



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

EVALUACIÓN DEL GRADO DE CONTAMINACIÓN POR MEDIO DEL
ANÁLISIS BACTERIOLÓGICO Y FÍSICO-QUÍMICO DE LAS AGUAS DE LA
CUENCA DEL RÍO MANZANARES. ESTADO SUCRE. VENEZUELA
(Modalidad: Trabajo de Grado)

ANDREA DEL CARMEN ROMERO TOLEDO

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

CUMANÁ, 2024

EVALUACIÓN DEL GRADO DE CONTAMINACIÓN POR MEDIO DEL
ANÁLISIS BACTERIOLÓGICO Y FÍSICO-QUÍMICO DE LAS AGUAS DE LA
CUENCA DEL RÍO MANZANARES. ESTADO SUCRE. VENEZUELA

APROBADO POR:



Prof. Juan López-Marcano

Asesor



Prof. Yanet Antón

Coasesora



Prof. Ormeglys Fernández

Jurado



Prof. Daviannys Hernández

Jurado

DEDICATORIA

A

Dios todo poderoso, por brindarme la oportunidad de crecer en una familia, llena de comprensión y respeto, por sentir su presencia en cada momento de mi vida y hacerme saber que sin su compañía no hubiese podido lograr todo lo que he hecho hasta ahora, por guiar mi camino, darme el valor y la fuerza para llevar los malos momentos y disfrutar de los buenos, confiando en su tiempo y maravillosos planes que tiene para mí.

Mis padres Luis Felipe Romero Meaño y Aleida Toledo, quienes además de ser mis progenitores son mi refugio y fortaleza, que con sus sencillas maneras de ser me han brindado su compañía y apoyo incondicional en cada decisión que he tomado, su atención y preocupación ante las adversidades, gracias por escucharme y alentarme con sus consejos, mi mejor ejemplo a seguir. Los amo.

Mi hermana Carmen Julia Romero Toledo por quererme y apoyarme en cada momento, donde encontré una gran amiga que con sus consejos, regaños y atenciones han sabido alimentar nuestra hermandad.

Mis sobrinos Luis Alejandro Romero y José Agustín Orzero Romero, quienes de igual manera los considero mis hijos, este logro también es de ustedes. Gracias por ser su tía consentida. Los amo.

Andrea del Carmen Romero Toledo

AGRADECIMIENTO

A

Mi querida Universidad de Oriente, Núcleo Sucre, mi segunda casa, Departamento y Profesores de Bioanálisis quienes han sido una de las bases fundamentales de mi desarrollo académico y profesional.

A la coordinadora del proyecto de investigación del cual es parte mi trabajo de grado profesora Ivis Marina Fermín y a mi asesor Juan José López-Marcano por haberme brindado la oportunidad de desarrollar este trabajo y haber puesto a disposición la infraestructura del Laboratorio de Oceanografía del Instituto Oceanográfico de Venezuela, Universidad de Oriente, núcleo de Sucre, ubicado en el Complejo Cultural “Luis Manuel Peñalver” y la Estación Hidrobiológica de Turpialito “Aníbal Vélez”, que cuenta con los espacios y equipos necesarios para el procesamiento de las muestras; la mayoría de los materiales, reactivos y transporte para la recolección Así mismo, a todo el valioso personal de esta institución por su apoyo, atenciones, conocimientos impartidos y por sus consejos que sin duda quedarán en mí.

A mi coasesora Yanet Antón por brindarme sus consejos que enriquecieron este trabajo de grado.

Las licenciadas María Elena Arnawid, Daisy Hernández y Leomarys Carrasco, mi gran familia LABORATORIO LA COPITA ME. C.A., gracias por confiar en mí y hacer que cada día ponga en práctica mis conocimientos y pueda crecer profesionalmente, agradecida por cada oportunidad que me han brindado.

Andrea del Carmen Romero Toledo

ÍNDICE

DEDICATORIA.....	III
AGRADECIMIENTO	IV
LISTA DE TABLAS	VI
LISTA DE FIGURAS	VII
RESUMEN	IX
INTRODUCCIÓN	1
METODOLOGÍA	6
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	14
CONCLUSIONES	31
RECOMENDACIONES	32
BIBLIOGRAFÍA	33
HOJAS DE METADATOS	37

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Localidades y sus coordenadas geográficas divididas en subcuencas alta, media y baja, con su representación en el mapa georreferenciado.	7
--	---

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mapa georreferenciado en los puntos de muestreo en la cuenca del río Manzanares.	8
Figura 2. Comportamiento espacial y estacional de la temperatura (°C) en las subcuencas alta, media y baja durante todo el periodo de muestreo del río Manzanares.	14
Figura 3. Temperatura (°C) en las subcuencas alta, media y baja durante todo el periodo de muestreo del río Manzanares.....	15
Figura 4. Temperatura (°C) en las épocas de lluvia y sequía a lo largo de todo el cauce del río Manzanares.....	15
Figura 5. Comportamiento espacial y estacional del pH en las subcuencas alta, media y baja durante todo el periodo de muestreo del río Manzanares.....	16
Figura 6. pH en las subcuencas alta, media y baja durante todo el periodo de muestreo del río Manzanares.....	17
Figura 7. pH en las épocas de lluvia y sequía a lo largo de todo el cauce del río Manzanares.	17
Figura 8. Comportamiento espacial y estacional de la conductividad (µS/cm) en las subcuencas alta, media y baja durante todo el periodo de muestreo del río Manzanares.	19
Figura 9. Conductividad (µS/ cm) en las subcuencas alta, media y baja durante todo el periodo de muestreo del río Manzanares.....	19
Figura 10. Conductividad (µS/ cm) en las épocas de lluvia y sequía a lo largo de todo el cauce del río Manzanares.	20
Figura 11. Comportamiento espacial y estacional del oxígeno disuelto (mg/ml) en las subcuencas alta, media y baja durante todo el periodo de muestreo del río Manzanares.	21
Figura 12. Oxígeno disuelto (mg/ml) en las subcuencas alta, media y baja durante todo el periodo de muestreo del río Manzanares.....	21
Figura 13. Oxígeno disuelto (mg/ml) en las épocas de lluvia y sequía a lo largo de todo el cauce del río Manzanares.	22
Figura 14. Comportamiento espacial y estacional de coliformes totales (NMP/100 ml) en las subcuencas alta, media y baja durante todo el periodo de muestreo del río Manzanares.....	23
Figura 15. Coliformes Totales (NMP/100 ml) en las subcuencas alta, media y baja durante todo el periodo de muestreo del río Manzanares.	23
Figura 16. Coliformes Totales (NMP/100 ml) en las épocas de lluvia y sequía a lo largo de todo el cauce del río Manzanares.....	24
Figura 17. Comportamiento espacial y estacional de coliformes fecales (NMP/100 ml) en las subcuencas alta, media y baja durante todo el periodo de muestreo del río Manzanares.....	25
Figura 18. Coliformes fecales (NMP/100 ml) en las subcuencas alta, media y baja durante todo el periodo de muestreo del río Manzanares.	25

Figura 19. Coliformes fecales (NMP/100 ml) en las épocas de lluvia y sequía a lo largo de todo el cauce del río Manzanares.....	26
Figura 20. Comportamiento espacial y estacional de <i>Clostridium perfringens</i> (NMP/100 ml) en las subcuencas alta, media y baja durante todo el periodo de muestreo del río Manzanares.....	28
Figura 21. <i>Clostridium perfringens</i> (NMP/100 ml) en las subcuencas alta, media y baja durante todo el periodo de muestreo del río Manzanares.	28
Figura 22. <i>Clostridium perfringens</i> (NMP/100 ml) en las épocas de lluvia y sequía a lo largo de todo el cauce del río Manzanares.....	29
Figura 23. Correlograma entre las variables estudiadas en todo el periodo de muestreo del río Manzanares.....	30

RESUMEN

El río Manzanares es uno de los más importantes de Venezuela, debido a la alta biodiversidad que habita en él y a las dimensiones de su cauce 300 km. A lo largo de su cuenca está expuesto a contaminantes provenientes de aguas residuales comunes e industriales, por lo que en esta investigación se estudió la presencia de coliformes totales, coliformes fecales, *Clostridium perfringens* y su correlación con las variables ambientales temperatura, pH, conductividad y oxígeno disuelto, en muestras de aguas obtenidas en 30 estaciones repartidas en toda su longitud; seis en la subcuenca alta, nueve en la media y quince en la baja, esta última influenciada por el agua de mar. Estos muestreos se realizaron en una escala temporal tomando en cuenta las épocas de lluvia y sequía. Los resultados obtenidos indicaron promedios para coliformes totales, coliformes fecales y *Clostridium perfringens* de $4,45 \times 10^6$ NMP/100 ml, $4,06 \times 10^6$ NMP/100 ml y $3,71 \times 10^6$ NMP/100 ml respectivamente. Estas variables presentaron diferencias significativas con respecto a los periodos climáticos, y solo los coliformes fecales fueron iguales a lo largo de las tres subcuencas del río. El análisis de correlación mostró como resultado que las tres variables biológicas presentaron una baja relación positiva con la conductividad. Además, *Clostridium perfringens* presentó la misma actuación con respecto al pH y el oxígeno disuelto y una baja relación negativa con la temperatura, este último comportamiento se repite en coliformes totales. De igual forma el correlograma demuestra, la alta relación que existe entre coliformes totales y fecales. Estos resultados, evidencian la continuidad del grave problema de contaminación en el río Manzanares, lo que pone en peligro la biodiversidad que depende del mismo y los servicios ambientales que las comunidades cercanas aprovechan de él. Por tales motivos, consideramos necesario implementar planes de manejo que evalúen y controlen las descargas de desechos comunes e industrias a sus aguas.

INTRODUCCIÓN

La contaminación del medio ambiente representa un grave problema para el mundo, surgiendo la necesidad de que se tome conciencia en la búsqueda constante de alternativas de solución a esta situación ya que la misma está acabando con la biodiversidad del medio de forma acelerada; siendo el ser humano el principal causante de este daño, ignorando por completo las consecuencias que acarrea el hecho de destruir su propio espacio de supervivencia (Pérez, 2021).

El hombre al afectar de forma negativa el medio ambiente; lo hace de manera compleja en todos los elementos que lo conforman: suelo, agua y atmósfera; pero se puede estudiar la contaminación de manera específica del elemento de interés y cómo se transmite (Orellana, 2005).

La contaminación del agua no es más que la acción de arrojar o verter en ella algún tipo de material o desecho alterando la calidad de la misma y su composición química. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el agua está contaminada “cuando su composición se haya modificado de modo que no reúna las condiciones necesarias para el uso al que se le hubiera destinado en su estado natural” (Guadarrama-Tejas *et al.*, 2016).

Cuando se habla de la contaminación de las aguas, incluye mares, lagos, ríos, entre otros. En el caso de la contaminación de los ríos, una de sus causas son las generadas por las actividades de la población como son las aguas residuales. Estas fuentes de agua dulce han sufrido variaciones por la intervención de los seres humanos quienes introducen elementos contaminantes generando efectos nocivos en su calidad haciendo imposible su utilización posterior, así como también daños a su finalidad ecológica. Las aguas residuales además se originan de los diferentes usos que les da las personas en actividades domésticas (Díaz *et al.*, 2012).

Algunos estudios han determinado la contaminación y degradación de diferentes cuencas de los ríos Guaire, Tuy, Tocuyo, Aroa, Unare, Neverí, Manzanares y Guarapiche, aguas costeras del Sur-Este del Golfo de Venezuela, ocasionado por derrames de petróleo y/o disposición de desechos industriales y petroquímicos (España, 2007; Pérez *et al.*, 2011; Red, 2011).

Para determinar la calidad de las aguas superficiales de un río, es importante monitorear algunos factores físico – químicos y bacteriológicos (Him *et al.*, 2019). Los análisis bacteriológicos reconocidos para establecer esta calidad son los coliformes totales y fecales (Valenzuela *et al.*, 2009; Cho *et al.*, 2016; Divya y Solomon, 2016;), cuyos análisis determinan la influencia de la actividad humana en el recorrido del río.

Las bacterias del grupo coliforme se utilizan desde comienzos del siglo XX como indicadores de contaminación fecal, aun cuando no existe ninguna bacteria u organismo con todas las condiciones y criterios de un indicador fecal, y apenas escasos grupos satisfacen algunos de estos requisitos. Dentro de estos se destacan: coliformes (totales y fecales) y *Clostridium perfringens* (Snyder y Merson, 1982; Gutiérrez, 2004).

En el caso de los grupos de coliformes totales, el fundamento para su empleo radica, en que estas bacterias son excretadas a través de las heces fecales tanto del hombre como de los animales de sangre caliente, por lo tanto, su permanencia en el agua, se asocia a una contaminación fecal y con ella el riesgo de que en este vital líquido transmiten bacterias patógenas, y aunque no existe un indicador ideal, algunas investigaciones demuestran ciertas limitaciones del grupo coliforme, ya que no siempre se ajusta a todas las condiciones naturales, ni permite identificar la fuente de contaminación. En este sentido estudios actuales sugieren el uso de un nuevo grupo como indicadores alternativos y complementarios que incorporan nuevos criterios al definir la

calidad de los cuerpos receptores como es el género *Clostridium* (Pauta *et al.*, 2020).

