es un patógeno oportunista que puede causar infecciones en el tracto urinario, diarrea (solo se debe tomar en cuenta en caso de no aislar ningún otro patógeno en lactantes) y neumonía (Divo, 1990; Núñez *et al.*, 1991).

En algunas de las estaciones se aisló *Pseudomonas* sp. que pertenece a la familia *pseudomonadaceae*. Es una bacteria que se encuentra en suelo, aguas residuales, alimentos contaminados, etc. Además, se puede encontrar en la flora normal de los intestinos, boca o piel de humanos y animales. Se le ha encontrado como probable causante o contribuyente en casi cualquier tipo de enfermedad nosocomial, incluyendo reportes de meningitis y septicemia en hombres, y aborto en animales (Bovre y Hagen, 1981; citado por Iabichella, 1993).

La falta de tratamiento de las aguas residuales es un problema de salud pública ya que la contaminación de las aguas naturales con material no tratado puede dar como resultado un incremento en el riesgo de transmisión de enfermedades para las personas que las utilizan.

## **Parámetros Físico-Químicos**

### Temperatura

La temperatura del agua del río Manzanares en las estaciones 1 a 15 durante enero a octubre de 2005 (Figs. 8 y 9) osciló entre 19 y 31 °C. A lo largo de todo el estudio, en la estación 1 (Manzanares-Yoraco) fue donde se determinaron las temperaturas más bajas (19 a 22,5 °C), esta estación se encuentra en la cuenca alta, en una zona montañosa y arbustiva, por lo tanto, la incidencia de los rayos solares no es

directa, lo que favorece las bajas temperaturas que allí se observaron; además, esta estación presenta mayor caudal lo que ocasiona un menor tiempo de residencia de las aguas y, por ende, su menor calentamiento.

En cambio, la temperatura más alta (31 °C) fue observada en la estación 9 (río Arenas) de la cuenca media, en agosto, pudiéndose deber a que hay mayor incidencia de los rayos solares por ser una zona más despoblada vegetalmente; además, esta cuenca es sometida a intervención antrópica descontrolada, y los pobladores utilizan el río como vertedero de desechos, lo que pudiera contribuir a aumentar la temperatura natural de esta zona. De igual modo, se pueden asociar las altas temperaturas con la poca profundidad del río en esta zona, lo que conduce a un mayor calentamiento del agua.

Los resultados obtenidos en esta investigación son similares a los reportados por León (1995), Alvarado (2000), Gutiérrez (2005) y Mata (2004), quienes registraron un intervalo entre 24 - 31,5 °C. Sin embargo, fueron superiores a los reportados por Barrios y Cañizares (2001) en el río Neverí (Barcelona, estado Anzoátegui) y Baselice *et al.* (2002) en el río Caroní (estado Bolívar), quienes obtuvieron temperaturas entre 25,9 -28,4 °C.

La temperatura es uno de los parámetros fundamentales a ser medidos en ambientes acuáticos, debido a su influencia en todos los procesos hidrológicos, químicos y biológicos, ya que ésta tiene gran efecto en la solubilidad de las sales y las reacciones biológicas de los seres vivos, también acelera la putrefacción y la demanda de oxígeno (Benítez, 2004).

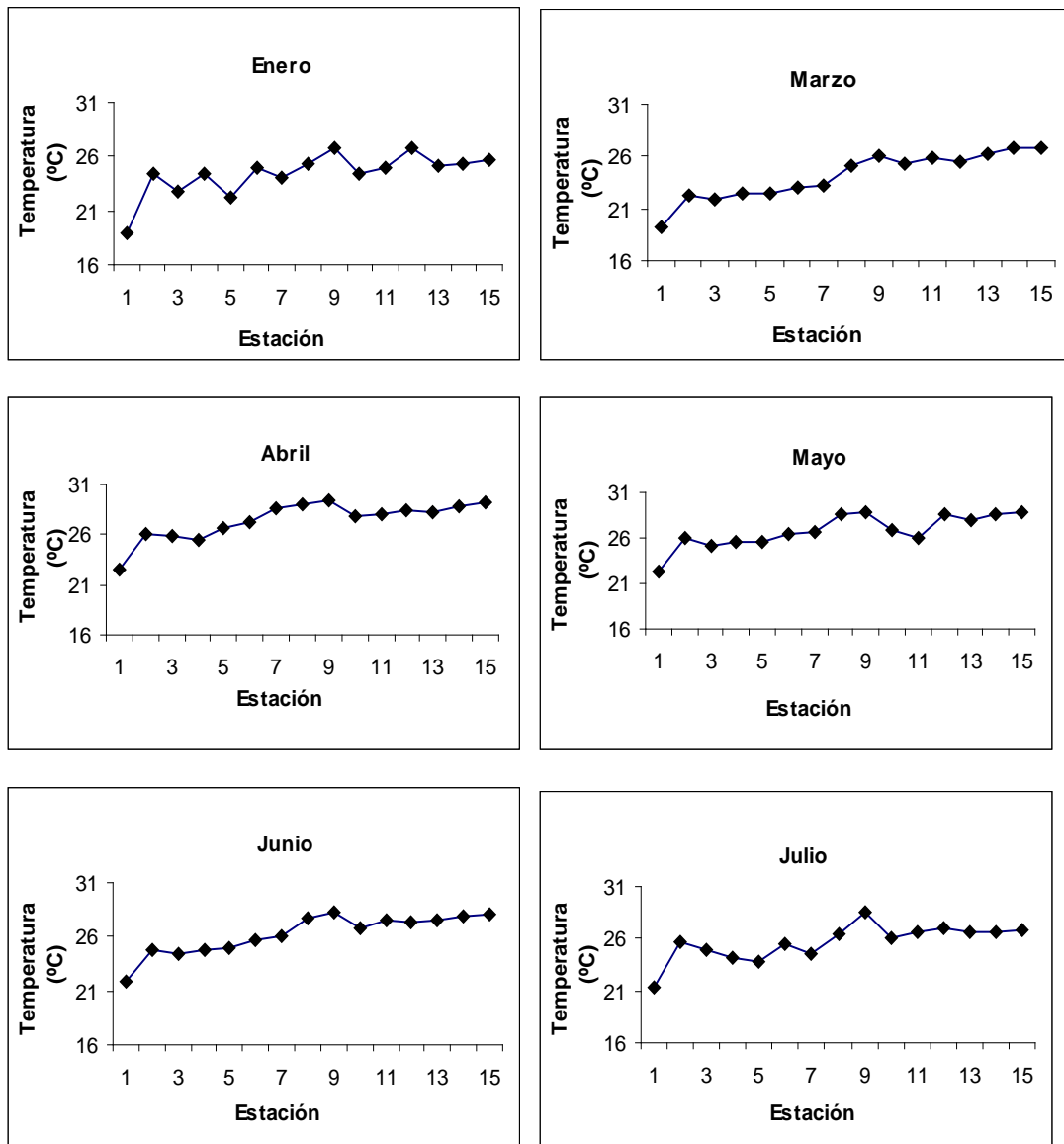


Figura 8. Variación de la temperatura (°C) del agua del río Manzanares en las estaciones 1 a 15 durante enero a julio de 2005.

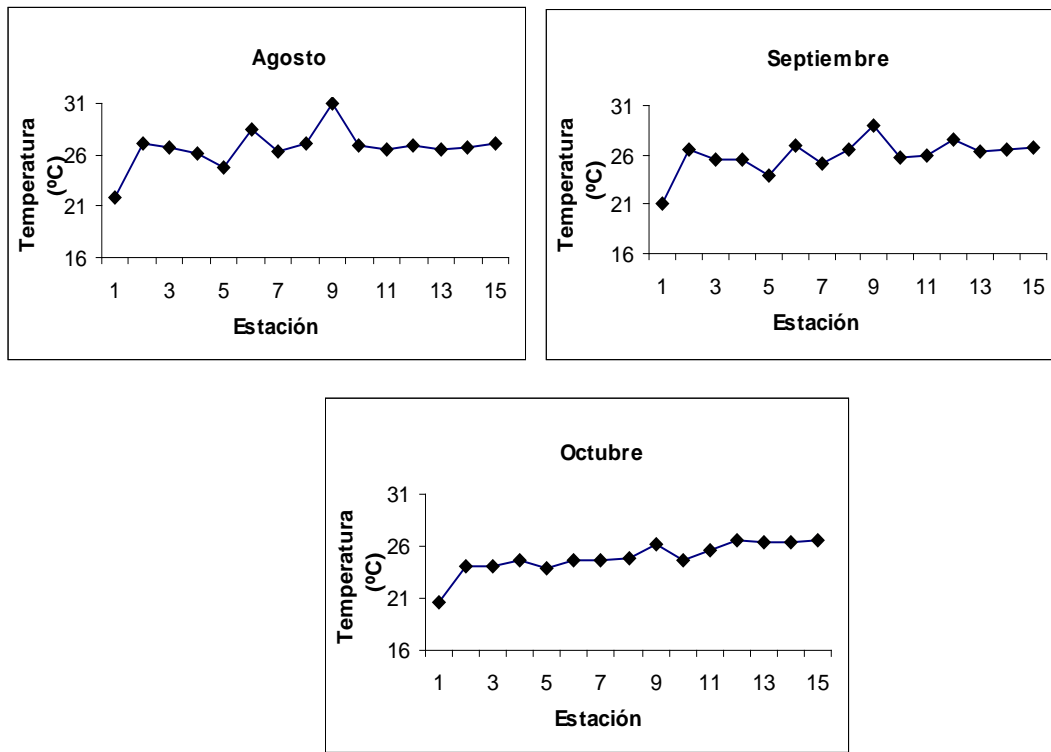


Figura 9. Variación de la temperatura (°C) del agua del río Manzanares en las estaciones 1 a 15 durante agosto a octubre de 2005.

### pH

Los valores de pH estuvieron comprendidos en un intervalo de 7,49-9,50 unidades (Figs. 10 y 11), lo que expresa, en general, que el agua tiende a ser alcalina. El mínimo valor fue 7,49 observado en la estación 8 (río Caribe) en abril, el cual se encontraba dentro del rango permitido por la Ley Orgánica para este tipo de agua (pH: 6,5-8,3 unidades). Es probable que el mínimo de pH esté relacionado con procesos de descomposición de la materia orgánica con el consecuente consumo de oxígeno y producción de ácido carbónico. El máximo (9,5) se detectó en la estación 7 (Puente de Cumanacoa de río Arenas) en agosto, estos altos valores pudieron estar relacionados con el aporte de desechos domésticos (detergentes) y agrícolas



(fertilizantes) con altos contenidos de bicarbonatos y compuestos fosfatados que al entrar en contacto con el agua aumentan su pH (Mata, 2004).

Los resultados de este trabajo fueron superiores a los reportados por León *et al.* (1997), Márquez *et al.* (2002) y Gutiérrez (2005) para el río Manzanares, quienes encontraron valores de pH entre 6,5-6,97; 6,65-8,23 y 6,91-9,12 unidades, respectivamente, atribuyendo estos valores a la presencia de residuales provenientes de diferentes actividades agrícolas e industriales con efluentes altamente alcalinos. Asimismo, también fueron superiores a los reportados por Baselice *et al.* (2002) en el río Caroní, con un promedio de 6,1 unidades.

