

**CRECIMIENTO BACTERIANO EN EL ÁREA DE LA PARGUERA:
RESPUESTA A FACTORES CLIMÁTICOS Y AL FLUJO DE AGUA
PROVENIENTE DEL ÁREA DE GUÁNICA**

Por

Edgard Giovanni Rojas Ortega

Tesis sometida en cumplimiento parcial de los requisitos para el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS MARINAS

(Oceanografía Biológica)

UNIVERSIDAD DE PUERTO RICO

RECINTO DE MAYAGÜEZ

2008

Aprobado por:

Ernesto Otero, Ph.D.
Presidente, Comité Graduado

Fecha

Jorge E. Corredor, Ph.D.
Miembro, Comité Graduado

Fecha

Raúl E. Macchiavelli, Ph.D.
Miembro, Comité Graduado

Fecha

Astrid J. Cruz, Ph.D.
Representante, Estudios Graduados

Fecha

Nilda E. Aponte, Ph.D.
Director de Departamento

Fecha

ABSTRACT

The temporal and spatial variability of bacterial abundance (BA), production (BP) and respiration (BR) was compared to phytoplankton biomass, salinity, temperature, turbidity, and fluorescence of dissolved organic matter was examined during pluviosity extremes in La Parguera and Guánica Bay. A Fiber Optic Oxygen System (FOXY; Ocean Optics), was used to estimate bacterial respiration, a novel application in aquatic systems. Estimates of BA, BR, BP and growth efficiency were $0.27 - 7.82 \times 10^6$ cells/ml, $160 - 2,264 \mu\text{g O}_2/\text{l/d}$, $1.0 - 39.6 \mu\text{g C}/\text{l/d}$ and $1 - 14\%$ in Guánica while $0.16 - 1.24 \times 10^6$ cells/ml, $292 - 1,945 \mu\text{g O}_2/\text{l/d}$, $0.3 - 33.2 \mu\text{g C}/\text{l/d}$ and $0.2 - 5\%$ in La Parguera. The presence of significant microbial metabolic gradients especially during periods of increased precipitation underscores the importance of studies that examine the relation of microbial components with environmental cues in tropical systems sustaining important resources.

RESUMEN

Se comparó la variabilidad temporal y espacial de la abundancia (AB), producción (PB) y respiración bacteriana (RB) con la biomasa fitoplanctónica, salinidad, temperatura, turbidez y fluorescencia de la materia orgánica disuelta, durante extrema pluviosidad en La Parguera y la bahía de Guánica. El instrumento "Fiber Optic Oxygen System" (FOXY; Ocean Optics) fue usado para estimar la respiración bacteriana, siendo una aplicación innovadora en sistemas acuáticos. Los estimados de AB, RB, PB y eficiencia de crecimiento en Guánica fueron $0.27 - 7.82 \times 10^6$ cells/ml, $160 - 2,264 \mu\text{g O}_2/\text{l/d}$, $1.0 - 39.6 \mu\text{g C}/\text{l/d}$ y $1 - 14\%$, y en La Parguera fueron $0.16 - 1.24 \times 10^6$ cells/ml, $292 - 1,945 \mu\text{g O}_2/\text{l/d}$, $0.3 - 33.2 \mu\text{g C}/\text{l/d}$ y $0.2 - 5\%$. Se observó la presencia de un gradiente metabólico bacteriano, especialmente durante el periodo de lluvias, resaltando la importancia de este estudio el cual examina la relación de los componentes microbianos con cambios ambientales en sistemas tropicales.

Copyright © Edgard Giovanni Rojas Ortega. 2008. UPRM.

*A mis Padres porque ellos
son la luz que ilumina mi vida.*

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a mis Padres y hermanos quienes siempre han estado conmigo apoyándome incondicionalmente a pesar de la distancia.

A mi hermana Janneth, por su apoyo y sabios consejos en los momentos más importantes de mi vida, y por ser como una madre para mi la cual me ha guiado y animado para continuar incluso en las situaciones difíciles de la vida.

Agradezco sinceramente a los miembros del comité graduado por sus sugerencias y revisión del manuscrito. En primer lugar quiero agradecer la confianza, paciencia, apoyo, voluntad y amistad del presidente de mi comité graduado, Dr. Ernesto Otero. De igual manera, quiero agradecer al Dr. Jorge Corredor por sus consejos y conocimiento así como por el préstamo de su laboratorio. Al Dr. Raúl Macchiavelli por su colaboración en la aplicación de las pruebas estadísticas.

A la doctora Mónica Alfaro por brindarme su amistad y colaboración durante mi estadía en Puerto Rico. A mis viejos y nuevos amigos Andrés Morales, Fernando Pantoja, Diana Beltrán, Gabriel Uribe, Nazira Mejia, Federico García, Carlos Prada, Rafael Aparicio, Brenda Soler, Juan Laverde, Víctor De la Cruz, Pilar Sierra. Gracias por su compañía, motivación y momentos de

esparcimiento. Tienen toda mi gratitud y espero que esta amistad perdure por siempre. Gracias totales.

A todo el personal administrativo de los departamentos de Ciencias Marinas y Biología de la Universidad De Puerto Rico - Recinto de Mayagüez, así como al proyecto CRES gracias a los cuales fue posible la realización de este proyecto.

TABLA DE CONTENIDOS

LISTA DE TABLAS	x
LISTA DE FIGURAS.....	xi
1. INTRODUCCIÓN	1
2. METODOLOGÍA.....	9
2.1 Área de estudio	9
2.2 Materiales y equipos	12
2.3 Determinación de Clorofila a por Extracción	12
2.4 Materia orgánica disuelta fluorescente	14
2.4.1 Análisis de las muestras.....	14
2.4.2 Curva de calibración	14
2.5 Abundancia Bacteriana	15
2.6 Producción Bacteriana	16
2.7 Medidas de Oxígeno	18
2.7.1 Principios del método:	18
2.7.2 Ecuaciones y calibración:	19
2.7.3 Componentes y Funcionamiento del Sistema de Sensor de Oxígeno por Fibra Óptica (FOXY, por sus siglas en inglés)	20
2.7.4 Calibración del FOXY	21
2.8 Respiración	22
2.9 Eficiencia de Crecimiento Bacteriano	22
2.10 Recolección y análisis de las muestras	23
2.11 Análisis Estadístico.....	23
3. RESULTADOS	25
3.1 Resultados de las pruebas preliminares	25
3.1.1 Estabilidad y exactitud del instrumento.....	25
3.1.2 Impermeabilidad de Jeringuillas:.....	26
3.1.3 Efectividad de la formalina.....	28
3.1.4 Tiempo de incubación.....	29
3.1.5 Prueba Winkler para respiración.....	30
3.1.6 TSB	31
3.2 Parámetros ambientales	32
3.2.1 Precipitación	32
3.2.2 Temperatura	33
3.2.3 Salinidad Práctica.....	35
3.2.4 Turbidez	37
3.2.5 Clorofila <i>a</i>	40
3.2.6 Materia orgánica disuelta fluorescente	43
3.3 Variables Microbianas	46
3.3.1 Abundancia Bacteriana	46
3.3.2 Respiración	48
3.3.3 Producción Bacteriana	50

3.3.4 Eficiencia de Crecimiento Bacteriano	52
3.4 Análisis de varianza ANOVA.....	54
3.5 Clasificación de las estaciones.....	55
4. DISCUSIÓN	60
4.1 Medidas de Oxígeno usando el FOXY	60
4.2 Parámetros ambientales	62
4.2.1 Temperatura y Salinidad.....	62
4.2.2 Turbidez	64
4.2.3 Clorofila <i>a</i>	64
4.2.4 Materia orgánica disuelta fluorescente	66
4.3 Variables Microbianas	67
4.4 Clasificación de las estaciones.....	78
5. CONCLUSIONES	80
6. RECOMENDACIONES.....	84
7. BIBLIOGRAFÍA	85
8. APÉNDICES.....	92

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Porcentajes de nitrógeno y aire comprimido correspondientes a cada uno de los estándares utilizados para la calibración del FOXY.	21
Tabla 2. Comparación de la lectura de los estándares de O ₂ (ppm) a diferentes tiempos con respecto a una calibración inicial.	25
Tabla 3. Concentración de oxígeno a diferentes horas de incubación de muestras del varadero de isla Magueyes.	29
Tabla 4. Promedios y desviación estándar de las variables físicas, químicas y biológicas de la Bahía de Guánica y La Parguera para los dos tiempos de muestreo.	45

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación de las estaciones de muestreo.....	11
Figura 2. Ejemplo de una de las Curvas de calibración (marzo de 2007) Utilizadas para la obtención de la concentración de Chla en las muestras de cada una de las estaciones.....	13
Figura 3. Ejemplo de una de las curvas de calibración utilizadas para la obtención de la concentración de MODFI (ng SQ/ml) en las muestras de cada una de las estaciones.....	15
Figura 4. Concentración de O ₂ mediante FOXY y el método de Winkler en el muelle del botero de isla Magueyes entre los días 8 y 10 de abril de 2005.....	26
Figura 5. Estabilidad de las jeringuillas, a) con nitrógeno gaseoso, y b) con nitrógeno + agua.	27
Figura 6. Concentración de O ₂ después de 3 horas de incubación de muestras fijadas con diferentes concentraciones finales de formalina.....	28
Figura 7. Concentración de O ₂ en el transcurso de 48 horas de incubación de muestras provenientes del varadero de isla Magueyes.	29
Figura 8. Comparación del método Winkler y el FOXY en la determinación del consumo de oxígeno en 3 estaciones del sector de Guánica en el mes de febrero de 2007.	30
Figura 9. Cambios en la concentración de oxígeno (consumo) en una muestra fertilizada con TSB e incubada por un periodo de 48 horas.	31
Figura 10. Precipitación (cm.) durante el año 2007.....	32
Figura 11. Temperatura (°C), en las estaciones de Guánica (a) y La Parguera (b)..	34
Figura 12. Salinidad, en las estaciones de Guánica (a) y La Parguera (b).....	36
Figura 13. Variación de la turbidez (NTU) para las estaciones de Guánica (a) y La Parguera (b)..	38
Figura 14. Correlación entre turbidez y abundancia bacteriana para Guánica y La Parguera durante los dos tiempos de muestreo.	39
Figura 15. Correlación entre turbidez y producción bacteriana para Guánica y La Parguera durante los dos tiempos de muestreo.	39
Figura 16. Variación en la concentración de Chla (µg/l) para las estaciones de Guánica (a) y la Parguera (b) durante el estudio.....	41
Figura 17. Correlación entre el Log de Chla y el Log de abundancia bacteriana para Guánica y La Parguera durante los dos tiempos de muestreo.	42
Figura 18. Correlación entre el Log de Chla y el Log de producción bacteriana para Guánica y La Parguera durante los dos tiempos de muestreo.	42
Figura 19. Variación en la concentración de MODFI (ng SQ/ml) para las estaciones de Guánica (a) y la Parguera (b) durante el estudio.....	44
Figura 20. Correlación entre el Log de MODFI y el Log de producción bacteriana para La Parguera durante el muestreo de noviembre.	45

Figura 21. Variación de la abundancia bacteriana (10^6 Cel/ml) para las estaciones de Guánica (a) y la Parguera (b) durante el estudio.	47
Figura 22. Correlación entre el Log de abundancia bacteriana y el Log de producción bacteriana para Guánica y La Parguera durante los dos tiempos de muestreo.	48
Figura 23. Variación de la respiración bacteriana ($\mu\text{g O}_2$ /l/d) para las estaciones de Guánica (a) y la Parguera (b) durante el estudio.	49
Figura 24. Variación de la producción bacteriana ($\mu\text{g C/l/d}$) para las estaciones de Guánica (a) y la Parguera (b) durante el estudio.	51
Figura 25. Variación de la eficiencia de crecimiento bacteriano (%) para las estaciones de Guánica (a) y la Parguera (b) durante el estudio.	53
Figura 26. Correlación entre el Log de producción bacteriana y el Log de eficiencia de crecimiento bacteriano para Guánica y La Parguera durante los dos tiempos de muestreo.	54
Figura 27. Dendrograma de las asociaciones entre las estaciones de Guánica y La Parguera durante los muestreos de enero y marzo.	57
Figura 28. Dendrograma de las asociaciones entre las estaciones de Guánica y La Parguera durante los muestreos de octubre y noviembre.	59

1. INTRODUCCION

Durante los últimos 50 años se ha incrementado progresivamente el estudio de los procesos biogeoquímicos en los sistemas acuáticos y su relación con respecto al desarrollo de organismos microbianos. Las bacterias son componentes biológicos cruciales involucrados en la descomposición, transformación, mineralización de la materia orgánica disuelta (Cho y Azam, 1990; Kirchman, 2000; Cotner y Biddanda, 2002; Hansell y Carlson, 2002) y en la dinámica trófica de los ambientes marinos y de agua dulce (Felip et al., 1996; Wetzel, 2001). Se ha establecido que la materia orgánica es un factor limitante de la tasa de crecimiento bacteriano en sistemas acuáticos (Raffaelli, 1999; Cole et al., 1988).

Las bacterias planctónicas son importantes en la dinámica trófica de ambientes marinos y de agua dulce (Felip et al., 1996). La biomasa del bacterioplancton está directamente relacionada con el estado trófico de los ecosistemas (Billen et al., 1990) y constituye una variable importante en el estudio de los procesos biogeoquímicos y red trófica en sistemas marinos (Fukuda et al., 1998).

El oxígeno disuelto ha sido uno de los constituyentes no conservativos más estudiados en ecosistemas acuáticos. Éste es un agente oxidante esencial para la mayoría de los organismos vivos, dada su dependencia del proceso de

respiración aeróbica para la generación de energía y para la movilización del carbono en la célula (Packard et al., 1971). Además, el oxígeno disuelto es importante en los procesos de fotosíntesis, oxidación-reducción, solubilidad de minerales y la descomposición de la materia orgánica.

La distribución del oxígeno en cuerpos de agua naturales está determinada por el intercambio gaseoso a través de la superficie del agua, la producción fotosintética, el consumo respiratorio y por procesos físicos de advección (movimiento horizontal del aire causado principalmente por variaciones de la presión atmosférica cerca de la superficie) y difusión (Boyer et al., 1999). Siendo el oxígeno un agente oxidante esencial para la mayoría de los organismos, es importante medir las variaciones por unidad de tiempo de los procesos bióticos (fotosíntesis y respiración celular) y abióticos que se desarrollan *in situ*, que afectan su concentración y distribución.

El oxígeno puede ser continuamente monitoreado usando diferentes técnicas como el respirómetro con una macrosonda. Recientemente se ha empleado una técnica semicontinua basada en la determinación de oxígeno por espectrometría para la medición de la respiración bacteriana en aguas estuarinas. El método permite el análisis automatizado de hasta 180 muestras en una sola tanda, proporcionando datos cuantitativos que permiten determinar el flujo de oxígeno en sistemas acuáticos, incluyendo tasas de transferencia de

gases, procesos de oxido-reducción, respiración y fotosíntesis (Barth et al., 2004).

La productividad y respiración bacteriana están controladas principalmente por la cantidad y calidad (composición de nutrientes) de la materia orgánica disuelta (MOD) en sistemas acuáticos (Kirchman, 2000; Kirchman et al., 2000; Gasol et al., 2002). El incremento de la MOD, producto de procesos naturales (eg. desembocaduras de ríos y lluvias) (Kirchman, 2000) y actividades humanas (eg. descargas de aguas negras), podría afectar el metabolismo bacteriano, viéndose reflejado en las condiciones fisicoquímicas de la columna de agua (Kirchman, 1990).

Las comunidades bacterianas son un componente fundamental en la mineralización de la materia orgánica disuelta (Elser et al., 1995). Las transformaciones llevadas a cabo por bacterias son una de las fuentes principales de nueva materia orgánica en la columna de agua (del Giorgio y Peters, 1994; Kirchman, 2000; Hansell y Carlson, 2002). Las bacterias heterotróficas contribuyen al ciclo de los nutrientes y del carbono en dos formas: Por la producción de una nueva biomasa bacteriana (producción secundaria) (del Giorgio y Cole, 1998) y por la remineralización del carbono orgánico y nutrientes (Hansell y Carlson, 2002). La eficiencia en el crecimiento bacteriano (ECB), la relación entre el carbono consumido y la biomasa bacteriana producida, es un factor importante para el entendimiento del flujo de materia

orgánica en ecosistemas acuáticos (Briand et al., 2004). Algunos autores enfatizan que los cambios en la ECB se deben a diferentes factores como son la cantidad y calidad de la materia orgánica (Azam et al., 1992), peso molecular del sustrato (Hedges et al., 1988), temperatura (Bjornes, 1986; Hoppe et al., 2002), tiempo (Meyer-Schulte y Hedges, 1986) y espacio (Griffith et al., 1990). Según Pullin et al. (2004), la MOD que es aprovechada por las bacterias para su crecimiento no sólo depende de la cantidad sino también de la calidad de dicha MOD. Esto se ve reflejado en la eficiencia de crecimiento bacteriano que es determinada mediante la relación entre la producción de biomasa bacteriana y la materia orgánica consumida (Kirchman, 2000).

La producción de las bacterias heterotróficas en el mar depende de la disponibilidad de MOD (Cole et al., 1988; Kirchman, 2000). Esta MOD, que es el mayor constituyente de los ecosistemas marinos costeros (Blough y Del Vecchio, 2002), es originada por la producción de fitoplancton, por las lluvias, entradas de ríos, origen antropogénico (del Giorgio y Cole 1998; Hansell y Carlson, 2002), macroalgas, degradación de organismos muertos (fitoplancton, zooplancton, peces etc.), y materia orgánica de origen terrestre (Hessen, 1985).

Murray y Hodson (1984), llevaron a cabo un estudio de la producción bacteriana en relación con la cantidad de materia orgánica disuelta en tres ambientes marinos de las Bahamas: zona de mangle, adyacente al mangle, y la Corriente del Golfo. Concluyeron que las diferencias en el crecimiento bacteriano

están dadas por las diferencias en la biodegradabilidad de la materia orgánica. No hubo evidencia de que el incremento de la concentración total de materia orgánica proveniente de origen alóctono haya tenido algún efecto inhibitorio en el crecimiento bacteriano.

Peterson y Howarth (1987), llevaron a cabo un estudio en aguas costeras y estuarinas en la isla Sapelo en Georgia, y pudieron establecer que la producción bacteriana depende en gran parte de la disponibilidad de la MOD, clasificando sus fuentes principales en dos categorías. La MOD puede ser de origen marino, principalmente de la actividad *in situ* de los organismos planctónicos, o puede ser de origen terrestre, transportada al mar por ríos (Kirchman, 2000; Hansell y Carlson, 2002) o humedales costeros.

Kirschner et al. (2002) evaluaron en dos ambientes salinos poco profundos en Viena, Austria, la relación entre la producción bacteriana y los cambios en las condiciones meteorológicas (días despejados, tormentas y fuertes lluvias). Observaron que la producción y crecimiento bacteriano están significativamente relacionados a la temperatura (Hoppe et al., 2002) y a la luz diurna. Las bacterias mostraron una fuerte e inmediata respuesta después de las lluvias. Lo anterior sugiere que la disminución en las concentraciones de sal y el aporte de materia orgánica proveniente de las lluvias podrían estimular la actividad bacteriana (Kirschner et al., 2002).

Levi et al. (2004), en un estudio llevado a cabo en 28 lagos al sur de Québec ubicados en las regiones del St. Lawrence y las montañas Apalaches, determinaron que la respiración y producción bacteriana pueden estimarse a partir de la concentración de MOD. Observaron que el incremento de MOD está íntimamente relacionado con la abundancia y el crecimiento bacteriano.

Los microorganismos planctónicos, particularmente las bacterias heterotróficas, son responsables de la mayor parte de la respiración en la columna de agua en el mar, especialmente en áreas poco productivas (del Giorgio y Duarte, 2002). Esta respiración microbiana depende de la disponibilidad de carbono orgánico disuelto (Williams, 1998). La tasa de respiración en sistemas poco profundos es típicamente alta, con valores promedio de: 3.36, 3.03 y 2.7 g O₂/m³/día, para ríos, sistemas costeros marinos y ciénagas respectivamente (Duarte y Agustí, 1998).

Doval y Hansell (2000), en un estudio realizado en el suroeste del océano Pacífico y la región central del Océano Índico, determinaron que existe relación entre el carbono orgánico total (COT) y el consumo de oxígeno. Establecieron que la oxidación del COT corresponde entre el 30 y 50% del oxígeno consumido por encima de los 500 m de profundidad en la columna de agua. También observaron una fuerte correlación entre el COT y la temperatura.

Entre las investigaciones que se han realizado en el área, se destaca el de Corredor et al. (1985), quienes examinaron el efecto del aumento en la concentración de nitrógeno a causa de las descargas domésticas en el sector de La Parguera, analizando el fenómeno de eutroficación e identificando algunos mecanismos naturales que disminuyen significativamente este fenómeno.

El objetivo principal de este estudio fue determinar la fluctuación espacial de la producción, respiración y eficiencia de crecimiento bacteriano en relación con elementos ambientales tales como algunas fuentes de carbono orgánico disuelto proveniente principalmente de las lluvias y el aporte de agua proveniente del sector de Guánica, al este de la Parguera, con el fin de establecer si durante dos periodos climáticos la variabilidad de la clorofila *a*, turbidez y la fluorescencia de la materia orgánica contribuyen o afectan el metabolismo bacteriano.

Como parte de esta investigación se estableció la aplicabilidad del instrumento Fiber optic oxygen sensor system (FOXY), el cual utiliza una técnica óptica para la determinación de la concentración de oxígeno y procesos respiratorios en sistemas acuáticos. El principio de operación del sistema se basa en la cuantificación de la extinción de fluorescencia de un indicador luminóforo al contacto con moléculas de oxígeno. Este instrumento permite analizar muestras en un menor tiempo con respecto a otros métodos facilitando la medición de mayor número de réplicas, es inmune a compuestos químicos,

salinidad, turbidez, no consume oxígeno y no utiliza reactivos (FOXY System Operating Manual, 2001).

2. METODOLOGÍA

2.1 Área de estudio

Este estudio se llevó a cabo al suroeste de Puerto Rico en los sectores de Guánica y La Parguera (Figura 1). Esta área se caracteriza por ser la zona más seca de Puerto Rico debido a la topografía de la Isla. La presencia de montañas y vientos predominantemente del noreste recogen humedad al pasar por el océano y al llegar a las montañas esta humedad se condensa, causando significativas precipitaciones en la zona noreste de la Isla, disminuyendo significativamente hacia el suroeste. El periodo de lluvia es de agosto a noviembre y la temporada de sequía es de diciembre a abril. Las temperaturas fluctúan de 24°C - 28°C con un promedio anual de 25°C La humedad relativa varia entre 65 a 80% (Ramírez, 2002).

La Bahía de Guánica recibe material terrestre proveniente de la descarga del río Loco. Este recibe aguas de otros afluentes entre los que se destacan: Quebrada Grande y río Cañas, además de la entrada de aguas negras.

La Parguera recibe pocas lluvias y los patrones climáticos son dominados por la zona de alta presión de Bermuda, la cual mantiene un flujo constante de vientos del este de marzo a julio. Los vientos se vuelven esporádicos y más húmedos durante la época de huracanes y finalmente en invierno,

ocasionalmente frentes fríos del noreste causan una disminución de los vientos del este y hay un incremento en las lluvias (Corredor et al., 1985).

El ecosistema adyacente al poblado de La Parguera recibe directamente las descargas domésticas de casetas y casas flotantes utilizadas principalmente con propósitos recreativos (Corredor et al., 1985). Actualmente La Parguera posee una planta de tratamiento de aguas residuales la cual minimiza la entrada de entrada de nutrientes inorgánicos al área litoral (Corredor y Morell, 1994). Sin embargo en épocas de alta pluviosidad el sistema de alcantarillado se desborda y el deslave insular ocasiona un aumento en la entrada de material orgánico al mar. No obstante esta área está constituida por diferentes ecosistemas (manglares, arrecifes de coral, pastos marinos, entre otros), algunos de los cuales funcionan como reguladores de la materia orgánica.

En el área de Guánica se establecieron 4 estaciones y en La Parguera 6 estaciones de muestreo (Figura 1). Se realizaron dos muestreos en cada una de las estaciones, uno en la época seca (enero y marzo) y el otro en la época de lluvia (octubre y noviembre), periodo comprendido entre los meses de enero a noviembre de 2007.

