

Diversidad bacteriana en el humedal costero artificial Poza La Arenilla mediante el análisis de ADN ambiental

Bacterial diversity in the artificial coastal wetland Poza La Arenilla through environmental DNA analysis

Mayra Silva¹; Angel I. Ramirez¹; Abraham Espinoza-Culupú¹; Mario Cueva¹; Rina Ramírez¹;
Pedro E. Romero^{1*}

1 Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Av. Germán Amezaga N° 375, Lima, Perú.

* Autor correspondiente: promeroc@unmsm.edu.pe (P. E. Romero).

ORCID de los autores

M. Silva: <https://orcid.org/0009-0001-4300-7590>

A. I. Ramirez: <https://orcid.org/0009-0008-2441-3578>

A. Espinoza-Culupú: <https://orcid.org/0000-0002-5553-6385>

M. Cueva: <https://orcid.org/0000-0002-7420-110X>

R. Ramírez: <https://orcid.org/0000-0003-1924-5844>

P. E. Romero: <https://orcid.org/0000-0001-9947-3868>

RESUMEN

La Poza La Arenilla es un humedal costero artificial ubicado en La Punta, Callao, Perú. En nuestra investigación, se caracterizó la comunidad bacteriana de esta localidad en junio y septiembre de 2024 utilizando *metabarcoding* de ADN ambiental. La secuenciación mediante la tecnología Oxford Nanopore identificó cinco filos principales: Proteobacteria (dominante), Actinobacteriota, Bacteroidota, Campylobacterota y Desulfobacterota, concordante con patrones de humedales costeros globales. La comunidad reveló una notable diversidad taxonómica, presentando a los géneros *Amylibacter*, *Planktomarina* y *Glaciecola*, el género candidato *Candidatus Actinomarina*, y grupos marinos como HIMB11, NS11-12 marine group, OM43 clade, SAR86 clade y Clade Ia. Se observaron variaciones temporales significativas en los índices de diversidad entre ambos meses correlacionados con cambios en el oxígeno disuelto, pH, salinidad y temperatura del agua. La presencia significativa de las categorías "Otros" y *uncultured* (no asignados) sugiere la necesidad de investigaciones futuras para identificar su taxonomía y sus roles en los procesos biogeoquímicos y como bioindicadores de calidad ambiental, complementando los indicadores convencionales de la normativa peruana. Este estudio establece la primera línea base molecular de la diversidad bacteriana en esta localidad, contribuyendo al desarrollo de estrategias de conservación y gestión ambiental efectivas.

Palabras clave: microbiota acuática; ecología microbiana; ecosistema artificial; *metabarcoding*; bioindicadores.

ABSTRACT

The Poza La Arenilla is an artificial coastal wetland located in La Punta, Callao, Peru. Our research characterized the bacterial community of this ecosystem in June and September 2024 using DNA metabarcoding. Sequencing through the Oxford Nanopore technology identified five main phyla: Proteobacteria (dominant), Actinobacteriota, Bacteroidota, Campylobacterota, and Desulfobacterota, which is consistent with patterns observed in global coastal wetlands. The bacterial community revealed notable taxonomic diversity, presenting formally described genera such as *Amylibacter*, *Planktomarina*, and *Glaciecola*, the candidate genus *Candidatus Actinomarina*, and various understudied marine groups including HIMB11, NS11-12 marine group, OM43 clade, SAR86 clade, and Clade Ia. Significant temporal variations were observed in diversity indices between months, which is correlated with changes in physicochemical parameters such as dissolved oxygen, pH, salinity, and water temperature. The significant presence of categories such as "Others" and *uncultured* suggests the necessity of future research to identify their taxonomy and their ecological roles in biogeochemical processes and as potential bioindicators of environmental quality, complementing conventional indicators established in Peruvian regulations. This study establishes the first molecular baseline of bacterial diversity at this locality, contributing to effective conservation strategies and environmental management plans.

Keywords: aquatic microbiota; microbial ecology; artificial ecosystem; metabarcoding; bioindicators.

Recibido: 25-07-2025.

Aceptado: 02-12-2025.



Esta obra está publicada bajo la licencia [CC BY 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

INTRODUCCIÓN

La contaminación representa una creciente amenaza global para los ecosistemas naturales y la salud humana, siendo los humedales costeros particularmente vulnerables a estos impactos (Zegarra Tello et al., 2025). La Poza La Arenilla es un humedal artificial costero de 18,2 Ha limitado por dos rompeolas (Sánchez et al., 2014), ubicado en el distrito de La Punta, Callao, y construido en 1967. Este ecosistema se caracteriza por sus aguas litorales semiestancadas debido a la limitada circulación de agua (Cotillo et al., 2018; Velazco & Solís, 2013).

A pesar de su cercanía a la zona residencial de La Punta, el conocimiento sobre su biodiversidad, especialmente respecto a su comunidad bacteriana, sigue siendo escaso. Esta brecha de conocimiento resulta particularmente relevante considerando que la interacción entre este humedal artificial y el entorno urbano circundante podría generar impactos significativos en el ecosistema y la población, afectando la calidad del agua, permitiendo la proliferación de patógenos o alterando los ciclos biogeoquímicos fundamentales.

Estudios microbiológicos previos en humedales costeros peruanos han empleado predominantemente métodos de cultivo tradicionales. Estos métodos permiten identificar entre el 0,1% y el 10% de las bacterias presentes en el ambiente (De la Cruz-Leyva et al., 2015). Por ello, aún existe un vacío significativo en el conocimiento de la riqueza microbiana de estos ecosistemas.

La implementación de técnicas moleculares actuales como el *metabarcoding* de ADN ambiental emerge como una solución necesaria para superar estas limitaciones. Esta metodología genera un

perfil representativo de la comunidades bacterianas, detectando tanto grupos cultivables como no cultivables (Padilla-García et al., 2021).

Recientemente, la tecnología Oxford Nanopore se ha utilizado para *metabar-coding* generando una secuenciación de ampli-cones completos del gen 16S rRNA (Szoboszlai et al., 2023; Yeo et al., 2024; Cuscó et al., 2019).

Diversos estudios han demostrado la eficacia del *metabarcoding* en ecosistemas acuáticos. Por ejemplo, Cakin et al. (2025) encontraron correlaciones significativas entre taxones específicos y eficiencia en la eliminación de contaminantes en humedales artificiales. Por otro lado, Robertson (2024) estableció que las comunidades bacterianas sedimentarias constituyen excelentes bioindicadores del estado ecosistémico, con variaciones estacionales más pronunciadas en el agua que en sedimentos.

En el presente estudio se tuvo como objetivo caracterizar la diversidad bacteriana de la Poza La Arenilla mediante *metabarcoding* para establecer la primera línea base microbiana en este humedal artificial costero. Asimismo, se buscó identificar la estructura comunitaria bacteriana, sus patrones de variación estacional y su relación con parámetros fisicoquímicos, trascendiendo los indicadores microbiológicos convencionales establecidos en la normativa peruana actual (MINAM, 2017), que solo considera coliformes termotolerantes. Los resultados obtenidos buscan contribuir al conocimiento de la biodiversidad microbiana en ecosistemas costeros peruanos, proporcionando información para el desarrollo de estrategias efectivas de conservación y planes de manejo ambiental.

METODOLOGÍA

Área de estudio

Se establecieron cinco puntos de muestreo distribuidos a lo largo de la Poza La Arenilla (Figura 1), siguiendo la metodología descrita por Sánchez et al. (2014). La recolección de muestras se efectuó en dos meses, junio y septiembre de 2024, para evaluar posibles variaciones estacionales en la composición de la comunidad bacteriana.

Los cinco puntos de muestreo (M1 a M5), con sus respectivas réplicas biológicas (M1D a M5D), están distribuidos espacialmente para obtener una representación adecuada del ecosistema.

Los muestreos se realizaron en dos meses del año, junio y septiembre de 2024. Para garantizar la calidad y reproducibilidad de los resultados, también se realizaron réplicas técnicas (dos eventos de secuenciación) para cada periodo:

- Junio: Secuenciaciones J1 (11/7/2024) y J2 (09/11/2024).

- Septiembre: Secuenciaciones S1 (28/10/2024) y S2 (09/11/2024).

Cada muestra está identificada con un código único, un número de *barcode* específico y su correspondiente fecha de secuenciación. Los códigos de muestra siguen una nomenclatura que indica el mes de colecta, mientras que las fechas de

secuenciación fueron: 11/07/2024, 28/10/2024 y 09/11/2024, Tabla 1.