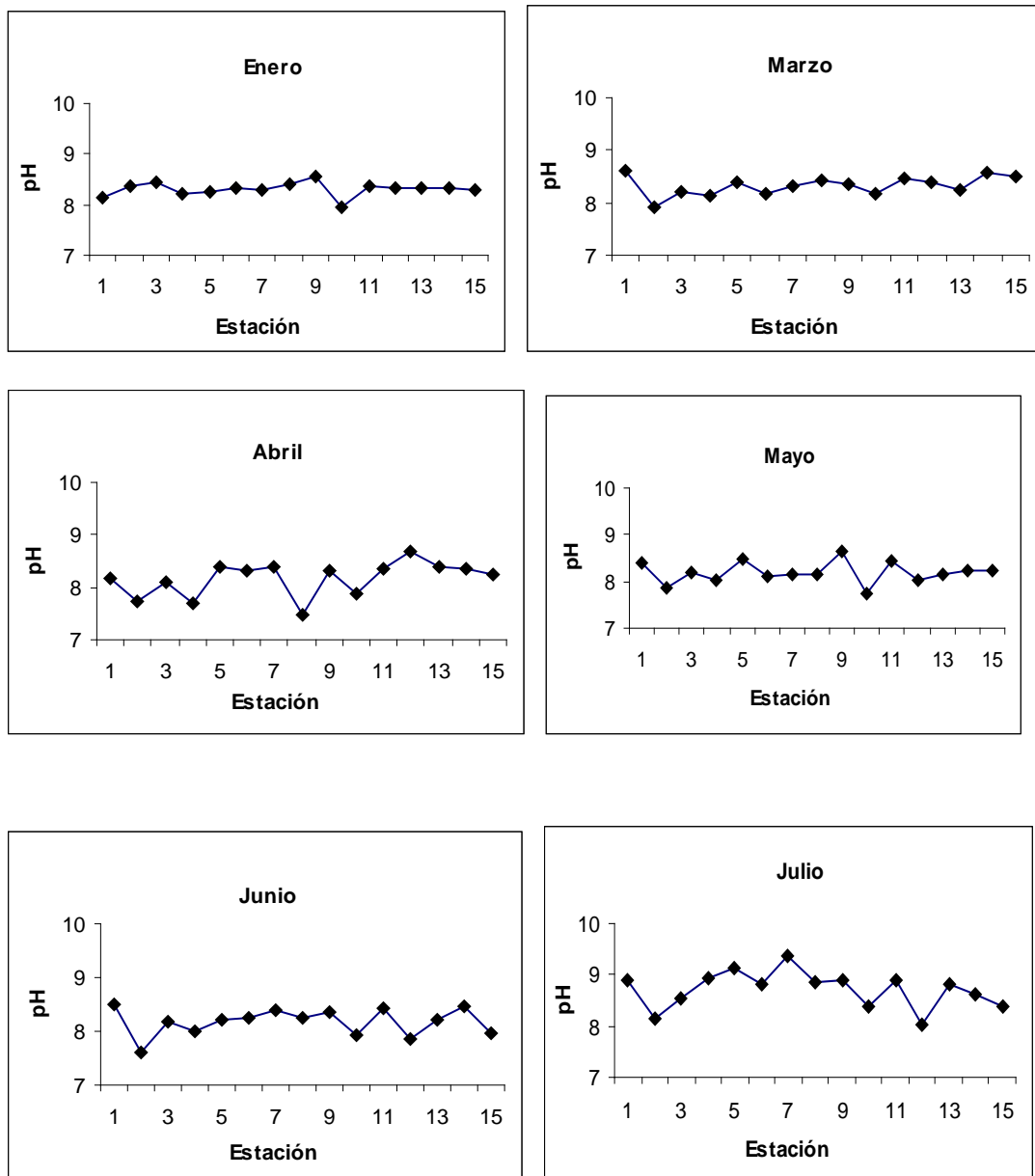


Figura 10. Variación del pH del agua del río Manzanares en las estaciones 1 a 15 durante enero a julio de 2005,

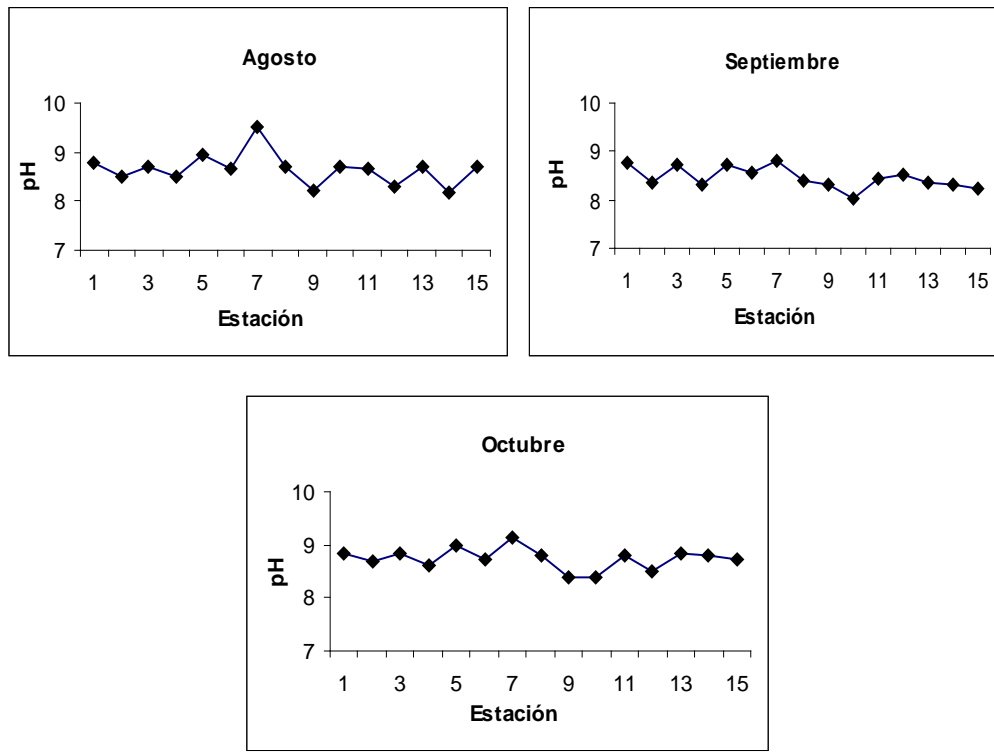


Figura 11. Variación del pH del agua del río Manzanares en las estaciones 1 a 15 durante agosto a octubre de 2005.

### Oxígeno disuelto

La concentración de oxígeno disuelto en las muestras estudiadas osciló entre 3,40 y 9,88 mg l<sup>-1</sup> (Figs. 12 y 13). En general, la mayoría de las estaciones presentaron valores por encima del límite legal permitido en la Gaceta Oficial de la República de Venezuela (1995), los cuales establecen un valor >5,0 mg l<sup>-1</sup> para aguas tipo 4. El valor mínimo reportado en este trabajo fue de 3,40 mg l<sup>-1</sup> en las estaciones 2 y 9 (Quebrada La Sequía y río Arenas, respectivamente) en los meses de mayo, junio, agosto, septiembre y octubre. Las menores concentraciones pudieron estar relacionadas con la oxidación de la materia orgánica y el mayor tiempo de residencia de las aguas. Godoy (1991) señaló que en los meses de menor gasto, el río

Manzanares sufre un aumento de la temperatura que favorece la oxidación de la materia orgánica, y por ende genera una considerable demanda de oxígeno para este fin. Adicionalmente, los procesos biológicos tal como la oxidación del amonio o nitrógeno amoniacal, son una fuente importante de la demanda de oxígeno por parte de los organismos.

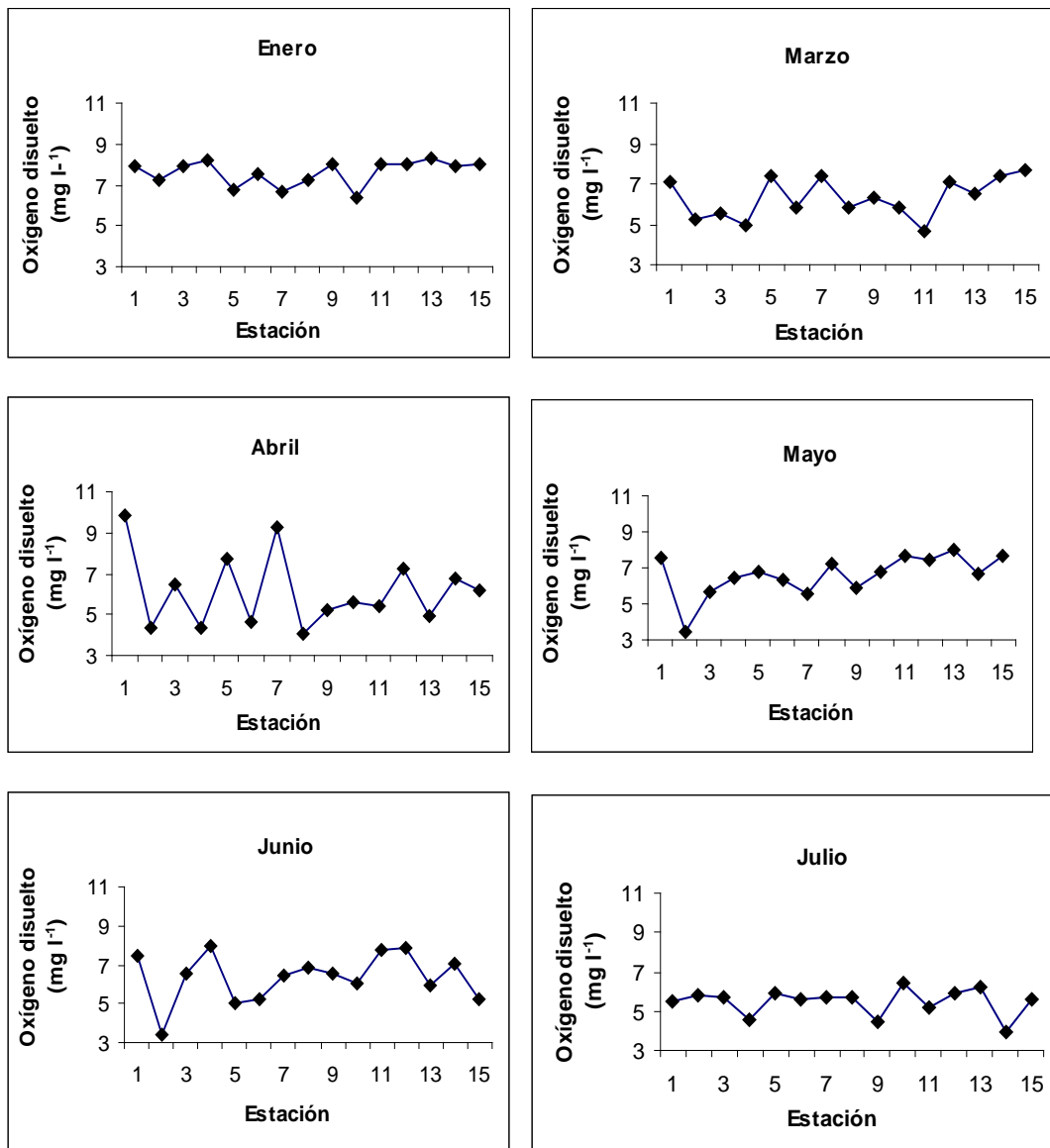


Figura 12. Variación de la concentración de oxígeno disuelto (mg l<sup>-1</sup>) del agua del río Manzanares en las estaciones 1 a 15 durante enero a julio de 2005.

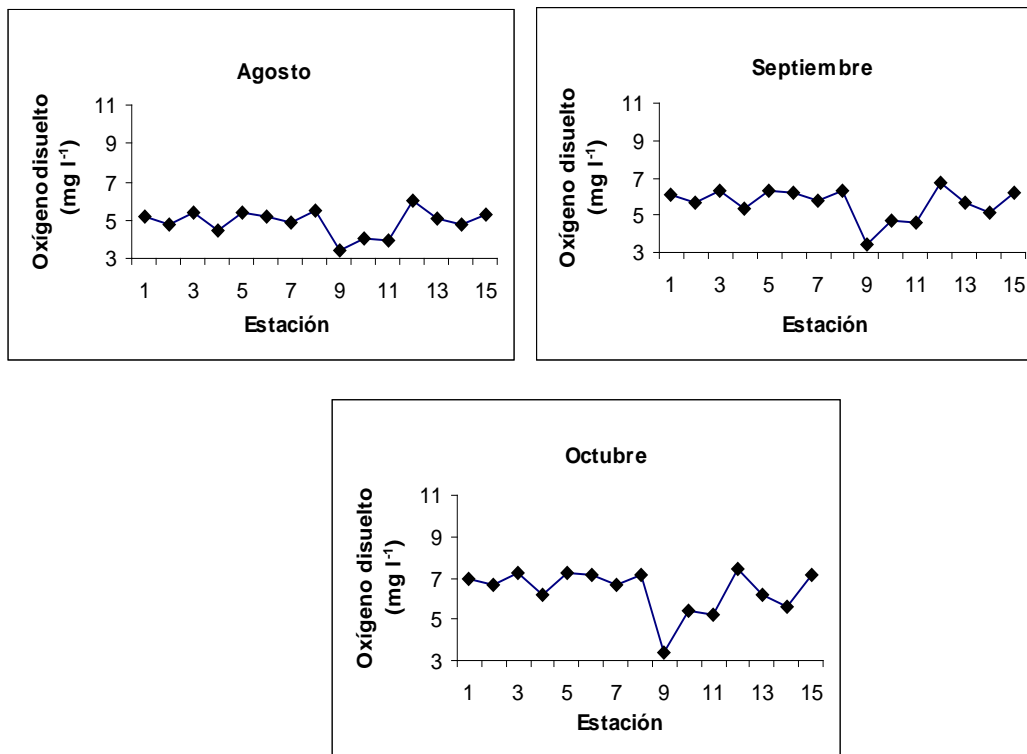


Figura 13. Variación de la concentración de oxígeno disuelto ( $\text{mg l}^{-1}$ ) del agua del río Manzanares en las estaciones 1 a 15 durante agosto a octubre de 2005.