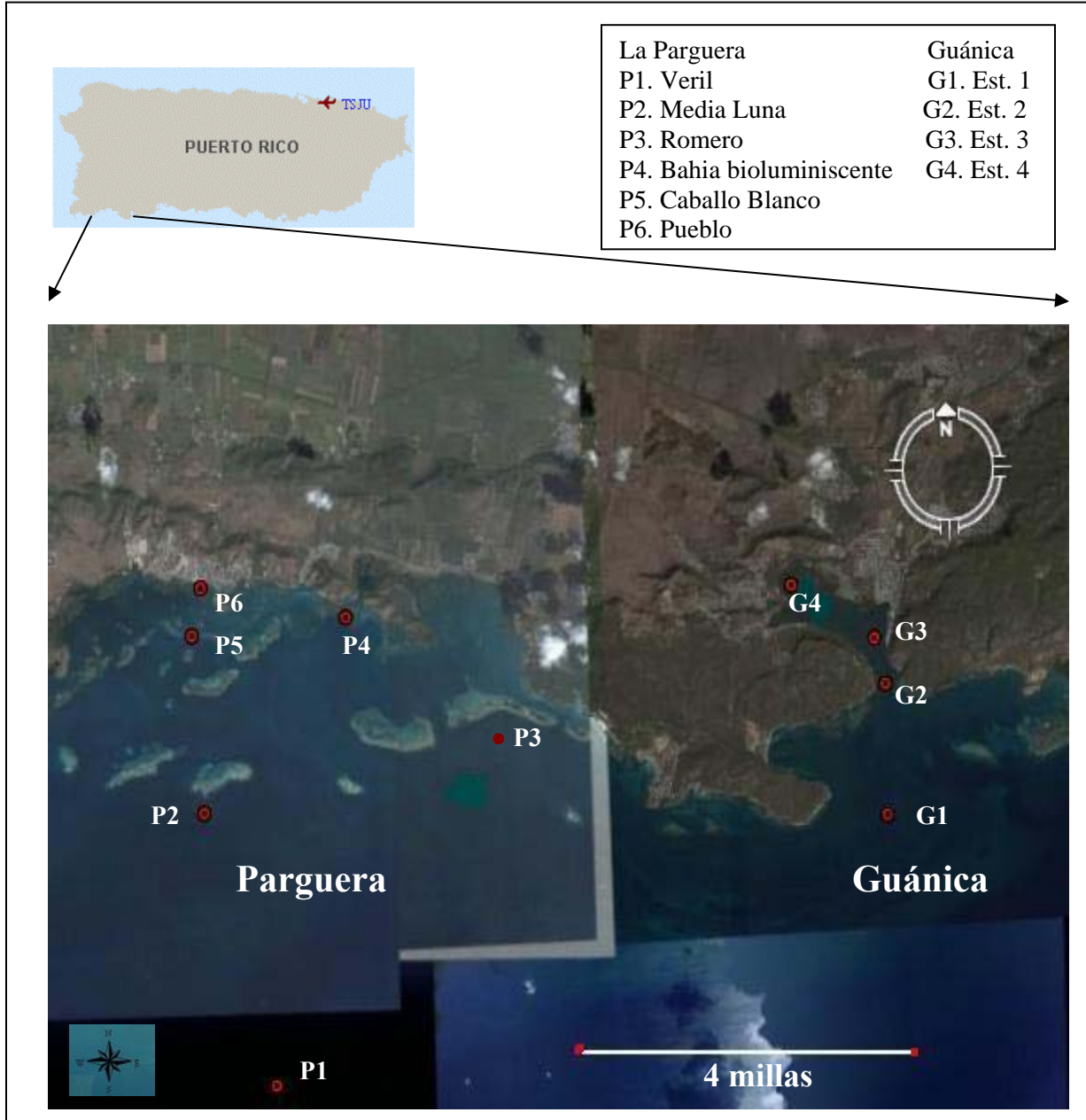


Figura 1. Ubicación de las estaciones de muestreo. Fuente: Google Earth.

Durante los días de muestreo se utilizó un bote mediano propiedad del Departamento de Ciencias Marinas de la Universidad de Puerto Rico para el desplazamiento a las diferentes estaciones. Se llevaron a cabo muestreos a dos

profundidades diferentes (1 y 5 m), con el fin de establecer si la profundidad es un factor determinante en la distribución del material orgánico disuelto fluorescente y como este afecta el desarrollo bacteriano.

2.2 Materiales y equipos

La colección de las muestras se llevó a cabo mediante la utilización de una botella Niskin. También se utilizó un Aparato de Fluorescencia Submarino Autónomo (SCUFA II; Turner Designs) el cual tomó datos de fluorescencia *in vivo* de clorofila *a* (ChlaFI) y turbidez (Turb) tomando lecturas a cada metro, por periodos de 2 minutos, hasta llegar a 10 metros, si la profundidad lo permitía. Las unidades de Chla son ug/l y las de turbidez son unidades nefelométricas de turbidez (NTU). El instrumento se calibró según Otero y Carbery (2005). El SCUFA se calibró llevando a cabo regresiones de concentración de clorofila estimados con métodos de extracción (ver adelante para más detalles) y de estándares nefelométricos de turbidez de formalina (NTU) versus ChlaFI y Turb. Un miniCTD (StarOddi) fue acoplado al SCUFA permitiendo obtener los datos de salinidad (SP), temperatura ($^{\circ}\text{C}$) y profundidad (m) en cada una de las estaciones. La calibración del instrumento fue ajustada de acuerdo a las desviaciones derivadas de lecturas de subestándares de salinidad estimada por refractometría.

2.3 Determinación de Clorofila a por Extracción

Las muestras se filtraron en un sistema de vacío con filtro GF/F. La concentración de clorofila *a* (Chla) se cuantificó mediante el empleo del método

fluorométrico modificado de acuerdo a Phinney y Yentsch (1985). El protocolo del análisis inició con la extracción de los pigmentos fotosintéticos con 10 ml de acetona al 90% durante 24 horas a 4°C en oscuridad. Las muestras fueron sacadas del refrigerador y centrifugadas por 5 minutos para remover partículas residuales (Jones, 1999), se tomó una alícuota del extracto y se midió la diferencia de la fluorescencia antes y después de acidificar, en un fluorómetro Trilogy (Turner Desings) con excitación de 430 y emisión de >670 nm. La calibración se llevó a cabo utilizando un estándar de Chla de *Anacystis nidulans* (Sigma). La concentración del estándar primario se determinó espectrofotométricamente usando el método tricromático (Clesceri et al., 1998). Diluciones del estándar primario fueron analizadas como muestras para derivar la curva de calibración (Figura 2).

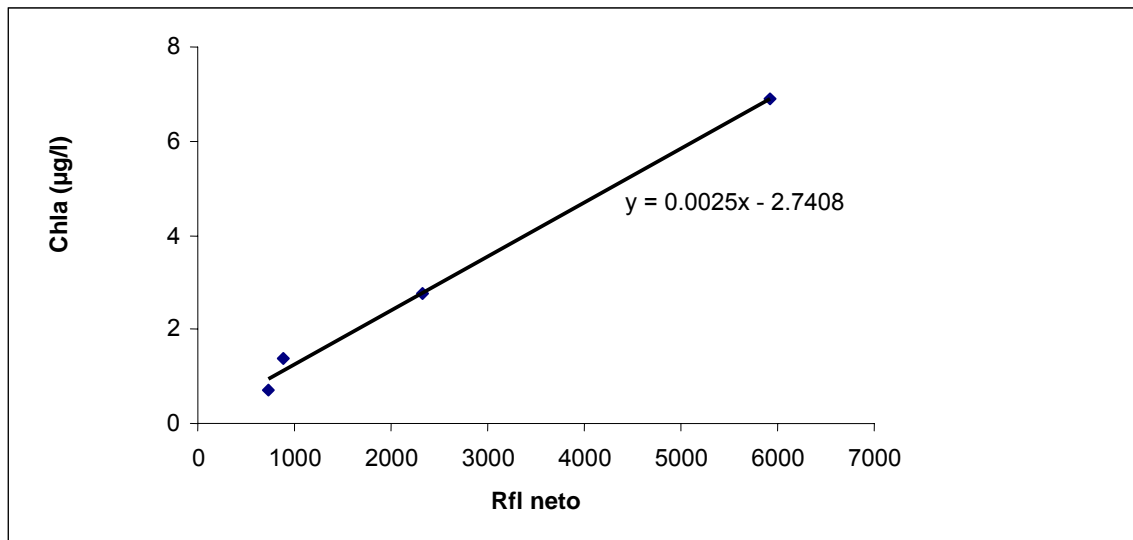


Figura 2. Ejemplo de una de las Curvas de calibración (marzo de 2007) utilizadas para la obtención de la concentración de Chla en las muestras de cada una de las estaciones.

2.4 Materia orgánica disuelta fluorescente

2.4.1 Análisis de las muestras

La determinación de la materia orgánica disuelta fluorescente (MODFI) se realizó usando un fluorómetro Trilogy (Turner Desings), de acuerdo a unas modificaciones del método de Amador (1990). Las muestras fueron filtradas y analizadas bajo condiciones fluorométricas de excitación de 365 nm y emisión de 430nm. El material orgánico disuelto fluorescente es reportado en nanogramos de sulfato de quinina (ng SQ/ml).

2.4.2 Curva de calibración

Para la realización de la curva de calibración se prepararon inicialmente 5 estándares de concentración conocida (8, 16, 32, 64 y 128 ng SQ/ml) y un blanco (acetona), los cuales se analizaron en un fluorómetro para determinar la fluorescencia de los estándares y construir la curva de calibración para la materia orgánica disuelta fluorescente (MODFI) (Figura 3).

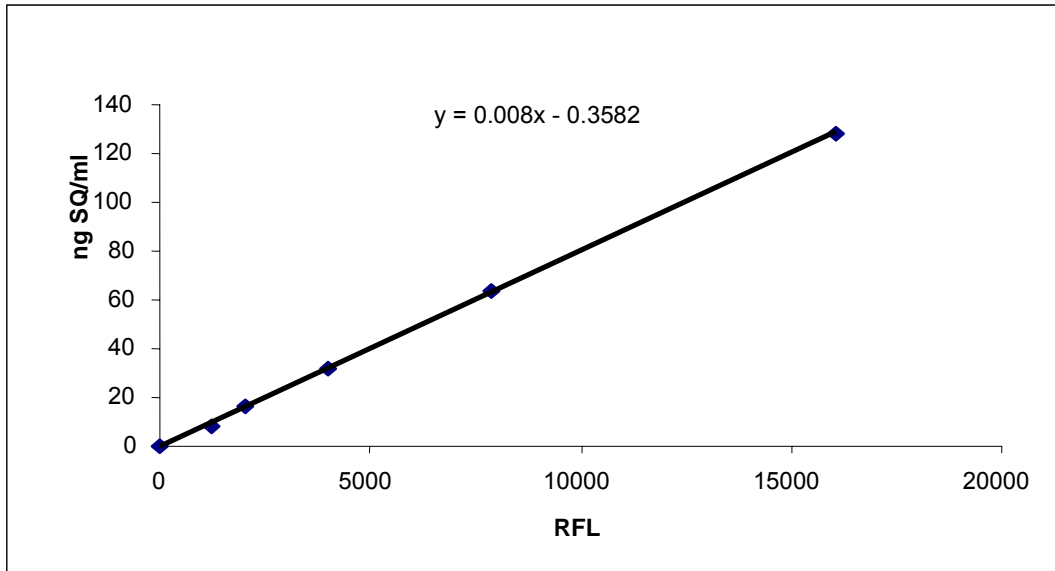


Figura 3. Ejemplo de una de las curvas de calibración utilizadas para la obtención de la concentración de MODFI (ng SQ/ml) en las muestras de cada una de las estaciones.

2.5 Abundancia Bacteriana

La abundancia bacteriana (AB) se determinó mediante conteo directo de bacterias por microscopía de epifluorescencia (Paul, 2001). Las muestras se fijaron con formalina prefiltrada (0.2µm) a una concentración final de 2%. A continuación, se añadió 0.5 ml de una solución de 4'6-diamidino-2-fenilindol (DAPI) a la muestra para alcanzar una concentración final de 5 µg/ml para teñir el material nucleico bacteriano. Después de 7 minutos de tinción las muestras se filtraron (1 ml de la muestra) a través de un filtro de policarbonato (Osmonics) de porosidad de 0.2 µm. Los filtros se colocaron en laminillas, se les adicionó una gota de aceite de inmersión y se cubrieron con un cubreobjetos para su observación en el microscopio de epifluorescencia. Se llevaron a cabo conteos seleccionando al azar diferentes campos visuales en la misma lámina hasta un

total de 300 células, se utilizaron dos réplicas por cada una de las muestras. Se tomaron fotografías de cada una de las láminas para llevar un registro de las muestras. Para determinar el número de células por muestra, se obtuvo previamente el factor de conversión para cada una de las dos columnas de filtrado, y se obtuvo teniendo en cuenta el diámetro de las columnas. El factor de conversión para la columna A fue 2.213×10^{04} y el de la columna B fue 2.253×10^{04} . Posteriormente se calculó el número promedio de células mediante la división del número total de células sobre el número de campos visuales empleados. El promedio de células fue dividido entre el volumen filtrado y multiplicado por el factor de conversión. La ecuación es la siguiente:

$$AB(Cel/ml) = \left(\frac{\text{Promedio de celulas por campo}}{\text{Volumen filtrado}} \right) \times \left[\text{Factor de conversión} \times 0.94 \right]$$

2.6 Producción Bacteriana

La producción bacteriana (PB) se determinó mediante el método de filtrado con incorporación de leucina tritiada (^3H -leucina) (Paul, 2001). Las muestras se colectaron en botellas oscuras de polipropileno de 500 ml que habían sido previamente lavadas con HCl 10%, agua destilada y en el campo se enjuagaron con agua de la estación a muestrear. En el laboratorio, se transfirieron alícuotas de las muestras (2.5 ml) a tubos estériles de 15 ml, y se preparó un control al cual se le añadió TCA (ácido tricloro acético al 5% de concentración final). Luego se procedió a la adición de la leucina a una concentración final de 20 nM, cuya incorporación es utilizada como una medida

de producción de biomasa mediante la síntesis de proteínas. A continuación se incubaron las muestras por un periodo de 3 horas. Después de la incubación, se fijan las muestras con TCA al 5% de concentración final, y se guardaron a 5°C hasta su análisis posterior.

Las muestras se calentaron a 80°C durante 15 minutos; se dejaron enfriar y se filtraron, luego se lavaron con TCA frío y después con etanol al 80%. Se colocaron los filtros en “vials” de centelleo y se les añadió 5 ml de líquido de centelleo para su posterior análisis en el analizador de centelleo Beckman LS-9500. Los resultados finales se reportaron en microgramos de carbono / litro / día ($\mu\text{g C/l/d}$). Para calcular la producción de biomasa se utilizó la siguiente fórmula:

$$PB(\mu\text{gC} / \text{L} \cdot \text{dia}) = \left(\frac{DPM}{AELeu} \right) \times \left(\frac{KLeu}{Vol \cdot t} \right)$$

donde:

DPM = (Promedio de las desintegraciones por minutos de tres replicas menos las de un blanco).

AELeu = Actividad específica de Leucina (DPM / mmol).

KLeu = Coeficiente de fijación de carbono celular por incorporación de leucina ($3.1 \times 10^6 \mu\text{g C} / \text{mmol Leu}$).

Vol = Volumen filtrado (0.0025L).

t = Tiempo de incubación: 3 horas = 0.125 d.

2.7 Medidas de Oxígeno

2.7.1 Principios del método:

El principio de la técnica utilizada para la medición de oxígeno se basa en la extinción de la fluorescencia de un fluoróforo en la presencia de oxígeno (McDonagh et al., 2002). La intensidad de fluorescencia depende de la presión parcial de oxígeno, siendo ambos parámetros inversamente proporcionales (MacCraith et al., 1994).

El oxígeno puede extinguir la fluorescencia de ciertos luminóforos, esto se llama fluorescencia dinámica de extinción. La colisión de una molécula de oxígeno con un fluoróforo en su estado excitado conduce a una transferencia no radiactiva de energía. El grado de extinción de la fluorescencia se relaciona con la frecuencia de colisiones y por lo tanto con la concentración del oxígeno contenido (MacCraith y McDonagh, 2002). Este fluoróforo presenta considerables ventajas sobre otros indicadores:

1. Fuerte absorción en el visible (región azul-verde) lo cual permite el empleo de diodos LED (Light emission diodes) como luz fuente de excitación.
2. Presenta una importante diferencia entre la longitud de onda de excitación y de emisión permitiendo la utilización de filtros en lugar de monocromadores.
3. Tiene tiempos de vida muy largos lo que les confiere la posibilidad de desarrollar dispositivos basados en tiempo de vida (McEvoy et al., 1995).

2.7.2 Ecuaciones y calibración:

La medición de la extinción de la fluorescencia del indicador (Ru) está relacionada cuantitativamente con la presión parcial de oxígeno y descrito por la ecuación de Stern-Volmer:

$$\frac{I_0}{I} = 1 + k p_{O_2}$$

Donde:

I_0 es la intensidad de fluorescencia a una presión cero de oxígeno,

I es la intensidad de fluorescencia a una presión p de oxígeno,

k es la constante de Stern-Volmer (Burke et al., 2005).

Para la calibración del instrumento se tomaron en cuenta dos factores: Se estableció si era necesario el compensar por diferencias o fluctuaciones de temperatura y se determinó qué tipo de algoritmo se utilizaría para la calibración. El algoritmo lineal Stern-Volmer (definido anteriormente), requiere de al menos dos estándares de concentración de oxígeno conocidos, mientras que el algoritmo polinomial de segundo orden requiere de al menos tres estándares de concentración de oxígeno conocidos (FOXY System Operating Manual, 2001).

Dicho algoritmo es: $I_0/I = 1 + K_1 * [O] + K_2 * [O]^2$

Donde:

I_0 es la intensidad de fluorescencia a una presión cero de oxígeno,

I es la intensidad de fluorescencia a una presión p de oxígeno,

K_1 y K_2 son la primera y segunda constante de Stern-Volmer.

El algoritmo polinomial de segundo orden provee mayor exactitud en los resultados, especialmente cuando se trabaja en un amplio rango de concentración de oxígeno.

2.7.3 Componentes y Funcionamiento del Sistema de Sensor de Oxígeno por Fibra Óptica (FOXY, por sus siglas en inglés)

El FOXY (Ocean Sensors, Inc.), está compuesto por un indicador fluorescente a base de rutenio en un gel sólido hidrofóbico encapsulado en silicona para su protección y que permite su utilización tanto en medios líquidos como gaseosos. El sistema incluye una luz LED (Diodos emisores de luz) que envía un haz de luz a ~475 nm a través de una fibra óptica para la excitación del sensor de rutenio, el cual fluoresce emitiendo a un largo de onda ~600 nm con intensidad inversa a la concentración de O₂ según mencionado en la sección anterior. Si el complejo de rutenio excitado encuentra una molécula de oxígeno, el exceso de energía es transferido a la molécula de oxígeno, decreciendo o extinguiendo la señal de fluorescencia. Dicha fluorescencia es transmitida a través de fibra óptica a un espectrómetro, con el cual se cuantifica. El programa OOIFOXY, se utiliza para integrar los datos de fluorescencia con las fórmulas de Stern-Volmer descritos anteriormente.

2.7.4 Calibración del FOXY

Las muestras se mantuvieron a una temperatura constante de $23^{\circ}\text{C} \pm 2$, la cual fue similar a la temperatura del laboratorio, permitiendo llevar a cabo la calibración sin compensar por fluctuaciones de temperatura. Además se procedió a utilizar el algoritmo polinomial de segundo orden ya que se disponía de más de dos estándares de oxígeno conocidos.

El instrumento se calibró momentos antes de la lectura de las muestras. La calibración se llevó a cabo mediante la combinación de nitrógeno y aire comprimido utilizando medidores calibrados de flujo de gases en combinación con un tubo de mezcla de gases (Cole Parmer Corp.). Los estándares utilizados y la proporción de gases para cada uno de ellos están referenciados en la Tabla 1. Se realizó la lectura de los estándares, iniciando con la concentración 0 ppm de O_2 la cual se obtuvo mediante el flujo de nitrógeno a través de una celda oscura que contiene el sensor de oxígeno, seguido de las demás concentraciones. La concentración máxima de O_2 se tomó como 8.4 ppm o 100% de aire.

Tabla 1. Porcentajes de nitrógeno y aire comprimido correspondientes a cada uno de los estándares utilizados para la calibración del FOXY.

Concentración Oxígeno (ppm)	% Nitrógeno	% Aire comprimido
0.00	100	0
6.46	23	77
7.00	17	83
7.64	9	91
8.40	0	100

2.8 Respiración

Se determinó la respiración entre parejas de muestras incubadas en jeringuillas. La concentración de oxígeno de las primeras jeringuillas se fijó usando formalina al 2% de concentración final. Las segundas jeringuillas se incubaron por un periodo de 3 horas y la diferencia en la concentración de oxígeno entre las primeras muestras y las incubadas determinó la respiración. Para establecer la respiración en 24 horas, los valores obtenidos en las tres horas de incubación fueron multiplicados por un factor de 1.02, esto teniendo en cuenta los resultados en las series de tiempo utilizados para determinar el periodo de incubación (Figura 7), donde se observó que el incremento entre 3 y 24 horas de incubación fue del 2%.

2.9 Eficiencia de Crecimiento Bacteriano

La eficiencia de crecimiento bacteriano (ECB), la relación entre el carbono consumido y la biomasa bacteriana producida, fue determinada a través de la siguiente ecuación:

$$ECB = \left(\frac{PB}{PB + RB} \right) \times 100$$

Donde:

ECB = Eficiencia de crecimiento bacteriano.

PB = Producción bacteriana.

RB = Respiración bacteriana representada en el carbono consumido.

Los datos de respiración ($\mu\text{g O}_2/\text{l/d}$) fueron convertidos a su equivalente en CO_2 , dividiendo los valores de oxígeno consumido entre 2.7. Este valor (2.7) se obtuvo dividiendo el peso atómico del oxígeno (O_2) entre el peso atómico del carbono (C).

2.10 Recolección y análisis de las muestras

Las muestras fueron colectadas utilizando una botella Niskin (5L). Un volumen de 50ml fue transferido a jeringuillas plásticas donde fueron fijadas en el momento (tiempo cero) o incubadas en la oscuridad por 3 horas para luego ser fijadas como fue descrito anteriormente. Posteriormente, las muestras fueron inyectadas directamente a una celda oscura equipada con una sonda de rutenio y entrada de gases de calibración. Este arreglo facilitó la calibración al alternar muestras con gases de calibración, a la vez que evitó la exposición directa al aire. Las calibraciones se realizaron cada 5 muestras analizadas, esto con el fin de mantener constante la estabilidad del FOXY y evitar alteraciones en la lectura de las muestras.

2.11 Análisis Estadístico

El análisis estadístico se realizó utilizando el programa InfoStat 2008, versión 3.0. Se llevó a cabo un análisis descriptivo de cada una de las variables. El grado de dependencia entre variables se determinó a través de modelos de Correlación lineal. Las variables fueron normalizadas utilizando transformaciones a Logaritmo.

Las variables abióticas y bióticas fueron correlacionadas utilizando el coeficiente de correlación de Pearson. Para comparar estadísticamente las dos áreas de muestreo (Guánica y Parguera) se utilizaron réplicas por duplicado de cada una de las estaciones de muestreo que fueron tomadas a uno y cinco metros de profundidad. También se llevó a cabo un análisis de correlación entre todas las variables para establecer cuáles presentan una relación significativa.

Los datos de todas las variables fueron evaluados mediante el análisis de varianza (ANOVA) con un diseño anidado para las épocas de muestreo, las áreas de estudio y las estaciones dentro de cada una de las áreas. Finalmente, se hizo un análisis de agrupamiento a dos vías con el programa PC-ORD 5.10, para determinar el patrón de asociación de las estaciones de acuerdo a las variables estudiadas. Se utilizó la medida de distancia de Bray-Curtis y el método de encadenamiento promedio. Las variables utilizadas para este análisis fueron: turbidez, Chla, MODFI, abundancia, respiración, producción bacteriana y ECB.

3. RESULTADOS

3.1 Resultados de las pruebas preliminares

3.1.1 Estabilidad y exactitud del instrumento

La estabilidad del FOXY se estimó mediante la lectura de los estándares de oxígeno a diferentes tiempos para observar los cambios con respecto a una calibración inicial (Tabla 2), y de esta forma poder determinar cuál es la frecuencia en la que se deben llevar a cabo las calibraciones con el fin de minimizar el efecto de la inestabilidad del sensor relativo a los estimados de O₂ de las muestras analizadas. Para determinar la precisión, inicialmente se hallaron las diferencias entre los valores obtenidos con respecto a cada uno de los estándares de concentración de oxígeno, posteriormente estos valores fueron promediados y se estableció que la estabilidad del FOXY es ± 0.058 ppm.

Tabla 2. Comparación de la lectura de los estándares de O₂ (ppm) a diferentes tiempos con respecto a una calibración inicial.

Lectura	Conc. O ₂	Conc. O ₂	Conc. O ₂	Conc. O ₂	Conc. O ₂
Calibración	0.00	6.46	7.00	7.64	8.40
(1 hora)	0.02	6.54	7.12	7.57	8.46
(2 horas)	-0.02	6.51	7.09	7.55	8.47
(3 horas)	-0.01	6.56	7.08	7.54	8.44
(4 horas)	0.00	6.55	7.12	7.62	8.45
(5 horas)	-0.02	6.49	7.09	7.54	8.38
(5 ½ horas)	-0.01	6.52	7.03	7.54	8.41

Para determinar la exactitud del FOXY, se realizaron lecturas de la concentración de O₂ durante diferentes días en el muelle del botero de isla Magueyes y se compararon con el método de Winkler (Figura 4). Estas pruebas indican que las medidas de oxígeno utilizando el FOXY fueron muy similares a la del método de referencia de Winkler con un sobreestimado <1%.