Recolección y procesamiento de muestras

En cada punto de muestreo se recolectó un litro de agua en recipientes estériles de PVC, los que fueron transportados a 4 °C hasta el Laboratorio de Biología Integrativa de la Facultad de Ciencias Biológicas (UNMSM), en un tiempo no mayor a 12 h post-recolección para su procesamiento. Se contó con la autorización de la Municipalidad de La Punta, Callao (Memorando N° 280-2024-MDLP-GSC: Autorización para la realización de trabajos para estudio de investigación en Poza La Arenilla). Las muestras fueron procesadas mediante un sistema de filtración por bomba de vacío (Millipore, WP6122050, Alemania) utilizando filtros Sterivex™ Filter Unit (0,22 µm) (Merck Millipore, SVGP01050, EE. UU.). Los filtros Sterivex fueron sellados en sus extremos con una película parafilm y almacenados a -20 °C en un congelador (Sole, 3120SOLCONGV135, Perú) hasta la realización del protocolo de extracción de ADN. Cada filtro fue etiquetado con un código único que incluía la identificación del punto de muestreo, la fecha de colecta, el número de réplica y la fecha de filtrado.



Figura 1. Distribución espacial de los puntos de muestreo en la Poza La Arenilla, La Punta, Callao. Los cinco puntos de muestreo fueron seleccionados para cubrir diferentes zonas del humedal artificial. Las coordenadas están expresadas en sistema UTM WGS 84.

Tabla 1
Metadatos de las muestras recolectadas

N.º	Código de Muestra	Barcode	Mes de Muestreo	Fecha de secuenciación
1	M5_J1	7	Junio 2024	11/07/2024
2	M4D_J1	12	Junio 2024	11/07/2024
3	M5_J2	7	Junio 2024	09/11/2024
4	M1D_J2	1	Junio 2024	09/11/2024
5	M2D_J2	2	Junio 2024	09/11/2024
6	M3D_J2	3	Junio 2024	09/11/2024
7	M4D_J2	4	Junio 2024	09/11/2024
8	M5D_J2	5	Junio 2024	09/11/2024
9	M1_S1	7	Septiembre 2024	28/10/2024
10	M2_S1	8	Septiembre 2024	28/10/2024
11	M3_S2	11	Septiembre 2024	09/11/2024
12	M4_S2	12	Septiembre 2024	09/11/2024
13	M5_S2	13	Septiembre 2024	09/11/2024
14	M1D_S2	16	Septiembre 2024	09/11/2024
15	M2D_S2	17	Septiembre 2024	09/11/2024
16	M3D_S2	18	Septiembre 2024	09/11/2024
17	M4D_S2	19	Septiembre 2024	09/11/2024
18	M5D_S2	20	Septiembre 2024	09/11/2024

Análisis molecular
Extracción de ADN

La extracción de ADN se realizó con el kit comercial NucleoMagR DNA/RNA water (Macherey-Nagel, 744220.4, Alemania), con un protocolo optimizado en cuatro fases secuenciales. Inicialmente, se procedió con la etapa de lisis celular mediante la adición de 900 µL de Buffer Lisis C1 a cada filtro Sterivex, seguido de un procesamiento mecánico-térmico que incluyó agitación vigorosa en vórtex (Gilson, 3611750, EE. UU.) durante cinco minutos, incubación a 70 °C por cinco minutos adicionales y una agitación final para maximizar la liberación del material genético. El lisado resultante fue

recuperado mediante un sistema de jeringa estéril y transferido a microtubos estériles de 1,5 mL. Posteriormente, se realizó la purificación del ADN transfiriendo 450 µL del lisado obtenido a un nuevo tubo, al cual se incorporaron 25 µL de partículas magnéticas NucleoMag B-Beads y 475 µL de Buffer MWA2, sometiendo la mezcla a homogeneización por pipeteo durante cinco minutos antes de efectuar la separación magnética (Cenmed Enterprises, Genesig EASY-MR, EE. UU.). La purificación del ADN captado se ejecutó mediante lavados secuenciales empleando Buffer MWA3 en dos ciclos consecutivos y Buffer MWA4 en un ciclo final, realizando en cada etapa la

correspondiente homogeneización y separación magnética; el exceso de solvente fue eliminado exponiendo el tubo abierto al separador magnético durante 15 minutos. Finalmente, la elución del ADN se completó añadiendo 100 µL de agua libre de RNAsas, seguido de un proceso de resuspensión durante cinco minutos y una separación magnética final de dos minutos, tras lo cual el ADN purificado en el sobrenadante fue transferido a un nuevo microtubo estéril y almacenado en condiciones de congelación para análisis posteriores.

Amplificación del gen 16S rRNA y preparación de biblioteca genómica

Las reacciones de PCR (reacción en cadena de la polimerasa) se prepararon en un volumen final de 50 µL, conteniendo: 5 µL de agua libre de RNasa, 10 µL de ADN genómico (10ng), 25 µL de Long Hot Start Taq polimerasa 2X (New England Biolabs, M0533, EE.UU.) y 10 µL de cada cebador. La amplificación se realizó en un termociclador Bio-Rad T100™ (Bio-Rad, 1861096, EE.UU.) bajo las siguientes condiciones: 30 ciclos de desnaturalización (95 °C, 20 s), hibridación (55 °C, 30 s) y extensión (65 °C, 2 min), seguidos de un ciclo de extensión final (65°C, 5 min). Las muestras fueron etiquetadas siguiendo un esquema de distribución de barcodes utilizando el *kit de barcoding* 16S (Oxford Nanopore Technologies, SQK-16S024, Reino Unido), permitiendo el procesamiento simultáneo de múltiples muestras.

Secuenciación usando la tecnología Oxford Nanopore

La secuenciación se realizó empleando celdas de flujo Nanopore (Oxford Nanopore Technologies, FLO-MIN106, Reino Unido) en la plataforma Oxford Nanopore (MinION, Oxford Nanopore Technologies, Reino Unido). El protocolo se desarrolló en cuatro fases secuenciales. Inicialmente, se formuló una solución de acondicionamiento combinando 30 µL del agente de anclaje (FLT) con 970 µL de la solución tampón de lavado (FB), generando un medio óptimo para la activación de los nanoporos. Luego, se procedió al acondicionamiento de la celda de flujo mediante la introducción de la solución preparada: La fase de preparación de la celda de flujo consistió en la carga secuencial del *Priming Mix*, iniciando con 800 µL seguido de un período de estabilización de 5 min y culminando con la adición de los 200 µL restantes para asegurar la distribución uniforme de la solución a través de la membrana de nanoporos. La tercera fase comprendió la preparación de la mezcla de carga: 37,5 µL de SQB (*Sequencing Buffer*), 25,5 µL de LB (*Loading Beads*) y 12 µL de la biblioteca genómica previamente procesada. La etapa de activación del sistema involucró la transferencia de la mezcla completa (75 µL) a la celda previamente acondicionada.

Análisis bioinformático y estadístico

El análisis de los datos producidos por la secuenciación se realizó siguiendo un proceso ordenado. La adquisición inicial de datos fue mediante el software MinKNOW (Oxford Nanopore Techno-

logies, versión 24.06, Reino Unido), que permitió la supervisión en tiempo real de los parámetros críticos durante la secuenciación, asegurando la calidad y continuidad del proceso.

El trabajo bioinformático se desarrolló en el entorno *conda* (Anaconda Inc., 2025), facilitando la gestión de paquetes y dependencias para los análisis computacionales.

La primera fase se centró en la limpieza y control de calidad de las secuencias crudas, empleando una combinación de herramientas específicas. Se utilizó Porechop (Wick, 2017) para la identificación y eliminación precisa de secuencias adaptadoras, seguido por NanoFilt (De Coster et al., 2018) para realizar un filtrado que preservó únicamente las lecturas con longitudes entre 250 a 1600 pares de bases (pb) lo que resultó en un conjunto final de dieciocho (18) muestras (Tabla 1). Este proceso culminó con la implementación de NanoStat (De Coster et al., 2018) para la evaluación de los parámetros cualitativos de las secuencias resultantes.

La segunda fase abordó el análisis específico de las secuencias filtradas. Inicialmente, se aplicaron minimap2 (Li, 2018) y yacrd (Marijon et al., 2020) para la detección y eliminación de estructuras quiméricas que pudieran comprometer la interpretación taxonómica.