Los coliformes fecales son un subgrupo de los coliformes totales capaces de soportar temperaturas muy elevadas (termotolerantes) lo que los hace diferenciar de los coliformes totales. Este grupo se desarrolla normalmente en las heces de animales, sin embargo, existen algunas condiciones adecuadas como la materia orgánica, pH, humedad, entre otros, que ayuda a que se puedan desarrollar fuera del intestino de los animales homeotérmicos (Díaz, 2003).

Históricamente, el género *Clostridium* se incluye en el grupo de bacilos grampositivos anaerobios capaces de formar esporas. Este género se define por cuatro rasgos: 1) presencia de endoesporas; 2) metabolismo anaerobio estricto; 3) incapacidad de reducir sulfato a sulfito y 4) pared celular grampositiva. Dentro de este amplio grupo del género *Clostridium* se encuentra la especie *Clostridium perfringens*, el cual es un bacilo grampositivo rectangular de gran tamaño (0,6 a 2,4 x 1,3 a 1,9 μm), que rara vez forma esporas, ya sea en condiciones *in vivo* o tras su cultivo *in vitro*. Este microorganismo crece rápidamente en los tejidos y en los cultivos, es hemolítico y activo desde el punto de vista metabólico, característica que hace posible su rápida identificación en el laboratorio. *Clostridium perfringens* puede producir un amplio espectro de enfermedades, desde una gastroenteritis de resolución espontánea hasta la destrucción de los tejidos (p.ej., mionecrosis por clostridio) que se asocia con una mortalidad muy elevada. Habita con frecuencia en el sistema digestivo del ser humano y de los animales, teniendo una amplia distribución en la naturaleza, fundamentalmente en el suelo y en el agua contaminados por heces fecales. Las esporas se forman en condiciones ambientales adversas y pueden sobrevivir durante largos periodos de tiempo (Murray *et al.*, 2009).

Un microorganismo indicador de contaminación fecal debe reunir las siguientes características de acuerdo a Fernández *et al.* (2001): ser un constituyente normal de la flora intestinal de individuos sanos, estar presente de forma exclusiva, en las heces de animales homeotérmicos, estar presente cuando los microorganismos patógenos intestinales lo están, presentarse en número elevado, facilitando su aislamiento e identificación, debe ser incapaz de reproducirse fuera del intestino de los animales homeotérmicos, su tiempo de supervivencia debe ser igual o ligeramente superior al de las bacterias patógenas, su resistencia a los factores ambientales debe ser igual o superior al de los patógenos de origen fecal, debe ser fácil de aislar y cuantificar y por último no debe ser patógeno.

La contaminación es el principal riesgo sanitario del agua, ya que supone la incorporación de microorganismos patógenos que pueden provocar enfermedades en la salud humana. Por ello, el control sanitario de riesgos microbiológicos es tan importante y constituye además una medida sanitaria básica para mantener un grado de salubridad adecuado en la población (Marín, 2002).

El río Manzanares desde hace algunos años viene presentando un cauce lleno de sedimentos ocasionando un caudal empobrecido y contaminado (Senior *et al.*, 2003; Castro-Moreno *et al.*, 2017), que con el tiempo se ha empeorado producto de una problemática ambiental compleja que se ha desarrollado a lo largo de toda la cuenca. Las aguas de la subcuenca alta y media están impactadas por los desechos generados por las actividades agrícolas intensivas y extensivas, las aguas servidas de trabajos domésticos, que son arrojados a ese cuerpo de agua, además de sustancias potencialmente contaminantes. Por otro lado, la subcuenca media recibe los desechos químicos de algunas industrias de la localidad como es el caso del Central Azucarero de Cumanacoa (Senior *et al.*, 2004; Senior *et al.*, 2005).

La presencia de contaminación bacteriana en las aguas del río Manzanares de la ciudad de Cumaná ha sido señalada desde la década de los 70. Los trabajos realizados por Fernández (1973 y 1984) señalan el deterioro de la calidad del agua de este río por contaminación bacteriológica, situación confirmada por Mata (2004), Gutiérrez (2004) y Fuentes *et al.* (2008).

Por todo lo antes expuesto consideramos necesario realizar una evaluación bacteriológica y de variables físico-químicas de las aguas de la cuenca del río Manzanares para determinar su grado de contaminación.

METODOLOGÍA

Descripción del área de estudio

La cuenca del río Manzanares está ubicada en el estado Sucre, Venezuela. Tiene su nacimiento en el macizo montañoso del Turimiquire, en la Cordillera de la Costa, a 2 300 m de altitud. Fluye a lo largo de 300 km y drena una cuenca de poco más de 1 000 km². Este río integra, conjuntamente con los ríos Neverí y Guarapiche, el sistema fluvial de la costa oriental venezolana. Ha sido elemento decisivo tanto en la fundación como en la consolidación de la ciudad de Cumaná como centro de importancia. En su recorrido irriga diversos poblados con una alta dedicación agrícola, como Cumanacoa, San Salvador, Arenas, San Lorenzo y Quebrada Seca (Fermín, 2015).

El río Manzanares desemboca en la entrada del Golfo de Cariaco, ejerciendo una gran influencia hacia el lado oeste de la costa de Cumaná; la cual se encuentra ubicada entre la 10° 24' latitud norte y 64° 10' longitud oeste y los 10° 30' latitud norte y 64° 20' longitud oeste (Fermín, 2015).

El río Manzanares recibe las descargas de varios afluentes, constituyendo una cuenca aislada perteneciente a la Gran Cuenca del Caribe (Aguilera y Rojas, 1976). Recibe por su margen derecha 9 ríos y 13 riachuelos y quebradas, y por su margen izquierda 14 ríos principales y 6 secundarios. El aporte medio anual del río Manzanares al mar fue estimado en 558 x 106 toneladas de agua, la cual se reparte entre la zona del aliviadero, sector donde se produce una gran sedimentación (Aguilera y Rojas, 1976) y su desembocadura original. Según estimaciones para 1996 vivían en el valle del Manzanares cerca de 300 000 personas, número que ha ido en aumento según cifras de los censos nacionales (CENDES - UCV- MARN- CORPORIENTE, 1987).

Para las tomas de las muestras se dividieron las tres subcuencas en un total de 30 puntos de muestreo, 6 en la subcuenca alta (E1-E6), 9 para la subcuenca

media (E7-E15) y 15 para la subcuenca baja (E16-E30), esta última incluye puntos marinos. Las estaciones se ubicaron y geoposicionaron mediante la utilización de un GPS modelo BLAZER 12 (TABLA 1; Figura 1).

Tabla 1. Localidades y sus coordenadas geográficas divididas en subcuencas alta, media y baja, con su representación en el mapa georreferenciado.

Longitud	Latitud	Localidad	Estaciones
-63,93416667	10,18305556	M. Yoraco	E1
-63,92194444	10,22222222	Q. Sequia	E2
-63,8725	10,21694444	R. Cuesta	E3
-63,90527778	10,21694444	Q. Orinoco	E4
-63,90083333	10,23111111	Fuente	E5
-63,91166667	10,26138889	R. Aricagua	E6
-63,91555556	10,27055556	P. Cumanacoa	E7
-63,93333333	10,27611111	R. Caribe	E8
-63,93071111	10,283825	R. Arenas	E9
-63,93387	10,29323	D. P./T. Arenas	E10
-64,03722222	10,34638889	U. M-Cedeño	E11
-64,0791	10,34238	R. Tataracual	E12
-64,0791	10,34238	M. Tataracual	E13
-64,16722222	10,35305556	M. Eden Niño	E14
-64,14833333	10,35444444	M. Areneras	E15
-64,17520833	10,45993333	P. Guaiquerí	E16
-64,18	10,46888889	P. Sta. Catalina	E17
-64,18555556	10,46972222	M. Municipal	E18
-64,18666667	10,46916667	P. G. Ocampo	E19
-64,18888889	10,46944444	M. Avecaisa	E20
-64,18666667	10,46916667	Mar (1)	E21
-64,18888889	10,46944444	Mar (2)	E22
-64,19083333	10,47083333	Mar (3)	E23

Tabla 1. Continuación.

Longitud	Latitud	Localidad	Estaciones
-64,19361111	10,47055556	Mar (4)	E24
-64,19555556	10,47111111	Mar (5)	E25
-64,19472222	10,47055556	Mar (6)	E26
-64,19444444	10,47083333	Mar (7)	E27
-64,19472222	10,47055556	L. Pesquera (8)	E28
-64,19444444	10,47083333	Mar (9)	E29
-64,1925	10,4725	Mar (10)	E30

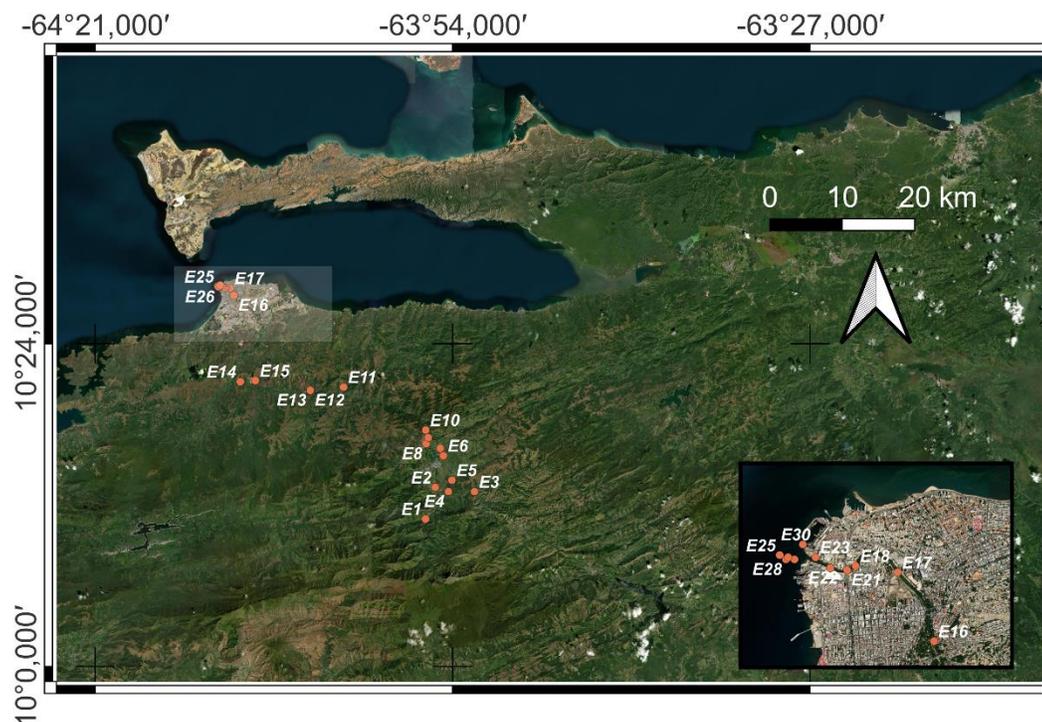


Figura 1. Mapa georreferenciado en los puntos de muestreo en la cuenca del río Manzanares.

Diseño del muestreo

Para el desarrollo de la presente investigación se implementó un plan de monitoreo de aguas superficiales en el ecosistema del río Manzanares entre marzo 2023 y agosto 2023, tomando en consideración los meses de marzo,

abril y mayo como representativos del periodo de sequía y junio, julio y agosto como del periodo lluvioso. Los muestreos fueron realizados a la misma hora para mantener la uniformidad de los mismos.

Mensualmente se colectaron muestras de aguas superficiales siguiendo el gradiente salino, desde 0,00 en la subcuenca alta, municipio Montes, hasta alcanzar salinidades superiores a 36,00 en su pluma en dirección sur-norte hacía la Península de Araya.

La toma de agua se realizó con un envase plástico de 15 litros de capacidad para asegurar que las muestras destinadas a evaluar los diferentes parámetros pertenezcan a la misma parcela de agua.

Análisis de las muestras

Los parámetros a estudiar se analizaron según los siguientes métodos:

Temperatura

Se midió *in situ* con un termómetro de mercurio con una precisión $\pm 0,1^{\circ}\text{C}$.

pH

Se evaluaron *in situ* con un medidor de pH (Bantex LCG-5) con precisión $\pm 0,01$ unidad de pH, la cual es suficiente para propósitos de calidad de aguas (Millero, 1986).

Conductividad específica

Se determinaron según el método 2510 B de acuerdo con APHA (1995) utilizando un medidor de conductividad (Modelo Crison, Tipo GLP 31-32) con una celda de conductividad. Se calibró el equipo con soluciones de conductividad conocida 1430 $\mu\text{S}/\text{cm}$ y 12,88 mS/cm respectivamente.

Oxígeno disuelto

Se analizaron según el método de Winkler (1888) optimizado por Carpenter, (1965); Carrit y Carpenter (1966); según modificaciones definidas por Aminot y Chaussepied, (1983) con una precisión de $\pm 0,003$ mg/l.

Se fundamenta en la agregación inicial de 0,50 ml de solución de sulfato de manganeso (II) ($\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) (mg/l) y 0,50 ml de solución de yoduro de potasio alcalinizado (KINaOH) (mg/l) a la muestra, para formar un precipitado de hidróxido de manganeso.

Por una reacción en medio heterogéneo, el oxígeno disuelto es fijado por el precipitado, haciendo pasar el manganeso a grados de oxidación más elevados (III y IV).

Luego, cuando el oxígeno es fijado totalmente, se acidificaron las muestras con H_2SO_4 concentrado; el precipitado se disuelve y el manganeso oxidado vuelve a su estado de oxidación II, oxidando el yodo a los iones yoduro agregados previamente junto con la base fuerte.