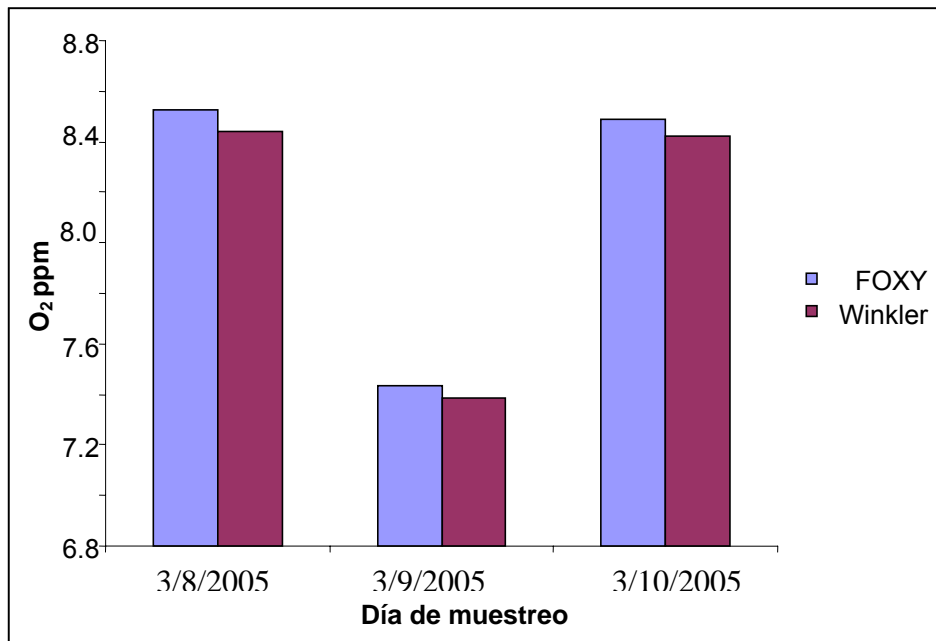


Figura 4. Concentración de O₂ mediante FOXY y el método de Winkler en el muelle del botero de isla Magueyes entre los días 8 y 10 de abril de 2005.

Se llevaron a cabo las siguientes pruebas preliminares:

3.1.2 Impermeabilidad de Jeringuillas:

Con el fin de conocer la permeabilidad de las jeringuillas, se realizaron unas pruebas que consistieron en introducir nitrógeno gaseoso dentro de las jeringuillas. Unas jeringuillas presentaban en su interior agua y las otras

contenían únicamente el nitrógeno. Se dejaron incubar por un periodo de 24 horas en intervalos de 2 horas para cada una de las muestras, posteriormente fueron analizadas en el FOXY (Figura 5).

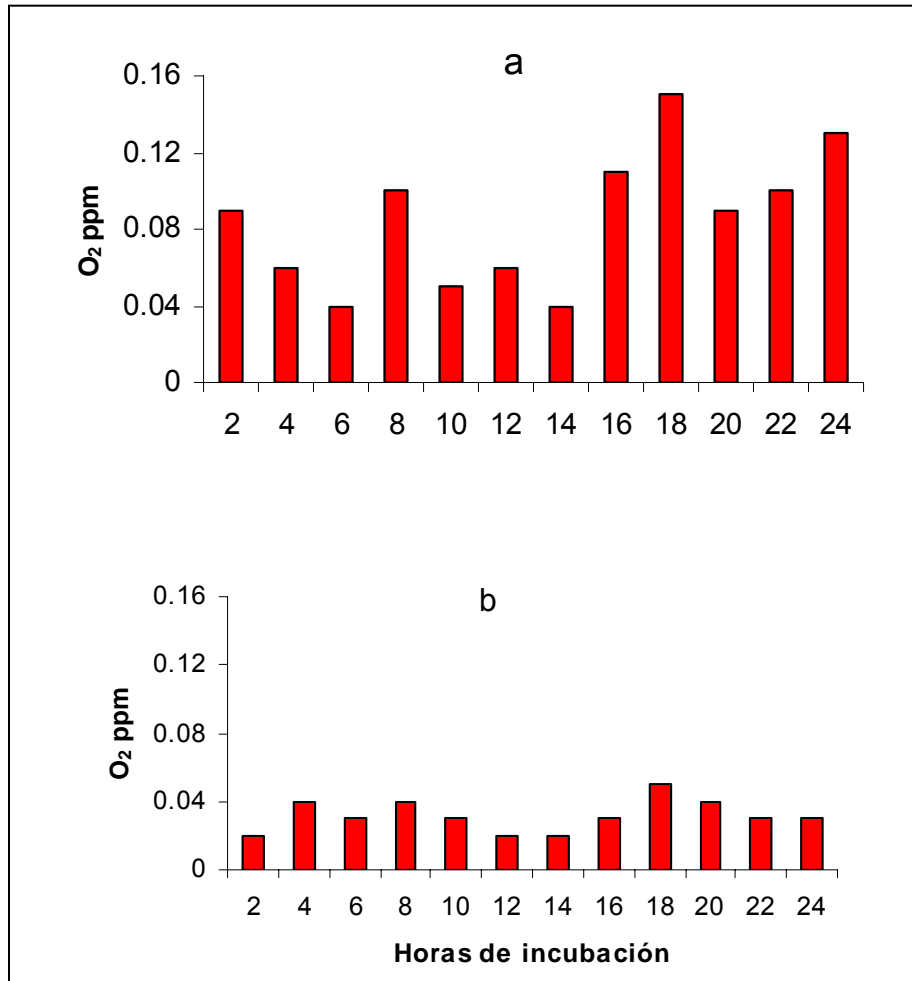


Figura 5. Estabilidad de las jeringuillas, a) con nitrógeno gaseoso, y b) con nitrógeno + agua.

La variación de los resultados de las pruebas fueron: ± 0.085 ppm para las jeringuillas con nitrógeno gaseoso, y ± 0.032 ppm para las jeringuillas con nitrógeno y agua. De acuerdo a los resultados, se pudo establecer que las jeringuillas no presentaron algún tipo de intercambio gaseoso significativo con el

medio circundante y que los mínimos cambios observados en la concentración de O₂ están relacionados con la estabilidad del sensor (0.058 ppm) y precisión del instrumento (0.066 ppm).

3.1.3 Efectividad de la formalina

Se llevaron a cabo pruebas con diferentes concentraciones finales de formalina (1, 2, 3, 4 %) con el fin de determinar cuál concentración era la más adecuada para fijar las muestras. Los resultados mostraron que la concentración final de formalina al 2% era suficiente ya que en los porcentajes mayores se observaron resultados similares (Figura 6) y el volumen de formalina utilizado sería mayor. Por tal motivo se decidió emplear 3 ml de formalina (37% formaldehído) que corresponden a una concentración final de 2%.

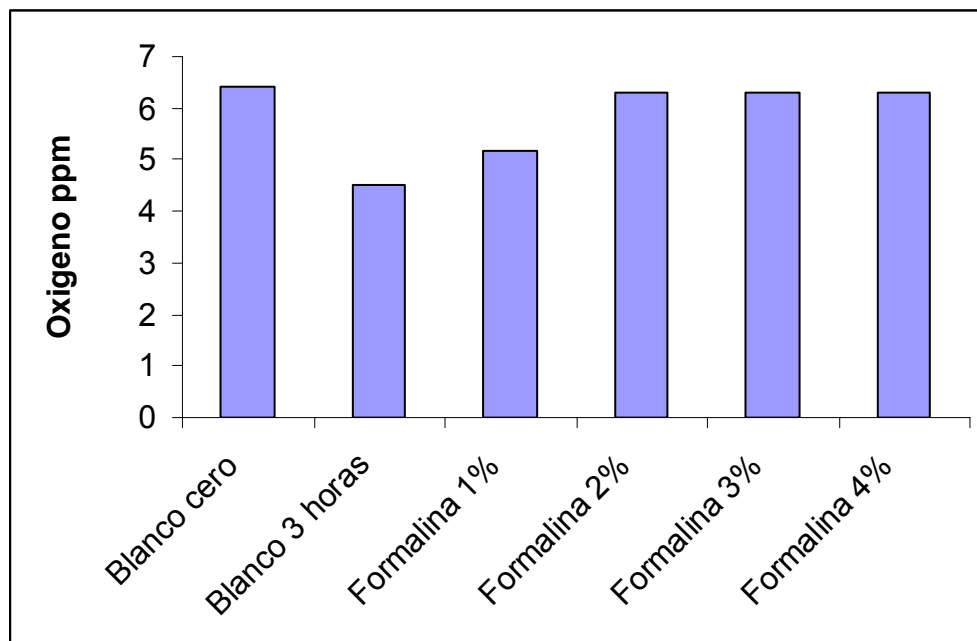


Figura 6. Concentración de O₂ después de 3 horas de incubación de muestras fijadas con diferentes concentraciones finales de formalina.

3.1.4 Tiempo de incubación

Para establecer el tiempo de incubación a utilizarse a lo largo del estudio, se colectaron muestras del varadero de Isla Magueyes en jeringuillas de 60 ml y se incubaron por diferentes periodos de tiempo: 0, 1, 2, 3, 6, 12, 24 y 48 horas (Tabla 3; Figura 7).

Tabla 3. Concentración de oxígeno a diferentes horas de incubación de muestras del varadero de isla Magueyes.

Horas de incubación	Concentración Oxígeno ppm
0	8.55
1	8.34
2	8.00
3	7.53
6	7.45
12	7.42
24	7.40
48	7.43

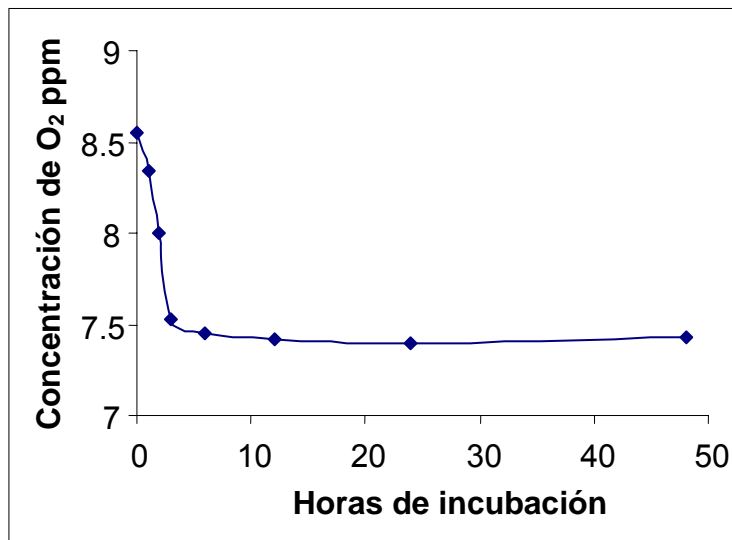


Figura 7. Series de tiempo donde se establece el consumo de oxígeno en jeringuillas incubadas por un tiempo de 48 horas de muestras provenientes del varadero de isla Magueyes.

Los resultados muestran un decaimiento rápido de O_2 durante las primeras tres horas de incubación seguido de una disminución drástica en la tasa de consumo de O_2 posteriormente.

3.1.5 Prueba Winkler para respiración

Se colectaron muestras en 3 estaciones del sector de Guánica. Unas muestras fueron fijadas en campo y las otras se incubaron por un periodo de 3 horas. Posteriormente fueron analizadas mediante el método de Winkler y el instrumento FOXY (Figura 8). El propósito fue poder comparar las dos técnicas en la determinación del consumo de oxígeno en muestras de agua después de un tiempo de incubación y de esta manera poder establecer la exactitud del FOXY. Dichas comparaciones indicaron que el promedio de las medidas de consumo de oxígeno utilizando el FOXY fueron 87.5% similares con respecto al método de referencia de Winkler.

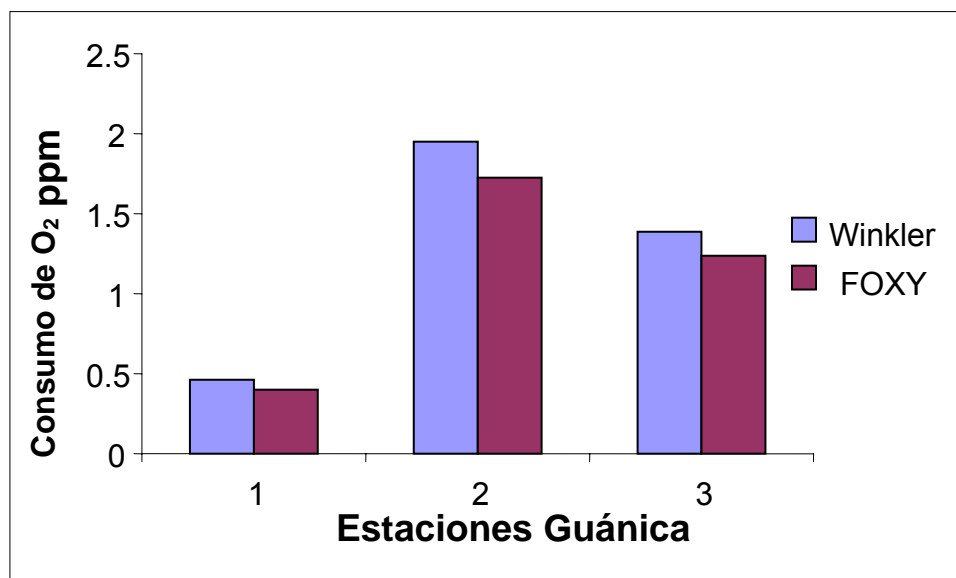


Figura 8. Comparación del método Winkler y el FOXY en la determinación del consumo de oxígeno en 3 estaciones del sector de Guánica en el mes de febrero de 2007.

3.1.6 TSB

La respiración en muestras de aguas enriquecidas con caldo de extracto de soya y tripticasa (Trypticase Soy Broth; TSB) fue estimada para simular condiciones de altos niveles de nutrientes en el medio ambiente (Figura 9). Los resultados mostraron un consumo significativo de oxígeno durante las 6 primeras horas de incubación y posteriormente tendió a estabilizarse. En el caso de la muestra control se pudo observar un patrón similar al de la sección anterior.

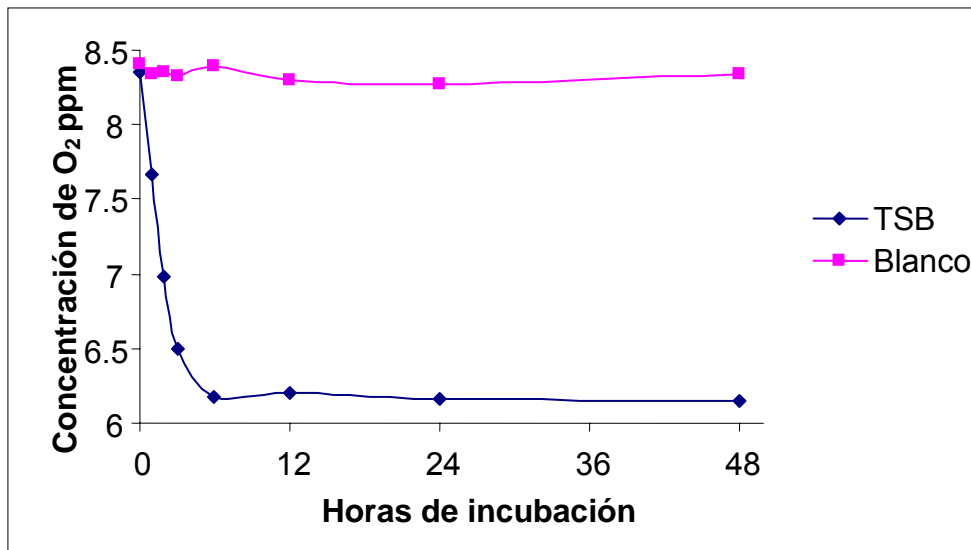


Figura 9. Cambios en la concentración de oxígeno (consumo) en una muestra fertilizada con TSB e incubada por un periodo de 48 horas.

3.2 Parámetros ambientales

3.2.1 Precipitación

La precipitación para el año 2007 en el área de estudio fue de 49.28 cm. (USGS Caribbean water science center, 2008) (Figura 10). En ocasiones se generan lluvias torrenciales de 5 cm/día aprox. (eg. 11 de diciembre de 2007) lo que representa entradas significativas de materiales terrestres, por ejemplo, desde la Bahía de Guánica al este.

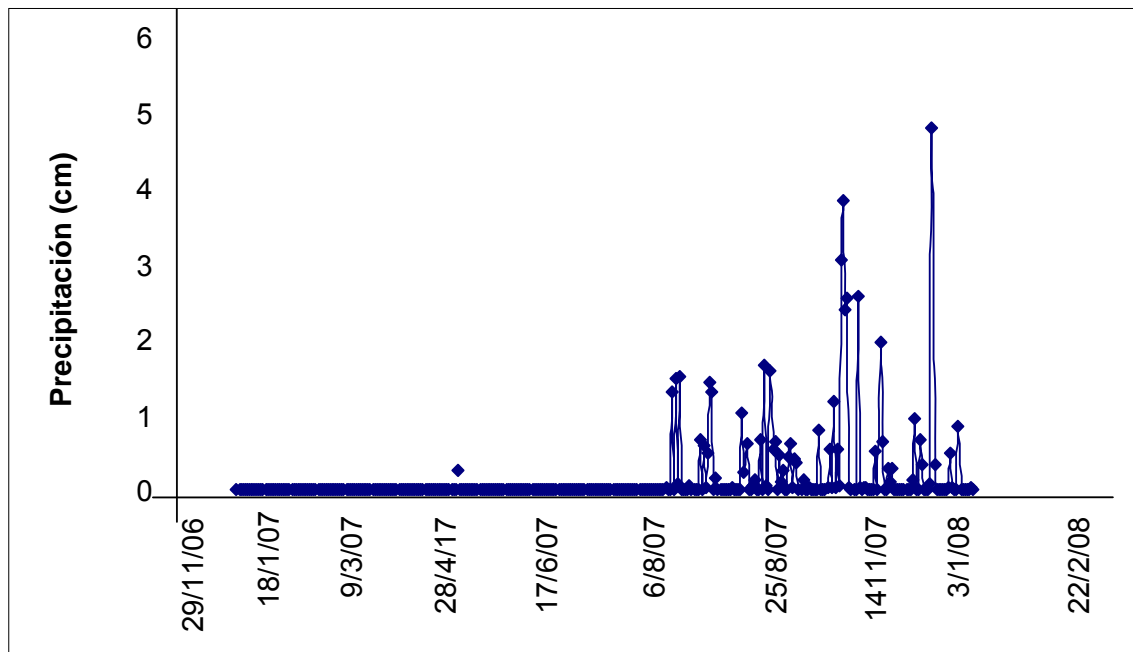


Figura 10. Precipitación (cm) durante el año 2007. Fuente: USGS Caribbean Water Science Center.

3.2.2 Temperatura

La temperatura a un metro de profundidad en el área de Guánica presentó un valor máximo de 27.2°C en la estación 3 en el mes de octubre, y un valor mínimo de 25.6°C en la estación 2 en el mes de enero (Figura 11a). Los valores promedio de temperatura para el área de Guánica fueron 26.0 y 26.6°C para enero y octubre, respectivamente (Tabla 4).

La Parguera presentó un valor máximo de 27.1°C en la estación 1 (Veril) a 1 y 5 metros de profundidad en el mes de noviembre mientras el valor mínimo de temperatura fue de 25.9°C en la misma estación durante el mes de marzo a una profundidad de 5 metros (Figura 11b). Marzo y noviembre presentaron valores promedio de temperatura de 26.1 y 26.7, respectivamente (Tabla 4)

La prueba de ANOVA indicó que no hubo diferencias significativas entre las temperaturas promedios a 1 y 5 metros de profundidad durante el estudio ($F=0.0014$; $p>0.05$).

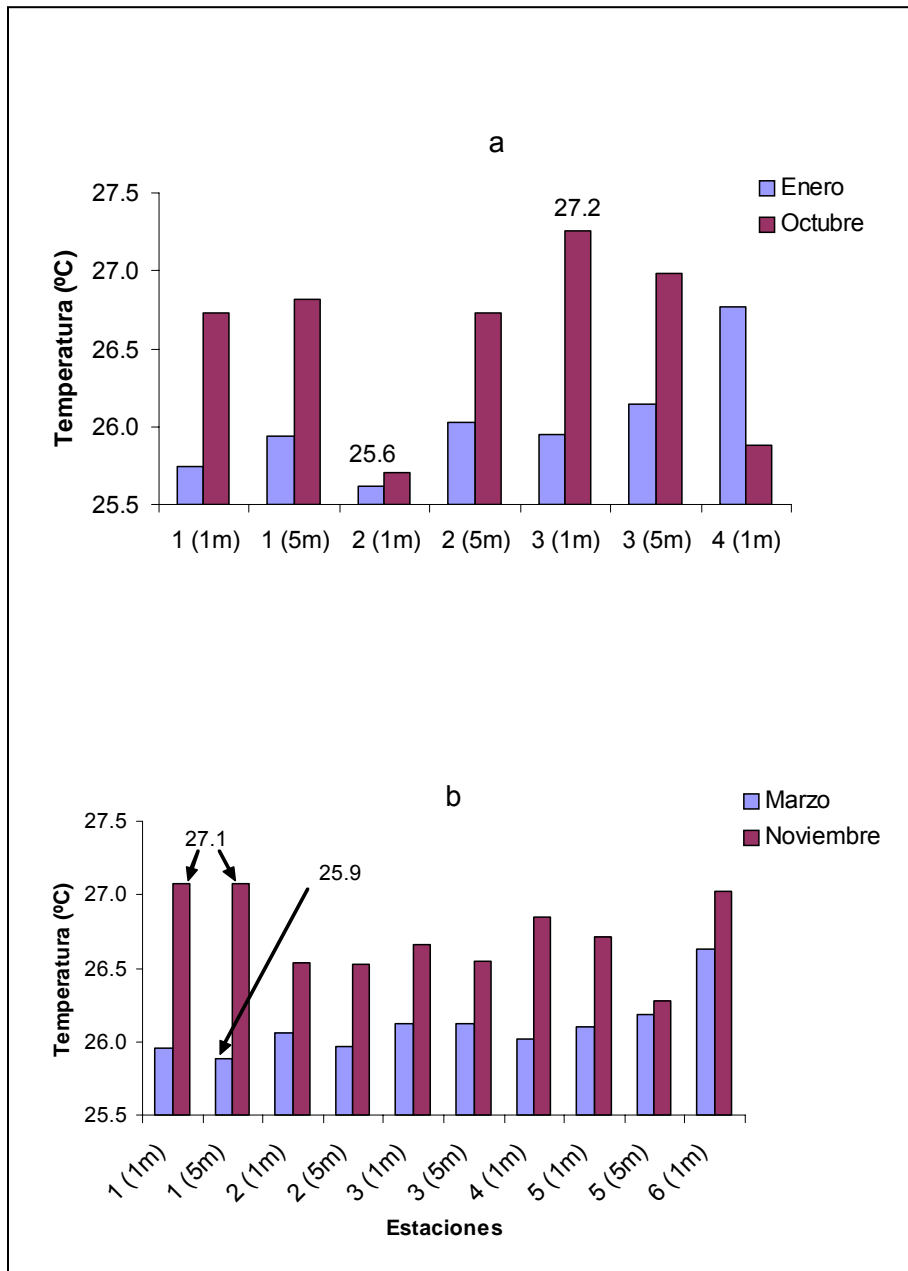


Figura 11. Temperatura (°C), en las estaciones de Guánica (a) y La Parguera (b). Las temperaturas mínimas fueron registradas en los meses de enero y marzo mientras que las máximas se registraron durante los muestreos de octubre y noviembre.

3.2.3 Salinidad Práctica

La salinidad en Guánica presentó un máximo de 35.2 en la estación 2 a una profundidad de 1 metro en el mes de enero, y un mínimo de 16.8 en la estación 4, a 1 metro de profundidad en el mes de octubre (Figura 12a). Los valores promedio de salinidad para enero y octubre en Guánica fueron 34.6 y 28.2, respectivamente (Tabla 4).

La Parguera presentó un máximo de 34.9 en la estación 6 (Pueblo) a 1 metro de profundidad en el mes de marzo, y un mínimo de 31.0 en la estación 5 (Caballo Blanco) a 1 metro de profundidad en el mes de noviembre (Figura 12b). Los valores promedio de salinidad en la Parguera para marzo y noviembre fueron 34.7 y 31.4, respectivamente (Tabla 4).

El cambio en la salinidad para el área de La Parguera entre los muestreos llevados a cabo en marzo y noviembre fue en promedio de -3.3. El sector de Guánica presentó en promedio una disminución de -2.3, entre los meses de enero y octubre; Sin embargo, a 1 metro de profundidad en las estaciones 2 y 4 de Guánica se pudo observar una disminución drástica en la salinidad de 18.2 y 15.7, respectivamente (Figura 12a y b).