A continuación, las secuencias depuradas fueron sometidas a un proceso de alineamiento contra la base de datos Silva_138, un repositorio especializado en secuencias ribosomales (Quast et al., 2013; Yilmaz et al., 2014).

Finalmente, se generaron tablas taxonómicas mediante la aplicación secuencial de los algoritmos filterPAF.py y merfePAF.py (Lapeña, 2023), transformando las coincidencias de alineamiento en clasificaciones taxonómicas estructuradas.

La fase final consistió en un análisis estadístico utilizando las plataformas RStudio (Posit, 2023) y Minitab (Minitab, LLC, 2023). Este análisis integró múltiples dimensiones de la diversidad microbiana, incluyendo la cuantificación de abundancias relativas de los distintos taxones identificados, el cálculo de índices de diversidad alfa (Shannon y Simpson) para caracterizar la riqueza y equitatividad de las comunidades, y la evaluación de la diversidad beta obteniendo valores de similitud de Bray-Curtis que son usados para un análisis de coordenadas principales. Adicionalmente, se caracterizó la composición taxonómica a nivel de filo y género, y se realizaron análisis de varianza, pruebas de significancia y evaluaciones de correlación para identificar patrones significativos en la estructura comunitaria y sus relaciones con variables ambientales.

Parámetros fisicoquímicos

Las mediciones de parámetros fisicoquímicos se realizaron in situ utilizando un equipo multiparamétrico Multi 3630 IDS SET G (WTW, Serie 2FD57G, Alemania), determinando simultáneamente: oxígeno disuelto, pH, salinidad y temperatura. Estos datos se utilizaron para correlacionar las condiciones ambientales y la diversidad bacteriana identificada.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Variaciones estacionales en parámetros fisicoquímicos y diversidad bacteriana en la Poza La Arenilla

Se observó variación entre los meses de junio y septiembre de 2024. En particular, las muestras de septiembre presentaron un ligero incremento en los valores de pH (de 7,9 - 8,0 en junio a 8,0 - 8,1 en septiembre) y oxígeno disuelto (de 6,7 - 10,3 mg/L en junio a 9,1 - 10,3 mg/L en septiembre), mientras que la temperatura mostró una leve disminución (de 18,0 - 18,6 °C en junio a 17,4 - 18,1 °C en septiembre). Estos cambios se reflejan también en los índices ecológicos, con valores de diversidad de Shannon generalmente más altos en septiembre (3,3 - 3,8) en comparación con junio (2,7 - 3,2). Los valores específicos por punto de muestreo, junto con los parámetros fisicoquímicos (oxígeno

disuelto, pH, salinidad y temperatura) y los índices ecológicos se encuentran registrados en la Poza La Arenilla, se detallan en la Tabla 2.

Distribución del número de secuencias por sitio de muestreo durante dos periodos estacionales

Los resultados revelan que, en junio, se observó alta variabilidad en la distribución del número de secuencias entre puntos de muestreo. En septiembre, se presentó una distribución más uniforme (Figura 2).

Riqueza taxonómica a nivel de géneros

Se observa una tendencia estacional en la riqueza taxonómica: las muestras de septiembre presentan más géneros bacterianos en comparación con las muestras de junio (Figura 3).

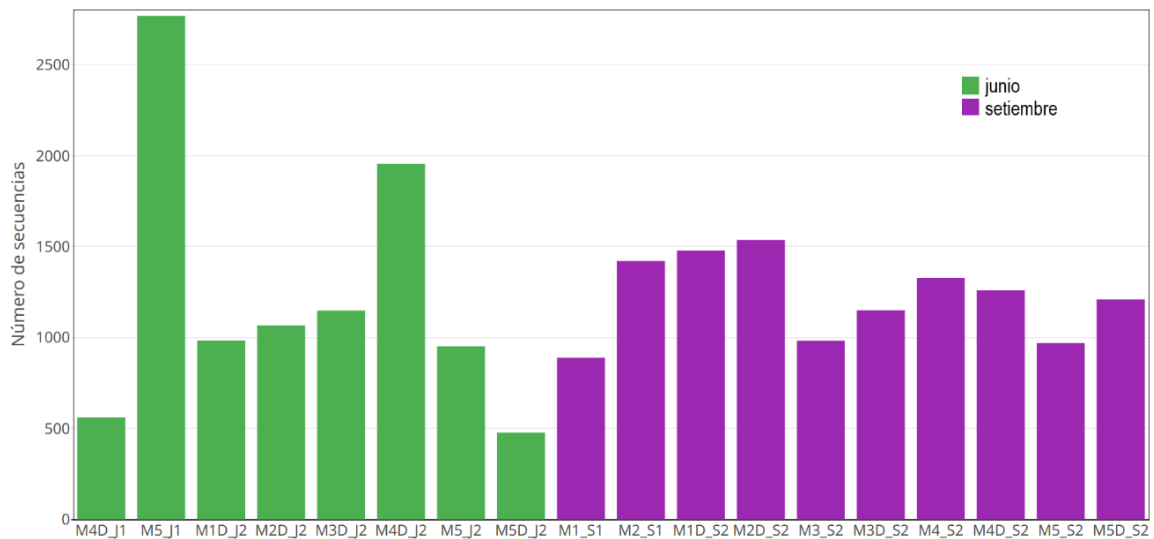


Figura 2. Distribución del número de secuencias por muestra obtenidas mediante secuenciación de Oxford Nanopore en junio (barras verdes) y septiembre (barras moradas). Los códigos en el eje X indican el código de muestra.

Tabla 2

Parámetros fisicoquímicos e índices ecológicos

N.º	Código de Muestra	pH	Salinidad	Oxígeno Disuelto	Temperatura	Índice Shannon	Índice Simpson
1	M5_J1	8,0	35,3	7,2	18,6	3,2	0,9
2	M4D_J1	8,0	35,1	10,3	18,2	3,1	0,9
3	M5_J2	8,0	35,3	7,2	18,6	3,1	0,9
4	M1D_J2	8,0	35,0	7,8	18,6	3,0	0,9
5	M2D_J2	8,0	34,8	6,7	18,5	3,0	0,9
6	M3D_J2	7,9	34,5	7,1	18,0	3,0	0,9
7	M4D_J2	8,0	35,1	10,3	18,2	2,7	0,9
8	M5D_J2	8,0	35,3	7,2	18,6	3,1	0,9
9	M1_S1	8,1	35,4	10,3	18,0	3,1	0,9
10	M2_S1	8,0	35,3	9,1	17,4	3,7	1,0
11	M3_S2	8,1	35,4	9,6	17,6	3,8	1,0
12	M4_S2	8,1	35,4	9,1	18,1	3,5	0,9
13	M5_S2	8,1	35,4	9,3	18,0	3,8	1,0
14	M1D_S2	8,1	35,4	10,3	18,0	3,3	0,9
15	M2D_S2	8,0	35,3	9,1	17,4	3,5	0,9
16	M3D_S2	8,1	35,4	9,6	17,6	3,6	0,9
17	M4D_S2	8,1	35,4	9,1	18,1	3,5	1,0
18	M5D_S2	8,1	35,4	9,3	18,0	3,6	1,0

Caracterización de la diversidad alfa de la comunidad bacteriana en Poza La Arenilla

El análisis de la biodiversidad bacteriana mediante índices ecológicos permitió cuantificar la diversidad bacteriana en la Poza La Arenilla durante junio y septiembre de 2024. Se evidenció variación en el índice de Shannon, con valores mayores en septiembre (3,1-3,8) en comparación con junio (2,7 - 3,2) a nivel de género ($p < 0,05$, en el test de Mann-Whitney). De manera similar, encontramos que el índice de Simpson también presenta diferencias significativas entre junio y septiembre (0,9 - 1,0) ($p < 0,05$, en el test de Mann-Whitney).

Distribución de principales filos

El análisis reveló la presencia de cinco filos bacterianos: Proteobacteria, Bacteroidota, Actinobacteriota, Campylobacterota y Desulfobacterota. Proteobacteria se mantuvo como el filo dominante, mientras Bacteroidota aumentó su representación

de junio a septiembre. Los filos Actinobacteriota, Campylobacterota y Desulfobacterota, aunque menos abundantes, persistieron en ambos periodos de muestreo (Figura 4).