El yodo libre se tituló con una solución de tiosulfato de sodio 0,01 mol/L en presencia de almidón como indicador.

Determinación de bacterias coliformes

Dentro de las primeras 6 horas luego de haber tomado la muestra para garantizar la actividad biológica, se aplicó la técnica del Número Más Probable (NMPz) de coliformes totales y fecales, utilizando para esto la tabla de MacCraday (APHA, 1998).

A partir de las muestras de agua se realizaron diluciones seriadas hasta 10^{-6} , para lo cual se tomaron con una micropipeta de punta estéril 1,00 ml de agua de la muestra y se diluyó en un tubo con 9,00 ml de agua destilada para las

muestras de salinidad cero y en solución de NaCl al 10,00 % para las muestras con salinidad desde 2 a 36 ppm.

Prueba presuntiva

Se sembró por triplicado 1,00 ml de dilución en tubos con 10,00 ml de caldo lactosado (BBL), al cual se le agregó previamente un tubo de Durham invertido. Luego se incubó a 37,00°C durante 48 horas. La utilización de la lactosa permitirá la producción de gas, observada en el tubo Durham invertido considerándose esto como una prueba presuntiva positiva (APHA, 1989).

Prueba confirmativa

Los tubos positivos en caldo, se sembraron por duplicado con asa estéril en tubos con 10,00 ml de caldo bilis verde brillante (Difco), al cual se le agregó previamente un tubo de Durham invertido. Luego, se procedieron a incubar a 37,00°C en incubadora y a 44,50°C en baño de María, durante 48 h, para la determinación de coliformes totales y fecales, respectivamente (APHA, 1998).

Determinación de *Clostridium perfringens*

Dentro de las primeras 6 horas luego de haber tomado la muestra para garantizar la actividad biológica, se aplicó la técnica de Número Más Probable (NMP) de clostridios totales, según Gibbs y Freame (1965) y modificado por Abeyta y Wetherington (1994).

A partir de las muestras de agua se realizaron diluciones seriadas hasta 10^{-6} , para lo cual se tomaron con una micropipeta de punta estéril 1,00 ml de agua de la muestra y se diluyeron en un tubo con 9,00 ml de agua destilada para las muestras de salinidad cero y en solución de NaCl al 10,00 % para las muestras con salinidad desde 1 a 36 ppm.

Se sembró por duplicado 1,00 ml de dilución en tubos que contienen 10,00 ml de caldo diferencial para clostridios (DRCM; Merck). Posteriormente, se agregó

una capa de parafina a cada tubo para crear un ambiente de anaerobiosis, se pasteurizaron durante 30 minutos en baño de María a 37,00°C, y se incubaron a 37,00°C durante 7 días. El ennegrecimiento del medio de cultivo indicará una reacción positiva de clostridios sulfito reductor.

Los tubos positivos en caldo DRCM se inocularon con pipeta Pasteur en tubos que contenían caldo de cultivo Skim Milk (Difco) y limadura de hierro, luego se incubaron a 37,00°C durante 5 días. La formación de un coágulo rosado a marrón en la superficie del tubo indicará la presencia de *Clostridium perfringens*.

Análisis de datos

Para detectar posibles diferencias entre las variables estudiadas con respecto a las temporadas de muestreo y las tres subcuencas del cauce del río Manzanares, se aplicaron pruebas no paramétricas, ya que la mayoría de las variables no cumplían las condiciones subyacentes de normalidad (prueba Kolmogorov-Smirnov) y homogeneidad de varianzas (prueba de Levene). Para el factor temporadas, por tener solo dos niveles se realizó la prueba de *test de U* (Mann y Whitney, 1947). Mientras que para el factor subcuencas, se empleó el análisis Kruskal-Wallis, y para saber en qué pares específicos de subgrupos hay diferencias significativas ($p < 0,05$), se aplicó el *test de Dunn* con ajustes en el nivel α , asumido por la corrección de la prueba de *Bonferroni*, lo que permite contrastar el aumento en la tasa de error tipo I, debido a estar realizando sobre unos mismos datos de una serie de contrastes de hipótesis (Sokal y Rohlf, 1995).

Se realizó una correlación de rangos de Spearman (Zar, 1974), entre los datos coliformes totales, coliformes fecales, *Clostridium perfringens*, temperatura, pH, conductividad y oxígeno disuelto, para determinar si existe alguna relación entre estas variables durante el periodo de muestreo.

Herramientas computacionales (software)

La construcción y manejo de las bases de datos, se hicieron mediante la utilización del programa Excel del paquete Office de Microsoft para Windows. Las pruebas estadísticas, modelos, gráficos exploratorios y demás rutinas se desarrollaron utilizando el Software Libre R v4.2.2, bajo la interfaz gráfica R Studio (R CORE TEAM, 2016).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Temperatura

El promedio de la temperatura fue de 26,52 °C con un valor máximo de 28,60 °C en época de lluvia en la L. Pesquera y R. Arenas, el mínimo fue de 20,77 °C en época de sequía para la estación M. Yoraco (Fig. 2). El análisis estadístico Kruskal-Wallis arrojó que existe diferencias significativas entre las subcuencas estudiadas ($K-W = 28,35$; $p = 6,99^{-7}$) y el *test de U* arrojó que ambos periodos de muestreo son diferentes ($W = 290,00$; $p = 0,01$).

Las pruebas posteriores arrojaron que la temperatura de la subcuenca alta es diferente a la temperatura de la media ($p = 0,00053$) y diferente de la baja ($p = 3,30^{-7}$) y que la temperatura de la subcuenca media es igual de la baja ($p = 0,49$; Figs. 3 y 4).

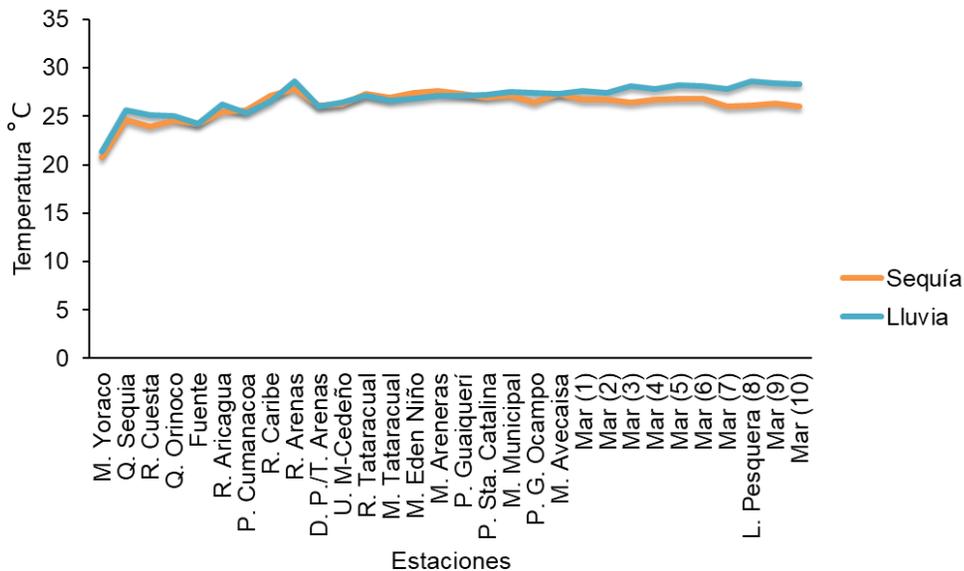


Figura 2. Comportamiento espacial y estacional de la temperatura (°C) en las subcuencas alta, media y baja durante todo el periodo de muestreo del río Manzanares.

Los menores valores temperatura fueron reportados como era de esperarse en la cuenca más alta del río Manzanares y el mayor valor fue obtenido en la estación de la cuenca baja con mayor actividad marítima (Lonja pesquera).

Con respecto a este parámetro, Fuentes *et al.* (2008), reportaron un valor promedio muy similar al nuestro de 26,20°C.

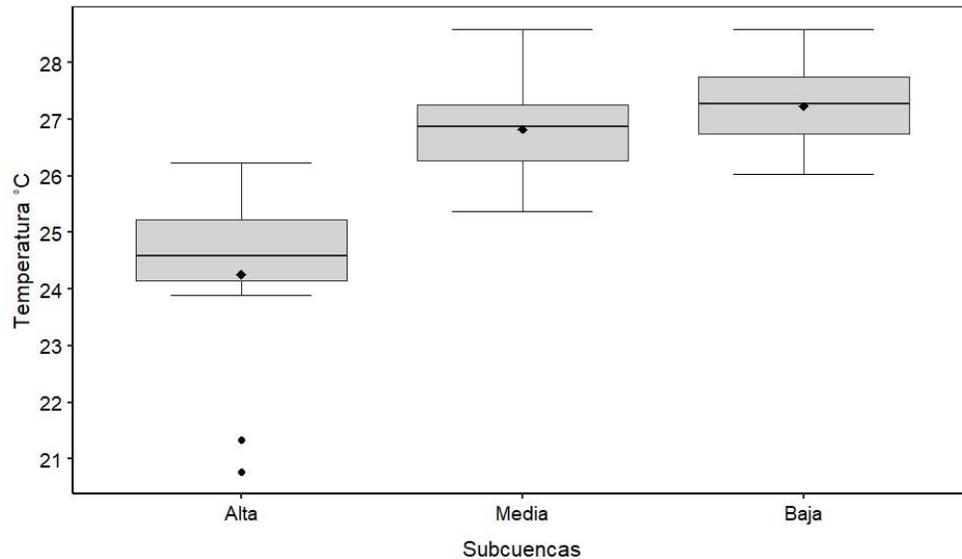


Figura 3. Temperatura (°C) en las subcuencas alta, media y baja durante todo el periodo de muestreo del río Manzanares.

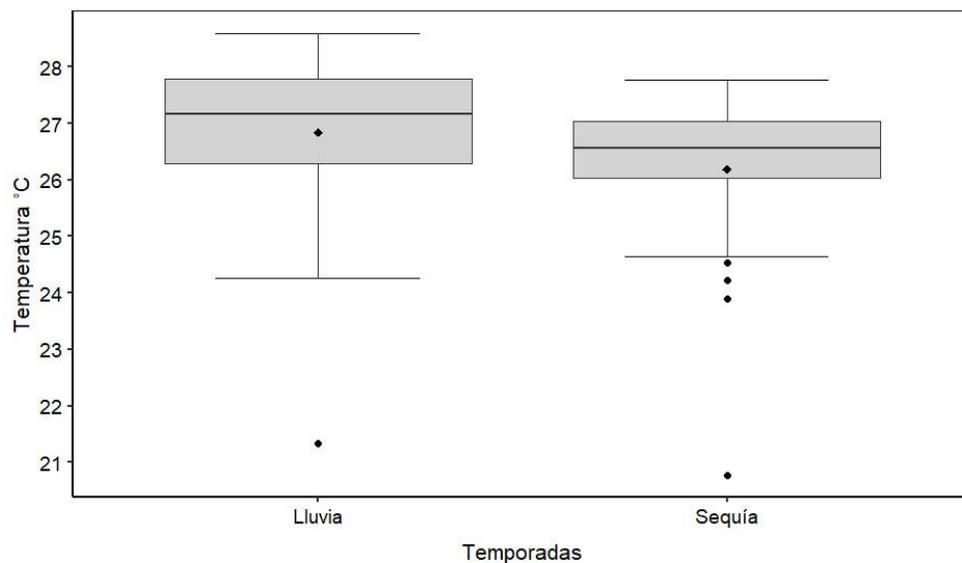


Figura 4. Temperatura (°C) en las épocas de lluvia y sequía a lo largo de todo el cauce del río Manzanares.

Estos resultados demuestran que la temperatura del agua está controlada por las condiciones climáticas y la altitud de las cuencas con respecto al nivel del mar, comportamiento que ya había sido reportado por Senior *et al.* (1999).

pH

El promedio del pH fue de 8,35 con un valor máximo de 9,04 el cual fue encontrado en la época de lluvia en la estación P. Cumanacoa y un mínimo de 7,48 en época de lluvia en la estación P.G. Ocampo (Fig. 5).

El análisis estadístico Kruskal-Wallis arrojó que existe diferencias significativas entre las subcuencas estudiadas ($K-W = 33,25$; $p = 6,02^{-8}$) y el *test de U* arrojó que ambos periodos de muestreo son iguales ($W = 342,00$; $p = 0,11$).

Las pruebas posteriores arrojaron que el pH de la subcuenca alta es igual al pH de la media ($p = 1,00$) y diferente de la baja ($p = 9,50^{-5}$) y que el pH de la subcuenca media es diferente de la baja ($p = 8,50^{-7}$; Figs. 6 y 7).

