

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



**BACTERIAS HETERÓTROFAS DE LA ZONA ARRECIFAL DEL ÁREA NATURAL  
PROTEGIDA COMPLEJO LOS CÓBANOS, SONSONATE, EL SALVADOR.**

TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR:

GABRIELA SOFÍA MONTES CARDONA  
VIVIAN LETICIA MÁTAL GÓMEZ

PARA OPTAR AL GRADO DE:

LICENCIADA EN BIOLOGÍA

SAN SALVADOR, CIUDAD UNIVERSITARIA, OCTUBRE DE 2019.

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



**BACTERIAS HETERÓTROFAS DE LA ZONA ARRECIFAL DEL ÁREA NATURAL  
PROTEGIDA COMPLEJO LOS CÓBANOS, SONSONATE, EL SALVADOR.**

TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR:

GABRIELA SOFÍA MONTES CARDONA  
VIVIAN LETICIA MÁTAL GÓMEZ

PARA OPTAR AL GRADO DE:  
LICENCIADA EN BIOLOGÍA

DOCENTE ASESOR:

M.Sc. ZOILA VIRGINIA GUERRERO MENDOZA

ASESORA EXTERNA:

M.Sc. JOHANNA VANESSA SEGOVIA

SAN SALVADOR, CIUDAD UNIVERSITARIA, OCTUBRE DE 2019.

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

**BACTERIAS HETERÓTROFAS DE LA ZONA ARRECIFAL DEL ÁREA NATURAL  
PROTEGIDA COMPLEJO LOS CÓBANOS, SONSONATE, EL SALVADOR.**

TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR:  
GABRIELA SOFÍA MONTES CARDONA  
VIVIAN LETICIA MÁTAL GÓMEZ

PARA OPTAR AL GRADO DE:  
LICENCIADA EN BIOLOGÍA

TRIBUNAL CALIFICADOR:

M.Sc. ZOILA VIRGINIA GUERRERO MENDOZA



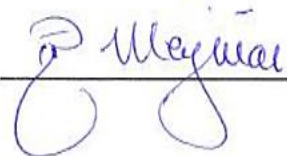
---

M.Sc. AMY ELIETH MORÁN RODRÍGUEZ



---

LIC. RODOLFO FERNÁNDO MENJÍVAR



---

SAN SALVADOR, CIUDAD UNIVERSITARIA, OCTUBRE DE 2019.

AUTORIDADES UNIVERSITARIAS

RECTOR:

MAESTRO ROGER ARMANDO ARIAS ALVARADO

VICE-RECTOR ACADÉMICO:

DR. MANUEL DE JESÚS JOYA ÁBREGO

VICE-RECTOR ADMINISTRATIVO:

ING. NELSON BERNABÉ GRANADOS

SECRETARIO GENERAL:

LIC. CRISTOBAL HERNÁN RÍOS BENÍTEZ

FISCAL:

LIC. RAFAEL HUMBERTO PEÑA MARÍN

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA

DECANO:

LIC. MAURICIO HERNÁN LOVO CÓRDOBA

VICEDECANO:

LIC. CARLOS ANTONIO QUINTANILLA APARICIO

DIRECTORA ESCUELA DE BIOLOGÍA:

M.SC. ANA MARTHA ZETINO CALDERON

SAN SALVADOR, CIUDAD UNIVERSITARIA, OCTUBRE DE 2019.

## DEDICATORIA

A mis padres Oscar Armando Mátal Sánchez y Leticia Bibiana Gómez de Mátal, por el amor incondicional que me mostraron al apoyarme en la elección de la carrera que soñaba realizar.

A mi hermano Oscar Armando Mátal Gómez, por compartir mis desveladas y darme apoyo siempre que lo necesitaba.

A mi familia por siempre apoyarme y estar pendiente de todo el proceso que este trabajo ha tomado.

A mis seres queridos, que partieron a reunirse con Dios en el período que se realizó este trabajo, pero que siempre me mostraron su amor.

Todos ellos son un ejemplo de trabajo arduo y sabiduría. Son la fuerza que me mantuvo en esta etapa de mi carrera y la que me mantendrá en toda mi vida.

*For the ones who dream of stranger worlds. For the ones who fight their way forward. For the ones who've found their way home. V.E. Schwab.*

**Vivian Leticia Mátal Gómez**

A mis padres con quienes desde el inicio de mi carrera he contado con su apoyo: Ana María Cardona quien ha sido luz en mi vida y Mario Ernesto Montes quien me ha enseñado el verdadero significado de la fortaleza y la perseverancia ambos han sido un pilar fundamental para toda la carrera y para poder concluir esta etapa de mi vida.

A mi tío quien me ha enseñado a ver el mundo de otra manera y la importancia de la organización.

A todos mis seres queridos quienes me apoyaron si en algún momento sentí que tambaleaba y me hicieron sonreír y ver los problemas desde otra perspectiva.

Mi mamá desde el principio de la carrera me dijo "a lo que decidas dedicarte que te apasione, que te haga feliz" y pues nunca me voy a arrepentir de haber estudiado biología, he aprendido tanto de la carrera como de las personas que están en la institución como mis compañeros que conocí a lo largo de la carrera, que sé que puedo llamar amigos.

*"Nada en este mundo debe ser temido, solo entendido. Ahora es el momento de comprender más, para que podamos temer menos" Marie Curie*

**Gabriela Sofía Montes Cardona**

## AGRADECIMIENTOS

A Dios por guiarnos y ayudarnos a culminar esta carrea. Por darnos el honor de conocer a los docentes y amigos que nos apoyaron durante el proceso de este proyecto de graduación.

A nuestras asesoras M.Sc. Zoila Virginia Guerrero Mendoza y M.Sc. Johanna Vanessa Segovia quienes con sus conocimientos enriquecieron nuestra investigación y con su paciencia y dedicación hicieron correcciones para que el proyecto sea un éxito.

A nuestro Tribunal calificador MSc. Amy Elieth Morán y Lic. Rodolfo Fernando Menjívar por su conocimiento y consejos para la realización de este proyecto.

Al equipo de guarda recursos del ANP Complejo Los Cóbano que nos acompañaron en la recolecta de muestras y toma de datos durante la fase de campo, sin ellos hubiera sido difícil encontrar los sitios de muestreo.

Al Instituto de Ciencias del Mar y Limnología (ICMARES) por la formación que nos ha dado y por el equipo prestado para la fase de campo y laboratorio. Gracias por su apoyo.

A la Secretaria de Investigaciones Científicas de la Universidad de El Salvador (SIC-UES) proyecto 13.10: Programa de monitoreo de arrecifes rocosos y de coral para El Salvador por el apoyo en la logística de la fase de campo.

Al personal del Laboratorio de Control de Calidad Microbiológico de Alimentos, Medicamentos y Aguas del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD); por brindarnos sus conocimientos, materiales y el equipo necesario para realizar la fase de laboratorio de este proyecto.

A la Escuela de Biología de la Universidad de El Salvador, por la formación académica brindada durante la carrera.

A nuestros amigos, quienes nos apoyaron en todo el proceso de formación académica, sin su ánimo no hubiera sido lo mismo. Especialmente a Gabriela López por acompañarnos a todos los muestreos; a Marilu Menjívar y Sofía Figueroa por ayudarnos en la fase de laboratorio.

# ÍNDICE DE CONTENIDOS

## CONTENIDO

---

Índice de tablas.....	xiii
Índice de figuras.....	xiv
Índice de gráficos.....	xvi
Índice de anexos.....	xviii
Resumen.....	xx
1 Introducción .....	1
2 Objetivos.....	3
2.1 Objetivo general.....	3
2.2 Objetivos específicos.....	3
3 Marco teórico .....	4
3.1 Microorganismos en el ambiente marino. ....	4
3.2 Factores fisicoquímicos que influyen en la distribución de las bacterias en el ambiente marino.....	5
3.2.1 Luz.....	5
3.2.2 Temperatura. ....	5
3.2.3 Salinidad.....	6
3.2.4 pH.....	7
3.2.5 Oxígeno disuelto (O <sub>2</sub> ). ....	7
3.2.6 Presión hidrostática. ....	9
3.2.7 Nutrientes orgánicos.....	9
3.2.8 Nutrientes inorgánicos.....	10
3.2.9 Corrientes marinas y mareas. ....	10



3.2.10	Sólidos totales disueltos.....	11
3.2.11	Nitrificación y desnitrificación.....	11
3.3	Holobionte en los corales.....	12
3.3.1	Establecimiento y mantenimiento de la simbiosis dentro del holobionte del coral.	12
3.4	Hábitats de microorganismos dentro de los corales.....	13
3.4.1	Mucus del coral.....	14
3.4.2	Tejido del coral.....	15
3.4.3	Cavidad gástrica.....	15
3.4.4	Esqueleto del coral.....	15
3.5	Microorganismos en el agua circundante de los arrecifes de coral.....	15
3.6	Importancia de los microorganismos en los arrecifes de coral.....	16
3.7	Distribución y abundancia de bacterias heterótrofas.....	16
3.8	Distribución y abundancia de <i>Vibrio spp.</i> ....	18
3.9	Enfermedades de los corales causados por <i>Vibrio spp.</i> .....	20
4	Metodología.....	22
4.1	Fase de campo.....	22
4.1.1	Descripción del área de muestreo.....	22
4.1.2	Sitios de toma de muestras.....	24
4.1.2.1	Salinitas.....	24
4.1.2.2	Punta Remedios.....	25
4.1.2.3	El Flor.....	25
4.1.3	Frecuencia de muestreos.....	27
4.1.4	Colecta de muestra de agua.....	27

4.1.5	Transporte de la muestra.....	28
4.2	Fase de laboratorio. ....	29
4.2.1	Reactivos y medios de cultivo. ....	29
4.2.1.1	Agar marino 2216E (Oppenheimer y ZoBell 1952).....	29
4.2.1.2	Agar Tiosulfato Citrato Bilis Sacarosa (TCBS).....	29
4.2.1.3	Agar Tripticasa Soya (TSA) + 2 %, 3% y 8% de NaCl. ....	29
4.2.1.4	Agar Cetrimida.....	29
4.2.1.5	Agua Peptonada marina.....	30
4.2.2	Procesamiento de las muestras. ....	30
4.2.2.1	Método de siembra para bacterias heterótrofas y <i>Vibrio spp</i> .....	31
4.2.2.2	Incubación y conteo de colonias. ....	31
4.2.3	Confirmación de colonias de <i>Vibrio spp</i> . ....	31
4.2.3.1	TSA normal + 2%, 3% y 8% de NaCl. ....	31
4.2.3.2	Agar cetrimida.....	32
4.2.3.3	Tinción de Gram.....	33
4.2.3.4	Prueba de oxidasa.....	35
4.2.3.5	Pruebas Api 20 NE.....	36
4.2.3.5.1	Preparación de inóculo.....	36
4.2.3.5.2	Preparación de la galería. ....	36
4.2.3.5.3	Inoculación de la galería. ....	36
4.2.3.5.4	Lectura de la galería.....	38
4.2.3.5.5	Interpretación de la galería.....	38
4.2.4	Toma de parámetros fisicoquímicos.....	39
4.3	Análisis estadísticos de los datos.....	39

5	Resultados .....	40
5.1	Concentración de bacterias heterótrofas .....	40
5.2	Concentración de <i>Vibrio spp.</i> ....	41
5.3	Comparación de la concentración de bacterias heterótrofas y <i>Vibrio spp.</i> en la zona arrecifal del ANP Complejo Los Cóbano. ....	42
5.3.1	Concentración total de bacterias heterótrofas y <i>Vibrio spp.</i> ....	42
5.3.2	Concentración de bacterias heterótrofas y <i>Vibrio spp.</i> en las playas El Flor, Punta Remedios y Salinitas.....	43
5.3.3	Concentración de bacterias heterótrofas y <i>Vibrio spp.</i> de febrero a abril.....	44
5.3.4	Concentración de bacterias heterótrofas y <i>Vibrio spp.</i> según la distancia de la costa. 45	
5.3.4.1	Concentración de bacterias heterótrofas y <i>Vibrio spp.</i> según la distancia de la costa y la playa.....	46
5.3.5	Concentración de bacterias heterótrofas y <i>Vibrio spp.</i> en la columna de agua.....	48
5.3.5.1	Concentración de bacterias heterótrofas y <i>Vibrio spp.</i> en la columna de agua de la playa El Flor. ....	49
5.3.5.2	Concentración de bacterias heterótrofas y <i>Vibrio spp.</i> en la columna de agua de la playa Punta Remedios.....	50
5.3.5.3	Concentración de bacterias heterótrofas y <i>Vibrio spp.</i> en la columna de agua de la playa Salinitas.....	51
5.4	Verificación de colonias presuntivas de <i>Vibrio spp.</i> mediante el sistema de identificación pruebas API 20 NE. ....	52
5.5	Análisis de parámetros fisicoquímicos. ....	52
5.5.1	Playas .....	52
5.5.2	Meses.....	53
5.5.3	Distancia de la costa .....	53

5.5.4	Columna de agua .....	53
5.6	Relación de los parámetros fisicoquímicos con la concentración de bacterias heterótrofas y <i>Vibrio spp.</i> .....	58
5.6.1	Análisis de componentes principales (ACP) .....	59
5.6.2	Análisis de Similitud (ANOSIM) y Porcentaje de Similitud (SIMPER). .....	62
6	Discusión de resultados .....	63
7	Conclusiones.....	71
8	Recomendaciones.....	72
9	Referencias Bibliográficas.....	74
10	Anexos.....	88
11	Siglas y abreviaturas.....	102
12	Glosario .....	104

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Clasificación de los microorganismos según las temperaturas cardinales. ....	6
<b>Tabla 2.</b> Muestras de agua recolectadas en los puntos de muestreo por playas. ....	28
<b>Tabla 3.</b> Correlación de Pearson y prueba de significancia estadística (nivel de confianza: 95%) de las variables fisicoquímicas y concentraciones de bacterias heterótrofas y <i>Vibrio</i> spp. T°= temperatura, OD=oxígeno disuelto, BH= Bacterias heterótrofas. ....	58
<b>Tabla 4.</b> Valores de los componentes principales uno y dos de los parámetros fisicoquímicos y bacteriológicos de los sitios de muestreo para el ANP Complejo Los Cóbanos en los meses de febrero-abril. ....	59
<b>Tabla 5.</b> Disimilitud media y la contribución acumulada de los taxa responsables de las diferencias entre los grupos “A” y “C” según lo determinado por SIMPER. ....	62
<b>Tabla 6.</b> Disimilitud media y la contribución acumulada de los taxa responsables de las diferencias entre los grupos “A” y “B” según lo determinado por SIMPER. ....	62

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Función de los microorganismos en el flujo de nutrientes del ciclo biogeoquímico. Tomado de Buchan et al. 2014. ....	4
<b>Figura 2.</b> Zonas oceánicas. ....	8
<b>Figura 3.</b> a) Una representación esquemática de un pólipo de coral y (b) su microestructura detallada que representa microhábitats incluyendo la capa superficial del mucus (SML), capas de tejido (epidermis, mesoglea, gastrodermis), cavidad gástrica (coelenteron), calicodermis, y esqueleto.....	14
<b>Figura 4.</b> Infección del coral <i>Oculina patagonica</i> por <i>Vibrio shiloi</i> . ....	21
<b>Figura 5.</b> Sistema arrecifal del Área Natural Protegida Complejo Los Cóbanos. ....	23
<b>Figura 6.</b> A) arrecifes de coral con presencia de los corales hermatípicos <i>Porites lobata</i> y <i>Pocillopora</i> spp., B) comunidades de coral sobre sustrato basalto. Fotografías de Johanna Segovia.....	24
<b>Figura 7.</b> Sitios de muestreo en campo frente a las playas: 1) Salinitas, 2) Punta Remedios y 3) El Flor; a las distancias de la costa A) 200 m, B) 400 m y C) 600 m en el ANP Complejo Los Cóbanos, Sonsonate.....	26
<b>Figura 8.</b> A) Toma de muestras utilizando la botella Kemmerer SS, B) Transferencia de la muestra a los frascos. ....	27
<b>Figura 9.</b> Frascos estériles. ....	28
<b>Figura 10.</b> Ajuste de pH con los reactivos de HCl y NaOH.....	30
<b>Figura 11.</b> A) Incubación de las cajas petri a una temperatura de 35 °C, B) Conteo de colonias. ....	31
<b>Figura 12.</b> Resiembra de colonias en tubos inclinados de agar TSA.....	32
<b>Figura 13.</b> Preparación de la muestra: A) Rotulación de los portaobjetos, B) Transferencia de la muestra. ....	33
<b>Figura 14.</b> A) Colocación de los portaobjetos en una bandeja de tinción, B) Adición del cristal violeta, C) Enjuague de los portaobjetos, D) Adición del Lugol, E) Adición de acetona y F) Adición de safranina a los portaobjetos.....	34
<b>Figura 15.</b> Examinación de las preparaciones. ....	35

<b>Figura 16.</b> A) Materiales para la prueba, B) Reactivo tetrametil -p- fenilendiamina al 1%, C) Realización de la prueba, D) Observación de los resultados.....	35
<b>Figura 17.</b> A) Soluciones de BaCl <sub>2</sub> y H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , B) Tubo con la solución de turbidez 0.5 de McFarland, C) Realización de la suspensión bacteriana, D) Comparación de la turbidez de los tubos de ensayo con la suspensión de McFarland y la suspensión bacteriana, E) Rehidratación de la cámara de incubación, F) Inoculación de la galería, G) Forma de llenado de los microtubos.....	37
<b>Figura 18.</b> Resultados positivos y negativos de las distintas pruebas del sistema API 20NE.	38
<b>Figura 19.</b> Hoja de resultados para la determinación del perfil numérico.....	38
<b>Figura 20.</b> Toma de parámetros fisicoquímicos: A) Toma in situ de la temperatura, B) Medición de los parámetros con una sonda.....	39
<b>Figura 21.</b> A) Reacciones bioquímicas API 20 NE. Microorganismo identificado: <i>Chryseobacterium indologenes</i> , B) Identificación realizada con el perfil numérico en apiweb™.....	52
<b>Figura 22.</b> Análisis de componentes principales de los parámetros físico-químicos y microbiológicos (bacterias heterótrofas y <i>Vibrio spp.</i> ) en el ANP Complejo Los Cóbano, Sonsonate, El Salvador. El color representa el mes de muestreo: anaranjado (febrero), negro (marzo) y azul (abril); los símbolos representan el sitio de muestreo: × (El Flor), 0 (Punta Remedios) y (Salinitas); 200, 400 y 600 representa la distancia de la costa muestreada en metros; la S representa superficie y F representa fondo; los parámetros fisicoquímicos se representan como OD= oxígeno disuelto, Sal=salinidad, Turb=turbidez, T°= temperatura.	61

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1.</b> Concentración de bacterias heterótrofas en playa El Flor, Punta Remedios, Salinitas en los meses de febrero-abril del ANP Complejos Los Cóbanos. ....	40
<b>Gráfico 2.</b> Concentración de <i>Vibrio spp.</i> en la playa El Flor, Punta Remedios, Salinitas en los meses de febrero-abril del ANP Complejos Los Cóbanos. ....	41
<b>Gráfico 3.</b> Concentración total de bacterias heterótrofas y <i>Vibrio spp.</i> en el ANP Complejo Los Cóbanos. ....	42
<b>Gráfico 4.</b> Concentración de bacterias heterótrofas y <i>Vibrio spp.</i> en la playa El Flor, Punta Remedios, Salinitas del ANP Complejos Los Cóbanos. ....	43
<b>Gráfico 5.</b> Concentración de bacterias heterótrofas y <i>Vibrio spp.</i> en los meses de febrero-abril del 2018 del ANP Complejo Los Cóbanos. ....	44
<b>Gráfico 6.</b> Concentración de bacterias heterótrofas y <i>Vibrio spp.</i> a 200 m, 400 m y 600 m de distancia de la costa en el ANP Complejo Los Cóbanos. ....	45
<b>Gráfico 7.</b> Concentración de bacterias heterótrofas y <i>Vibrio spp.</i> en las playas El Flor, Punta Remedios, Salinitas a 200 m, 400 m y 600 m de la costa en el ANP Complejo Los Cóbanos. ....	47
<b>Gráfico 8.</b> Concentración total de bacterias heterótrofas y <i>Vibrio spp.</i> en la columna de agua de la zona arrecifal del ANP Complejo Los Cóbanos. ....	48
<b>Gráfico 9.</b> Concentración de bacterias heterótrofas y <i>Vibrio spp.</i> en la columna de agua de la playa El Flor. ....	49
<b>Gráfico 10.</b> Concentración absoluta de bacterias heterótrofas y <i>Vibrio spp.</i> en la columna de agua de la playa Punta Remedios. ....	50
<b>Gráfico 11.</b> Concentración de bacterias heterótrofas y <i>Vibrio spp.</i> en la columna de agua de la playa Salinitas. ....	51
<b>Gráfico 12.</b> Promedio de los parámetros fisicoquímicos por playa A) Salinidad, B) Temperatura, C) pH y D) Oxígeno disuelto, E) Sólidos totales disueltos y F) Turbidez. ....	54
<b>Gráfico 13.</b> Promedio de los parámetros fisicoquímicos por mes: A) Salinidad, B) Temperatura, C) pH y D) Oxígeno disuelto, E) Sólidos totales disueltos y F) Turbidez. ....	55



**Gráfico 14.** Promedio de los parámetros fisicoquímicos por distancia de la costa: A) Salinidad, B) Temperatura, C) pH y D) Oxígeno disuelto, E) Sólidos totales disueltos y F) Turbidez. .... 56

**Gráfico 15.** Promedio de los parámetros fisicoquímicos por la columna de agua: A) Salinidad, B) Temperatura, C) pH y D) Oxígeno disuelto, E) Sólidos totales disueltos y F) Turbidez. .... 57

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1.</b> Estratificación de la columna de agua: A) Densidad, B) Temperatura y C) Salinidad. .....	88
<b>Anexo 2.</b> Representación gráfica de las interacciones de <i>Vibrio spp.</i> en diferentes compartimentos del ecosistema costero (Leyton y Riquelme 2008). ....	88
<b>Anexo 3.</b> Colecta de muestras según la distancia de la costa a 200 m, se tomará la muestra a un metro de la superficie (A); a los 400 m y 600 m, se tomará la muestra a un metro de la superficie y un metro del fondo (B). ....	89
<b>Anexo 4.</b> Componentes para la elaboración del medio agar marino. ....	90
<b>Anexo 5.</b> Procesamiento de las muestras. ....	91
<b>Anexo 6.</b> Características bioquímicas de <i>Vibrio spp.</i> Abbreviations: TCBS, thiosulfate-citrate-bile salts-sucrose; mCPC, modified cellobiose polymyxin B-colistin; AGS, arginine-glucose slant; Y = yellow NG = no or poor growth S = susceptible nd = not done G = green V = variable among strains R = resistant P = purple, V = variable KK = Slant alkaline / Butt alkaline KA = Slant alkaline /Butt acidic, Ka = Slant alkaline/ Butt slightly acidic. ....	93
<b>Anexo 7.</b> Tabla de identificación para la prueba API 20 NE. ....	94
<b>Anexo 8.</b> Tabla de toma de coordenada geográficas y temperatura de cada punto de muestreo. ....	95
<b>Anexo 9.</b> Tabla de toma de parámetros fisicoquímicos. ....	95
<b>Anexo 10.</b> Concentración de bacterias heterótrofas por playas. ....	96
<b>Anexo 11.</b> Concentración de <i>Vibrio spp.</i> por playas. ....	96
<b>Anexo 12.</b> Comparación de concentración de bacterias heterótrofas y <i>Vibrio spp.</i> en El Flor, Punta Remedios y Salinitas. ....	96
<b>Anexo 13.</b> Comparación de concentración de bacterias heterótrofas y <i>Vibrio spp.</i> de febrero-abril del año 2018. ....	96
<b>Anexo 14.</b> Concentración de bacterias heterótrofas y <i>Vibrio spp.</i> según la distancia de la costa. ....	96
<b>Anexo 15.</b> Concentración de bacterias heterótrofas y <i>Vibrio spp.</i> según la distancia de la costa y playa. ....	97

<b>Anexo 16.</b> Concentraciones de bacterias heterótrofas y <i>Vibrio spp.</i> en la columna de agua. .....	97
<b>Anexo 17.</b> Concentración de bacterias heterótrofas y <i>Vibrio spp.</i> en la columna de agua de la playa El Flor.....	97
<b>Anexo 18.</b> Concentración de bacterias heterótrofas y <i>Vibrio spp.</i> en la columna de agua de la playa Punta Remedios.....	97
<b>Anexo 19.</b> Concentración de bacterias heterótrofas y <i>Vibrio spp.</i> en la columna de agua de la playa Salinitas.....	98
<b>Anexo 20.</b> Resultados de prueba API 20 NE. Bacteria identificada: <i>Chryseobacterium</i> <i>indologenes</i> .....	98
<b>Anexo 21.</b> Tabla matriz de los promedios de concentración de los parámetros fisicoquímicos salinidad, temperatura, pH, oxígeno disuelto (OD), sólidos totales suspendidos (TDS), turbidez (FMU) y de las variables biológicas bacterias heterótrofas (BH) y <i>Vibrio spp.</i> .....	98
<b>Anexo 22.</b> Parámetros fisicoquímicos de febrero-abril en el ANP Complejo Los Cóbanos.	100
<b>Anexo 23.</b> Parámetros fisicoquímicos según la distancia de la costa en el ANP Complejo Los Cóbanos. ....	101
<b>Anexo 24.</b> Parámetros fisicoquímicos según la distancia de la columna de agua en el ANP Complejo Los Cóbanos.....	101
<b>Anexo 25.</b> Meses de abril desde 1971 hasta 2018. Variable de lluvia nacional Fuente: Dirección del Observatorio Ambiental.....	101

## RESUMEN

El objetivo del estudio fue conocer las concentraciones de bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.* de la zona arrecifal del Área Natural Protegida (ANP) Complejo Los Cóbano, específicamente frente a las playas El Flor, Punta Remedios y Salinitas; y, su relación con los parámetros fisicoquímicos.