Distribución de los principales géneros

La comunidad bacteriana de la Poza La Arenilla reveló una notable diversidad taxonómica, presentando géneros formalmente descritos como *Amylibacter*, *Planktomarina* y *Glaciecola*. También se identificaron *Candidatus Actinomarina* (un género candidato) y diversos grupos filogenéticos marinos incluyendo *HIMB11*, *NS11-12_marine_group*, *OM43_clade*, *SAR86_clade* y *Clade_la*. Cabe destacar que las categorías "Otros" y *uncultured* (no asignados) constituyeron una proporción significativa del total, evidenciando la presencia de una considerable diversidad microbiana que aún requiere caracterización completa (Figura 5).

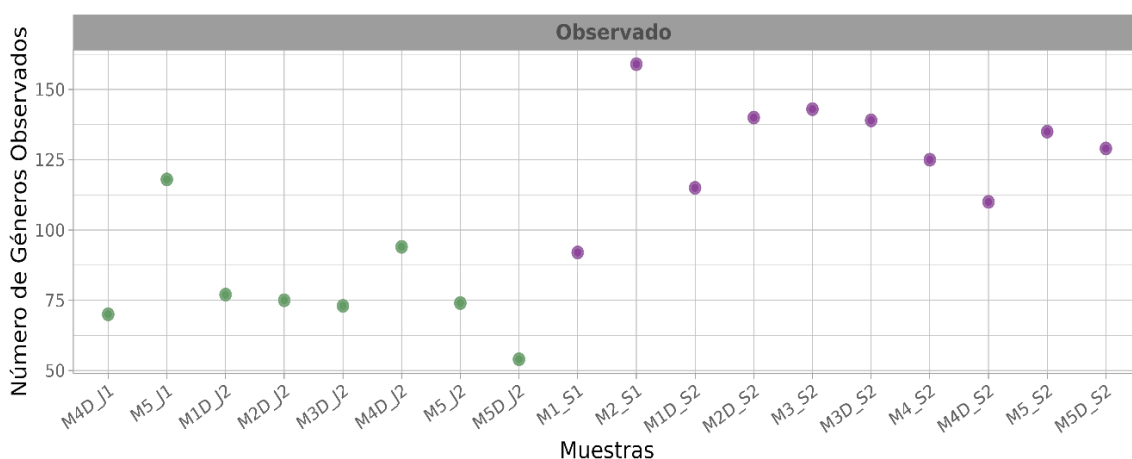


Figura 3. Número de géneros bacterianos observados en junio (verde) y septiembre (morado).

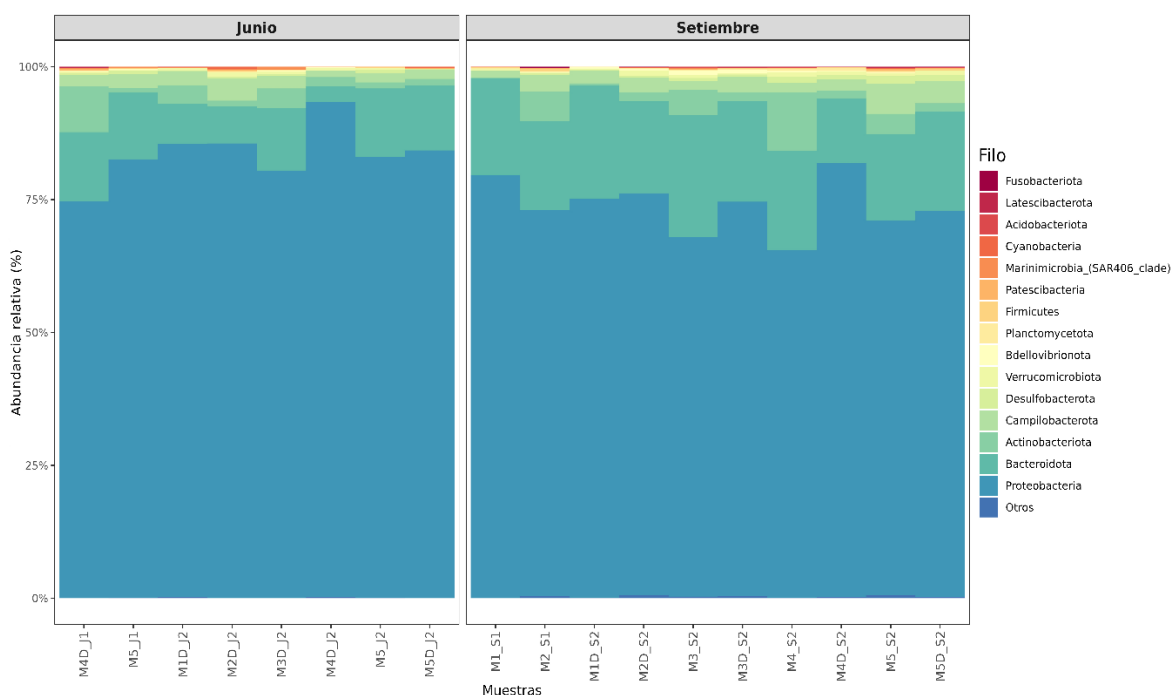


Figura 4. Distribución taxonómica a nivel de filo de la comunidad bacteriana de Poza La Arenilla. El gráfico muestra la abundancia relativa de filos bacterianos. Las Proteobacteria constituyeron el filo dominante en ambos periodos, representando aproximadamente 60-80% de las secuencias totales.

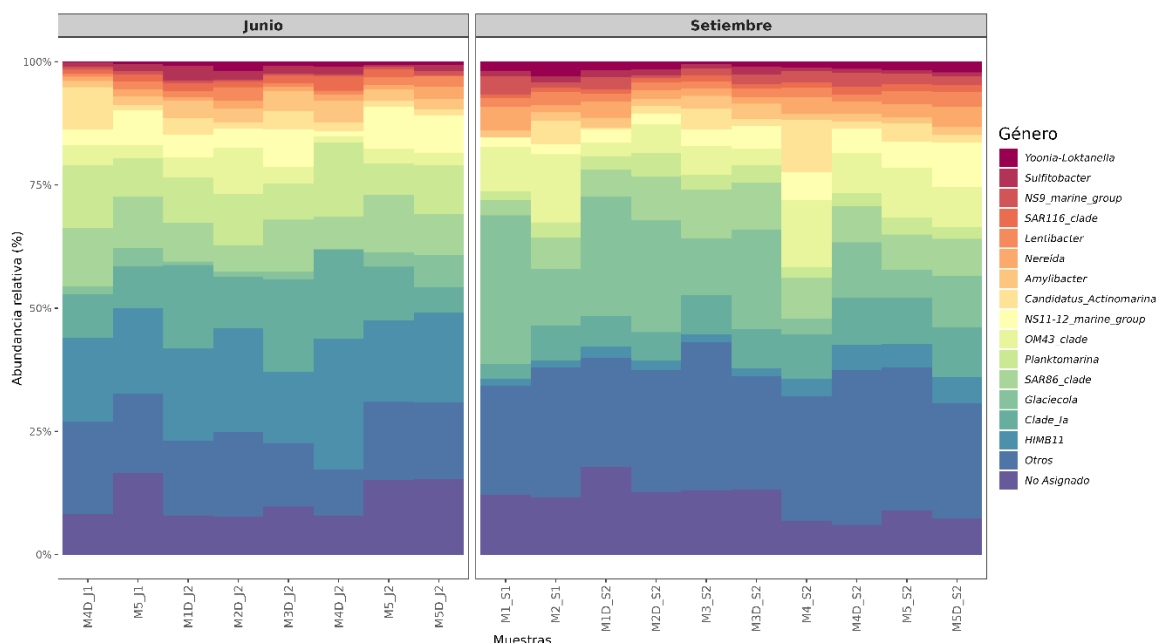


Figura 5. Distribución de los principales géneros bacterianos en junio y septiembre en la Poza La Arenilla. El gráfico muestra la abundancia relativa de géneros bacterianos.

Análisis de coordenadas principales (PCoA) con disimilitud de Bray-Curtis

El análisis de coordenadas principales (PCoA) a nivel de género revela una clara separación estacional de las comunidades bacterianas en la Poza La Arenilla entre las estaciones de junio y septiembre (Figura 6). Esta marcada diferenciación está principalmente influenciada por los niveles de oxígeno disuelto, que muestran el contraste más significativo entre estaciones (6,7 - 10,3 mg/L en junio frente a valores más estables y elevados de 9,1 - 10,3 mg/L en septiembre). Los cambios en la concentración de oxígeno disuelto parecen ser el factor ambiental determinante en la estructuración de las comunidades bacterianas, explicando gran parte de la variación observada en la composición taxonómica entre ambos meses.