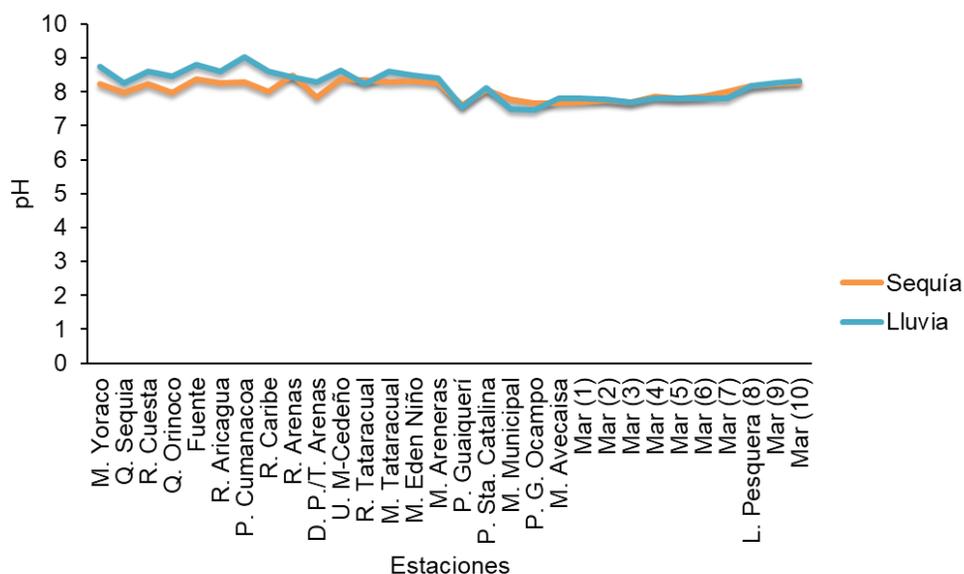


Figura 5. Comportamiento espacial y estacional del pH en las subcuencas alta, media y baja durante todo el periodo de muestreo del río Manzanares.

Al evaluar los resultados obtenidos referentes al pH del río Manzanares se pudo advertir que los mayores valores fueron obtenidos en la subcuenca alta y media donde la actividad agrícola es superior. Además, los menores valores se obtuvieron en la época de lluvia, posiblemente esto se debió, a que las

escorrentías llevan consigo los residuos de esta actividad (fertilizantes) al cauce del río provocando que las aguas bajen su potencial alcalino.

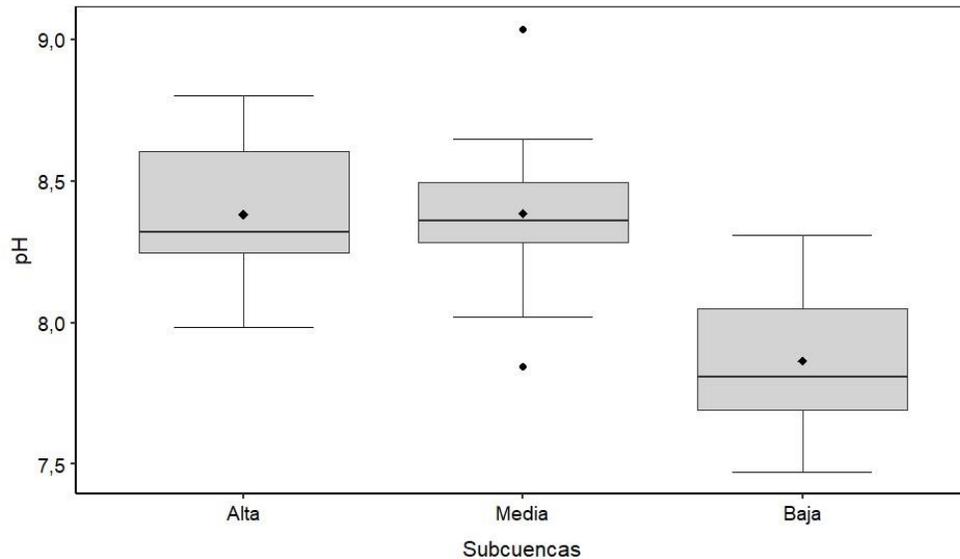


Figura 6. pH en las subcuencas alta, media y baja durante todo el periodo de muestreo del río Manzanares.

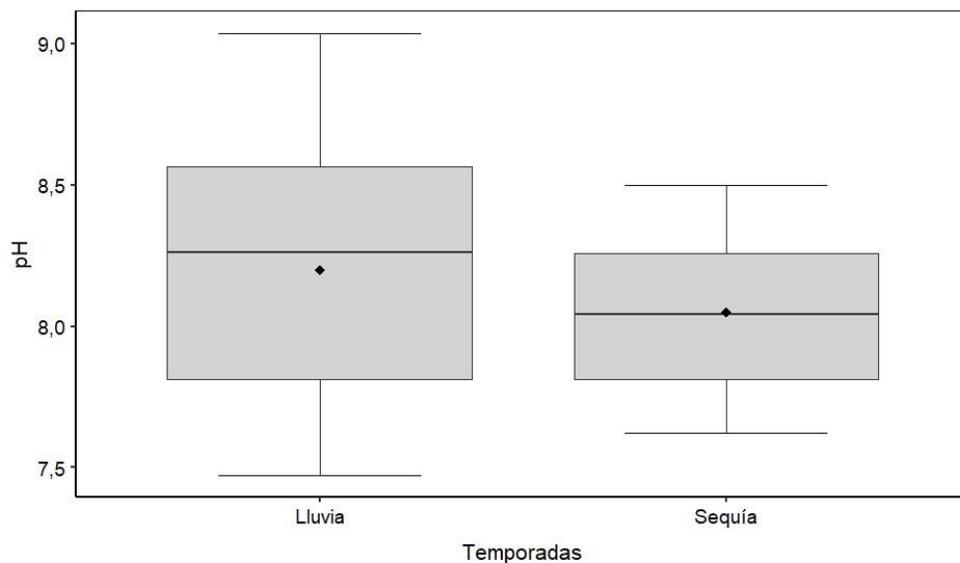


Figura 7. pH en las épocas de lluvia y sequía a lo largo de todo el cauce del río Manzanares.

Con respecto a esta variable, Fuentes *et al.* (2008), reportaron un valor promedio de 8,46, muy similar al hallado en esta investigación. Por su parte López-Marcano *et al.* (2019), reportaron un comportamiento similar referente a

los efectos de la agricultura en el delta del río Orinoco, estos autores obtuvieron un valor promedio de 7,09.

Conductividad

El promedio de la conductividad fue de 432,11 $\mu\text{S}/\text{cm}$ con un valor máximo de 1320,00 $\mu\text{S}/\text{cm}$ en época de lluvia en la estación M. Avecaisa y un mínimo de 79,53 $\mu\text{S}/\text{cm}$ en época de lluvia en la estación R. Tataracual (Fig. 8).

El análisis estadístico Kruskal-Wallis arrojó que existe diferencias significativas entre las subcuencas estudiadas ($K-W = 11,84$; $p = 0,002$) y el *test de U* arrojó que ambos periodos de muestreo son iguales ($W = 211,00$; $p = 0,78$).

Las pruebas posteriores arrojaron que la conductividad de la subcuenca alta es diferente a la conductividad de la media ($p = 0,004$) pero es igual de la baja ($p = 1,00$) y que la conductividad de la subcuenca media es diferente de la baja ($p = 0,05$; Figs. 9 y 10).

Al estudiar la conductividad del río Manzanares era de esperarse, por la cantidad de partículas y/o solutos que éste arrastra, que los valores sean relativamente pronunciados. A medida en que las aguas llegan en la subcuenca baja a su encuentro con el mar por efecto de la cuña marina estos valores se dispararon a números muy altos inclusive impidiendo la lectura en las estaciones más cercanas al Golfo de Cariaco dada la limitante de la sonda multiparamétrica de medir estos valores.

Por su parte López-Marcano *et al.* (2019), para el delta del río Orinoco, presentaron un valor promedio de conductividad de 51,92 $\mu\text{S}/\text{cm}$, valor muy por debajo del reportado en esta investigación, lo que podría indicar incluso que existe un mayor efecto de la cuña marina en la subcuenca del río Manzanares que en el delta del Orinoco.

Además, es importante resaltar que las formaciones rocosas de la cuenca del río Manzanares, características de la cordillera de la Costa y los Llanos, son de fácil meteorización física y química, en comparación con las del río Orinoco cuyo origen es el del Macizo Guayanés (Stallard *et al.*, 1990).

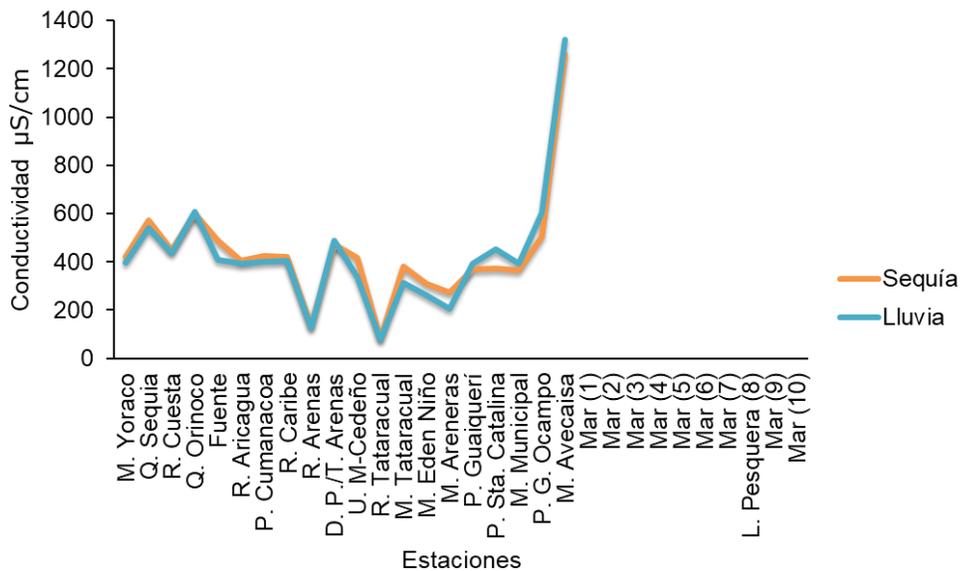


Figura 8. Comportamiento espacial y estacional de la conductividad ($\mu\text{S}/\text{cm}$) en las subcuencas alta, media y baja durante todo el periodo de muestreo del río Manzanares.

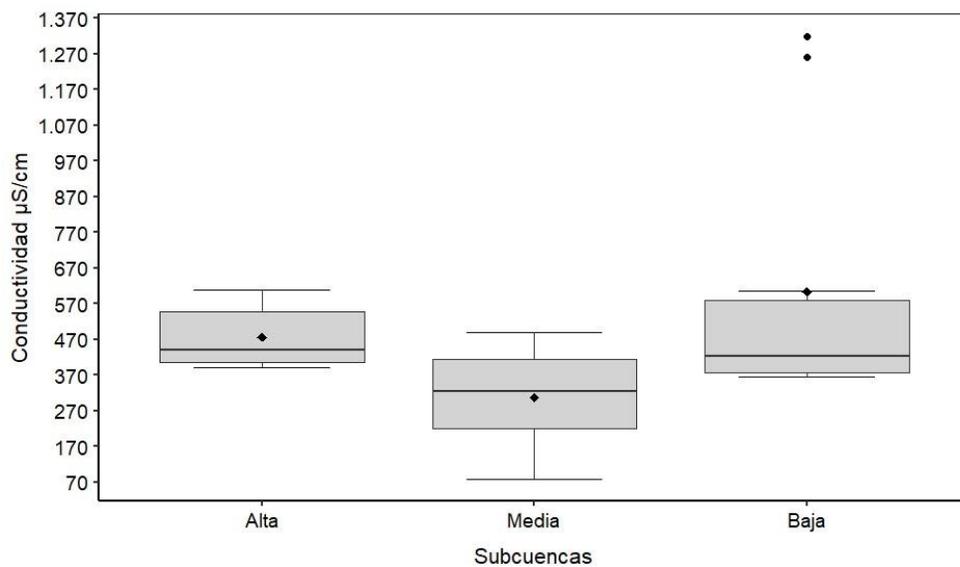


Figura 9. Conductividad ($\mu\text{S}/\text{cm}$) en las subcuencas alta, media y baja durante todo el periodo de muestreo del río Manzanares.

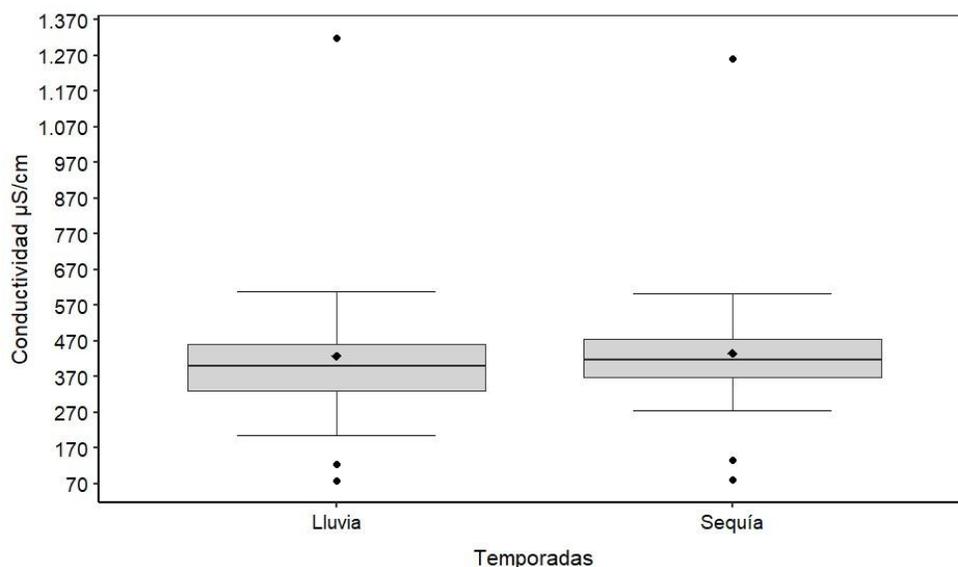


Figura 10. Conductividad ($\mu\text{S/cm}$) en las épocas de lluvia y sequía a lo largo de todo el cauce del río Manzanares.