En el trabajo de campo se tomaron muestras de agua en los meses de febrero a abril del 2018, a los cuales se les midieron los parámetros fisicoquímicos *in situ* (temperatura) y *ex situ* (salinidad, oxígeno disuelto, pH, sólidos totales disueltos y turbidez).

En el trabajo de laboratorio se realizaron recuentos en placa de agar marino y agar tiosulfato citrato bilis sacarosa (TCBS) para determinar la concentración de bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.*, respectivamente. Para confirmar la presencia de colonias de *Vibrio spp.* se sembraron colonias en agar tripticasa soya (TSA) a diferentes concentraciones de NaCl (3% y 8%); de las colonias desarrolladas en este medio se realizaron pruebas de tinción de Gram y prueba oxidasa. Algunas de las colonias que crecieron al 3% y 8 % de NaCl se les realizó prueba API 20 NE para confirmar que fueran *Vibrio spp.*

De febrero a abril las concentraciones de bacterias heterótrofas fueron de  $2.82 \times 10^4$  UFC/mL y de *Vibrio spp.*  $4.69 \times 10^4$  UFC/mL en las tres playas de la zona arrecifal del ANP Complejo Los Cóbano. El mes con mayor concentración de bacterias heterótrofas ( $7.52 \times 10^4$  UFC/mL) y *Vibrio spp.* ( $1.32 \times 10^5$  UFC/mL) fue febrero, y las menores concentraciones fueron en marzo ( $2.97 \times 10^3$  UFC/mL y  $3.93 \times 10^3$  UFC/mL, respectivamente). En la playa El Flor se registró mayor concentración de bacterias heterótrofas que de *Vibrio spp.*, en Salinitas y Punta Remedios fue mayor la concentración de *Vibrio spp.*

De las colonias que se aislaron para la identificación con el método API 20 NE sólo una prueba presentó un perfil de buena identificación, dando como resultado *Chryseobacterium indologenes* con un índice de confiabilidad del 98.2%, por lo que se puede asegurar que la cepa aislada es esta especie.

Se realizó un análisis de correlación de Pearson para mostrar las relaciones de los parámetros fisicoquímicos con la concentración de bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.* donde se observaron relaciones positivas entre la temperatura y el oxígeno disuelto, oxígeno disuelto y lluvia, turbidez y lluvia; y relaciones negativas entre temperatura y lluvia acumulada, salinidad con turbidez y concentración de bacterias heterótrofas, oxígeno disuelto y turbidez, lluvia y concentración de bacterias heterótrofas.

Se realizó un análisis de componentes principales (ACP) que mostró una separación en tres grupos, cada uno por meses de muestreo: grupo A (febrero), grupo B (marzo) y grupo C (abril). La alta concentración de bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.* se relacionó con las condiciones de mayor turbidez, mayor oxígeno disuelto, menor salinidad y mayor temperatura.

El análisis de similitud (ANOSIM) confirmó que el grupo A posee diferencia estadísticamente significativa al grupo B y C; y, el porcentaje de similitud (SIMPER) mostró que la concentración de *Vibrio spp.* fue la que aportó más para la separación de ambos grupos, con un porcentaje de 59.74 % entre los grupos A y C y 50.66 % entre los grupos A y B.

De los tres meses de muestreo, para febrero se reportaron las mayores concentraciones tanto para bacterias heterótrofas como *Vibrio spp.* donde la turbidez fue la más elevada en comparación a los otros meses y esto podría indicar alta carga de materia orgánica, ya que la turbidez es una manera indirecta de medir la materia orgánica (Espigares García M. y Fernández-Crehuet 1999).

# 1 INTRODUCCIÓN

---

Las bacterias son uno de los eslabones más importante para el flujo de la materia orgánica en el ecosistema marino (Azam et al. 1983, Cole et al. 1988). Su presencia suele ser más frecuente en las aguas costeras y en menor proporción en alta mar (Seoáñez 2000).

Las bacterias heterótrofas constituyen el grupo más importante, ya que son capaces de degradar o mineralizar la materia orgánica presente en el medio, transfiriendo energía hacia los siguientes niveles tróficos del ecosistema, además de constituir una fuente de amplia biodiversidad (Heinänen 1992, Kirchman 2000).

*Vibrio spp.* es un grupo dentro de las bacterias heterótrofas con múltiples interacciones con los demás componentes del ecosistema marino. Varias especies pertenecientes a este grupo son indispensables para la supervivencia y subsistencia de numerosos organismos marinos, mientras que otros son patógenos (Leyton y Riquelme 2008).

El estudio se llevó a cabo en el sistema arrecifal del Área Natural Protegida (ANP) Complejo Los Cóbano; que está incluido dentro de los seis sitios costeros de alto valor para la conservación de la biodiversidad dentro del Corredor Biológico Mesoamericano (Reyna et al. 1996).

Los arrecifes de coral son ecosistemas que ayudan al sostenimiento de comunidades con su alta productividad (Díaz et al. 1996). Por lo cual es fundamental conocer las concentraciones de microorganismos con importancia ecológica y de salud para el ecosistema. Estudios de distribución, abundancia de las bacterias y su relación con los parámetros resultan de interés para determinar integralmente el papel que desempeñan los microorganismos en el funcionamiento del ecosistema (Luigoyo 2003). De acuerdo con el hábitat, las comunidades microbianas responden a cambios en los parámetros fisicoquímicos (Caldwell 1995).

Dentro de la zona arrecifal del ANP Complejo Los Cóbano fueron tomadas muestras frente a tres playas (El Flor, Puntas Remedios y Salinitas). Se ubicaron tres puntos desde la línea de costa de cada playa: el primero a 200 m, el segundo a 400 m y el tercero a 600 m.

Dependiendo de la profundidad se recolectaron muestras a uno o dos niveles de la columna de agua: un metro de la superficie y un metro del fondo del mar. Para determinar la concentración de bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.* se sembró en placa utilizando el método de dispersión y haciendo un recuento de colonias a las 48 horas de incubación.

El objetivo de este estudio es conocer la concentración de las bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.*, en el ANP Complejo Los Cóbanos, y como estas fluctúan por la influencia de los parámetros fisicoquímicos; debido a la importancia de las bacterias heterótrofas en los ecosistemas marinos, que se consideran como un indicador de la presencia y abundancia de materia orgánica lábil (Williams 2000). Este estudio genera un antecedente de cómo es la dinámica del grupo en los meses muestreados, da la base para realizar monitoreos posteriores y profundizar en la ecología de las bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.* en el ANP Complejo Los Cóbanos y poder así crear una norma que indique la calidad del agua para la salud del ecosistema y el ser humano.

## 2 OBJETIVOS

---

### 2.1 *Objetivo general*

- Describir la concentración de bacterias heterótrofas de la zona arrecifal del Área Natural Protegida Complejo Los Cóbanos (ANP), Sonsonate, El Salvador.

### 2.2 *Objetivos específicos*

- Determinar la concentración de bacterias heterótrofas en la zona arrecifal del ANP Complejo Los Cóbanos.
- Comparar la concentración de *Vibrio spp.* con la concentración total de bacterias heterótrofas de la zona arrecifal del ANP Complejo Los Cóbanos.
- Relacionar la concentración de bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.* con los parámetros fisicoquímicos (temperatura, salinidad, pH, oxígeno disuelto y sólidos suspendidos totales) de la zona arrecifal del ANP Complejo Los Cóbanos.



### 3 MARCO TEÓRICO

#### 3.1 *Microorganismos en el ambiente marino.*

Los océanos ocupan el 71% de la superficie del planeta y la mayor parte de su volumen corresponde a mar abierto: su temperatura varía desde los 4°C, la salinidad es elevada y el pH es básico; pero en general, se trata de un ambiente en apariencia homogéneo, con cierta estratificación de masas de agua que se mezclan lentamente debido al flujo de corrientes, circulaciones verticales y mareas en zonas costeras. Dada la extensión de los océanos, las funciones ecológicas de las bacterias que ahí crecen son de suma importancia para la vida en la Tierra (González et al. 2008).

La mitad de la producción primaria se origina en las primeras decenas de metros de los océanos, y son los microorganismos fotosintéticos marinos los encargados de realizar la mayor parte de esta producción. Estos organismos utilizan la energía solar para transformar carbono inorgánico y agua, en oxígeno y carbono orgánico (Hernando-Morales 2016).

Una fracción importante de la producción primaria en el océano fluye a través del compartimento de la materia orgánica (Figura 1). Las bacterias heterótrofas son capaces de utilizar la materia orgánica disuelta (MOD) que deriva de organismos autótrofos y de la actividad metabólica de otros organismos heterótrofos de mayor tamaño (Pomeroy 1974).

Una fracción de la MOD incorporada por las bacterias

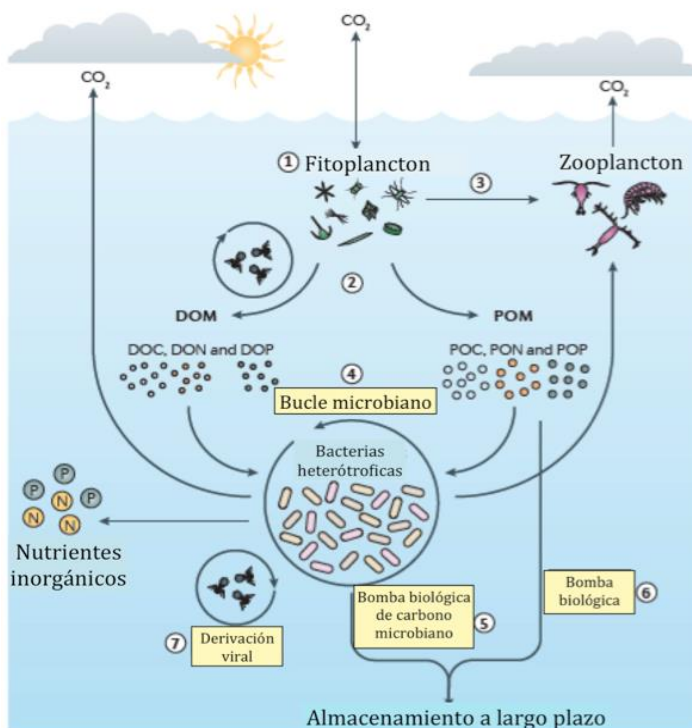


Figura 1. Función de los microorganismos en el flujo de nutrientes del ciclo biogeoquímico. Tomado de Buchan et al. 2014.

heterótrofas es devuelta al océano a través de la respiración en forma de nutrientes inorgánicos y CO<sub>2</sub>. Sin embargo, otra fracción se transfiere a eslabones superiores de la cadena trófica (Hernando-Morales 2016).

### *3.2 Factores fisicoquímicos que influyen en la distribución de las bacterias en el ambiente marino.*

Además de la materia orgánica, Caldwell (1995) menciona que existe una serie de factores físicos y químicos que afectan no sólo el tamaño y la composición de las comunidades microbianas, sino también, la morfología y la fisiología de cada microorganismo. Según Miravet (2003) los factores que más influyen son: la luz, la temperatura, la salinidad, el oxígeno disuelto, el potencial de oxidación reducción y los nutrientes; aunque también deben considerarse la presión hidrostática, el pH y el movimiento de las aguas.

#### *3.2.1 Luz.*

La luz es un importante factor ecológico tanto en la tierra como en las aguas, a medida que atraviesa la columna de agua, disminuye su intensidad, y en dependencia del grado de turbidez del agua así será la profundidad a que se encuentra el nivel de compensación. En el mar las bacterias fototróficas se distribuyen de manera estratificada, en dependencia de la intensidad de la luz y de la disponibilidad que haya de los compuestos donadores de hidrógeno (Miravet 2003).

#### *3.2.2 Temperatura.*

Las capas superiores del agua se ven separadas de las que están por debajo de los 200 m, por una masa de agua caracterizada por una variación en la temperatura que se llama termoclina (Anexo 1). La termoclina es un fenómeno hidrográfico permanente en los océanos templados y tropicales, su localización varía en dependencia de la época del año (Pinet 1998).

En las zonas ecuatoriales-tropicales y subtropicales la temperatura de las aguas superficiales en la mitad más cálida del año supera los 20°C y puede estimular el desarrollo de los microorganismos mesófilos, especialmente en las aguas costeras y estuarios

(Mishustina et al. 1985). La existencia de la estratificación térmica vertical determina la caracterización cuantitativa de la distribución vertical de los microorganismos (Caldwell 1995).

Según Apella y Araujo (2005) las temperaturas extremadamente bajas y elevadas, se utilizan de manera corriente para la conservación de microorganismos o para provocar su muerte respectivamente. Los tres valores de temperatura mínima, óptima y máxima se conocen como temperaturas cardinales. En base a ellas podemos clasificar los microorganismos en grupos compuestos por organismos muy diferentes entre sí pero que presentan gran similitud en su comportamiento frente a la temperatura (Tabla 1).

Tabla 1. Clasificación de los microorganismos según las temperaturas cardinales.

Temperatura / °C				
Grupo	Mínima	Óptima	Máxima	Ejemplos
<b>PSICRÓFILOS</b>				
<i>Obligados</i>	< 0	10-15	< 20	<i>Flavobacterium</i>
<i>Facultativos</i>	0 15-20	15-30 30-40	> 25 < 45	Bacterias de deterioro de alimentos refrigerados
<b>MESÓFILOS</b>				Mayoría de las bacterias
<b>TERMÓFILOS</b>				
<i>Facultativos</i>	35	42-45	> 50	<i>Thermus aquaticus</i>
<i>Estrictos</i>	45	50-75	> 80	<i>Thermoproteus</i>
<i>Extremos</i>	65	80-105	> 100	<i>Pyrolobus fumarii</i>

### 3.2.3 Salinidad.

A partir de mediciones realizadas en diferentes puntos del océano, se ha podido determinar que 35 ppm es la salinidad media del agua del mar. La salinidad varía en dirección tanto horizontal como vertical y aún en un mismo punto puede sufrir variaciones en las diferentes estaciones del año. Los factores que hacen cambiar la salinidad son la temperatura, ya que si es elevada provoca una evaporación intensa y por lo tanto un incremento de salinidad; y los aportes de agua dulce, que, por dilución disminuye la salinidad. De aquí que, por regla general, se presente una mayor salinidad en las zonas tropicales (Cifuentes et al. 1997).

Con respecto a la tolerancia a la salinidad las bacterias se pueden dividir en: halotolerantes que pueden crecer en ausencia y presencia de sal, y halófilos que necesitan de condiciones salinas para su crecimiento. Los microorganismos halófilos no tienen los mismos

requerimientos de sal, por lo que tienden a agruparse en función del rango de sales que necesitan para tener un crecimiento óptimo: débiles entre el 2-5% de NaCl, moderados entre el 5-20% de NaCl y extremos entre el 20-30% de NaCl (DasSarma y Arora 2002).

La mayoría de las bacterias y las algas que viven en el mar son moderadamente halófilas (Gilmour 1990). Actualmente algunos microbiólogos definen las bacterias marinas como aquellas que requieren al menos 3% de NaCl para crecer (Atlas y Bartha 1998).

#### 3.2.4 pH.

Otro factor importante para el crecimiento microbiano es la concentración de iones hidrógeno. Influye en el crecimiento microbiano ya que muchas enzimas se inactivan a valores muy altos o bajos de pH. Sin embargo, también varían los intervalos de tolerancia al pH de los distintos microorganismos (Miravet 2003).

El agua oceánica es ligeramente alcalina, y el valor de su pH está entre 7.5 y 8.4 y varía en función de la temperatura; si ésta aumenta, el pH disminuye y tiende a la acidez; también puede variar en función de la salinidad, de la presión o profundidad y de la actividad vital de los organismos marinos (Cifuentes et al. 1997).

En general, los ambientes naturales tienen un pH comprendido entre 5 y 9, y la mayoría de los microorganismos crecen dentro de esos valores. Sin embargo, algunos pueden desarrollar a valores de pH inferiores o superiores a los indicados. De acuerdo con el rango de pH en el que es posible su desarrollo, se los clasifica en tres grupos: acidófilos 1-5, neutrófilos 5.5-8 y basófilos 8.5-11.5 (Apella y Araujo 2005).

#### 3.2.5 Oxígeno disuelto ( $O_2$ ).

El agua de mar contiene pequeñas cantidades de todos los gases atmosféricos disueltos, principalmente: oxígeno (O), nitrógeno (N), argón (Ar), anhídrido carbónico ( $CO_2$ ) e hidrógeno (H). En particular, el oxígeno proviene de dos fuentes principales: la difusión que ocurre a través de la interfase aire-océano y la fotosíntesis. Ambos procesos están limitados a los niveles superiores de la columna de agua donde puede llegar a alcanzar valores de 5 mL de  $O_2/L$  (Strahler 1977).

En la capa fótica (Figura 2) del océano la actividad fotosintética del fitoplancton y las algas verdes puede dar lugar temporalmente a una sobresaturación de oxígeno debido a que se produce una mayor cantidad de oxígeno que la que se consume. La concentración de oxígeno máxima se encuentra en la zona conocida como "picnoclina" (Anexo 1). Debajo de esta zona disminuye la concentración de



Figura 2. Zonas oceánicas.

oxígeno con la profundidad y aumenta la concentración de microorganismos quimiótrofos (Pinet 1998).

Los microorganismos se pueden dividir en tres grupos sobre la base del papel que juega el  $O_2$  en su nutrición: las bacterias aerobias necesitan  $O_2$  para crecer; las anaerobias facultativas pueden realizar metabolismo energético aerobio o anaerobio (dependiendo del ambiente, la disponibilidad de oxígeno y la concentración de nutrientes). Las bacterias anaerobias estrictas a las cuales el oxígeno les resulta tóxico (Apella y Araujo 2005).

Las concentraciones de oxígeno en mar abierto y en zonas costeras están disminuyendo en todo el mundo (Díaz 2001; Díaz y Rosenberg 2008). El agotamiento de oxígeno (hipoxia) se desarrolla cuando el consumo de oxígeno por parte de organismos o procesos químicos supera el suministro de oxígeno de la mezcla vertical de las capas de agua, de la atmósfera y de los organismos fotosintéticos (Friedrich et al. 2014).

La hipoxia ocurre con mayor frecuencia como consecuencia de factores inducidos por el hombre, especialmente por la eutrofización. Las causas de la contaminación por nutrientes, específicamente de nitrógeno y fósforo, incluyen la escorrentía agrícola, la quema de combustibles fósiles y el tratamiento de aguas residuales (NOAA 2014-2017). Las aguas hipóxicas pueden causar la pérdida de hábitat, el estrés e incluso la muerte de organismos

marinos, lo que afecta las cosechas comerciales y la salud de los ecosistemas impactados (NCCOS 2017).

### 3.2.6 *Presión hidrostática.*

La presión tanto hidrostática puede influir en la velocidad de crecimiento microbiano. En el mar cada 10 metros de profundidad la presión aumenta 1 atm., son relativamente pocos los microorganismos capaces de vivir en aguas oceánicas muy profundas. Presiones altas inactivan las enzimas y el sistema de transporte, produciéndose la ruptura de la membrana. No obstante, se conoce la existencia de microorganismos barotolerantes que pueden crecer a altas presiones donde las temperaturas son bajas y la materia orgánica escasa. Estas bacterias por lo general presentan un metabolismo lento (Taylor 1992).

### 3.2.7 *Nutrientes orgánicos.*

La Materia orgánica disuelta (MOD) es la principal fracción del pool total de materia orgánica existente en los ambientes acuáticos (Munster 1991), y una menor parte la constituye la materia orgánica particulada (MOP). Los microorganismos heterótrofos controlan en gran medida el flujo y degradación de la mayor parte de la materia orgánica (MOD y MOP). Además, el catabolismo bacteriano de la materia orgánica, el cual también está estrechamente sustentado en la oxidación, libera nutrientes inorgánicos fijados previamente en los compuestos orgánicos y el CO<sub>2</sub>. De este modo los hacen utilizables nuevamente por las bacterias, micro y macroorganismos fotosintéticos en los ecosistemas (Chrost 1990).

La materia orgánica es un componente menor del agua del mar, sin embargo, ésta posee una importancia fundamental en procesos biológicos, geológicos y químicos. Respecto a los procesos biológicos, el más importante es el proceso de degradación y mineralización de la materia orgánica, que es efectuado principalmente por bacterias heterótrofas. A través de este proceso, conocido como producción heterotrófica, dichas bacterias utilizan a la materia orgánica como sustrato y lo transforman en biomasa microbiana (Azam 1983).

### 3.2.8 *Nutrientes inorgánicos.*

Muchos compuestos inorgánicos presentes en el agua de mar en diferentes proporciones son nutrientes esenciales para los microorganismos (Smith y Smith 1998). Las distintas especies bacterianas tienen diferentes requerimientos nutricionales y condiciones fisicoquímicas que les permiten permanecer viables. Los nutrientes requeridos en grandes cantidades son denominados macronutrientes mientras que los micronutrientes son necesarios en cantidades trazas. Entre los primeros se encuentran carbono (C), hidrógeno (H), oxígeno (O), nitrógeno (N), fósforo (P), azufre (S), potasio (K), calcio (Ca), hierro (Fe) y sodio (Na), y entre los segundos podemos citar cromo (Cr), cobalto (Co), cobre (Cu), manganeso (Mn), molibdeno (Mo), níquel (Ni), selenio (Se), wolframio (W), vanadio (V), zinc (Zn). Además, deben considerarse los aniones que se forman con los elementos (Apella y Araujo 2005)

### 3.2.9 *Corrientes marinas y mareas.*

Casi todas las corrientes marinas superficiales son causadas por los vientos, la energía se transmite a través del rozamiento del aire sobre la superficie provocando el desplazamiento horizontal de las aguas (Strahler 1977).

Estudios recientes de biogeografía de bacterias marinas atribuyen al movimiento de las corrientes la causa principal del traslado de diferentes especies microbianas de una región a otra. Actualmente el papel de las corrientes asociadas a la ocurrencia de fenómenos climáticos como El Niño-Oscilación Sur (ENSO) y su relación con la expansión extraterritorial de enfermedades producidas por microorganismos (cólera, dengue, malaria y encefalitis) son objetos de estudio del Proyecto Internacional "Experimento-ENSO" (Trtanj 1998).

La marea resulta un fenómeno importante para estudios de microbiología, ya que puede estar ocurriendo un proceso de dilución de contaminantes y bacterias adventicias que llegan al mar en momentos de pleamar o el efecto contrario, si se toman las muestras en marea baja (Pérez y Miravet 1988).

Tanto las corrientes marinas como las mareas causan la dispersión pasiva de los microorganismos, de los nutrientes que estos necesitan para crecer y también de las

sustancias tóxicas o inhibitorias, por tanto, tienen una influencia indirecta sobre la distribución, abundancia, actividad y diversidad de los microorganismos marinos. Sin embargo, el efecto de estos movimientos de las aguas sobre los microorganismos se hace más complejo si tenemos en cuenta que van acompañados de otros fenómenos como son la solubilidad, la difusión y la turbulencia (Atlas y Bartha 1998).

#### *3.2.10 Sólidos totales disueltos.*

Los sólidos totales disueltos (TDS) están presentes de forma natural en el agua o son el resultado de la extracción o algún tratamiento industrial de agua. Los TDS contiene minerales y moléculas orgánicas que proporcionan beneficios como nutrientes o contaminantes como metales tóxicos y contaminantes orgánicos. Regulaciones actuales requieren el monitoreo periódico de TDS, que es una medida de sales inorgánicas, materia orgánica y otros materiales disueltos en agua (Abdul et al. 2012).

#### *3.2.11 Nitrificación y desnitrificación*

La fertilización agrícola extensiva ha aumentado el suministro de nitrógeno a los ecosistemas de agua dulce y marino durante las últimas décadas en todo el mundo (Vitousek et al. 1997).

Las concentraciones excesivas de N, a menudo en forma de nitrato, presentan un problema de creciente importancia en la calidad del agua. Las concentraciones de nitrato en aguas subterráneas y ríos en áreas desarrolladas del mundo han aumentado sustancialmente como resultado del uso de fertilizantes sintéticos de N y de cultivos fijadores de N (Turner y Rabalais 2003). El aumento de la exportación de N desde los paisajes a las aguas costeras se ha implicado en la eutrofización costera y el desarrollo de zonas hipóxicas (por ejemplo, en el Golfo de México; Rabalais et al. 2001).