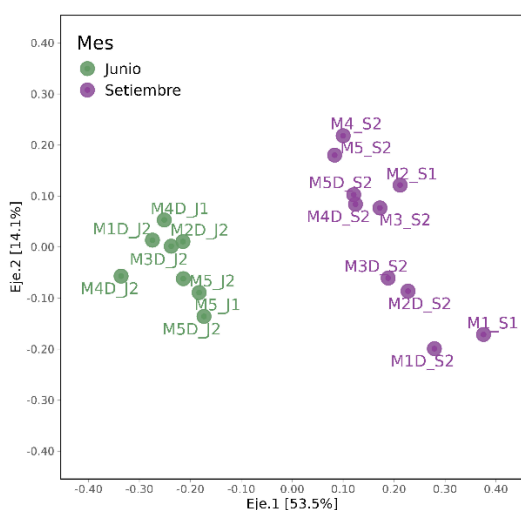


Figura 6. Análisis de Coordenadas Principales (PCoA) a nivel de género bacteriano en Poza La Arenilla. Las muestras fueron colectadas en junio (verde) y septiembre (morado).

Esta correlación sugiere que las fluctuaciones estacionales en la oxigenación del agua constituyen un factor crítico para la dinámica de la comunidad bacteriana en este humedal costero artificial.

Análisis estadístico de las variables ambientales

El análisis estadístico reveló correlaciones significativas entre los índices ecológicos y los parámetros fisicoquímicos. Los datos no cumplieron con los supuestos de normalidad (prueba Ryan-Joiner, $p < 0,05$), por lo que se emplearon pruebas no paramétricas. Las correlaciones de Spearman evidenciaron asociaciones positivas significativas del índice de Shannon con el pH ($r = 0,473$, $p < 0,05$) y la salinidad ($r = 0,581$, $p < 0,05$), mientras que se detectó una correlación negativa significativa con la temperatura ($r = -0,650$, $p < 0,05$). Estos resultados indican que condiciones de mayor pH y salinidad, junto con temperaturas más bajas, favorecen una mayor diversidad bacteriana en este ecosistema.

Nuestros resultados proporcionan un aporte significativo al conocimiento de la diversidad bacteriana en la Poza La Arenilla. La comprensión microbiológica de este ecosistema ha evolucionado considerablemente a lo largo del tiempo, comenzando con el estudio pionero de Yamashiro et al. (1997), quienes registraron bacterias coliformes fecales utilizando técnicas de cultivo tradicionales. Este estudio fue ampliado por Sánchez et al. (2014), quienes documentaron niveles elevados de coliformes totales y termotolerantes que superaban los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para agua establecidos por el Ministerio del Ambiente (MINAM, 2008). De manera complementaria, investigaciones en ecosistemas similares como la realizada por Rodríguez et al. (2017), en los Humedales de Ventanilla (Callao), confirmaron este patrón de elevados niveles de coliformes que

superan los ECA para agua establecidos por el MINAM (2008).

Adicionalmente, el estudio de Sota et al. (2023) en los Humedales de Huasao (Cusco) encontró altos niveles de contaminación fecal con coliformes totales, *Escherichia coli* y *Enterococcus faecalis* que superaban los ECA para agua (MINAM, 2017).

Si bien los estudios previos se centraron en indicadores de contaminación como los coliformes, es crucial comprender la composición completa de las comunidades bacterianas y su dinámica para implementar estrategias de gestión ambiental. Revisando en la normativa peruana, ECA para agua (MINAM, 2008, 2017), se observa que se establecen parámetros para coliformes termotolerantes y otros indicadores microbiológicos, pero carecen de lineamientos específicos para la caracterización integral de comunidades bacterianas en ecosistemas artificiales como la Poza La Arenilla e incluso en los humedales naturales. Esta ausencia de normativa refuerza la necesidad de desarrollar estudios completos sobre diversidad bacteriana en estos entornos, ya que los microorganismos no solo son indicadores de contaminación, sino que cumplen funciones ecológicas esenciales en los ciclos biogeoquímicos y pueden servir como bioindicadores más precisos del estado ambiental del ecosistema.

Nuestro estudio representa un avance metodológico al implementar tecnologías de secuenciación de nueva generación que permiten caracterizar no solo indicadores específicos de contaminación, sino la estructura completa de la comunidad bacteriana y su dinámica estacional. Por ejemplo, las variaciones estacionales observadas en la diversidad bacteriana de la Poza La Arenilla, muestran similitudes con los hallazgos de Cakin et al. (2025) quienes documentaron fluctuaciones en comunidades bacterianas acuáticas en respuesta a factores ambientales. Estos autores, al igual que nuestro estudio, reportan la dominancia de Proteobacteria en humedales escoceses donde este filo desempeña un papel crucial en procesos biogeoquímicos esenciales como la degradación de materia orgánica y la transformación de nutrientes. Asimismo, Song et al. (2024), en un estudio de un humedal costero de China (humedal costero de Tiaozin), confirmaron al filo Proteobacteria como dominante, gracias a su adaptabilidad a diversos entornos ecológicos dentro del humedal, como diferentes zonas dominadas por distintas especies vegetales, suelos con variaciones en salinidad, distintos rangos de pH, y diferentes contenidos de materia orgánica y nutrientes. Geng et al. (2020) consideran que las Proteobacterias participan en el ciclo de carbono y representa el filo bacteriano más común en el mundo y Hartman et al. (2008) sugirieron su potencial como indicador de calidad ambiental debido a su respuesta ante cambios en el pH del suelo, contenido de carbono orgánico y regímenes de humedad. Diversos estudios consideran la importancia de las Proteobacterias en los procesos de descomposición de materia orgánica y el ciclo de nutrientes. Por ejemplo, diversos estudios destacan el papel fundamental de las Proteobacterias en los procesos ecosistémicos de descomposición de materia orgánica y ciclaje de

nutrientes en humedales. García-Estrada et al. (2024), al investigar las aguadas de la Reserva de la Biósfera de Calakmul en México, identificaron a Proteobacteria como uno de los filos dominantes en sedimentos. Su estudio reveló que la diversidad bacteriana resultó menor en sitios menos perturbados y mayor en áreas con mayor intervención humana. Particularmente relevante fue la identificación de vías metabólicas relacionadas con los ciclos del nitrógeno y azufre. En un contexto urbano similar al de Poza La Arenilla, Castro et al. (2022) estudiaron la comunidad bacteriana del humedal Santa María del Lago en Bogotá, Colombia, un sistema de agua dulce, donde identificaron grupos bacterianos abundantes, incluyendo Proteobacteria, Acidobacteria, Aminicenantas, Bacteroidetes y Chloroflexi. Aunque Proteobacteria representó uno de los filos más frecuentes, los autores encontraron que la composición bacteriana se mantuvo relativamente homogénea entre diferentes zonas del humedal y a lo largo del tiempo. Este patrón de estabilidad comunitaria resulta interesante en ecosistemas urbanos que típicamente enfrentan múltiples presiones antropogénicas. La distribución relativamente homogénea de estos grupos entre diferentes áreas de muestreo sugiere patrones comunitarios consistentes en ecosistemas urbanos perturbados. Complementariamente, Wei et al. (2021), estudiando humedales de flujo superficial en Beijing, China, identificaron una comunidad bacteriana desnitrificante dominada por Proteobacterias no clasificadas (18,16%) y géneros específicos como *Dechloromonas* (16,21%), junto con diversos grupos taxonómicos no clasificados. Este predominio de bacterias asociadas a procesos de desnitrificación señala la importancia de las comunidades bacterianas en la regulación del ciclo del nitrógeno en humedales, función particularmente relevante en ecosistemas sometidos a presiones antropogénicas.

Los filos Campylobacterota y Desulfobacterota, aunque presentes en baja abundancia, se detectaron consistentemente en ambos períodos de muestreo. Estos grupos minoritarios cumplen funciones especializadas en los ciclos del azufre y nitrógeno, lo que sugiere que mantienen nichos ecológicos específicos dentro del ecosistema. En contraste, Actinobacteriota mostró mayor abundancia y ha sido reportado como un componente dominante en diversos sistemas acuáticos (Chen et al., 2018; García-Estrada et al., 2024), participando activamente en la degradación de compuestos carbonados. La coexistencia de grupos abundantes y minoritarios con funciones metabólicas complementarias contribuye a la estabilidad del ecosistema, permitiéndole responder adaptativamente a cambios ambientales. Estos filos, junto con Bacteroidota, han sido registrados en humedales costeros de China, Estados Unidos, Colombia y Australia (Shen et al., 2023), donde cumplen funciones ecológicas específicas. Beazley et al. (2012) identificaron a Proteobacteria, Bacteroidota y Actinobacteriota como degradadores de hidrocarburos en humedales estadounidenses, algo que podría también estar ocurriendo en la Poza La Arenilla, mientras que Morina et al. (2022)

correlacionaron la abundancia de Bacteroidota y Desulfobacterota con mayores concentraciones salinas en humedales estadounidenses.

