UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA ESCUELA DE BIOLOGÍA



DETERMINACIÓN DE CONTAMINACIÓN POR BACTERIAS COLIFORMES FECALES EN BAHÍA DE JIQUILISCO, USULUTAN, UTILIZANDO COMO BIOMONITOR Anadara similis y A. tuberculosa

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR:

DAYSI VERÓNICA SOSA ZELAYA

PARA OPTAR AL GRADO DE:

LICENCIATURA EN BIOLOGIA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA ESCUELA DE BIOLOGÍA



DETERMINACIÓN DE CONTAMINACIÓN POR BACTERIAS COLIFORMES FECALES EN BAHÍA DE JIQUILISCO, USULUTAN, UTILIZANDO COMO BIOMONITOR Anadara similis y A. tuberculosa

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR:

DAYSI VERÓNICA SOSA ZELAYA

PARA OPTAR AL GRADO DE: LICENCIATURA EN BIOLOGIA

ASESOR:		
ASESOR.		
AULUUIN		

M.Sc. OSCAR WILFREDO PAZ QUEVEDO

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA ESCUELA DE BIOLOGÍA



DETERMINACIÓN DE CONTAMINACIÓN POR BACTERIAS COLIFORMES FECALES EN BAHÍA DE JIQUILISCO, USULUTAN, UTILIZANDO COMO BIOMONITOR Anadara similis y A. tuberculosa

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR: DAYSI VERÓNICA SOSA ZELAYA

> PARA OPTAR AL GRADO DE: LICENCIATURA EN BIOLOGIA

JURADO:
Dr. Rigoberto Ayala.
M.Sc. Yanira López Ventura.

AUTORIDADES UNIVERSITARIAS

RECTORA

Dra. MARÍA ISABEL RODRÍGUEZ

SECRETARIA GENERAL Licda. ALICIA MARGARITA RIVAS DE RECINOS

FISCAL GENERAL

Lic. PEDRO ROSALÍO ESCOBAR CASTANEDA

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA DECANO

Dr. JOSÉ HÉCTOR ELÍAS

DIRECTORA ESCUELA DE BIOLOGÍA

M.Sc. ANA MARTHA ZETINO CALDERÓN

AGRADECIMIENTOS

"Bendito sea el señor que ha escuchado mis ruegos, el Señor es mi protector, en Él confié plenamente y Él me ayudó. Mi corazón está alegre; cantaré y daré gracias al Señor" Salmo 28: 6-7.

A Dios todo poderoso:

Por haberme dado la fortaleza y sabiduría para sobrellevar todos los imprevistos a lo largo de mi carrera y ahora puedo verme triunfadora.

A mis tres madres:

Daysi, Aurora y Anastasia por haberme dado todo el apoyo emocional y económico.

A mi novio:

Carlos Enrique López por darme tanto cariño y mantener alegre mi espíritu para soportar los gajes de ser estudiante, además darme todo su apoyo logístico a lo largo de mi carrera y mi tesis.

A mi asesor:

M.Sc. Oscar Wilfredo Paz Quevedo por dirigirme en este importante paso de mi vida.

A mi amigo:

Lic. Jeremías Ezequiel Yanes, por su incondicional amistad que lo caracteriza y apoyo cuando más lo necesité en momentos turbios de mi trabajo.

A mi amigo:

Lic. Wilfredo Fuentes, funcionario del Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Departamento de Informática por su efectiva colaboración con información requerida para mi trabajo.

A mi amiga:

Claudia de Escobar, Funcionaria del Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales, departamento de Patrimonio Natural por brindarme su amistad y ayuda.

A todos mis amigos en general:

Por haberme apoyado, por acompañarme en mis últimos pasos para terminar mi carrera y darme muestras de cariño y amistad compartido muchos momentos gratos.

DEDICATORIA

"Señor, hoy estoy alegre porque me has dado fuerzas; estoy muy alegre por que me has dado la victoria" Salmo 21:1. "Tú señor eres mi fuerza y yo te amo, eres digno de alabanza" Salmo 18:1

A Dios todo poderoso:

Por mostrarme una vez más su infinita misericordia y poner en mi camino a todas esas personas idóneas para guiarme, ayudarme y hacer más fácil mi recorrer por este mundo.

A mi familia:

Porque todos fueron puntos clave en determinados momentos de mi vida y de cierta manera son responsables de lo que he logrado hasta ahora.

A mi misma:

Por que muchas veces me sentí débil y me desesperé pero perseveré y lo logré.

A mis no muy amigos:

Porque muchas veces trataron de ser obstáculo para mi, pero Dios es mi fortaleza y nada me hizo tropezar, ahora me encuentro celebrando mi victoria.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

	INTRO	DUCCION	1
1.	OBJE	TIVOS	5
2.	PLAN	TEAMIENTO DE HIPÓTESIS	6
3.	REVIS	IÓN DE LITERATURA	7
	3.1	Los Estuarios	7
	3.2	Contaminación del agua	8
	3.3	Organismos indicadores de contaminación fecal	10
	3.4	Bivalvos como biomonitores de contaminación fecal	11
	3.5	Técnica de identificación de coliformes en bivalvos	13
4.	METO	DOLOGÍA	15
	4.1	Descripción del área de estudio	15
	4.3	Colecta y manejo de las muestras	15
	4.2	Análisis microbiológico	19
	4.4	Análisis de datos	20
5.	RESU	LTADOS	22
	5.1	Parámetros de Temperatura y Salinidad	22
	5.2	Niveles de bacterias coliformes fecales en Anadara similis	
		y A. tuberculosa	28
6.	DISCU	ISIÓN	32
7.	CONC	LUSIONES	40
8.	. RECOMENDACIONES 4		
9.	BIBLIC	OGRAFIA	44
	ANEX	os	

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO Nº		PAGINA Nº
1.	Datos de temperatura (°C) registrados por zona de muestro. Bahía de Jiquilisco. Abril – Mayo de 2006	22
2.	Datos de salinidad (UPS) registrados por zona de muestro. Bahía de Jiquilisco. Abril – Mayo de 2006	25
3.	Niveles de bacterias coliformes fecales en <i>Anadara</i> similis, y <i>A. tuberculosa</i> (NMP/g). Bahía de Jiquilisco. Primer muestreo. Abril de 2006	28
4	Niveles de bacterias coliformes fecales en <i>Anadara</i> similis, y <i>A. tuberculosa</i> (NMP/g). Bahía de Jiquilisco. Segundo muestreo. Mayo de 2006	29
5	Resultado Prueba x^2 para comparar el nivel de contaminación en los cuatro puntos de muestreo	31

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA Nº		PAGINA Nº
1.	Bahía de Jiquilisco. Ubicación de zonas de muestreo (Círculos) y estaciones (Puntos)	18
2.	Marcha de laboratorio según APHA, 2005	20
3.	Temperaturas en tres estaciones de muestreo. Península San Juan del Gozo, Punta Macahuita. Abril – Mayo de 2006	23
4.	Temperaturas en tres estaciones de muestreo. Puerto El Triunfo, Estero La Tortuga. Abril – Mayo de 2006	23
5.	Temperaturas en tres estaciones de muestreo. Puerto Parada, Estero La Cruz. Abril – Mayo de 2006	24
6.	Temperatura en tres estaciones de muestreo. Desembocadura del Río Grande de San Miguel, Vuelta Botoncillo. Abril – Mayo de 2006	24
7.	Temperatura promedio de las cuatro zonas de muestreo. Bahía de Jiquilisco. Abril – Mayo de 2006	25
8.	Salinidad en tres estaciones de muestreo. Península San Juan del Gozo, Punta Macahuita. Abril – Mayo de 2006	26
9.	Salinidad en tres estaciones de muestreo. Puerto El Triunfo, Estero La Tortuga. Abril – Mayo de 2006	26
10.	Salinidad en tres estaciones de muestreo. Puerto Parada, Estero La Cruz. Abril – Mayo de 2006	27
11.	Salinidad en tres estaciones de muestreo. Desembocadura del Río Grande de San Miguel, Vuelta Botoncillo. Abril – Mayo de 2006	27
12.	Promedio de salinidad de las cuatro zonas de muestreo. Bahía de Jiquilisco. Abril – Mayo de 2006	28
13.	Niveles de contaminación por bacterias coliformes fecales en muestreo 1 y 2. Bahía de Jiguilisco, Abril – Mayo de 2006	29

14. Valores de NMP/ 100 g de molusco encontrados en esta 30 investigación, incluyendo el valor límite contenido en marisco fresco establecido por Administración de Alimentos y farmacéuticos (FDA).....

LISTA DE ANEXOS

1.	Pruebas estadísticas aplicadas para determinar la similitud del comportamiento de los datos en las cuatro zonas de muestreo.	66
2.	Fotos de la Bahía de Jiquilisco	74
3.	CODIGO DE PRÁCTICAS DE HIGIENE PARA MARISCOS MOLUSCOIDES NORMA SALVADOREÑA	78

RESUMEN

Las conchas o "curiles", son constantemente consumidas en nuestro país, por eso es necesario realizar estudios microbiológicos tomando en cuenta estas especies, ya que las aguas donde éstos habitan pueden estar contaminadas con materia fecal, lo cual representa un riesgo para la salud pública. La presente investigación tuvo como objetivo determinar los niveles de contaminación por bacterias coliformes fecales utilizando como biomonitor *Anadara similis* y *A. tuberculosa* en cuatro zonas de la Bahía de Jiquilisco; de donde se tomaron 24 muestras entre abril y mayo de 2006, con las que se realizó un análisis microbiológico según metodología de APHA (2005), recomendada por la Administración de Alimentos y Farmacéutica (FDA por sus siglas en inglés) de los Estados Unidos de América. Para cuantificar los coliformes fecales se utilizó el método convencional del Número Más Probable (NMP/g), mediante la fermentación de caldo Lauril Sulfato (LST).

Los resultados microbiológicos obtenidos en las cuatro zonas sobrepasaron las normas de coliformes en moluscos bivalvos establecidas por el CONACYT de Costa Rica, México y Estados Unidos de América (230 NMP/100 g de molusco); tres de estas zonas mostraron niveles de contaminación con valores que van de los 24,000 a los 30,000 NMP/100 g y sólo una zona de muestreo resultó con bajas concentraciones (800/100 g) de bacterias coliformes fecales en tejido blando de *Anadara* spp. Con los resultados obtenidos se aplicó la prueba Chi-Cuadrado (χ^2) y se determinó que no existen diferencias significativas en los niveles de contaminación por bacterias coliformes fecales entre las zonas de muestreo.

ABSTRAC

The shells or "curiles", constantly are consumed in our country, for that reason it is necessary to make microbiological studies being taken in account these species, since the waters where these live can be contaminated with fecal matter, which represents a risk for the public health. The present investigation had like objective to determine the levels of contamination by fecals coliforms bacteria using like biomonitor *Anadara similis* and *A. tuberculosa* in four zones of the Bay of Jiquilisco; from where April and May of 2006 were taken 24 samples between, with that a microbiological analysis was made according to APHA methodology (2005), recommended by the Administration of Alimentos and Pharmaceutics (FDA) of the United States of America. In order to quantify the fecales coliformes the conventional method of the Most probable Number was used (NMP/g), by means of the fermentation of broth Lauril Sulfato (LST).

The obtained microbiological results in the four zones exceeded the norms of coliformes in bivalvos moluscos established by the CONACYT of Costa Rica, Mexico and the United States of America (230 NMP/100 g of molusco); three of these zones showed levels of contamination with values that go of the 24,000 to 30,000 NMP/100 g and only one zone of sampling was with low concentrations (800/100 g) from fecales coliformes soft weave bacteria from *Anadara* spp. With the obtained results was applied to the Chi-Cuadrado test and it determined that significant differences in the levels of contamination by fecales coliformes bacteria between the zones of sampling do not exist.

INTRODUCCIÓN

Es de vital importancia realizar estudios de contaminación en los ecosistemas estuarinos, ya que éstos albergan algunas de las especies que sirven como alimento al ser humano, es por eso que esta investigación fue encaminada a medir la contaminación por coliformes fecales en la Bahía de Jiquilisco utilizando como biomonitor Anadara similis, y A. tuberculosa lo cual permitió determinar la condición microbiológica de este estuario, y además evidenció la calidad sanitaria de estos moluscos como alimento.