La prueba de ANOVA no detectó diferencias estadísticamente significativas entre las salinidades promedios a 1 y 5 metros de profundidad durante el estudio ($F=3.36$; $p>0.05$).

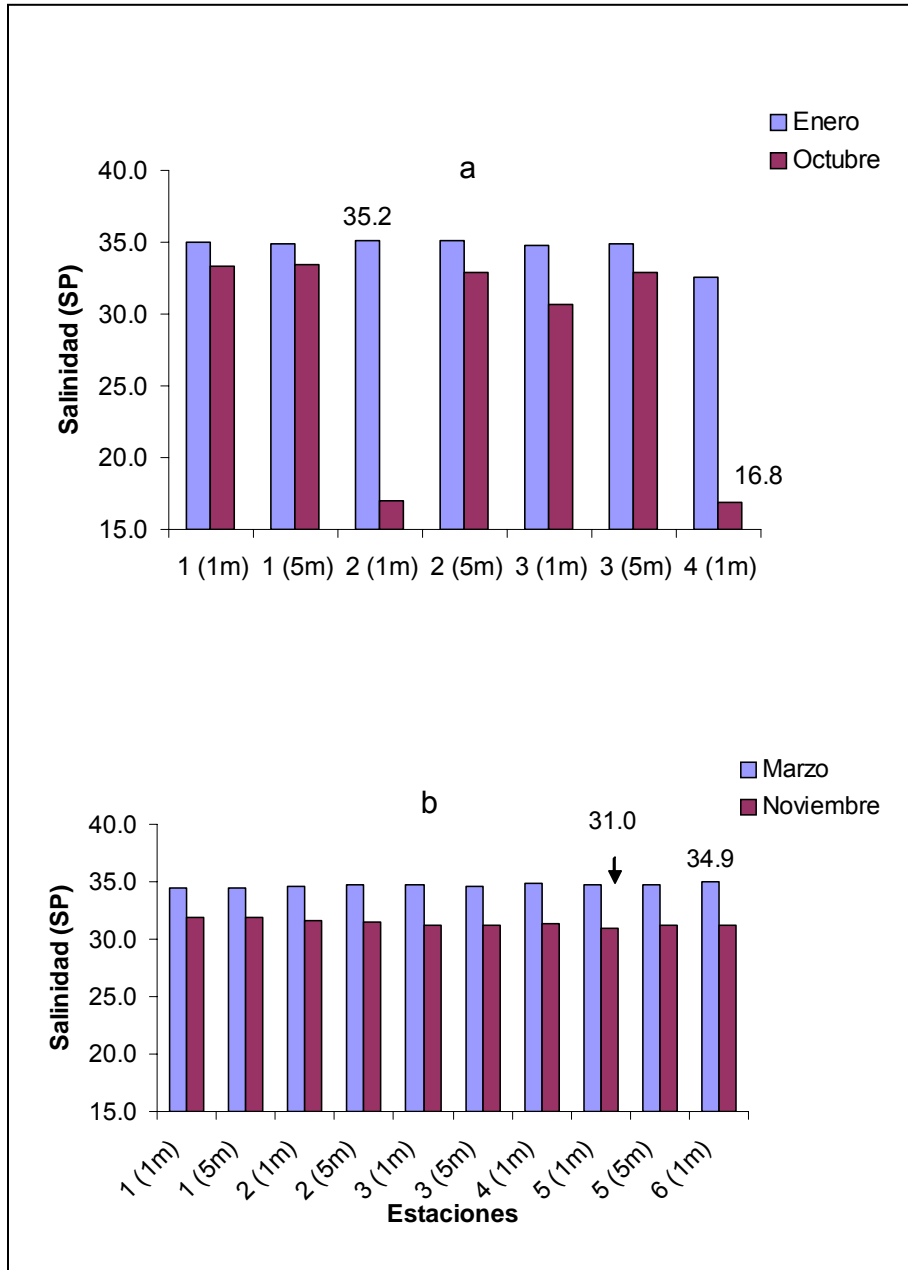


Figura 12. Salinidad, en las estaciones de Guánica (a) y La Parguera (b). Las salinidades mínimas fueron registradas en los meses de octubre y noviembre mientras que las máximas se registraron durante los muestreos de enero y marzo.

3.2.4 Turbidez

Los valores de turbidez en la Bahía de Guánica tuvieron un máximo de 3.3 NTU en la estación 4, a 1 metro de profundidad en el mes de octubre, y un mínimo de 0.1 NTU en la estación 1, a 5 metros de profundidad en el mes de enero (Figura 13a). Los valores promedio para las estaciones de Guánica en los meses de enero y octubre fueron 0.6 y 1.1 NTU, respectivamente (Tabla 4).

La Parguera presentó un máximo de 1.4 NTU en la estación 5 (Caballo Blanco) a 1 metro de profundidad en el mes de noviembre, y un mínimo de 0.1 NTU en la estación 1 (Veril) en las 2 profundidades de muestreo (1 y 5 m) en el mes de enero (Figura 13b). Los valores promedio para todas las estaciones de La Parguera en los meses de marzo y noviembre fueron 0.3 y 0.6 NTU, respectivamente (Tabla 4).

Se observó en la mayoría de las estaciones un incremento en la turbidez en los meses de octubre y noviembre, excepto en la estación 3 de Guánica a una profundidad de 5 metros y en las estaciones 1 (Veril) y 6 (Pueblo) correspondientes al área de La Parguera (Figura 13a y b).

Se presentaron varias correlaciones significativas entre la turbidez y las demás variables. Sin embargo las correlaciones que siempre se observaron tanto en las dos épocas de muestreo como en ambas áreas de estudio fueron

con la abundancia bacteriana ($r=0.84$; Figura 14) y producción bacteriana ($r=0.82$; Figura 15).

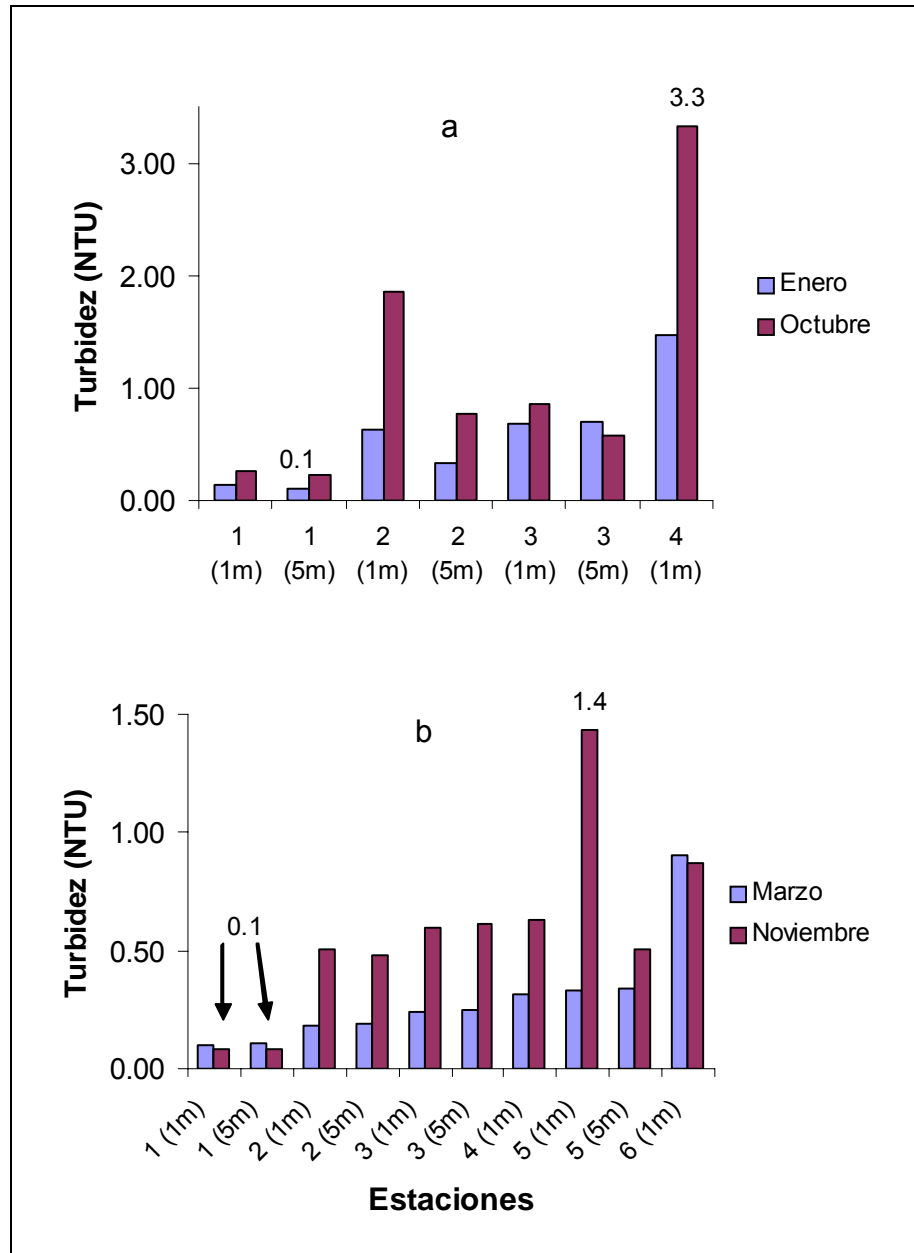


Figura 13. Variación de la turbidez (NTU) para las estaciones de Guánica (a) y La Parguera (b). Los valores señalados representan los valores máximos y mínimos en las dos áreas de muestreo.

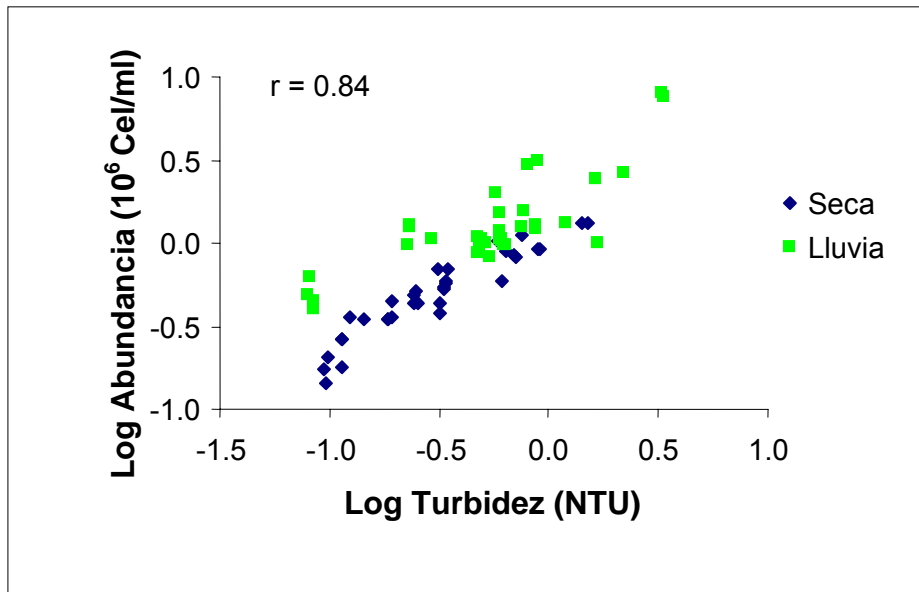


Figura 14. Correlación entre el Log de abundancia bacteriana y el Log de turbidez para Guánica y La Parguera durante los dos tiempos de muestreo.

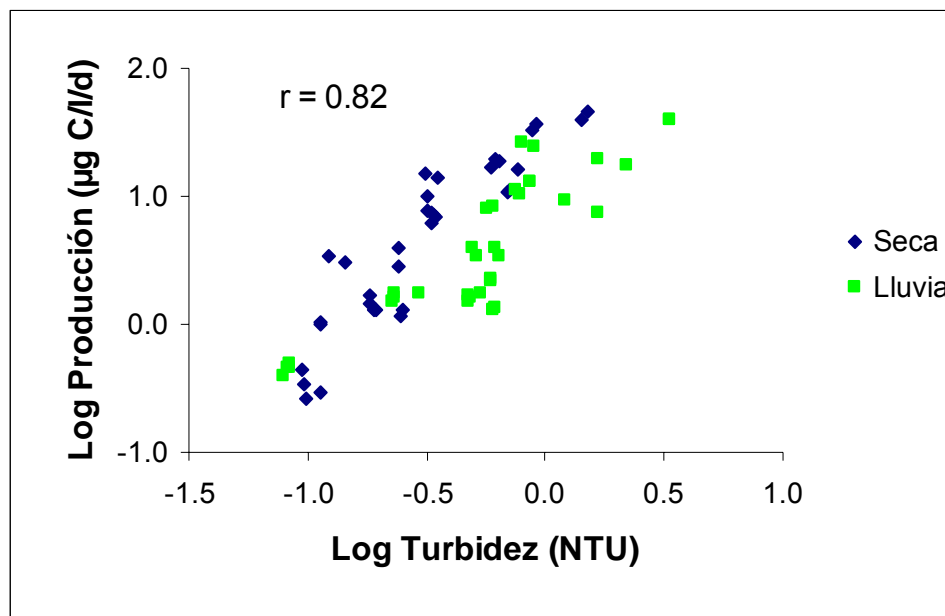


Figura 15. Correlación entre el Log de producción bacteriana y el Log de turbidez para Guánica y La Parguera durante los dos tiempos de muestreo.

3.2.5 Clorofila a

La concentración de Chla durante el estudio en la Bahía de Guánica presentó un valor mínimo de 0.07 $\mu\text{g/l}$ en la estación 1 a la profundidad de 5 metros en el mes de enero, y un máximo de 8.97 $\mu\text{g/l}$ en la estación 4 a la profundidad de 1 metro en el mes de octubre (Figura 16a). Los valores promedio en la Bahía de Guánica en los meses de enero y octubre fueron 2.15 y 5.21 $\mu\text{g/l}$, respectivamente (Tabla 4).

La Chla en La Parguera presentó un valor mínimo de 0.05 $\mu\text{g/l}$ en la estación 1 (Veril) a la profundidad de 5 metros en el mes de marzo, y un máximo de 2.06 $\mu\text{g/l}$ en la estación 5 (Caballo Blanco) a la profundidad de 1 metro en el mes de noviembre (Figura 16b). En La Parguera, los valores promedio de Chla en los meses de marzo y noviembre fueron de 0.22 y 1.39 $\mu\text{g/l}$ (Tabla 4).

Tanto en Guánica como en La Parguera, se observó un aumento en la concentración de Chla durante el tiempo de mayor precipitación, presentándose los picos más altos durante el muestreo en la época de lluvia y los mínimos en la época seca. Además se pudo determinar que el área de Guánica fue la que presentó los valores más altos de Chla en los dos tiempos de muestreo.

Se encontraron correlaciones significativas entre el Log de Chla con el Log de: abundancia ($r=0.86$; Figura 17) y producción ($r=0.58$; Figura 18) en ambas áreas de estudio durante las dos épocas de muestreo.

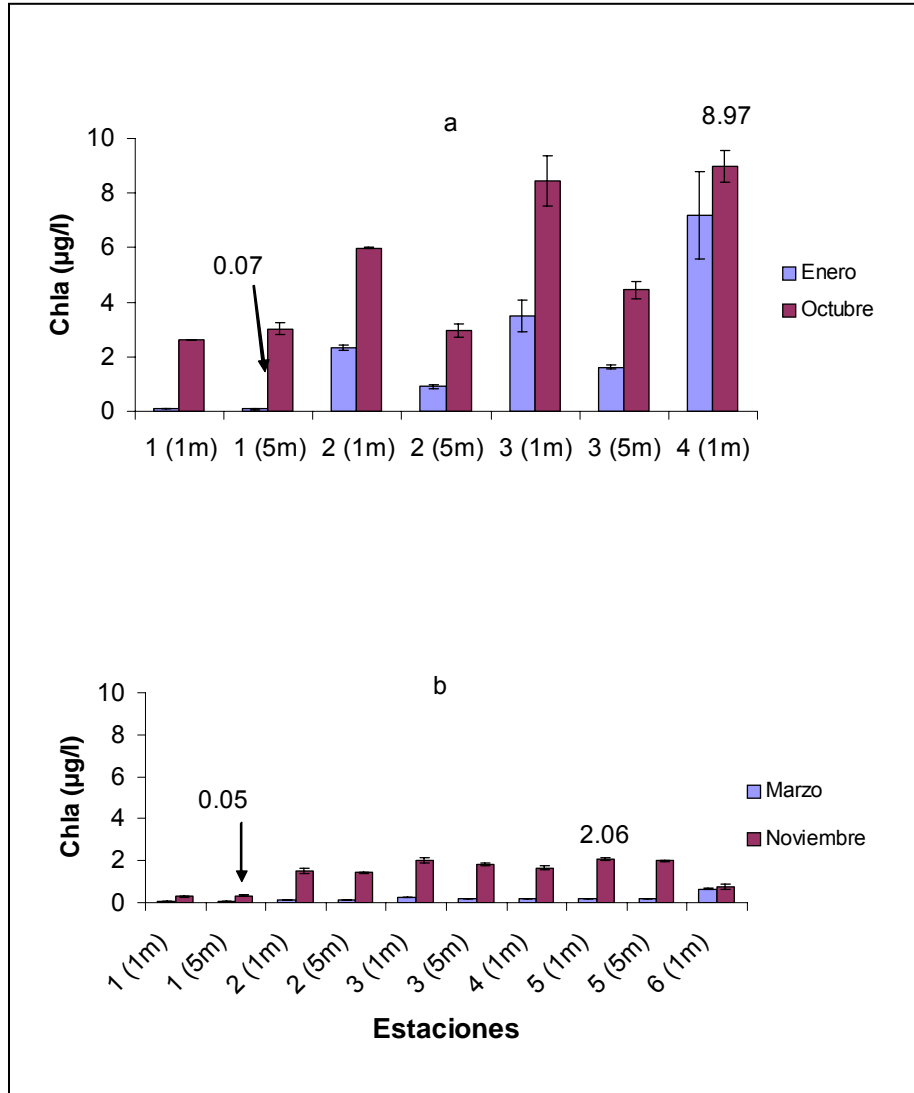


Figura 16. Variación en la concentración de Chla ($\mu\text{g/l}$) para las estaciones de Guánica (a) y la Parguera (b) durante el estudio. Los valores señalados representan las concentraciones máximas y mínimas de Chla en las dos áreas de muestreo.

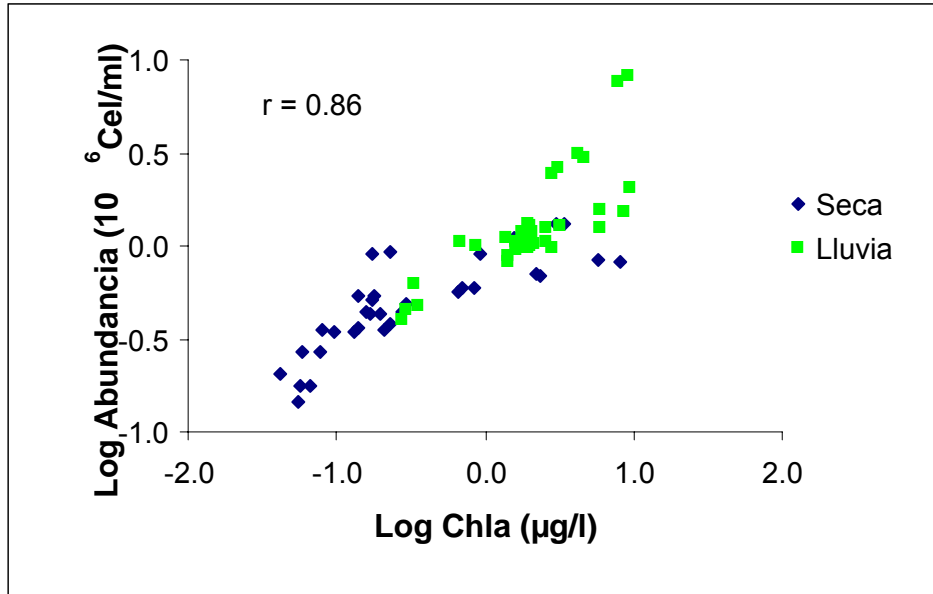


Figura 17. Correlación entre el Log de Chla y el Log de abundancia bacteriana para Guánica y La Parguera durante los dos tiempos de muestreo.

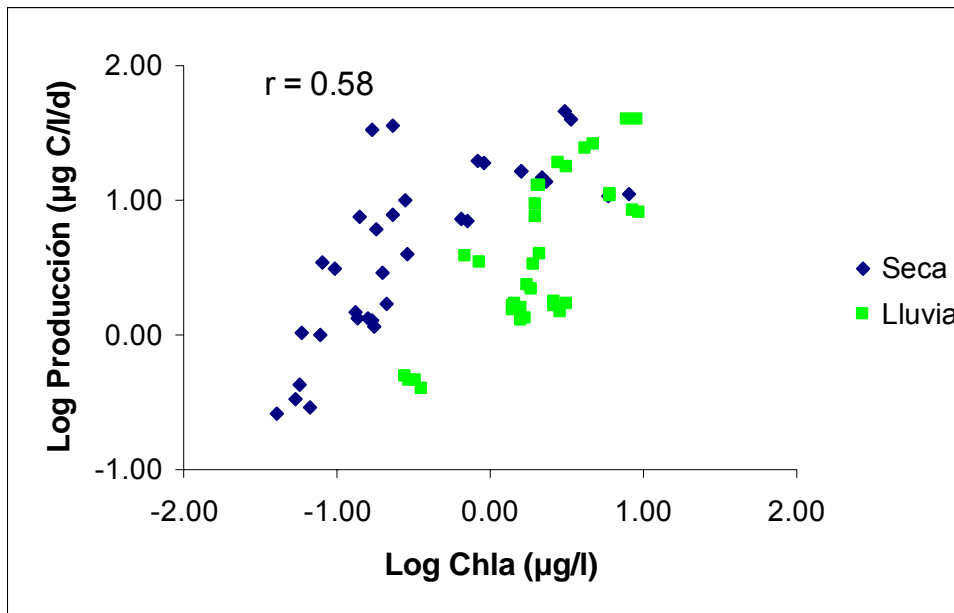


Figura 18. Correlación entre el Log de producción bacteriana y el Log de Chla para Guánica y La Parguera durante los dos tiempos de muestreo.

3.2.6 Materia orgánica disuelta fluorescente

En el sector de Guánica, la concentración de materia orgánica disuelta fluorescente (MODFI) presentó un valor mínimo de 4.5 ng SQ/ml en la estación 1 a la profundidad de 1 metro en el mes de enero, y un máximo de 78.3 ng SQ/ml en la estación 4 a la profundidad de 1 metro en el mes de octubre (Figura 19a). Los valores promedio en la Bahía de Guánica en los meses de enero y octubre fueron 6.5 y 21.8 ng SQ/ml, respectivamente (Tabla 4).

La concentración de MODFI en La Parguera presentó un valor mínimo de 3.3 ng SQ/ml en la estación 1 (Veril) a 5 metros de profundidad en el mes de noviembre, y un máximo de 6.7 ng SQ/ml en la estación 6 (Pueblo) a la profundidad de 1 metro en el mes de marzo (Figura 19b). En los meses de marzo y noviembre los promedios de MODFI fueron de 5.0 y 4.5 ng SQ/ml (Tabla 4).

La Bahía de Guánica mostró un incremento en la concentración de MODFI durante los muestreos asociados a mayor pluviosidad. Caso contrario se presentó en la Parguera donde la MODFI disminuyó en la época de precipitación. Al comparar las dos áreas de estudio, se pudo determinar que el área de Guánica presentó los valores más altos de MODFI.

Se pudo establecer que las profundidades estudiadas (1 y 5 metros), no son un factor determinante en la distribución del material orgánico disuelto fluorescente, ya que no se observaron diferencias significativas ($p=0.1012$).

Se encontró una correlación significativa entre el Log de producción bacteriana y el Log de MODFI pero únicamente en el área de la Parguera durante el muestreo de noviembre ($r=0.75$; Figura 20).