La comunidad bacteriana de la Poza La Arenilla, caracterizada por géneros formalmente descritos como *Amylibacter*, *Planktomarina* y *Glaciecola*, el género candidato *Candidatus_Actinomarina* y grupos filogenéticos marinos como *HIMB11*, *NS11-12_marine_group*, *OM43_clade*, *SAR86_clade* y *Clade Ia*, representa un ecosistema microbiano único, cuyo estudio es crucial para comprender la biodiversidad de este humedal costero artificial peruano. Estos géneros no solo reflejan la naturaleza transicional del ecosistema entre ambientes marinos y costeros, sino que desempeñan funciones ecosistémicas clave relacionadas con las condiciones fisicoquímicas específicas de cada estación (Tabla 3).

Esta diversidad funcional bacteriana concuerda con lo descrito por García-Estrada et al. (2024), quienes enfatizan que las comunidades microbianas en humedales no solo reflejan las condiciones ambientales predominantes, sino que desempeñan roles cruciales en procesos biogeoquímicos y de biorremediación. Nuestros hallazgos representan una primera aproximación a la comprensión de un componente microbiano que, como señalan Gandhi et al. (2018), permanece en gran parte desconocido en muchos ecosistemas, constituyendo así una contribución científica fundamental para la caracterización ecológica y el manejo de este humedal costero artificial.

El índice de Shannon reveló un incremento significativo en la diversidad bacteriana durante septiembre (3,2 – 3,8) en comparación con junio (2,7 – 3,1), patrón que coincide con lo documentado por Cakin et al. (2025) en humedales costeros. En contraste, Wei et al. (2021) documentaron valores

del índice de Shannon superiores en humedales naturales de flujo superficial en China (3,718 en mayo, 4,303 en agosto y 4,432 en octubre). Esta diferencia podría atribuirse a que nuestro estudio se realizó en un humedal artificial costero, mientras que Wei et al. analizaron humedales naturales con mayor heterogeneidad de hábitats. A pesar de esta distinción, ambos estudios evidencian patrones similares de variación temporal en las comunidades bacterianas, particularmente en la respuesta a factores fisicoquímicos como temperatura, pH y oxígeno disuelto. Wei et al. (2021) identificaron una fuerte correlación entre estos parámetros y la abundancia y diversidad de bacterias desnitrificantes, con predominio de Proteobacterias (18,16%) y géneros especializados como *Dechloromonas* (16,21%) y *Rhodanobacter* (1,51%). El Índice de Simpson mostró alta dominancia en ambos períodos, con valores cercanos a 0.95 en junio, incrementándose ligeramente en septiembre de 0,95 – 1,00 ($p < 0,05$, test de Mann-Whitney). Esta tendencia refleja cómo Proteobacteria mantuvo su predominio, mientras Bacteroidota aumentaba su representación en septiembre, demostrando dinámicas temporales consistentes. En el presente estudio se documentan cambios significativos en la diversidad y composición bacteriana entre junio y septiembre, con mayor riqueza taxonómica y predominio de diferentes géneros según la estación. Esto sugiere que, al igual que en el estudio de Wei et al., las variaciones estacionales en parámetros ambientales, especialmente temperatura y oxigenación, influyen decisivamente en la estructura de las comunidades microbianas, lo que estaría correlacionado con las fluctuaciones estacionales en factores fisicoquímicos que modulan la composición bacteriana, un fenómeno consistente tanto en ecosistemas naturales como artificiales.

Tabla 3

Filos bacterianos dominantes en la Poza La Arenilla. Funciones ecológicas potenciales e importancia de acuerdo a la literatura

Filo	Funciones Ecológicas Potenciales	Importancia en Humedales Costeros	Referencia
Proteobacteria	<ul style="list-style-type: none"> Descomposición de materia orgánica Participación en ciclos del carbono y nitrógeno Degradación de hidrocarburos Transformación de nutrientes Procesos de Biorremediación Adaptabilidad a diversos gradientes ambientales 	Filo más versátil y abundante en humedales costeros. Esencial en el ciclo del carbono, participando activamente en la descomposición de materia orgánica y compuestos orgánicos complejos.	Song et al. (2024); Geng et al. (2020); Hartman et al. (2008)
Bacteroidota	<ul style="list-style-type: none"> Degradación de hidrocarburos Degradación de materia orgánica Biorremediación 	Presente en diversos tipos de humedales costeros y urbanos. Responde significativamente a contaminación por hidrocarburos, mostrando incrementos dramáticos durante eventos de contaminación y posterior disminución al degradarse los contaminantes.	Castro et al. (2022); Beazley et al. (2012)
Actinobacteriota	<ul style="list-style-type: none"> Degradación de carbono mediante glicósido hidrolasas Producción de metabolitos secundarios Síntesis de antibióticos naturales Amplia cobertura funcional metabólica. 	Filo dominante ampliamente distribuido en humedales, con influencia agrícola.	Chen et al. (2018); García-Estrada et al. (2024)
Desulfobacterota	<ul style="list-style-type: none"> Reducción de sulfatos Ciclo del azufre Degradación anaerobia 	Indicador de transición salina en humedales costeros. Aumenta progresivamente con salinización	Morina et al. (2022).

La diversidad microbiana observada en la Poza La Arenilla coincide con patrones encontrados en otros ecosistemas costeros a nivel mundial, lo que resalta la necesidad de este tipo de estudios y su replicación en humedales costeros artificiales para comprender completamente la estructura y función de sus comunidades bacterianas. Esta información es fundamental para desarrollar estrategias efectivas de conservación y manejo, como el biomonitoreo molecular basado en técnicas de *metabarcoding* de ADN ambiental para la detección temprana de cambios en la composición microbiana (Robertson, 2024), la identificación de bioindicadores específicos de calidad ecosistémica que permitan evaluar objetivamente el impacto de intervenciones (Chen et al., 2018), y la implementación de aproximaciones de biorremediación microbiana para degradar contaminantes específicos (Cakin et al., 2024). Además, como sugieren Esser et al. (2024), la ecogenómica de humedales permite evaluar directamente los efectos de cambios en la calidad del agua y medir procesos biogeoquímicos clave como la desnitrificación o la transformación de contaminantes, proporcionando información crucial para estrategias adaptativas de gestión que optimicen los servicios ambientales que este humedal artificial ofrece a la comunidad circundante.

CONCLUSIONES

Desde una perspectiva de gestión ambiental, los resultados obtenidos sugieren la necesidad de incorporar el análisis de diversidad bacteriana en los programas de monitoreo de ecosistemas acuáticos artificiales, complementando los parámetros microbiológicos convencionales establecidos en la normativa peruana. Esta información proporcionaría indicadores más sensibles sobre cambios en la calidad ambiental, permitiendo identificar alteraciones ecosistémicas tempranas y desarrollar estrategias más efectivas para el control de la contaminación y la conservación de estos valiosos ecosistemas.

En este estudio se revela el potencial transformador de las tecnologías de secuenciación de nueva generación para el monitoreo y conservación de humedales costeros artificiales en Perú. A través del *metabarcoding* del gen 16S rRNA completo mediante Oxford Nanopore, hemos identificado una comunidad bacteriana altamente diversa, con patrones estacionales marcados que responden sensiblemente a variaciones en parámetros fisicoquímicos clave.

La comunidad microbiana de este ecosistema, dominada por Proteobacteria (60% - 80%), exhibe una clara diferenciación entre junio y septiembre, con mayor diversidad y riqueza taxonómica durante esta última. El oxígeno disuelto emergió como el principal factor estructurador de la comunidad bacteriana, modulando la distribución de géneros con funciones ecológicas específicas, desde degradadores de hidrocarburos hasta microorganismos fotosintéticos y potenciales bioindicadores de calidad ambiental.