La desnitrificación es llevada a cabo por bacterias heterótrofas, generalmente anaerobias facultativas. Estas bacterias utilizan nitrito o nitrato como aceptor de electrones terminal durante la oxidación de la materia orgánica y producen  $N_2$ , NO o  $N_2O$  (Payne 1973).



Los factores que influyen en la desnitrificación en sistemas acuáticos incluyen el suministro de nitrato, la concentración de oxígeno, el carbono orgánico disuelto y el fósforo, la temperatura, la luz, el tiempo de residencia del agua y la presencia de plantas (Golterman 2004).

### 3.3 *Holobionte en los corales.*

Hay evidencia que comprueba cómo los microorganismos han facilitado el origen y la evolución de animales y son partes integrales de toda la vida animal. El holobionte del coral son todos los microorganismos asociados: bacterias, arqueas, hongos, virus y protistas, incluido el dinoflagelado *Symbiodinium* y el huésped (coral). El holobionte del coral es un sistema dinámico, cuyos miembros fluctúan dependiendo de condiciones ambientales y requerimientos diarios (Bourne et al. 2016).

#### 3.3.1 *Establecimiento y mantenimiento de la simbiosis dentro del holobionte del coral.*

Para el mantenimiento del holobionte del coral, la herencia de simbiontes como bacterias debe ocurrir ya sea directamente a través de gametos parentales (transmisión vertical) o mediante la adquisición del entorno (transmisión horizontal), o una mezcla de ambas estrategias. Los corales pueden reproducirse tanto sexual como asexualmente, y si bien se sabe poco sobre el alcance de la transmisión vertical versus la horizontal de simbiontes, hay alguna evidencia de que las especies que realizan fertilización interna, en las larvas de cría tienden a transmitir al menos algunos de sus simbiontes verticalmente, mientras que las especies que dependen de la fertilización externa muy probablemente adquieran sus simbiontes horizontalmente. Esta adquisición y mantenimiento temprano de bacterias puede proteger a las larvas de coral a través de la producción de antibióticos y provisión de nutrientes, aunque esto aún no se ha probado empíricamente (Bourne et al. 2016).

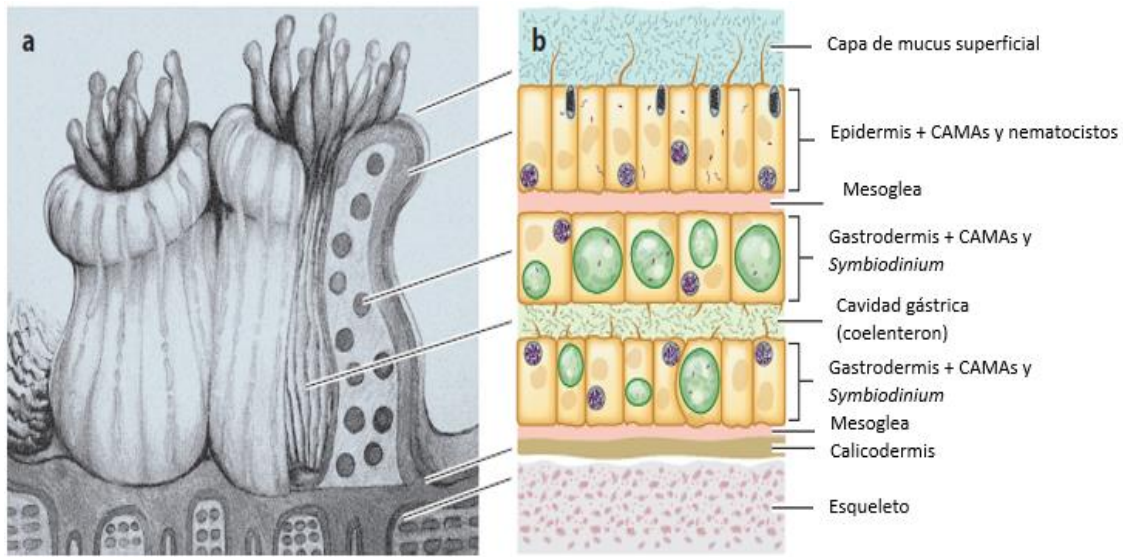
Las bacterias asociadas a los corales muestran niveles significativos de quimiotaxis hacia los productos químicos liberados del coral, lo que sugiere que la quimiotaxis juega un papel importante en el establecimiento y mantenimiento de interacciones específicas bacteria-coral.

A través de la quimiotaxis las bacterias encuentran su anfitrión, esto es debido a las moléculas de reconocimiento de patrones denominadas patrones moleculares asociados a microorganismos (MAMP) y los receptores de reconocimiento de patrones (PRR). En general, los mecanismos moleculares que permiten el establecimiento, reconocimiento y mantenimiento de simbioses específicos dentro del holobionte del coral son actualmente desconocidos, aunque este es un enfoque principal de los programas de investigación actuales (Bourne et al. 2016).

#### 3.4 *Hábitats de microorganismos dentro de los corales.*

Los corales hospedan una población microbiana grande, diversa y específica, que tienen funciones beneficiosas y perjudiciales (Ritchie y Smith 2004; Rosenberg et al. 2007). Específicamente, los corales proveen los siguientes hábitats para las bacterias: la capa superficial de mucopolisacáridos o capa superficial del mucus (SML), tejido del coral, cavidad gastrovascular y esqueleto del coral; de los cuales, cada uno alberga una comunidad bacteriana distinta (Koren and Rosenberg 2006).

En la Figura 3 se puede observar que *Symbiodinium spp.* se representan como grandes células verdes dentro de las capas de gastrodermis. Los nematocistos de coral se representan como estructuras grises alargadas en la epidermis. La colonización bacteriana está representada por una comunidad abundante en el SML; agregados microbianos asociados a los corales (CAMA) dentro de la epidermis y las capas de gastrodermis; una comunidad abundante en la cavidad estomacal; y una mezcla única de bacterias, hongos y algas filamentosas en el esqueleto de coral. Siempre se tiene que tener en cuenta que la abundancia y la localización de conjuntos microbianos dentro del holobionte de coral difieren entre las especies de coral.



**Figura 3.** a) Una representación esquemática de un pólipo de coral y (b) su microestructura detallada que representa microhábitats incluyendo la capa superficial del mucus (SML), capas de tejido (epidermis, mesoglea, gastrodermis), cavidad gástrica (coelenteron), calicodermis, y esqueleto.

### 3.4.1 *Mucus del coral*

La SML admite un beneficio diverso y abundante de la comunidad bacteriana, incluido los fijadores de nitrógeno y descomponedores de quitina. La abundancia de bacteria en la capa de mucus se ha estimado en  $10^5$ - $10^6$  unidades formadoras de colonias (UFC) por ml (Rosenberg et al. 2007).

Esta capa de mucus proporciona al coral alimento, una barrera protectora contra los patógenos mediante la producción de compuestos antibacterianos y protección contra la radiación solar mediante la producción de absorción de luz ultravioleta por medio de pigmentos. Las bacterias dentro del mucus ayudan al coral a través de la ocupación de nicho y activo exclusión de comunidades microbianas perjudiciales; sin embargo, las bacterias patógenas pueden ser atraído por el SML a través de la señalización quimiotáctica inducida químicamente, con el patógeno coralino *Vibrio coralliilyticus* capaz de usar quimiotaxis y quimiokinesis para atacar el SML de *Pocillopora damicornis*. La regeneración regular del SML no solo es crítico para el reciclaje de los nutrientes dentro de los arrecifes, también es vital para la salud de los corales, ya que facilita la eliminación de sedimentos y el oportunismo patógenos y repone el microbioma SML (Bourne et al. 2016).

#### 3.4.2 *Tejido del coral.*

A diferencia de las comunidades microbianas asociadas con el SML, microorganismos que habitan el epitelio y los tejidos del coral probablemente representan asociaciones simbióticas altamente específicas (Bourne et al. 2016).

#### 3.4.3 *Cavidad gástrica.*

Es un sistema gastrovascular primitivo utilizado para digerir plancton y detritus, que puede complementar la nutrición obtenida de derivados de *Symbiodinium* (Bourne et al. 2016).

Aunque la heterotrofia de coral ha sido ampliamente reportada, los procesos implicados en la digestión gástrica y el papel del microbioma intestinal son poco conocidos. El microbioma gástrico del coral parece realizar funciones que incluyen la catabolización materia orgánica ingerida y nutrientes de reciclaje. Se sabe que los corales transportan continuamente mucus orgánico que contiene partículas atrapadas en la cavidad gástrica, que mantendría las asociaciones simbióticas del microbioma gastrovascular (Bourne et al. 2016).

#### 3.4.4 *Esqueleto del coral.*

El esqueleto coralino de carbonato de calcio proporciona un hábitat único para una serie de microorganismos que incluyen algas filamentosas, bacterias y hongos. En algunos casos, se cree que estos microorganismos endolíticos contribuyen a la aptitud holobionte. Por ejemplo, las clorofitas endolíticas del género *Ostreobium* trasladan sustancias fotosintéticas a tejido del coral blanqueado que pueden sostener el holobionte coral durante los tiempos de temperatura inducida estrés. Sin embargo, en otros casos, los microorganismos endolíticos están asociados con enfermedades; tales como los diversos conjuntos de bacterias endolíticas reductoras de sulfato (SRB) que forman bandas esqueléticas negras. (Bourne et al. 2016).

### 3.5 *Microorganismos en el agua circundante de los arrecifes de coral.*

Los microorganismos marinos se desarrollan desde la costa hasta el mar abierto, en nichos especializados, como las aguas circundantes de los arrecifes coralinos (Qasim 1999). Las bacterias en la columna de agua sobre los arrecifes de coral son una importante fuente de

alimento para muchos organismos en el ecosistema marino como las esponjas que filtran las bacterias de manera eficiente de la columna de agua y tienen asociaciones simbióticas con ellas; además, el crecimiento bacteriano puede ser estimulado en la columna de agua por la excreción del mucus de coral, lo que podría conducir a un aumento en la diversidad de las bacterias. Los microorganismos pueden encontrarse libres en la columna de agua, en los sedimentos o adheridos a organismos o sustratos (Gert Jan Gast et al. 1998).

### 3.6 *Importancia de los microorganismos en los arrecifes de coral.*

Las comunidades bacterianas asociadas a los arrecifes de coral no han sido ampliamente estudiadas a pesar de que estudios anteriores han demostrado que estas comunidades bacterianas son importantes para la nutrición del coral (Sorokin 1973).

Las bacterias asociadas a los arrecifes de coral han sido asociadas con propiedades antibacterianas a otras bacterias patógenas que se encuentran en el agua circundante (Kelman 2006). De igual manera en otros estudios se ha comprobado que las comunidades bacterianas tienen mayor especificidad por géneros y son susceptibles a los cambios alrededor del coral, esto quiere decir que, al someterse el coral a estrés, cambia la comunidad bacteriana asociada (Littman 2006).

Los microorganismos asociados a los corales tienen un papel importante en el mantenimiento de la homeostasis de la dinámica del holobionte, formando una red de conexiones que incluyen absorción de carbono, ciclos de nitrógeno y azufre, producción de agentes antimicrobianos, facilitando así el control biológico de patógenos; además, las biopelículas bacterianas en los sustratos de los arrecifes pueden servir como señales para facilitar el asentamiento de las larvas de coral (Hadfield 2011).

### 3.7 *Distribución y abundancia de bacterias heterótrofas*

La distribución de las bacterias depende en los cambios en la temperatura del agua, salinidad y otros parámetros fisicoquímicos; si estos varían por efecto del cambio climático la comunidad bacteriana se vería afectada ocasionando graves problemas en las funciones de éstas en la cadena trófica (Alavandi 1990). Las bacterias heterótrofas comprenden la

mayor parte de la población microbiana que habita la columna de agua de los océanos y son responsables de muchas de las transformaciones biológicas de la materia orgánica y de la producción de dióxido de carbono (Sherr E y Sherr B 1996).

La función más importante de las bacterias heterotróficas es la de promover los procesos de degradación, descomposición y mineralización tanto en los sedimentos como en el agua superficial, y liberar las sustancias orgánicas e inorgánicas al sistema (Purushothaman 1998).

Además, son capaces de utilizar la materia orgánica disuelta (MOD) que deriva de organismos autótrofos y de la actividad metabólica de otros organismos heterótrofos de mayores dimensiones presentes en el ambiente pelágico (López y Zaballos 2005).

En el mar, las bacterias heterótrofas se encuentran distribuidas en toda su extensión, tanto vertical como horizontalmente. Están presentes desde las aguas costeras hasta profundidades mayores de los 10,000 m (Ilce 2000).

En aguas costeras o neríticas influenciadas por el aporte de materia orgánica procedente del arrastre de los ríos, la vegetación costera, residuales domésticos y agroindustriales, entre otros; las bacterias heterótrofas son los organismos intermediarios obligados entre la materia orgánica detrítica y los organismos de niveles tróficos superiores, aunque es poco probable que la interacción entre las bacterias heterótrofas y la cadena trófica obedezca a un esquema único y universal, ya que estas interacciones tienen lugar en un ambiente dinámico sujeto a cambios naturales o de origen antrópico (Torreton 1991).

La abundancia de bacterias heterótrofas en el medio marino se considera un indicador de la presencia y abundancia de materia orgánica lábil, ya que esto constituye la principal fuente de carbono que utilizan estos microorganismos para su crecimiento y reproducción. Este criterio ha servido de base para la elaboración de varios índices numéricos que permiten evaluar el estado trófico de las aguas marinas a partir de las concentraciones de bacterias heterótrofas presentes (Romanenko y Kuznetsov 1981, Miravet 2003).

### 3.8 Distribución y abundancia de *Vibrio spp.*

*Vibrio spp.* forma parte de la biota normal de las aguas marino-costeras, se clasifican en la Familia *Vibrionaceae* son gama proteo bacterias, Gram negativa, oxidasa positivos, mesófilos, generalmente móviles por medio de un simple flagelo polar (Thompson et al. 2004); soportan medios alcalinos y altas salinidades (Montoya 2008). Naturalmente habitan ambientes marinos y de agua dulce en formas de vida planctónica en la columna de agua (Worden et al. 2006), bentónica desarrollando biopelículas en sedimentos, zooplancton (Heidelberg et al. 2002) y en el tracto gastrointestinal de organismos marinos (Watnick et al. 2001).

Diversos estudios han demostrado que *Vibrio spp.* se encuentran en altas densidades en el ecosistema marino (Anexo 2) y han sido extensamente estudiados en los sistemas costeros por su importancia medioambiental e incidencia en la extracción de moluscos. La distribución y dinámica de estas poblaciones están influenciadas por gradientes medioambientales como temperatura, salinidad, disponibilidad de nutrientes y factores biológicos como, depredación y abundancia de dinoflagelados y hospedadores (Thompson y Polz 2006).

En general, especies de *Vibrio spp.* tienden a ser más comunes en aguas cálidas, en particular cuando las temperaturas exceden 17°C (Thompson et al. 2004). Estos aparecen en grandes floraciones cuando las aguas se encuentran a temperatura de 30-37°C; a temperaturas bajas permanecen en el sedimento de los fondos marinos y los recuentos arrojan normalmente cifras inferiores a las necesarias para producir infección. En países templados *Vibrio spp.* se encuentra presente en el agua del mar durante todo el año, aunque su concentración experimenta un notable incremento en los meses cálidos, a causa de las favorables condiciones ecológicas y del plancton, aumentando su acumulación por moluscos filtradores y otros animales marinos (Wachmuth et al. 1994).

En las zonas tropicales, las temperaturas del agua pueden permanecer estables en diferentes épocas y, por tanto, tienen poca importancia para las variaciones en las abundancias de *Vibrio spp.* (Parvathi et al. 2004, Deepanjali et al. 2005). Esto sugiere que

cualquier patrón estacional en la abundancia de *Vibrio spp.* en tales áreas tropicales debe ser controlado por otros factores. Las fuentes del material orgánico que las especies de *Vibrio spp.* utilizan como fuente de energía pueden ser los factores que determinan la dinámica de estos.

Las especies de *Vibrio* se cultivan fácilmente en medios estándar y selectivos, por lo tanto, eran muy visibles en la era pre-molecular de la ecología microbiana. En los últimos años, la dinámica ambiental también se ha estudiado con métodos independientes de cultivo que permiten una evaluación más detallada de los factores ambientales de ocurrencia, convirtiendo a *Vibrio spp.* en un modelo para la biología y genómica de las poblaciones bacterianas (Takemura et al. 2014).

En el ecosistema marino juegan funciones importantes como biodegradación de la materia orgánica y regeneración de nutrientes (Cavallo y Stabili 2004), además pueden actuar como patógenos de organismos acuáticos de importancia comercial, o bien afectar al hombre (Thompson et al. 2004).

El desarrollo de enfermedades es el resultado de la interacción entre patógeno, hospedador y medio ambiente. La infección por *Vibrio spp.* es uno de los problemas significativos que tienen los cultivos comerciales de peces e invertebrados marinos debido a las mortalidades ocasionadas por los episodios pandémicos, provocando alteraciones sociales en el sector industrial de extracción y procesamiento de recursos marinos, pérdidas en las capturas, con las consecuentes pérdidas económicas (Ben-Haim et al. 2003).

Las especies de *Vibrio* patógenos para humanos en la actualidad está limitada sólo a 12 que son clínicamente significativas: *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. mimicus*, *Grimontia (Vibrio) hollisae*, *V. fluviales*, *V. furnissii*, *V. vulnificus*, *V. alginolyticus*, *Photobacterium (Vibrio) damsela*, *V. metschnikovii*, *V. cincinnatiensis* y *V. harveyi* (Nishibuchi 2006).

*V. cholerae* y *V. parahaemolyticus* son las dos especies con mayor impacto en la salud humana. Las enfermedades causadas por ambos agentes patógenos están adquiriendo una relevancia cada vez mayor debido a su expansión a escala global (Gavilán y Martínez 2011).



### 3.9 Enfermedades de los corales causados por *Vibrio* spp.

Entre las poblaciones bacterianas, *Vibrio* spp. han sido reconocidos como miembros importantes de los holobiontes del coral (Rohwer y Kelly 2004). Algunos pueden establecer una asociación mutualista con los corales liberando nutrientes y metabolitos secundarios (Ritchie 2006; Chimetto et al. 2009), mientras que otros desempeñan un papel importante en la alteración de la salud de los corales (Munn, 2015). La enfermedad del coral por bacterias patógenas radica en la degradación del tejido provocado por una rápida colonización de la estructura coralina, alterando significativamente la comunidad microbiana y su interacción con el huésped (Ainsworth, 2007).

Las especies de bacterias reportadas como patógenas están implicadas en algunas enfermedades del coral, y las características de las afectaciones están en función de la especie-ambiente hospedero. Por ejemplo, el “Blanqueamiento Bacteriano”, que se debe a la interrupción de la simbiosis entre el coral y las Zooxantelas, especies implicadas en esta enfermedad son *V. coralliilyticus* y *V. shiloi*. De acuerdo a Kushmaro et al. (2001), *V. shiloi* afecta al coral *Oculina patagónica* en el mar Mediterráneo (Banin et al. 2001), estudiaron con mayor énfasis esta etiología, encontrando que *V. shiloi* es atraído por el mucus generado por el coral *O. patagónica* y este se adhiere cuando las temperaturas oscilan entre los 25- 28 °C; además produce toxinas extracelulares que dificultan la fotosíntesis de zooxantelas (Figura 4).

El síndrome de las manchas oscuras (DSS), es otra enfermedad donde participa *Vibrio* spp., aunque también están presentes organismos del reino fungi que afectan a los corales del género *Montastraea*, *Siderastrea*, *Stephanocoenia* y *Agaricia* (*A. agaricites*). La enfermedad se presenta en la parte anular del coral, con bordes de color púrpura (Sheridan et al. 2013).

La Reacción de Muerte Súbita (SDR) se manifiesta con una rápida degradación del tejido del coral, principalmente de *Stephanocoenia intersepta*, *Siderastrea siderea* y *Montastraea annularis*, donde participan *Vibrio harveyi* y *Vibrio alginolyticus* (Sheridan et al. 2013).

“Las Manchas Blancas Ulcerosas” (UW), es ocasionada por *Vibrio* spp. y afecta principalmente a especies del género *Porites*. El aspecto de la enfermedad es

blanqueamiento del tejido de 3-5 mm a 5 cm, avanzando en patrones distintos hasta causar pérdida de tejido (Raymundo et al. 2003).

La Enfermedad de la Banda Negra Tipo II (WBD II), afecta al coral *Acropora cervicornis*, y se presume que es ocasionado por *Vibrio carchariae*, estudios realizados por Ritchie y Smith (2004), demuestran la presencia de la bacteria en corales enfermos, y ausencia de estas en corales sanos.

El “Síndrome Blanco” (WS), es ocasionado por *Vibrio spp.*, pero se desconoce la especie. Afecta principalmente a *Turbinaria*, *Acropora*, *Goniastrea*, *Pocillopora*, *Porites*, *Pavona*, *Stylophora*, *Montipora*, y *Faviidae*. La característica de la enfermedad son áreas difusas con pérdida de tejido y esqueleto expuesto (Sweet y Bythell 2012).

La “Enfermedad de la Banda Amarilla” (YBD), es ocasionada por *Vibrio spp.* y afecta principalmente al género *Montastraea*. Se identifica por la producción de manchas en zonas expuestas del esqueleto, rodeadas perimetralmente de un margen de color amarillo a blanco (Croquer et al. 2013).

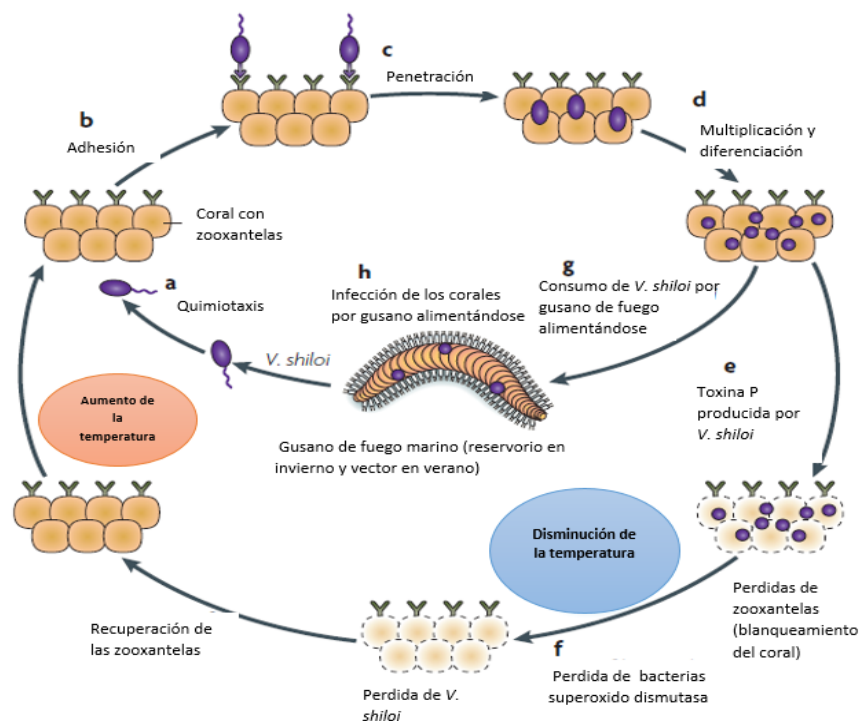


Figura 4. Infección del coral *Oculina patagonica* por *Vibrio shiloi*. Fuente: Banin et al. 2001.

## 4 METODOLOGÍA

---

### 4.1 *Fase de campo.*

#### 4.1.1 *Descripción del área de muestreo.*

Los muestreos se llevaron a cabo en la zona arrecifal del Área Natural Protegida (ANP) Complejo Los Cóbano, esta rodeado de playas, ríos, manglares, esteros, campos agrícolas y estanques de cultivos (Bonilla y Barraza, 2003).

El sistema arrecifal de los Cóbano, según Escamilla (1986), se encuentra entre la sección del río Grande de Sonsonate o Sensunapán y el río Ayacachapa o Banderas-Ceniza (Figura 5). Localizado entre las coordenadas geográficas 13° 31'25.4" N 89° 48' 24.3" O. Está delimitado por la franja costera de El Zope y los manglares de Barra Salada (Segovia y Navarrete 2007).

El territorio de Acajutla corresponde a la sabana tropical caliente, comprendidas entre las elevaciones de 0 a 800 m.s.n.m., donde la temperatura oscila entre 24-33°C, con un promedio de 29°C y la precipitación oscila alrededor de los 1,300 mm. Se presentan dos estaciones climáticas anuales, una época seca (noviembre-abril) y época lluviosa (mayo - octubre), y dos transiciones (seca - lluviosa y lluviosa - seca). Al final de la estación seca ocurren las máximas temperaturas en los meses de marzo y abril (MARN 2015).

El ciclo mareal que se observa en Los Cóbano es de tipo mixto, con una desigualdad diurna en las bajamares; generalmente se suceden dos pleamares y dos bajamares cada día (ICMARES 2006).