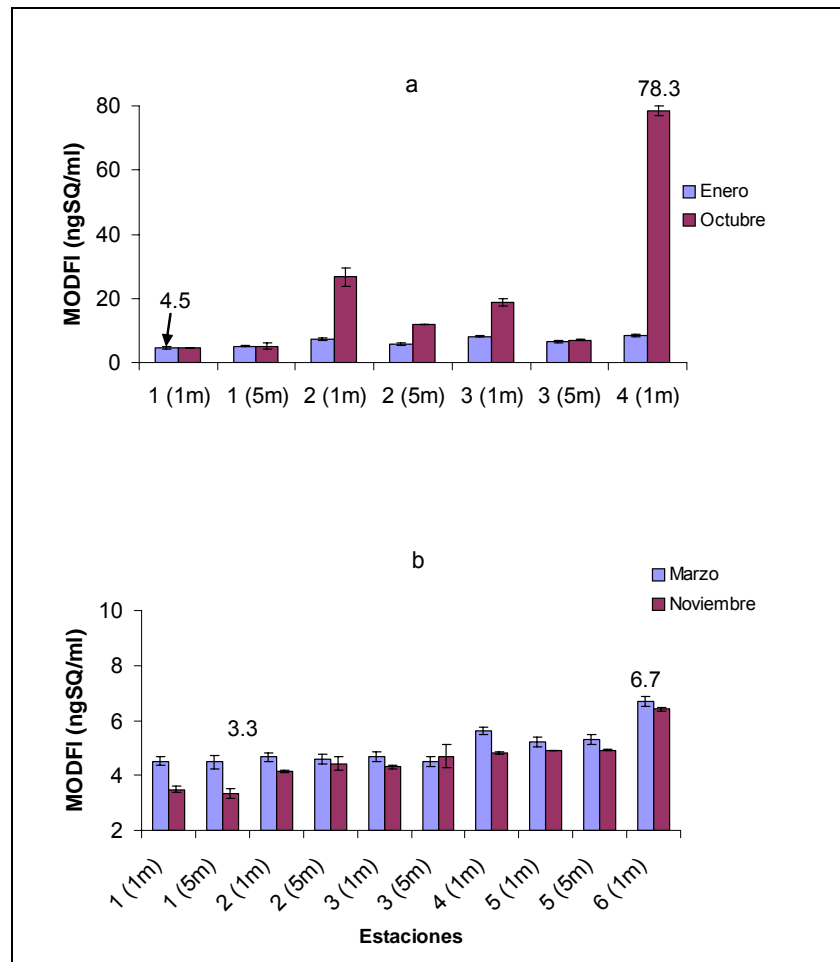


Figura 19. Variación en la concentración de MODFI (ng SQ/ml) para las estaciones de Guánica (a) y la Parguera (b) durante el estudio. Los valores señalados representan las concentraciones máximas y mínimas de MODFI en las dos áreas de muestreo.

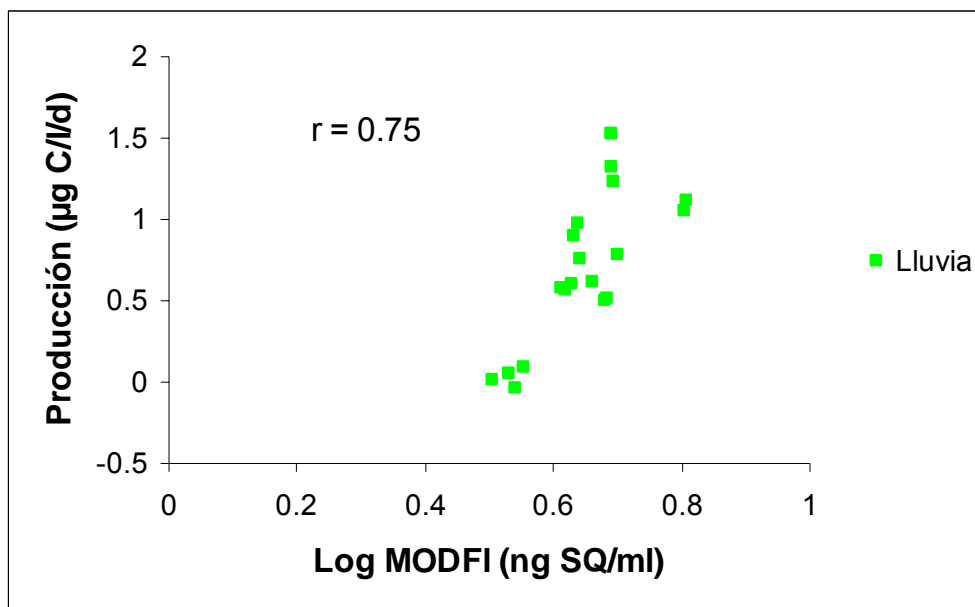


Figura 20. Correlación entre el Log de producción bacteriana y el Log de MODFI para La Parguera durante el muestreo de noviembre.

Tabla 4. Promedios y desviación estándar de las variables físicas, químicas y biológicas de la Bahía de Guánica y La Parguera para los dos tiempos de muestreo.

Variable	Unidades	Guánica		Parguera	
		Enero	Octubre	Marzo	Noviembre
		Promedio \pm D.E		Promedio \pm D.E	
Temperatura	$^{\circ}$ C	26.0 \pm 0.4	26.6 \pm 0.6	26.1 \pm 0.2	26.7 \pm 0.3
Salinidad	SP	34.6 \pm 0.9	28.2 \pm 7.4	34.7 \pm 0.2	31.4 \pm 0.3
Turbidez	NTU	0.6 \pm 0.04	1.1 \pm 0.08	0.3 \pm 0.003	0.6 \pm 0.04
Clorofila a	μ g/l	2.15 \pm 0.35	5.21 \pm 0.33	0.22 \pm 0.003	1.39 \pm 0.06
MODFI	ng SQ/ml	6.5 \pm 0.3	21.8 \pm 0.1	5.0 \pm 0.2	4.5 \pm 0.1
Abundancia	10 ⁶ Cel/ml	0.75 \pm 0.04	2.69 \pm 0.23	0.45 \pm 0.03	0.94 \pm 0.08
Producción	μ g C//d	14.9 \pm 1.3	14.8 \pm 0.7	6.2 \pm 0.5	3.6 \pm 0.5
Respiración	μ g O ₂ //d	567 \pm 19	644 \pm 41	596 \pm 65	644 \pm 58

3.3 Variables Microbianas

3.3.1 Abundancia Bacteriana

El promedio de bacterias para el área de Guánica en el muestreo de enero fue 0.75×10^6 Cel/ml, en octubre la densidad promedio de bacterias fue de 2.69×10^6 Cel/ml (Tabla 4). El valor mínimo de abundancia bacteriana fue 0.27×10^6 Cel/ml en la estación 1 a 5 metros de profundidad en el mes de enero. El máximo se registró en la estación 4 durante octubre y fue de 7.82×10^6 Cel/ml (Figura 21a).

Para el área de la Parguera, la abundancia bacteriana promedio en marzo fue de 0.45×10^6 Cel/ml, durante el muestreo de noviembre la densidad promedio fue de 0.94×10^6 Cel/ml (Tabla 4). El valor mínimo de abundancia bacteriana (0.16×10^6 Cel/ml) se encontró en la estación 1 (Veril) durante marzo a 5 metros de profundidad (Figura 21b). El máximo de abundancia bacteriana para la Parguera (1.24×10^6 Cel/ml) se registró en la estación 6 (Pueblo) (Figura 21b).

Se observó un incremento en la densidad bacteriana entre la época seca y la época de lluvias en las dos áreas de muestreo, registrándose los valores más altos en el sector de Guánica. Se obtuvo correlaciones entre el Log de abundancia bacteriana con el Log de: turbidez ($r=0.84$; Figura 14), Chla ($r=0.86$; Figura 17), y producción bacteriana ($r=0.67$; Figura 22) incluyendo ambas áreas y tiempos de muestreo.

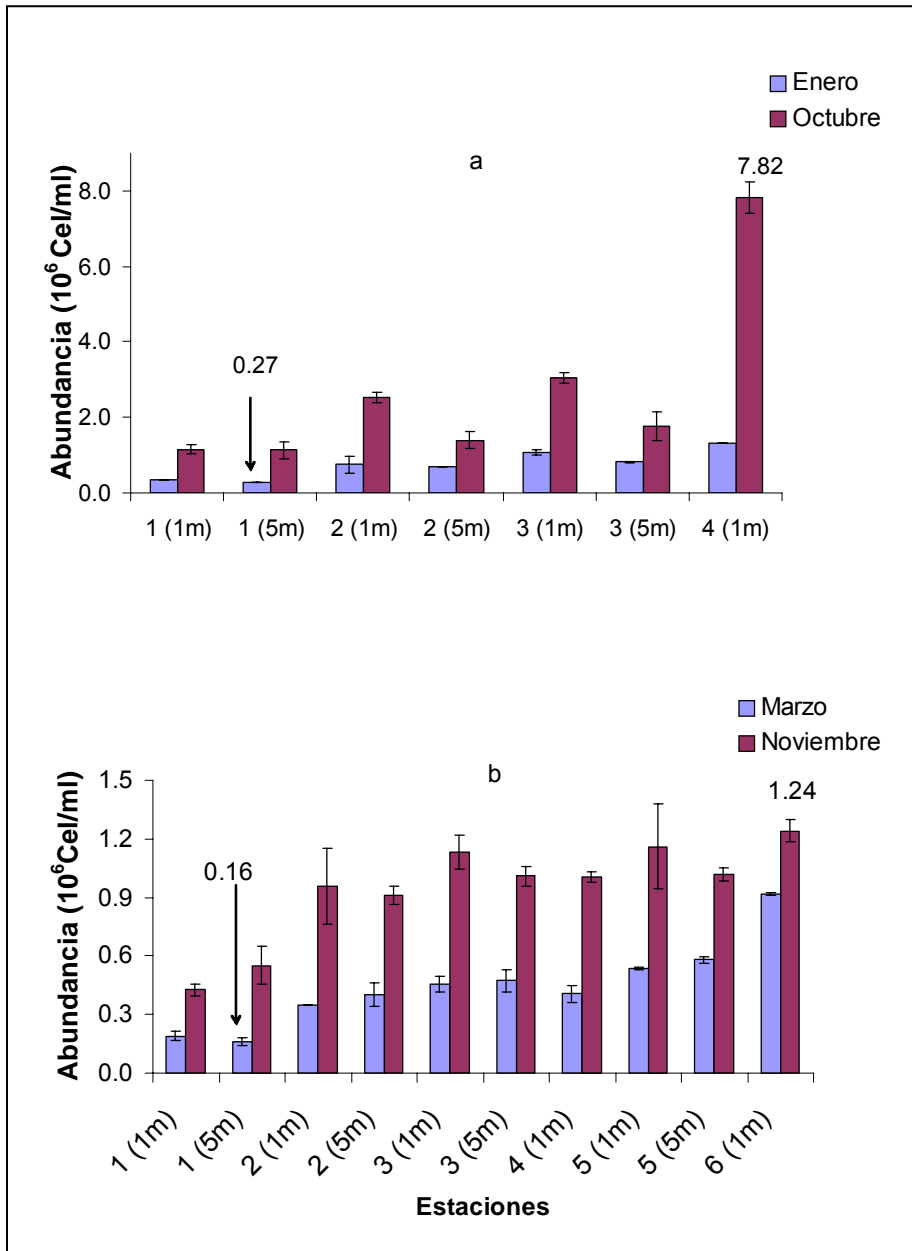


Figura 21. Variación de la abundancia bacteriana (10^6 Cel/ml) para las estaciones de Guánica (a) y la Parguera (b) durante el estudio. Los valores señalados representan las densidades máximas y mínimas de células en las dos áreas de muestreo.

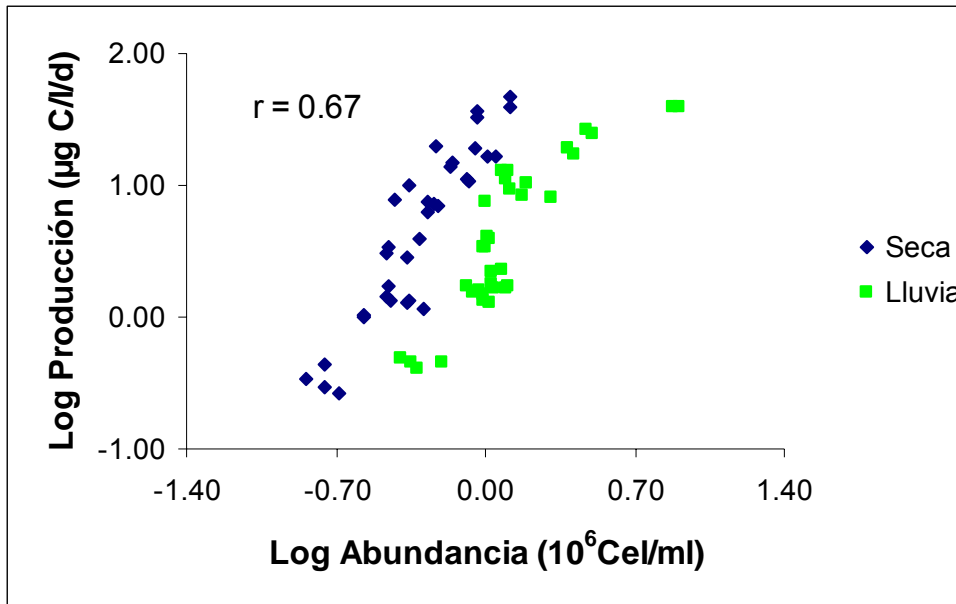


Figura 22. Correlación entre el Log de abundancia bacteriana y el Log de producción bacteriana para Guánica y La Parguera durante los dos tiempos de muestreo.

3.3.2 Respiración

La respiración en la Bahía de Guánica reportó un valor mínimo equivalente a 160 $\mu\text{g O}_2/\text{l/d}$ en la estación 1 a la profundidad de 5 metros en el mes de enero, y un máximo de 2,264 $\mu\text{g O}_2/\text{l/d}$ en la estación 4 en el mes de enero (Figura 23a). Los valores promedio en la Bahía de Guánica en los meses de enero y octubre fueron 567 y 644 $\mu\text{g O}_2/\text{l/d}$ respectivamente (Tabla 4).

La respiración en La Parguera presentó un valor mínimo de 292 $\mu\text{g O}_2/\text{l/d}$ en las estaciones 2 (Media Luna) y 3 (Romero) a 1 metro de profundidad en el mes de noviembre, y un máximo de 1,945 $\mu\text{g O}_2/\text{l/d}$ en la estación 6 (Pueblo) en el mes de noviembre (Figura 23b). En los meses de marzo y noviembre los valores promedio de respiración fueron de 596 y 644 $\mu\text{g O}_2/\text{l/d}$ (Tabla 4).

En la Bahía de Guánica se observó un aumento en la respiración durante el tiempo de mayor precipitación excepto en la estación 4, en donde se reportó un valor menor para el mes de octubre. En La Parguera también se observó un aumento en la respiración en el mes de noviembre, excepto en las estaciones 1 (Veril) y 3 (Romero) donde la respiración fue menor.

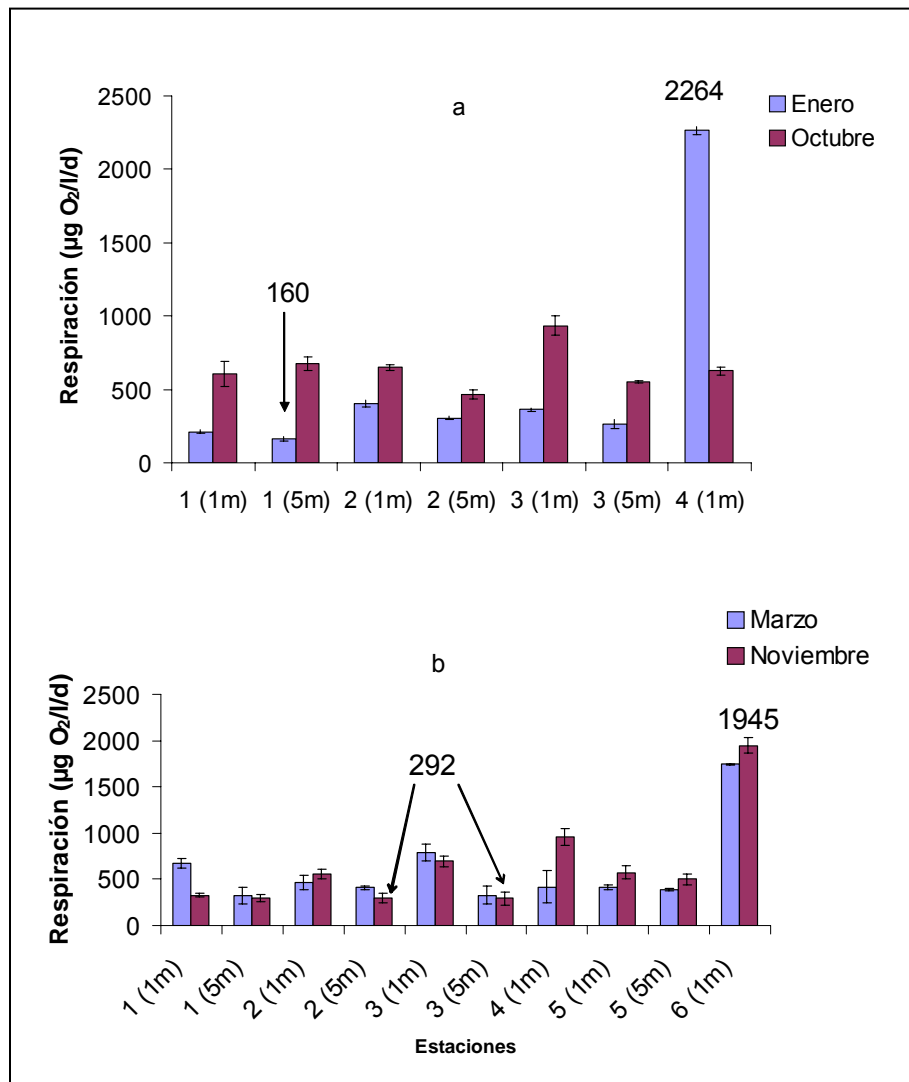


Figura 23. Variación de la respiración bacteriana ($\mu\text{g O}_2/\text{l/d}$) para las estaciones de Guánica (a) y la Parguera (b) durante el estudio. Los valores señalados representan las respiraciones máximas y mínimas en las dos áreas de muestreo.

3.3.3 Producción Bacteriana

En la Bahía de Guánica, la producción bacteriana presentó un valor mínimo de 1.0 $\mu\text{g C//d}$ en la estación 1 a la profundidad de 5 metros en el mes de enero, y un máximo de 39.6 $\mu\text{g C//d}$ en la estación 4 durante el mismo mes (Figura 24a). En los meses de enero y octubre los valores promedio fueron 14.9 $\mu\text{g C//d}$ y 14.8 (Tabla 4).

El mínimo y máximo de producción bacteriana en el área de La Parguera fueron encontrados en marzo, cuando se estimó 0.3 y 33.2 $\mu\text{g C//d}$ a 5 m en la estación 1 (Veril) y en la estación 6 (Pueblo), respectivamente (Figura 24b). En los meses de marzo y noviembre los valores promedio fueron de 6.2 y 3.6 $\mu\text{g C//d}$ (Tabla 4).

En la Bahía de Guánica y La Parguera, al observar los valores de producción entre los dos tiempos de muestreo, no se apreció claramente una tendencia de aumento o disminución de los valores. Guánica en general fue el área con valores más altos de producción durante el estudio. En La Parguera por su parte se observó una producción más baja, excepto durante marzo en la estación 6 (Pueblo).

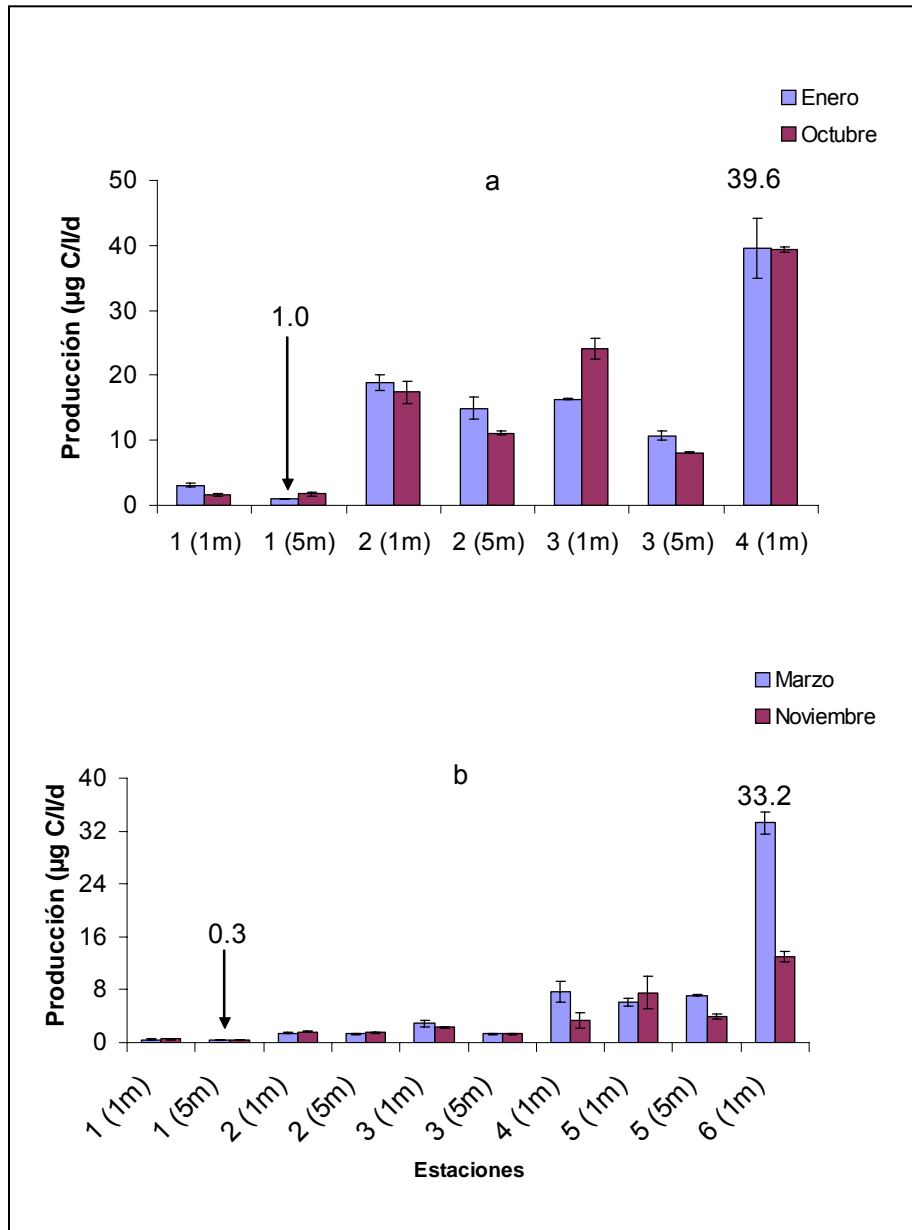


Figura 24. Variación de la producción bacteriana ($\mu\text{g C/l/d}$) para las estaciones de Guánica (a) y la Parguera (b) durante el estudio. Los valores indicados representan las densidades máximas y mínimas de células en las dos áreas de muestreo.

3.3.4 Eficiencia de Crecimiento Bacteriano

La eficiencia de crecimiento bacteriano (ECB) para el área de Guánica en el mes de enero presentó un porcentaje promedio de 8%, mientras en octubre el porcentaje fue de 6%. La estación que presentó la ECB mínimo fue la estación 1 a 1 y 5 metros de profundidad con un valor de 1% durante el muestreo de octubre. El máximo se registró en la estación 4 durante octubre y fue de 14% (Figura 25a)

Para el área de la Parguera, el porcentaje promedio de crecimiento bacteriano en marzo fue de 2% mientras que en noviembre fue de 1%. En la estación 1 (Veril) se estimó el valor mínimo de ECB en marzo a 1 metro de profundidad con un valor de 0.2%. El máximo de % de crecimiento se observó en la estaciones 4 (Bahía), 5 (C. Blanco) a 5 metros de profundidad y 6 (Pueblo) en marzo con un porcentaje de 5% (Figura 25b).

Se observó una disminución en el porcentaje de crecimiento bacteriano entre la época seca y la época de lluvias en el área de Guánica, excepto en la estación 4 donde se registró un aumento significativo. En la Parguera, el comportamiento no es muy claro, ya que las estaciones que están cercanas a la costa (4, 5 y 6) (Bahía, C. Blanco y Pueblo, respectivamente) presentaron una disminución, mientras en las otras estaciones (1, 2 y 3) (Veril, M. Luna y Romero, respectivamente) se observó un incremento en el porcentaje de crecimiento. Los valores más altos se observaron en las estaciones de Guánica.

Se obtuvo una correlación significativa entre la eficiencia de crecimiento bacteriano con producción bacteriana ($r=0.90$; Figura 26).