Los perfiles bacterianos identificados constituyen una herramienta de diagnóstico altamente sensi-

ble, capaz de detectar alteraciones ecosistémicas. Esta sensibilidad permite anticipar cambios en la calidad ambiental, facilitando intervenciones preventivas más efectivas y económicas. La incorporación de los análisis de diversidad bacteriana en programas regulares de monitoreo ambiental potenciará significativamente las estrategias de conservación de humedales costeros, proporcionando indicadores precisos sobre el funcionamiento ecosistémico, los ciclos biogeoquímicos y los procesos de contaminación antropogénica. Esta aproximación representa un avance sustancial respecto a los métodos tradicionales basados exclusivamente en coliformes termotolerantes, estableciendo un nuevo estándar para la evaluación integral de la salud ecosistémica en ambientes acuáticos. Futuras investigaciones deberían enfocarse en tres aspectos fundamentales. Primero, sería importante realizar análisis funcionales para entender mejor qué procesos metabólicos realizan estas bacterias, especialmente aquellas relacionadas con la degradación de contaminantes típicos de la zona del Callao. Segundo, necesitamos datos de períodos más largos que incluyan eventos climáticos extremos, ya que durante nuestro estudio no pudimos evaluar el impacto de fenómenos como El Niño. Tercero, sería valioso comparar nuestros resultados con otros humedales cercanos como Ventanilla o Pantanos de Villa para verificar si los patrones observados son consistentes. Este tipo de información permitiría eventualmente desarrollar herramientas de monitoreo más precisas y adaptadas a nuestra realidad costera, contribuyendo así a una mejor gestión de estos importantes ecosistemas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su gratitud al Vicerrectorado de Investigación y Posgrado de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos que a través del proyecto de investigación PCONFIGI INV B23100181 "adAn: prototipo de sistema de monitoreo rápido de biodiversidad usando ADN ambiental (2023)" financió este estudio. También,

reconocemos el apoyo técnico del personal del Laboratorio de Biología Integrativa de la Facultad de Ciencias Biológicas por facilitar el acceso a equipamiento y brindar soporte durante la fase experimental del proyecto.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anaconda Inc. (2025). Conda documentation. <https://www.anaconda.com/docs/main>
- Beazley, M. J., Martinez, R. J., Rajan, S., Powell, J., Piceno, Y. M., Tom, L. M., Andersen, G. L., Hazen, T. C., Van Nostrand, J. D., Zhou, J., Mortazavi, B., & Sobczyk, P. A. (2012). Microbial community analysis of a coastal salt marsh affected by the Deepwater Horizon oil spill. *PLOS ONE*, 7(7), e41305. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0041305>
- Benítez-Páez, A., Portune, K. J., & Sanz, Y. (2016). Species-level resolution of 16S rRNA gene amplicons sequenced through the MinION™ portable nanopore sequencer. *GigaScience*, 5(1), s13742-016-0111-z. <https://doi.org/10.1186/s13742-016-0111-z>
- Bouchiat, C., Ginevra, C., Benito, Y., Gaillard, T., Salord, H., Dauwalder, O., Laurent, F., & Vandenesch, F. (2022). Improving the diagnosis of bacterial infections: Evaluation of 16S rRNA Nanopore metagenomics in culture-negative samples. *Frontiers in Microbiology*, 13, 943441. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.943441>
- Cakin, I., Marcello, L., Morrissey, B., Gaffney, P. P. J., & Taggart, M. A. (2025). Long-term monitoring of constructed wetlands in distilleries in Scotland - Evaluating treatment performance and seasonal microbial dynamics. *Journal of Environmental Management*, 375, Article 124279. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2025.124279>
- Cakin, I., Morrissey, B., Marcello, L., Gaffney, P. P. J., Pap, S., & Taggart, M. A. (2024). A comparison between constructed wetland substrates: Impacts on microbial community and wastewater treatment. *Chemosphere*, 364, Article 143179. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2024.143179>
- Castro, M., Pacheco, M., & Restrepo, M. (2022). Bacterial communities in sediments of an urban wetland in Bogota, Colombia. *Universitas Scientiarum*, 27(2), 163-185. <https://doi.org/10.11144/Javeriana.SC272.bcis>
- Chen, W., Wilkes, G., Khan, I. U. H., Pintar, K. D. M., Thomas, J. L., Lévesque, C. A., Chapados, J. T., Topp, E., & Lapen, D. R. (2018). Aquatic bacterial communities associated with land use and environmental factors in agricultural landscapes using a metabarcoding approach. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2301. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02301>
- Cotillo, A., Podestá, J., Segura-Cobena, E., & Cabanillas, G. (2018). Distribución espacial de las aves playeras limícolas para once zonas descritas en el humedal costero Poza de la Arenilla La Punta, Callao. *The Biologist (Lima)*, 16(1), 119-137. <https://doi.org/10.24039/rbt2018161226>
- Cuscó, A., Catozzi, C., Viñes, J., Sanchez, A., & Francino, O. (2019). Microbiota profiling with long amplicons using Nanopore sequencing: full-length 16S rRNA gene and the 16S-ITS-23S of the rrn operon [version 2; peer review: 2 approved, 3 approved with reservations]. *F1000Research*, 7, 1755. <https://doi.org/10.12688/f1000research.16817.2>
- De Coster, W., D'Hert, S., Schultz, D. T., Cruts, M., & Van Broeckhoven, C. (2018). NanoPack: visualizing and processing long-read sequencing data. *Bioinformatics*, 34(15), 2666-2669. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty149>
- De la Cruz-Leyva, M. C., Zamudio-Maya, M., Corona-Cruz, A. I., González-de la Cruz, J. U., & Rojas-Herrera, R. A. (2015). Importancia y estudios de las comunidades microbianas en los recursos y productos pesqueros. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 2(4), 99-115.
- Ercole, E., Adamo, M., Lumini, E., Fusconi, A., & Mucciarelli, M. (2022). Alpine constructed wetlands: A metagenomic analysis reveals microbial complementary structure. *Science of The Total Environment*, 822, Article 153640. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.153640>
- Esser, M., Brinkmann, M., & Hecker, M. (2024). Solving freshwater conservation challenges through next-generation sequencing approaches. *Environmental Science Advances*, 3(9), 1181-1196. <https://doi.org/10.1039/d4va00112e>
- Gandhi, J. K., Tatu, K., & Kamboj, R. D. (2018). A review of studies on bacterial and fungal diversity in wetland ecosystems.
- reconocemos el apoyo técnico del personal del Laboratorio de Biología Integrativa de la Facultad de Ciencias Biológicas por facilitar el acceso a equipamiento y brindar soporte durante la fase experimental del proyecto.
- García-Estrada, D. A., Selem-Mojica, N., Martínez-Hernández, A., Moreno-Hagelsieb, G., & Escalante, A. E. (2024). Diversity of bacterial communities in wetlands of Calakmul Biosphere Reserve: A comparative analysis between conserved and semi-urbanized zones in pre-Mayan Train era. *BMC Microbiology*, 24, 376. <https://doi.org/10.1186/s12866-024-03523-x>
- Geng, X. D., Zhou, Y., Wang, C. Z., Yu, M. H., & Qian, J. L. (2020). Bacterial community structure and diversity in the soil of three different land use types in a coastal wetland. *Applied Ecology and Environmental Research*, 18(6), 8131-8144. https://doi.org/10.15666/aer/1806_81318144
- Hartman, W. H., Richardson, C. J., Vilgalys, R., & Bruland, G. L. (2008). Environmental and anthropogenic controls over bacterial communities in wetland soils. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(46), 17842-17847. <https://doi.org/10.1073/pnas.0808254105>
- Heikema, A. P., Horst-Kreft, D., Boers, S. A., Jansen, R., Hiltmann, S. D., de Koning, W., Kraaij, R., de Ridder, M. A. J., van Houten, C. B., Bont, L. J., Stubbs, A. P., & Hays, J. P. (2020). Comparison of Illumina versus Nanopore 16S rRNA Gene Sequencing of the Human Nasal Microbiota. *Genes*, 11(9), 1105. <https://doi.org/10.3390/genes11091105>
- Kai, S., Matsuo, Y., Nakagawa, S., Kryukov, K., Matsukawa, S., Tanaka, H., Iwai, T., Imanishi, T., & Hirota, K. (2019). Rapid bacterial identification by direct PCR amplification of 16S rRNA genes using the MinION™ nanopore sequencer. *FEBS Open Bio*, 9(3), 548-557. <https://doi.org/10.1002/2211-5463.12590>
- Lapeña, A. (2023). Spaghetti [Software]. GitHub. <https://github.com/adlape95/Spaghetti>
- Li, H. (2018). Minimap2: pairwise alignment for nucleotide sequences. *Bioinformatics*, 34(18), 3094-3100. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty191>
- Marijon, P., Chikhi, R., & Varré, J.-S. (2020). yacd and fpa: upstream tools for long-read genome assembly. *Bioinformatics*, 36(12), 3894-3896. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btaa262>
- Ministerio del Ambiente. (2008). Decreto Supremo N° 002-2008-MINAM. Aprueban los Estándares Nacionales de Calidad Ambiental para Agua. El Peruano.
- Ministerio del Ambiente. (2017). Decreto Supremo N° 004-2017-MINAM. Aprueban Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para Agua y establecen Disposiciones Complementarias. El Peruano.
- Minitab, LLC. (2023). Minitab Statistical Software. <https://www.minitab.com/en-us/>
- Morina, J. C., & Franklin, R. B. (2022). Intensity and duration of exposure determine prokaryotic community response to salinization in freshwater wetland soils. *Geoderma*, 428, 116138. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2022.116138>
- Narciso-Mezones, A., Merma-Mora, L., Córdova-Rodríguez, K., Rocca, C., & otros. (2025). Foraminiferal assemblages and organic matter relationships in a coastal lagoon on the arid coast of the Southeast Pacific. *Marine Ecology Progress Series*, 754, 17-33. <https://doi.org/10.3354/meps14773>
- Oxford Nanopore Technologies. (s.f.). Experiment companion - MinKNOW. <https://nanoporetech.com/es/document/experiment-companion-minknow>
- Padilla-García, C. Y., Camacho-Sánchez, F. Y., & Reyes-López, M. A. (2021). Metabarcoding de DNA ambiental: un enfoque para el seguimiento de la biodiversidad. *CienciaUAT*, 16(1), 136-149. <https://doi.org/10.29059/cienciauat.v16i1.1509>
- Posit. (2023). Download RStudio Desktop. <https://posit.co/download/rstudio-desktop/>
- Quast, C., Pruesse, E., Yilmaz, P., Gerken, J., Schweer, T., Yarza, P., Peplies, J., & Glöckner, F. O. (2013). The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-