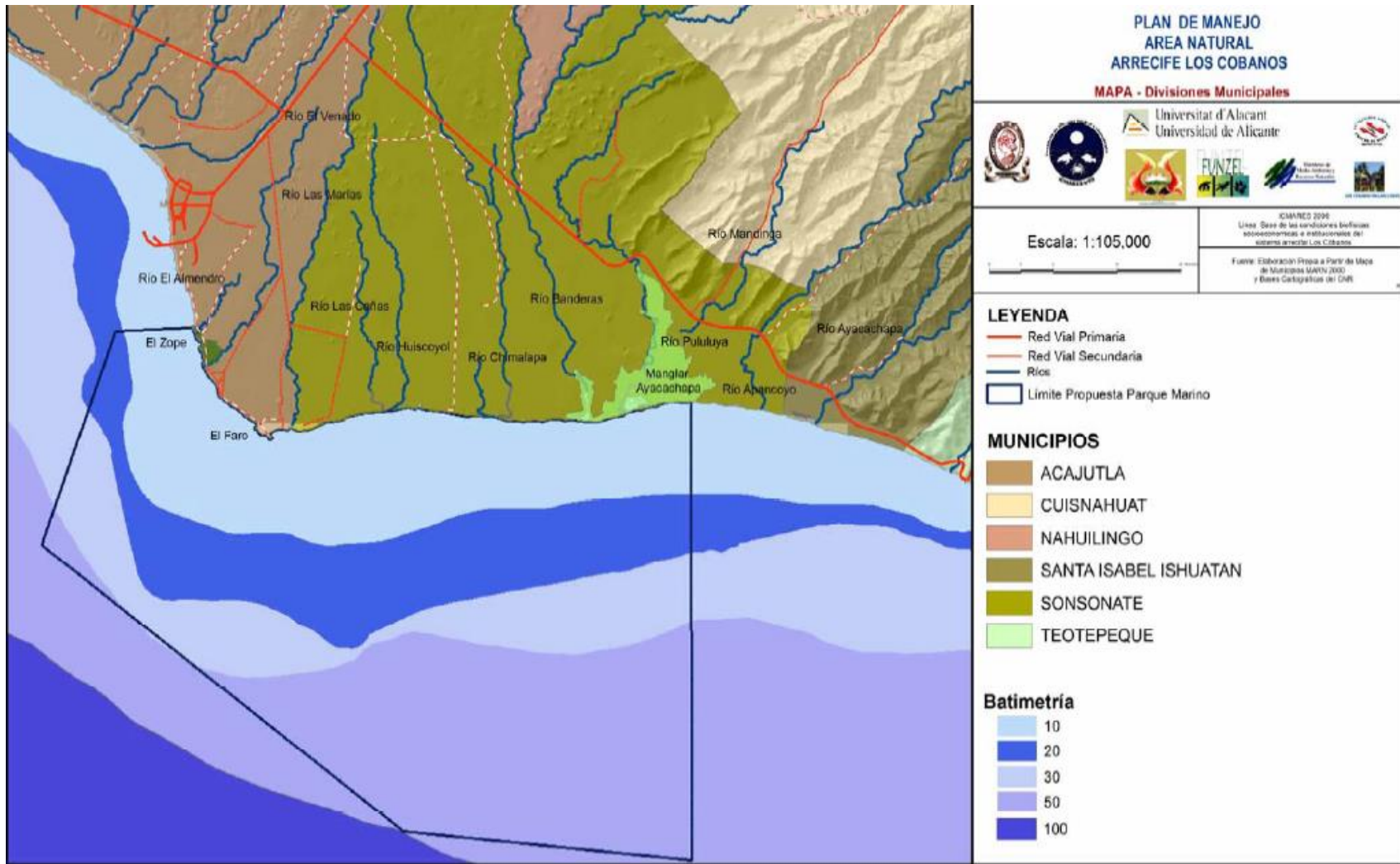
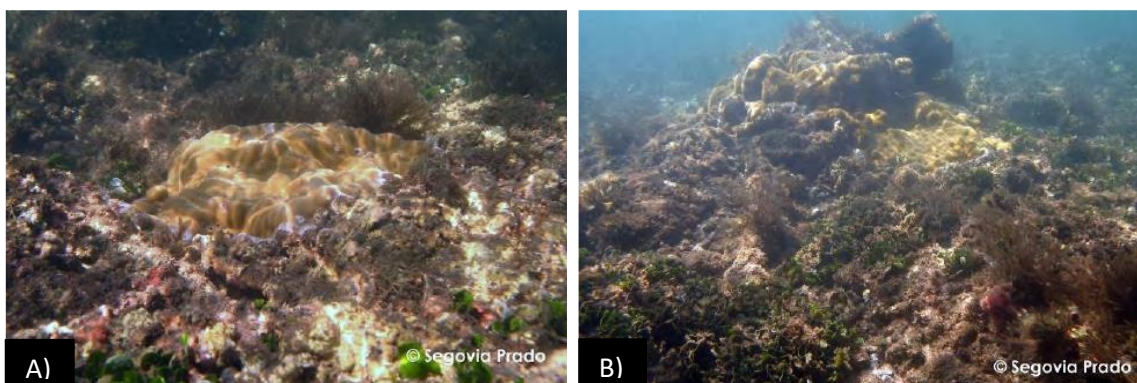


Figura 5. Sistema arrecifal del Área Natural Protegida Complejo Los Cóbanos. Fuente: ICMARES 2008.

La zona arrecifal del ANP Complejo Los Cóbano se define como la sección del arrecife somero de Los Cóbano que se encuentra estructurada por comunidades coralinas de *Porites lobata* que crecen en una matriz muerta de *Pocillophora spp.* (Figura 6-A) y en algunos puntos sobre roca basáltica (Figura 6-B) que se distribuyen hasta 13 m de profundidad en la franja paralela desde Acajutla hasta Punta Remedios (Segovia 2018).



**Figura 6.** A) arrecifes de coral con presencia de los corales hermatípicos *Porites lobata* y *Pocillophora spp.*, B) comunidades de coral sobre sustrato basalto. Fotografías de Johanna Segovia.

#### 4.1.2 Sitios de toma de muestras.

Las muestras se tomaron frente a tres playas: El Flor, Punta Remedios y Salinitas (Figura 7). La ubicación geográfica de cada sitio fue tomada por medio de un GPS.

##### 4.1.2.1 Salinitas.

Este sector está conformado por complejos familiares y casas de lujo del tipo turístico familiar utilizadas los fines de semana y en temporadas vacacionales. Ningún complejo habitacional emplea medidas para mitigar descargas de aguas negras y servidas, empleando como receptor final las aguas costeras de Los Cóbano (ICMARES 2008).

El área posee un sustrato rocoso relativamente plano con depresiones cóncavas o cavidades extendidas más o menos profundas de material volcánico tanto emergido como sumergido, formando una plataforma agrietada de roca blanda inestable que presenta las mayores coberturas de coral *Porites lobata*, además de un sustrato formado por *Pocillophora spp.* que se encuentra cubierto por alga (Segovia y Navarrete 2007).

#### 4.1.2.2 *Punta Remedios.*

El sector entre Punta Remedios y río Ayacachapa se encuentran los ríos: El Venado, Las Marías, Huiscoyol y Chimalapa, que nacen en la misma llanura y desembocan en el Océano Pacífico. El área de drenaje de todos estos afluentes es de aproximadamente 770 Km<sup>2</sup> (FUNDE 2002). El cantón directamente involucrado al sistema arrecifal es Punta Remedios, constituido por 8 caseríos, donde la alcaldía de Acajutla estima 8,000 personas.

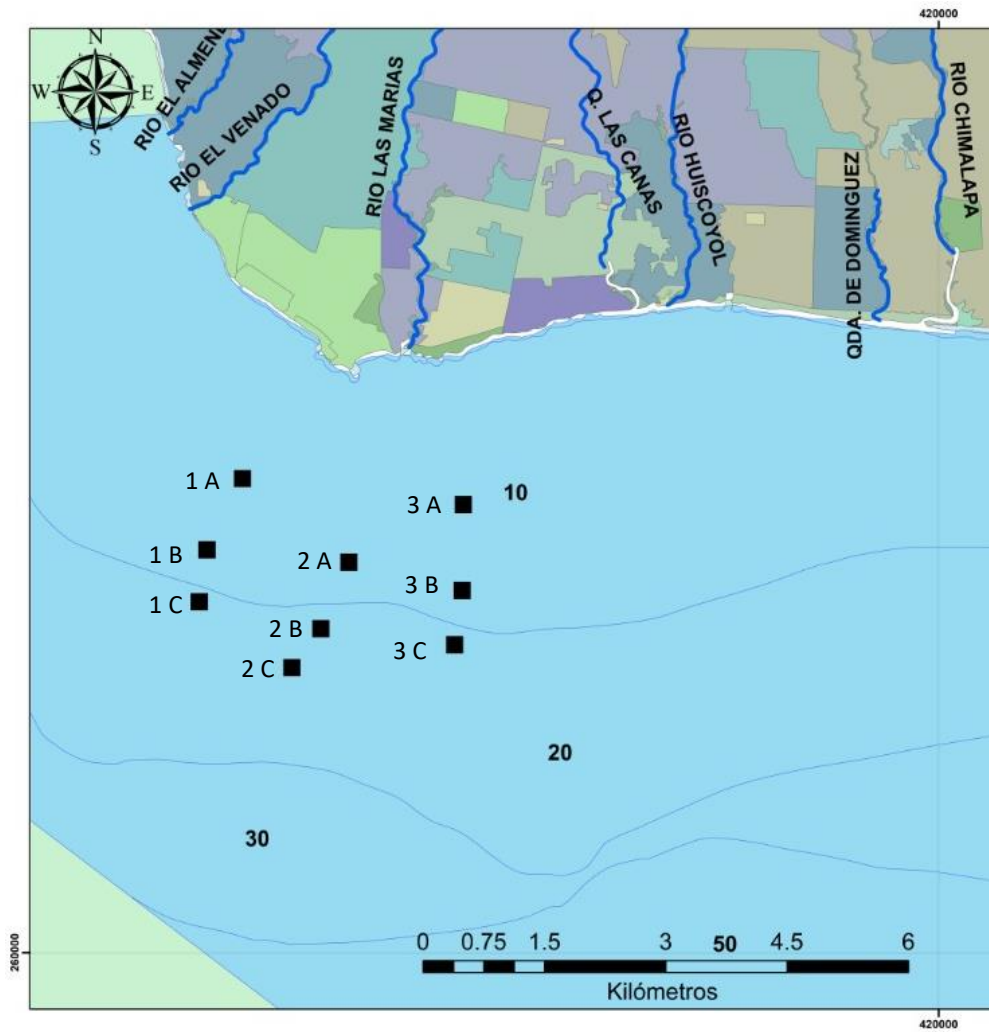
La playa El Faro está en el sector de Punta Remedios, conforma parte del ANP Complejo Los Cóbanos, donde se ubican la mayor cantidad de colonias de corales dentro del área, y con mayor acceso a estos para realizar investigación, la playa presenta un oleaje moderado y una franja rocosa perpendicular a la costa de aproximadamente 700 m de longitud con pendientes de mediana altura. La cobertura se conforma por *Porites lobata* y coral muerto *Pocillopora spp.* (Segovia y Navarrete 2007).

#### 4.1.2.3 *El Flor.*

Cerca de la playa El Flor se encuentra una camaronera, proyecto privado que surge de una fusión de las ex-granjas Crustáceos del pacífico y Agromarina (Currie 1995). Consiste en el proyecto de cultivo de camarón más potente a nivel nacional. Su modalidad superintensiva, implica densidades de siembra de 150 ind/m<sup>2</sup>, fertilización de 220 lbs/ha/15 días, alimentación complementaria y recambios diarios de agua de 50-60% (ICMARES 2008). La camaronera posee una superficie de 42 ha destinadas para engorde y para producción de postlarvas (85 millones de postlarvas), realizan 4 ciclos por año (Hernández 1996).

En esta playa se ubica el río Las Marías, algunos usuarios en Los Cóbanos emplean agua del río para lavado de ropa, la bocana del río Las Marías es impactada por las actividades de las comunidades humanas cercanas, como también por actividades destinadas a agricultura, ganadería y acuicultura. En época seca aproximadamente 1.5 Km. son afectados por las aguas salobres que descarga la camaronera en el río llegando a la playa (ICMARES 2008).

Considerada como una zona de turismo masivo e intensivo, junto a Salinitas (ICMARES 2008), se encuentra cerca de acantilados rocosos y presentan playas arenosas; por el momento no se ha registrado la ausencia o presencia de corales en este sector.



**Leyenda**

■ Sitios de muestreo	■ Caña de azúcar	■ Pastos cultivados
— Ríos	■ Cuerpos de agua	■ Pastos naturales
<b>Uso de suelo</b>	■ Cultivos irrigados	■ Playas, dunas y arenales
<b>Categoría</b>	■ Granos básicos	■ Sistemas agroforestales
■ Bosque	■ Lavas volcánicas	■ Tejido urbano
■ Bosque de mangle	■ Mosaico de Cultivos y Pastos	■ Vegetación herbácea natural
■ Café	■ Palmeras oleíferas	

Fuente:  
 Centro Nacional de Registros (CNR)  
 Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales (MARN)

Universidad de El Salvador  
 Facultad de Ciencias Naturales y Matemática  
 Escuela de Biología



Lugar y Fecha  
 San Salvador  
 Junio, 2019



**Figura 7.** Sitios de muestreo en campo frente a las playas: 1) Salinitas, 2) Punta Remedios y 3) El Flor; a las distancias de la costa A) 200 m, B) 400 m y C) 600 m en el ANP Complejo Los Cóbanos, Sonsonate.

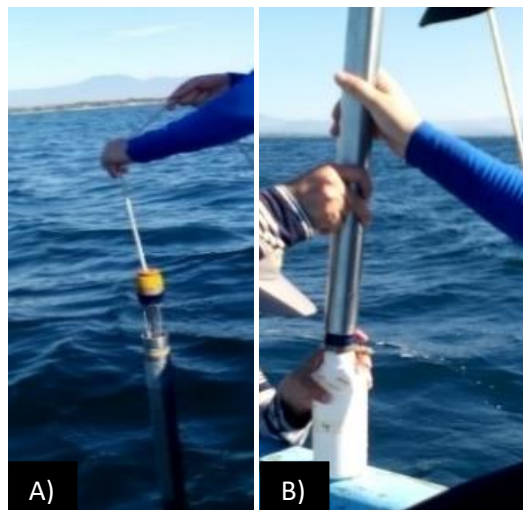
#### 4.1.3 Frecuencia de muestreos.

El trabajo se desarrolló de febrero a abril (época seca) del 2018, un muestreo por mes, se tomaron en días de marea alta debido a que en marea baja se da un mayor arrastre de los sedimentos de la costa (Lee et al. 2017), las mareas se verificaron en el Almanaque Marino-Astronómico, emitido por el Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales (MARN).

#### 4.1.4 Colecta de muestra de agua.

La zona arrecifal del ANP Complejo Los Cóbano muestra una compleja distribución de especies. A partir de los 100–200 m de la línea de costa ocurre la presencia de *Pocillopora spp.* (matriz muerta) y *Porites lobata* (ICMARES 2008), por lo que los puntos de muestreos se iniciaron a 200 m, el segundo a 400 m y el tercero a 600 m. Se llegó hasta 600 m ya que a esa distancia se encontró una profundidad de 15 m y en el ANP Complejo Los Cóbano se registra la zona arrecifal hasta 13 m de profundidad (Segovia 2018).

La muestra de agua se colectó con una botella Kemmerer SS de 1.2 L (Wildco® serie 1200) hasta la profundidad definida, se bajó la botella con la cabeza de disparo bloqueada para que los sellos de ambos extremos se mantuvieran abiertos. Al obtener la muestra se envió el mensajero para cerrar los sellos y se subió la botella (Figura 8-A). Se transfirió la muestra de agua a dos frascos de 250 ml (para el análisis microbiológico y el análisis fisicoquímico), este proceso se repitió en los 9 puntos de muestreo (Figura 8-B).



**Figura 8.** A) Toma de muestras utilizando la botella Kemmerer SS, B) Transferencia de la muestra a los frascos.



A los 200 m de la línea de costa se recolectó la muestra a un metro de la superficie (Anexo 3). A los 400 m y 600 m se recolectó una muestra a un metro de la superficie y otra a un metro sobre el fondo del mar (Tabla 2). Se tomaron 45 muestras en total para el estudio.

Tabla 2. Muestras de agua recolectadas en los puntos de muestreo por playas.

Distancia de la costa (m)	Profundidad (m)	Columna de agua		
		Un metro sobre la superficie	Un metro sobre el fondo	Total de muestras
200	5	Si	No	1
400	10	Si	Si	2
600	15	Si	Si	2
<b>Total de muestras/playa</b>				5

Se evitó que el cuello del frasco se pusiera en contacto con los dedos o cualquier otro contaminante, llenándose el frasco a  $\frac{3}{4}$  partes de su capacidad. Los frascos utilizados para el análisis microbiológico fueron previamente esterilizados (Figura 9) y los tapones cubiertos hasta el cuello con papel aluminio.



Figura 9. Frascos estériles.

#### 4.1.5 Transporte de la muestra.

Las muestras fueron transportadas en una hielera a 4°C, hasta el Laboratorio de Control de Calidad Microbiológico de Alimentos, Medicamentos y Agua del Centro de Investigación en Salud (CENSALUD) de la Universidad de El Salvador, y al Laboratorio del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología (ICMARES) para sus respectivos análisis microbiológicos y fisicoquímicos. Todas las muestras fueron procesadas en menos de 24 horas.

## 4.2 Fase de laboratorio.

### 4.2.1 Reactivos y medios de cultivo.

Los medios de cultivo utilizados fueron: el agar marino para bacterias heterótrofas, agua peptonada; agar tiosulfato citrato bilis sacarosa (TCBS), tripticasa soya agar (TSA) y agar cetrimida preparados según las instrucciones del fabricante.

Los reactivos utilizados fueron: Cloruro de sodio (NaCl), hidróxido de sodio (NaOH), ácido clorhídrico (HCl), solución salina, cristal violeta, lugol, acetona, safranina, tetrametil-p-fenilendiamina, ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), Cloruro de Bario (BaCl<sub>2</sub>), pruebas API 20 NE, NIT 1, NIT 2 y reactivo de James.

#### 4.2.1.1 Agar marino 2216E (Oppenheimer y ZoBell 1952).

El agar marino utilizado para el crecimiento de bacterias heterótrofas se preparó a partir de la fórmula según Miravet et al. (2009), ya que no se encuentra disponible comercialmente en el país (Anexo 4).

#### 4.2.1.2 Agar Tiosulfato Citrato Bilis Sacarosa (TCBS).

Es un medio selectivo para el aislamiento y cultivo de *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahemolyticus* y otras especies de *Vibrio* a partir de heces, agua y alimentos contaminados.

#### 4.2.1.3 Agar Tripticasa Soya (TSA) + 3% y 8% de NaCl.

Es un medio utilizado para propósitos generales que favorece el desarrollo y el aislamiento de una gran variedad de microorganismos aerobios, anaerobios facultativos y estrictos. Se preparó uno sin NaCl y otro con NaCl al 3% y 8%.

#### 4.2.1.4 Agar Cetrimida.

Es un medio utilizado para el aislamiento selectivo de *Pseudomona aeruginosa* y de otras especies del género; éste se utilizó como control negativo de las colonias verdes en TCBS, y así asegurarse que no sea una colonia de *Pseudomona spp.*

Antes de autoclavar se midió con un potenciómetro el pH de los medios de cultivo, para su ajuste se utilizó HCl o NaOH 1 N o 0.1 N (Figura 10).



Figura 10. Ajuste de pH con los reactivos de HCl y NaOH.

Todos los medios de cultivo se enfriaron en baño de María a 45 °C para ser vertidos en cajas petri de 90 X 15 cm, al solidificarse fueron almacenados hasta su utilización.

#### 4.2.1.5 Agua Peptonada marina

Medio utilizado como diluyente y para el enriquecimiento bacteriano a partir de alimentos y otros materiales de importancia sanitaria, en lugar de ser preparada con agua destilada se ocupó agua de mar estéril.

#### 4.2.2 Procesamiento de las muestras.

Para el análisis microbiológico de las muestras se prepararon diluciones seriadas en agua peptonada marina, de  $10^{-1}$  hasta  $10^{-4}$ . Se tomó 1 ml de la muestra y se colocó en un tubo con 9 ml de agua peptonada marina (1:10), de este se tomó 1 ml de la muestra y se colocó en otro tubo con 9 ml de agua peptonada marina (1:100); así sucesivamente hasta tener la dilución 1:1000 y 1:10000 (Anexo 5).

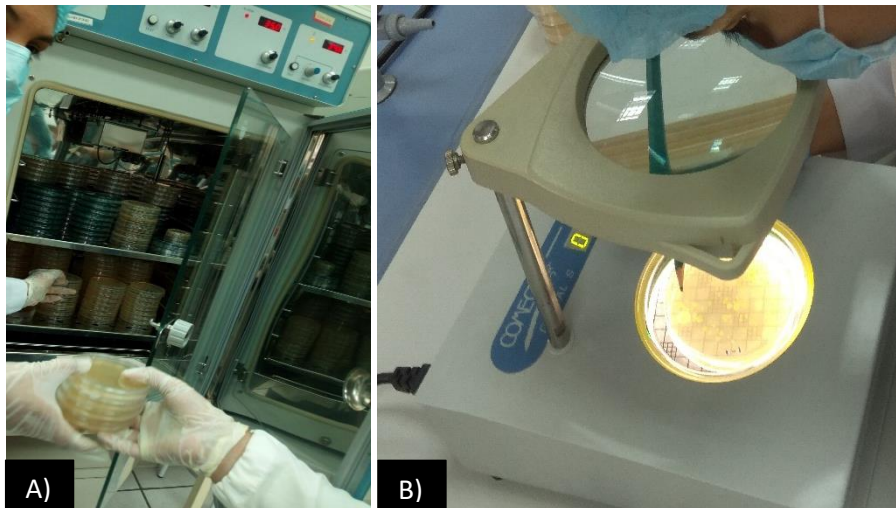
#### 4.2.2.1 Método de siembra para bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.*

El método de siembra fue por dispersión en placa tanto para bacterias heterótrofas como para *Vibrio spp.* Se tomó con una micropipeta 100 µl de cada dilución ( $10^{-1}$  -  $10^{-4}$ ) y se inoculó en las placas con agar marino y TCBS, cada dilución se sembró por duplicado.

Se preparó una placa “control” conteniendo únicamente el medio de cultivo y una segunda placa “control” conteniendo el medio de cultivo y el agua de dilución. Esto se realizó para asegurar la esterilidad de los medios y del agua peptonada marina.

#### 4.2.2.2 Incubación y conteo de colonias.

Todas las placas, tanto para bacterias heterótrofas como de *Vibrio spp.*, se incubaron a 35°C por 48 horas (Figura 11-A). Pasado el periodo de incubación de las placas, se observó el crecimiento bacteriano y se realizó el conteo de colonias viables (UFC) con ayuda de un contador de colonias (Figura 11-B).



**Figura 11.** A) Incubación de las cajas petri a una temperatura de 35 °C, B) Conteo de colonias.

#### 4.2.3 Confirmación de colonias de *Vibrio spp.*

##### 4.2.3.1 TSA normal + TSA al 3% y 8% de NaCl.

Se seleccionaron las colonias con las características típicas de *Vibrio spp.* del agar TCBS, las cuales eran: amarillas y verdes de 1.5 a 4 mm de diámetro, ligeramente aplanadas, con el centro opaco y la periferia translúcida (Thompson et al. 2004). De las colonias seleccionadas

se hizo una resiembra en superficie a los medios no inhibitorios: Agar TSA normal y con NaCl al 3% y 8%. Para así realizar las siguientes pruebas: prueba de oxidasa, tinción de Gram y pruebas API 20 NE. De igual manera de las placas de TCBS se realizó una resiembra en tubos con agar inclinado de TSA (Figura 12) para tener una cepa de reserva.

Las placas y los tubos de ensayo se incubaron a 35 °C por 18-24 horas, transcurrido el tiempo de incubación se observó si hubo crecimiento bacteriano.



**Figura 12.** Resiembra de colonias en tubos inclinados de agar TSA.

La Administración de Alimentos y Medicamentos o FDA (por sus siglas en inglés), presenta una tabla con las características bioquímicas que se observan en *Vibrio spp.* (Anexo 6). Una de las pruebas comparativa es el crecimiento a diferentes concentraciones de NaCl (Kaysner y DePaola 2004).

Según la FDA, las colonias que crecen entre el 0% y 2% de NaCl se pueden considerar *V. cholerae* y *V. mimicus*, al 3% pueden crecer la mayoría de las especies de *Vibrio*, pero también bacterias como *A. hydrophilia* y *P. shigelloides*, por lo que las placas que presentaron crecimiento al 8% de NaCl se elimina la posibilidad del crecimiento de estas otras bacterias.

#### 4.2.3.2 Agar cetrimida

De las placas con TSA normal que tuvieron crecimiento bacteriano se hizo una resiembra en agar cetrimida y se incubaron las cajas petri a 35° C por 24-48 horas. Pasado el periodo de

incubación se examinó el crecimiento de las colonias y si estas mostraban fluorescencia bajo luz ultravioleta de 254–260 nm eran colonias de *Pseudomona spp.*

#### 4.2.3.3 Tinción de Gram

A las muestras con crecimiento positivo en TSA al 3% y 8% de NaCl se les realizó tinción de Gram. Para realizar la tinción de Gram se siguieron los siguientes pasos:

1. Preparación del portaobjetos con la muestra: primero se rotularon los portaobjetos con el número de muestreo, el punto, la dilución y la concentración de NaCl de la muestra a analizar (Figura 13-A). Se colocó una gota de solución salina en el portaobjetos y con un asa microbiológica se transfirió la muestra de la placa y se frotó el asa hasta formarse una mezcla blanquecina (Figura 13-B). Luego se dejó fijar la muestra por calor cerca del mechero Bunsen.