La concentración más alta se observó en la estación 1 (Manzanares-Yoraco) en abril con valores de  $9,88 \text{ mg l}^{-1}$ , lo que se presume que sea producto de las bajas temperaturas determinadas para este mes, las cuales causaron un aumento en la solubilidad del oxígeno, lo que generó elevadas concentraciones de éste en el agua. A pesar de la carga orgánica que es vertida al río, las aguas superficiales mantienen altas concentraciones de oxígeno.

Las concentraciones de oxígeno disuelto determinadas en esta investigación son superiores a las reportadas por Martínez *et al.* (2001), quienes registraron valores entre  $2,4$  a  $5,4 \text{ mg l}^{-1}$  y por Márquez *et al.* (2002), quienes obtuvieron valores entre  $2,17$  y  $6,20 \text{ mg l}^{-1}$ . Sin embargo, los resultados alcanzados en este estudio fueron similares a los alcanzados por Gutiérrez (2005) en el mismo río, quien detectó

concentraciones de 3,92 a 9,68 mg l<sup>-1</sup>.

## Amonio

En la cuenca alta y media del río Manzanares los valores de amonio oscilaron entre no detectados y 27  $\mu\text{mol l}^{-1}$  (Figs. 14 y 15). El valor mínimo fue observado en el mes de marzo (0,47  $\mu\text{mol l}^{-1}$ ) en las estaciones 2 y 9, lo que pudo deberse a que en el período de lluvia el incremento del caudal del río, provoca una disminución en el tiempo de residencia de la materia orgánica nitrogenada en el ecosistema, generando una menor actividad heterotrófica para su oxidación y por ende una baja concentración de amonio (Martínez *et al.*, 2001). El valor máximo fue observado en el mes de mayo (27  $\mu\text{mol l}^{-1}$ ) en la estación 10, cuando se iniciaban las lluvias y la materia orgánica presente se encontraba aún acumulada oxidándose, produciendo la liberación de amonio en el agua. Parte de la materia orgánica puede provenir de residuales domésticos e industriales de la planta de tratamiento de río Arenas, dado a que la misma no se encontraba en funcionamiento para el momento del estudio, el agua que entraba en dicha planta salía sin ningún tratamiento. También pudo deberse al caudal del río, ya que al disminuir en época de sequía se hace menos intenso el lavado de los suelos, en consecuencia el amonio producido y aportado se concentra, de allí la mayor concentración en este mes.

Meybeck (1982) sugiere un rango para la concentración de amonio en aguas tropicales de 0,39-2,22  $\mu\text{mol l}^{-1}$ . Tomando en cuenta este rango, las aguas del río Manzanares sobrepasan esta condición.

Los resultados obtenidos en este estudio fueron menores a los reportados por León (1995) en la cuenca media del río Manzanares, quien encontró valores muy elevados de amonio (33  $\mu\text{mol l}^{-1}$ ), atribuyéndolo al período de menor caudal del río, lo cual permite que el amonio se concentre más en el medio; pero fueron superiores a

los reportados por Márquez (1997), Martínez *et al.* (2001), Mata (2004) y por Gutiérrez (2005), quienes encontraron en estudios realizados en el río Manzanares, valores de amonio entre 13,7 y 14,30  $\mu\text{mol l}^{-1}$ , 0,95 y 9,89  $\mu\text{mol l}^{-1}$ , 0,07 y 10,29  $\mu\text{mol l}^{-1}$ , y 0,1 y 14,43  $\mu\text{mol l}^{-1}$  respectivamente, atribuyéndolo al período de menor caudal del río, mayores temperaturas, menores pH y concentraciones de oxígeno disuelto, así como mayor tiempo de residencia de las aguas; factores que propician la descomposición paulatina de la materia orgánica, donde el amonio proviene, principalmente, de la mineralización del nitrógeno orgánico por los organismos heterotróficos y por la excreción del zooplancton y otros invertebrados, lo cual es utilizado por los organismos fotosintetizadores como fuente de nitrógeno y es oxidado por las bacterias nitrificantes (Gardner *et al.*, 1991; Godoy, 1991; Senior, 1994).

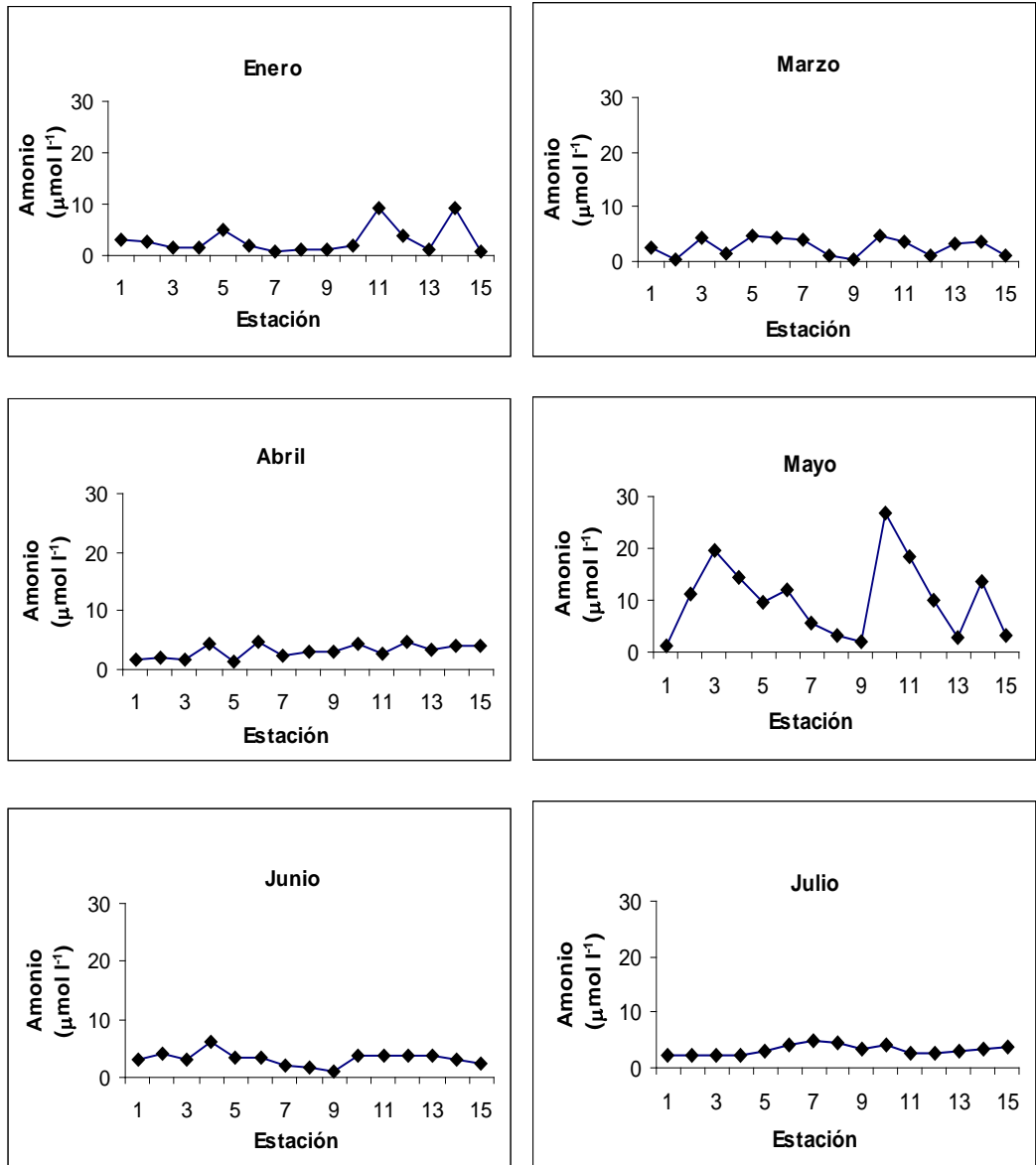


Figura 14. Variación de la concentración de amonio ( $\mu\text{mol l}^{-1}$ ) del agua del río Manzanares en las estaciones 1 a 15 durante enero a julio de 2005.



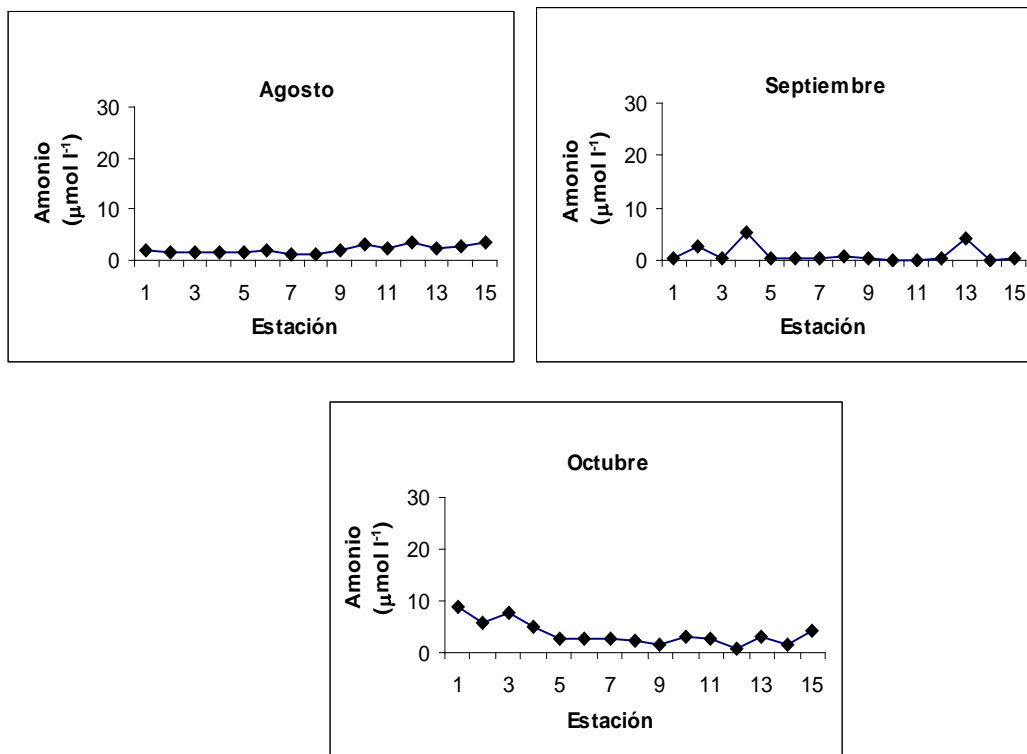


Figura 15. Variación de la concentración de amonio ( $\mu\text{mol l}^{-1}$ ) del agua del río Manzanares en las estaciones 1 a 15 durante agosto a octubre de 2005.