Según MARN (2004), la Bahía de Jiquilisco es una de las zonas estuarinas más grandes de nuestro país, la cual tiene mucha importancia ecológica y económica, ya que sirve de hábitat de muchas especies incluyendo las comerciales. Además plantea, que uno de los problemas más críticos de esta área, es la descarga incontrolada de aguas residuales sin tratamiento.

En el mismo sentido MARN (2002), plantea que la problemática de contaminación en las zonas costeras, es muy compleja; tomando en cuenta que las regiones hidrográficas contribuyen directamente a esta lamentable situación. El Salvador cuenta con unos 360 ríos, entre los cuales se registran como más contaminados el Acelhuate, Suquiapa, Sucio, Grande de San Miguel y Acahuapa, los cuales drenan las aguas residuales de San Salvador, Santa Ana, Santa Tecla, San Miguel y San Vicente respectivamente, los que finalmente desembocan en la costa salvadoreña.

Por su parte UNESCO (2003), plantea que de manera general, todos los ríos que en su recorrido pasan por asentamientos humanos, industrias y agroindustrias, están contaminados, aunque en algunos pocos casos existe algún tratamiento de aguas residuales

Este fenómeno representa un serio peligro para la salud, al consumir alimentos extraídos de los ríos o sus drenajes, que pueden estar contaminados con agentes patógenos. Gonzáles (2004), expresa que entre

los organismos que afectan la calidad de las aguas costeras se encuentran bacterias, virus y parásitos de origen alóctono y bacterias naturales del medio acuático, que pueden estar asociadas con infecciones en el hombre tales como, gastroenteritis y fiebres.

Las bacterias que generalmente representan un riesgo para la salud, son las coliformes fecales; las cuales se encuentran comúnmente en las plantas, el suelo y los animales, incluyendo a los humanos. La presencia de estas bacterias en el suministro de agua es un indicio de que éste puede estar contaminado con material fecal. Generalmente, estas bacterias que llegan a los ecosistemas acuáticos, se encuentran en mayor abundancia en la capa superficial del agua o en los sedimentos del fondo (CIESE, 2005).

APHA (1992), afirma que el grupo de bacterias coliformes incluye los géneros *Escherichia, Enterobacter, Citrobacter y Klebsiella*; y que el número de bacterias coliformes en las descargas fecales llega hasta aproximadamente 200x109 organismos diarios por persona. El nivel de estos organismos en aguas costeras y en los alimentos está relacionado con el grado de contaminación ocasionada por aguas residuales (McJunkin, 1986).

Lo anteriormente planteado, reafirma la importancia de la búsqueda de indicadores de organismos patógenos y considerar su supervivencia en los ecosistemas estuarinos, así como también la implementación y elaboración de estudios que conlleven a reconocer la situación actual que presenta nuestro país con respecto a los niveles de coliformes fecales presente en nuestras costas. Con base a estas necesidades, la presente investigación tuvo como finalidad evidenciar los niveles de contaminación por coliformes fecales utilizando como biomonitor *Anadara similis y A. tuberculosa*.

Estas especies fueron seleccionadas tomando en cuenta que, algunos bivalvos han sido utilizadas mundialmente como biomonitores de contaminación por aguas residuales; y algunas investigaciones han

evidenciado altas concentraciones de patógenos en diferentes especies de dichos moluscos.

Por ejemplo, Šolić et al. (1999), informa que bivalvos recolectados en la costa de Barcelona, España, presentaron niveles de Vibrio vulnificus que oscilan entre 10 y 104 microorganismos por gramo de carne de molusco, y también se determinó una tasa de concentración de coliformes fecales en bivalvos bajo diferentes condiciones ambientales utilizando Mytilus galloprovincialis (mejillón) y Ostrea edulis (ostra). En otro estudio reportado por Gagné et al. (2002), utilizaron como biomonitor los bivalvos mitílidos Elliptio complanata y Dreissena polymorpha para medir respuestas bioquímicas y fisiológicas generadas por la contaminación de agua residuales en el Río San Lorenzo, Canadá.

También Selegman *et al.* (2001), en Detroit, Estados Unidos utilizaron *D. polymorpha* para monitorear niveles de *Escherichia coli* en aguas contaminadas con materia orgánica; por otra parte en Tabasco, México, se realizó un estudio sobre poblaciones de bacterias coliformes presentes en ostiones y se determinaron niveles de organismos coliformes indicadores de contaminación fecal hasta de 2.4 y 106 bacterias por cada gramo de ostión (Rodríguez, 2005).

Romalde (2002), afirma que gran parte de las bacterias patógenas que están concentradas en los moluscos bivalvos, son producto de la actividad humana en las cercanías en que éstos habitan; y la diseminación de éstas se debe fundamentalmente a la falta de tratamientos efectivos de los efluentes cloacales de las poblaciones, potenciado por la capacidad filtrante de los moluscos bivalvos. Estos moluscos son organismos filtradores y se ha demostrado que el flujo que atraviesa su tracto digestivo puede alcanzar los 20 litros en una hora, y como consecuencia retienen todo tipo de partículas sólidas.

El mismo autor menciona que los moluscos actúan como concentradores virales y bacterianos naturales. Aunque esta bioacumulación es pasiva (los virus y bacterias no se multiplican en el interior del molusco), estas partículas se pueden acumular en diferentes órganos y tejidos del molusco donde permanecen estables durante largos períodos de tiempo.

El hecho que muchos moluscos sean consumidos crudos o poco cocinados es una de las causas de que los agentes patógenos lleguen perfectamente viables a los consumidores y sean capaces de producir enfermedad; por lo cual es necesario biomonitorear el ambiente en que éstos habitan (Herrero et al., 1999).

Carballeira et al., (1997), define la biomonitorización ambiental como una disciplina que se encarga del análisis e identificación de sustancias dañinas para el adecuado desarrollo de la vida, y puede tener distintos campos de aplicación de diversos factores sociales, económicos, políticos, ambientales, etc. Una herramienta de esta disciplina son los indicadores ambientales que son utilizados para evaluar los efectos que la actividad humana produce en el ecosistema, por lo que se pueden considerar a las bacterias coliformes como indicadores de contaminación fecal por descargas residuales.

Además menciona que los biomonitores proporcionan una visión integradora de los niveles de microcontaminantes, respondiendo esencialmente a la fracción presente en el medio con una clara relevancia ecotoxicológica. Por lo cual para obtener una imagen de la biodisponibilidad de los contaminantes en un hábitat costero-estuarino o si se requiere una comparación de las magnitudes relativas de diferentes contaminantes en varias localizaciones, es útil el uso de biomonitores.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar los niveles de contaminación por bacterias coliformes fecales en la Bahía de Jiquilisco utilizando como biomonitor *Anadara similis* y *A. tuberculosa*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Estimar el grado de contaminación por bacterias coliformes fecales en cuatro zonas de la Bahía de Jiquilisco, utilizando como biomonitor *Anadara similis* y *A. tuberculosa*.

Comparar los niveles de contaminación por coliformes fecales en *Anadara similis* y *A. tuberculosa* con los estándares internacionales para consumo humano de bivalvos crudos.

Confirmar la utilidad de *Anadara similis* y *A. tuberculosa* como biomonitores de contaminación fecal en ecosistemas estuarinos.

HIPÓTESIS

Hipótesis de investigación

Se encuentra contaminación por bacterias coliformes fecales en la

Bahía de Jiquilisco.

Hipótesis nula

El grado de contaminación por bacterias coliformes fecales en

Anadara similis y A. tuberculosa es similar en todos las áreas de

muestreo.

Hipótesis alternativa

El grado de contaminación por bacterias coliformes fecales en

Anadara similis y A. tuberculosa no es similar en todos las áreas de

muestreo.

Hipótesis estadísticas

Ho: $X_1 = X2 = X3 = ... Xn$

Ha: X1 ≠ X2 ≠ X3 ≠...Xn

6

REVISIÓN DE LITERATURA

IMPORTANCIA DE LOS ESTUARIOS

.Ramírez et al. (2005), manifiestan que los sistemas estuarinos se desarrollan de manera natural, en la franja intermareal de las costas tropicales y subtropicales del planeta, constituyéndose de esta manera en un ecosistema complejo, por la interacción de cientos de especies de todos los niveles taxonómicos, desde microorganismos hasta especies de mamíferos grandes y vistosos.

Por su parte Haamer (1996), sostiene que todas las especies que interactúan en el estuario tienen su nicho específico y funciones determinadas dentro de éste, y además son vitales para la dinámica y funcionamiento de dichos ecosistemas. De los estuarios y de su capacidad para producir nutrientes orgánicos y de servir de criaderos depende la pesca; así también este ecosistema es un filtro biológico que evita la entrada de material suspendido de otros ecosistemas, comportándose como un eslabón entre la vida marítima y la vida terrestre.

Otra importancia de los estuarios, radica en que han sido sitios de preferencia para la colonización por humanos y llevar a cabo actividades industriales, por lo que han recibido altos contenidos de contaminantes (Carral *et al.*, 1995).

En los últimos años se ha dado una sobrepoblación en las zonas estuarinas de la costa pacifica, causando disturbios por el sobre uso de los recursos, esto ha resultado en aguas contaminadas, brote de algas dañinas, pesca poco productiva, pérdida de hábitats, mortandad de peces, crustáceos y vida silvestre en general y otra variedad de problemas, tanto a la salud humana como a los recursos naturales (EPA, 2006).

Estos ecosistemas están sometidos a diferentes factores físico-químicos como la salinidad y la temperatura, los cuales juegan un papel importante para los organismos que albergan. La salinidad depende de diversas condiciones y representa el total de sólidos disueltos en el agua y se mide en Unidades Ponderadas de Salinidad (UPS). Los organismos acuáticos pueden tolerar cierta cantidad de sal en el agua, los niveles muy elevados o muy bajos de salinidad afectan su distribución; los estuarios están sujetos a cambios importantes en el nivel de salinidad, y esto se debe a las mareas diarias y a los cambios estaciónales (SEED 2005).

La temperatura es otro factor abiótico que regula procesos vitales para los organismos vivos; la temperatura ejerce una marcada influencia sobre la reproducción, crecimiento y el estatus fisiológico de todas las entidades vivas. Los microorganismos como grupo (particularmente el grupo de las bacterias) demuestran una capacidad extraordinaria para vivir y reproducirse a lo largo de un amplio rango de temperatura y salinidad, aunque tienen un rango para hacerlo dependiendo de su fisiología, la cual está marcada por grupos taxonómicos (FAO 1997).

En el Salvador la Bahía de Jiquilisco es uno de los estuarios más importantes de nuestro país, ya que sirve como hábitat de miles de aves marino-costeras, así como el único sitio de anidación para algunas de ellas. Igualmente sirve como refugio para varias especies amenazadas entre las que se encuentran: mono araña, tortugas marinas y cocodrilo. Además dentro de la bahía y sus esteros asociados se encuentran importantes bancos de moluscos y crustáceos que sirven como sustento a buena parte de la población local, que es aproximadamente de 100,000 personas (MARN, 2004).

CONTAMINACIÓN DEL AGUA

Odum (1995), define la contaminación como cualquier alteración física, química y biológica del aire, agua, o la tierra que produce daño a los organismos vivos. En la actualidad existe mucha preocupación por el

incremento de problemas de contaminación en general. Al respecto Albert (1990), manifiesta que el desarrollo tecnológico, el crecimiento demográfico, la industrialización y el uso de nuevos métodos de agricultura tecnificada, son factores que contribuyen a que entren al ambiente, de manera continua, cantidades crecientes de un gran número de contaminantes presentando interacciones y efectos adversos, tanto sobre el ambiente mismo como sobre los seres vivos, cuando éstos sobrepasan el umbral depurativo del ecosistema.

OMS (2003), define que un agua está contaminada, cuando su composición o su estado están alterados de tal modo que ya no reúne las condiciones para una u otra utilidad a las que se hubiera destinado en su estado natural.

Salazar-Vallejo (1991) y Frers (2005), manifiestan que el agua se contamina cuando se incorporan materias extrañas, como microorganismos, productos químicos, residuos industriales, materia orgánica y de otros tipos, o aguas residuales; estas materias deterioran la calidad del agua y limitan su uso por humanos y vida silvestre. Las inundaciones, las sequías, la pobreza, la contaminación, el tratamiento inadecuado de los desechos y la insuficiencia de infraestructuras para la desinfección del agua, representan serias amenazas a la salud pública, al desarrollo económico y social de los países en vías de desarrollo.