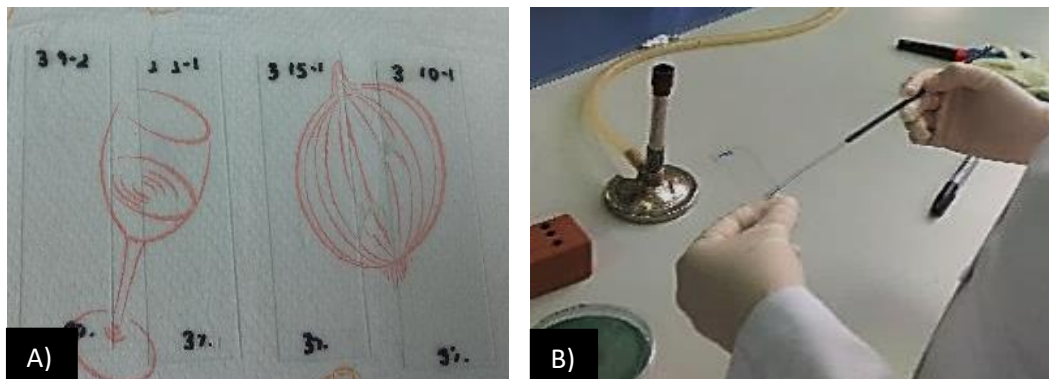
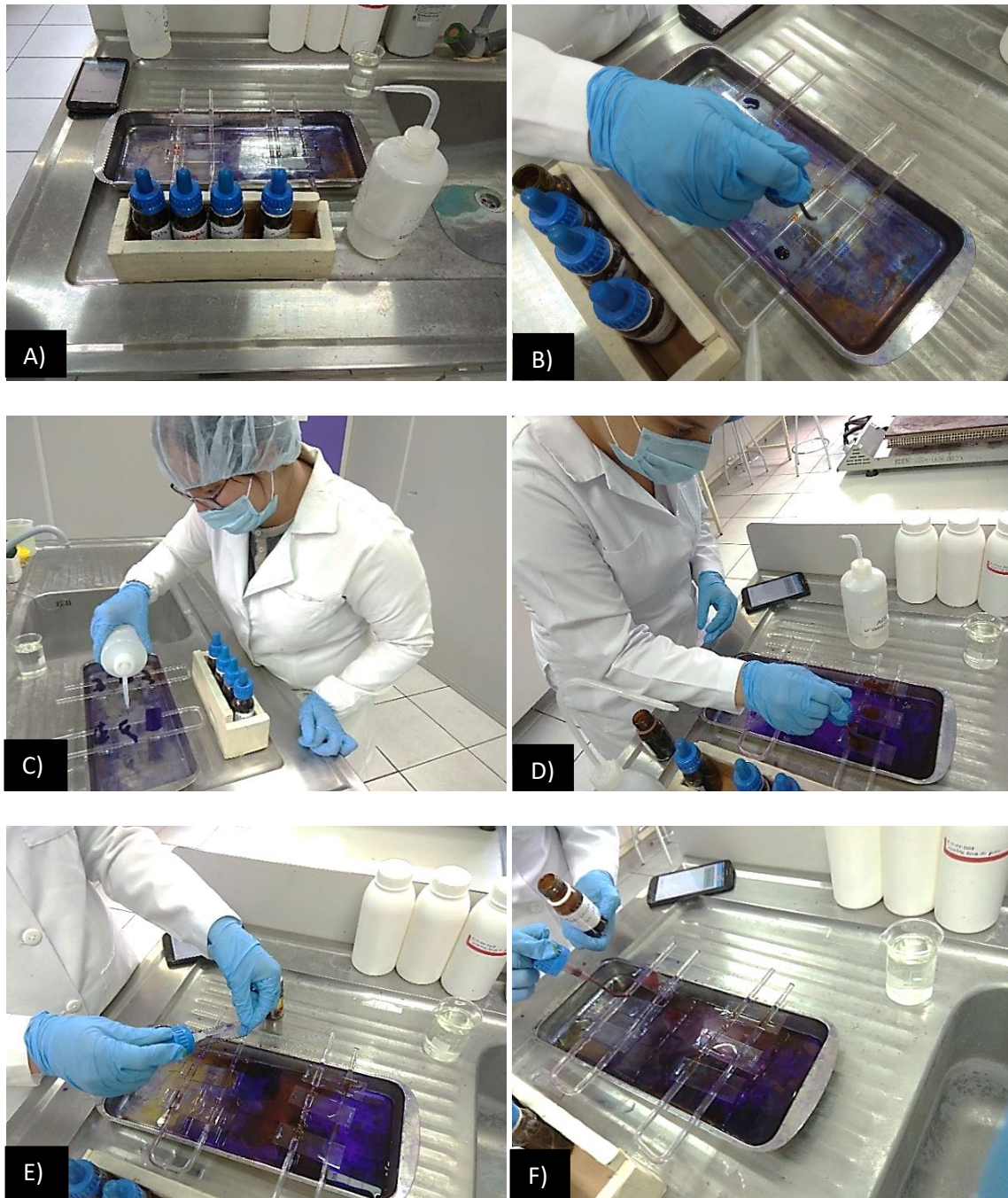


Figura 13. A) Rotulación de los portaobjetos, B) Transferencia de la muestra con un asa microbiológica.

2. Realización de la tinción de Gram: Se colocaron los portaobjetos en una bandeja para tinción (Figura 15-A). Con un gotero se agregó cristal violeta (Figura 15-B) y se esperaron 60 segundos para enjuagar suavemente el portaobjetos (Figura 14-C). Después se agregó Lugol y se esperaron 60 segundos para su enjuague (Figura 14-D), se colocó acetona e inmediatamente se enjuago el portaobjetos (Figura 14-E), se agregó safranina y se esperaron 60 segundos para su enjuague (Figura 14-F).



**Figura 14.** A) Colocación de los portaobjetos en una bandeja de tinción, B) Adición del cristal violeta, C) Enjuague de los portaobjetos, D) Adición del Lugol, E) Adición de acetona y F) Adición de safranina a los portaobjetos.

3. Examinación de los resultados: se observaron las tinciones en un microscopio óptico a un aumento de 100 X (Figura 15).



Figura 15. Examinación de las preparaciones.

#### 4.2.3.4 Prueba de oxidasa

Para la identificación de *Vibrio spp.* se realizó la prueba de oxidasa a las placas de agar TSA con 3% y 8% de NaCl. Para esta prueba se utilizó papel filtro estéril, palillos estériles, un gotero y el reactivo tetrametil -p- fenilendiamina al 1% (Figura 16-A y B).

Con un palillo estéril se tomó una muestra a partir de una colonia aislada proveniente de un cultivo de 24 horas, se expandió en el papel filtro estéril, y con un gotero se agregó una gota del reactivo tetrametil -p- fenilendiamina al 1%. Se observó si el papel filtro se tornaba de un color morado el resultado era positivo (Figura 16-C).

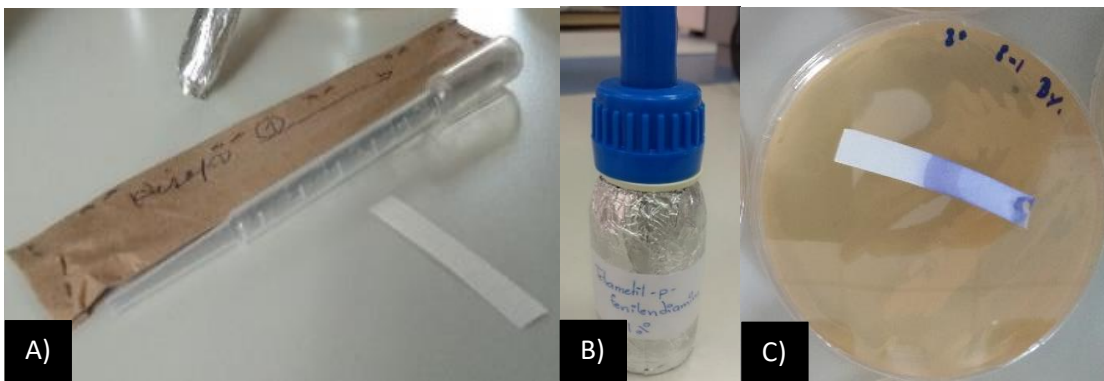


Figura 16. A) Materiales para la prueba, B) Reactivo tetrametil -p- fenilendiamina al 1%, C) Realización de la prueba, D) Observación de los resultados.



#### 4.2.3.5 Pruebas Api 20 NE

Es un sistema estandarizado para la identificación de bacilos Gram negativos no pertenecientes al grupo de las Enterobacterias, por ejemplo: *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Vibrio*, *Aeromonas*, etc.

La galería incluye 20 microtubos que contienen substratos deshidratados. Los microtubos se inoculan con una suspensión bacteriana y las reacciones producidas durante el periodo de incubación se traducen en cambios de color espontáneos o revelados mediante la adición de reactivos.

Para esta prueba se siguieron una serie de instrucciones: preparación del inóculo, preparación de la galería, inoculación de la galería y lectura e interpretación de la galería.

##### 4.2.3.5.1 Preparación de inóculo

Se realizó una suspensión de turbidez equivalente a 0.5 McFarland, se midió en una probeta 9.95 ml de solución de ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) y 0.05 ml de Cloruro de Bario ( $BaCl_2$ ), se transfirió la suspensión a un tubo de ensayo (Figura 17-A y B).

Se extrajo con un asa microbiológica una colonia aislada de la placa con agar TSA + 3% y 8% de NaCl, utilizando cultivos jóvenes (18-24 horas), y se realizó una suspensión bacteriana en un tubo de ensayo con solución salina hasta tener una turbidez comparable al tubo de 0.5 McFarland (Figura 17-C y D).

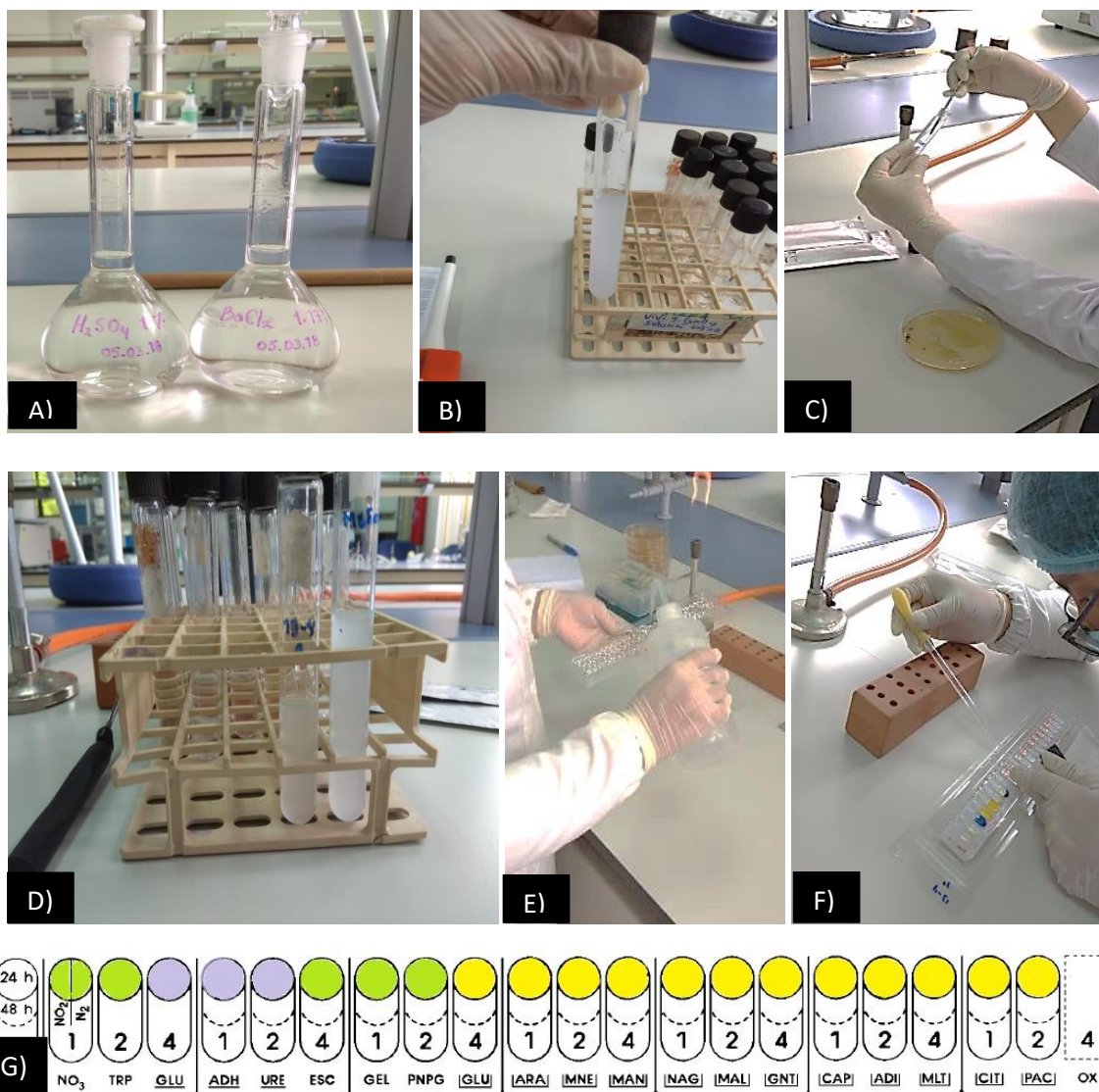
##### 4.2.3.5.2 Preparación de la galería.

Se reunió el fondo y la tapa de la cámara de incubación y se humedeció con agua destilada (Figura 18-E), luego se rotuló la cámara con el número de la muestra, la dilución y el número de muestreo; por último, se colocó la galería en la cámara de incubación.

##### 4.2.3.5.3 Inoculación de la galería.

Se procedió hacer la inoculación de las galerías según las indicaciones del fabricante. Se inclinó ligeramente la cámara y con una pipeta Pasteur sobre la pared de la cúpula se introdujo la suspensión bacteriana en los tubos de la galería (Figura 17-F).

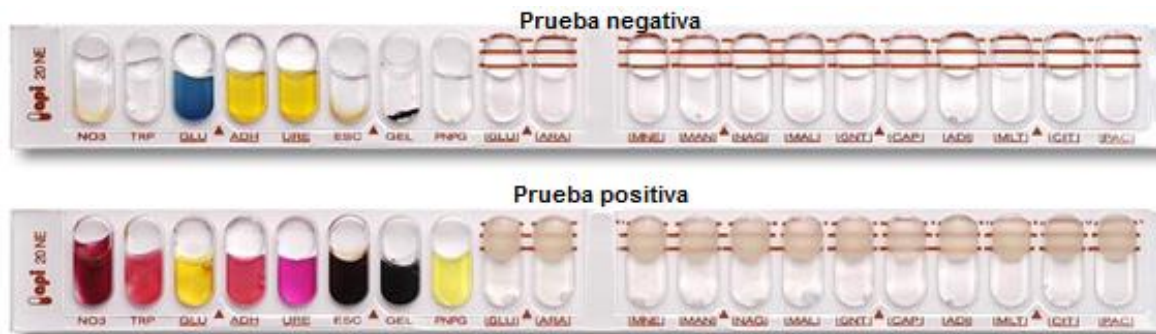
Se rellenaron los tubos (no las cúpulas) de los ensayos marcados con verde, los tubos y las cúpulas de los ensayos marcados con amarillo y las cúpulas con aceite de parafina de los ensayos marcados con morado lila (Figura 17-G). Inmediatamente se cerraron las cámaras y se incubaron a 35°C por 24 horas.



**Figura 17.** A) Soluciones de BaCl<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, B) Tubo con la solución de turbidez 0.5 de McFarland, C) Realización de la suspensión bacteriana, D) Comparación de la turbidez de los tubos de ensayo con la suspensión de McFarland y la suspensión bacteriana, E) Rehidratación de la cámara de incubación, F) Inoculación de la galería, G) Llenado de los microtubos con la suspensión bacteriana.

#### 4.2.3.5.4 Lectura de la galería.

Finalmente 24 horas después de la incubación se procedió a dar lectura de la galería anotando los resultados positivos o negativos que se verificaron usando la tabla de identificación de las distintas pruebas proporcionado en la ficha técnica del kit API 20 NE (Anexo 7). Para la prueba de NO<sub>3</sub> se añadió una gota de los reactivos NIT 1 y NIT 2 y se esperaron 5 minutos para observar la reacción. Para la prueba de TRP se añadió una gota de reactivo de JAMES y se esperó su reacción (Figura 18).

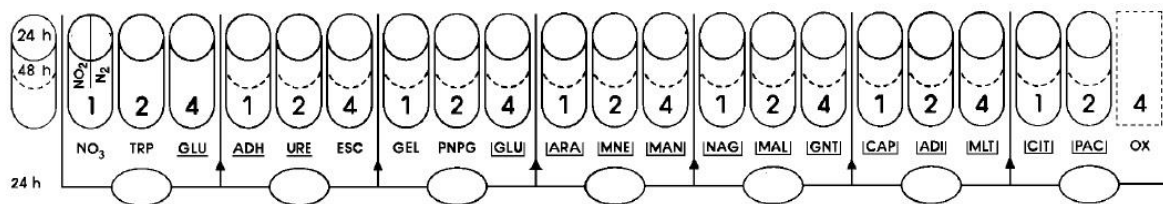


**Figura 18.** Resultados positivos y negativos de las distintas pruebas del sistema API 20NE. Fuente: APIWEB™.

#### 4.2.3.5.5 Interpretación de la galería

La identificación se obtuvo del perfil numérico obtenido con ayuda de la hoja de resultados. Las pruebas están separadas en grupos de tres y se asigna para cada uno un valor cero, uno, dos ó cuatro.

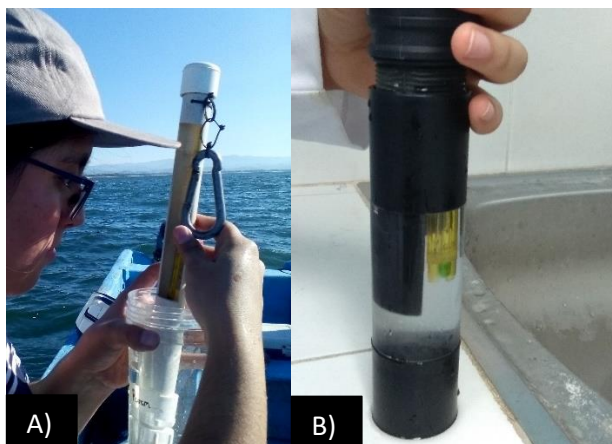
Sumando en el interior de cada grupo los números que corresponden a reacciones positivas, se obtienen siete cifras; a la reacción de la oxidasa, que constituye el ensayo nº 21, se asignó el valor cuatro cuando esta fue positiva (Figura 19). Al determinar el perfil numérico se identificó la cepa al introducir el código de cada prueba en la página oficial del distribuidor (APIWEB™).



**Figura 19.** Hoja de resultados para la determinación del perfil numérico. Fuente: APIWEB™.

#### 4.2.4 Toma de parámetros fisicoquímicos.

En cada estación se tomó *in situ* la temperatura con un termómetro de mercurio (Figura 25-A). Para medir los otros parámetros se transportaron las muestras en una hielera a 4 °C al laboratorio del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología (ICMARES) donde se midieron los parámetros de salinidad (PSU), pH, oxígeno disuelto (ppm), sólidos suspendidos totales o TDS (ppt) y turbidez (FNU) con una sonda multiparámetros HANNA HI9829 (Figura 25-B). Los resultados se registraron para su posterior análisis (Anexo 8 y 9).



**Figura 20.** Toma de parámetros fisicoquímicos: A) Toma *in situ* de la temperatura, B) Medición de los parámetros con una sonda.

#### 4.3 Análisis estadísticos de los datos.

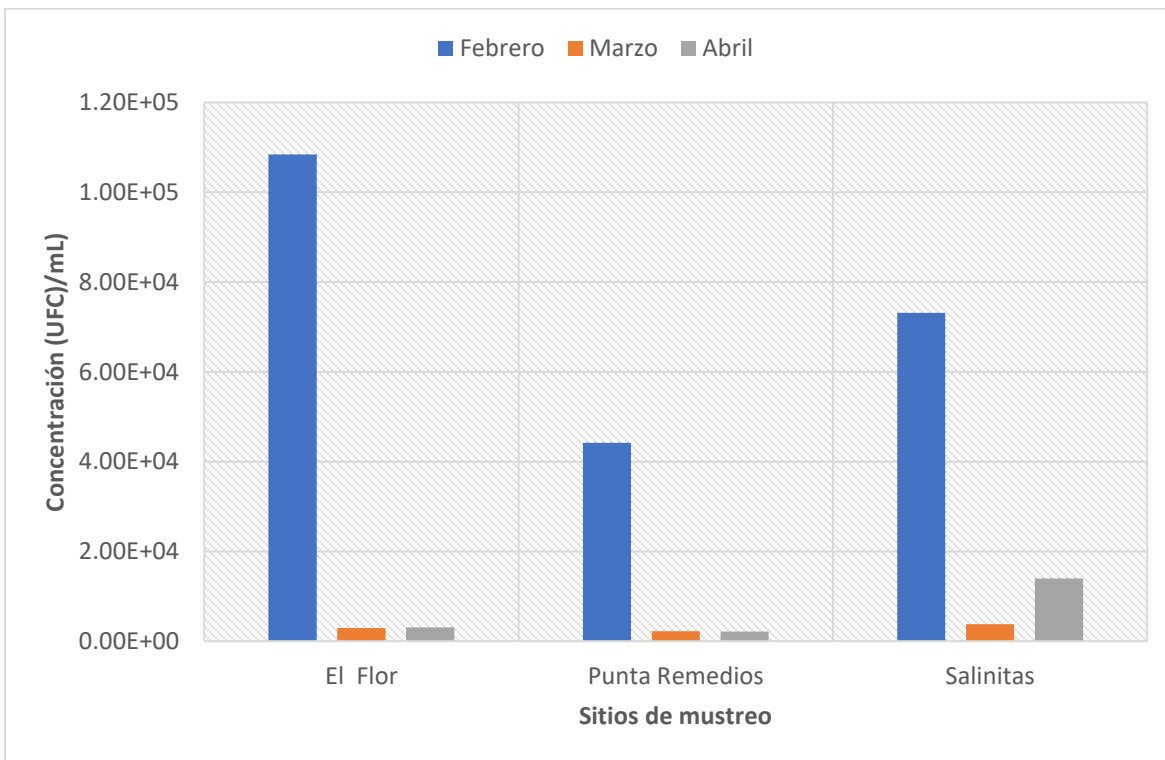
Para describir la concentración de las bacterias heterótrofas y comparar la concentración de *Vibrio spp.* se utilizó estadística descriptiva con una desviación estándar para conocer la dispersión de las concentraciones de bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.*

Para conocer la relación de la concentración de bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.* con los parámetros fisicoquímicos (temperatura, salinidad, pH, oxígeno disuelto y sólidos suspendidos totales) se realizó un análisis de componente principales con una matriz de correlación, al observar agrupaciones en este análisis, se identificó la similitud de los mismos y su significancia estadística con el análisis de similitud (ANOSIM) basado en el índice de Bray Curtis, finalmente para conocer cuál taxón aportó más a la diferencia (o similitud) entre los grupos se utilizó el porcentaje de similitud (SIMPER).