### Nitrito

Durante el lapso de estudio, la concentración del nitrito osciló entre no detectado y  $5,9 \mu\text{mol l}^{-1}$  (Figs. 16 y 17). El valor mínimo ( $0,02 \mu\text{mol l}^{-1}$ ) fue observado en mayo y junio, en las estaciones 1 y 7, respectivamente, lo que pudo deberse a que estas estaciones no han sufrido influencia de vertidos de importancia que pueda alterar la calidad del agua, también se le puede atribuir a que la concentración de nitrito no aumenta notablemente ya que éste es un compuesto inestable el cual es oxidado rápidamente a nitrato. El máximo ( $5,19 \mu\text{mol l}^{-1}$ ) se encontró en la estación 5 (La Fuente, estación perteneciente a la cuenca alta) en enero, coincidiendo con la época de poca precipitación, lo que ocasiona un descenso en el cauce del río así como un mayor tiempo de residencia de las aguas y posterior

oxidación de la materia orgánica.

Los resultados de esta investigación fueron superiores a los reportados por Meybeck (1982) en aguas dulces quien reportó concentración de nitrito entre 0 y 1  $\mu\text{mol l}^{-1}$ , también a los registrados por Godoy (1991) quien obtuvo valores menores o iguales a 0,58  $\mu\text{mol l}^{-1}$  y por Mata (2004), quien obtuvo concentraciones entre 0,01 y 0,63  $\mu\text{mol l}^{-1}$ , pero fueron inferiores a los encontrados por Gutiérrez (2005) quien reportó valores de nitritos entre 0,02 y 6,99  $\mu\text{mol l}^{-1}$  para la cuenca alta del río Manzanares.

El nitrito representa la forma intermedia en los procesos redox del nitrógeno entre el amonio y el nitrato. Es utilizado como indicador de contaminación en estudios de aguas, ya que es altamente tóxico para peces y otras especies acuáticas (Gutiérrez, 2005).

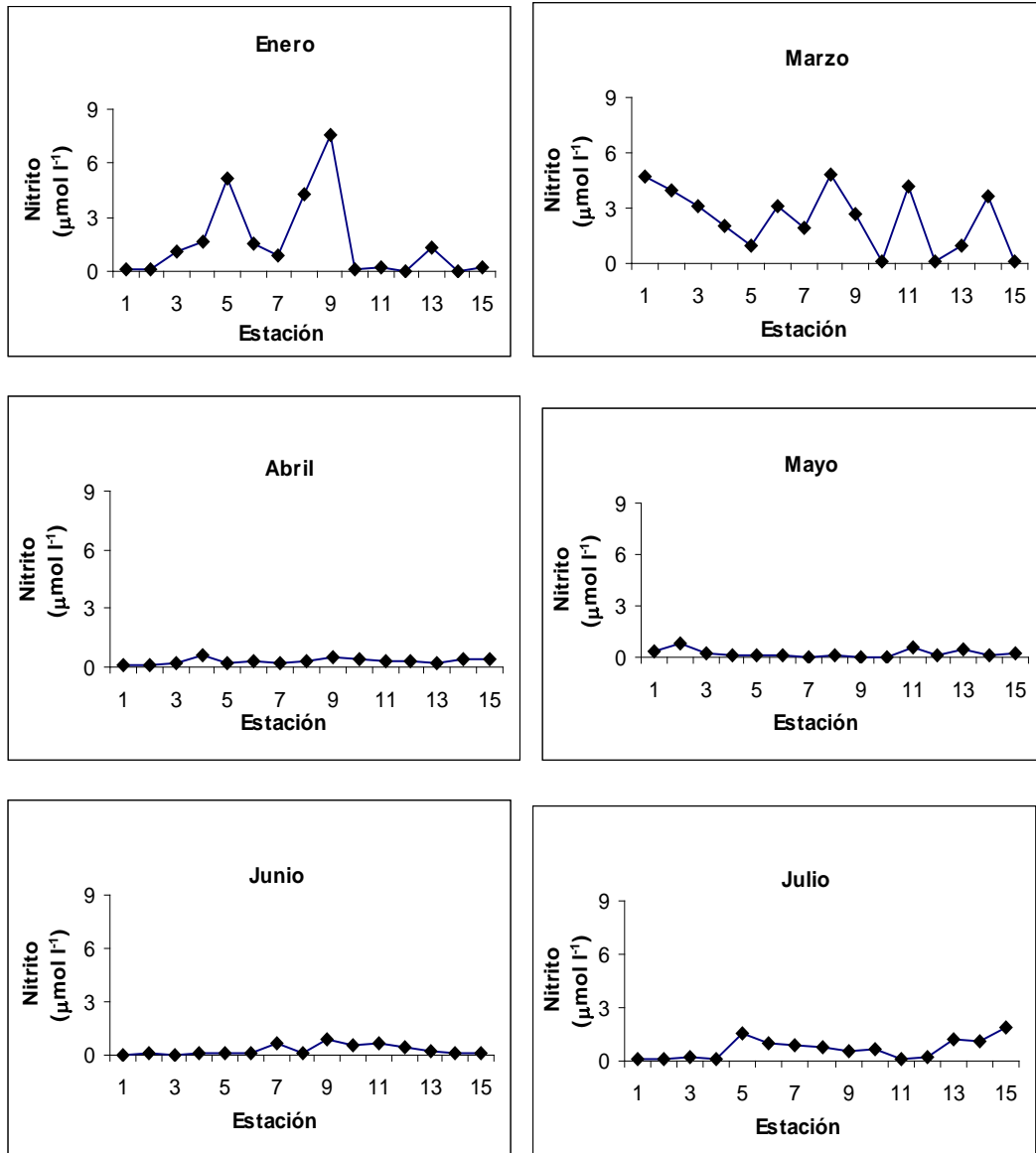


Figura 16. Variación de la concentración de nitrito ( $\mu\text{mol l}^{-1}$ ) del agua del río Manzanares en las estaciones 1 a 15 durante enero a julio de 2005.

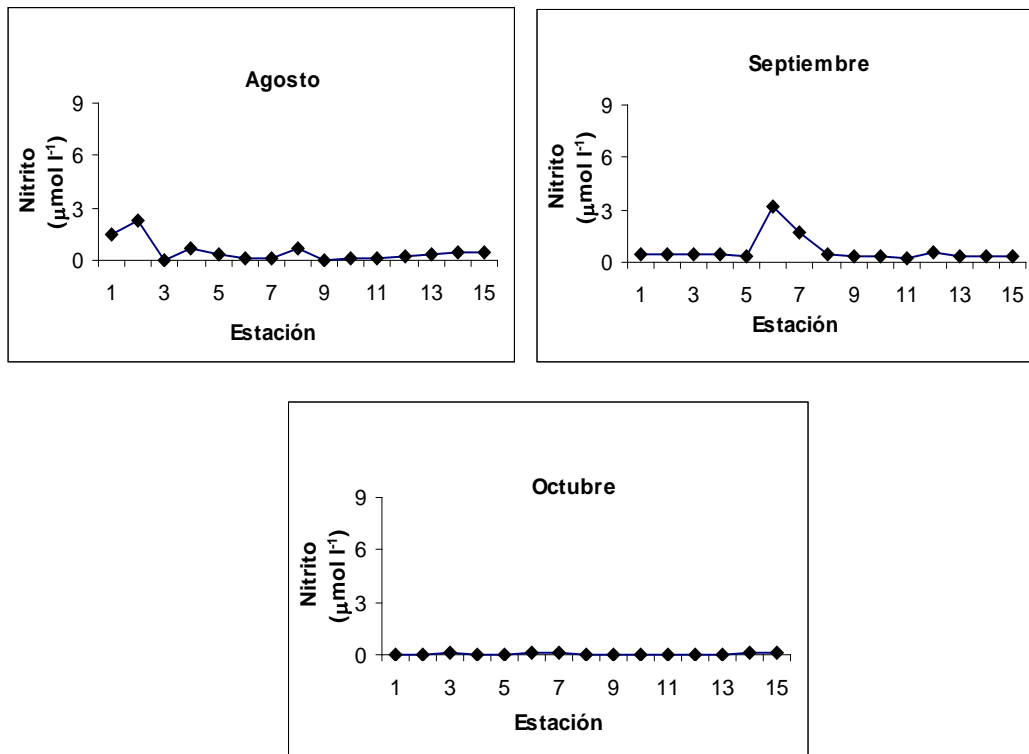


Figura 17. Variación de la concentración de nitrito ( $\mu\text{mol l}^{-1}$ ) del agua del río Manzanares en las estaciones 1 a 15 durante agosto a octubre de 2005.

## Nitrato

El nitrato osciló entre 1,98 y 64,96  $\mu\text{mol l}^{-1}$  (Figs. 18 y 19), valores que son superiores al promedio señalado para aguas de río (1,21  $\mu\text{mol l}^{-1}$ ) por Meybeck (1982). Estos resultados se pueden atribuir no sólo a las diferentes actividades humanas e industriales, sino también a las actividades agrícolas relacionadas con la aplicación de fertilizantes químicos.

Yu *et al.* (2003) explican que altas concentraciones de nitrato pueden ser atribuidas al crecimiento de la población y a la expansión de las ciudades, los cuales traen como consecuencia un incremento de las actividades que contribuyen con la

degradación de los ecosistemas; especialmente, la agricultura (muy desarrollada en los alrededores del río Manzanares), ya que los fertilizantes en general contienen gran cantidad de nitrógeno, del cual sólo el 27-30% es utilizado con eficiencia por los cultivos llegando a perderse alrededor del 60%, que puede llegar a la masa de agua por procesos de absorción, drenaje y escorrentías.

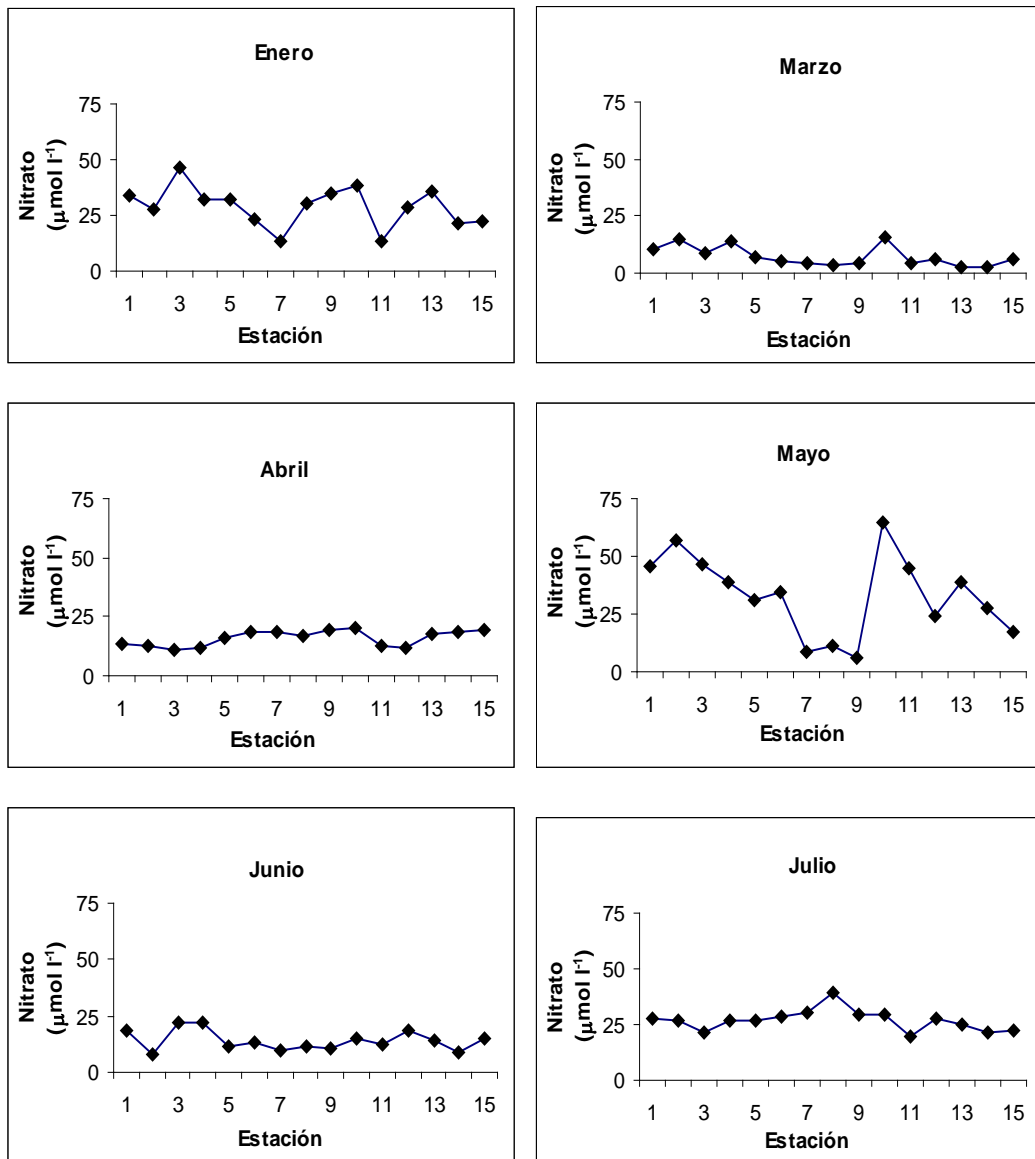


Figura 18. Variación de la concentración de nitrato ( $\mu\text{mol l}^{-1}$ ) del agua del río Manzanares en las estaciones 1 a 15 durante enero a julio de 2005.