Sobre esta problemática, Salazar-Vallejo (1991), añade que la contaminación por materia orgánica causa desoxigenación, eutrofización, baja salinidad, propagación de enfermedades y alteración del metabolismo de los organismos expuestos a este tipo de contaminación. Esto se convierte en un grabe problema en El Salvador, ya que según MARN (2002), la mayoría de los ríos se encuentran contaminados con agentes patógenos, potenciado principalmente por factores sociales, culturales y económicos de la población, lo cual contribuye a la descarga incontrolada de aguas residuales; poniendo en riesgo la salud publica.

Miller (2002), expresa que las bacterias patógenas que contaminan el agua y causan enfermedades, se encuentran en las excretas de los seres humanos y de los animales de sangre caliente (mascotas, ganado y animales silvestres) y las que más afectan la salud pública son *Vibrio cholerae*, causante del cólera; *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni* y *Yersinia enterocolitica*, causantes de gastroenteritis agudas y diarreicas; *Salmonella typhi*, que produce fiebres tifoidea y paratifoidea; y *Shigella*, causante de disentería. Estas bacterias llegan a los cursos de agua a través de las descargas de aguas residuales sin tratar o con tratamiento deficiente, del drenaje de lluvias, de las descargas provenientes de plantas de procesamiento de carne de ganado y aves, y de escorrentías que pasan por los corrales de ganado. En las zonas rurales, la práctica de la defecación a campo abierto también constituye una fuente de contaminación de las aguas superficiales.

ORGANISMOS INDICADORES DE CONTAMINACIÓN FECAL

León-Sumatsu (1995) y Urbaneja (2003), manifiestan que existen grupos de organismos marcadores cuya presencia en un alimento o agua indica la posible presencia simultánea de microorganismos patógenos, tales organismos marcadores son denominados indicadores. La utilización de ciertos organismos del grupo coliforme como indicadores de contaminación de origen fecal del agua, y de los alimentos es una práctica establecida desde hace muchos años, primero se aplicaron al agua, después a la leche, helados, moluscos bivalvos y a otros alimentos. El empleo de coliformes como indicadores de organismos patógenos en el agua es una práctica vigente en la actualidad. Los organismos coliformes son buenos indicadores de la calidad higiénica de los alimentos, se basa en la experiencia positiva adquirida en el agua.

Por su parte OPS (1999), manifiesta que existen organismos específicos que han sido empleados o propuestos como indicadores de contaminación fecal, tales como las bacterias coliformes fecales (*Escherichia, Klebsiella y*

Citrobacter) que son un subgrupo de las bacterias coliformes totales, y tienen las mismas propiedades, pero toleran y crecen a una temperatura mayor: 44 - 44.5 °C. Representan las fracciones de coliformes, en general, procedentes de intestinos y materias fecales de humanos y animales de sangre caliente (coliformes termo tolerantes), esto provee información importante sobre la fuente y el tipo de contaminación presente (Harley *et al.*, 1997).

BIVALVOS COMO BIOMONITORES DE CONTAMINACION FECAL

La biomonitorización ambiental es una disciplina que se encarga del análisis e identificación de sustancias dañinas para el adecuado desarrollo de la vida, a través de bioindicadores que son empleados en numerosos campos para el estudio de diversos factores tales como sociales, económicos, políticos, ambientales etc. Los indicadores ambientales son utilizados en estudios dirigidos a evaluar los efectos que la actividad humana produce en el ecosistema (Carballeira *et al.*, 1997).

Los biomonitores cumplen con ciertas características entre las cuales se tienen: ser relevante, por lo cual debe utilizarse especies que ocupen un rol importante en el ecosistema; además deben ser confiables; de amplia distribución; no deben morir ante dosis leves de contaminantes; sus respuestas deben medirse fácilmente y deben ser similares ante niveles de contaminantes equivalentes en lugares diferentes (Walker *et al.*, 2001).

Carballeira et al. (1997), plantean que la biomonitorización se divide en activa y pasiva: La primera consiste en la exposición controlada de organismos o comunidades en condiciones de campo *in situ* mediante técnicas de transplante o en condiciones de laboratorio a través del bioensayo. Este método presenta la ventaja de poder controlar el lugar y periodo de exposición a la contaminación y el índice de condición del monitor (edad, sexo, talla, etc.). La biomonitorización pasiva se caracteriza porque los organismos o comunidades analizadas son autóctonos (nativos) de la zona

de estudio. Además menciona que es importante no confundir los términos de Biomonitor y Bioindicador (ver Anexo1).

Espino et al. (2000), expresan que la flora y fauna acuática crecen y se desarrollan en condiciones físicas y químicas propias del lugar, las alteraciones naturales y antropogénicas del marco ambiental repercutirán en la distribución y sobrevivencia de los organismos. Basándose en este concepto se desarrolla el empleo de indicadores como un método para medir la calidad del agua y los alimentos; uno de los elementos importantes de la metodología es la elección del organismo biomonitor, que en parte está asociado a la contaminación. Frecuentemente se usan microinvertebrados (insectos, moluscos y crustáceos) por su fácil colecta, manejo e identificación; además de que existe, asociada a ellos, mayor información ecológica.

Agregan también, que los peces por su movilidad no son buenos monitores y los protozoarios reaccionan rápidamente pero tienen problemas de identificación y por lo tanto las bases más fáciles para la evaluación de la contaminación son los macroinvertebrados bénticos.

Así mismo, De Wolf (1975); Phillips (1980) y Curran *et al.* (1986), manifiestan que los bivalvos cumplen bien los requisitos necesarios para que puedan ser considerados como buenos monitores de contaminación. Por ese motivo se ha propuesto el uso de *Anadara* spp. en esta investigación.

Herrero et al. (1999), plantean que Anadara tuberculosa constituye uno de los principales moluscos bivalvos de importancia comercial en Centro América. Sinembargo las aguas donde estos organismos se desarrollan presentan peligros directos para el ser humano. Uno de ellos, es la contaminación fecal ya que se ha demostrado que la descarga de las aguas negras en las costas es un riesgo para la salud pública, tanto para quienes se bañan, como para quienes consumen bivalvos.

También mencionan que aunque los virus de animales de sangre caliente no se replican en bivalvos, y pueden ser digeridos por enzimas, son transportados protegidos por macrófagos hacia la musculatura o ser eliminados por las heces. De esta manera los bivalvos pueden actuar como concentradores tanto de bacterias como de virus, aumentando así las posibilidades de infección a la hora de consumirlos crudos o cocidos deficientemente. También informa que la identificación de coliformes fecales, ha sido la prueba que se ha utilizado para evaluar el grado de contaminación fecal de las aguas y de los bivalvos que viven en ellas.

Keen (1971) y Espino *et al.* (2000), afirman que *Anadara* spp. habita en los manglares semienterrada en las raíces por lo que se considera como un indicador de ambientes no contaminados. Además expresan que los moluscos son el grupo de invertebrados con el número de especies más grande y diverso, después de los artrópodos.

La presencia de los microorganismos patógenos en estas especies de bivalvos esta relacionada con el tipo y la forma de alimentarse; al respecto, Rainbow (1984); Frías - Espericueta *et al.* (1999) y Rehnstan (2005), expresan, que la alimentación de estos moluscos, es por filtración y se caracteriza por cilios que recubren las branquias y que revisten la cavidad paleal producen corrientes que atraen el agua hacia el sifón de succión y la expulsan a través del sifón de expulsión; el moco de las branquias y del manto atrapa las pequeñas partículas que se encuentran en el agua, y éstas son transportadas por los cilios hacia los palpos labiales. Las glándulas digestivas tienen tractos incurrentes que transportan el alimento digerido a los túbulos dístales en donde se lleva a cabo la fagocitosis y la digestión intracelular de proteínas y carbohidratos. En estos procesos agentes patógenos que circulan en el agua quedan atrapados en el tejido del molusco.

TÉCNICA DE IDENTIFICACION DE COLIFORMES EN BIVALVOS

La estimación del número de bacterias en los alimentos se utiliza con frecuencia como evaluación retrospectiva de la calidad microbiológica, o para evaluar la presunta "inocuidad" alimentaria. Este procedimiento requiere que se tomen muestras del alimento, se realicen ensayos o análisis microbiológicos y se evalúen los resultados, posiblemente por comparación con criterios microbiológicos ya establecidos (Sanclement, 2006).

Un método muy utilizado para el recuento de coliformes ha sido siempre el Número Más Probable (NMP), pero han ido variando los medios de cultivo, las condiciones y las técnicas a fin de obtener cada vez mayor sensibilidad y precisión hasta hacerlo aceptable como método estándar. Los distintos métodos de NMP para Coliformes Totales se basan, en primera instancia, en una selección de los microorganismos que producen ácido y gas de lactosa a 35.5 °C. Por ello, el primer paso es siempre la siembra en tubos con algún caldo lactosado, con o sin inhibidores, con tubo de fermentación para recoger el gas que pueda producirse. A esto le sigue una confirmación en un medio líquido selectivo y/o una determinación de los coliformes fecales cuya diferenciación se realiza basándose en el hecho que pueda producir gas de lactosa en un medio apropiado, cuando se incuba a 44.5 °C, mientras que los demás coliformes no se desarrollan (Portillo, 2003).

METODOLOGÍA

DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

Según MARN (2004), la Bahía de Jiquilisco pertenece al departamento de Usulután y comprende los municipios de Jiquilisco, Puerto El Triunfo, Usulután, San Dionisio, Concepción Batres y Jucuarán. Posee una superficie total de 31,699 Ha. por lo que constituye la mayor extensión continua de hábitat de humedales del país. Este ecosistema está formado por numerosos esteros y canales, barras de arena y playas, un conjunto de islas de diverso tamaño, manglares, bosques estacionalmente saturados conectados con el manglar como en el caso de Normandía, El Tercio y Chahuantique; es además, una zona de pantanos herbáceos, carrizales y tulares en el lugar donde el Río Grande de San Miguel desemboca en los manglares de la bahía como en el sector oriental de la misma (Samuria).

El mismo autor afirma que se pueden observar árboles de mangle de gran tamaño y excelente estado de conservación. La Bahía de Jiquilisco muestra un nivel de alteración y amenazas inferior al cercano Jaltepeque, la visitación turística es menor y el proceso de desecación y alteración de pantanos es mucho menos marcado, debido fundamentalmente a que ya fueron desecados hace décadas. La presencia de salineras y camaroneras anexas al manglar y construidas a costa de éste en la mayoría de los casos, es un fenómeno común y de enorme importancia económica en la zona.

COLECTA Y MANEJO DE MUESTRAS

En la fase de campo se realizaron tres viajes por sitio, uno de reconocimiento del área y los otros para la colecta de muestras. Los sitios para esta investigación, se seleccionaron con ayuda del personal del Comité de Desarrollo Empresarial y Medio Ambiente Puerto Parada (CODEPA), Usulután, quienes indicaron las zonas donde se extraen conchas en La Bahía de Jiguilisco.

Las zonas ubicadas fueron cuatro, cada una de éstas fue dividida en tres estaciones de muestreo con una distancia de 330 metros una de la otra, a lo largo de un kilómetro (E1, E2 y E3 partiendo de Noreste a Sureste). Estas zonas son: Península San Juan del Gozo (Punta Macahuita W13º 14´32.6´´, N88º38´34.4´´); Puerto el Triunfo (Estero La Tortuga W13º14´51.3´´, N88º33´12.1´´); Puerto Parada (Estero La Cruz W13º14´28.9´´, N88º26´51.1´´) y Desembocadura del Río Grande de San Miguel (Vuelta Botoncillo W13º13´18.4´´, N88º22´20.3´´) (Figura 1). Las coordenadas geográficas de estos sitios se determinaron por medio del Sistema de Posicionamiento Global (GPS por sus siglas en inglés) marca Geko 101.

En las visitas para obtención de muestras se colectó el material vivo que se procesó posteriormente y se realizó con la ayuda de personas que se dedican a esta labor (curileros). Se tomaron 24 muestras en total, doce de las cuales se colectaron entre el 25 y 26 de Abril y las otras doce después de un mes del muestreo inicial, entre el 22 y 23 de mayo. Se extrajo una muestra de 12 conchas en cada estación y se depositaron en huacales plásticos etiquetados adecuadamente, para su transporte al lugar de disección. Además de tomar muestras para el análisis de coliformes fecales se tomaron datos de temperatura (°C.) y salinidad en cada uno de los sitios muestreados; esta última se registró en unidades UPS (Unidades Ponderadas de Salinidad) y se midió con un refractómetro óptico marca ATAGO S-mill-E.