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Concentración de bacterias heterótrofas

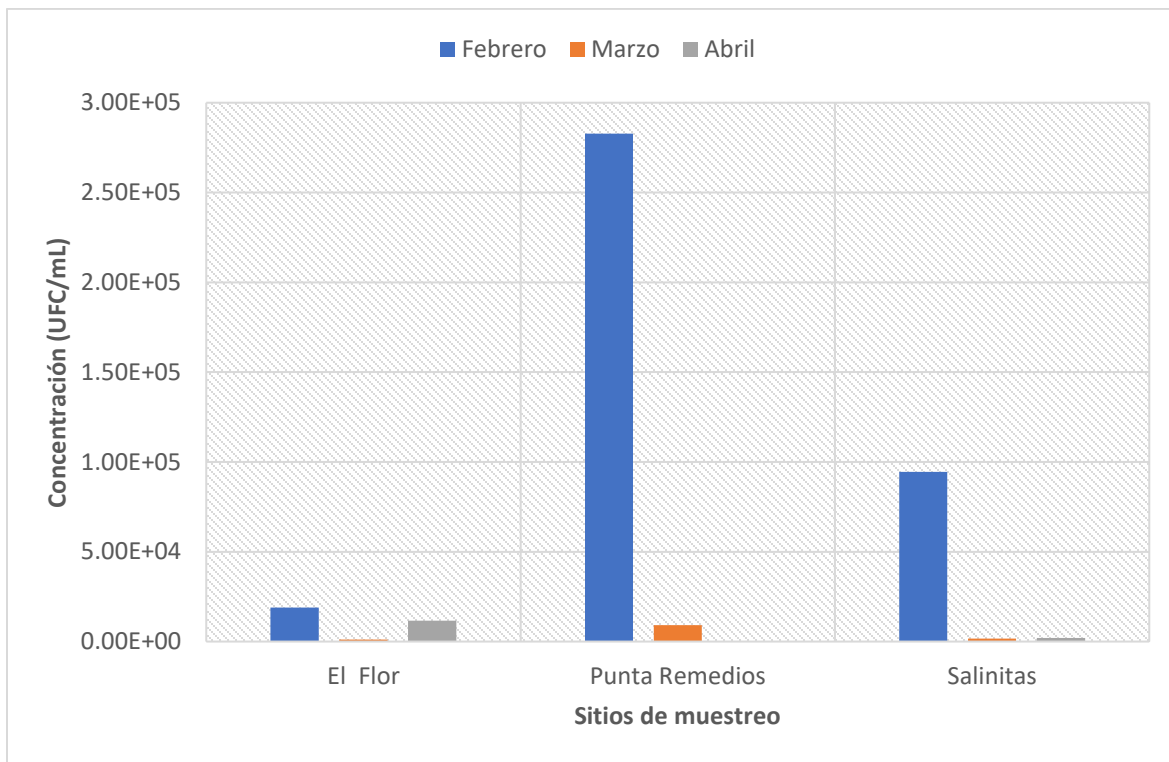
En la concentración de bacterias heterótrofas de febrero a abril se encontró un valor promedio de  $2.82 \times 10^4$  UFC/mL en las tres playas (Anexo 10). Las concentraciones fueron en El Flor en febrero de  $1.08 \times 10^5$  UFC/mL, marzo de  $2.93 \times 10^3$  UFC/mL y abril de  $3.09 \times 10^3$  UFC/mL; para Punta Remedio en febrero de  $4.42 \times 10^4$  UFC/mL, marzo de  $2.22 \times 10^3$  UFC/mL y abril de  $2.11 \times 10^3$  UFC/mL, en Salinitas en febrero de  $7.31 \times 10^4$  UFC/mL, marzo de  $3.75 \times 10^3$  UFC/mL y abril de  $1.40 \times 10^4$  UFC/mL. La mayor concentración se registró en febrero en El Flor con  $1.08 \times 10^5$  UFC/mL y la más baja en abril en Punta Remedios con  $2.11 \times 10^3$  UFC/mL (Gráfico 1).



**Gráfico 1.** Concentración de bacterias heterótrofas en playa El Flor, Punta Remedios, Salinitas en los meses de febrero-abril del ANP Complejos Los Cóbanos.

## 5.2 Concentración de *Vibrio spp.*

La concentración de *Vibrio spp.* de febrero a abril se encontró un valor promedio de  $4.69 \times 10^4$  UFC/mL en las tres playas (Anexo 11). Las concentraciones fueron en El Flor en febrero de  $1.89 \times 10^4$  UFC/mL, marzo de  $1.13 \times 10^3$  UFC/mL y abril de  $1.17 \times 10^4$  UFC/mL; para Punta Remedios en febrero de  $2.83 \times 10^5$  UFC/mL, marzo de  $9.06 \times 10^3$  UFC/mL y abril de  $8.80 \times 10^1$  UFC/mL; en Salinitas en febrero  $9.44 \times 10^4$  UFC/mL, marzo de  $1.62 \times 10^3$  UFC/mL y abril de  $2.05 \times 10^3$  UFC/mL. La mayor concentración se registró en febrero con  $2.83 \times 10^5$  UFC/mL y la menor en abril con  $8.8 \times 10^1$  UFC/mL, ambos en Punta Remedios (Gráfico 2).

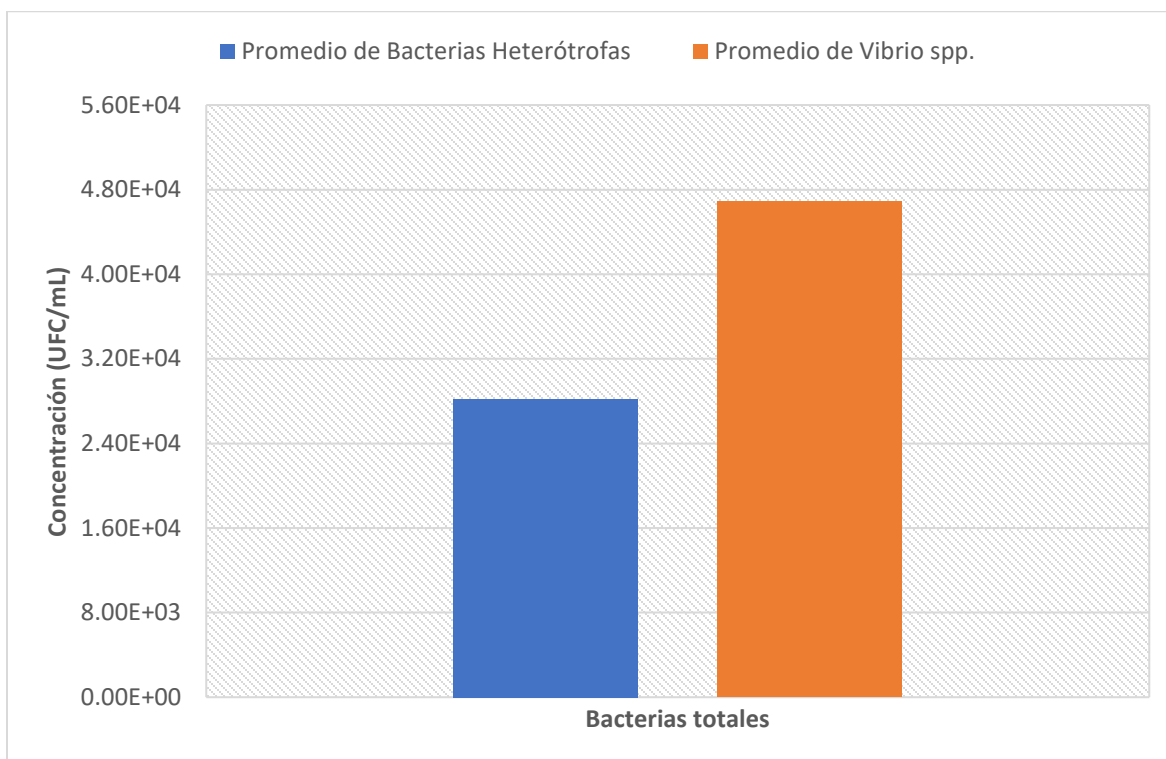


**Gráfico 2.** Concentración de *Vibrio spp.* en la playa El Flor, Punta Remedios, Salinitas en los meses de febrero-abril del ANP Complejos Los Cóbanos.

### 5.3 Comparación de la concentración de bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.* en la zona arrecifal del ANP Complejo Los Cóbanos.

#### 5.3.1 Concentración total de bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.*

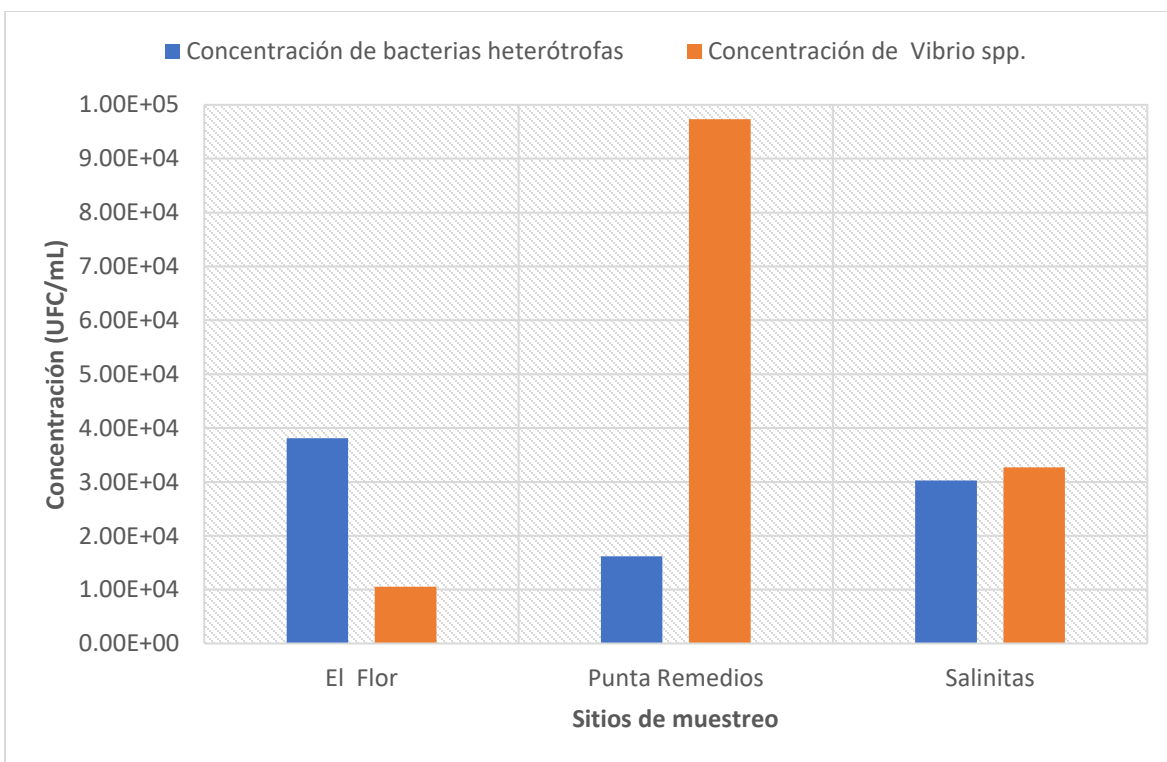
Al comparar la concentración de los sitios muestreados en la zona arrecifal del ANP Complejo Los Cóbanos por tres meses (Gráfico 3) se registró una mayor concentración de *Vibrio spp.* ( $4.69 \times 10^4$  UFC/mL) que de bacterias heterótrofas ( $2.82 \times 10^4$  UFC/mL).



**Gráfico 3.** Concentración total de bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.* en el ANP Complejo Los Cóbanos.

5.3.2 Concentración de bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.* en las playas El Flor, Punta Remedios y Salinitas.

En la concentración registrada para Punta Remedios y Salinitas se observó una dinámica dónde la concentración de *Vibrio spp.* fue mayor con  $9.73 \times 10^4$  UFC/mL y  $3.27 \times 10^4$  UFC/mL, respectivamente; y la concentración de bacterias heterótrofas fue menor con  $1.62 \times 10^4$  UFC/mL y  $3.03 \times 10^4$  UFC/mL, respectivamente (Anexo 12). A diferencia de las dos playas anteriores, en El Flor se reportó una concentración más elevada de bacterias heterótrofas con  $3.81 \times 10^4$  UFC/mL que de *Vibrio spp.* con  $1.06 \times 10^4$  UFC/mL (Gráfico 4).

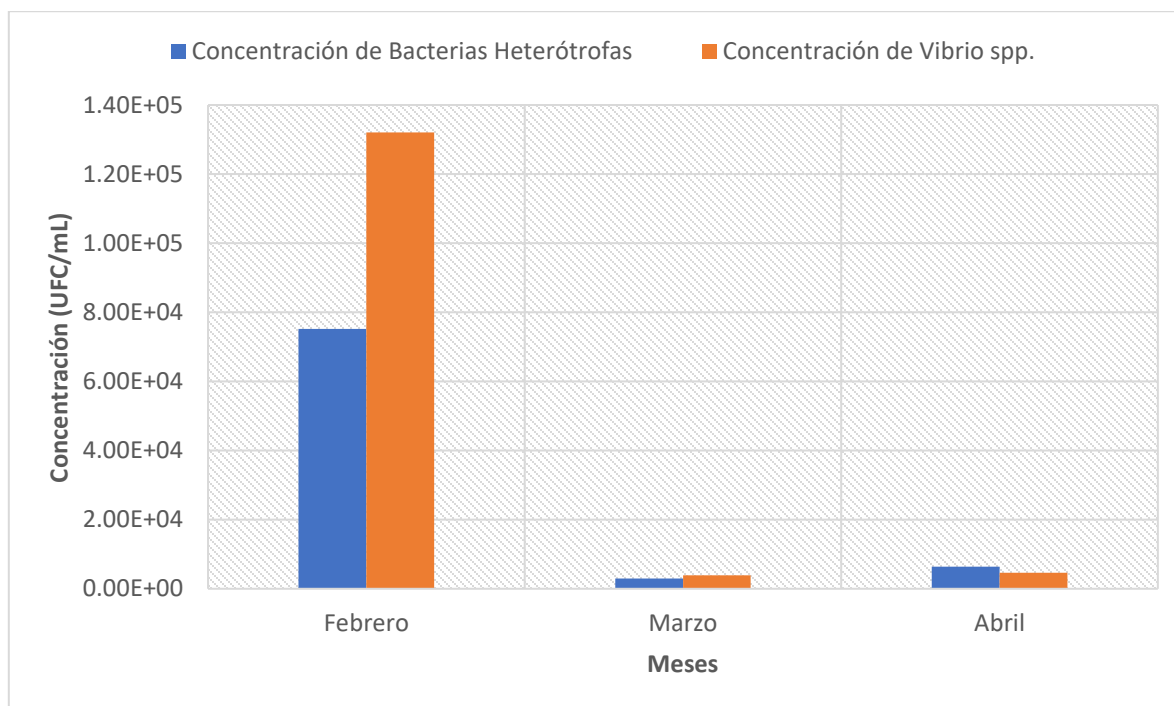


**Gráfico 4.** Concentración de bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.* en la playa El Flor, Punta Remedios, Salinitas del ANP Complejos Los Cóbanos.



### 5.3.3 Concentración de bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.* de febrero a abril.

En febrero se registró una concentración de *Vibrio spp.* de  $1.32 \times 10^5$  UFC/mL, y  $7.52 \times 10^4$  UFC/mL de bacterias heterótrofas (Anexo 13). En marzo se observaron las menores concentraciones de ambos grupos, con  $3.93 \times 10^3$  UFC/mL de *Vibrio spp.* y  $2.97 \times 10^3$  UFC/mL de bacterias heterótrofas, siendo *Vibrio spp.* el grupo de mayor concentración en estos meses. En abril se observó un leve aumento de concentración en ambos grupos respecto al mes anterior con  $4.60 \times 10^3$  UFC/mL de *Vibrio spp.* y  $6.38 \times 10^3$  UFC/mL de bacterias heterótrofas, donde esta última tuvo una mayor concentración. Cabe destacar que, en los tres meses de muestreo, en febrero se registró la mayor concentración tanto de bacterias heterótrofas como de *Vibrio spp.* (Gráfico 5).



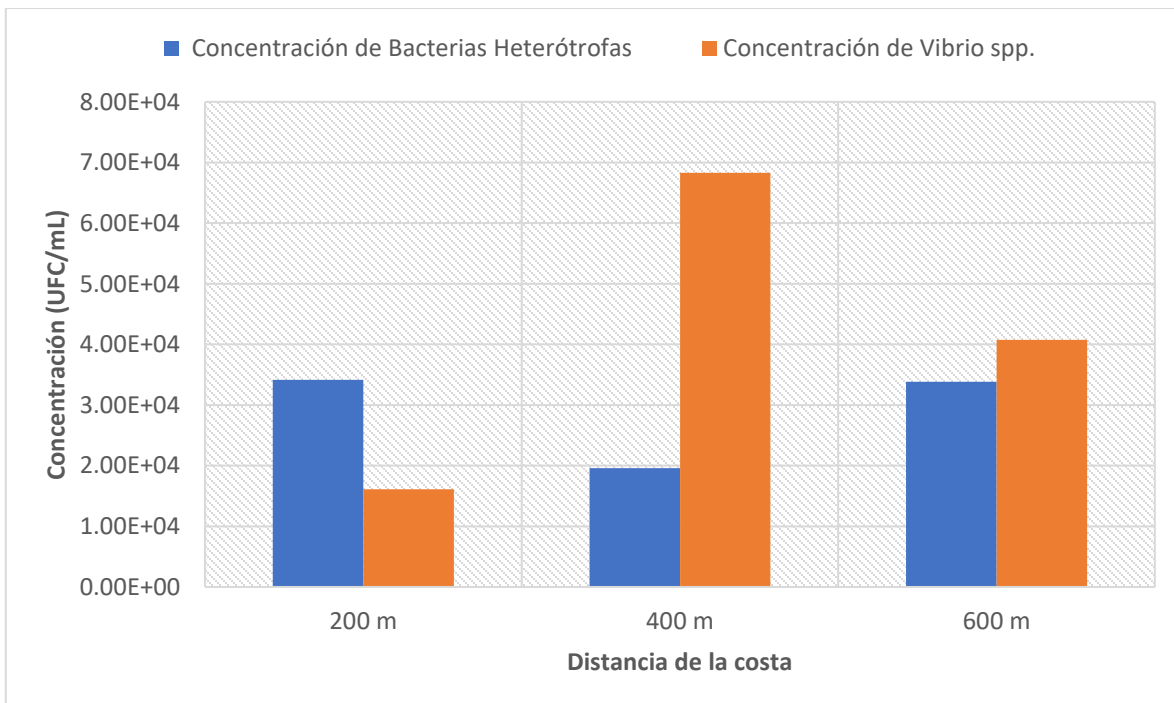
**Gráfico 5.** Concentración de bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.* en los meses de febrero-abril del 2018 del ANP Complejo Los Cóbanos.

#### 5.3.4 Concentración de bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.* según la distancia de la costa.

A los 200 m se observó una concentración de bacterias heterótrofas de  $3.42 \times 10^4$  UFC/mL y de *Vibrio spp.* de  $1.61 \times 10^4$  UFC/mL, teniendo este punto la mayor concentración de bacterias heterótrofas y la menor de *Vibrio spp.*

A los 400 m se presentó una concentración de bacterias heterótrofas de  $1.96 \times 10^4$  UFC/mL y de *Vibrio spp.* de  $6.83 \times 10^4$  UFC/mL, teniendo este punto las menores concentraciones de bacterias heterótrofas y las mayores concentraciones de *Vibrio spp.*

A los 600 m se mostró una concentración de bacterias heterótrofas de  $3.83 \times 10^4$  UFC/mL y de *Vibrio spp.* de  $4.08 \times 10^4$  UFC/mL, observándose que este sitio tuvo mayores concentraciones de bacterias heterótrofas que los 400 m, pero menores que a 200 m y mayores concentraciones de *Vibrio spp.* que a los 200 m y menores que a los 400 m (Anexo 14 y Gráfico 6).



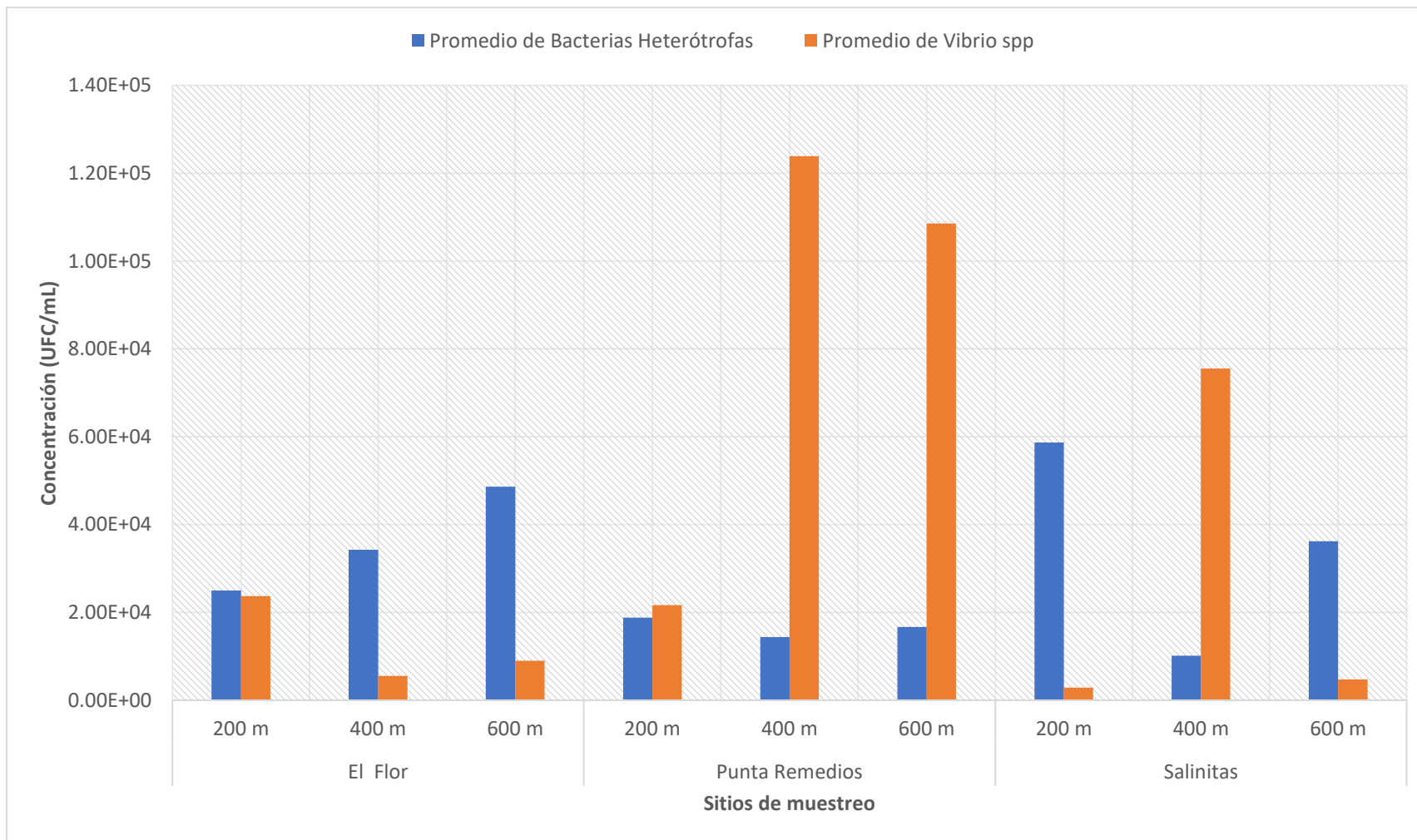
**Gráfico 6.** Concentración de bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.* a 200 m, 400 m y 600 m de distancia de la costa en el ANP Complejo Los Cóbanos.

#### 5.3.4.1 Concentración de bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.* según la distancia de la costa y la playa.

En El Flor a los 200 m de la costa se registró una concentración más elevada de bacterias heterótrofas con  $2.5 \times 10^4$  UFC/mL y  $2.37 \times 10^4$  UFC/mL de *Vibrio spp.*, a los 400 m continuó siendo más elevada la concentración de bacterias heterótrofas que de *Vibrio spp.* con  $3.42 \times 10^4$  UFC/mL y  $5.55 \times 10^3$  UFC/mL respectivamente, esta dinámica se observó hasta el último punto muestreado a los 600 m de la costa siendo la concentración de bacterias heterótrofas más elevada con  $4.86 \times 10^4$  UFC/mL y  $9.01 \times 10^3$  UFC/mL de *Vibrio spp.*; cabe destacar que la concentración de bacterias heterótrofas aumento a medida la distancia de la costa era mayor (Anexo 15).

En Punta Remedios a los 200 m se observó una mayor concentración de *Vibrio spp.* con  $2.16 \times 10^4$  UFC/mL y  $1.88 \times 10^4$  UFC/mL de bacterias heterótrofas, a los 400 m continuó siendo más elevada la concentración de *Vibrio spp.* con  $1.24 \times 10^5$  UFC/mL y  $1.44 \times 10^4$  UFC/mL de bacterias heterótrofas, esta dinámica se mantuvo hasta los 600 m con una concentración más elevada de *Vibrio spp.* con  $1.09 \times 10^5$  UFC/mL que de bacterias heterótrofas con  $1.67 \times 10^4$  UFC/mL (Gráfico 5).