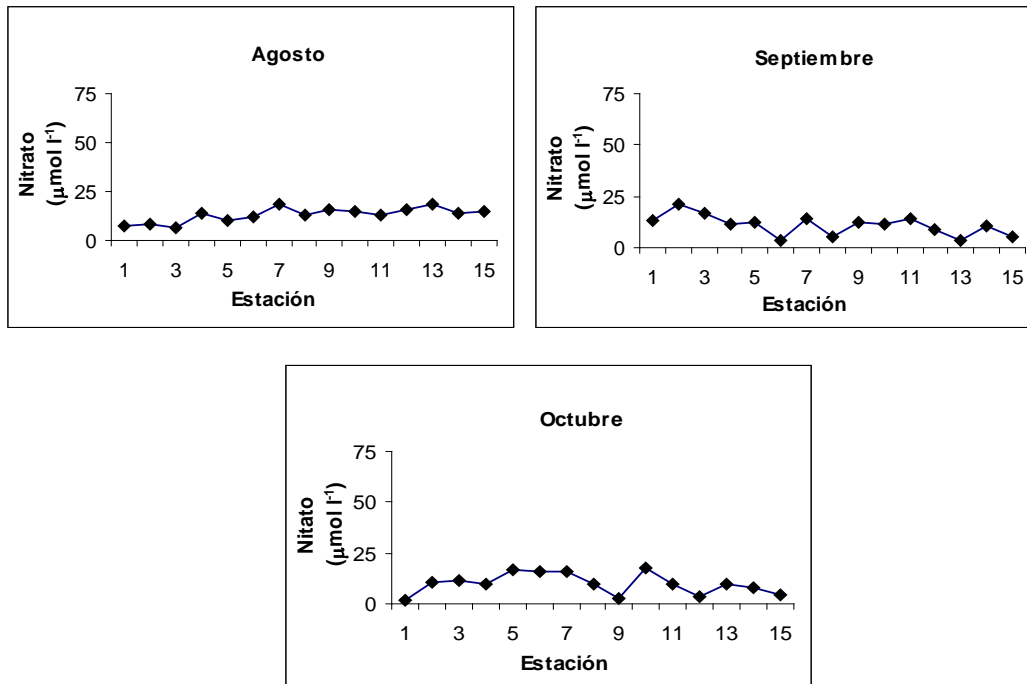


Figura 19. Variación de la concentración de nitrato ( $\mu\text{mol l}^{-1}$ ) del agua del río Manzanares en las estaciones 1 a 15 durante agosto a octubre de 2005.

Los resultados obtenidos en esta investigación fueron superiores a los reportados por Gutiérrez (2005), quien obtuvo valores de nitratos entre 1,66 y 38,95  $\mu\text{mol l}^{-1}$  para la cuenca alta del río Manzanares; Martínez *et al.* (2001) obtuvieron valores altos que oscilaron entre 14,63-22,69  $\mu\text{mol l}^{-1}$  y de igual forma, Mata (2004) publicó concentraciones de nitrato entre 0,28-25,03  $\mu\text{mol l}^{-1}$ , todos ellos lo atribuyen a las diversas actividades antropogénicas y las aguas negras con cantidades apreciables de materia orgánica.

### Fosfato

Las concentraciones de fosfato para las estaciones estudiadas fluctuaron entre no detectadas y 3,75  $\mu\text{mol l}^{-1}$  (Figs. 20 y 21). El valor mínimo (0,08  $\mu\text{mol l}^{-1}$ ) fue

observado en abril en la estación 8 y el máximo fue en la estación 2 (quebrada La Sequía) en mayo ( $3,75 \mu\text{mol l}^{-1}$ ), lo que pudo deberse a las lluvias acaecidas en este mes que aumentan las descargas de materia orgánica al río y los desechos de los efluentes domésticos, los cuales pueden poseer altas concentraciones de detergentes fosforados, que generan el aumento de este nutriente en el agua.

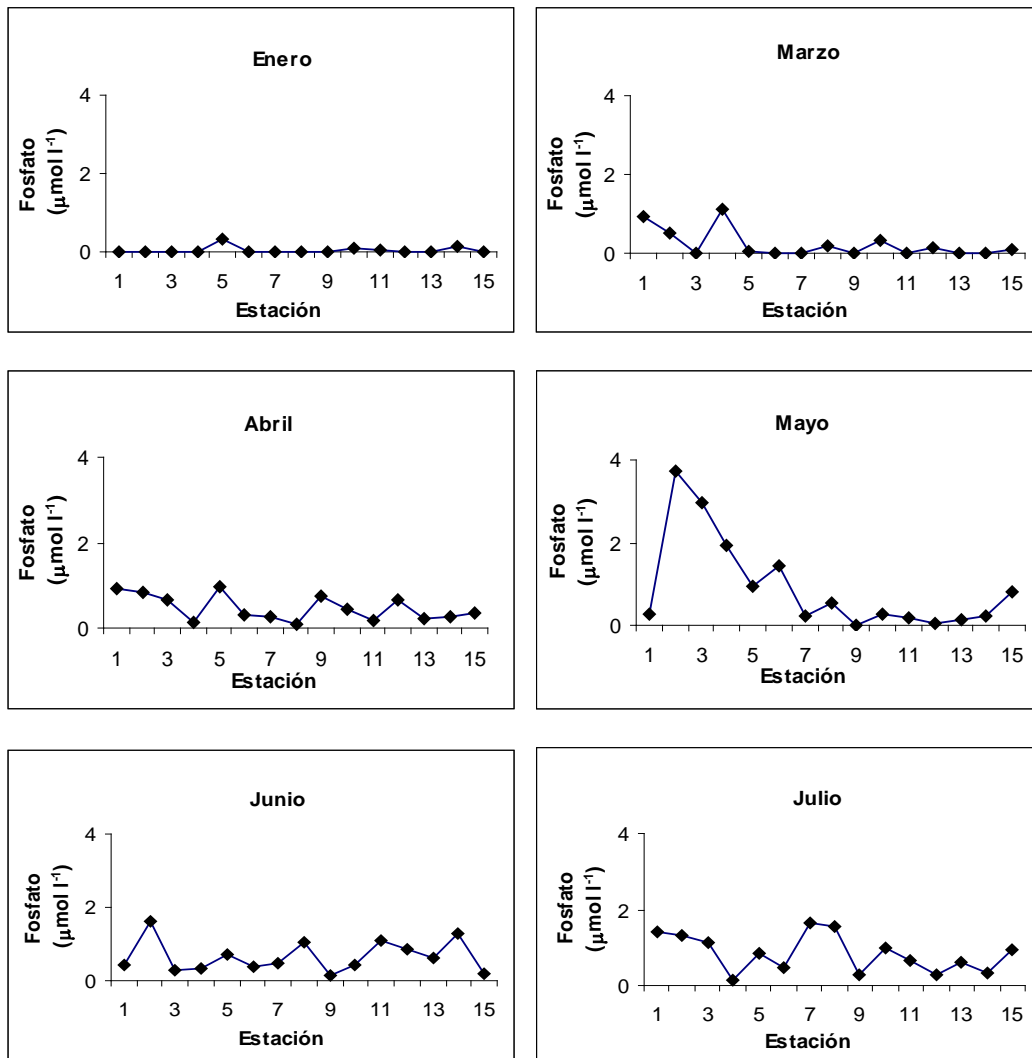


Figura 20. Variación de la concentración de fosfato ( $\mu\text{mol l}^{-1}$ ) del agua del río Manzanares en las estaciones 1 a 15 durante enero a julio de 2005.

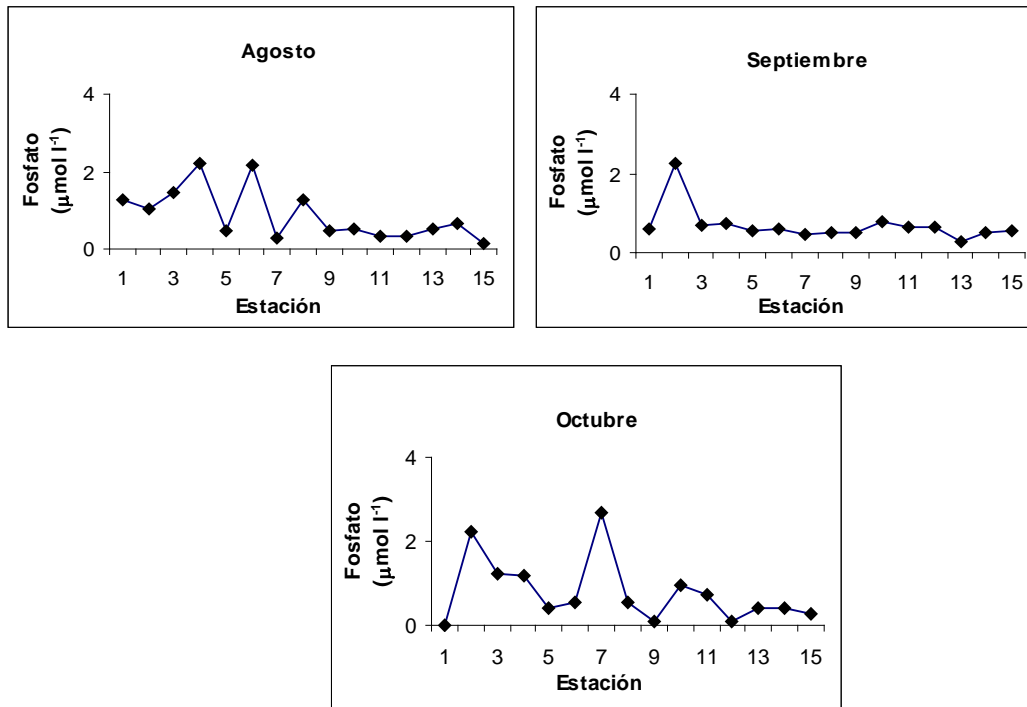


Figura 21. Variación de la concentración de fosfato ( $\mu\text{mol l}^{-1}$ ) del agua del río Manzanares en las estaciones 1 a 15 durante agosto a octubre de 2005.

Los resultados obtenidos en este estudio fueron inferiores a los reportados por Senior y Godoy (1990), donde se obtuvieron valores máximos de  $7,0 \mu\text{mol l}^{-1}$  en su estudio físico-químico del río Manzanares y superiores a los obtenidos por Meybeck (1982), Martínez *et al.* (2001), Mata (2004) y por Gutiérrez (2005), quienes obtuvieron niveles de fosfato entre  $0,03$  y  $0,8 \mu\text{mol l}^{-1}$ ;  $2,80 \mu\text{mol l}^{-1}$ ;  $1,91 \mu\text{mol l}^{-1}$ ; y  $0,36 \mu\text{mol l}^{-1}$  respectivamente, los cuales lo atribuyen a las grandes descargas de compuestos fosfatados en el río, producto de las actividades antropogénicas que se desarrollan en este cuerpo de agua, conllevándolo así al deterioro del mismo.