Oxígeno disuelto

El promedio del oxígeno disuelto fue de 5,77 mg/ml, con un valor máximo de 8,11 mg/ml en época de sequía en la estación M. Yoraco y un mínimo de 3,75 mg/ml en época de sequía en la estación M. Avecaisa (Fig. 11). El análisis estadístico Kruskal-Wallis arrojó que existe diferencias significativas entre las subcuencas estudiadas ($K-W = 21,35$; $p = 2,31^{-7}$) y el *test de U* arrojó que ambos periodos de muestreo son iguales ($W = 535,00$; $p = 0,21$).

Las pruebas posteriores arrojaron que el oxígeno disuelto de la subcuenca alta es igual a el oxígeno disuelto de la media ($p = 1,00$) y diferente de la baja ($p = 0,002$) y que el oxígeno disuelto de la subcuenca media es diferente de la baja ($p = 0,0001$; Figs.12 y 13).

La variación de oxígeno disuelto a lo largo de la cuenca, se puede atribuir al descenso del pH, es decir el consumo de este elemento durante la oxidación de la materia orgánica y a la menor de la solubilidad del oxígeno en las aguas salobres. Comportamiento parecido al reportado por Fuentes *et al.* (2008), quienes reportaron un valor promedio de 5,36 mg/ml. Según Senior *et al.*

(1999), la variación del oxígeno disuelto es evidencia del alto nivel de contaminante del río Manzanares. Esto se le atribuye al requerimiento de oxígeno por parte de las bacterias para descomponer la carga de materia orgánica vertida al cauce del río Manzanares.

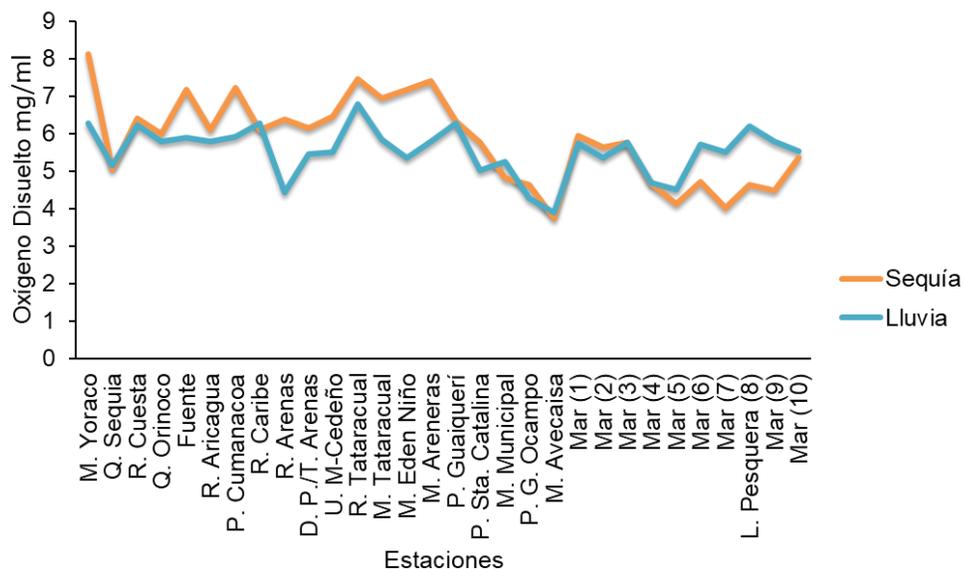


Figura 11. Comportamiento espacial y estacional del oxígeno disuelto (mg/ml) en las subcuencas alta, media y baja durante todo el periodo de muestreo del río Manzanares.

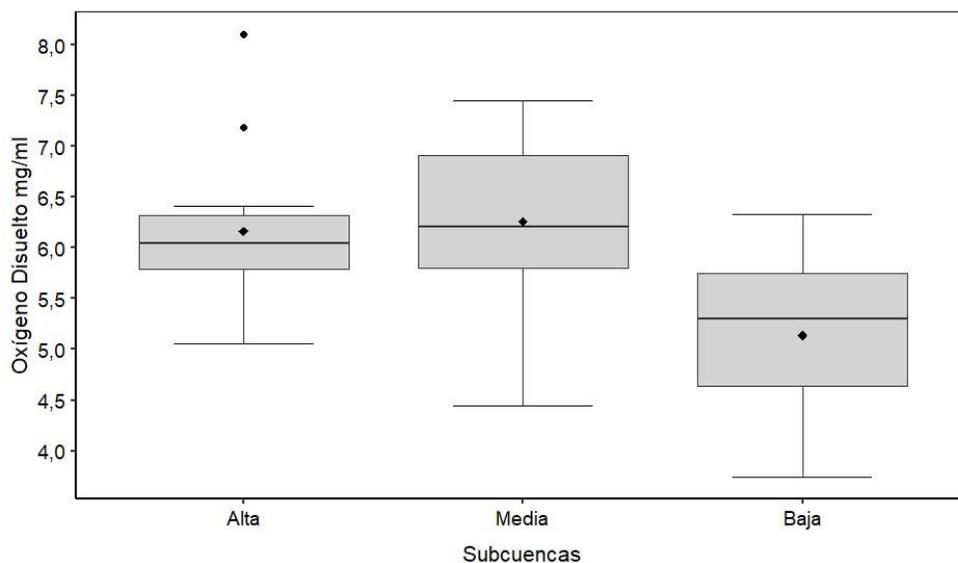


Figura 12. Oxígeno disuelto (mg/ml) en las subcuencas alta, media y baja durante todo el periodo de muestreo del río Manzanares.

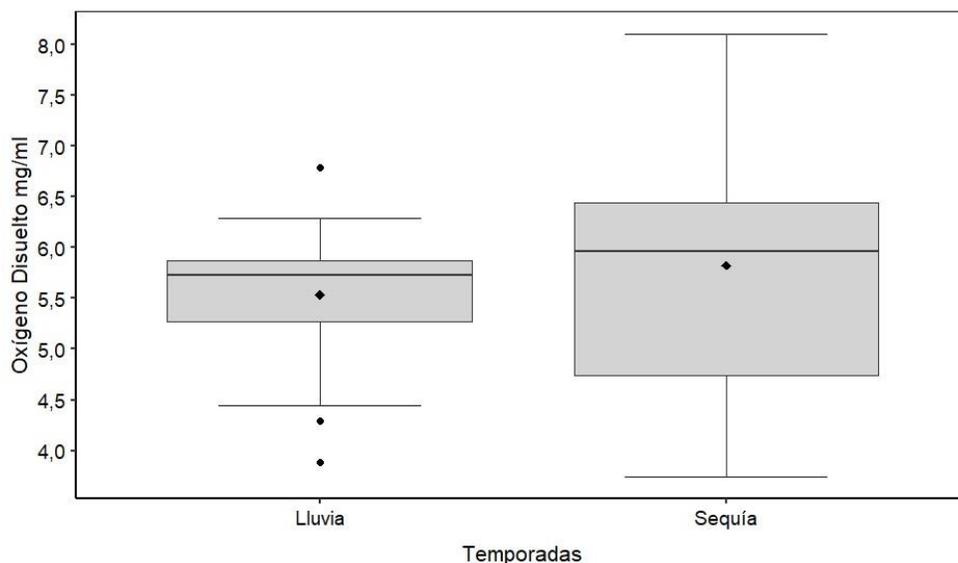


Figura 13. Oxígeno disuelto (mg/ml) en las épocas de lluvia y sequía a lo largo de todo el cauce del río Manzanares.

Coliformes totales

El promedio de coliformes totales fue de $4,46 \times 10^6$ NMP/100 ml con un valor máximo de $5,91 \times 10^6$ NMP/100 ml en la estación D.P / T. Arenas durante la época de lluvia y un mínimo de $0,71 \times 10^6$ NMP/100 ml en la estación Mar (10) durante la época de lluvia (Fig. 14).

El análisis estadístico Kruskal-Wallis arrojó que existe diferencias significativas entre las subcuencas estudiadas ($K-W = 6,95$; $p = 0,03$) y el *test de U* arrojó que ambos periodos de muestreo son diferentes ($W = 252,00$; $p = 0,003$).

Las pruebas posteriores arrojaron que los coliformes totales de la subcuenca alta es igual a los coliformes totales de la media ($p = 0,30$) y diferente de la baja ($p = 0,03$) y que los coliformes totales de la subcuenca media es igual de la baja ($p = 1,00$; Fig. 15 y 16).

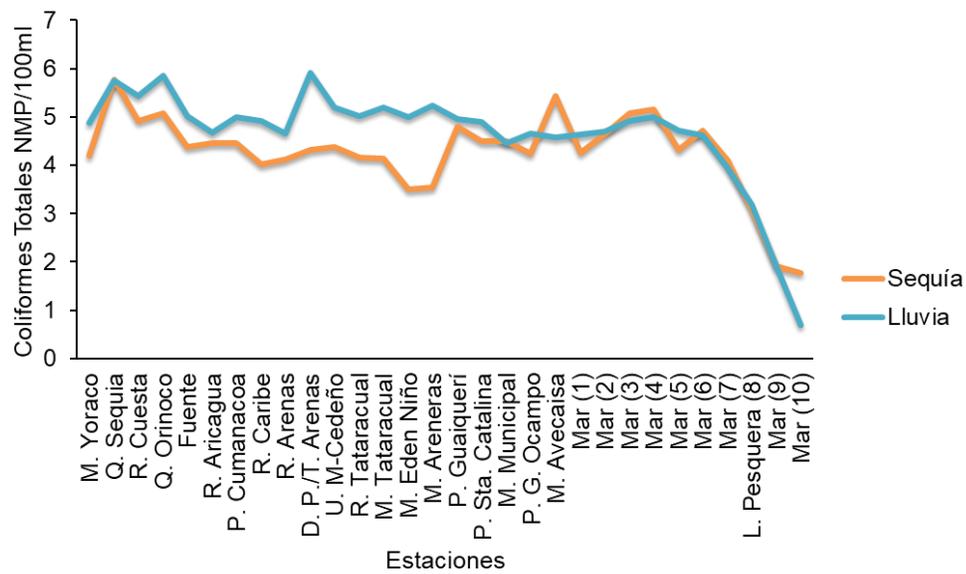


Figura 14. Comportamiento espacial y estacional de coliformes totales (NMP/100 ml) en las subcuencas alta, media y baja durante todo el periodo de muestreo del río Manzanares.

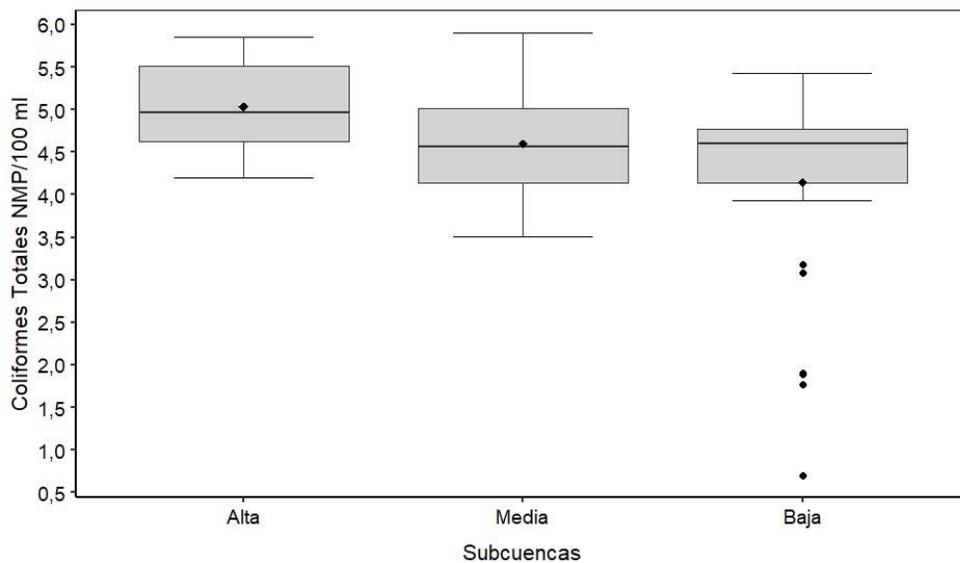


Figura 15. Coliformes Totales (NMP/100 ml) en las subcuencas alta, media y baja durante todo el periodo de muestreo del río Manzanares.