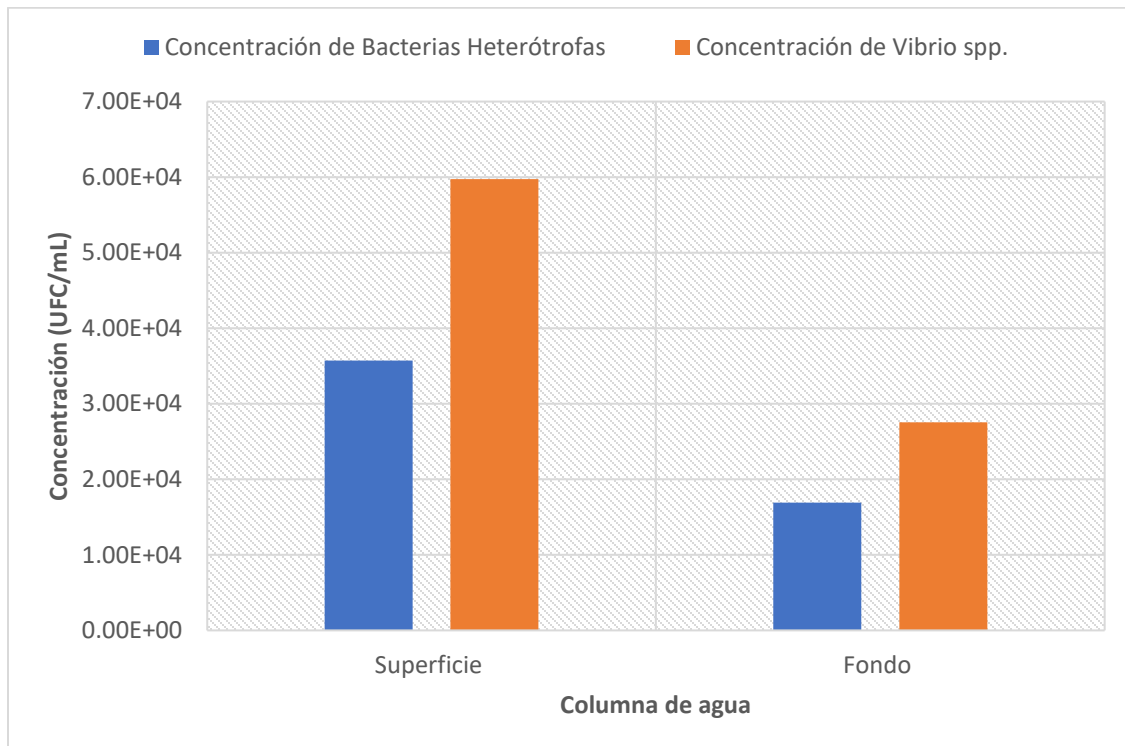
En Salinitas a los 200 m hubo una diferencia bien marcada entre ambos grupos, siendo la concentración de bacterias heterótrofas mayor con  $5.87 \times 10^4$  UFC/mL y  $2.90 \times 10^3$  UFC/mL de *Vibrio spp.* a los 400 m se observó un cambio entre ambos grupos ya que la concentración más elevada fue la de *Vibrio spp.* con  $7.55 \times 10^4$  UFC/mL y  $1.02 \times 10^4$  UFC/mL de bacterias heterótrofas, a los 600 m se vuelve a evidenciar una diferencia bien marcada entre ambos grupos siendo la concentración de bacterias heterótrofas mayor con  $3.62 \times 10^4$  UFC/mL y  $4.77 \times 10^3$  UFC/mL de *Vibrio spp.* (Gráfico 7).



**Gráfico 7.** Concentración de bacterias heterótrofas y *Vibrio* spp. en las playas El Flor, Punta Remedios, Salinitas a 200 m, 400 m y 600 m de la costa en el ANP Complejo Los Cóbano.

### 5.3.5 Concentración de bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.* en la columna de agua.

De las muestras recolectadas en los tres meses y las tres playas en la columna de agua se registraron en la superficie una concentración de bacterias heterótrofas de  $3.57 \times 10^4$  UFC/mL y de *Vibrio spp.* de  $5.97 \times 10^4$  UFC/mL. En el fondo las concentraciones fueron de bacterias heterótrofas  $1.69 \times 10^4$  UFC/mL y de *Vibrio spp.* de  $2.75 \times 10^4$  UFC/mL (Anexo 16). Podemos observar que en la superficie se observan altas concentraciones de ambos grupos, y que en la superficie y fondo las mayores concentraciones fueron de *Vibrio spp.* (Gráfico 8)



**Gráfico 8.** Concentración total de bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.* en la columna de agua de la zona arrecifal del ANP Complejo Los Cóbanos.

5.3.5.1 Concentración de bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.* en la columna de agua de la playa El Flor.

A los 400 m en la parte superficial de la columna de agua se registró una diferencia bien marcada entre ambos grupos, siendo las bacterias heterótrofas más elevada con  $6.15 \times 10^4$  UFC/mL y  $4.33 \times 10^2$  UFC/mL de *Vibrio spp.*, en la parte de fondo de la columna de agua se observó un cambio en esta dinámica siendo la concentración de *Vibrio spp.* más elevada con  $1.07 \times 10^4$  UFC/mL y  $7.0 \times 10^4$  UFC/mL de bacterias heterótrofas (Anexo 17).

A los 600 m tanto en la superficie como en el fondo se evidenció una mayor concentración de bacterias heterótrofas con  $3.36 \times 10^4$  UFC/mL y  $6.36 \times 10^4$  UFC/mL respectivamente, para la concentración de *Vibrio spp.* se registró  $2.64 \times 10^3$  UFC/mL para la superficie y  $1.54 \times 10^4$  UFC/mL en el fondo de la columna de agua (Gráfico 9).

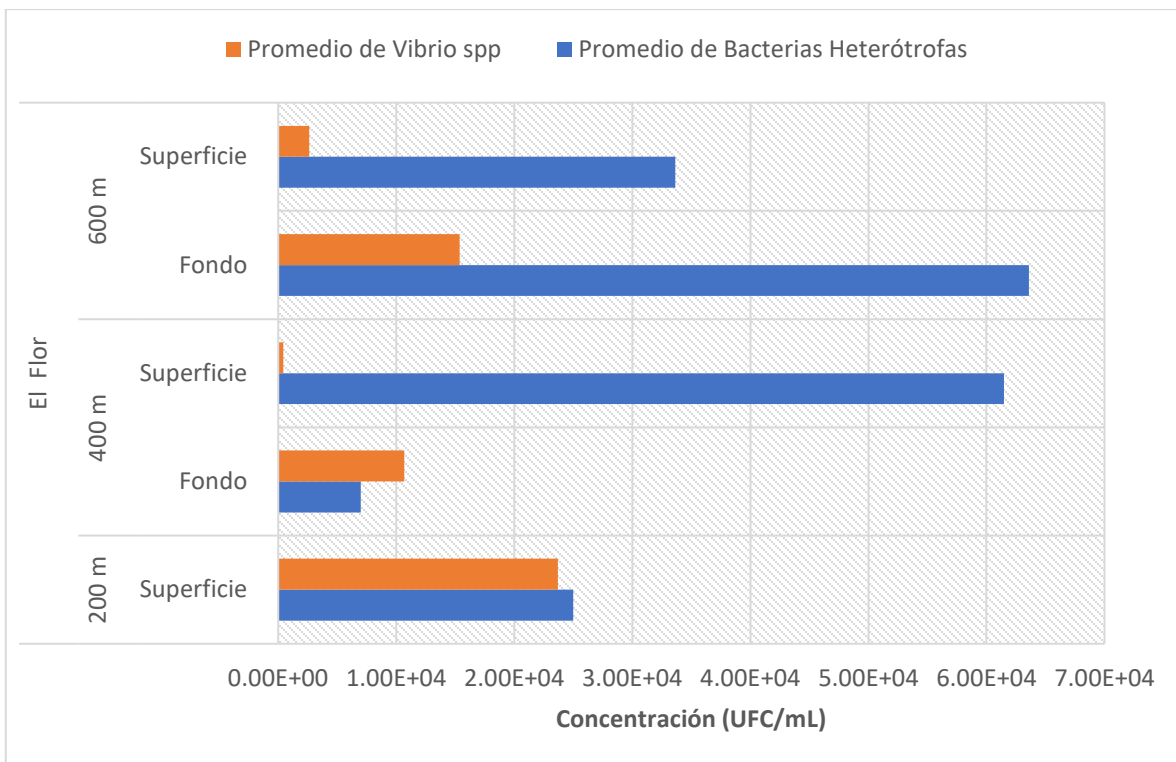
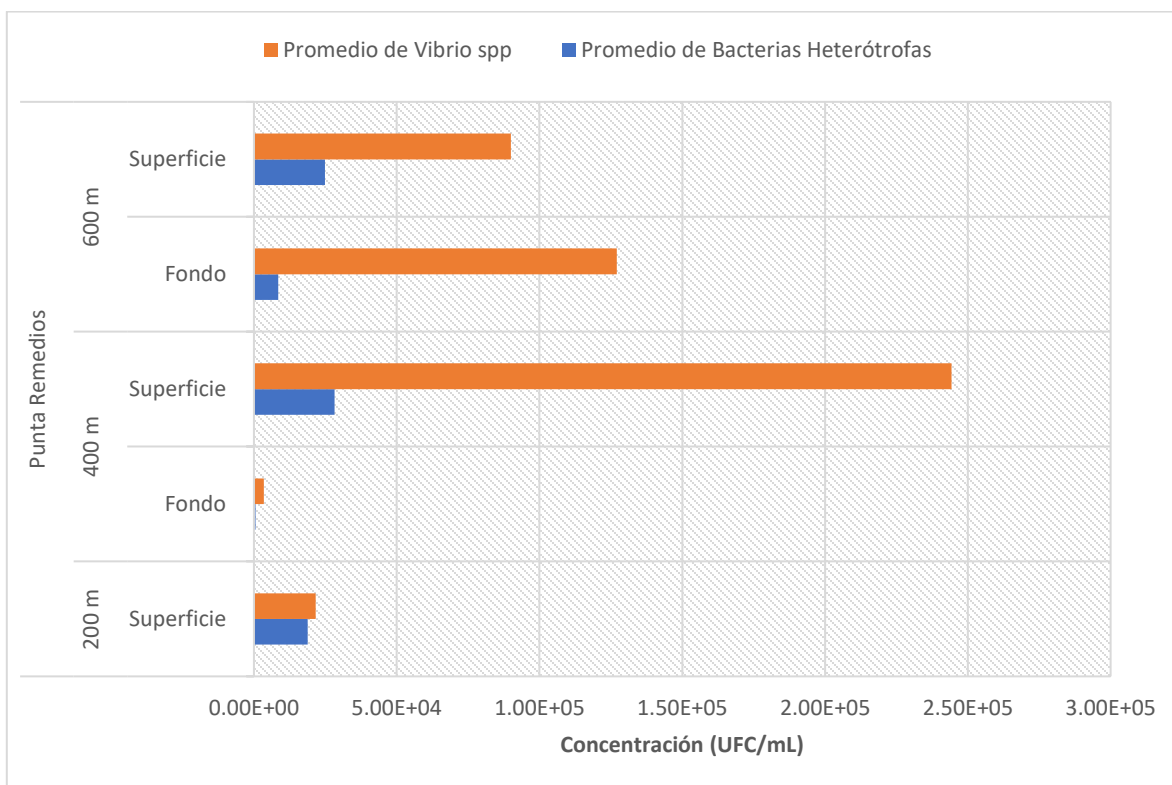


Gráfico 9. Concentración de bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.* en la columna de agua de la playa El Flor.

5.3.5.2 Concentración de bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.* en la columna de agua de la playa Punta Remedios.

A los 400 m y 600 m de la costa tanto en la parte superficial como de fondo de la columna de agua se evidenció una mayor concentración de *Vibrio spp.* En los 400 m se registró  $2.44 \times 10^5$  UFC/mL de *Vibrio spp.* y  $2.82 \times 10^4$  UFC/mL de bacterias heterótrofas en la superficie, y en la parte de fondo  $3.45 \times 10^3$  UFC/mL de *Vibrio spp.* y  $5.47 \times 10^2$  UFC/mL de bacterias heterótrofas.

Para los 600 m se registró una concentración de *Vibrio spp.* de  $9.0 \times 10^4$  UFC/mL en la superficie y  $1.27 \times 10^5$  UFC/mL en el fondo, a diferencia de las bacterias heterótrofas con  $2.49 \times 10^4$  UFC/mL en la superficie y  $8.47 \times 10^3$  UFC/mL en el fondo (Anexo 18 y Gráfico 10).



**Gráfico 10.** Concentración absoluta de bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.* en la columna de agua de la playa Punta Remedios.

5.3.5.3 Concentración de bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.* en la columna de agua de la playa Salinitas.

A los 400 m en la parte superficial de la columna de agua se observó una elevación bastante marcada de *Vibrio spp.* con una concentración de  $1.50 \times 10^5$  UFC/mL y  $8.0 \times 10^2$  UFC/mL de bacterias heterótrofas, a diferencia de la parte de fondo de la columna de agua en la cual se obtuvo una mayor concentración de bacterias heterótrofas con  $1.95 \times 10^4$  UFC/mL y  $1.03 \times 10^3$  UFC/mL de *Vibrio spp.* (Anexo 19).

A los 600 m se observa lo contrario de la dinámica de los 400 m ya que en la superficie se registró una concentración mayor de bacterias heterótrofas con  $7.0 \times 10^4$  UFC/mL y  $1.87 \times 10^3$  UFC/mL de *Vibrio spp.*; en el fondo de la columna de agua se observó una mayor concentración de *Vibrio spp.* que de bacterias heterótrofas con  $7.67 \times 10^3$  UFC/mL y  $2.37 \times 10^3$  UFC/mL respectivamente (Gráfico 11).

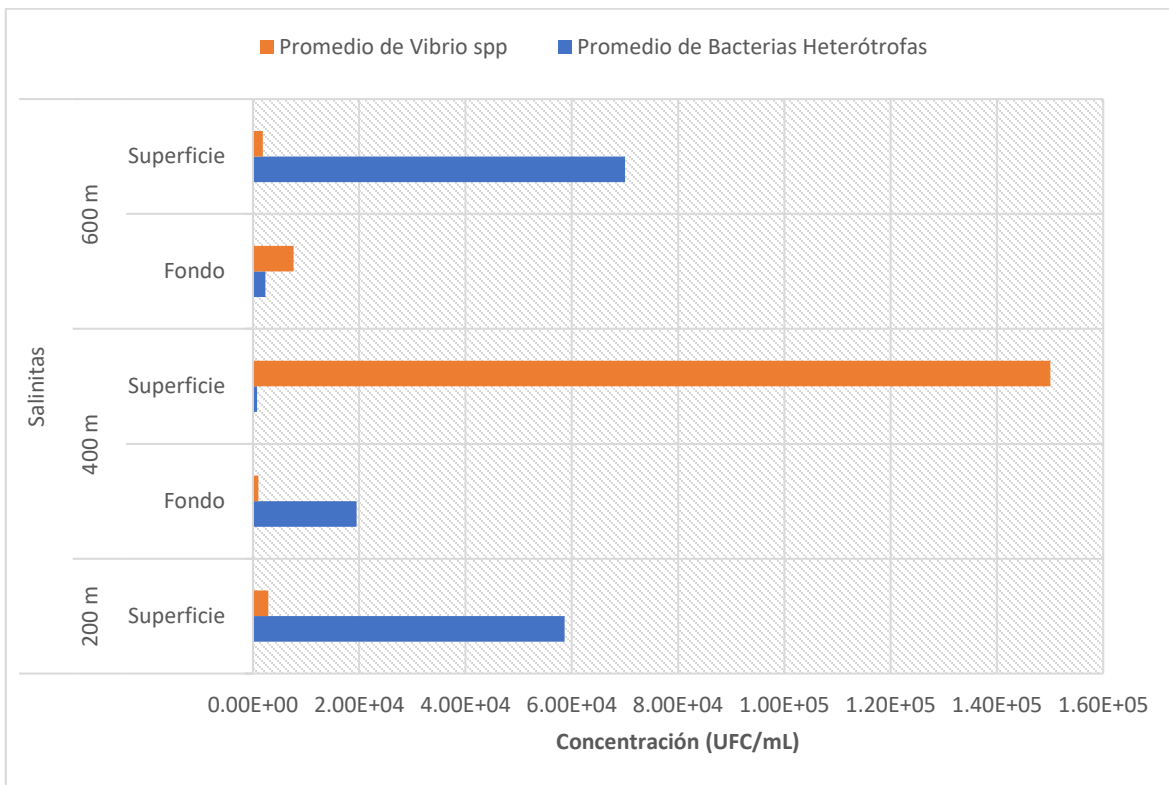
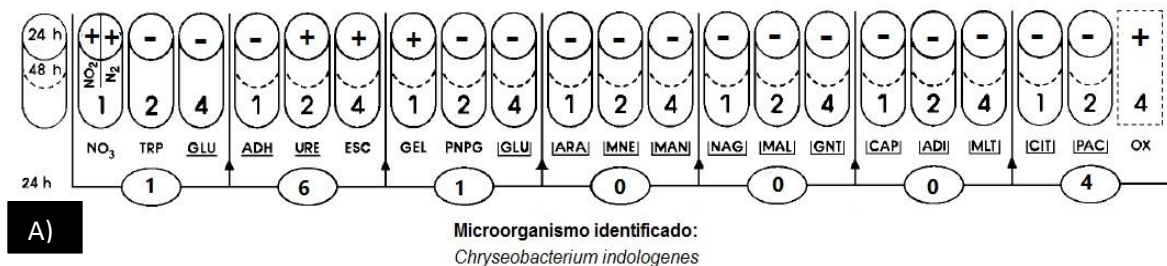


Gráfico 11. Concentración de bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.* en la columna de agua de la playa Salinitas.



## 5.4 Verificación de colonias presuntivas de *Vibrio* spp. mediante el sistema de identificación pruebas API 20 NE.

De las seis colonias que se aislaron para la identificación con el método API 20 NE, solo una colonia presentó una prueba con perfil de buena identificación, con un índice de confiabilidad del 98.2%, para la especie *Chryseobacterium indologenes* (Figura 20). Mientras que las otras colonias presentaron perfiles inaceptables, baja discriminación y una colonia de perfil dudoso para *Chryseobacterium indologenes* con un índice de confiabilidad de 64.4% (Anexo 24). Siendo este el primer registro de esta bacteria para El Salvador en un ecosistema marino.



B)

BUEIA IDENTIFICACION						
Galería	API 20 NE V8.0					
Perfil	1 6 1 0 0 0 4					
Nota	¡ID.NO VALIDA ANTES DE 48 H DE INCUBACIÓN !					
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra			
<i>Chryseobacterium indologenes</i>	98.2	0.74	NO3 20%	TRP 81%		
Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra			
<i>Aeromonas putrefaciens</i> group	0.7	0.26	URE 1%	NAGa 95%	MLTa 90%	

Figura 21. A) Reacciones bioquímicas API 20 NE. Microorganismo identificado: *Chryseobacterium indologenes*, B) Identificación realizada con el perfil numérico en apiweb™.

## 5.5 Análisis de parámetros fisicoquímicos.

### 5.5.1 Playas

El promedio de los parámetros fisicoquímicos registrados en las tres playas fue (Anexo 21) para salinidad en El Flor de 33.35 PSU, Punta Remedios de 33.58 PSU y Salinitas de 33.73 PSU (Gráfico 12-A). La temperatura para El Flor fue de 30.47°C, Punta Remedios de 30.43°C y Salinitas de 30.37°C (Gráfico 12-B). El pH para El Flor fue de 8.35, Punta Remedios de 8.33

y Salinitas de 8.31 (Gráfico 12-C). El oxígeno disuelto (OD) para El Flor fue de 2.21 ppm, Punta Remedios de 2.09 ppm y Salinitas de 2.10 ppm (Gráfico 12-D). Lo sólidos totales suspendidos (TDS) para El Flor fue de 25.46 ppt, Punta Remedios de 25.65 ppt y Salinitas de 25.74 ppt (Gráfico 12-E). La turbidez para El Flor fue de 1.77 FNU, Punta Remedios de 1.43 FNU y Salinitas de 1.29 FNU (Gráfico 12-F).

#### 5.5.2 *Meses*

El promedio de los parámetros fisicoquímicos en los meses de muestro fue (Anexo 22) para salinidad en febrero de 33.05 PSU, marzo de 33.95 PSU y abril de 33.66 PSU (Gráfico 13-A). La temperatura para febrero de 30.73 °C, marzo de 31.07°C y abril de 29.47°C (Gráfico 13-B). El pH para febrero de 8.33, marzo de 8.25 y abril de 8.41 (Gráfico 13-C). El OD para febrero de 2.27 ppm, marzo de 2.71 ppm y abril de 1.42 ppm (Gráfico 13-D). Los TDS para febrero de 25.33 ppt, marzo de 25.67 ppt y abril de 25.86 ppt (Gráfico 13-E). La turbidez para febrero de 2.01 FNU, marzo de 0.47 FNU y abril de 2.01 FNU (Gráfico 13-F).

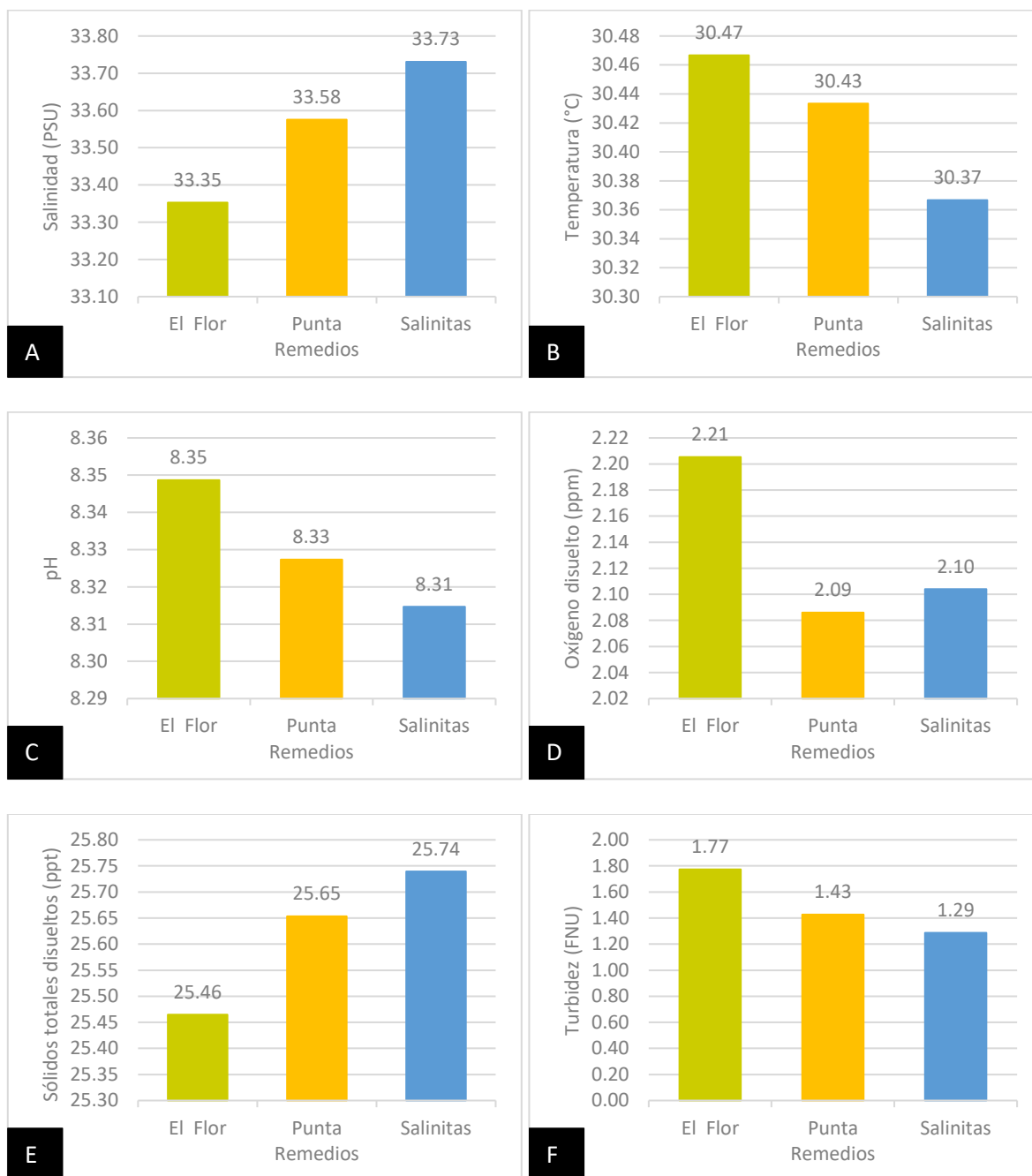
#### 5.5.3 *Distancia de la costa*

El promedio de los parámetros fisicoquímicos según la distancia de la costa fue (Anexo 23) para salinidad a los 200 m de 33.40 PSU, a los 400 m de 33.56 PSU y a los 600 m de 33.62 PSU (Gráfico 14-A). La temperatura fue a los 200 m de 30.72°C, a los 400 m de 30.31°C y a los 600 m de 30.39°C (Gráfico 14-B). El pH a los 200 m fue de 8.32, a los 400 m de 8.34 y a los 600 m de 8.33 (Gráfico 14-C). El OD fue a los 200 m de 2.18 ppm, a los 400 m de 2.16 ppm y a los 600 m de 2.07 ppm (Gráfico 14-D). Los TDS fueron a los 200 m de 25.51 ppt, a los 400 m de 25.60 ppt y a los 600 m de 25.69 ppt (Gráfico 14-E). La turbidez fue a los 200 m de 1.57 FNU, a los 400 m de 1.75 FNU y a los 600 m de 1.21 FNU (Gráfico 14-F).