### **Relación entre los recuentos bacterianos y los parámetros físicos-químicos**



Los CT y CF presentaron relación negativa con el oxígeno disuelto y positiva con el fosfato (apéndices 9 y10); mientras que los clostridios presentaron relación negativa con el pH (apéndice 11).

Los CT y CF coincidieron con la disminución de la concentración de oxígeno disuelto, probablemente, ocasionada por la oxidación de gran cantidad de materia orgánica.

La relación positiva de los CT y CF con el fosfato pudo deberse a la existencia de fuentes puntuales de contaminación que posiblemente involucran el uso de fertilizantes, vertidos de aguas residuales, agua producto del lavado de ropa y materia orgánica, lo que ocasiona la liberación hacia el agua del fosfato, generando así el aprovechamiento de su abundancia por parte de las bacterias, dado a que es un elemento de gran importancia para la síntesis de constituyentes celulares, tal como los ácidos nucleicos, proteínas, ATP y ADP, esenciales en sus reacciones fisiológicas (Prescott *et al.*, 1999).

Las altas densidades de clostridios coincidieron con bajos valores de pH, que suelen ocurrir en áreas donde hay intensa descomposición de materia orgánica y poca renovación del agua, con el consecuente consumo de oxígeno y producción de ácido carbónico.

## CONCLUSIONES

Las aguas del río Manzanares presentan contaminación de origen fecal en todas las estaciones y los meses de estudio, evidenciada por las altas concentraciones de CT, CF y clostridios detectadas.

Durante el período de estudio el NMP de coliformes totales y coliformes fecales sobrepasó los límites establecidos en la Gaceta Oficial de la República de Venezuela para aguas de contacto humano total, lo que está directamente relacionado con el aporte que se da continuamente en el agua del río Manzanares.

El NMP de clostridios en las aguas del río Manzanares superó el valor máximo sugerido por la Organización Mundial de la Salud, confirmando así su baja calidad bacteriológica.

El río Manzanares representa un riesgo para la salud de las personas que las utilizan con diversos fines, debido a la presencia de un elevado índice de bacterias indicadoras de contaminación fecal.

Las aguas del río Manzanares constituyen una amenaza para los usuarios por el riesgo de adquirir enfermedades diversas, ya que se identificaron bacterias de los géneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Proteus*, *Shigella*, *Salmonella*, *Klebsiella* y *Pseudomonas*, los cuales incluyen bacterias patógenas.

La presencia de *Salmonella* sp. y *Shigella* sp. en las muestras de agua estudiadas debe ser tomada como una señal de alerta del deterioro progresivo del río Manzanares.

Los valores de temperatura no cumplieron con los límites permitidos para aguas clasificadas como subtipo 4A, de acuerdo a la Gaceta Oficial de la República de Venezuela (1995).

Los valores de oxígeno disuelto se encontraron dentro de los límites establecidos por la Gaceta Oficial, a pesar de la carga orgánica que se oxida permanentemente.

Las aguas del río Manzanares indican contaminación de origen doméstico y agrícola, debido a las altas concentraciones de amonio, nitrito, nitrato y fosfato, superiores a los valores permitidos por la Gaceta Oficial para esta agua.

## **RECOMENDACIONES**

Realizar planes de monitoreo periódico para comprobar la calidad bacteriológica de estas aguas, las cuales son utilizadas a diario por los habitantes de estas zonas.

Realizar talleres para orientar y alertar a la población en cuanto al estado actual del río y así crear conciencia con respecto al mantenimiento que se le tiene que dar tanto para beneficios de ellos como para el turismo del estado.

Construir sistemas de colectores y de tratamiento de aguas negras de las poblaciones ubicadas en los márgenes del río, ya que esto es uno de los factores principales de contaminación que este cuerpo de agua presenta.

Se hace necesaria la reactivación y el control del funcionamiento de la laguna de oxidación existente en la ciudad de Cumanacoa, la cual no es capaz de tratar los volúmenes elevados de desechos provenientes de esta zona.

Los organismos competentes deben hacer cumplir sus leyes de manera que se puedan establecer planes para la recuperación.

## BIBLIOGRAFÍA

- Alvarado, J. 2000. Distribución y comportamiento de los hidrocarburos alifáticos en aguas superficiales de la cuenca baja del río Manzanares. Trabajo de Pregrado. Departamento de Química, Universidad de Oriente, Cumaná; Venezuela.
- American Public Health Association (APHA). 1992. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. Eighteenth edition. APHA – AWWA – WEF. D.C.; Washington, USA.
- American Public Health Association (APHA). 1995. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. Nineteenth edition. APHA – AWWA – WEF. D.C.; Washington, USA.
- Awvah, E.; Anohene, F.; Asante, K.; Lubberding, H. y Gijzen, H. 2001. Environmental conditions and pathogen removal in macrophyte and algal-based domestic wastewater treatment systems. *Water Sci. Techn.*, 44 (66): 11-18.
- Barrios, A. 1996. *Microbiología general*. Universidad de Los Andes. Consejo de Publicaciones. Mérida, Venezuela.
- Barrios, A. y Cañizares, N. 2001. Estudio preliminar de la calidad bacteriológica de las aguas del río Neverí, Barcelona, Venezuela. *Saber*, 13 (2): 97-104.
- Baselice, A.; García, R.; Saavedra, I. y Giner, G. 2002. Análisis de la distribución y el transporte de mercurio en ríos bajo explotación minera con aplicación a la

cuenca del Caroní. *Rev. Fac. Ing. UCV.*, 17 (2): 83-93.

Baudisová, D. 1997. Evaluation of *Escherichia coli* as the main indicator of faecal pollution. *Water Sci. Tech.*, 35 (11-12): 333-336.

Benítez, S. 2004. Determinación de la carga orgánica impuesta al río Manzanares en el periodo febrero-junio 2004. Trabajo de Grado (T.S.U. Química Aplicada). IUT-Cumaná, Venezuela.

Bitton, G. y Harvey, R. 1992. Transport of pathogens through soil and aquifers. In: *Environmental Microbiology*. Wiley-Liss (eds.). New York. pp 103-124.

Castellví, J. 1973. *Programa sobre el estudio de la contaminación litoral y los mecanismos de autodepuración*. Barcelona, España.

Cuéllar, N. 2001. La contaminación del agua en el Salvador: Desafíos y respuestas institucionales. *Prog. Salvador. Invest. Des. Med. Amb.*, 43: 1-16.

Divo, A. 1990. *Microbiología médica*. Cuarta edición. Nueva Editorial Interamericana. México.

Durán, C. 2000. Evaluación colimétrica de la Bahía de Mochima. Agosto-Diciembre. Trabajo de Pregrado. Departamento de Biología, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.

Farmer, J.; Davis B.; Hickman-Brenner. F.; McWhorter, A.; Huntley-Carter, G.; Asbury, M.; Riddle, C.; Wathen-Grady, H.; Elias, C. y Fanning, G.1985. Biochemical identification of new species and biogroups of Enterobacteriaceae isolated from clinical specimens. *J. Clin. Microbiol.*,

21(1): 46-76.

Food and Agriculture Organization (FAO). 1999. *La contaminación un problema mundial para la pesca*. FAO. Roma.

Ferguson, C.; Coote, B.; Ashbolt, N. y Stevenson, I. 1996. Relationships between indicators, pathogens and water quality in an estuarine system. *Water Res.*, 30 (9): 2045-2054.

Fernández, E. 1971. Algunas observaciones sobre la contaminación de las aguas costeras en la ciudad de Cumaná. Trabajo de Ascenso. Departamento de Oceanografía Química. Instituto Oceanográfico de Venezuela, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.

Fernández, E. 1971. *Algunos aspectos sobre la contaminación del río Manzanares por desechos industriales*. IX Reunión de Lab. Mar. Ins. del Caribe. Cumaná. Venezuela.

Fernández, E. 1984. Contaminación de los ríos Guasdua y Manzanares, edo. Sucre, Venezuela. *Bol. Inst. Oceanog. Univ. Oriente*, 23 (1-2): 113-128.

Fernández, E. 1992. *Evolución histórica de la contaminación bacteriana en las costas del estado Sucre*. II Congreso Científico. UDO. Guatamare, Isla de Margarita. Nueva Esparta. Venezuela.

Gaceta Oficial de la República de Venezuela. 1995. Normas para la clasificación y el control de la calidad de los cuerpos de agua y vertidos o efluentes líquidos. *Resolución N° 5 021. Decreto 883. Caracas-Venezuela*.

- Gardner, W.; S. Seitzinger y J. Malczyk. 1991. The effects of sea salts on the forms of nitrogen released from effect ammonium flux. *Estuaries*, 14 (2): 157-166.
- Gerardi, M. y Horsfall, F. 1990. *Wasterwater biology. The microfile*. Printed by Imperial Printing Co.
- Gesche, E., Vallejo, M. y Sáez, T. 2003. Eficiencia de anaerobios sulfito-reductores como indicadores de calidad sanitaria del agua. Método del Número Más Probable (NMP). *Arch. Med. Vet. XXXV, 1*: 99-107.
- Gibbs, B. y Freame, B. 1965. Methods for the recovery of Clostridia from foods. *J. Appl. Bact.*, 28: 95-111.
- Godoy, G. 1991. Estudio espacio-temporal de los parámetros físico-químicos y biológicos en la zona estuarina del río Manzanares, Cumaná, estado Sucre. Trabajo de Postgrado. Instituto Oceanográfico de Venezuela, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.
- González, I. 1980. *El ecocidio del Manzanares*. La Primogénita. E. A. P. N° 1.
- Gutiérrez, A. 2005. Evaluación físico-química y microbiológica de las aguas superficiales de la cuenca alta, media y baja del río Manzanares durante el periodo Mayo 2002-Junio 2003. Trabajo de Postgrado. Instituto Oceanográfico de Venezuela, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.
- Gutiérrez, J. y Rivero, L. 2000. Clasificación de las aguas superficiales del río Manzanares, tramo Cumanacoa-Cumaná, Trabajo de Grado (T.S.U. Química Aplicada). IUT-Cumaná. Cumaná, Venezuela.



- Hadas, O.; Shteinman, B. y Pinkas, R. 2000. Distribution of fecal coliforms in the Jordan River mouth originating from anthropogenic activities in the watershed. *Water Res.*, 42 (1-2): 129-133.
- Iabichella, M. 1993. Evaluación bacteriológica del sector marino-costero San Luís-Guapo, Cumaná-Venezuela, según los criterios para aguas de contacto humano total y parcial. Trabajo de Postgrado. Instituto Oceanográfico de Venezuela, Universidad de Oriente, Cumaná.
- Joklik, W.; Willett, H.; Anos, D. y Wilfrert, C. 1995. *Zinsser Microbiología*. Segunda edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina.
- Koneman, E.; Jandar, W.; Allen, S.; Sommers, H.; Dowell, V. y Winn, W. 1992. *Diagnóstico microbiológico*. Tercera edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina.
- Koneman, E.; Allen, S.; Dowel, V.; Janda, W.; Somers, H. y Winm, W. 1999. *Diagnóstico microbiológico*. Quinta edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires-Argentina. 909 pp.
- Koroleff, F. 1969. Direct determination of ammonia in natural waters as indophenol blue. *Int. Counc. Explor. Seg. C.M.*, 9: 19-22.
- Lemus, R. y Bastardo, J. 1972. Enterobacterias en las aguas del río Manzanares de Cumaná (estado Sucre, Venezuela). *Bol. Inst. Oceanog. Univ. Oriente*, 11 (2): 107-114.
- León, I. 1995. Distribución y comportamiento de los metales pesados (Fe, Mn, Ni, Cr, Cu, Cd, Pb, y Zn) en la cuenca baja y pluma del río Manzanares Cumaná-Venezuela, durante el período marzo-noviembre de 1994. Trabajo de Postgrado. Instituto Oceanográfico de Venezuela, Universidad de Oriente,

Cumaná, Venezuela.