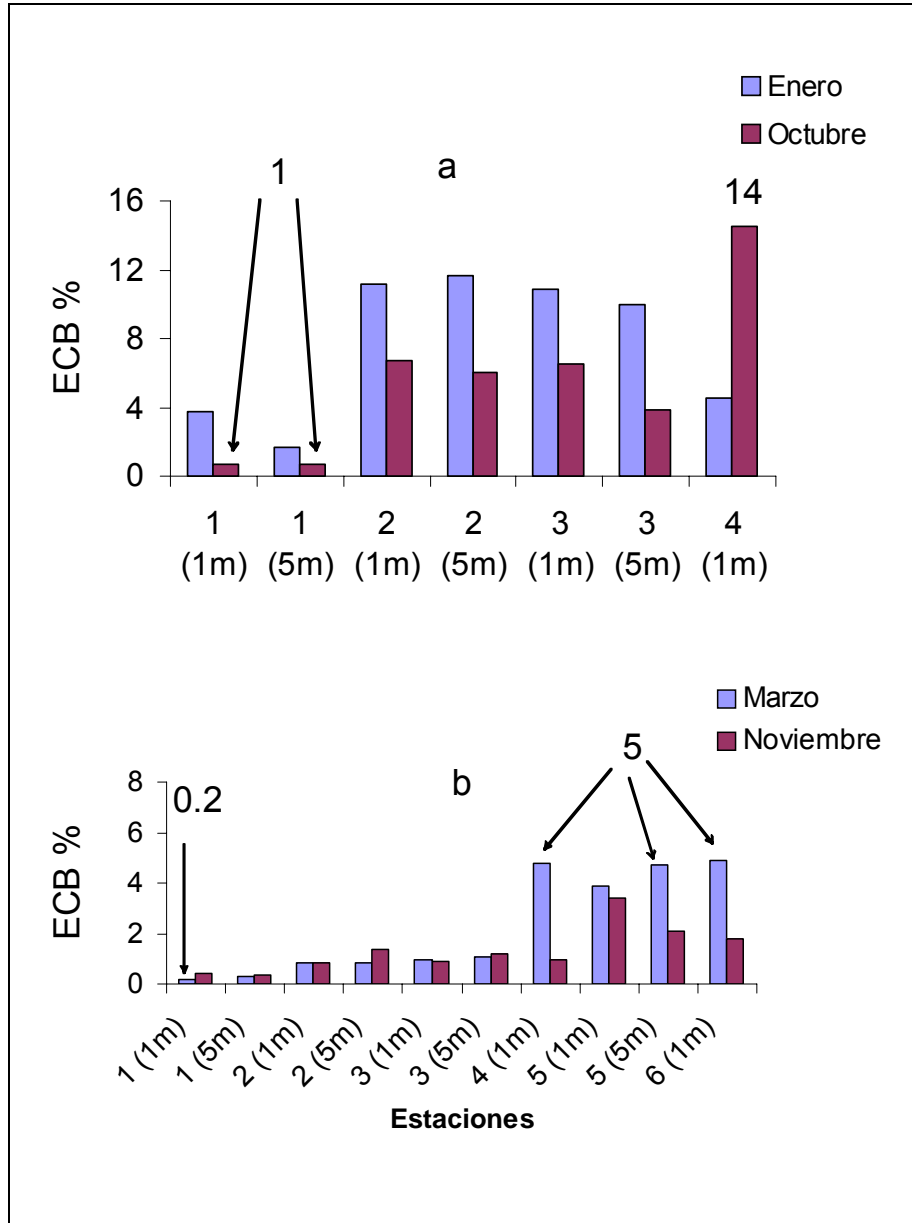


Figura 25. Variación de la eficiencia de crecimiento bacteriano (%) para las estaciones de Guánica (a) y la Parguera (b) durante el estudio. Los valores indicados representan los porcentajes máximos y mínimos en las dos áreas de muestreo.

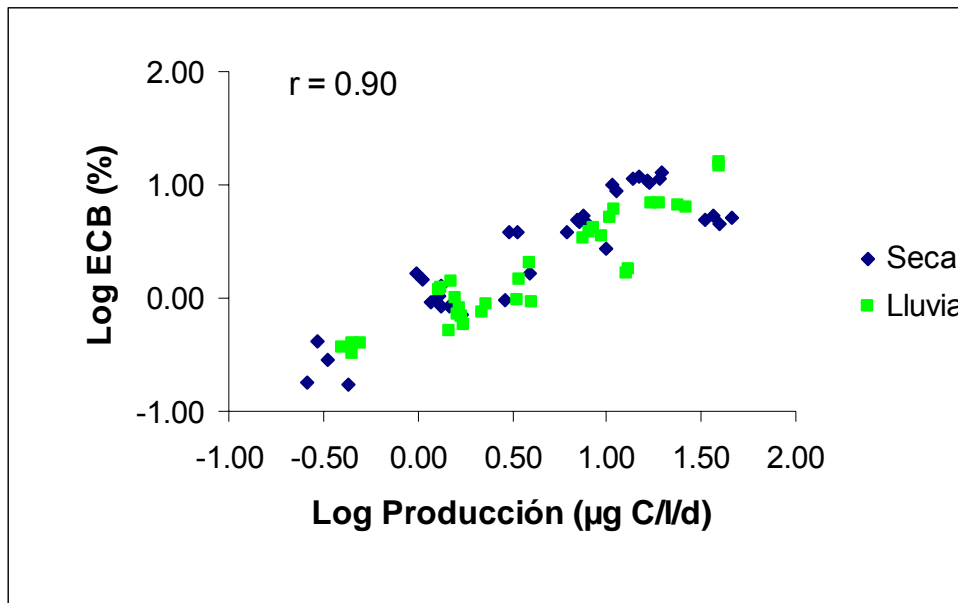


Figura 26. Correlación entre el Log de producción bacteriana y el Log de eficiencia de crecimiento bacteriano para Guánica y La Parguera durante los dos tiempos de muestreo.

3.4 Análisis de varianza ANOVA

De acuerdo a los resultados obtenidos del ANOVA (Apéndices A1-A7), las épocas (seca y lluvia) presentaron un efecto significativo sobre la turbidez, Chla y abundancia bacteriana en las área de estudio. Adicionalmente las dos zonas de estudio (Guánica y Parguera) mostraron un efecto significativo sobre la Chla, MODFI y eficiencia de crecimiento bacteriano. Una porción significativa de la varianza fue aportada por las diferencias entre las estaciones. Dichas diferencias se observaron para la turbidez, Chla, abundancia, producción y eficiencia de crecimiento bacteriano.

Los resultados mostraron que existe una interacción entre las épocas de muestreo y las zonas de estudio para la MODFI. Las demás variables no reflejaron interacción entre estos dos factores (época y zona). No obstante, se observó que la interacción entre las épocas y las estaciones es significativa para todas las variables, excepto para la producción bacteriana.

El análisis de datos de respiración indicó que no se presentaron diferencias significativas con respecto a las zonas, épocas o estaciones de muestreo. Solamente se observó una interacción entre la época y las estaciones estudiadas.

3.5 Clasificación de las estaciones

Con el fin de estudiar la relación entre las estaciones con respecto a las variables analizadas, y teniendo en cuenta que los resultados de las variables en la mayoría de las estaciones cambio de forma significativa entre los dos tiempos de muestreo, se decidió llevar a cabo análisis individuales para cada época de muestreo. Inicialmente se realizó el agrupamiento de las estaciones de Guánica y La Parguera correspondientes a los muestreos de enero y marzo, en un dendrograma formado a partir del índice de similitud de Bray-Curtis, el cual describió la formación de tres grupos a un nivel de semejanza de 0.60 (línea discontinua roja) (Figura 27).

El índice de Bray-Curtis mostró en el dendrograma que los tres grupos formados, se asocian de acuerdo a las áreas de estudio y a la distancia de la costa, observándose claramente un gradiente costa-océano y diferencias entre las estaciones de la Bahía de Guánica y La Parguera (Figura 27).

Se observó que la MODFI y la respiración bacteriana a lo largo de todas las estaciones presentaron patrones de dispersión similares, reportando los valores más altos en la estación 4 de Guánica. Por el contrario la Chla y la turbidez tuvieron las mayores diferencias en los patrones de dispersión en relación con las demás variables, registrando los valores más altos en las estaciones 3 y 4 de Guánica respectivamente.

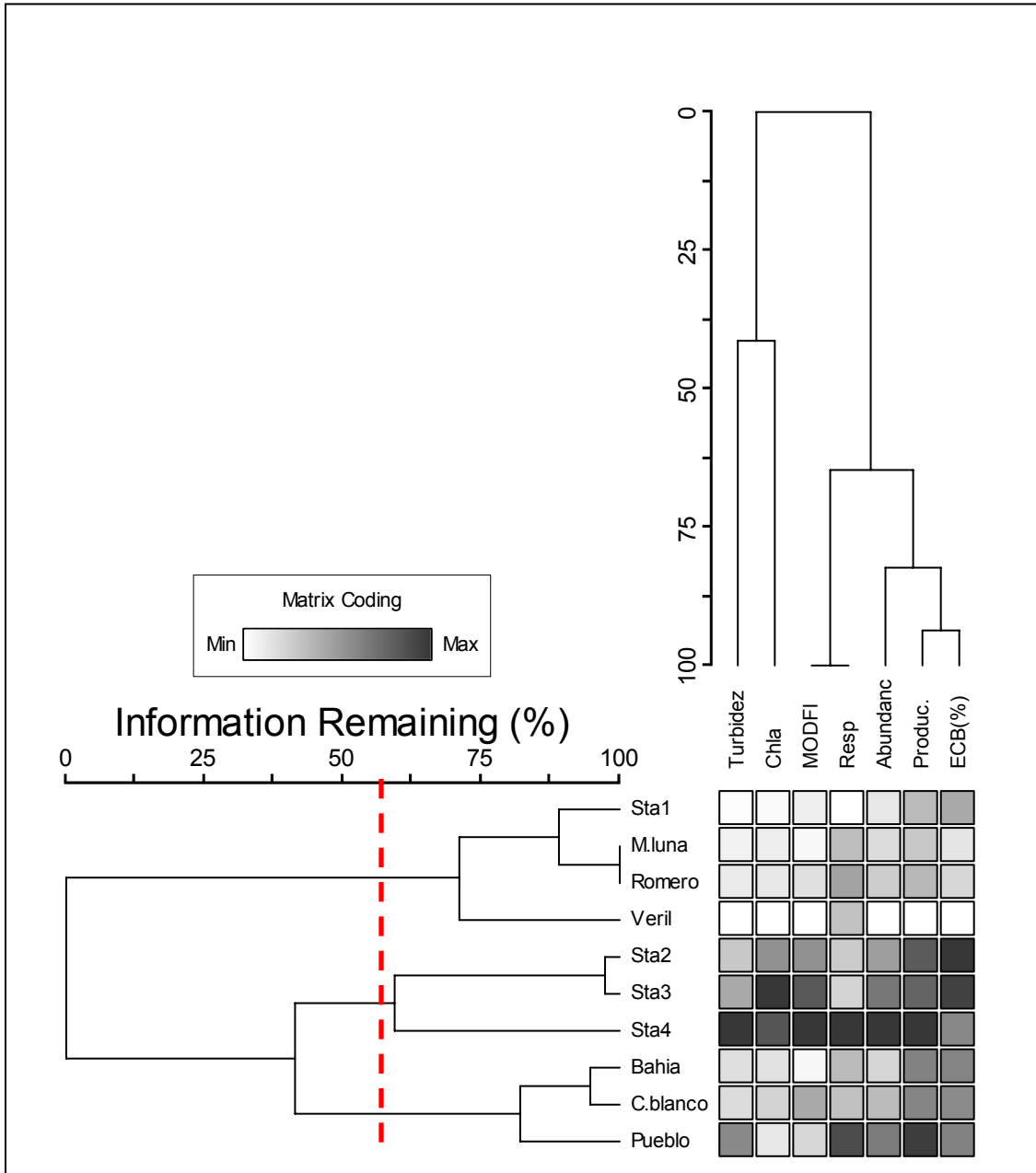


Figura 27. Dendrograma de las asociaciones entre las estaciones de Guánica y La Parguera durante los muestreos de enero y marzo. La intensidad de los cuadros indica los valores relativos de las variables en cada una de las estaciones, siendo los más oscuros los valores más altos y disminuyendo de acuerdo al grado de intensidad del color.

La clasificación de las estaciones para los muestreos de octubre y noviembre a un nivel de semejanza de 0.60 (línea discontinua roja) (Figura 28) describe la formación de dos grupos, el primero esta compuesto por todas las estaciones de La Parguera y la estación 1 de Guánica, el segundo esta conformado por las estaciones 2 y 3 de Guánica. La estación 4 de Guánica no se encuentra asociada con los dos grupos formados y presenta mayormente los valores más altos de las variables estudiadas. Los dos grupos mostraron un patrón consistente respecto a las dos áreas de estudio.

Se observó que la producción y la eficiencia de crecimiento bacteriano presentaron patrones de dispersión muy similares a lo largo de todas las estaciones, reportando los valores más altos en la estación 4 de Guánica. En contraste, la respiración bacteriana presentó grandes diferencias en los patrones de dispersión en relación con las demás variables, registrándose el valor más alto en la estación 6 (Pueblo) de La Parguera.

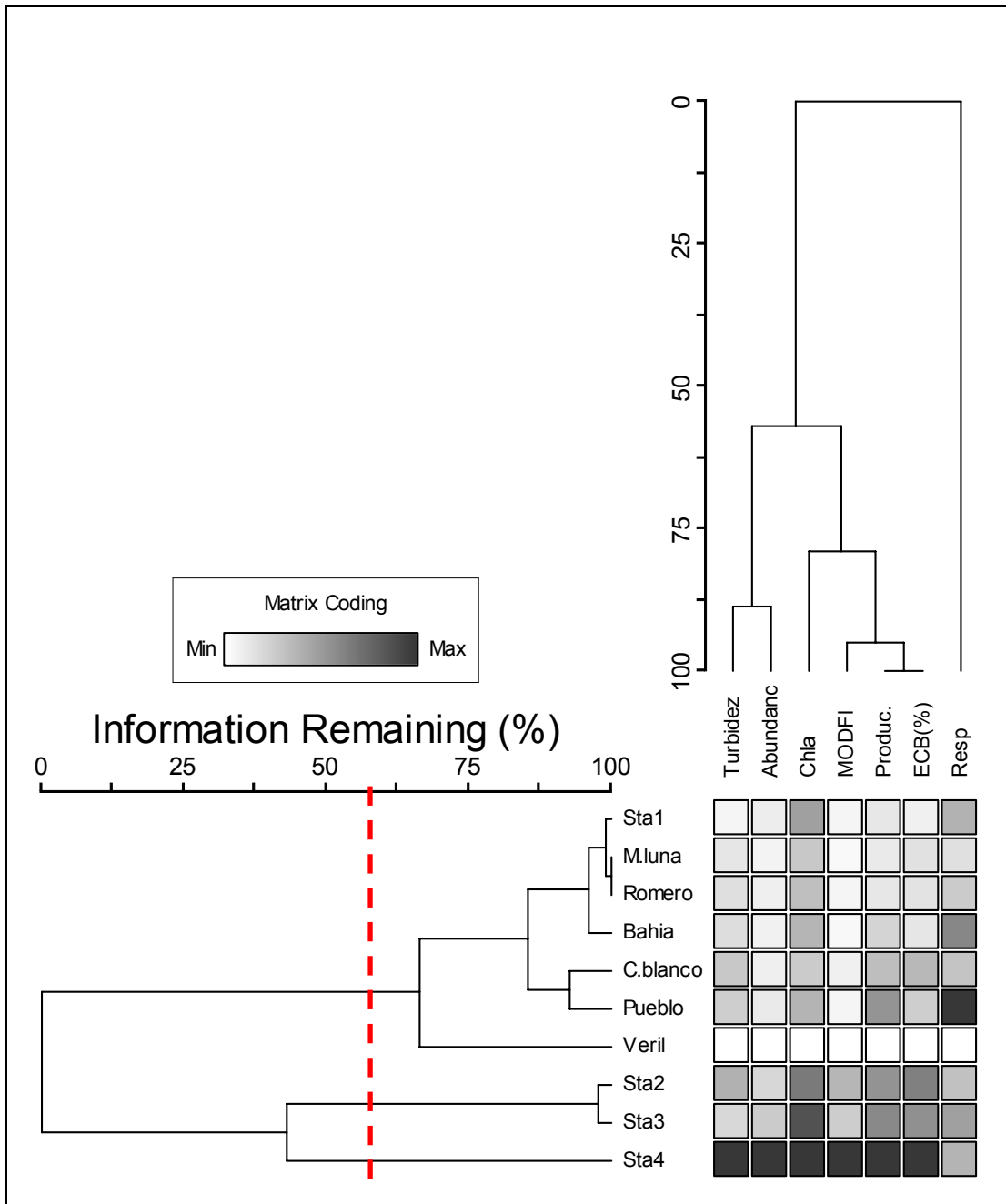


Figura 28. Dendrograma de las asociaciones entre las estaciones de Guánica y La Parguera durante los muestreos de octubre y noviembre. La intensidad de los cuadros indica los valores relativos de las variables en cada una de las estaciones, siendo los más oscuros los valores más altos y disminuyendo de acuerdo al grado de intensidad del color.

4. DISCUSIÓN

4.1 Medidas de Oxígeno usando el FOXY

Durante las pruebas para la medición de oxígeno se estableció que para obtener una mayor exactitud se requiere el uso de una Correlación polinomial, que utiliza tres estándares de O₂. La precisión del FOXY fue de ± 0.058 ppm permitiendo establecer las calibraciones del instrumento en intervalos de cada 5 muestras analizadas. La exactitud del instrumento se obtuvo mediante comparaciones de muestras con el método de Winkler estableciéndose una desviación en relación con Winkler $< 1\%$, lo que garantiza un alto porcentaje de confiabilidad de los resultados obtenidos.

Durante las pruebas de respiración se estableció que la concentración de formalina adecuada para la fijación de las muestras es de 2% de concentración final (Figura 7). Las pruebas preliminares demostraron un decaimiento de la respiración en aproximadamente 3 horas (Figura 8) por lo que se decidió basar los estimados de respiración en medidas de dicho largo de tiempo. Solamente en pruebas utilizando un medio enriquecido con TSB (Trypticase Soy Broth), se observó un nivel de respiración alto por hasta 6 horas del inicio de la incubación.

El método utilizado en este estudio para la determinación de oxígeno fue de gran utilidad ya que permitió analizar muestras en un menor tiempo con respecto a otros métodos facilitando la medición de mayor número de réplicas e

incrementando de esta forma la precisión y exactitud del instrumento en comparación con otras técnicas utilizadas en la determinación de oxígeno. El límite de detección del instrumento se determinó a partir de la siguiente ecuación: $X - X_B = 3DS$.

Donde X = valor de las réplicas

X_B = Valor del blanco (0.00 ppm)

DS = Desviación estándar de las lecturas del blanco.

Se utilizaron réplicas de lecturas realizadas a una concentración de 0.00 ppm de O_2 utilizando para este propósito nitrógeno gaseoso. El límite de detección obtenido fue de 0.12 ppm, lo cual permite su utilización en gran diversidad de ambientes incluyendo entre ellos aquellos que presentan niveles bajos de oxígeno.

Esta técnica resultó ventajosa, ya que al contrario de otras no consume oxígeno, es inmune a compuestos químicos y cambios ambientales, salinidad, turbidez, humedad y no utiliza reactivos potencialmente peligrosos (Wang et al. 1999). Las características del sensor permiten su calibración y utilización tanto en medios líquidos como gaseosos en un rango amplio de temperatura ($-60^\circ C$ a $+120^\circ C$) presentando en los dos medios un rápido tiempo de respuesta. Una desventaja del instrumento es que para lograr una mayor exactitud es necesario realizar calibraciones periódicamente, lo cual interrumpe la continuidad en el análisis de las muestras. Otra desventaja es la alta sensibilidad del sensor a la

luz ambiental por lo que hay que insertar la punta del sensor dentro de una estructura cerrada que lo mantenga bajo condiciones de completa oscuridad con el fin de evitar alteraciones en los resultados obtenidos.

4.2 Parámetros ambientales

4.2.1 Temperatura y Salinidad

Las aguas superficiales del Mar Caribe se caracterizan por presentar una temperatura relativamente alta durante todo el año. El intervalo normal de temperaturas superficiales fluctúa entre 25 y 29°C (Corredor, 1984). En el periodo comprendido entre junio de 2002 y diciembre de 2003 en el área de La Parguera la temperatura varió entre 26 y 30°C de acuerdo a lo reportado por García (2004). En general durante este estudio la temperatura presentó los valores mínimos durante los muestreos en la época seca, especialmente en aquellas estaciones que se encontraban alejadas de la zona costera. Para la época de lluvia la temperatura del agua aumentó observándose en la estación 4 del área de Guánica un comportamiento contrario al de las demás estaciones, con una disminución de la temperatura para la época lluvia, esto pudiera deberse a la entrada de agua de menor temperatura proveniente del río Loco, que para este periodo presenta un mayor cauce y aporte de aguas a la Bahía de Guánica.

Los cambios en temperatura son causados por diferentes factores dentro de los cuales encontramos la cantidad de radiación solar absorbida y reflejada,

por conducción, evaporación y por variaciones diurnas que dependen de las condiciones meteorológicas locales siendo mayores cuando el día presenta un cielo despejado y sin vientos, disminuyendo cuando éste sopla y existe nubosidad (ILCE, 2008; UCAR, 2001).

En promedio, la salinidad en las aguas superficiales del Caribe es de 35 a 36 SP (Wikipedia, 2008). Corredor y Morell (2001) en un estudio realizado en el periodo comprendido entre junio de 1994 y diciembre de 1999 en las aguas superficiales de la estación CaTS al sur de la isla de Puerto Rico, determinaron que la salinidad osciló entre 33.7 y 36.4 SP, presentando el valor mínimo en octubre de 1996 durante la época lluviosa y el máximo en marzo de 1998 durante la época seca. Para el presente estudio la salinidad también registró los valores más altos en la época seca y disminuyó para la época de lluvia. Entre las estaciones y las áreas de estudio no se observaron diferencias significativas en los valores de salinidad. Sin embargo se pudieron determinar diferencias notables entre las épocas de muestreo y también en la interacción de la época con las estaciones estableciendo la presencia de efectos significativos en algunas estaciones dentro del patrón más amplio de las épocas. Estos efectos fueron el resultado de la precipitación durante la época de lluvia que resulta en una mayor entrada de agua proveniente del deslave insular y de la desembocadura de ríos. Este cambio se observó con mayor significancia en la estación 4 dada su proximidad con la desembocadura del río Loco.

4.2.2 Turbidez

Las épocas de muestreo y la ubicación de las estaciones dentro de cada área de este estudio tuvieron un efecto significativo en los valores de turbidez. Los valores más altos fueron en las estaciones cercanas a la costa, siendo Guánica la zona de mayor turbidez, especialmente durante la época de lluvias (Figura 13a). Los factores determinantes en el incremento de los valores de turbidez fueron la precipitación pluvial, la cual presentó su valor mayor a finales de octubre (3.83 cm) (Figura 2), días antes a la toma de las muestras en la época lluviosa, el material terrestre proveniente de deslave de ríos y la proximidad de las estaciones a la zona costera.

4.2.3 Clorofila a

La concentración de Chla en la Bahía de Mayagüez fluctúa de 0.05 a 2.3 $\mu\text{g/l}$ de acuerdo a Gilbes et al. (1996), y de 0.56 a 2.56 $\mu\text{g/l}$ según Otero (2001). En la Parguera el rango de Chla ha sido reportado entre 0.5 y 3.12 $\mu\text{g/l}$ (Otero, 2001), entre 0.17 y 1.12 (Otero y Carbery, 2005) y entre 0.13 y 1.34 (García, 2004). En el presente estudio los valores de Chla para La Parguera (Figura 16a) se encontraron dentro de los rangos citados anteriormente. En la Bahía de Guánica los valores de Chla (Figura 16b) fueron semejantes a los reportados por Kirchman (2000) para aguas estuarinas, alrededor de 10 $\mu\text{g/l}$.

Se observaron diferencias significativas temporales y espaciales en la concentración de Chla encontrándose que las estaciones costeras tuvieron los

valores más altos de Chla y en la época de lluvia se registraron las mayores concentraciones de Chla durante este estudio (Figura 16). El incremento de la concentración de Chla para La Bahía de Guánica fue de 116% mientras que en La Parguera el aumento fue 7 veces en comparación con la época seca. En Guánica se observó un gradiente de concentraciones mayores en dirección al Río Loco, indicando que la entrada de nutrientes provenientes del río, principalmente durante la época de lluvia, estimuló la producción fitoplanctónica e incrementó la concentración de Chla de acuerdo a lo concluido por Gilbes et al. 1996 en Mayagüez. En La Parguera el gradiente tierra – océano solo se presentó durante la época seca, en la época de lluvia la distribución de Chla fue casi homogénea entre las estaciones, lo que sugiere que el fitoplancton en esta región durante la época de lluvia obtuvo los nutrientes de fuentes locales y aloctonas de origen terrestre, proveniente posiblemente de la Bahía de Guánica y transportada a la Parguera por vientos del este (Otero, 2001).

La máxima concentración de Chla se presentó en la estación 4 de Guánica y coincidió con el valor máximo de MODFI en la misma estación, los valores mínimos de Chla también coincidieron con los valores mínimos de MODFI. La rápida dilución de aguas cercanas a la costa con aguas de otras fuentes explica esta observación. Aún cuando el fitoplancton es potencialmente la mayor fuente de MOD (Lee y Bong, 2008) en algunas regiones, su fluorescencia no necesariamente es un aporte significativo al subcomponente de la MODFI. Finalmente los datos del presente estudio no permiten calcular los

patrones de dilución debido al número limitado de medidas de salinidad llevadas a cabo.