- based tools. *Nucleic Acids Research*, 41(D1), D590-D596. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1219>
- Rieder, J., Kapopoulou, A., Bank, C., & Adrian-Kalchhauser, I. (2023). Metagenomics and metabarcoding experimental choices and their impact on microbial community characterization in freshwater recirculating aquaculture systems. *Environmental Microbiome*, 18(1), Article 8. <https://doi.org/10.1186/s40793-023-00459-z>
- Robertson, C. (2024). Beyond the surface: Enhancing freshwater pond ecosystem assessment through eDNA metabarcoding [Tesis doctoral no publicada]. Cardiff University.
- Rodríguez, R., Retamozo-Chavez, R., Aponte, H., & Valdivia, E. (2017). Evaluación microbiológica de un cuerpo de agua del ACR humedales de Ventanilla (Callao, Perú) y su importancia para la salud pública local. *Ecología Aplicada*, 16(1), 15-21. <https://doi.org/10.21704/rea.v16i1.899>
- Rodríguez-Pérez, H., Ciuffreda, L., & Flores, C. (2020). NanoCLUST: a species-level analysis of 16S rRNA nanopore sequencing data. *Bioinformatics*, 37(11), 1600-1601. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btaa900>
- Sánchez, G., Flores, V., & Henostroza, A. (2014). Calidad ambiental del humedal Poza La Arenilla-Callao, 2008. Informe Instituto del Mar del Perú, 41(1-4).
- Santos, A., van Aerle, R., Barrientos, L., & Martinez-Urtaza, J. (2020). Computational methods for 16S metabarcoding studies using Nanopore sequencing data. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 18, 296-305. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2020.01.005>
- Shen, L., Hu, L., Wu, H., Yan, B., & Song, A. (2023). Microorganisms in coastal wetland sediments: A review on microbial community structure, functional gene, and environmental potential. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1163896. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1163896>
- Smith, A. M., Jain, M., Mulrone, L., Garalde, D. R., & Akeson, M. (2019). Reading canonical and modified nucleobases in 16S ribosomal RNA using nanopore native RNA sequencing. *PLOS ONE*, 14(5), e0216709. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0216709>
- Song, B., Wang, T., Wan, C., Cai, Y., Mao, L., Ge, Z., & Yang, N. (2024). Diversity patterns and drivers of soil bacterial and fungal communities in a muddy coastal wetland of China. *Journal of Fungi*, 10(11), 770. <https://doi.org/10.3390/jof10110770>
- Sota-Cano, A., Cáceres-Vizarreta, A. I., & Anchari-Oblitas, Y. (2023). Caracterización microbiológica del cuerpo de agua de los humedales de Huasao (Oropesa-Cusco, Perú). *Hatun Yachay Wasi*, 2(1), 7-14. <https://doi.org/10.57107/hyw.v2i1.31>
- Szoboszlai, M., Schramm, L., Pinzauti, D., Scerri, J., Sandionigi, A., & Biazio, M. (2023). Nanopore is preferable over Illumina for 16S amplicon sequencing of the gut microbiota when species-level taxonomic classification, accurate estimation of richness, or focus on rare taxa is required. *Microorganisms*, 11(3), 804. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11030804>
- Velazco, F., & Solís, J. (2013). Caracterización de los sedimentos de la Poza La Arenilla - Callao, marzo 2004. Informe Instituto del Mar del Perú, 40(3-4).
- Wei, J., Cui, L., Li, W., Zhang, Y., Wang, J., Lei, Y., Liu, W., Zhang, M., Lei, F., & Wei, Y. (2021). Denitrifying bacterial communities in surface-flow constructed wetlands during different seasons: Characteristics and relationships with environment factors. *Scientific Reports*, 11, 4918. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-82438-3>
- Wick, R. (2017). Porechop: adapter trimmer for Oxford Nanopore reads. GitHub. <https://github.com/rrwick/Porechop/>
- Winand, R., Bogaerts, B., Hoffman, S., Lefevre, L., Delvoe, M., Braekel, J. V., Fu, Q., Roosen, N. H., Keersmaecker, S. C., & Vanneste, K. (2019). Targeting the 16S rRNA gene for bacterial identification in complex mixed samples: Comparative evaluation of second (Illumina) and third (Oxford Nanopore Technologies) generation sequencing technologies. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(1), 298. <https://doi.org/10.3390/ijms21010298>
- Yamashiro, C., Tafur, R., Jacinto, M. E., Morón, O., Lostaunau, N., Delgado, C., Gómez, O., & Arrieta, S. (1997). Determinación de las condiciones bioambientales de la poza La Arenilla, La Punta, Callao. Informe Progresivo Instituto del Mar del Perú, 51(1), 3-26.
- Yeo, K., Connell, J., Bouras, G., Smith, E., Murphy, W., Hodge, J.-C., Krishnan, S., Wormald, P.-J., Valentine, R., Psaltis, A. J., Vreugde, S., & Fenix, K. A. (2024). A comparison between full-length 16S rRNA Oxford nanopore sequencing and Illumina V3-V4 16S rRNA sequencing in head and neck cancer tissues. *Archives of Microbiology*, 206(6), 248. <https://doi.org/10.1007/s00203-024-03985-7>
- Yilmaz, P., Parfrey, L. W., Yarza, P., Gerken, J., Pruesse, E., Quast, C., Schweer, T., Peplies, J., Ludwig, W., & Glöckner, F. O. (2014). The SILVA and "All-species Living Tree Project (LTP)" taxonomic frameworks. *Nucleic Acids Research*, 42(D1), D643-D648. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt1209>
- Zegarra Tello, I. J., Cabrera Carranza, C. F., Tinoco Gómez, O. R., & Moore Torres, R. K. (2025). Contaminación del aire y suelo del humedal marino costero por material particulado de fuentes industriales en el Callao, Perú. *Revista del Instituto de Investigación de la Facultad de Minas, Metalurgia y Ciencias Geográficas*, 28(55), e26394. <https://doi.org/10.15381/iigeo.v28i55.26394>
- Zhang, T., Li, H., Ma, S., Cao, J., Liao, H., Huang, Q., & Chen, W. (2023). The newest Oxford Nanopore R10.4.1 full-length 16S rRNA sequencing enables the accurate resolution of species-level microbial community profiling. *Applied and Environmental Microbiology*, 89(10), e0060523. <https://doi.org/10.1128/aem.00605-23>