León, I.; Senior, W. y Martínez, G. 1997. Comportamiento del hierro, cromo, cadmio y plomo total en las aguas superficiales del río manzanares, Venezuela, durante los periodos de sequía y lluvia en el año 1994. *Carib. J. Sci.*, 33 (1-2): 105-111.

López, M. y Fernández, E. 1967. Informe sobre la mortalidad de peces en el río Manzanares ocurrida los días 7 y 8 de abril de 1966, para el MAC y el IFPA. Págs. 1-5.

Mac Faddin, J. 1990. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Cuarta edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires.

Maloney, A. 1966. El delta del río Manzanares. Pasado, presente y futuro. *Lagena*, 10: 3-6.

Márquez, A. 1997. Comportamiento y distribución de algunos metales pesados en la fracción disuelta y particulada en aguas superficiales del río Manzanares, estado Sucre, Venezuela. Trabajo de Pregrado. Departamento de Química. Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.

Márquez, A.; Senior, W.; Martínez, G. y Castañeda, J. 2002. Environmental conditions of the water of the Manzanares River, Cumaná-Sucre, Venezuela. *Bol. Inst. Oceanog., Univ. Oriente*, 41 (1-2): 15-24.

Martínez, G. Alvarado, J. y Senior, W. 2001. Estudio físico-químico de las aguas superficiales de la cuenca baja y pluma del río Manzanares. *Interciencia*, 26

(8): 342-351.

Mata, F. 2004. Determinación del grado de contaminación del río Manzanares (Cumaná, Edo. Sucre), mediante el análisis físico-químico y bacteriológico de sus aguas. Tesis de Pregrado. Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.

Mecray, E. y Buchholtz, M. 1999. Contaminant distribution and accumulation in sediments of Long Island Sound. USGS; Geological Division. FS 113-199.

Meybeck, M. 1982. Carbon, nitrogen, and phosphorus transport by world rivers. *Amer. J. Sci.*, 282: 401-450.

Ministerio del Poder Popular para el Ambiente (MPPAMB), 2005. Registros pluviométricos del río Manzanares, estación La Granja Cumanacoa Dirección de Hidrología y Meteorología. Cumaná, Estado Sucre, Venezuela.

Murphy, L. y Riley, J. 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chem. Acta*, 193: 265-275.

Núñez, M.; Gómez, M. y Carmona, O. 1991. *Microbiología médica*. Impreso en la Imprenta Universitaria de la UCV. Caracas, Venezuela.

Ochoa, J. 1971. *Contaminación del río Manzanares y laguna de oxidación del Central Cumanacoa*. Informe N° 55 del Servicio de Hidrología y Riego. IFPA. Barquisimeto, Venezuela.

Okuda, T.; Fernández, E. y Bonilla, J. 1970. Informe técnico enviado al Central Azucarero de Cumanacoa.

- Ortiz, Y. 2007. Calidad bacteriológica del agua en el sector comprendido entre la “desembocadura del río Manzanares” y playa “los Bordonos” (zona costera de Cumaná), estado Sucre, Venezuela. Trabajo de Pregrado. Departamento de Biología, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.
- Pelczar, M.; Reid, R. y Chan, E. 1996. *Microbiología*. Segunda edición. McGraw-Hill. México. Distrito Federal.
- Pipes, W. (ed). 1988. *Bacterial indicators of pollution*. C.R.C.Press, Inc. Florida, USA.
- Polo, E.; Figueras, M.; Inza I.; Sala, J. y Guarro, J. 1998. Relationship between the presence of *Salmonella* and the indicators of faecal pollution in aquatic habitats. *FEMS Microbiol. Lett.*, 160: 253-256.
- Prescott, L., Harley, J. y Klein, D. 1999. *Microbiología*. Cuarta edición. MacGraw-Hill. Madrid, España.
- Quentin, N. y Russell, S. 1991. *Bacteriología y micología médica*. Segunda edición. McGraw-Hill. México.
- Rivas, K. 2006. Calidad bacteriológica del agua del río Manzanares en el sector comprendido entre río Brito y el aliviadero El Peñón, estado Sucre, Venezuela. Trabajo de Pregrado. Departamento de Biología, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.
- Sánchez, H., Vargas, M. y Méndez, J. 2000. Calidad bacteriológica del agua para consumo humano en zonas de alta marginación de Chiapas. *Salud Públ.*

*México*, 42 (5): 379-405.

Senior, W. 1994. *Diagnóstico ambiental del río Manzanares*. Informe Técnico. Departamento de Oceanografía, Instituto Oceanográfico de Venezuela. Universidad de Oriente.

Senior, W. y Godoy, G. 1990. Estudio físico-químico del río Manzanares, Cumaná, Venezuela. *Bol. Inst. Oceanog. Univ. Oriente*, 29 (1- 2): 161-172.

Steel, R. y Torrie, J. 1985. *Bioestadística. Principios y Procedimientos*. McGraw-Hill. México.

Strickland, J. y Parsons, T. 1972. A practical handbook of seawater analysis. *Bull. Fish. Res. Board. Can.*, 167: 1-13.

Tuchkovenko, Y. y Rondón, S. 2002. Estudio del comportamiento de la contaminación bacteriana en la bahía de Cartagena. *CIOH*, 20: 56-66.

Tréguer, P. y Le Core, P. 1975. *Manuel d' Analyse des sels Nutritifs dans l' eau de mer (utilization de l' autoanalyzer II. Technicon, Lab. Oceanog. Chim.)* Université de Bretagne Occidentale. 2<sup>e</sup> Edition. Bretagne.

World Health Organization (WHO). 1999. Health-based monitoring of recreational waters: The feasibility of a new approach (The “Anapolis protocol”). Italia. Volumen I.

Wood, E.; Armstrong, I. y Richards, F. 1976. Determination of nitrate in sea water. *Mar. Res.*, 11: 87-96.

Yu, S.; Shang, J.; Zhao, J. y Guo, H. 2003. Factor analysis and dynamics of water quality of the Shongua River, Northeast China. *Water, Air, Soil Pollut.*, 144: 159-169.

Zapata, Y. 2004. Evaluación bacteriológica de la región Marino Costera del Golfo de Cariaco, sector Oriental, estado Sucre, Venezuela. Tesis de Pregrado. Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.

## APÉNDICES

Apéndice 1. Estaciones establecidas en las cuencas alta y media del río Manzanares.

<b>Cuenca</b>	<b>Estación</b>	<b>Localizado en:</b>
Alta	1	Manzanares-Yoraco
Alta	2	Quebrada La Sequía
Alta	3	Río La Cuesta
Alta	4	Quebrada Orinoco
Alta	5	La Fuente
Alta	6	Río Aricagua
Media	7	Puente de Cumanacoa
Media	8	Río Caribe
Media	9	Río Arenas
Media	10	Después de la Planta de Tratamiento
Media	11	Unión Manzanares-Cedeño
Media	12	Río Tataracual
Media	13	Manzanares-Tataracual
Media	14	Edén del Niño
Media	15	Sector Areneras

Apéndice 2. Resumen del análisis de varianza para las densidades de coliformes totales, coliformes fecales y clostridios totales (NMP/100 ml) según las estaciones y los meses.

<b>Parámetros</b>	<b>F<sub>s</sub> (estaciones)</b>	<b>F<sub>s</sub> (muestreos)</b>
Coliformes totales	2,20 **	6,24 ***
Coliformes fecales	2,85 ***	5,18 ***
Clostridios totales	1,35 NS	5,52 ***

F<sub>s</sub>=Coeficiente de Fischer; NS=no significativo; \*\*=muy significativo (P<0,01);

\*\*\*= altamente significativo (P< 0,001)

Apéndice 3. Análisis *a posteriori* de Duncan aplicado al NMP/100ml de coliformes totales entre estaciones.

<b>Estaciones</b>	<b>N</b>	<b>Medias</b>	<b>Grupos</b>
Manzanares-Yoraco (1)	9	$7,28 \times 10^3$	x
Río Tataracual (12)	9	$3,67 \times 10^4$	x
Río La Cuesta (3)	9	$4,84 \times 10^4$	x
Río Arenas (9)	9	$6,37 \times 10^4$	x
Río Aricagua (6)	9	$6,69 \times 10^4$	x
Unión Manzanares-Cedeño (11)	9	$1,39 \times 10^5$	x
Río Caribe (8)	9	$1,50 \times 10^5$	x
Manzanares-Tataracual (13)	9	$1,57 \times 10^5$	x
Edén del Niño (14)	9	$1,58 \times 10^5$	x
Puente de Cumanacoa (7)	9	$1,95 \times 10^5$	x
La Fuente (5)	9	$3,03 \times 10^5$	x
Sector Areneras (15)	9	$3,29 \times 10^5$	x
Quebrada Orinoco (4)	9	$4,70 \times 10^5$	x
Desp. de la Planta de Tratamiento(10)	9	$6,07 \times 10^5$	x
Quebrada La Sequía (2)	9	$6,97 \times 10^5$	x

Apéndice 4. Análisis *a posteriori* de Duncan aplicado al NMP/100ml de coliformes totales entre meses.

<b>Mes</b>	<b>N</b>	<b>Medias</b>	<b>Grupo</b>
Enero	15	$1,40 \times 10^4$	x
Mayo	15	$2,53 \times 10^4$	x
Junio	15	$3,44 \times 10^4$	x
Octubre	15	$7,33 \times 10^4$	x
Abril	15	$1,04 \times 10^5$	x
Marzo	15	$1,66 \times 10^5$	x
Agosto	15	$3,22 \times 10^5$	x
Septiembre	15	$4,75 \times 10^5$	x
Julio	15	$8,43 \times 10^5$	x



Apéndice 5. Análisis *a posteriori* de Duncan aplicado al NMP/100ml de coliformes fecales entre estaciones.

<b>Estaciones</b>	<b>N</b>	<b>Medias</b>	<b>Grupos</b>
Río Arenas (9)	9	6,30x10 <sup>4</sup>	x
Río Aricagua (6)	9	7,44x10 <sup>4</sup>	x
Unión Manzanares-Cedeño (11)	9	1,50x10 <sup>5</sup>	x
Edén del Niño (14)	9	1,61x10 <sup>5</sup>	x
Manzanares-Tataracual (13)	9	2,04x10 <sup>5</sup>	x
Manzanares-Yoraco (1)	9	2,06x10 <sup>5</sup>	x
Río Tataracual (12)	9	2,66x10 <sup>5</sup>	x
Río Caribe (8)	9	2,70x10 <sup>5</sup>	x
La Fuente (5)	9	3,10x10 <sup>5</sup>	x
Puente de Cumanacoa (7)	9	3,39x10 <sup>5</sup>	x
Sector Areneras (15)	9	3,50x10 <sup>5</sup>	x
Río La Cuesta (3)	9	7,06x10 <sup>5</sup>	x
Desp. de la Planta de Tratamiento (10)	9	8,54x10 <sup>5</sup>	x
Quebrada Orinoco (4)	9	9,57x10 <sup>5</sup>	x
Quebrada La Sequía (2)	9	1,02x10 <sup>6</sup>	x

Apéndice 6. Análisis *a posteriori* de Duncan aplicado al NMP/100ml de coliformes fecales entre meses.

<b>Mes</b>	<b>N</b>	<b>Medias</b>	<b>Grupo</b>
Enero	15	1,63x10 <sup>4</sup>	x
Mayo	15	1,35x10 <sup>5</sup>	x
Octubre	15	1,44x10 <sup>5</sup>	x
Marzo	15	1,81x10 <sup>5</sup>	x
Junio	15	2,92x10 <sup>5</sup>	x
Agosto	15	4,67x10 <sup>5</sup>	x
Abril	15	5,14x10 <sup>5</sup>	x
Septiembre	15	7,66x10 <sup>5</sup>	x
Julio	15	1,04x10 <sup>6</sup>	x

Apéndice 7. Análisis *a posteriori* de Duncan aplicado al NMP/100ml de clostridios totales entre meses.