La extracción del tejido blando de *Anadara similis y A. tuberculosa* requirió como primer paso el lavado de la superficie exterior con detergente, luego se les agregó 10 ml de Hipoclorito de Sodio (10%), posteriormente las "conchas" se lavaron con abundante agua potable, para después abrirlas con cuchillo grande. El tejido blando se extrajo con bisturí y pinzas de disección esterilizadas en autoclave Marca Market Forge stme-I, depositando 100 gr de tejido blando y jugos de *Anadara tuberculosa* o *A. similis* en bolsas plásticas esterilizadas. Estas muestras se etiquetaron y se colocaron en una hielera (4°C) para su transporte hacia el Laboratorio de Calidad Integral de la

Fundación Salvadoreña para el Desarrollo Económico y Social (FUSADES) el mismo día de colecta, para su respectivo análisis.

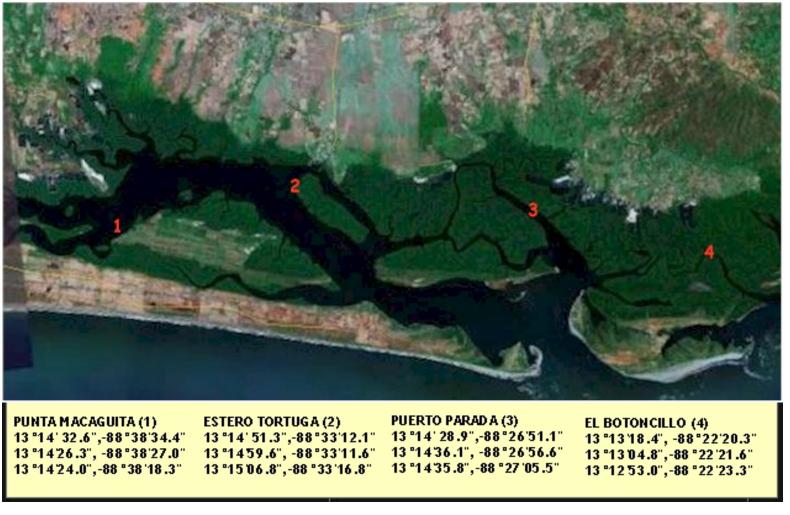


Figura 1. Bahía a Bahía de Jiquilisco. Ubicación de zonas de muestreo. Fuente MARN.

ANALISIS MICROBIOLOGICO

Para el análisis bacteriológico, se utilizó tejido blando de *Anadara similis y Anadara tuberculosa* según metodología de APHA (2005), recomendada por la Administración de Alimentos y Medicina de los Estados Unidos de América (FDA). Para cuantificar los coliformes fecales se utilizó el método convencional del Número Más Probable (NMP/g), mediante la fermentación de caldo Lauril Sulfato (LST) en 3 series de 3 tubos.

Se prepararon tres diluciones: la primera o matriz se hizo con 10-12 bivalvos y se obtuvo 25 g de líquido y carne de éstos, para licuar con un homogenizador de muestras Stomacher 400 por 2 minutos con 225 ml de agua peptonada (0.1%); la segunda dilución se preparó con 10 ml de la dilución matriz y 90 ml de agua peptonada de concentración igual a la anterior y para la tercera dilución se tomaron 10 ml de la segunda dilución y se agregaron 90 ml de agua peptonada con la concentración que se especificó antes.

Se prepararon tres series de tres tubos cada una (una serie por cada dilución), en los tubos de cada serie se agregaron 9 ml de caldo Lauril Sulfato (LST) más 1 ml de la dilución respectiva; es decir, de la dilución matriz se agregó 1 ml a la primera serie de tubos, de la segunda dilución se tomo 1 ml y se colocó en la segunda serie de tubos y de la misma manera se tomó el mismo volumen de la tercera dilución y se depositó en la tercera serie. Estos tubos fueron colocados en incubación a 35 °C por 48 horas, la formación de gas y turbidez en el liquido indicó una prueba positiva (Figura 2).

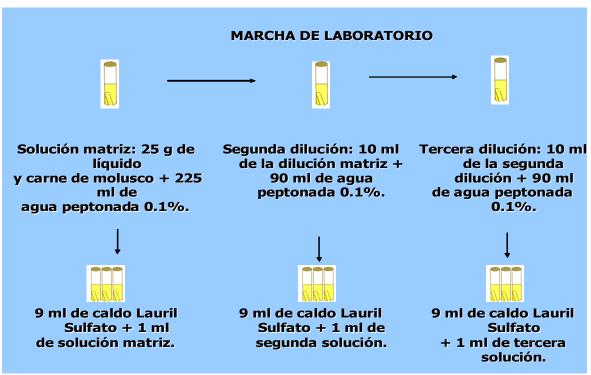


Figura 2. Marcha de laboratorio según APHA, 2005.

De los tubos que resultaron positivos se tomó una muestra con una asa estéril y fueron inoculadas tres series de tres tubos que contenían 9 ml de caldo EC y que posteriormente se incubaron a una temperatura de 44.5 °C por 24-48 horas. Se calculó el NMP según el número de tubos que resultaron positivos (producción de gas y turbidez) con respecto a la tabla de determinación del NMP.

ANÁLISIS DE DATOS

Para los datos de temperatura y salinidad se hizo uso de la estadista descriptiva y se presentan en gráficas para observar las tendencias de las variables.

Para el análisis de los datos microbiológicos se utilizaron los programas estadísticos SX Statistix Versión 3.5 (Analytical Software, 1985-1991); MiniTab 13 for Windows, STATISTICA (Release 6, 2002), e InfosTat (Versión 1.0, 2002); en cada uno de ellos se realizaron análisis de Chi-Cuadrado (χ^2), con un nivel

de significancia de 0.01% para poner a prueba la hipótesis nula planteada en la presente investigación.

Posteriormente, para la confirmación del Chi- cuadradro se realizó la prueba de Diferencia Mínima Significativa (D.M.S.) o (L.S.D.). Se utilizó un Diseño Factorial Simple con una sola variable, con arreglo al azar; debido a que se estudiaba el efecto de una variable independiente (Contaminación por Bacterias Coliformes) sobre una misma variable (Confirmación de Contaminación por Bacterias Coliformes), y la posible interacción que pueda existir entre los sitios de muestreo (4) y las estaciones en cada uno de ellos (3).

RESULTADOS

PARAMETROS DE TEMPERATURA Y SALINDAD

Temperatura

Las temperaturas registradas fueros semejantes en los dos muestreos y en las cuatro zonas de estudio. Vuelta Botoncillo mostró las temperaturas más bajas con un valor mínimo de 23 °C, en tanto que la temperatura más alta fue para el Estero La Cruz, en donde se obtuvo un valor de 28 °C. (Cuadro 1, Figura 3, 4, 5 y 6).

Cuadro 1. Datos de temperatura (°C) registrados por zona de muestro. Bahía de Jiquilisco. Abril – Mayo de 2006.

		Zona de muestreo			
		Península	Puerto El	Puerto	Desembocadura
Nº de	Estación	San Juan del	Triunfo	parada	del Río Grande
muestro		Gozo (Punta	(Estero La	(Estero La	de San Miguel
		Macahuita)	Tortuga)	Cruz)	(Vuelta
					Botoncillo)
	E1	27	26	27	24
1	E2	27	26	28	25
	E3	26	26	26	25
	E1	26	25	26	23
2	E2	26	25	26	23
	E3	25	26	26	23
Temperatura					
Promedio		26.17	25.67	26.5	23.83
por zona					

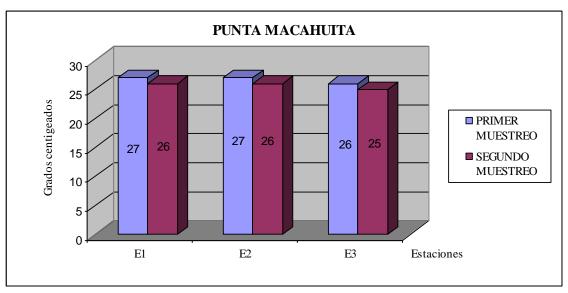


Figura 3. Temperaturas en tres estaciones de muestreo. Península San Juan del Gozo, Punta Macahuita. Abril – Mayo de 2006.

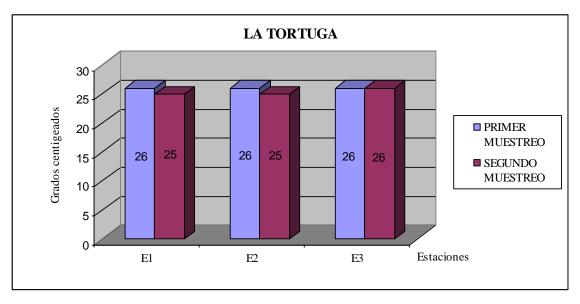


Figura 4. Temperaturas en tres estaciones de muestreo. Puerto El Triunfo, Estero La Tortuga. Abril – Mayo de 2006.

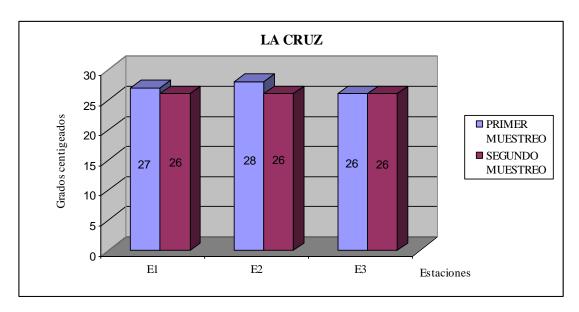


Figura 5. Temperaturas en tres estaciones de muestreo. Puerto Parada, Estero La Cruz. Abril – Mayo de 2006.

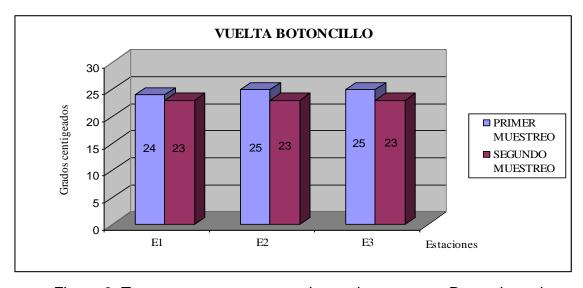


Figura 6. Temperatura en tres estaciones de muestreo. Desembocadura del Río Grande de San Miguel, Vuelta Botoncillo. Abril – Mayo de 2006.

Los datos de temperatura promedio, obtenidos en las dos fases de muestreo en las cuatro zonas reflejan que el menor promedio de temperatura de 23.8 °C. y correspondió a Vuelta Botoncillo, el promedio mayor fue para Estero La Cruz. Con 26.5 °C. (Figura 7).

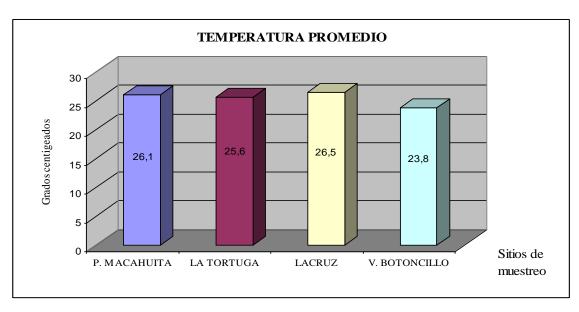


Figura 7. Temperatura promedio de las cuatro zonas de muestreo. Bahía de Jiquilisco. Abril – Mayo de 2006.

Salinidad

En este parámetro hubo diferencias entre los muestreos, los valores más bajos corresponden al número 2 (mayo), además, hubo diferencias entre zonas.

Cuadro 2. Datos de salinidad (UPS) registrados por zona y estación de muestro. Bahía de Jiquilisco. Abril – Mayo de 2006.