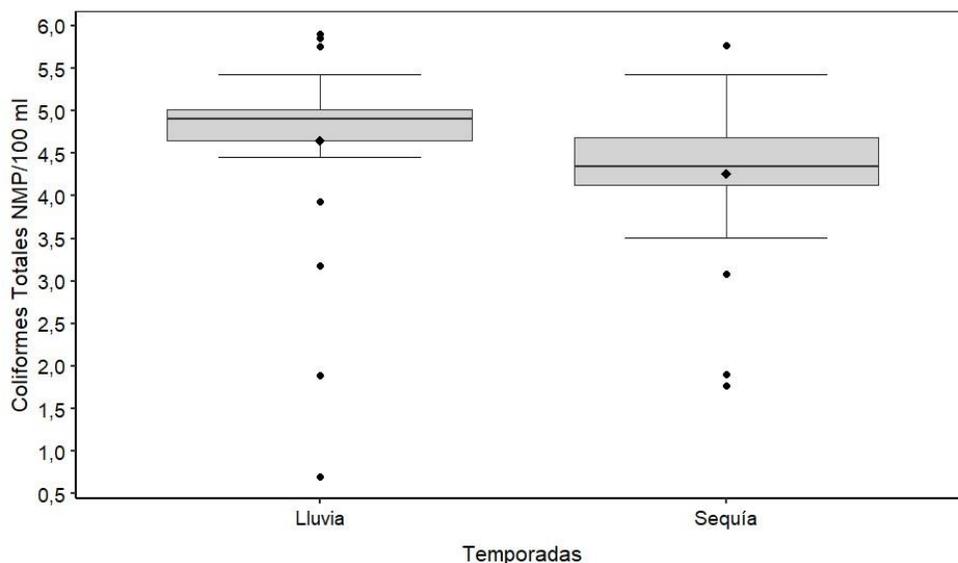


Figura 16. Coliformes Totales (NMP/100 ml) en las épocas de lluvia y sequía a lo largo de todo el cauce del río Manzanares.

Coliformes fecales

El promedio de coliformes fecales fue de $4,07 \times 10^6$ NMP/100 ml con un valor máximo de $5,91 \times 10^6$ NMP/100 ml en la estación D.P. / T. Arenas durante la época de lluvia y un mínimo de $0,59 \times 10^6$ NMP/100 ml en la estación Mar (10) durante la época de sequía (Fig. 17).

El análisis estadístico Kruskal-Wallis arrojó que no existen diferencias significativas entre las subcuencas estudiadas ($K-W = 6,18$; $p = 0,05$) y el *test de U* arrojó que ambos periodos de muestreo son diferentes ($W = 256,00$; $p = 0,004$); Figs.18 y 19).

Al analizar los resultados de los coliformes totales y coliformes fecales se puede observar que ambas variables bacteriológicas están siendo influenciadas por los periodos climáticos obteniendo sus mayores valores en la época de lluvia cuando posiblemente existe mayor arrastre de materia orgánica al cauce del río por las escorrentías. De igual forma se evidenció que existe una influencia de la cuña salina en el conteo de coliformes totales resultando que la subcuenca baja presenta diferencias significativas con respecto a la subcuenca alta.

La legislación venezolana limita a 200 NMP/100ml de coliformes fecales en las aguas destinadas al contacto humano, por tanto, las aguas del río Manzanares y de sus efluentes están siendo influenciadas negativamente, pudiéndose desarrollar un nivel importante de contaminación.

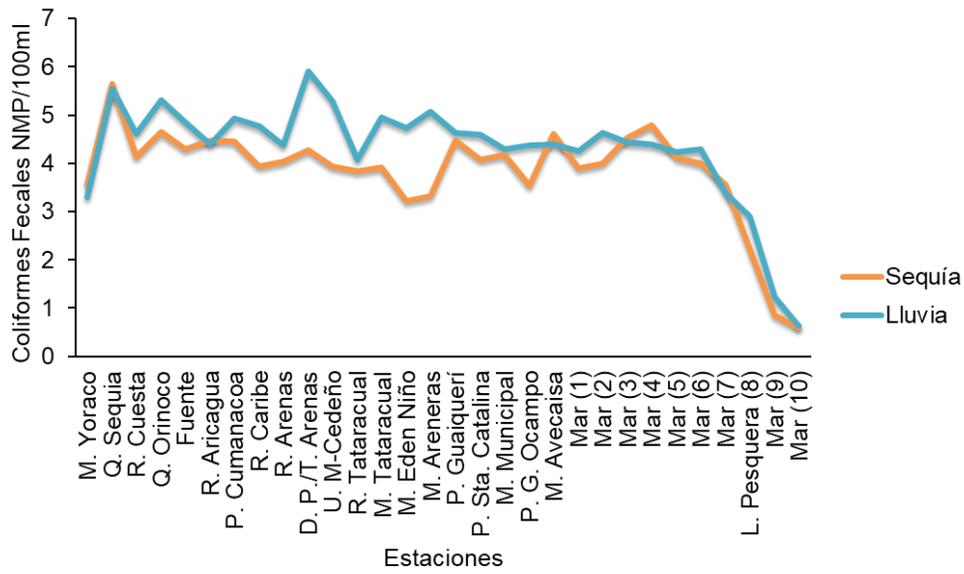


Figura 17. Comportamiento espacial y estacional de coliformes fecales (NMP/100 ml) en las subcuencas alta, media y baja durante todo el periodo de muestreo del río Manzanares.

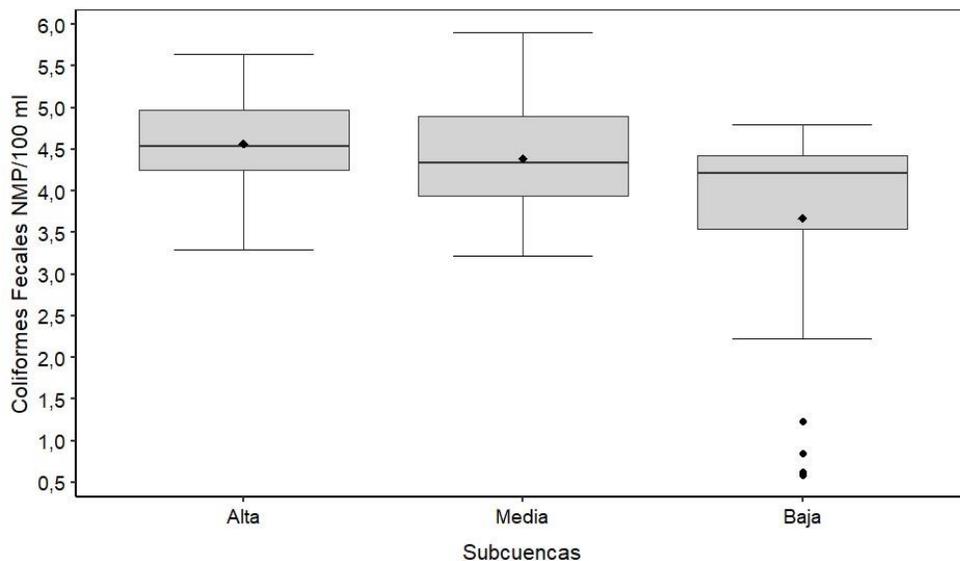


Figura 18. Coliformes fecales (NMP/100 ml) en las subcuencas alta, media y baja durante todo el periodo de muestreo del río Manzanares.

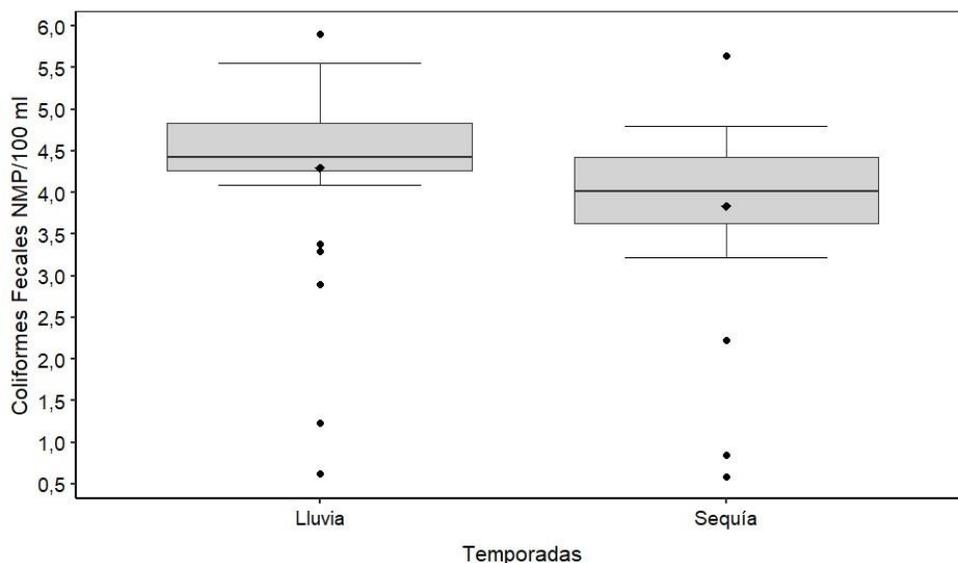


Figura 19. Coliformes fecales (NMP/100 ml) en las épocas de lluvia y sequía a lo largo de todo el cauce del río Manzanares.

Esta alerta de contaminación no es nueva, Fernández (1984) informó sobre niveles de coliformes entre 10^5 y 10^8 NMP/100ml durante el período comprendido entre 1971 y 1980, debido a los vertidos resultantes de los pobladores de los márgenes del río, desde la subcuenca media hasta la subcuenca baja, Godoy (1991) encontró concentraciones de 10^4 NMP/100 ml en la subcuenca baja, mientras que Senior *et al.* (1999) hallaron concentraciones mil veces mayores en balnearios muy populares. Estos valores referenciales son inferiores a los obtenidos en esta investigación, en las mismas zonas, lo cual indica que el problema se está agravando dado el aumento demográfico en las riberas del Manzanares.

Otros investigadores señalaron, para las tres subcuencas y pluma del río Manzanares, valores de coliformes hasta de 10^5 NMP/100ml, en época de lluvia, y de 10^7 NMP/100ml, en época de sequía, y atribuyeron los altos valores obtenidos durante el período de sequía, al poco movimiento de las aguas y a la continua descarga de residuos domésticos, sin tratamiento previo, a este ecosistema (Gutiérrez, 2004; Fuentes, 2009).

Clostridium perfringens

El promedio del *Clostridium perfringens* fue de $3,72 \times 10^6$ NMP/100 ml con un valor máximo de $4,38 \times 10^6$ NMP/100 ml durante la época de sequía en las estaciones: M. Yoraco, Q. Sequia, Fuente, R. Aricagua, R. Arenas, D. P. / T. Arenas, R. Tataracual, M. Tataracual y M. Areneras; y en época de lluvia en las estaciones: Q. Sequia, Q. Orinoco, R. Aricagua, R. Arenas, D. P./T. Arenas, U. M-Cedeño, M. Tataracual, M. Eden Niño y M. Areneras y un mínimo de $0,00 \times 10^6$ NMP/100 ml en la estación Mar (10) durante la época de sequía (Fig. 20). El análisis estadístico Kruskal-Wallis arrojó que existe diferencias significativas entre las subcuencas estudiadas ($K-W = 45,55$; $p = 1,28^{-10}$) y el test de *U* arrojó que ambos periodos de muestreo son diferentes ($W = 484,50$; $p = 0,61$).

Las pruebas posteriores arrojaron que *Clostridium perfringens* de la subcuenca alta es igual al *Clostridium perfringens* de la media ($p = 1,00$) y diferente de la baja ($p = 1,60^{-6}$) y que *Clostridium perfringens* de la subcuenca media es diferente de la baja ($p = 1,00^{-8}$; Figs. 21 y 22).

Específicamente para las subcuencas alta y media, el género *Clostridium perfringens* presento una distribución homogénea referenciando sus mayores valores. Este mismo comportamiento para esta variable bacteriológica fue idéntico en ambos periodos de muestreo, lo que podría indicar que las condiciones del río Manzanares son idóneas para el desarrollo de este género, este comportamiento con respecto a la diferencia entre las subcuencas, también ha sido reportado por otros autores (Gutiérrez, 2004; Mata, 2004; Fermín, 2015). *Clostridium perfringens*, es otro indicador de contaminación fecal. Estos organismos son estrictamente anaeróbicos, y forman parte del microbiota intestinal normal, encontrándose también en suelos y aguas contaminadas; además, es el mejor indicador bacteriológico para la determinación y el establecimiento de estándares para la calidad de las aguas

(Fujioka, 1985), por su capacidad para sobrevivir bajo condiciones críticas del medio (Skanavis y Yanko, 2001; Mata, 2004).

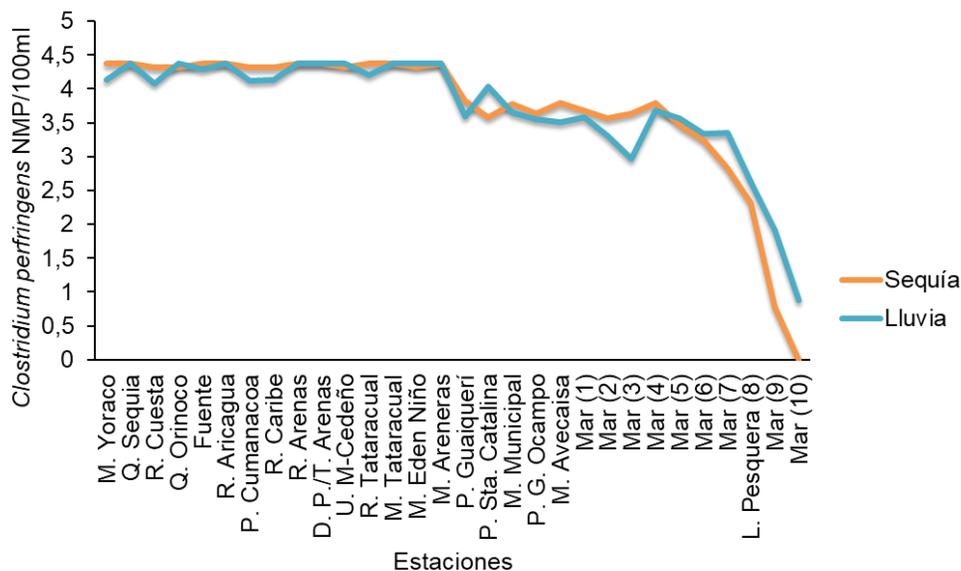


Figura 20. Comportamiento espacial y estacional de *Clostridium perfringens* (NMP/100 ml) en las subcuencas alta, media y baja durante todo el periodo de muestreo del río Manzanares.