Mes	N	Medias	Grupo
Agosto	15	1,62x10 <sup>4</sup>	x
Marzo	15	2,05x10 <sup>4</sup>	x
Septiembre	15	2,31x10 <sup>4</sup>	x
Junio	15	2,31x10 <sup>4</sup>	x
Enero	15	2,31x10 <sup>4</sup>	x
Julio	15	2,40x10 <sup>4</sup>	x
Abril	15	2,40x10 <sup>4</sup>	x
Octubre	15	2,40x10 <sup>4</sup>	x
Mayo	15	2,40x10 <sup>4</sup>	x

Apéndice 8. Especies identificadas pertenecientes al grupo de enterobacterias en las 15 estaciones muestreadas.

	E <sub>1</sub>	E <sub>2</sub>	E <sub>3</sub>	E <sub>4</sub>	E <sub>5</sub>	E <sub>6</sub>	E <sub>7</sub>	E <sub>8</sub>	E <sub>9</sub>	E <sub>10</sub>	E <sub>11</sub>	E <sub>12</sub>	E <sub>13</sub>	E <sub>14</sub>	E <sub>15</sub>
<i>Escherichia coli</i>	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Enterobacter cloacae</i>	x	x		x			x	x	x	x	x			x	x
<i>E. agglomerans</i>	x	x			x	x		x		x			x		x
<i>E. hafniae</i>		x						x							
<i>E. aerogenes</i>		x	x						x		x	x			
<i>Citrobacter diversus</i>	x	x	x	x		x				x					x
<i>C. freundii</i>		x		x				x	x		x		x		x
<i>Serratia rubidae</i>		x		x		x				x		x	x		x
<i>S. liquefaciens</i>			x												
<i>Proteus vulgaris</i>	x	x					x			x		x	x	x	
<i>P. mirabilis</i>							x			x			x		x
<i>Shigella</i> sp.	x	x		x						x		x			
<i>Salmonella</i> sp.		x	x							x				x	x
<i>Klebsiella pneumoniae</i>				x						x					x
<i>Pseudomonas</i> sp.	x	x		x	x					x	x		x	x	x

E = estación; \* = No es enterobacteria; x= presente

Apéndice 9. Resumen de la relación entre el NMP de coliformes totales/100 ml y los parámetros físico-químicos estudiados durante enero a octubre de 2005.

<b>Variable independiente</b>	<b>a</b>	<b>b</b>	<b>r</b>	<b>Nivel de significancia</b>	<b>Probabilidad</b>
Temperatura	5,697	-0,034	-0,076	NS	0,01
pH	2,794	0,242	0,089	NS	0,01
Oxígeno disuelto	6,432	-0,260	-0,361	***	0,001
Amonio	4,878	-0,013	-0,054	NS	0,01
Nitrito	4,900	-0,095	-0,123	NS	0,01
Nitrato	4,898	-0,004	-0,048	NS	0,01
Fosfato	4,626	0,334	0,236	**	0,01

NS: No Significativo. a: intersección. b: Pendiente. r: Coeficiente de correlación.

\*\* Muy Significativo. \*\*\* Altamente Significativo.

Apéndice. 10. Resumen de la relación entre el NMP de coliformes fecales/100 ml y los parámetros físico-químicos estudiados durante enero a octubre de 2005.

<b>Variable independiente</b>	<b>a</b>	<b>b</b>	<b>r</b>	<b>Nivel de significancia</b>	<b>Probabilidad</b>
Temperatura	3,935	0,021	0,046	NS	0,01
pH	1,520	0,351	0,126	NS	0,01
Oxígeno disuelto	6,533	-0,334	-0,453	***	0,001
Amonio	4,534	-0,016	-0,066	NS	0,01
Nitrito	4,535	-0,081	-0,106	NS	0,01
Nitrato	4,491	-0,001	-0,012	NS	0,01
Fosfato	4,282	0,315	0,217	*	0,05

NS: No Significativo. a: intersección. b: Pendiente. r: Coeficiente de correlación.

\* Significativo. \*\*\* Altamente Significativo.

Apéndice 11. Resumen de la relación entre el NMP de clostridios totales/100 ml y los parámetros físico-químicos estudiados durante enero a octubre de 2005.

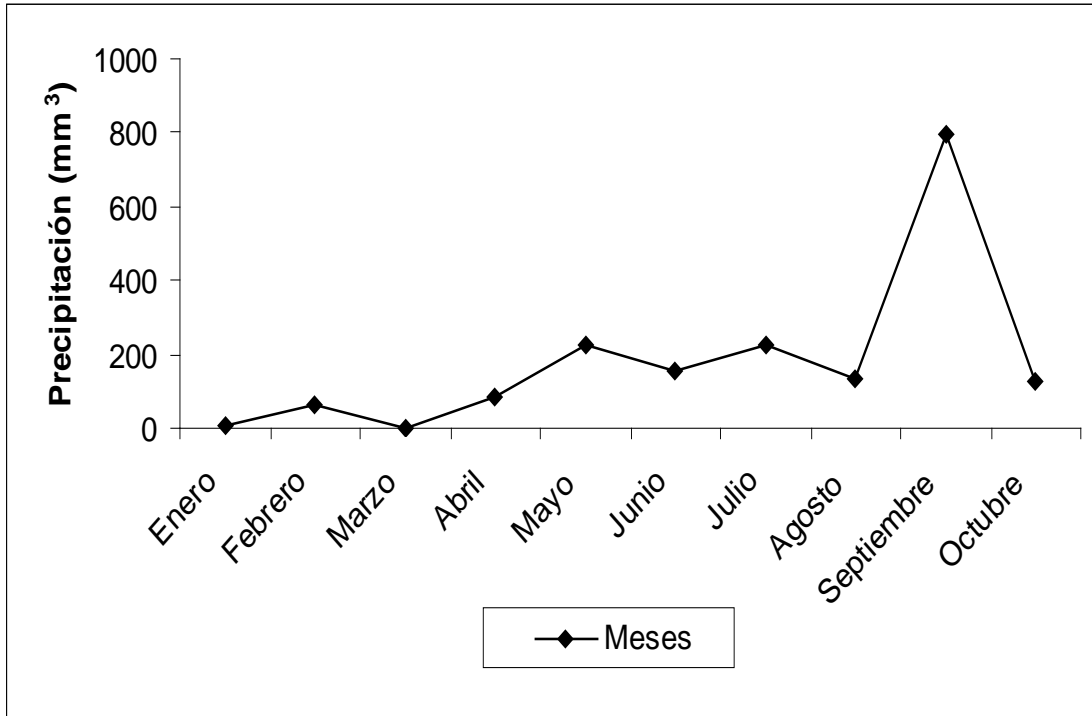
<b>Variable independiente</b>	<b>a</b>	<b>b</b>	<b>r</b>	<b>Nivel de significancia</b>	<b>Probabilidad</b>
Temperatura	4,166	0,006	0,067	NS	0,01
pH	5,311	-0,117	-0,204	*	0,05
Oxígeno disuelto	4,238	0,014	0,094	NS	0,01
Amonio	4,311	0,004	0,080	NS	0,01
Nitrito	4,335	-0,012	-0,076	NS	0,01
Nitrato	4,279	0,003	0,159	NS	0,05
Fosfato	4,335	-0,015	-0,049	NS	0,01

NS: No Significativo. a: intersección. b: Pendiente. r: Coeficiente de correlación.

\*

Significativo.

## ANEXO



Anexo 1. Variación promedio mensual de la pluviosidad en el área de estudio, según la Estación Meteorológica La Granja, de Cumanacoa, durante el período enero a octubre de 2005 (MPPAMB, 2005).

# **Hoja de Metadatos**



## Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/5

### Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencias básicas	Biología

### Resumen (abstract):

El río Manzanares constituye un cuerpo de agua de vital importancia en la región Nor-Oriental de Venezuela; sin embargo, no está exento del deterioro causado por las descargas residuales que en ellas son vertidas. Esta situación condujo a realizar estudios de la calidad del agua en sus cuencas alta y media, a fin de conocer la condición sanitaria del mismo. Para esto se establecieron 15 estaciones en donde se realizaron muestreos mensuales para la determinación de coliformes totales (CT), coliformes fecales (CF) y clostridios totales, mediante la técnica de fermentación de tubos múltiples. Los microorganismos presentes en las muestras de agua se identificaron mediante pruebas bioquímicas. Adicionalmente, se midieron los parámetros físico-químicos: temperatura, pH, oxígeno disuelto, amonio, nitrito, nitrato y fosfato. En las estaciones analizadas los CT estuvieron comprendidos en un rango de  $9,3 \times 10^2$  a  $2,4 \times 10^6/100$  ml de muestra, los CF variaron entre  $7,5 \times 10^2$  y  $2,4 \times 10^6/100$  ml; estas densidades sobrepasaron a las permitidas por la Ley Orgánica del Ambiente para aguas subtipo 4A, destinadas al contacto humano total ( $<1000$  CT/100 ml y  $<200$  CF/100 ml), lo que está directamente relacionado con el aporte antrópico que se da continuamente en este cuerpo de agua. El número más probable de clostridios totales osciló entre  $4,6 \times 10^3$  y  $2,4 \times 10^4/100$  ml, valores que excedieron al límite recomendado por la Organización Mundial de la Salud para aguas tropicales (51 clostridios/100 ml). Los CT y CF presentaron diferencias estadísticamente significativas entre estaciones y entre meses, las mayores densidades se registraron en el mes de julio en la estación 2 (quebrada la Sequía), posiblemente, debido a las precipitaciones ocurridas en ese mes, que provocaron el arrastre de materiales al río, las más bajas se presentaron durante el mes de enero en las estaciones 1 y 9 (Manzanares-Yoraco y río Arenas), lo que pudo deberse a la poca precipitación que se dió para la época del muestreo y, por ende, menor entrada de materia orgánica al río. Los clostridios presentaron diferencias estadísticamente significativas entre meses, con mínimos valores en agosto, probablemente, debido a procesos de dilución; durante este mes ocurrieron algunas lluvias que aumentaron la renovación del agua y del sedimento por turbulencia y mezcla. Se encontró relación lineal significativa para los recuentos de CT y CF con el oxígeno disuelto y el fosfato y para clostridios el pH. Estas relaciones se pueden atribuir a la elevada carga orgánica, al uso de fertilizantes, entre otros factores, que son aprovechados por las



bacterias y durante ese proceso consumen el oxígeno disuelto y generan productos que alteran el pH. *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp., y *Serratia* spp., fueron halladas frecuentemente en las diferentes estaciones, lo que demuestra la existencia de contaminación fecal en el área de estudio. Los resultados obtenidos permiten deducir que el río Manzanares presenta una baja calidad bacteriológica, lo cual representa un riesgo para la salud de las personas que lo utilizan para sus actividades diarias, particularmente *Salmonella*.

Palabras claves: Contaminación, coliformes, Río Manzanarare

## Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/5

### Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
Profa. María Iabichella	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input checked="" type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	5.082.666
	e-mail	miabiche@sucre.udo.edu.ve
	e-mail	
Profa. Ysabel Campos	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	8.309.182
	e-mail	ycampos@sucre.udo.edu.ve
	e-mail	Ysabelita63@yahoo.co.uk
Profa. Yasmina Araque	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	8.000.717
	e-mail	Yamasi40@gmail.com
	e-mail	
	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	

### Fecha de discusión y aprobación:

Año	Mes	Día
31	07	2008

Lenguaje: SPA

## Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/5

### Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
TESIS_YJFA	

### Alcance:

**Espacial :** \_\_\_\_\_ (Opcional)

**Temporal:** \_\_\_\_\_ (Opcional)

### Título o Grado asociado con el trabajo:

Licenciatura

**Nivel Asociado con el Trabajo:** Universitario

### Área de Estudio:

Microbiología

### Institución(es) que garantiza(n) el Título o grado:

Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre.



Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso –  
5/5

**Derechos:**

**Permito el acceso al título y resumen**

---

---

---

---

---

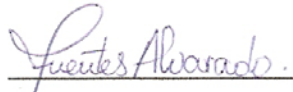
---

---

---

---

---



**Ydelys J. Fuentes A.**  
**Autor**



**Profa. María Iabichella**  
**Tutor**



**Profa. Yasmina Araque**  
**Jurado Principal**



**Profa. Ysabel Campos**  
**Jurado Principal**

**POR LA SUBCOMISIÓN DE TESIS:**