		Zona de muestreo			
		Península	Puerto El	Puerto	Desembocadura
Nº de	Estación	San Juan del	Triunfo	parada	del Río Grande
muestro		Gozo (Punta	(Estero La	(Estero La	de San Miguel
		Macahuita)	Tortuga)	Cruz)	(Vuelta
					Botoncillo)
	E1	29	26	29	16
1	E2	29	26	30	14
	E3	30	25	30	11
	E1	28	23	29	12
2	E2	28	24	29	8
	E3	28	24	29	7
Promedio de salinidad por zona		28.67	24.67	29.33	11.33

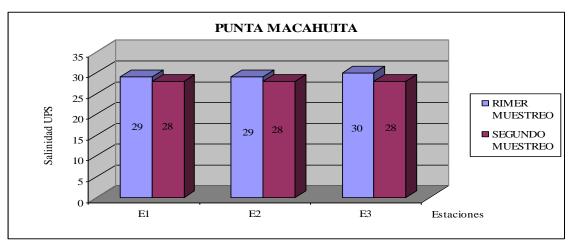


Figura 8. Salinidad en tres estaciones de muestreo. Península San Juan del Gozo, Punta Macahuita. Abril – Mayo de 2006.

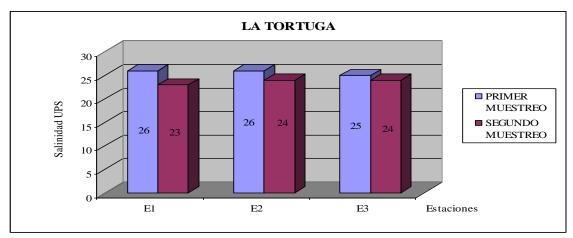


Figura 9. Salinidad en tres estaciones de muestreo. Puerto El Triunfo, Estero La Tortuga. Abril – Mayo de 2006.

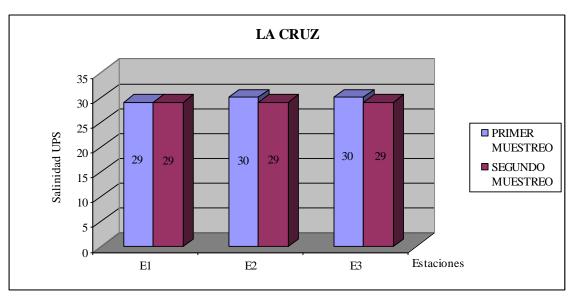


Figura 10. Salinidad en tres estaciones de muestreo. Puerto Parada, Estero La Cruz. Abril – Mayo de 2006.

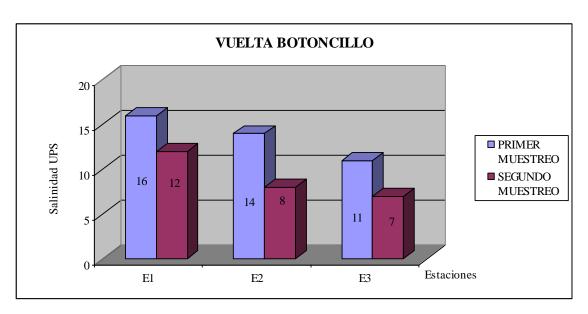


Figura 11. Salinidad en tres estaciones de muestreo. Desembocadura del Río Grande de San Miguel, Vuelta Botoncillo. Abril – Mayo de 2006.

Los promedios de salinidad de las cuatro zonas de muestreo, también fueron diferentes, el menor promedio fue de 11.3 UPS y el mayor fue de 29.3 UPS; éstos correspondieron a Vuelta Botoncillo y Estero La Cruz, respectivamente.

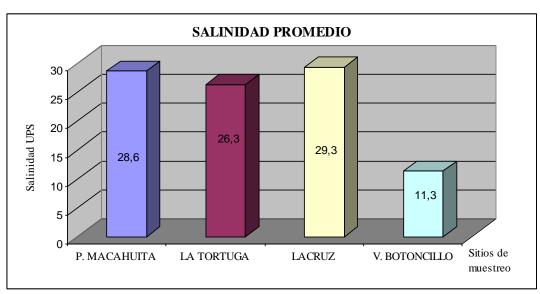


Figura 12. Promedio de salinidad de las cuatro zonas de muestreo. Bahía de Jiquilisco. Abril – Mayo de 2006.

Niveles de bacterias coliformes fecales en *Anadara similis y A.* tuberculosa

Los valores absolutos de los resultados microbiológicos durante el primer muestreo no variaron entre una estación y otra; sin embargo, se observaron variaciones en cuanto a los Números Más Probables (NMP/g) entre zonas de muestreo. El nivel más alto de contaminación se encontró en "Vuelta Botoncillo" (286 NMP/g) y el valor más bajo se obtuvo en "Estero La Cruz" (9 NMP/g) (Cuadro 3).

Cuadro 3. Niveles de bacterias coliformes fecales en *Anadara similis* y *A. tuberculosa* (NMP/g). Bahía de Jiquilisco. Primer muestreo. Abril de 2006.

	ESTACIONES				
ZONA DE MUESTREO	ESTACION	ESTACION	ESTACION		
	1	2	3		
Punta Macahuita	240	240	240		
Estero La Tortuga	260	260	260		
Estero La Cruz	9	9	9		
Vuelta Botoncillo	286	286	286		

En el segundo muestreo, se encontraron leves variaciones entre estación y estación y notorias variaciones entre las zonas de muestreo. El nivel máximo de contaminación se encontró nuevamente en Vuelta botoncillo (300 NMP/g) y el valor más bajo en Estero La Cruz (8 y 9 NMP/G) (Cuadro 4).

Cuadro 4. Niveles de bacterias coliformes fecales en *Anadara similis* y *A. tuberculosa* (NMP/g). Bahía de Jiquilisco. Segundo muestreo. Mayo de 2006.

	ESTACIONES				
ZONA DE MUESTREO	ESTACION	ESTACION	ESTACION		
	1	2	3		
Punta Macahuita	240	239	239		
Estero La Tortuga	265	265	265		
Estero La Cruz	9	9	8		
Vuelta Botoncillo	300	300	300		

Los niveles de bacterias coliformes fecales en las cuatro zonas de estudio, durante los dos muestreos, presentados en MNP/g, indican que Punta Macahuita, Estero La Tortuga y Vuelta Botoncillo presentan un comportamiento similar con valores altos a diferencia de Estero La Cruz que muestra valores significativamente bajos con respecto a las otras zonas de muestreo (Figura 13).

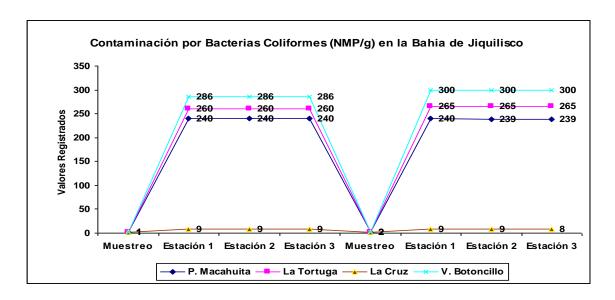


Figura 13. Niveles de contaminación por bacterias coliformes fecales en muestreo 1 y 2. Bahía de Jiquilisco. Abril – Mayo de 2006.

En la figura 14 se muestran los valores de NMP/ 100 g de molusco encontrados en esta investigación, también se incluye el valor límite contenido en marisco fresco establecido por Administración de Alimentos y farmacéuticos (FDA en ingles), de los Estados Unidos es de 230 NMP/ 100 g de molusco.

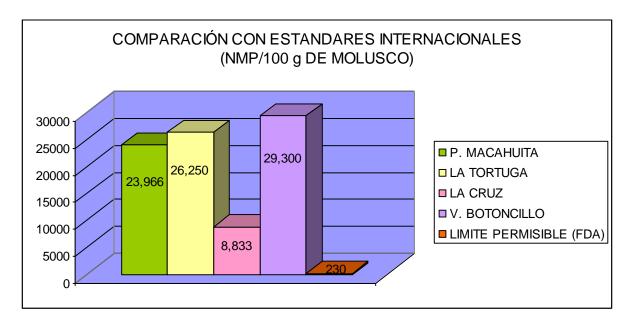


Figura 14. Valores de NMP/ 100 g de molusco encontrados en esta investigación, incluyendo el valor límite contenido en marisco fresco establecido por Administración de Alimentos y farmacéuticos (FDA).

El resultado de la prueba Chi- Cuadrado (χ^2), que se aplicó para comparar el nivel de contaminación por bacterias coliformes fecales en la Bahía de Jiquilisco, para cada muestreo fue de 0.000 para el muestreo 1 (χ^2 = 0.000, gl= 6, p=1.0000) y 1.965⁻⁰³ para el muestreo 2 (χ^2 = 1.965⁻⁰³, gl= 6, p=1.0000). Al realizar una comparación entre el primer y segundo muestreo se obtuvo un valor de 7.849⁻⁰².

Muestreo	Chi- Cuadrado (χ2) calculado	Chi- Cuadrado tabulado	Valor de α	Grados de libertad	Valor de p
Muestreo 1	0.000	16.12	0.01%	6	1.0000
Muestreo 2	1.965-03	16.12	0.01%	6	1.0000
Muestreo1vrs					
muestreo 2	7.849-02	29. 141	0.01%	14	1.0000

Cuadro 5. Resultado Prueba x^2 para comparar el nivel de contaminación en los cuatro puntos de muestreo.

Los análisis estadísticos sugieren que la hipótesis nula NO SE RECHAZA debido a que las diferencias encontradas no son muy grandes, pues los valores obtenidos no son suficientemente diferentes a los valores de significancia preestablecidos para pruebas de laboratorio, los cuales son de 0.01%, sin embargo cada uno de ellos pese a ser muy similar, mantiene su condición de independencia.

El nivel de significancia empleado, ha sido establecido por la Organización Mundial de Estadística, y reconfirmado por Computational Biology; Medical Informatics; Libraries, Medical; Genomic Library y The European and Mediterranean Data Analysis Organization.

DISCUSIÓN

EPA (2005), plantea que entre los beneficios culturales de los estuarios se encuentra la recreación, conocimiento científico, educación, valor estético, navegación y pesca. Éstas, son algunas de las numerosas actividades de las cuales los seres humanos pueden disfrutar en los estuarios. Los estuarios son frecuentemente centros culturales para las comunidades costeras, sirviendo de puntos focales para el comercio local; además, son laboratorios invaluables para científicos y estudiantes, proveyendo innumerables lecciones de Biología, Geología, Química, Física, Historia y otros aspectos sociales.

La Bahía de Jiquilisco, tal como lo mencionan el autor anterior, juega un rol importante para la vida en el territorio nacional, ya que según MARN (2004), esta Bahía es hábitat de muchas especies de peces, crustáceos, moluscos, aves y una gran variedad de vida silvestre, así como también, provee una fuente alimenticia y de ingresos económicos para más de 100,000 personas que viven en la cercanía.

EPA (2005), considera que estos ecosistemas proporcionan relevantes beneficios para la sociedad, a través de estudios, como esta investigación, que proporcionan información para optimizar el buen desarrollo de la vida a través de la salud y demuestran que es posible valernos de especies como *Anadara* spp. para monitorear la calidad microbiológica del ecosistema y la calidad sanitaria de los moluscos bivalvos para el consumo humano, a través de organismos indicadores como las bacterias coliformes fecales.

Al respecto Mölenberg (1978), manifiesta, que en algunos estudios se ha demostrado una tasa rápida de acumulación de bacterias coliformes en las glándulas digestivas de los bivalvos; Haamer (1996), explica que los bivalvos por su capacidad filtradora, pueden atrapar en su tracto digestivo partículas hasta mayores de 7µm.

La supervivencia de estos microorganismos en ecosistemas estuarinos, y como consecuencia en el tracto digestivo de los bivalvos que ahí habitan depende de diversos factores medioambientales, entre los cuales influye como un factor determinante la salinidad y temperatura (Rehnstan, *et al.*, 2005).

En relación a este parámetro, Šolić *et al.* (1999), en un estudio realizado en Croacia demostraron que la temperatura es un aspecto importante en la concentración de coliformes fecales en bivalvos, en un experimento colocaron mejillones y ostras a temperaturas de 12, 18 y 24 °C en agua contaminada, demostrando que en este fenómeno también influye la especie de bivalvo, se tuvo que los mejillones acumularon la mayor concentración de coliformes fecales en menor tiempo a 24 °C, los ostras hicieron lo mismo a 18 °C; mientras que a 12 °C las dos especies tardaron mayor tiempo en acumular la máxima concentración de los microorganismos.