4.2.4 Materia orgánica disuelta fluorescente

La concentración de MODFI de acuerdo a lo reportado por Otero (2001) para la Bahía de Mayagüez fluctúa entre 0.35 y 3.5 ng SQ/ml y entre 0.32 y 13.0 ng SQ/ml para La Parguera. Boehme et al. (2004) realizaron un estudio a lo largo del Golfo de México, encontrando cerca de la desembocadura del río Mississippi valores entre 0.5 y 13 ng SQ/ml, al sur del Golfo valores entre 0.5 y 16 ng SQ/ml, y en la costa este de Florida entre 0.3 y 3.5 ng SQ/ml. Al este del océano Atlántico, a lo largo de la costa oeste de África y la península Ibérica la MODFI fluctúa entre 2.8 y 28 ng SQ/ml (Determann et al. 1996). Durante el presente estudio los valores de MODFI para La Parguera fueron más bajos que los reportados por Otero (2001), mostrando una mayor homogeneidad en los datos (Figura 16a).

Durante la época seca las concentraciones fueron similares en las dos áreas de muestreo (Figura 16), lo que indica que la entrada de MODFI durante este periodo de tiempo fue mínima y la fluctuación entre los valores fue menor. La presencia de manglares en las áreas de estudio sugiere que algunos compuestos de MODFI derivados del manglar fueron transportados por las mareas desde la costa. Moran et al. (1991) han reportado tal transporte hasta 1 Km mar adentro en ecosistemas de manglar de la isla Berry en Bahamas.

En la época de lluvia la Bahía de Guánica reportó un aumento del 232% en la concentración de MODFI (Figura 19a) y la dilución fuera de la Bahía fue alta, representado en los valores bajos registrados en la estación 1. Esto sugiere que una fuente principal de MODFI para el área de Guánica en esta época fue el río Loco, ya que los valores más altos se reportaron en la estación 4 (ubicada en cercanías a la desembocadura del río). La distribución de este material mar adentro se caracteriza por una disminución drástica desde la estación interior hasta las demás estaciones. Este cambio súbito probablemente se deba a la combinación de un transporte lento del MODFI y a la poca profundidad encontrada en la ensenada cercana a la desembocadura (aproximadamente 1m). En contraste con Guánica, la MODFI en La Parguera no reveló cambios amplios y se observó principalmente una disminución moderada del 10% principalmente mar adentro. Se conocen varias fuentes de MODFI. Entre ellas se encuentran los suelos, ríos, manglares y también la escorrentía como una fuente significativa de MODFI. La disminución en la cantidad de MODFI puede ser producto de la fotodegradación y la degradación bacteriana (Rochelle-Newall y Fisher, 2002).

4.3 Variables Microbianas

La abundancia bacteriana en La Parguera fluctuó entre 0.4 y 1.2×10^6 Cel/ml y en La Bahía de Mayagüez entre 0.4 y 1.2×10^6 Cel/ml de acuerdo a lo reportado por Otero (2001). En el Golfo de México durante el invierno en cercanías a la desembocadura del río Mississippi fluctuó entre 0.2 y 3.34×10^6

Cel/ml (Chin-Leo y Benner, 1992) y durante todo el año el rango fue de 0.6 a 2.5×10^6 Cel/ml (Biddanda et al. 1994). En aguas costeras y estuarinas al suroeste de la costa de la India, Pradeep et al. (2003) reportaron valores entre 0.4 y 4.8×10^6 Cel/ml. Kirchman (2000) recopila varios estudios realizados en diferentes ambientes de aguas tropicales y reporta que en general las abundancias promedio son: mar adentro de 0.5×10^6 Cel/ml, en áreas costeras de 1×10^6 Cel/ml, y en estuarios de 5×10^6 Cel/ml. En este estudio, la abundancia bacteriana en La Bahía de Guánica (Figura 16a) se encontró dentro de los rangos reportados para aguas estuarinas. Los valores de La Parguera fueron similares a los valores reportados para aguas costeras. Se encontró una variación espacial y temporal significativa para esta variable (Apéndice A4), lo que indica que tanto la época de muestreo como la posición de las estaciones fueron factores que incidieron significativamente en los valores de abundancia bacteriana.

Se presentó un incremento de la AB en la época de lluvia 3.6 veces en La Bahía de Guánica y 2.1 veces en La Parguera en comparación con la época seca observándose un gradiente general de disminución hacia las estaciones más alejadas de la costa. Este comportamiento fue similar a los obtenidos por Otero (2001) en el área de La Parguera, Lee y Bong (2008) en la península de Malasia, y Smith (1998) en la Bahía de Chesapeake. Este gradiente es de esperarse debido a que la AB está influenciada directamente por el acceso a fuentes de nutrientes de los cuales MODFI y el fitoplancton (representado por la

concentración de Chla) son indicadores. Aparentemente en una porción significativa del área de estudio el aporte de MODFI no es representativa (Figura 19) y la fuente principal de sustrato sería la proveniente del fitoplancton. Lee y Bong (2008) sugieren que aunque el fitoplancton es potencialmente la mayor fuente de MOD en algunas regiones, su fluorescencia no necesariamente es un aporte significativo al subcomponente de la MODFI. Esto se pudo observar especialmente en La Parguera durante la época seca donde la concentración de Chla aumentó pero la MODFI disminuyó.

Los valores máximos de abundancia se encontraron en La Bahía de Guánica (Figura 16b), lo cual sugiere que el aumento de la abundancia está posiblemente relacionado con el aumento y disponibilidad de MOD como consecuencia de las descargas del río Loco durante la época de lluvias, la planta de tratamiento y aguas negras provenientes del pueblo de Guánica. De igual manera, la abundancia bacteriana aumentó durante la época de lluvia en el área de La Parguera. Dicho aumento sugiere la presencia de un mayor acceso a nutrientes alóctonos provenientes de manglares y el deslave insular. Existen factores que determinan los cambios en la abundancia bacteriana, entre estos se encuentran la mezcla de aguas de diferentes lugares y las diluciones de esta agua, una mayor dilución implica una mayor dispersión de las bacterias lo cual se vería reflejado en una disminución de la AB. Debe haber un balance entre el crecimiento y los mecanismos de disminución de células (dilución, depredación, mortalidad), este balance define la AB en los diferentes ambientes.

Se observó una covariación entre la AB y la Chla (Figura 17). El fitoplancton (representado por la concentración de Chla) es una fuente de nutrientes para las bacterias y, al igual que la AB, los valores más altos se hallaron cerca de la costa (mencionado anteriormente), lo que sugiere que se presentó una mayor actividad biológica en lugares donde el acceso a nutrientes es mayor. Esta misma relación fue encontrada por Biddanda et al. (1994) en el Golfo de México, Bird y Kalff (1984) en ambientes costeros estuarinos, Kriztberg et al. (2005) en el lago Wisconsin, y Casotti et al. (2000) en aguas costeras del mar mediterráneo en el Golfo de Nápoles, Italia. Lee y Bong (2008) observaron que la disminución en la relación entre la AB y la Chla podría ocurrir cuando las bacterias utilizan otras fuentes de materia orgánica como la aloctona proveniente de entrada de ríos. Otros factores que alteran esta relación es la presencia de bacteriófagos en el medio (Muller, 2003), la mortalidad, y la dilución y mezcla de aguas (mencionados anteriormente).

Se pudo observar un incremento en la abundancia y la producción bacteriana en aquellas estaciones con valores máximos de turbidez, presentándose una relación directa entre estos factores (Figuras 14 y 15). Estas covariaciones pueden ser el resultado del aumento y composición del material orgánico suspendido que favorecen la actividad bacteriana. Estas asociaciones coinciden con las observadas por Crump y Baross (1996) en un estudio realizado en aguas estuarinas en donde evaluaron la actividad microbiana en relación con la turbidez, determinando que existen al menos dos factores que

controlan la producción bacteriana. El primero es la asociación entre las bacterias y la producción bacteriana con la distribución espacial de partículas >20µm, probablemente debido a la variabilidad en el contenido orgánico y composición de las partículas. El otro factor está relacionado con el ciclo de mareas donde el cambio en la velocidad del agua sobre los sedimentos aumenta la variabilidad en el tamaño y cantidad de partículas resuspendidas en el agua.

La producción bacteriana en La Parguera fluctuó entre 0.3 y 99 µg C//d y en La Bahía de Mayagüez entre 0.06 y 39 µg C//d de acuerdo a lo reportado por Otero (2001). Al norte del Golfo de México fluctuó entre 2.4 y 74.4 µg C//d (Biddanda et al. 1994). En la pluma del río Rhône, Francia, Kirchman et al. (1989) reportaron valores entre 0.24 y 72 µg C//d. Durante el presente estudio la producción bacteriana en la Bahía de Guánica y La Parguera (Figura 24) se encontró por debajo de los rangos reportados anteriormente. Se observó un efecto significativo de las estaciones en los valores de PB (Apéndice A5) indicando que la ubicación de las estaciones con respecto a la proximidad a la costa fue un factor determinante en la variabilidad de la PB.

Aunque se presentaron disminuciones de la producción bacteriana durante la época de lluvia en las áreas de estudio, éstas fueron mayormente moderadas e inclusive se registraron algunos aumentos. En la Bahía de Guánica la disminución fue del 1% y en La Parguera fue del 43%. Otero (2001) encontró disminuciones marcadas en la Bahía de Mayagüez mientras en el área de La

Parguera la época lluviosa no evidenció aumento. La disminución en la PB pudo ser el resultado de varios factores entre los cuales se encuentran la disminución en la calidad del sustrato, el volumen de entrada de agua y la dilución producto de la precipitación. De acuerdo a Artigas et al. (2008), la mayor producción bacteriana durante la época seca podría estar relacionada a la disponibilidad de nutrientes de mayor calidad en comparación con la época de lluvia.

Los valores máximos de producción bacteriana se registraron en la Bahía de Guánica, lo cual sugiere que las diferencias son el resultado de la entrada y utilización de material de origen terrestre a las áreas costeras provenientes, principalmente del río Loco. En La Parguera el principal aporte de material proviene del manglar, que proporciona mayor energía para la producción bacteriana. Otras fuentes de sustrato son las provenientes de los arrecifes de coral, el deslave terrestre y de origen antropogénico (Bano et al. 1997).

Se presentaron covariaciones de la PB con la AB, Chla y MODFI. La AB y la PB presentaron una relación logarítmico lineal, siendo esta mas estrecha durante la época de lluvia al igual que un incremento mayor en la tasa de PB (Figura 22). Esta relación fue reportada también por Otero (2001) en el sector de La Parguera durante los periodos seco y lluvioso. Los cambios en la relación entre la AB y la PB pueden estar relacionados con la presencia de bacteriófagos en el medio (Muller, 2003). La covariación entre la PB y la Chla reveló que las fluctuaciones en la PB dependen en parte de la concentración de Chla, que es

un indicador de biomasa fitoplanctónica, ya que esta biomasa es una fuente importante de sustrato para las bacterias. Chin-Leo y Benner (1992) en el Golfo de México determinaron que el incremento en la tasa de PB fue el resultado de la utilización de la materia orgánica producida por el fitoplancton in situ, encontrando que el crecimiento fitoplanctónico contribuye significativamente en la PB. Se observó una covariación entre la MODFI y la producción bacteriana para el área de La Parguera durante el muestreo realizado en la época de lluvia (noviembre). Esto sugiere que la variación de la MODFI puede usarse como un marcador de nutrientes y sustratos que fomentan aumentos en la producción bacteriana. Aunque la MODFI pudiera ser producto de la degradación fitoplanctónica, sea esta por vía microbiana, zooplanctónica o viral, investigaciones previas indican un componente mayormente terrestre a su origen y al potencial efecto nutricional. Esta variación fue similar a la encontrada por Nelson et al. (1998). En una ciénaga de la Isla Berry, en Las Bahamas, Moran et al. (1991) determinaron que alguna fracción de la MODFI derivada del manglar es aprovechada por las bacterias favoreciendo su producción. Benner et al. (1988), en un estuario tropical en Bahamas, estableció que el manglar es una fuente importante de materia orgánica en ambientes costeros marinos y que existe una transferencia rápida de carbono y nutrientes proveniente del manglar a las poblaciones microbianas, lo cual incrementa la producción bacteriana.

La respiración bacteriana en el Golfo de México fluctuó entre 23 y 1075 $\mu\text{g O}_2/\text{l}/\text{d}$ de acuerdo a lo reportado por Pomeroy et al. (1995), y entre 104 y 932

$\mu\text{g O}_2/\text{l}/\text{d}$ según Biddanda et al. (1994). En aguas estuarinas de la Bahía de Chesapeake fluctuó entre 230 y 1,660 $\mu\text{g O}_2/\text{l}/\text{d}$ (Smith y Kemp, 2003). El lago Lawrence, al suroeste de Michigan, registró valores entre 167 y 468 $\mu\text{g O}_2/\text{l}/\text{d}$ (Coveney y Wetzel, 1995). En el presente estudio la RB en La Bahía de Guánica y La Parguera (Figura 23) fue similar a lo reportado para el Golfo de México, excepto la estación 4 en Guánica y la estación 6 (Pueblo) en la Parguera que mostraron valores más altos. Esto está posiblemente determinado por la concentración de nutrientes, cantidad y composición del sustrato disponible para el desarrollo bacteriano.

La Bahía de Guánica durante la época seca mostró una respiración similar en las distintas estaciones excepto en la estación 4, donde fue mayor (Figura 23a) debido posiblemente a que la entrada de nutrientes durante esta época provenientes del río Loco es menor y restringida a las cercanías de dicha estación y a que durante momentos de menores entradas de nutrientes las poblaciones bacterianas aumentan su respiración mientras mantienen una tasa de PB similar a la encontrada en la época de lluvia (Figura 24a). También se encontró homogeneidad a lo largo de las estaciones de La Parguera en la época seca a excepción de la estación 6 (Pueblo), donde se observó una mayor RB y una alta tasa de PB. Carlson y Ducklow (1996) determinaron que el aumento de la respiración en algunos casos se debe a la composición de la materia orgánica: las bacterias aumentan su respiración para poder adquirir la cantidad adecuada de N y P de los compuestos respirados.

En la época lluviosa, la Bahía de Guánica mostró un incremento en la RB, excepto en la estación 4 donde se observó que, aunque la RB disminuyó, la tasa de PB se mantuvo alta indicando que durante la época de lluvia el aporte de sustrato proveniente del río Loco introdujo mayores niveles de nutrientes los cuales permitieron que las bacterias aumentaran su producción manteniendo un nivel de respiración. En La Parguera la RB aumentó pero la PB decreció principalmente en las estaciones costeras. Esto sugiere que la fuente principal de nutrientes que favorece la PB en esta área es la proveniente del manglar y que el material producto de la precipitación y terrestre no estimuló el desarrollo bacteriano. De acuerdo a lo reportado por Otero (2001), la entrada de material terrestre de ríos y aguas negras modifica el ambiente marino de tal manera que cambia significativamente los flujos de materia orgánica a través de la biomasa microbiana. Este efecto se traduce en cambios metabólicos que producen diferencias en la RB.

Los resultados de las pruebas de ANOVA mostraron que no existen diferencias significativas entre los promedios en cada época para La Bahía de Guánica y La Parguera. Los valores de RB presentaron interacción significativa entre las estaciones y las épocas de muestreo indicando que la ubicación de las estaciones (proximidad a la costa) es un factor determinante en las fluctuaciones de la RB. La variación espacial en la RB podría ser el resultado de la limitación de nutrientes a lo largo del gradiente tierra-océano y a la composición y cantidad de materia orgánica disponible durante las dos épocas (Smith y Kemp, 2003).

La eficiencia de crecimiento bacteriano en el Golfo de México fluctuó entre 2 y 23% de acuerdo a lo reportado por Pomeroy et al. (1995), y entre 18 y 40% según Chin-Leo y Benner (1992). En aguas estuarinas de la Bahía de Chesapeake fluctuó entre 20 y 41% (Smith y Kemp, 2003). El río Amazonas registró valores entre 3 y 46% (Benner et al. 1995). Durante el presente estudio la ECB en La Bahía de Guánica y La Parguera (Figuras 25a y 25b) se encontró por debajo de los rangos reportados anteriormente.

La ECB se calculó a partir de las tasas de RB y PB. Se observó una covariación entre la PB y la ECB (Figura 26), y considerando que la PB en la mayoría de las estaciones fue constante (Figura 24), permitió suponer que los cambios observados en la ECB son principalmente producto de la variabilidad en la tasa de RB (Carlson & Ducklow, 1996). La comunidad bacteriana en la mayoría de las estaciones de la Bahía de Guánica y La Parguera creció mas eficientemente durante la época seca (Figura 25), lo cual sugiere pensar que la calidad del material orgánico es superior en la época seca. Esto se ve reflejado en una disminución de la tasa de respiración que conlleva a una eficiencia de crecimiento mayor. En la estación 4 de Guánica se observó claramente que la fuente principal de materia orgánica de mayor calidad fue la proveniente del río Loco. La entrada de dicho material orgánico durante la época seca fue menor a la de la época lluviosa (Figura 19a), ocasionando una tasa alta de respiración y por lo tanto una baja ECB.

Se observaron diferencias significativas de la ECB entre las áreas de estudio, las estaciones e interacción entre las épocas y las estaciones. Los porcentajes más altos de ECB se presentaron en la Bahía de Guánica y en las estaciones cercanas a la costa. De acuerdo a lo propuesto por Pomeroy et al. (1995), la ECB decrece con el incremento en el gradiente tierra-océano y con el decrecimiento en la concentración de nutrientes determinando que la disponibilidad de nutrientes tiende a controlar la ECB en ecosistemas costeros.

Las fluctuaciones de ECB dependen de la calidad y cantidad de materia orgánica disponible en el sistema (Middelboe et al. 1992; Smith y Kemp, 2003), lo que sugiere que las bacterias reaccionan rápidamente a cambios en la entrada de materia orgánica (del Giorgio et al. 2006), lo que puede modificar la asimilación del material orgánico teniendo en cuenta las limitaciones de nutrientes tales como N y P. Esto se ve reflejado en el aumento de la respiración con el propósito de capturar la mayor cantidad de nitrógeno y fósforo del material respirado tratando de evitar una disminución drástica en la tasa de PB (Carlson y Ducklow, 1996). El resultado del aumento en la respiración es la disminución en la eficiencia de crecimiento bacteriano (Biddanda et al. 1994; Pradeep et al. 2003; Smith y Kemp, 2003).

4.4 Clasificación de las estaciones

El análisis de similaridad para la época seca (Figura 27) mostró la formación de tres grupos que en su mayoría se asociaron de acuerdo a las áreas de estudio, excepto la estación 1 de Guánica la cual se asocio con el primer grupo formado por las estaciones mas alejadas de la costa del área de La Parguera (estaciones 1, 2 y 3) (Veril, M. Luna y Romero respectivamente). Esto podría estar relacionado con el material proveniente del Este, el cual es transportado por el viento, y provoca una similitud entre estas estaciones. En general se observó un gradiente de distribución espacial en relación con la distancia a la costa, reportándose los valores más altos para cada una de las variables evaluadas en las estaciones más cercanas al margen costero (estación 4 en Guánica y la estación Pueblo en La Parguera). Esto pudo deberse a que estas estaciones están más próximas a las fuentes principales de MOD, que en el caso de Guánica es el río Loco y para la Parguera es de origen no puntual ya sea del manglar, de origen antrópico ó su combinación.

En la época de lluvia (Figura 28) el dendrograma indicó la formación de dos grupos observándose un patrón de asociación definido en relación con las áreas de estudio. El primero está compuesto por las estaciones de La Parguera y la estación 1 de la Bahía de Guánica, indicando posiblemente que esta estación 1 esta principalmente influenciada por material proveniente de otras áreas diferentes a la Bahía de Guánica. El segundo grupo está compuesto por

las estaciones 2 y 3 de Guánica, las cuales probablemente están impactadas principalmente por las descargas del río Loco durante esta época. La estación 4 no se encuentra asociada con los dos grupos anteriores y pudo deberse a su proximidad con la desembocadura del río Loco que en esta época aumenta su descarga de materiales, lo cual ocasionó grandes cambios en cada una de las variables estudiadas para esta estación, reportando los más altos valores en gran parte de las variables.

5. CONCLUSIONES

La clorofila *a* presentó un gradiente leve hacia la costa con un aumento brusco en la estación cercana al poblado durante la época seca en La Parguera. A su vez, las concentraciones de clorofila en La Bahía de Guánica fueron mucho mayores durante la época seca excepto la estación externa a la bahía la cual fue muy similar a las estaciones de La Parguera. Ambas zonas registraron un aumento altamente significativo en la clorofila con las épocas, siendo estos cambios mayores en Guánica. Esto indica que el efecto de lluvias es bastante visible con respecto al enriquecimiento de las aguas y su influencia en la zona de la Parguera, además de indicar que la Bahía de Guánica es un sistema donde se aceleran procesos microbianos como consecuencia de sus características fisiográficas.

En general, la abundancia bacteriana en La Parguera fue significativamente menor que en Guánica, especialmente durante la época de lluvia. Durante la época seca ambas zonas reflejan los valores mínimos. Los datos de La Parguera evidencian una mayor uniformidad espacial durante la época de lluvia, lo que indica una fuente o un crecimiento bacteriano mayor que en la época seca.

Contrario a lo esperado, no se encontraron diferencias significativas de respiración entre las zonas ni entre las épocas. Las diferencias marcadas en

respiración se asocian a la estación cercana al Río Loco en Guánica y a la estación más cercana al poblado de la Parguera cuyas respiraciones fueron máximas. Interesantemente, la estación cercana al Río Loco experimentó una disminución no esperada durante la época lluviosa. Es posible que esto se deba a las características de poca profundidad de la misma lo que maximiza el efecto enriquecedor del río. Sin tomar en consideración los resultados de respiración para la estación cercana al río Loco en Guánica, se puede observar un aumento significativo en la respiración durante la época de lluvia, inclusive en la estación externa a la bahía de Guánica.

Espacialmente, la producción bacteriana alcanza sus valores menores en el área de La Parguera con excepción de la estación más cercana al poblado. La estación más lejana a la costa en la zona de Guánica sostuvo una producción similar a la de estaciones arrecifales en La Parguera (estación 3: Romero). Las demás estaciones de Guánica exhibieron producciones consistentemente mayores en las dos épocas estudiadas. Estos resultados indican enriquecimiento de sustratos en las cercanías de las costas y de menor grado en los sistemas arrecifales frontales de la Parguera. Este enriquecimiento promueve un mayor aumento en la biomasa bacteriana. De igual manera, el estuario de la Bahía de Guánica muestra un mayor nivel de enriquecimiento persistente durante ambos periodos estudiados. Esto se debe a una limitación en el flujo o mezcla de las aguas lo cual permite un mayor periodo de contacto de la

microbiota con sus sustratos y por lo tanto un aumento significativo en las tasas de crecimiento.

Se encontró una mayor eficiencia de crecimiento en la Bahía de Guánica (hasta 14%) alcanzando valores mínimos en la estación externa a la bahía. En contraste, los valores máximos de eficiencia en La Parguera alcanzaron un 2 - 5% en las estaciones mas cercanas a la costa, y <1% en las estaciones mas alejadas a la costa. Se pudiera concluir que el acceso a los nutrientes promueve un cambio significativo de la eficiencia de crecimiento bacteriano. Dichas diferencias están marcadas por un componente de época dominado por cambios en la respiración en conjunto por un componente espacial mayormente influenciado por los niveles de producción. Considerando lo anterior y que en la mayor parte de las estaciones la eficiencia es mayor durante la época seca, es necesario concluir que el acceso a nutrientes es mayor durante la época seca, o sea, la calidad de los mismos es mayor.

La MODFI durante la época seca fue extremadamente uniforme en todas las estaciones de las dos regiones. Incluso no se registró un cambio significativo de este componente en diferentes épocas en La Parguera por lo que la variación principal en esta zona se debe a factores espaciales. Por el contrario, en la Bahía de Guánica, siendo un sistema de menor circulación y con mayores fuentes potenciales, registró aumentos significativos al aumentar la pluviosidad. Solamente se observó una covariación entre MODFI y la producción bacteriana

para la Parguera en la época de lluvia. Esta relación no se observó en la bahía de Guánica ni en momentos de aumentos extremos de MODFI lo cual pudiera deberse a la presencia de factores limitantes.

El análisis de similaridad para la época seca y de lluvia mostró la formación de grupos que en su mayoría se asociaron de acuerdo a las áreas de estudio. En general se observó un gradiente de distribución espacial en relación con la distancia de la costa. Esto pudo deberse a que estas estaciones están más próximas a las principales fuentes de MOD, que en caso de Guánica es el Río Loco y para La Parguera es de origen no puntual ya sea del manglar, de origen antrópico ó su combinación. En la época lluvia se observó que la estación 4 de Guánica se encontró fuera de los 2 grupos formados y posiblemente es debido a la proximidad de esta estación con la desembocadura del río Loco que durante esta época aumenta significativamente la entrada sustrato, el cual produjo grandes cambios, reportando en la estación 4 los valores mas altos en la mayoría de las variables evaluadas.

El instrumento FOXY, es de gran utilidad ya permite analizar muestras en un menor tiempo con respecto a otros métodos, facilitando la medición de mayor número de réplicas. Sin embargo para lograr una mayor exactitud es necesario realizar calibraciones en cortos periodos de tiempo lo cual interrumpe la continuidad en el análisis de las muestras.