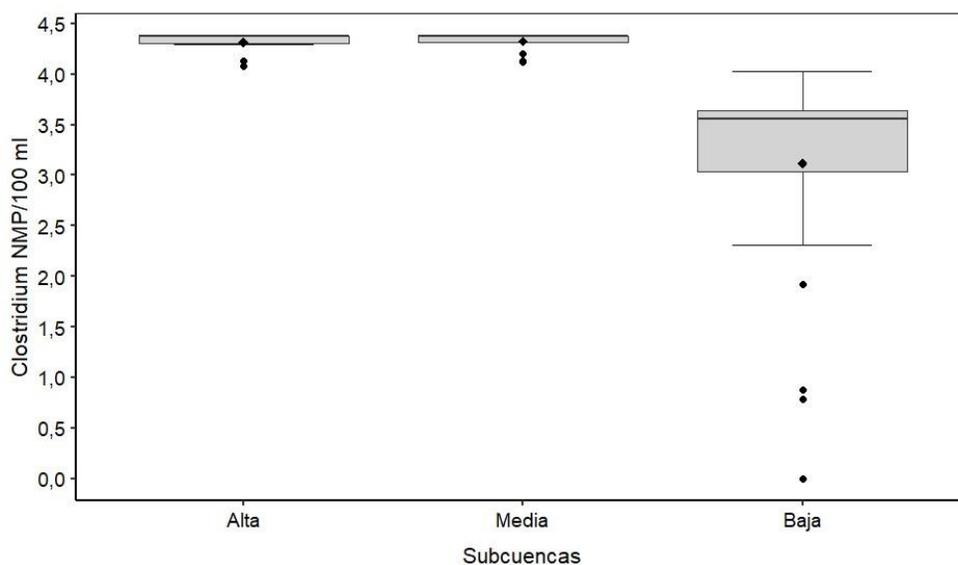


Figura 21. *Clostridium perfringens* (NMP/100 ml) en las subcuencas alta, media y baja durante todo el periodo de muestreo del río Manzanares.

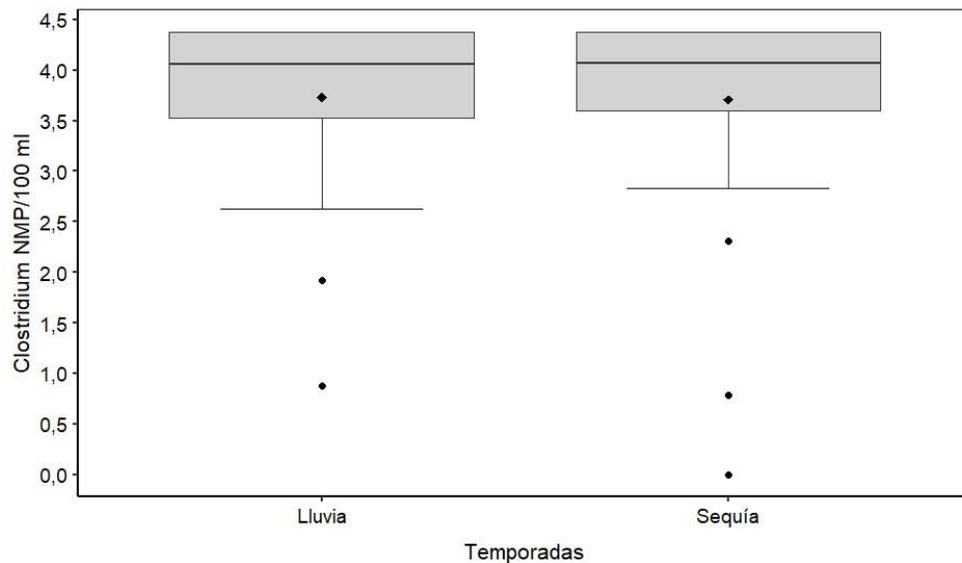


Figura 22. *Clostridium perfringens* (NMP/100 ml) en las épocas de lluvia y sequía a lo largo de todo el cauce del río Manzanares.

Al analizar los resultados que se evalúan en coliformes totales, fecales y *Clostridium perfringens*, se pudo denotar que posiblemente en la subcuenca alta y media las comunidades aledañas al cauce del río descargan sus aguas residuales en él.

El análisis de correlación arrojó como resultado que los coliformes totales y fecales presentan una baja relación positiva con la conductividad, mientras que *Clostridium perfringens* además de una baja relación positiva con la conductividad, también se ve influenciada con el mismo comportamiento por el pH y el oxígeno disuelto. Sabiendo que la conductividad está asociada con el número de solutos presentes en el agua podemos atribuir esta relación con la cantidad de materia orgánica en descomposición que favorece al ambiente ideal para el desarrollo de estas colonias bacterianas. Además, es importante resaltar que *Clostridium perfringens*, aunque es una bacteria anaeróbica con gran plasticidad ecológica, podría estar influenciada por algún factor ambiental que a su vez es afectado por el pH básico y por la mayor cantidad de oxígeno disuelto. De igual forma el correlograma demuestra, la alta relación que existe entre coliformes totales y fecales. Por su parte la temperatura, influencia baja y

negativamente la presencia de coliformes totales y *Clostridium perfringens*, sobre esto Fuccz-Gamboa *et al.* (2007), expresan que la radiación solar, temperatura del ambiente, el porcentaje de humedad y las precipitaciones, influyen significativamente en la reducción de coliformes (Fig. 23).

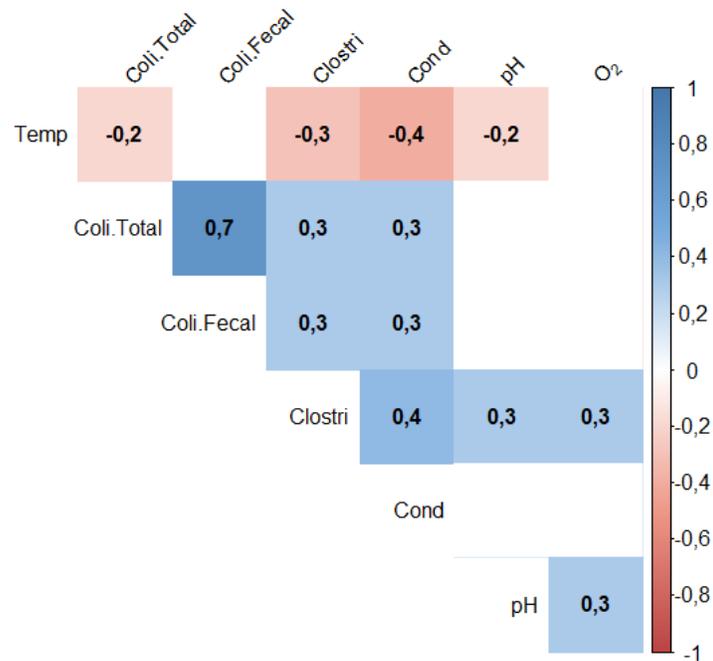


Figura 23. Correlograma entre las variables estudiadas en todo el periodo de muestreo del río Manzanares. (Temp: temperatura; Coli.Total: coliformes totales; Coli.Fecal: coliformes fecales; Clostri: *Clostridium perfringens*; Cond: conductividad; pH: pH; O₂: oxígeno disuelto).

CONCLUSIONES

En todas las subcuencas del río Manzanares, se detectó la presencia de coliformes totales, fecales y *Clostridium perfringens*, apareciendo en las dos primeras variables bacteriológicas, sus mayores valores en época lluviosa, mientras que *Clostridium perfringens* mantuvo su uniformidad tanto en época de lluvia como en la de sequía.

Durante, la época de lluvia las variables físico-químicas estudiadas del agua del río Manzanares fueron uniformes, mientras que en la época de sequía la subcuenca baja fue diferente a las demás debido a la influencia de la cuña salina.

Solo *Clostridium perfringens*, entre las variables bacteriológicas, se vió influenciada por la concentración de oxígeno disuelto y el nivel de pH por la alta adaptabilidad ecológica de la misma.

.

RECOMENDACIONES

El río Manzanares ostenta una gran importancia biológica en el estado Sucre por las dimensiones de su cauce. En este y otros trabajos de investigación, se ha reportado un grave problema de contaminación, lo que pone en peligro la biodiversidad que depende del mismo y los servicios ambientales que las comunidades cercanas aprovechan de él. Por tales motivos, se considera necesario implementar planes de manejo que evalúen y controlen las descargas de desechos comunes e industrias a sus aguas. Además, como medida de protección biológica es importante supervisar la deforestación de áreas cercanas a él, cabe destacar, que esta situación es de gran impacto dado el tipo de agricultura que se practica en la zona.

Es necesario establecer mecanismos que evalúen y sancionen la aplicación de las leyes en materia ambiental en tal significativa fuente hídrica.

Y como último punto es importante mantener un monitoreo científico periódico de las condiciones bióticas y abióticas de este afluente.

BIBLIOGRAFÍA

- Abeyta, C. y Wetherington, J. 1994. Iron milk medium for recovering *Clostridium perfringens* from shellfish: Collaborative study. *JAOAC*, 77: 351-356.
- Aguilera, L. y Rojas, J. 1976. La ictiofauna del complejo hidrográfico del río Manzanares; Edo Sucre, Venezuela. *Lagena*, 37 (38): 25 - 35.
- Aminot, A. y Chaussepied, M. 1983. Manuel des analyses chimiques en milieu marin. CNEXO, Editions Jouve. París, Francia. 395 pp.
- APHA, AWWA y WPCF. 1989. *Standard methods for examination of water and wastewater*, 17th Edition, APHA, U.S.A. Pág. 1193.
- APHA. 1995. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 19th edition, APHA. New York. Pág.1193.
- APHA, AWWA, y WPCF. 1998. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 20th Edition APHA, Washington. Pág.1193.
- Carpenter, J. 1965. The Chesapeake Bay Institute. Technique for the Winkler oxygen method. *Limnology and Oceanography*, 10: 141-143.
- Carrit, D. y Carpenter, J. 1966. Comparison and evaluation of currently employed modification of the winkler method for determining dissolved oxygen in sea-water. *Journal of Marine research*, 24: 286-318.
- Castro-Moreno, A.; Contreras-Gaspar, R.; Pérez-Gomez, L.; Cotoret-Brito, I.; Cerillos, M.; Torres-Arzayus, P.; Zamora, R. y Arcia, D. 2017. Cumaná 500 años: una historia ilustrada. Primera Edición. Editor Banco Interamericano de Desarrollo (BID). Programa Ciudades Emergentes y Sostenibles.
- CENDES - UCV - MARN - CORPORIENTE. 1987. Atlas de la zona protectora del macizo montañoso del Turimiquire. Decenio del Agua. Cumaná. Pág. 33-35.
- Cho, K.; Pachepsky, Y.; Kim, M.; Pyo, J.; Park, M.; Kim, Y.; Kim, J. y Kim, J. 2016. Modeling seasonal variability of fecal coliform in natural surface waters using the modified SWAT. *Journal of Hydrology*, (535): 377-385.
- Díaz, C. 2003. Agua potable para comunidades rurales, reuso y tratamientos avanzados de aguas residuales domésticas. RIPDA-CYTED. México D.F.
- Díaz, E.; Alvarado, A. y Camacho, K. 2012. El tratamiento de agua residual doméstica para el desarrollo local sostenible: el caso de la técnica del sistema unitario de tratamiento de aguas, nutrientes y energía (SUTRANE) en San Miguel Almaya, México. *Universidad Autónoma del Estado de México*, 14 (1): 78-97.
- Divya, A. y Solomon, P. 2016. Effects of some water quality parameters especially total coliform and fecal coliform in curface water of chalakudy river. *Procedia Technology*, (24): 631–638.

España. 2007. "Principales Problemas Ambientales de Venezuela". <<http://espanol.answers.yahoo.com/question/index?qid=20080210203140AAI6LrU>> (15/08/2013).

Fermín, I. 2015. Evaluación ambiental del río Manzanares y su interacción con la zona costera de Cumaná, estado Sucre. Venezuela. Tesis doctoral en Ciencias Marinas. *Instituto Oceanográfico de Venezuela*, Universidad de Oriente, Cumaná.

Fernández, A.; Molina, M.; Álvarez, A.; Alcántara, M. y Espigares, A. 2001. Transmisión fecohídrica y virus de la hepatitis A. *Higiene y Sanidad Ambiental*, 1: 8-24.

Fernández, E. 1973. Algunas observaciones sobre la contaminación de las aguas costeras en la ciudad de Cumaná – Venezuela. *Boletín Instituto Oceanográfico Universidad de Oriente*, 12 (1): 23-32.

Fernández, E. 1984. Contaminación de los ríos Guasdua y Manzanares, estado Sucre, Venezuela. *Boletín Instituto Oceanográfico Universidad de Oriente*, 23 (1-2): 113 - 128.

Fuentes, M.; Senior, W.; Fermín, I. y Troccoli, L. 2008. Estudio fisicoquímico y bacteriológico del río Manzanares, estado Sucre, Venezuela. *Boletín Instituto Oceanográfico de Venezuela*, 47 (2): 149-158.