La temperatura registrada en la Bahía de Jiquilisco durante esta investigación, se mantuvo en un rango de 23 °C a 28 °C, se observó una leve disminución de la temperatura en el segundo muestreo y la concentración de coliformes fecales aumento notoriamente en algunos sitios, durante el mismo. Estas temperaturas son similares a la de 24 °C en que Šolić *et al.* (1999), determinó mayor concentración de coliformes fecales en ostiones.

En esta investigación, se observó que la temperatura bajó un poco en el segundo muestreo y la concentración de coliformes en *Anadara* spp subió en casi todos los sitios de muestreo; esto a pesar de que ya habían caído las primeras lluvias; pues según Frías-Espericueta (1998), la acumulación de bacterias en el tejido de los bivalvos se incrementa en el verano y decrece en invierno.

Con respecto a la salinidad se mantuvo en un rango de 7 a 30 UPS, lo cual proporciona condiciones viables para la existencia de bacterias coliformes fecales, ya que según Potasman *et al.* (2002), el límite de tolerancia de salinidad para estos microorganismos es de 5-30 UPS. También existió una marcada disminución en la salinidad en el segundo muestreo.

Este fenómeno de atenuación de los parámetros físico-químicos puede atribuirse a que en la fecha del segundo muestreo ya habían caído las primeras lluvias; y según Herrero et al. (1999), en la época lluviosa se da un efecto de dilución de partículas y disminución de la temperatura. El cambio más drástico de salinidad se dio en Vuelta Botoncillo, esto debido probablemente a que cerca de las estaciones de muestreo de esta zona, desemboca el Río Grande de San Miguel, el cual transporta gran cantidad de agua dulce, esto sumado a la cantidad de precipitación que ya estaba ocurriendo en la fecha del muestreo (mayo de 2006).

La concentración de coliformes fecales en el tejido de *Anadara* spp registrada durante este estudio, ha sido indiscutiblemente alta en todos los puntos de muestreo; tomando en cuenta que los resultados microbiológicos se presentan en NMP/g de molusco, y los estándares internacionales se reportan en NMP/100g de molusco.

En **Punta Macahuita** se registraron niveles de coliformes fecales de 24,000 NMP/100 g de carne y jugo de *Anadara* spp en las muestras tomadas de la estación 1, 2 y 3 del primer muestreo, y de 24,000 NMP/100 g, en la estación 1 y 23,900 NMP/100 g en la estación 2 y 3, para el segundo muestreo, es decir que se tuvo una leve disminución. Estas diferencias pueden estar asociadas a la metodología de campo establecida, ya que la primera muestra se extrajo de muy cerca de la desembocadura de un canal, y las otras dos muestras se extrajeron a 330 y 660 metros de distancia respectivamente, de donde se colectó la primera muestra.

Al respecto, Gutiérrez y Barbosa (2002), expresan que la concentración de contaminantes en organismos bivalvos puede ser explicada por la variación de factores extrínsecos que interactúan (patrón de corrientes, procesos de mezcla de agua de diferentes orígenes, surgencias, productividad, aporte terrígeno por lluvias) que pueden generar diferencias en la concentración de contaminantes en la columna de agua y/o por mecanismos de acumulación, almacenamiento y excreción de contaminantes en los organismos.

El **Estero La Tortuga** se encuentra relativamente cerca de Puerto el Triunfo, aproximadamente a 1 kilómetro y medio frente al puerto, por lo que se considera que esta zona está influenciada por la actividad antropogénica del lugar, Blasco *et al.* 2004, manifiesta que en los ecosistemas que se encuentran sometidos a una fuerte presión antropogénica, derivada del vertido de desechos agrícolas, industriales y urbanos; su lecho actúa como un sumidero de contaminantes orgánicos e inorgánicos. Esto puede reflejarse en los análisis realizados para esta zona, que registraron niveles de contaminación de 26,000 NMP/100 g en las tres estaciones durante el primer muestreo y 26,500 NMP/100 g en el segundo muestreo, un poco mayores, comparados con los obtenidos para Punta Macahuita.

El **Estero La Cruz** se encuentra internado en canales protegidos por vegetación de manglar, relativamente alejado de poblaciones humanas, esto puede ser la explicación del porqué esta zona reflejó los niveles más bajos de contaminación. En el primer muestreo se encontraron niveles de 900 NMP/100 g en las tres estaciones de muestreo y en el segundo 900 NMP/100 g en la estación 1 y 2 y 800 NMP/100 g en la estación 3.

En este estudio, **Vuelta Botoncillo**, mostró los niveles más altos de contaminación con 28,600 NMP/100 g en las tres estaciones del primer muestreo, y 30,000 NMP/100 g en el segundo, coincidiendo en las tres

estaciones. Este resultado puede deberse a que este lugar está muy cerca de la desembocadura del Río Grande de San Miguel y según Portillo (2003), este cuerpo de agua está altamente contaminado por bacterias coliformes fecales, debido a que arrastra una gran cantidad de aguas residuales de la ciudad de San Miguel, y otros caseríos que se encuentran a lo largo de dicha cuenca.

Herrero et al. (1999), plantean que los coliformes han sido utilizados como indicadores sanitarios de la calidad del agua y también para clasificar las áreas de recolección de bivalvos. Estos autores realizaron un estudio de detección de enterovirus y bacterias en bivalvos (Anadara tuberculosa) en Costa Rica, obteniendo resultados muy bajos de coliformes fecales, con valores de < 2 NMP/100 g de molusco. Estos resultados son bajos, comparados con los obtenidos en la presente investigación; ante esto, ellos afirman que los resultados de sus estudios no pueden ser comparados, ya que los conteos fluctúan de mes a mes, argumentando que la diferencia en los valores de los coliformes obtenidos en estudios de los años ochentas y el trabajo realizado por ellos es muy marcada, tomando en cuenta que en la misma zona que ellos realizaron su trabajo, en 1984 determinaron que el agua era inaceptable para el consumo humano y para la recreación, mostrando valores en el número más probable de coliformes fecales entre 64 y 24,000/100 ml de agua y los bivalvos mostraron valores que fluctuaron entre 15,000 y 900,000/100 g. Otro estudio realizado entre 1985 a 1987 demostró que la contaminación era muy alta; por lo tanto, los moluscos que ahí habitaban eran inaceptables para el consumo humano.

Los niveles mínimos (800 NMP/100 g de molusco) y máximos (300,000 NMP/100 g de molusco) de contaminación obtenidos en la presente investigación son superiores a los encontrados en esta misma zona en años anteriores; por ejemplo, estudios bacteriológicos realizados en agua superficial de la Bahía de Jiquilisco, por Sagastizado (1995), evidenciaron que Puerto El

Triunfo es una de las áreas de la Bahía con los niveles más altos de coliformes fecales en aguas, con valores de 1,100 NMP/100 ml.

Por su parte Alegría (1978), quien realizó un análisis bacteriológico de *Anadara tuberculosa* en esta misma Bahía, reporta valores máximos de 1,100 NMP/100 g y un mínimo de 9.1 NMP/100 g, también menciona que Puerto el Triunfo se considera como uno de los principales introductores de materia fecal; la cual es dispersada por la fuerza de las mareas, así mismo menciona que aparte de la contaminación antropogénica, también contribuye a este problema la gran cantidad de aves que defecan constantemente. Esto nos indica que en los últimos años ha habido un alarmante incremento en la presencia de coliformes fecales en la Bahía de Jiquilisco.

CONACYT (2006), plantea que durante muchos años se ha aplicado con buen éxito programas de control de moluscos en varios países utilizando una gran variedad de normas y métodos bacteriológicos, es por eso que se ha tomado como base normas y métodos bacteriológicos actualmente en vigor en varios países desarrollados, considerando que esto podría servir a los países en desarrollo para establecer programas de control de saneamiento, en los moluscos y facilitar información sobre normas y métodos bacteriológicos.

Con respecto a esto podemos decir que cada país tiene un parámetro diferente, aunque no varían drásticamente, por ejemplo, en Italia se considera que los moluscos destinados al consumo humano no debe excederse un NMP de 160/100 g de muestra de molusco, en los Países Bajos y el Reino Unido la norma propone no más de 2 *E. coli*/ml de muestra. Por otro lado la norma de Estados Unidos de Norte América, permite como satisfactorio una densidad de coliformes fecales de no más de 230 NMP por 100 gramos.

En El Salvador no se cuenta con una norma especifica de coliformes para moluscos bivalvos (CONACIT, 2006), es por eso que en esta investigación se

tomó como parámetro las normas para bivalvos de Costa Rica, México y Estados Unidos que consideran no más de 230 NMP/100 g de molusco admisible para consumo humano, lo cual permite afirmar que los resultados de los dos estudios realizados en la Bahía de Jiquilisco por Alegría (1978) y Sagastizado (1995), al igual que los obtenidos en la presente investigación, superan la norma permisible para el consumo humano, pues los valores sobrepasan los 230 NMP/100 g de molusco.

Para la estimación final en cuanto al comportamiento de los datos y para determinar la similitud de los niveles de contaminación en la Bahía de Jiquilisco, se consideraron los 4 casos efectivos, de éstos, todos pudieron ser evaluados por los diferentes programas estadísticos, por lo que convenientemente ningún caso o dato se perdió durante el análisis; esto indica que la contaminación por bacterias coliformes fecales en Bahía de Jiquilisco, Usulután, utilizando como biomonitores a *Anadara similis* y *Anadara tuberculosa* es similar en las estaciones de muestreo, esto apoyado por la prueba de Chi-Cuadrado que refleja valores de 0.000 y 1.965⁻⁰² para el primer y segundo muestreo respectivamente, al comparar ambos muestreos se obtiene un valor de 7.849⁻⁰², todos estos valores son menores a los valores de significancia preestablecidos, lo cual nos sugiere aceptar la hipótesis nula.

Sin embargo, aún cuando se demuestra similitud estadística, todos los sitios tienen un comportamiento independiente, ya que no todos se encuentran en las mismas condiciones de salinidad, temperatura, impacto antropogénico, etc. Esto puede reflejarse en los resultados de Estero La Cruz los cuales son muy bajos comparados a los otros sitios de muestreo, esto podría estar relacionado con el hecho que este lugar esta aislado de los asentamientos humanos, y no tiene desembocaduras de otros cuerpos de agua cerca, y según Hernrot (2000), los lugares que no están directamente influenciados por la actividad humana, muestran niveles de contaminación significativamente mas bajos a diferencia de

los que si lo están. A través de diversos estudios se ha logrado comprobar que donde hay actividad humana hay contaminación.

CONCLUSIONES

- La presencia de coliformes en tejido blando de Anadara spp, indica que hay contaminación microbiologica de carácter fecal.
- La Bahía de Jiquilisco presenta contaminación por bacterias coliformes fecales, y los niveles detectados en esta investigación permiten afirmar que los moluscos bivalvos presentes en este ecosistema no son aptos para el consumo humano.
- La presencia de bacterias coliformes fecales en tejido blando de Anadara spp presentes en esta zona, está estrechamente ligada a la influencia que ejercen las poblaciones humanas que habitan dentro y fuera de la Bahía de Jiquilisco.
- Los parámetros físico-químicos como salinidad y temperatura, y las características hidrológicas, juegan un papel determinante en la presencia de bacterias coliformes.
- Existen diferencias significativas en la presencia de coliformes fecales en tejido blando de *Anadara* spp, en las muestras procedentes de lugares alejados de los asentamientos humanos, comparadas con las de muestras tomadas de lugares con influencia antropogénica directa.
- Los niveles de bacterias coliformes presentes en la Bahía de Jiquilisco han aumentado vertiginosamente, comparados con los obtenidos en otras investigaciones de contaminación por bacterias coliformes fecales realizadas en el pasado en la Bahía de Jiquilisco; esto se demuestra por la enorme diferencia entre los niveles de contaminación encontrados en esa época (1,100 NMP/100 g) y los obtenidos en esta investigación, donde se obtuvieron valores máximos de 30,000 NMP/100 g.

• La época lluviosa, permite que las condiciones físicas-químicas disminuyan, lo cual permite un cambio en la población de bacterias coliformes fecales en tejido blando de *Anadara*.