6. RECOMENDACIONES

Para futuros estudios se considera de importancia el estudiar la composición química del sustrato disponible para las bacterias con el fin de establecer cuáles son los nutrientes limitantes en el desarrollo bacteriano para el área de estudio.

Llevar a cabo muestreos mensuales para determinar si los cambios en los parámetros ambientales y la actividad biológica son producto de los factores climáticos y espaciales o fueron el resultado de las condiciones específicas en el momento de muestreo.

Evaluar la covariación existente entre la MODFI y la producción bacteriana, debido a que se observó que no necesariamente fue proporcional, lo cual indica que puede haber un factor limitante en el crecimiento bacteriano.

Llevar a cabo manipulaciones en las concentraciones de los nutrientes, así como del número de células bacterianas, con el fin de establecer si la comunidad bacteriana presenta un crecimiento activo o si el aumento de la abundancia en el área de estudio es causado por el transporte de células de otras regiones.

7. BIBLIOGRAFIA

- Amador, J.A., Milne, P.J., Moore, C.A., y Ziga, R.G. 1990. Extraction of Chromophoric Humic Substances from Seawater. *Marine Chemistry* 29, 1-17.
- Artigas, L.F., Otero, E., Paranhos, R., Gómez, M.L., Piccini, C., Costagliola, M., Silva, R., Suárez, P., Gallardo, V.A., Hernández-Becerril, D.U., Chistoserdov, A., Vieira, R., Perez-Cenci, M., Ternon, J.F., Beker, B., Thyssen, M., Dionisi, H., do Rosario Marinho-Jaussaud, I., Gonzalez, A., Hurtado, C., Parra, J.P., Alonso, C., Hozbor, C., Peressutti, S., Negri, R., Espinoza, C., Cardoso, A., Martins, O., Covacevich, F., Berón, C., y Salerno, G.L. 2008. Towards a Latin American and Caribbean international census of marine microbes (LACar – IcoMM): overview and discussion on some current research directions. *Revista de Biología Tropical* 56, 183-214.
- Azam, F., Smith, D.C., y Carlucci, A.F. 1992. Bacterial transformation and transport of organic matter in the Southern California Bight. *Prog. Oceanog* 30, 151-166.
- Bano, N., Nisa, M.U., Khan, N., Saleem, M., Harrison, P.J., Ahmed, S.I., y Azam, F. 1997. Significance of bacteria in the flux of organic matter in the tidal creeks of the mangrove ecosystem of the Indus River delta, Pakistan. *Marine Ecology Progress Series* 157, 1-12.
- Barth, J.A., Tait, A., y Bolshaw, M. 2004. Automated analices of ^{18}O / ^{16}O ratios in dissolved oxygen from 12-mL water samples. *Limnology and Oceanography: Methods* 2, 35-41.
- Benner, R., K'Neas, E., y Hodson, R.E. 1988. Carbon conversion efficiency for bacterial growth on lingo-cellulose: Implication for detritus-based food webs. *Limnology and Oceanography* 33, 1514-1526.
- Biddanda, B., Opsahl, S., y Benner, R. 1994. Plankton respiration and carbon flux through bacterioplankton on the Louisiana shelf. *Limnology and Oceanography* 39(6), 1259-1275.
- Billen, G., Joiris, C., Meyer-Reil, L., y Lindeboom, H. 1990. Role of bacteria in the North Sea ecosystem. *Netherlands Journal of Sea Research* 26, 265-293.
- Bird, D.F., and Kalff, J. 1984. Empirical relationships between bacterial abundance and chlorophyll concentrations in fresh and marine waters. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 41, 1015-1023.
- Bjørnsen, P.K. 1986. Automatic determination of bacterioplankton biomass by image analysis. *Applied Environmental Microbiology* 51, 1199-1204.
- Blough, N.V., y Del Vecchio, R. 2002. Distribution and dynamics of chromophoric dissolved organic matter (CDOM) in the coastal environment. In D. Hansell and C. Carlson [eds.], Biogeochemistry of marine dissolved organic matter. Academic Press, Ann Arbor. 509-546 p.

- Boehme, J., Coble, P., Conmy, R., y Stovall-Leonard, A. 2004. Examining CDOM fluorescence variability using principal component analysis: seasonal and regional modeling of three-dimensional fluorescence in the Gulf of Mexico. *Marine Chemistry* 89, 3-14.
- Boyer, J.N., Fourqurean, J.W., y Jones, R.D. 1999. Seasonal and long-term trend in water quality of Florida Bay (1989 – 1997). *Estuaries* 22 (2B): 417-430.
- Briand, E., Pringault, O., Jacquet, S., y Torrétón, J.P. 2004. The use of oxygen microprobes to measure bacterial respiration for determining bacterioplankton growth efficiency. *Limnology and Oceanography: Methods* 2, 406-416.
- Burke, C.S., McGaughey, O., Sabattié, J., Barry, H., McEvoy, A.K., McDoagh, C., y MacCraith, B.D. 2005. Development of an integrated optic oxygen sensor using a novel, generic platform. *Analyst* 130, 41-45.
- Carlson, C.A., y Ducklow, H.W. 1996. Growth of bacterioplankton and consumption of dissolved organic carbon in the Sargasso Sea. *Aquatic Microbial Ecology* 10, 69-85.
- Casotti, R., Brunet, C., Aronne, B., y Ribera d'Alcala, M. 2000. Mesoscale features of phytoplankton and planktonic bacteria in a coastal area as induced by external water masses. *Marine Ecology Progress Series* 195, 15-27.
- Chin-Leo, G., y Benner, R. 1992. Enhanced bacterioplankton production and respiration at intermediate salinities in the Mississippi River plume. *Marine Ecology Progress Series* 87, 87-103.
- Cho, B.C., y Azam, F. 1990. Biogeochemical significance of bacterial biomass in the ocean's euphotic zone. *Marine Ecology Progress Series* 63, 253-259.
- Clesceri, L.S., Greenberg, A.E., y Eaton, A.D. 1998. Standard methods for examination of water and wastewater. APHA-AWWA-WPCF. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation. 20th ed.
- Coffin, R.B., Connolly, J.P., y Harris, P.S. 1993. Availability of dissolved organic carbon to bacterioplankton examined by oxygen utilization. *Marine Ecology Progress Series* 101, 9-22.
- Cole, J., Findlay, S., y Pace, M.L. 1988. Bacterial production in fresh and saltwater ecosystem: Across-system overview. *Marine Ecology Progress Series* 43, 1-10.
- Corredor, J. E. 1984. Identificación y análisis de ecosistemas del Caribe. *Interciencia* 9(3), 145-151.
- Corredor, J.E., Morell, J., Nieves, F., y Otero, E. 1985. Studies of eutrophication in the marine ecosystems of La Parguera. *Proc. 12th Symp. Nat. Res. P. R. D. N. R.*, pp. 15-37.
- Corredor, J.E., y Morell, J.M. 1994. Nitrate depuration of secondary sewage effluents in mangrove sediments. *Estuaries* 17 (18), 295-300.

- Corredor, J.E., y Morell, J.M. 2001. Seasonal variation of physical and biogeochemical features in eastern Caribbean Surface Water. *Journal of Geophysical Research* 106 (3), 4517-4525.
- Coveney, M.F., y Wetzel, R.G. 1995. Biomass, production, and specific growth rate of bacterioplankton and coupling to phytoplankton in an oligotrophic lake. *Limnology and Oceanography* 40 (7), 1187-1200.
- Crump, B.C., y Baross, J.A. 1996. Particle-attached bacteria growth and heterotrophic plankton associated with the Columbia River estuarine turbidity maxima. *Marine Ecology Progress Series* 138, 265-273.
- Cotner, J. B., y Biddanda, B.A. 2002. Small players, large role: microbial influence on biogeochemical processes in pelagic aquatic ecosystems. *Ecosystems* 5, 105-121.
- del Giorgio, P.A., y Peters, R.H. 1994. Patterns in planktonic P:R ratios in lakes: influence of Lake Trophy and dissolved organic carbon. *Limnology and Oceanography* 39, 772-787.
- del Giorgio, P.A., y Cole, J.J. 1998. Bacterial growth efficiency in natural aquatic systems. *Annual Review of Ecology and Systematics* 29, 523-528.
- del Giorgio, P. A., y Duarte, C.M. 2002. Respiration in the open ocean. *Nature* 420, 379-384.
- del Giorgio, P.A., Pace, M.L., y Fischer, D. 2006. Relation of bacterial growth efficiency to spatial variation in bacterial activity in the Hudson River. *Aquatic Microbial Ecology* 45, 55-67.
- Determann, S., Reuter, R., y Willkomm, R. 1996. Fluorescence matter in the eastern Atlantic Ocean. Part 2: vertical profiles and relation to water masses. *Deep-Sea Research I* 43 (3), 345-360.
- Doval, M.D., y Hansell, D.A. 2000. Organic carbon and apparent oxygen utilization in the western South Pacific en the central Indian Oceans. *Marine Chemistry* 68, 249-264.
- Duarte, C.M., y Agustí, S. 1998. The CO₂ balance of unproductive aquatic ecosystems. *Science* 281, 234-236.
- Elser, J., Stabler, L.A., y Hasset, P. 1995. Nutrient limitation of bacterial growth and rates of bacterivory in lakes and oceans: a comparative study. *Aquatic Microbial Ecology* 9, 105-110.
- Felip, M., Pace, M.L., y Cole, J.J. 1996. Regulation of planktonic bacterial growth rates: the effects of temperature and resources. *Microbial Ecology* 31, 15-28.
- Fukuda, R., Ogawa, H., Nagata, T., y Koike, I. 1998. Direct determination of carbon and nitrogen contents of natural bacterial assemblages in marine environments. *Applied and Environmental Microbiology* 64, 3352-3358.

- Garcia, R. 2004. Dinámica de crecimiento de tres especies de coral en relación a las propiedades ópticas del agua. Departamento de Ciencias Marinas. Universidad de Puerto Rico, Mayagüez.
- Gasol, J.M., Comerma, M., Garcia, J.C., Armengol, J., Casamayor, E., Kojecka, P., y Simek, K. 2002. A transplant, experiment to identify the factors controlling bacterial abundance, activity, production, and community composition in a eutrophic canyon-shaped reservoir. *Limnology and Oceanography* 47, 62-77.
- Gilbes, F., López, J.M., y Yoshioka, P.M. 1996. Spatial and temporal variations of phytoplankton chlorophyll *a* and suspended particulate matter in Mayagüez Bay, Puerto Rico. *Journal of Plankton Research* 18, 29-43.
- Griffith, P.C., Douglas, D.J., y Wainright, S.C. 1990. Metabolic activity of size-fractionated microbial plankton in estuarine, nearshore and continental shelf waters of Georgia. *Marine Ecology Progress Series* 59, 263-270.
- Hansell, D.A., y Carlson, C.A. 2002. Biogeochemistry of Marine Dissolved Organic Matter. Academic Press, San Diego, CA.
- Hedges, J.I., Clark, W.A., y Cowie, G.L. 1988. Organic matter sources to the water column and surficial sediments of a marine bay. *Limnology and Oceanography* 33, 1116-1136.
- Hessen, D.O. 1985. The relation between bacterial carbon and dissolved humic compounds in oligotrophic lakes. *Microbial Ecology* 31, 215-223.
- Hoppe, H.G., Gocke, K., Koppe, R., y Begler, C. 2002. Bacterial growth and primary production along a north – south transect of the Atlantic Ocean. *Nature* 416, 168-171.
- Instituto Latinoamericano de la comunicación educativa. 2008. http://omega.ilce.edu.mx:3000/sites/ciencia/volumen1/ciencia2/17/htm/sec_6html
- Jones, R. 1999. The on going aquatic monitoring program for the gunston cove area. Department of Public Works. Virginia.
- Kirchman, D.L., Keil, R.G., y Wheeler, P.A. 1989. The effect of amino acids on ammonium utilization and regeneration by heterotrophic bacteria in the subarctic Pacific. *Deep Sea Research* 36, 1763-1776.
- Kirchman, D.L. 1990. Limitation of bacterial growth by dissolved organic matter in the subarctic Pacific. *Marine Ecology Progress Series* 62, 47-54.
- Kirchman, D.L. 2000. Microbial Ecology of the Oceans. Wiley Series in Ecological and Applied Microbiology. 542 p.
- Kirchman, B., Meon, M.T., Cottrell, M., Hutchins, D.A., Weeks, D., y Bruland, K.W. 2000. Carbon versus iron limitation of bacterial growth in the California upwelling regime. *Limnology and Oceanography* 45, 1681-1688.

- Kirschner, A.K., Eiler, A., Zechmeister, T., Velimirov, B., Herzig, A., Mach, R., y Farnleitner, H. 2002. Extremely productive microbial communities in shallow saline pools respond immediately to changing meteorological conditions. *Environmental Microbiology* 4, 546-555.
- Kritzberg, E.S., Cole, J.J., Pace, M.L., y Granéli, W. 2005. Does autochthonous primary production drive variability in bacterial metabolism and growth efficiency in lakes dominated by terrestrial C inputs?. *Aquatic Microbial Ecology* 38, 103-111.
- Lee, C.W., y Bong, C.W. 2008. Bacterial abundance and production, and their relation to primary production en tropical coastal waters of peninsular Malaysia. *Marine and Freshwater Research* 59, 10-21.
- Levi, W.K., Kalff, J., Prairie, Y., y Smith, E. 2004. Fluorescent dissolved organic matter in lakes: Relationships with heterotrophic metabolism. *Limnology and Oceanography* 49, 2034-2045.
- MacCraith, B.D., O'Keeffe, G., McDonagh, C., y McEvoy, A.K. 1994. LED-based fiber optic oxygen sensor using sol-gel coating. *Electronics Letters* 30(11): 888-889.
- MacCraith, B.D., y McDonagh, C. 2002. Enhanced Fluorescence Sensing Using Sol-Gel Materials. *Journal of Fluorescence* 12, 333-342.
- McCune, B y Mefford, M.J. 2006. PC-ORD. Multivariate Analysis of Ecological Data. Version 5. MjM Software, Gleneden Beach. Oregon, U.S.A.
- McDonagh, C., Bowe, P., Mongey, K., y MacCraith, B.D. 2002. Characterization of porosity and sensor response times of sol-gel derived thin films for oxygen sensor applications. *Journal of Non-Crystalline Solids* 306, 138-148.
- McEvoy, A.K., McDonagh, C.M., y MacCraith, B.D. 1995. Development of a fiber-optic dissolved sensor based on quenching of a ruthenium complex entrapped in a porous sol-gel film. *Proc. SPIE* vol. 2508, 168-176.
- Meyers-Schulte, K.J., y Hedges, J.I. 1986. Molecular evidence for a terrestrial component of organic matter dissolved in ocean water. *Nature* 321, 61-63.
- Middelboe, M., Nielsen, B., y Sondergaard, M. 1992. Bacterial utilization of dissolved organic carbon (DOC) in coastal waters – determination of growth yield. *Archives Hydrobiology Ergebn Limnology* 37, 51-61.
- Moran, M.A., Wicks, R.J., y Hodson, R.E. 1991. Export of dissolved organic matter from a mangrove swamp ecosystem: evidence from natural fluorescence, dissolved lignin phenols, and bacterial secondary production. *Marine Ecology Progress Series* 76, 175-184.
- Murray, R.E., y Hodson, R.E. 1984. Microbial Biomass and Utilization of Dissolved Organic Matter in the Okefenokee Swamp Ecosystem. *Applied and Environmental Microbiology* 47, 685-692.

- Murrell, M.C. 2003. Bacterioplankton dynamics in a subtropical estuary: evidence for substrate limitation. *Aquatic Microbial Ecology* 32, 239-250.
- Nelson, N.B., Siegel, D.A., y Michaels, A.F. 1998. Seasonal dynamics of colored dissolved material in the Sargasso Sea. *Deep Sea Research I* 45, 931-957.
- Otero, E. 2001. Microbial patterns in different Tropical Seascapes in southwestern, Puerto Rico. ASLO. Aquatic Sciences Meeting February 12-16.
- Otero, E., y Carbery, K. 2005. Chlorophyll *a* and turbidity patterns over coral reefs systems of La Parguera Natural Reserve, Puerto Rico. *Revista de Biología Tropical* 53, 25-32.
- Paul, J.H. 2001. Methods in Microbiology, marine microbiology. Academic Press. 30, 129-232.
- Packard, T.T., Healy, M.L., y Richards, F.A. 1971. Vertical distribution of the activity of the respiratory electron transport system in marine plankton. *Limnology and Oceanography* 16, 60-70.
- Peterson, B.J., y Howarth, R.W. 1987. Sulfur, carbon, and nitrogen isotopes used to trace organic matter flow in the salt-marsh estuaries of Sapelo Island, Georgia. *Limnology and Oceanography* 32, 1195-1213.
- Phinney, D.A., y Yentsch, C.S. 1985. A novel phytoplankton chlorophyll technique: toward automated analysis. *Journal of Plankton Research* 7(5), 633-642.
- Pomeroy, L.R., Sheldon, J.E., Sheldon Jr, W.D., y Peters, F. 1995. Limits to growth and respiration of bacterioplankton in the Gulf of Mexico. *Marine Ecology Progress Series* 117, 259-268.
- Pradeep Ram A.S., Nair, S., y Chandramohan, D. 2003. Bacterial growth efficiency in the tropical estuarine and coastal waters of Goa, southwest coast of India. *Microbial Ecology* 45, 88-96.
- Pullin, M.J., Bertilsson, S., Goldstone J., y Voelker, M. 2004. Effects of sunlight and hydroxyl radical on dissolved organic matter: Bacterial growth efficiency and production of carboxylic acids and other substrates. *Limnology and Oceanography* 49, 2011-2022.
- Raffaelli, D. 1999. Nutrient enrichment and trophic organization in an estuarine food web. *Acta Oecologica* 20, 449-461.
- Ramirez, J. 2002. Bosque Seco de Guanica, PR. Departamento de Recursos Naturales y Ambientales. Zona Isla. <http://zonaisla.com/Community/DisplayAd.asp?id=1328>
- Rochelle-Newall, E.J., y Fisher, T.R. 2002. Production of Chromophoric dissolved matter fluorescence in marine and estuarine environments: an investigation into the role of phytoplankton. *Marine Chemistry* 77, 7-21.

- Smith, E.M. 1998. Coherence of microbial respiration rate and cell-specific bacterial activity in a coastal planktonic community. *Aquatic Microbial Ecology* 16, 27-35.
- Smith, E.M., y Kemp, M. 2003. Planktonic and bacterial respiration along an estuarine gradient: responses to carbon and nutrient enrichment. *Aquatic Microbial Ecology* 30, 251-261.
- Universidad Nacional de Córdoba. 2008. InfoStat, version 3.0. Argentina.
- University Corporation for Atmospheric Research (UCAR). 2001. <http://windows.ucar.edu>
- USGS Caribbean Water Science Center. 2008. National Water Information System. http://waterdata.usgs.gov/pr/nwis/uv/?site_no=50128900&PARAMeter_cd=00045
- Wang, W.; Reimers, C.E.; Wainright, S.C.; Shahriari, M.R.; Morris, M.J. 1999. Applying Fiber-Optic Sensors for Monitoring Dissolved Oxygen. *Sea Technology* 40 (3), 69-74.
- Wetzel, R.G. 2001. Limnology: Lake and River Ecosystems. San Diego, CA, USA: Academic Press.
- Wikipedia. 2008. http://es.wikipedia.org/wiki/mar_caribe
- Williams, P. J. leB. 1998. The balance of plankton respiration and photosynthesis in the open ocean. *Nature* 394, 55-57.

8. APENDICES

Apéndices A. Tablas de ANOVAS con diseño anidado

A continuación se presentan los resultados de los análisis realizados para evaluar los parámetros físico-químicos y las variables biológicas obtenidas en la época seca (enero y marzo) y la época lluvia (octubre y noviembre) de 2007, en las estaciones de la Bahía de Guánica y La Parguera.

A1. ANOVA de la turbidez entre las épocas de muestreo, zonas de estudio, estaciones, y sus interacciones. F.V = Fuente de variación; SC= Suma de cuadrados; gl = Grados de libertad; CM = Cuadrado medio; F = Estadístico; y p-valor = Valor de significancia.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	10.06	19	0.53	49.60	<0.0001
Zona	0.94	1	0.94	1.02	0.3426
Época	1.12	1	1.12	14.12	0.0056*
Época*Zona	3.2E-04	1	3.2E-04	4.0E-03	0.9509
Zona>Estación	7.38	8	0.92	11.67	0.0011*
Época * zona>Estación	0.63	8	0.08	7.40	<0.0001*
Error	0.51	48	0.01		
Total	10.57	67			

* Indican diferencias significativas (p<0.05).

A2. ANOVA de la concentración de Chla entre las épocas de muestreo, zonas de estudio, estaciones, y sus interacciones. F.V = Fuente de variación; SC= Suma de cuadrados; gl = Grados de libertad; CM = Cuadrado medio; F = Estadístico; y p-valor = Valor de significancia.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	28.12	19	1.48	47.59	<0.0001
Zona	7.29	1	7.29	7.40	0.0262*
Época	10.64	1	10.64	37.79	0.0003*
Época*Zona	0.06	1	0.06	0.20	0.6675
Zona>Estación	7.88	8	0.99	3.50	0.0477*
Época * zona>Estación	2.25	8	0.28	9.05	<0.0001*
Error	1.49	48	0.03		
Total	29.61	67			

* Indican diferencias significativas (p<0.05).

A3. ANOVA de la concentración de MODFI entre las épocas de muestreo, zonas de estudio, estaciones, y sus interacciones. F.V = Fuente de variación; SC= Suma de cuadrados; gl = Grados de libertad; CM = Cuadrado medio; F = Estadístico; y p-valor = Valor de significancia.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	4.45	19	0.23	29.76	<0.0001
Zona	1.41	1	1.41	7.11	0.0285*
Época	0.19	1	0.19	2.20	0.1763
Época*Zona	0.55	1	0.55	6.24	0.0371*
Zona>Estación	1.59	8	0.20	2.26	0.1354
Época * zona>Estación	0.70	8	0.09	11.19	<0.0001*
Error	0.38	48	0.01		
Total	4.83	67			

* Indican diferencias significativas (p<0.05).

A4. ANOVA de la abundancia bacteriana entre las épocas de muestreo, zonas de estudio, estaciones, y sus interacciones. F.V = Fuente de variación; SC= Suma de cuadrados; gl = Grados de libertad; CM = Cuadrado medio; F = Estadístico; y p-valor = Valor de significancia.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	7.39	19	0.39	71.03	<0.0001
Zona	1.43	1	1.43	4.19	0.0750
Época	2.91	1	2.91	115.82	< 0.0001*
Época*Zona	0.10	1	0.10	3.95	0.0822
Zona>Estación	2.74	8	0.34	13.64	0.0006*
Época * zona>Estación	0.20	8	0.03	4.59	0.0003*
Error	0.26	48	0.01		
Total	7.65	67			

* Indican diferencias significativas (p<0.05).

A5. ANOVA de la producción bacteriana entre las épocas de muestreo, zonas de estudio, estaciones, y sus interacciones. F.V = Fuente de variación; SC= Suma de cuadrados; gl = Grados de libertad; CM = Cuadrado medio; F = Estadístico; y p-valor = Valor de significancia.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	23.69	19	1.25	57.21	<0.0001
Zona	5.72	1	5.72	2.61	0.1450
Época	0.05	1	0.05	1.21	0.3034
Época*Zona	0.01	1	0.01	0.20	0.6673
Zona>Estación	17.55	8	2.19	49.31	<0.0001*
Época * zona>Estación	0.36	8	0.04	2.04	0.0611
Error	1.05	48	0.02		
Total	24.74	67			

* Indican diferencias significativas (p<0.05).

A6. ANOVA de la respiración bacteriana entre las épocas de muestreo, zonas de estudio, estaciones, y sus interacciones. F.V = Fuente de variación; SC= Suma de cuadrados; gl = Grados de libertad; CM = Cuadrado medio; F = Estadístico; y p-valor = Valor de significancia.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3.90	19	0.21	11.92	<0.0001
Zona	0.01	1	0.01	0.04	0.8431
Época	0.32	1	0.32	2.57	0.1473
Época * zona	0.13	1	0.13	1.09	0.3280
Zona>Estación	2.44	8	0.30	2.45	0.1131
Época * zona>Estación	0.99	8	0.12	7.22	<0.0001*
Error	0.83	48	0.02		
Total	4.73	67			

* Indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

A7. ANOVA de la ECB entre las épocas de muestreo, zonas de estudio, estaciones, y sus interacciones. F.V = Fuente de variación; SC= Suma de cuadrados; gl = Grados de libertad; CM = Cuadrado medio; F = Estadístico; y p-valor = Valor de significancia.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	17.03	19	0.90	67.53	<0.0001
Zona	5.83	1	5.83	5.11	0.0537*
Época	0.59	1	0.59	3.35	0,1047
Época*Zona	0.07	1	0.07	0.39	0.5493
Zona>Estación	9.12	8	1.14	6.44	0.0081*
Época * zona>Estación	1.42	8	0.18	13.34	<0.0001*
Error	0.64	48	0.01		
Total	17.66	67			

* Indican diferencias significativas ($p < 0.05$).