Fuccz-Gamboa, J.; Gómez-Moreno, R.; Cárdenas-Guzmán, M. y Campos-Pinilla, C. 2007. Comportamiento de coliformes fecales como indicadores bacterianos de contaminación fecal en diferentes mezclas de biosólido y estériles utilizados para la restauración ecológica de la cantera Soratama, Bogotá. *Revista de la Facultad de Ciencias Edición Especial II*, 12: 111-120.

Fuijoka, R. y Shizumura, L. 1985. Clostridium perfringens, a reliable indicator of extrem a water quality. *Journal Water Pollution Control Federation*, 57: 986-992.

Gibbs, B. y Freame, B. 1965. Methods for the recovery of clostridia from food. *Journal of Applied Bacteriology*, 28: 95-111.

Godoy, G. 1991. Estudio espacio-temporal de los parámetros fisicoquímicos y biológicos en la zona estuarina del río Manzanares (Cumaná –Venezuela). Trabajo de grado de MSc. Ciencias Marinas, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela, 185 pp.

Guadarrama-Tejas, R.; Kido-Miranda, J.; Roldan-Antunez, G. y Salas-Salgado, M. 2016. Contaminación del agua. *Revista de Ciencias Ambientales y Recursos Naturales*, 2 (5): 1-10.

Gutiérrez, A. 2004. Estudio fisicoquímico y microbiológico de las aguas superficiales de las cuencas altas, media y baja del río Manzanares, durante el período mayo 2002-junio 2003. Trabajo de grado de MSc. en Ciencias Marinas. *Instituto Oceanográfico de Venezuela*, Universidad de Oriente, Cumaná.

Him, J.; Arena, E. y Bósquez, K. 2019. Calidad físico-química y microbiología del agua del río Santa María en las inmediaciones del reservorio de agua del acueducto de Santiago, Veraguas. *Tecnociencia*, 21 (2): 13-30.

López-Marcano, J.; Núñez, J.; Ariza, L.; Silva, A.; Castillo, O.; Ruiz, L.; Medina, L. y Araujo, D. 2019. Evaluación ecológica de la comunidad íctica continental del caño manamo en la zona alta delta del río Orinoco, Venezuela. *Boletín Instituto Oceanográfico Venezuela*, 58 (1): 56-72.

Mann, H. y Whitney, D. 1947. On a test of whether one of two random variables is stochastically larger than the other. *Annals of Mathematical Statistics*, 18 (1): 50-60.

Marín, B. 2002. Descripción de la escala conceptual indicativa del grado contaminación. Diagnóstico y evaluación de la calidad ambiental marina en el Caribe y Pacífico colombiano. Red de vigilancia para la conservación y protección de la calidad de las aguas marinas y costeras. Informe Final. Anexo 4. Programa Calidad Ambiental Marina - INVEMAR. Pág. 74.

Mata, F. 2004. Determinación del grado de contaminación del río Manzanares (Cumaná, estado Sucre), mediante el análisis físico, químico y bacteriológico de sus aguas. Trabajo de Grado de Licenciatura en Bioanálisis. Escuela de Ciencias. Universidad de Oriente. Cumaná.

Millero, F. 1986. The pH of estuarine wáter. *Limnology and Oceanography*, 31 (4): 839-847.

Murray, P.; Rosenthal, K. y Pfaller, M. 2009. Microbiología Médica. Sexta edición. Elsevier, España. Pág. 915.

Orellana, J. 2005. "Contaminación". *Ingeniería Sanitaria- UTN – FRRO*. Pág. 1.

Pauta, G.; Vázquez, G.; Abril, A.; Torres, C.; Loja, M. y Palta, A. 2020. Indicadores bacteriológicos de contaminación fecal en los ríos de Cuenca. *Maskana*, 11 (2): 46-57.

Pérez, A.; Pérez, S. y Rosa, G. 2011. "Problemas ambientales en Venezuela. Contaminación del agua y del aire". 2011. "Monografías". <<http://www.monografias.com/trabajos13/trabamb/trabamb.shtml#CONTAM>> (18/08/2013).

Pérez, Y. "La contaminación del medio ambiente". Universidad privada San Juan Bautista, Escuela de Contabilidad, 05 de febrero de 2021.

R Core Team. 2016. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna. Austria. Disponible en: <https://www.R-project.org/>. (revisada enero 2022).

Red, A. 2011. "Aportes para un diagnóstico de la problemática ambiental de Venezuela". "Vitalis". <<http://www.vitalis.net/AportesDiagnosticoAmbientalVenezuelaRedARA>> (13/08/2013).

- Senior, W. 2003. Plan de recuperación integral del río Manzanares y su entorno. Informe. Departamento de Oceanografía. Instituto Oceanográfico de Venezuela. Universidad de Oriente, Cumaná.
- Senior, W.; Castañeda, J. y Martínez, G. 1999. Problemática ambiental del río Manzanares y la zona costera de Cumaná. Informe Técnico. Departamento de Oceanografía, Instituto Oceanográfico Universidad de Oriente. Cumaná, Venezuela.
- Senior, W.; Fermín, I. y López, F. 2005. Principales fuentes de contaminación del río Manzanares. Boletín de la academia de ciencias físicas, matemáticas y naturales 65 (1-4): 19-24.
- Senior, W.; Fermín, I. y Mata, F. 2004. Diagnóstico ambiental y participación comunitaria para el control de la contaminación del río Manzanares, estado Sucre, Venezuela. Informe Fundación Río Manzanares.
- Skanavis C. y Yanko, W. 2001. *Clostridium perfringens* as a potential indicator for the presence of sewage solids in marine sediments. *Marine Pollution Bulletin*, 42 (1):31-5.
- Sokal, R. y Rohlf, F. 1995. Biometry: the principles and practice of statistics in biological research. Editorial Freeman. New York, EEUU. 887 pp.
- Snyder, J. y Merson, M. 1982. The magnitude of the global problem of acute diarrhoeal disease: A Review of Active Surveillance Data. Bulletin of the World Health Organization, 605-613.
- Stallard, R.; Koehnken, L. y Johnsson, J. 1990. Weathering processes and the composition of inorganic material transported through the Orinoco River system, Venezuela and Colombia. Pp. 81-119, En: El río Orinoco como ecosistema. Weibezahn, F.; Alvarez, H. y Lewis, W. (Eds.). Impresos Rubel, Caracas, Venezuela.
- Valenzuela, M.; Lagos, B.; Claret, M.; Mondaca, M.; Pérez, C. y Parra, O. 2009. "Fecal contamination of groundwater in a small rural dryland watershed in central Chile". "Chilean Journal of Agricultural Research". <<https://doi.org/10.4067/S0718-58392009000200013>>.
- Winkler, L. 1888. Die Bestimmungdes in Wasser gelösten Sauerstoffes. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, 21: 2843-2855.
- Zar, H. 1974. *Bioestatistical analysis*. Prentice Hall. Biological Sciences Series, Illinois, EEUU. 620 pp.

HOJAS DE METADATOS

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/6

Título	Evaluación del grado de contaminación por medio del análisis bacteriológico y físico-químico de las aguas de la cuenca del río Manzanares. estado Sucre. Venezuela
Subtítulo	

Autor (es):

Apellidos y Nombres	Código ORCID / e-mail	
Romero Toledo Andrea	CVLAC	
	e-mail	<i>andreadylok89@gmail.com</i>
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	

Palabras o frases claves:

bacteriología
contaminación
aguas residuales
escorrentías
cuña salina

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/6

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencias	Bioanálisis

Resumen (abstract):

El río Manzanares es uno de los más importantes de Venezuela, debido a la alta biodiversidad que habita en él y a las dimensiones de su cauce 300 km. A lo largo de su cuenca está expuesto a contaminantes provenientes de aguas residuales comunes e industriales, por lo que en esta investigación se estudió la presencia de coliformes totales, coliformes fecales, *Clostridium perfringens* y su correlación con las variables ambientales temperatura, pH, conductividad y oxígeno disuelto, en muestras de aguas obtenidas en 30 estaciones repartidas en toda su longitud; seis en la subcuenca alta, nueve en la media y quince en la baja, esta última influenciada por el agua de mar. Estos muestreos se realizaron en una escala temporal tomando en cuenta las épocas de lluvia y sequía. Los resultados obtenidos indicaron promedios para coliformes totales, coliformes fecales y *Clostridium perfringens* de $4,458 \times 10^6$ NMP/100 ml, $4,065 \times 10^6$ NMP/100 ml y $3,719 \times 10^6$ NMP/100 ml respectivamente. Estas variables presentaron diferencias significativas con respecto a los periodos climáticos, y solo los coliformes fecales fueron iguales a lo largo de las tres subcuencas del río. El análisis de correlación mostró como resultado que las tres variables biológicas presentaron una baja relación positiva con la conductividad. Además, *Clostridium perfringens* presentó la misma actuación con respecto al pH y el oxígeno disuelto y una baja relación negativa con la temperatura, este último comportamiento se repite en coliformes totales. De igual forma el correlograma demuestra, la alta relación que existe entre coliformes totales y fecales. Estos resultados, evidencian la continuidad del grave problema de contaminación en el río Manzanares, lo que pone en peligro la biodiversidad que depende del mismo y los servicios ambientales que las comunidades cercanas aprovechan de él. Por tales motivos, consideramos necesario implementar planes de manejo que evalúen y controlen las descargas de desechos comunes e industrias a sus aguas.

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/6 Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código ORCID / e-mail	
López-Marcano, Juan	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input checked="" type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	ORCID	0000-0001-6368-4364
	e-mail	<i>juanjj5826@gmail.com</i>
	e-mail	<i>juanlm_bio@udo.edu.ve</i>
Antón, Yanet	ROL	CA <input checked="" type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	ORCID	
	e-mail	<i>yanetanton2019@gmail.com</i>
	e-mail	
Fernández, Ormeglys	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	ORCID	
	e-mail	<i>ormeglysf@gmail.com</i>
	e-mail	
Hernández, Daviannys	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	ORCID	
	e-mail	<i>daviannysh95@gmail.com</i>
	e-mail	

Fecha de discusión y aprobación:

Año	Mes	Día
2024	11	04

Lenguaje: SPA

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/6**Archivo (s):**

Nombre de archivo
NSUTTG_RTAC2024

Alcance:**Espacial:** UNIVERSAL**Temporal:** INTEMPORAL**Título o Grado asociado con el trabajo:**

Licenciada en Bioanálisis

Nivel Asociado con el Trabajo: Licenciado**Área de Estudio:** Bioanálisis**Institución (es) que garantiza (n) el Título o grado:**

UNIVERSIDAD DE ORIENTE, NÚCLEO DE SUCRE

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 5/6



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
CONSEJO UNIVERSITARIO
RECTORADO

CUN°0975

Cumaná, 04 AGO 2009

Ciudadano
Prof. JESÚS MARTÍNEZ YÉPEZ
Vicerrector Académico
Universidad de Oriente
Su Despacho

Estimado Profesor Martínez:

Cumplo en notificarle que el Consejo Universitario, en Reunión Ordinaria celebrada en Centro de Convenciones de Cantaura, los días 28 y 29 de julio de 2009, conoció el punto de agenda **"SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA PUBLICAR TODA LA PRODUCCIÓN INTELECTUAL DE LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UDO, SEGÚN VRAC N° 696/2009"**.

Letdo el oficio SIBI – 139/2009 de fecha 09-07-2009, suscrita por el Dr. Abul K. Bashirullah, Director de Bibliotecas, este Cuerpo Colegiado decidió, por unanimidad, autorizar la publicación de toda la producción intelectual de la Universidad de Oriente en el Repositorio en cuestión.

Comunicación que hago a usted a los fines consiguientes.

Cordialmente,

JUAN A. BOLAÑOS CUNVELO
Secretario

UNIVERSIDAD DE ORIENTE
SISTEMA DE BIBLIOTECA
RECIBIDO POR *Mazley*
FECHA *5/8/09* HORA *5:30*

REPUBLICA BOLIVARIANA DE VENEZUELA
UNIVERSIDAD DE ORIENTE
SECRETARIA
CONSEJO UNIVERSITARIO

C.C: Rectora, Vicerrectora Administrativa, Decanos de los Núcleos, Coordinador General de Administración, Director de Personal, Dirección de Finanzas, Dirección de Presupuesto, Contraloría Interna, Consultoría Jurídica, Director de Bibliotecas, Dirección de Publicaciones, Dirección de Computación, Coordinación de Teleinformática, Coordinación General de Postgrado.

JABC/YGC/maruja

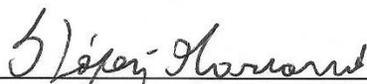
Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 6/6

Artículo 41 del REGLAMENTO DE TRABAJO DE GRADO (vigente a partir del II Semestre 2009, según comunicación CU-034-2009): “los Trabajos de Grado son de la exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente, y sólo podrán ser utilizados para otros fines con el consentimiento del Consejo de Núcleo respectivo, quien deberá participarlo previamente al Consejo Universitario para su autorización”.



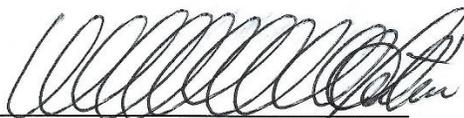
Andrea Del Carmen Romero Toledo

AUTOR



Prof. Juan José López-Marcano

ASESOR



Prof. Yanet Antón

COASESORA