RECOMENDACIONES

- Desarrollar e implementar plantas de tratamiento para aguas residuales antes de ser descargadas en los cuerpos receptores y de esta manera minimizar el impacto ecológico y social.
- Es recomendable que las entidades responsables de la salud en nuestro país implementen monitorizaciones constantes de contaminación fecal en la Bahía de Jiquilisco y otros estuarios de donde se extraen organismos para comercializarlos, y de esta forma mantener una visión de la calidad microbiológica de los productos alimenticios de consumo humano.
- Llevar a cabo investigaciones de contaminación fecal de la Bahía de Jiquilisco en tejido blando de molusco y al mismo tiempo en agua superficial, para determinar si existe correlación entre los niveles de contaminación.
- Realizar bioensayos con Anadara spp para conocer cuáles son los rangos de salinidad y temperatura óptimos para que esta especie tenga una mayor concentración de bacterias coliformes y sea efectiva su condición de bioacumulador.
- A través de estudios como éste y con ayuda de los estándares internacionales de coliformes fecales en moluscos, crear una norma nacional para el consumo humano en nuestro país.
- Desarrollar otro estudio de coliformes fecales en la Bahía de Jiquilisco utilizando Anadara spp como biomonitores, tomando en cuenta los mismos sitios de colecta de esta investigación, para determinar si los niveles de contaminación. se mantienen o varían.

 Implementar una investigación en la Bahía de Jiquilisco, que comprenda la época seca y lluviosa, para poder observar la tendencia de la concertación de coliformes fecales en el tejido del biomonitor.

BIBLIOGRAFÍA

- ALBERT, L. 1990. Toxicología Ambiental. Curso básico. Editorial Limus. México, D. F. 47-49 p
- ALEGRÍA, J. 1978. Análisis Bacteriológico de muestras de Conchas o Curiles Anadara tuberculosa Sowerby colectadas en La Bahía de Jiquilisco. Escuela de Biología, Facultad de Ciencias y Humanidades. Universidad de El Salvador. (Tesis de Licenciatura), 97 pp.
- AZUCENA, E. & C. LÓPEZ, 2006. "Niveles de Arsénico, Mercurio y Plomo en Sedimento Y Tejido Blando De *Anadara* Spp. En El Estero De Jaltepeque, Departamento De La Paz, El Salvador, 2005" Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Naturales y Matemática. Universidad de El Salvador. (Tesis de Licenciatura), 126 pp.
- BLASCO J.; A. RODRÍGUEZ, & O. CAMPANA. (2004) "Biodisponibilidad de Metales Pesados en el Estuario del Río Guadalete (SO Península Iberica)". *Ciencias Marinas*, 31, 125-135.
- CARRAL E.; X. PUENTE; R. VILLARES & A. CARBALLEIRA (1995)

 "Background heavy metal levels in estuarine sediments and organisms in Galicia (Northwest Spain) as determined by modal analysis". *The Science of the Total Environment*, 172, 175-188.
- CARBALLEIRA A.; E. CARRAL; X. M. PUENTE & R. VILLARES. 1997. Estado de Conservación de la Costa de Galicia. Nutrientes y Metales Pesados en Sedimentos y Organismos Intermareales. Universidad de Santiago Compostela, España. Imprenta Universitaria, Pavillón de Servicios. Campus Sur. Santiago. 107 pp.

- ESPINO, G.; S. HERNÁNDEZ & J. CARVAJAL, 2000. Organismos Indicadores de la Calidad del Agua y de la Contaminación. Editorial Plaza y Valdez. Mexico D.F. 633 pp.
- FRÍAS-ESPERICUETA M.G.; M. A. ORTIZ-ARELLANO; J.I. OSUNA-LÓPEZ & J.A. ROSSO-PAULINO. (1999) "Heavy Metal in the rock Oyster Crassostrea iridenscens (Filibranchia: Ostreidae) from Mazatlan, Sinaloa, Mexico". Revista de Biología Trópical, 47, 843-849.
- GAGNÉ, F. C.; I. BALISE; R. AOYAMA; C. LUO; Y. GAGNON; P. COUILLARD CAMPBELL & M. SALAZAR. 2002. Biomarker study of a municipal efluent dispersion plume in two species of freshwater mussels. *Environmental Toxicology*. Vol 73(3):149-159.
- GUTIÉRREZ-GALINDO E. A. & A. MUÑOZ-BARBOSA (2002) "Variabilidad Geográfica de la concentración de Hg, Co, Fe y Ni en mejillones *Mytilus Californianus* (Conrad, 1837) de la Costa de Baja California". *Ciencias Marinas*, 29, 1-139.
- HAAMER, J. 1996. Improving Water quality in a Eutrophied Fjord System with Mussel Farming. 56 pp.
- HARLEY, J. A. KLEIN & L. PRESCOTT. 1995. Microbiology. Third Edition. Brown Publishers. 935 pp.
- HERNROT, B.; A. LARSSON & EDEBO, L. 2000. Influence on uptake,
 Distribution and Elimination of *Salmonella typhimurium* in the blue
 mussel, *Mytlius edulis*, by the cellsurface properties of the bacteria. *Shellfish* Vol. 19(3): 167-174.

- HERRERO, L., A. PALACIOS, H., LAYA., & F. VEGA. 1999. Ausencia de detección de enterovirus en bivalvos Anadara tuberculosa (Bivalvia: Arcidae) por contaminación química en el Pacífico de Costa Rica. Revista de Biología Tropical. San José, Costa Rica. Vol. 47(3): 419-427
- KEEN, M. 1971. Sea Shells of Tropical West America.2nd Ed. Standford University Press, Stanford, California. 1064 pp.
- MINISTERIO DEL MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES (MARN).
 2002. Informe Nacional del Estado del Medio Ambiente. Editorial
 MARN. San Salvador. El Salvador Centro América. 110 pp.

_____2004.

Inventario Nacional y Diagnostico de Humedales de El Salvador. Editorial MARN. San Salvador. El Salvador. 321pp.

- MCJUNKIN, E.1986. Agua y Salud Humana. Editorial Limusa. México DF. 231 pp.
- MÖLENBERG, F. & H. RIISGARD. 1978. Efficiency of particle retention in 13 species of suspension feeding bivalves. *Ophelia*. Vol. 19(5):239-246.
- MILLER G. 2002. Introducción a la Ciencia Ambiental Desarrollo Sostenible de la Tierra. Editores International Thomson. Madrid .458 pp.
- MOLINA, N. 2004. Contaminación del Agua y Evaluación Económica en el Lago de Ilopango, El Salvador. Escuela de Biología. Facultad de Ciencias

Naturales y Matemática. Universidad de El Salvador. (Tesis de Maestría). 98 pp.

- ODUM, E. 1995. Ecología Peligra la Vida. 200 Edición. Nueva Editorial Interamericana, S.A de C. V. México. D. F 268 pp.
- PORTILLO, Á. 2003. Análisis Cualitativo y Cuantitativo de Coliformes en la Cuenca Media del Río Grande del Departamento de San Miguel. Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Naturales y Matemática. Universidad de El Salvador. (Tesis de Licenciatura), 88 pp.
- POTASMAN, I.; A. PAZ; M. & ODEH 2002. Infectious outbreaks associated with bivalve shellfish consumption. *World wide perspective*. Vol. 8(2):921-928.
- RAINBOW S. P. (1984) "The Biology of Heavy Metals in the Sea". *Marine Pollution Bulletin*, 21, 321-324.
- REHNSTAN, A. & B. HERNROTH 2005. Shellfish and Public Health: A Swedish Perspective. *AMBIO*. Suecia. Vol. 34(2):139-144.
- SAGASTIZADO, M. 1995. Poblaciones de Enterobacterias en Aguas Superficiales y Sedimento Durante la Estación Seca en la Bahía de Jiquilisco, Pp 85-90. *In* J. Zamarro (ed.). Simposium ecosistemas de manglares en el pacifico Centroamericano y su recurso de post-larvas de camarones penidos Editorial programa regional de apoyo al desarrollo de la pesca en el istmo centroamericano (PRADEPESCA) El Salvador.

- SALAZAR-VALLEJO, S. 1991. Contaminación Marina. Editorial Cuadratín y Medio S.A de C.V. México DF. 193 pp.
- SELEGMAN, J., R. KUSSEROW, R. PATEL, T. HEIDTKE & J. RAM. 2001.

 Using Zebra mussels to monitor *Escherichia coli* in environmental waters. *Environ Qual*. 30:171-179.
- SOLIC M.; N. KRSTULOVIC; S. JOZIC; & D. CURAC.1999. The rate of concentration of feacal coliforms in shellfish under differ tenvironmental conditions. *Environment International*, Vol. 25(8):991-1000.
- WALPOLE, R & R. MYRERS 1989. Probabilidad y Estadística para Ingenieros. Editorial Mcgraw-Hil Interamérica de México. México D.F. 729 pp.
- WALKER, C.; S. HOPKIN; R. SIBLI, & D. PEAKALL. 2001. Principles of Ecotoxicology. Taylor & Francis Group. London. 209 pp.

Referencias de Internet.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). 1992. Coliform Group Bacteria. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Disponible en:

http://www.cnawater.com/WhatAreColiformsEColi.html

Analytical Manual, 8th Edition, Revision A, 1998. Chapter 4. Disponible en: http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-4.html#authors

CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA (CONACYT). 2006.

Código de Prácticas de Higiene para Mariscos Moluscoides. Norma

Salvadoreña: Disponible en: http://www.ipfsaph.com/cds_upload/kopool_data/FAOLEX_0/es_els2 7527.pdf

CENTER FOR INNOVATION IN ENGINEERING AND SCIENCE EDUCATION

(CIESE). 2005. Bacterias coliformes. Disponible en:

http://www.k12science.org/curriculum/dipproj2/es/fieldbook/coliform.sh

tml

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA.). 2005. Los Estuarios. Disponible en: URL: http://www.epa.gov/nep/spanish/about1.htm.

 2006. Los Estuarios
Disponible en: http://www.epa.gov/nep/spanish/about1.htm.

- ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y
 LA ALIMENTACIÓN (FAO). 1997. Aseguramiento de la calidad de
 los productos pesqueros. Disponible en:
 http://www.fao.org/DOCREP/003/T1768S/T1768S05.htm
- FRERS, C. 2005 Los Problemas de las Aguas Contaminadas. Disponible en: http://www.ecoportal.net/content/view/full/47048
- GONZÁLES, M. 2004. Calidad Microbiológica de las Aguas Costeras en Climas Tropicales. Disponible en:

 www.mty.itesm.mx/die/ddre/transferencia/transferemcia46/cont46.htm
 .
- MOREA, L. 1997. Las bacterias. Disponible en: http://www.biologia.org/index.php?pid=1000&cat=40&last=0,1,7,40.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS) 2003. Contaminación del Agua. Disponible en:

http://html.rincondelvago.com/contaminacion-del-agua_4.html

RAMÍREZ J.; J. PADILLA; R. DIAZ & L. ARMENTA. Los Estuarios.

Disponible en:

http://www.ilustrados.com/publicaciones/EpZyuZEFkAGVtUoXTR.php

RODRÍGUEZ, H. 2005. Bacterias coliformes en el procesamiento de ostiones (*crassostrea virginica*) en Tabasco, México. Disponible en: biblioweb.dgsca.unam.mx/cienciasdelmar/instituto/1986-1/articulo212.html.

ROMALDE, J. 2002. Implicaciones de la contaminación viral de moluscos para la salud pública. Disponible en:

http://www.consumaseguridad.com/web/es/investigacion/2002/06/27/2
469_print.php

SANCLEMENT, J. 2006. Los bivalvos. Disponible en:

http://images.google.com/imgres?imgurl=marenostrum.org/vidamarina/
animalia/invertebrados/moluscos/cefalopodos/lenguaje/calamares.jpg
&imgrefurl.

SCHLUMBERGER EXCELLENCE IN EDUCATIONAL DEVELOPMENT (SEED).

2005. Proyecto Fluvial de SEED. Disponible en:

http://www.seed.slb.com/es/scictr/journal/environment/river/is54nyc.ht
m

ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA EDUCACIÓN, LA CIENCIA Y LA CULTURA (UNESCO). 2003. Agua y Saneamiento.

Disponible en:

www.wateryear2003.org,Febrero, 2005.

UNIVERSITY CORPORATION FOR ATMOSPHERIC RESEARCH (UCAR).

Estuarios. Disponible en:

http://www.windows.ucar.edu/tour/link=/earth/Water/estuary.sp.html

URBANEJA, S. 2003. Las bacterias .Disponible en:

http://www.monografias.com/trabajos11/bacte/bacte.shtml

Anexos

GLOSARIO

Monitor biológico, o biomonitor: organismo que proporciona la información cuantitativa en la calidad del ambiente alrededor de él. Por lo tanto, un buen biomonitor indicará la presencia del agente contaminador y también procurará proporcionar la información adicional sobre la cantidad y la intensidad de la exposición.

Bioindicador: es un organismo que revela la presencia de los agentes contaminadores. Estos organismos (o las comunidades de organismos) entregan la información sobre alteraciones en el ambiente.

Bioacumulación: es el término general que describe un proceso por el cual los agentes contaminantes son tomados por una planta o un animal directamente de la exposición a un medio contaminado (suelo, sedimento, agua) o comiendo el alimento que contenía el contaminante.

Anexo 2. Pruebas estadísticas aplicadas

Se utilizaron los programas estadísticos SX Statistix Versión 3.5 (Analytical Software, 1985-1991); MiniTab 13 for Windows, STATISTICA (Release 6, 2002), e InfosTat (Versión 1.0, 2002); en cada uno de ellos se realizaron análisis de Chi-Cuadrado (χ^2) para poner a prueba la hipótesis nula planteada en la presente investigación (Ho: X_1 = X2 = X3 =...Xn), para comprobar si existía independencia entre los sitios de muestreo que se establecieron al inicio de la investigación al determinar el valor de $\bf p$ de la prueba, lo que a su vez determinaría la probabilidad de obtener un valor más extremo el cual sería valor de significancia encontrado para el presente diseño experimental.

Prueba de Chi-Cuadrado para Muestreo Uno.

	Old	Estaciones	
	Sitios de Muestreo	l II III	
1	Observado	240 240 240	720
	Esperado	240.00 240.00 240.00	
	Cell Chi Sq	0.00 0.00 0.00	
2	Observado	260 260 260	780
	Esperado	260.00 260.00 260.00	
	Cell Chi Sq	0.00 0.00 0.00	
3	Observado	9 9 9	27
	Esperado	9.00 9.00 9.00	
	Cell Chi Sq	0.00 0.00 0.00	
4	Observado	286 286 286	858
	Esperado	286.00 286.00 286.00	
	Cell Chi Sq	0.00 0.00 0.00	
		795 795 795 2	2385

Prueba Global de Chi Cuadrado 0.000
Valor de P 1.0000
Grados de Libertad 6
Casos Incluidos 12 Casos Perdidos 0

PRUEBAS DE CORRELACIÓN (PRUEBAS DE PEARSON)

I II III

I 1.0000
II 1.0000 1.0000
III 1.0000 1.0000 1.0000

Casos Incluidos 12 Casos Perdidos 0

PRUEBA DE CORRIDA DE DATOS (Muestreo Uno)

Estación uno

Media	240.0
Valores sobre la media	1
Valores debajo de la media	1
Valores vinculados con la media	2
Corridas sobre a la media	1
Corridas debajo de la media	1
Número total de corridas	2
Probabilidad de obtener 2 o menos corridas	1.0000

Cada valor se contaba como un vínculo con la media si su valor absoluto estaba dentro de 1.0⁻⁰⁰⁰⁵.

Casos Incluidos 4 Casos Perdidos 0

Estación Dos

Media		240.0
Valores sobre la media		1
Valores debajo de la media	1	
Valores vinculados con la media		2
Corridas sobre a la media		1
Corridas debajo de la media	1	
Número total de corridas		2
Probabilidad de obtener 2 o menos corridas	;	1.0000

Cada valor se contaba como un vínculo con la media si su valor absoluto estaba dentro de 1.0^{-0005} .

Casos Incluidos 4 Casos Perdidos 0

Estación Tres

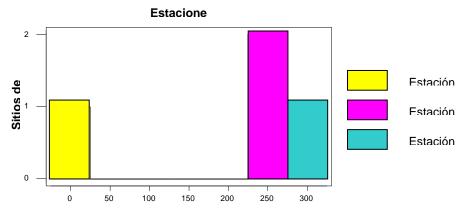
Media		240.0
Valores sobre la media		1
Valores debajo de la media	1	
Valores vinculados con la media		2
Corridas sobre a la media		1
Corridas debajo de la media	1	
Número total de corridas		2
Probabilidad de obtener 2 o menos corridas	;	1.0000

Cada valor se contaba como un vínculo con la media si su valor absoluto estaba dentro de 1.0⁻⁰⁰⁰⁵.

Casos Incluidos 4 Casos Perdidos 0

En el gráfico N°. se presenta la distribución independiente de los valores correlacionados en los puntos de muestreo (4) y sus respectivas estaciones (3); nótese que aunque los valores numéricos fueron los mismos para cada uno, la distribución refleja un punto de posible variabilidad entre la ocurrencia de un dato y otro.

į



Histograma de Frecuencias de la Distribución de Chi-Cuadrado para Muestreo Uno

Prueba de Chi-Cuadrado para Muestreo Dos

Estaciones Sitios de Muestreo Ш Ш 1 Observado 240 239 239 718 Esperado 239.53 239.24 239.24 Cell Chi Sq 0.00 0.00 0.00 2 Observado 265 265 265 795 Esperado 265.22 264.89 264.89 Cell Chi Sq 0.00 0.00 0.00 3 Observado 27 Esperado 9.00 9.00 9.00 Cell Chi Sq 0.00 0.00 0.00 4 Observado 286 900 286 286 Esperado 299.88 300.25 299.88 Cell Chi Sq 0.00 0.00 0.00 814 813 813 2385

Prueba Global de Chi Cuadrado ---- 1.965⁻⁰³

Valor de P ---- 1.0000

Grados de Libertad ----- 6

ļ

Casos Incluidos 12 Casos Perdidos 0

PRUEBAS DE CORRELACIÓN (PRUEBAS DE PEARSON)

I II III I 1.0000 II 1.0000 1.0000

III 1.0000 1.0000 1.0000

Casos Incluidos 12 Casos Perdidos 0

PRUEBA DE CORRIDA DE DATOS (Muestreo Uno)

Estación uno

Media		240.0
Valores sobre la media		1
Valores debajo de la media	1	
Valores vinculados con la media		2
Corridas sobre a la media		1
Corridas debajo de la media	1	
Número total de corridas		2
Probabilidad de obtener 2 o menos corridas	;	1.0000

Cada valor se contaba como un vínculo con la media si su valor absoluto estaba dentro de 1.0^{-0005} .

Casos Incluidos 4 Casos Perdidos 0

Estación Dos

Media		240.0
Valores sobre la media		1
Valores debajo de la media	1	
Valores vinculados con la media		2
Corridas sobre a la media		1
Corridas debajo de la media	1	
Número total de corridas		2

ļ

Probabilidad de obtener 2 o menos corridas 1.0000

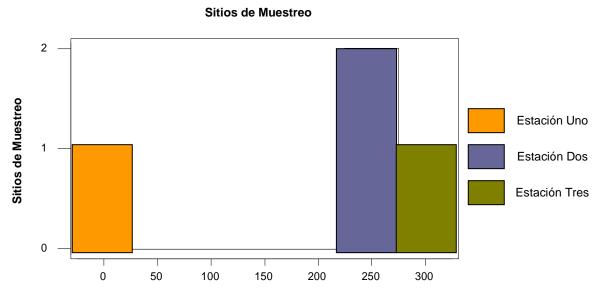
Cada valor se contaba como un vínculo con la media si su valor absoluto estaba dentro de 1.0^{-0005} .

Casos Incluidos 4 Casos Perdidos 0

Estación Tres

Media	240.0
Valores sobre la media	1
Valores debajo de la media	1
Valores vinculados con la media	2
Corridas sobre a la media	1
Corridas debajo de la media	1
Número total de corridas	2
Probabilidad de obtener 2 o menos corridas	1.0000

Cada valor se contaba como un vínculo con la media si su valor absoluto estaba dentro de 1.0⁻⁰⁰⁰⁵. Casos Incluidos 4 Casos Perdidos 0



Histograma de Frecuencias de la Distribución de Chi-Cuadrado para Muestreo Dos

;

Prueba de Independencia de Chi-Cuadrado para Ambos Muestreos

Estaciones

Sitios	de Muestreo		. 1	 	. III	
1	Observado Esperado Cell Chi Sq		240 240.15 0.00	240 240.00 0.00	240 239.85 0.00	720
2	Observado Esperado Cell Chi Sq	-	240 260.16 0.00	240 240.00 0.00	9	780 780 780
3	Observado Esperado 0.00	0.00	9 9.01 9.01 0.	9 8.99 00	9 	+ 27 Cell Chi Sq +
4	Observado Esperado Cell Chi Sq		286 286.18 0.00	286 286.00 0.00	286 285.82 0.00	858
5	Observado Esperado Cell Chi Sq	 		- 239	- 239 239.18 0.00	718 718
6	Observado Esperado Cell Chi Sq		- 265 265.16 0.00	 	265 264.82 0.00	
7	Observado Esperado Sq	0.00	9 8.67 8.67) 0.0	9 8.66	8)	26 Cell Chi
8	Observado Esperado Cell Chi Sq		++ 300 300.19 0.00	300 300.00 0.00	300 299.81 0.00	900

Prueba Global de Chi Cuadrado 7.849⁻⁰²
Valor de P 1.0000
Grados de Libertad 14
Casos Incluidos 24, Casos Perdidos 0

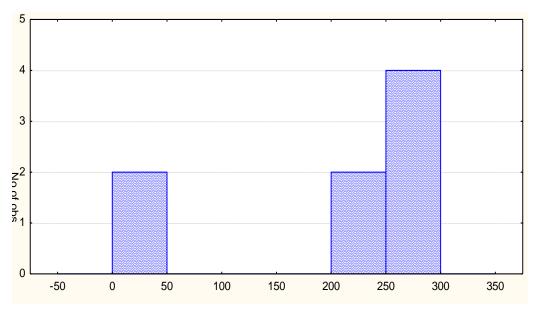


Gráfico comparativo de la prueba de Independencia de Chi-Cuadrado para Ambos Muestreos

Análisis de Regresión para determinar relación numérica entre las diferentes estaciones C1 versus C2; C3

The regression equation is C1 = 0,102 + 0,897 C2 + 0,104 C3

Predictor	Coef	SE Coef	T	P
Constant	0,1020	0,4187	0,24	0,817
C2	0,8965	0,5796	1,55	0,183
C3	0,1037	0,5785	0,18	0,865

$$S = 0,4136$$
 $R-Sq = 100,0%$ $R-Sq(adj) = 100,0%$

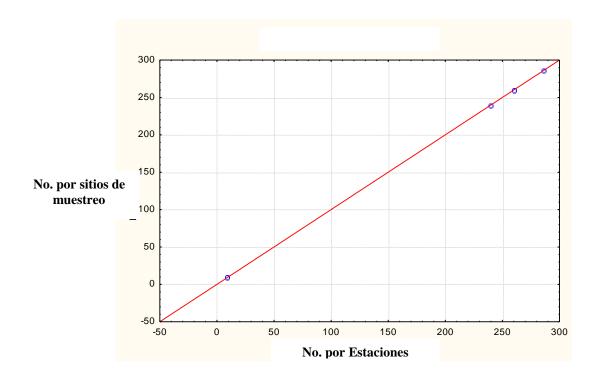
Analysis of Variance

Source	DF	SS	MS	F	P
Regression	2	101372	50686 2	296321,38	0,000
Residual Error	5	1	0		
Total	7	101373			

Unusual Observations

Ubs	C2	CI	F'it	SE Fit	Residual	St Resid
5	239	240,000	239,145	0,157	0,855	2,24R
7	9	9,000	9,000	0,414	0,000	* X

R denotes an observation with a large standardized residual ${\tt X}$ denotes an observation whose ${\tt X}$ value gives it large influence.



	(



Figura 1. Desembocadura de aguas residuales en puerto parada, Bahía de Jiquilisco Usulutan.



Figura 2. Vertido de aguas residuales directamente en el manglar de Puerto El Triunfo, Bahía de Jiquilisco, Usulutan.



Figura 3. Muestra de materia Fecal en manglar de la Bahía de Jiquilisco.



Figura 4. Colecta de muestras de Anadara similis y A. tuberculosa en Bahía de Jiquilisco.



Figura 5. Extracción de tejido blando de *Anadara similis* y *A tuberculosa*.



Figura 6. Entrega de muestras al Laboratorio de Calidad Integral de FUSADES.

1

	(