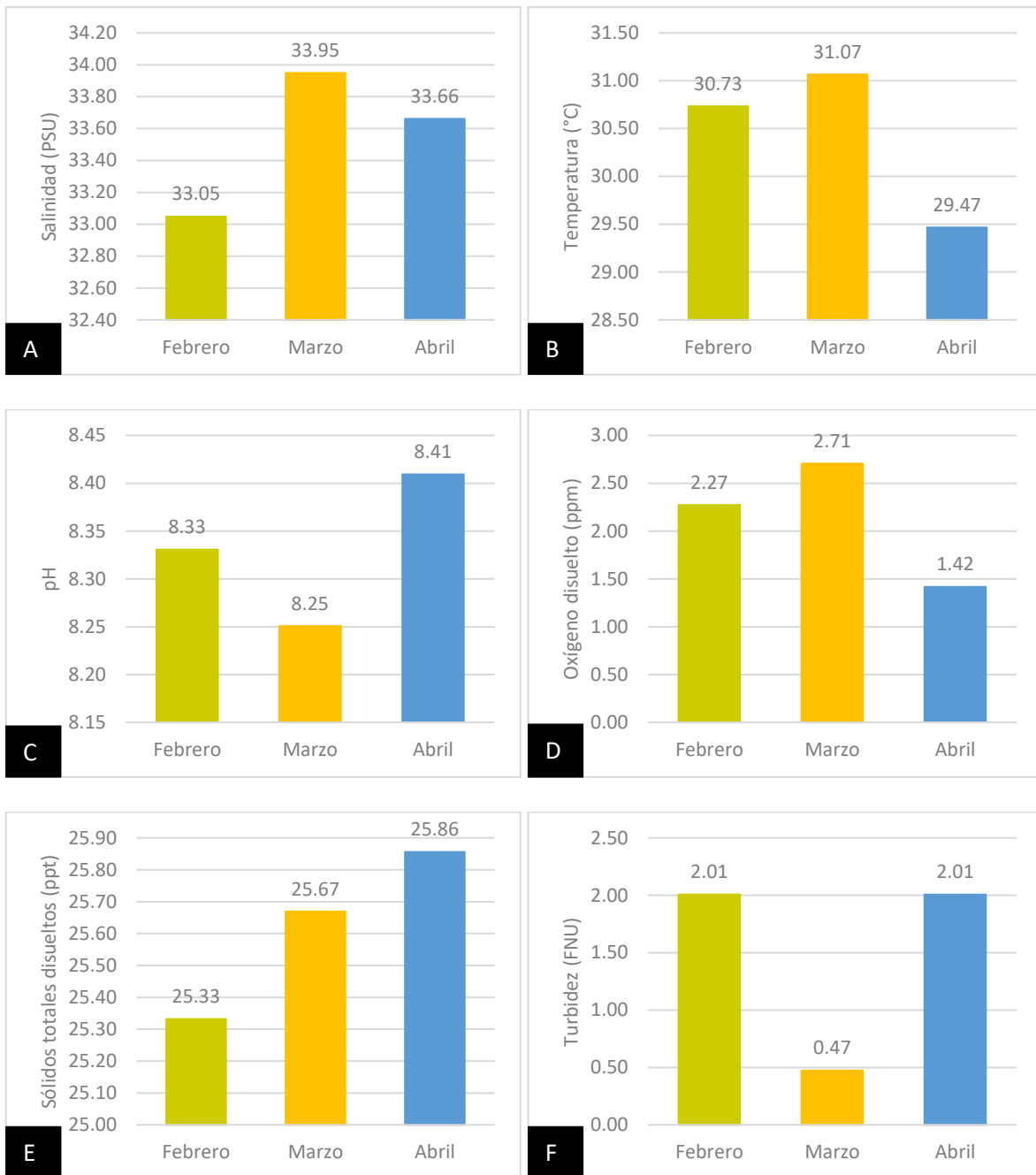
#### 5.5.4 *Columna de agua*

El promedio de los parámetros fisicoquímicos en la columna de agua fue (Anexo 24) para salinidad en la superficie de 33.53 PSU y el fondo de 33.59 PSU (Gráfico 15-A). La temperatura fue en la superficie de 30.72°C y el fondo de 29.97°C (Gráfico 15-B). El pH fue en la superficie de 8.35 y el fondo de 8.31 (Gráfico 15-D). El OD fue en la superficie de 2.22 ppm y el fondo de 2.00 ppm (Gráfico 15-D). Los TDS fueron en la superficie de 25.55 ppt y

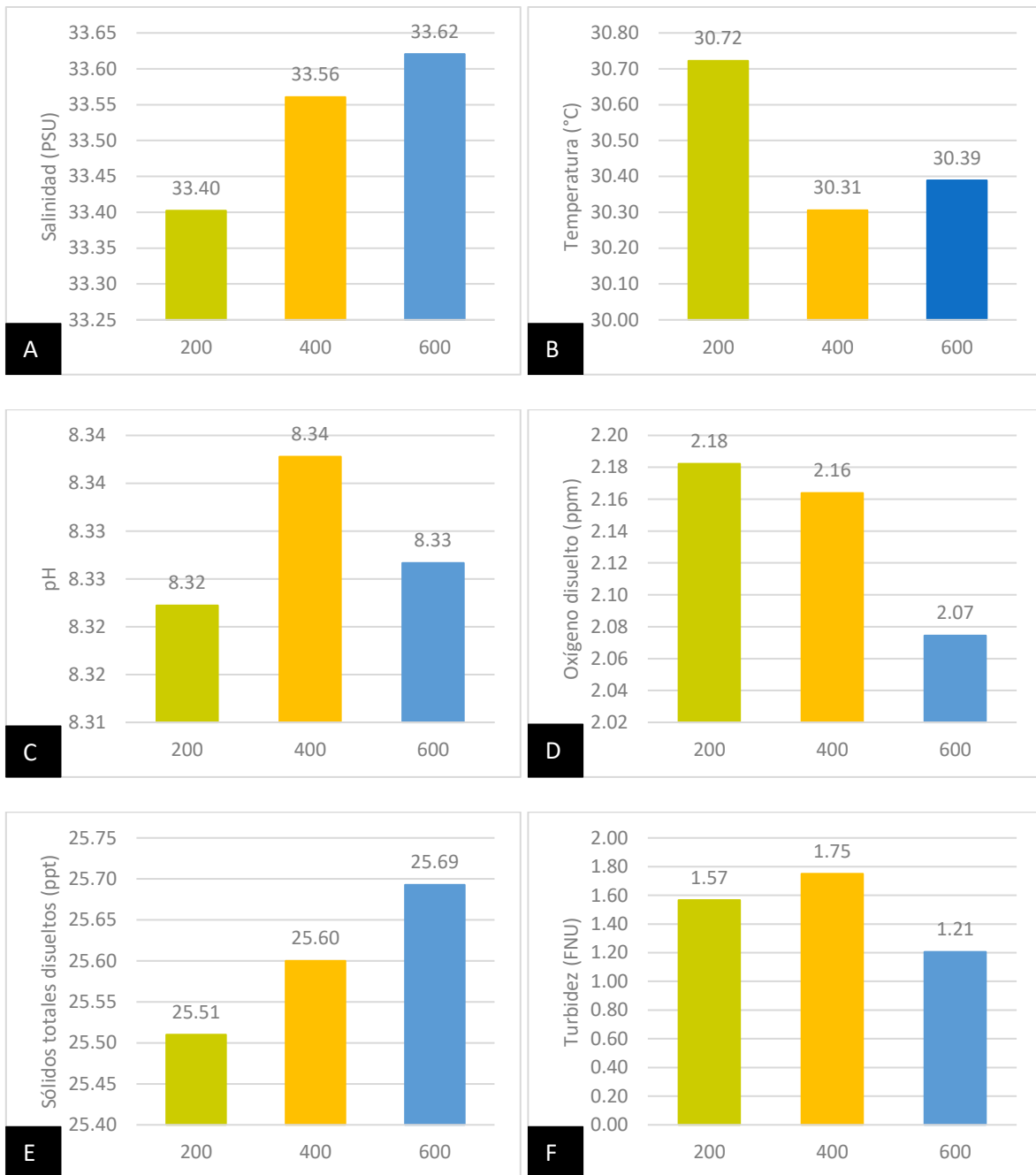
el fondo de 25.72 ppt (Gráfico 15-D). La turbidez fue en la superficie de 1.57 FNU y el fondo de 1.38 FNU (Gráfico 15-D y anexo 24-27).



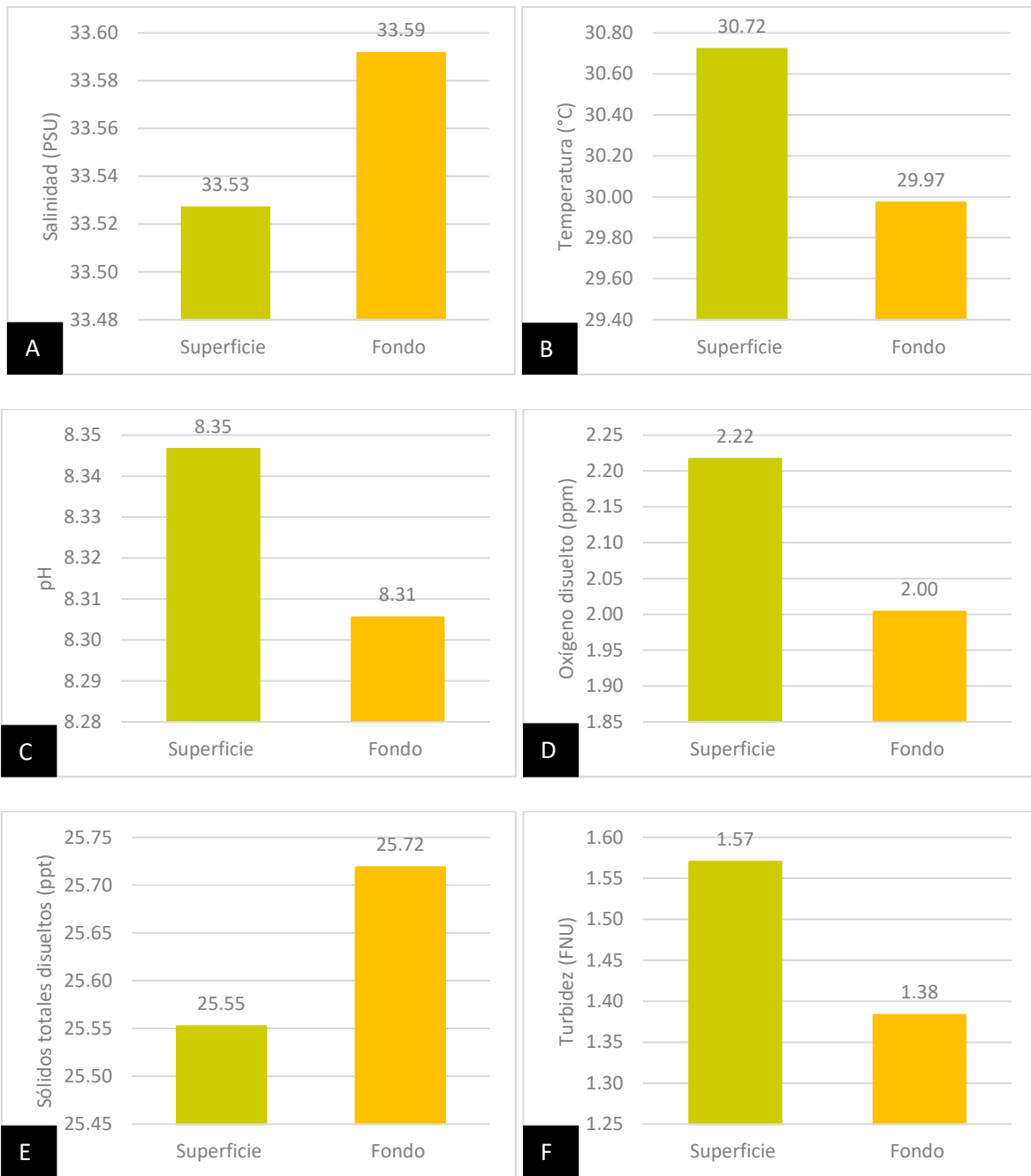
**Gráfico 12.** Promedio de los parámetros fisicoquímicos por playa A) Salinidad, B) Temperatura, C) pH y D) Oxígeno disuelto, E) Sólidos totales disueltos y F) Turbidez.



**Gráfico 13.** Promedio de los parámetros fisicoquímicos por mes: A) Salinidad, B) Temperatura, C) pH y D) Oxígeno disuelto, E) Sólidos totales disueltos y F) Turbidez.



**Gráfico 14.** Promedio de los parámetros fisicoquímicos por distancia de la costa: A) Salinidad, B) Temperatura, C) pH y D) Oxígeno disuelto, E) Sólidos totales disueltos y F) Turbidez.



**Gráfico 15.** Promedio de los parámetros fisicoquímicos por la columna de agua: A) Salinidad, B) Temperatura, C) pH y D) Oxígeno disuelto, E) Sólidos totales disueltos y F) Turbidez.

## 5.6 Relación de los parámetros fisicoquímicos con la concentración de bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.*

En los tres meses de muestreo existieron pares de variables fisicoquímicas que se relacionaron entre sí y con la concentración de bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.* Las relaciones que se observan con el análisis de correlación de Pearson (Tabla 4), con valores  $p$  por debajo de 0.05:

- Temperatura (°C) y Oxígeno Disuelto (mg/L) (0.6704,  $p= 0$ )
- Temperatura (°C) y Lluvia acumulada (mm) (-0.7124,  $p= 0$ )
- Salinidad (ppm) y Turbidez (FNU) (-0.4422,  $p= 0.0024$ )
- Salinidad (ppm) y Bacterias Heterótrofas (FNU) (-0.5216,  $p= 0.0002$ )
- Oxígeno Disuelto (mg/L) y Turbidez (FNU) (-0.4495,  $p= 0.0019$ )
- Oxígeno Disuelto (mg/L) y Lluvia acumulada (mm) (-0.8326,  $p= 0$ )
- Turbidez (FNU) y Lluvia acumulada (mm) (0.2971,  $p= 0.0475$ )
- Lluvia acumulada (mm) y Bacterias Heterótrofas (UFC) (-0.3038,  $p= 0.0425$ )

**Tabla 3.** Correlación de Pearson y prueba de significancia estadística (nivel de confianza: 95%) de las variables fisicoquímicas y concentraciones de bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.* T°= temperatura, OD=oxígeno disuelto, BH= Bacterias heterótrofas.

Correlación	T (°C)	Salinidad (ppm)	OD (mg/L)	Turbidez (FNU)	Lluvia acumulada (mm)	BH (UFC/mL)	<i>Vibrio spp.</i> (UFC/mL)
T (°C)		-0.1058	0.6704	-0.243	-0.7124	0.177	0.1222
$p$		0.4892	0	0.1077	0	0.2447	0.4241
Salinidad (ppm)	-0.106		-0.0269	-0.4422	0.156	-0.5216	-0.2745
$p$	0.4892		0.8609	0.0024	0.3063	0.0002	0.0681
OD (mg/L)	0.6704	-0.0269		-0.4495	-0.8326	0.1092	0.0232
$p$	0	0.8609		0.0019	0	0.4752	0.8795
Turbidez (FNU)	-0.243	-0.4422	-0.4495		0.2971	0.2299	0.1811
$p$	0.1077	0.0024	0.0019		0.0475	0.1286	0.2339
Lluvia acumulada (mm)	-0.712	0.156	-0.8326	0.2971		-0.3038	-0.218
$p$	0	0.3063	0	0.0475		0.0425	0.1502

Correlación	T (°C)	Salinidad (ppm)	OD (mg/L)	Turbidez (FNU)	Lluvia acumulada (mm)	BH (UFC/mL)	<i>Vibrio spp.</i> (UFC/mL)
BH (UFC/mL)	0.177	-0.5216	0.1092	0.2299	-0.3038		0.0945
<i>p</i>	0.2447	0.0002	0.4752	0.1286	0.0425		0.5371
<i>Vibrio spp.</i> (UFC/mL)	0.1222	-0.2745	0.0232	0.1811	-0.218	0.0945	
<i>p</i>	0.4241	0.0681	0.8795	0.2339	0.1502	0.5371	

### 5.6.1 Análisis de componentes principales (ACP)

Las variables se resumieron en dos componentes principales, donde se refleja la variabilidad del 67% de los datos fisicoquímicos y microbiológicos (concentración de bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.*); siendo las variables con aportes mayores a 0.451 para el componente 1: oxígeno disuelto (0.54573), lluvia acumulada (-0.56767) y temperatura (0.50983), donde la lluvia acumulada actúa de forma inversa, es decir, donde hubo mayor lluvia acumulada hubo menor oxígeno disuelto y menor temperatura, mientras que las variables que aportan más al componente 2 son: salinidad (-0.60468) y turbidez (0.52129) donde se muestran una relación inversa, es decir a mayor salinidad, menor turbidez y viceversa (Tabla 5).

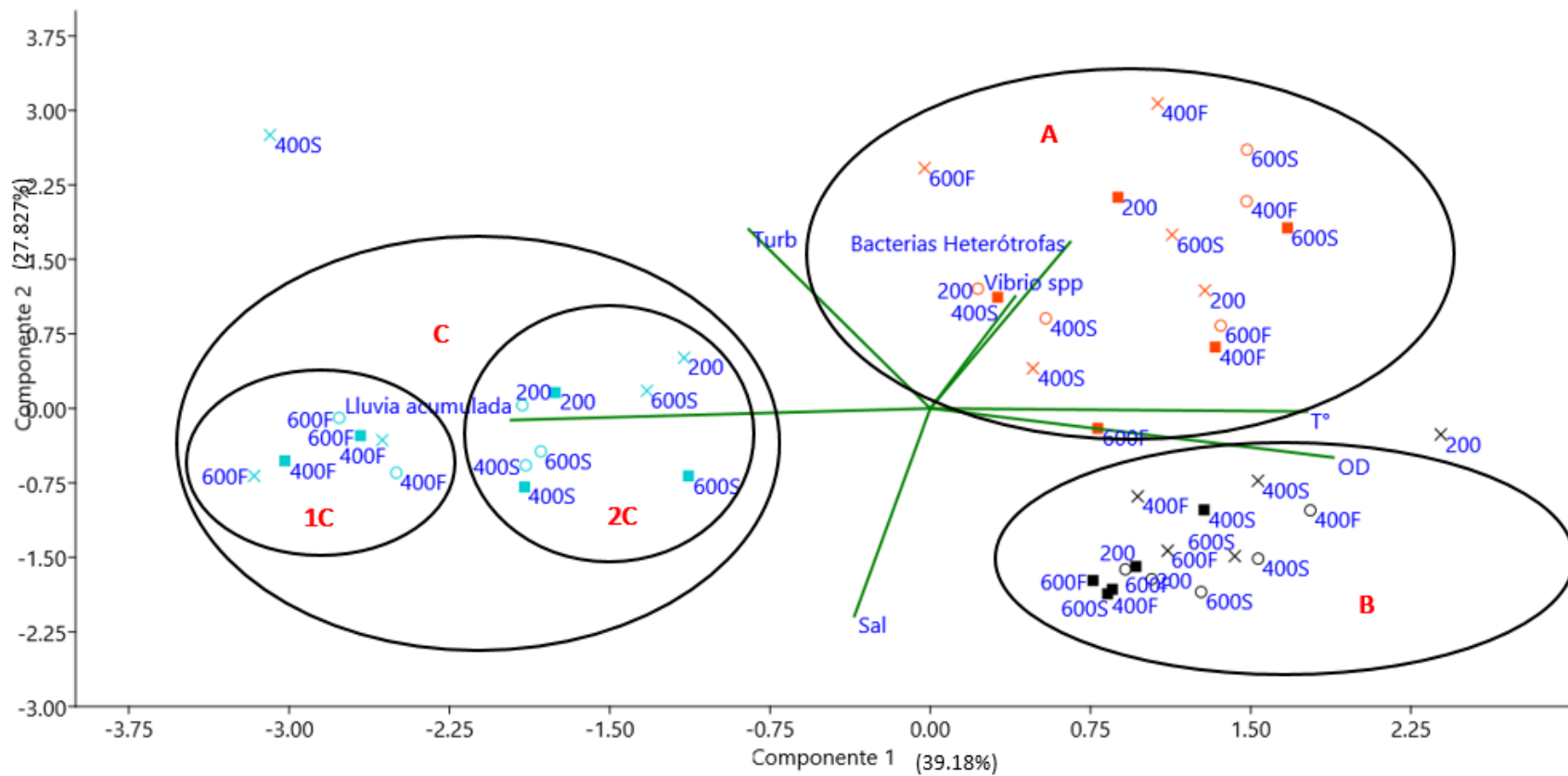
**Tabla 4.** Valores de los componentes principales uno y dos de los parámetros fisicoquímicos y bacteriológicos de los sitios de muestreo para el ANP Complejo Los Cóbanos en los meses de febrero-abril.

	PC 1	PC 2
Temperatura (°C)	0.50983	-0.0091124
Salinidad (ppm)	-0.10265	-0.60468
Oxígeno disuelto	0.54573	-0.14282
Turbidez (FNU)	-0.24567	0.52129
Bacterias Heterótrofas (UFC/mL)	0.18948	0.48441
<i>Vibrio spp.</i> (UFC/mL)	0.11496	0.32608
Lluvia acumulada (mm)	-0.56767	-0.034022



En el ACP se observan tres grupos, las observaciones de cada uno corresponden a los meses de muestreo; el grupo "A" corresponde a febrero, en el que las condiciones fueron de mayor temperatura, mayor turbidez y menor salinidad. El grupo "B" corresponde a marzo, donde las condiciones son de mayor oxígeno disuelto y menor turbidez; y, el grupo "C" corresponde a abril, donde las condiciones son de mayor lluvia acumulada, menor temperatura y menor oxígeno disuelto; dentro del grupo "C" se observan dos subgrupos el grupo "1C" que presenta condiciones de menor oxígeno disuelto que el grupo "2C" (Figura 22).

La concentración de bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.* fue más alta en condiciones de mayor turbidez, mayor oxígeno disuelto, menor salinidad y mayor temperatura.



**Figura 22.** Análisis de componentes principales de los parámetros físico-químicos y microbiológicos (bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.*) en el ANP Complejo Los Cóbano, Sonsonate, El Salvador. El color representa el mes de muestreo: anaranjado (febrero), negro (marzo) y azul (abril); los símbolos representan el sitio de muestreo: x (El Flor), o (Punta Remedios) y ■ (Salinitas); 200, 400 y 600 representa la distancia de la costa muestreada en metros; la S representa superficie y F representa fondo; los parámetros fisicoquímicos se representan como OD= oxígeno disuelto, Sal=salinidad, Turb=turbidez, T°= temperatura.

### 5.6.2 Análisis de Similitud (ANOSIM) y Porcentaje de Similitud (SIMPER).

Los datos de los grupos formados en el ACP se procesaron utilizando una transformación logarítmica para cumplir con los requisitos de los supuestos de normalidad y homocedasticidad.

Para evaluar si los grupos formados en el ACP tienen similitud entre sí, se realizó una prueba de ANOSIM, basado el índice de disimilitud de Bray Curtis, este análisis mostró que el grupo “A” con el “B” y el grupo “A” con el “C” son significativamente diferentes ( $R= 0.3352$ ,  $P= 0.001$ ); y, el grupo “B” con el “C” no presento diferencia estadística significativa ( $R=0.3352$  y  $P= 0.0796$ ).

Luego se realizó una prueba de SIMPER para conocer cuál es el taxón que aporta más a la diferencia entre los grupos (Tabla 6). Esta prueba mostró que para ambos grupos el grupo “A” con el “C” y “A” con el “B” la concentración de *Vibrio spp.* fue el taxón que aportó más para la separación de los grupos con 59.74 % y 50.66 %, respectivamente (Tabla 7).

**Tabla 5.** Disimilitud media y la contribución acumulada de los taxa responsables de las diferencias entre los grupos “A” y “C” según lo determinado por SIMPER.

Taxón	Av. dissim	Contrib. %	Cumulative %	Mean 3	Mean 1
<i>Vibrio spp</i>	17.54	59.74	59.74	2.17	4.27
Bacterias Heterótrofas	11.82	40.26	100	3.1	4.4

**Tabla 6.** Disimilitud media y la contribución acumulada de los taxa responsables de las diferencias entre los grupos “A” y “B” según lo determinado por SIMPER.

Taxón	Av. dissim	Contrib. %	Cumulative %	Mean 1	Mean 2
<i>Vibrio spp</i>	11.24	50.66	50.66	4.27	2.89
Bacterias Heterótrofas	10.95	49.34	100	4.4	3.13

## 6 DISCUSIÓN DE RESULTADOS

---

Las bacterias heterótrofas se encuentran distribuidas en toda su extensión, tanto vertical como horizontalmente (Ilce 2000). Los vibrios son el grupo mayormente cultivable de bacterias heterótrofas, especialmente de aguas costeras (Austin et al. 1979).

Las poblaciones de *Vibrio spp.* en sistemas costeros se han estudiado ampliamente debido a la importancia en la pesca, la recolección de mariscos y la recreación (Fabiano et al. 2006); ya que la infección por *Vibrio spp.* es un problema para el cultivo comercial de peces e invertebrados marinos (Gomez-Leon et al. 2005).

De igual manera al menos 12 especies de *Vibrio* son patógenos para los humanos y/o se han asociado con enfermedades transmitidas por los alimentos (Chakraborty et al. 1997), en especial, los que se consumen crudos, como es el caso de los moluscos bivalvos (Grau et al. 2004).

La concentración promedio de bacterias heterótrofas durante el período de muestreo (febrero-abril) en el ANP Complejo Los Cóbano, fue de  $2.82 \times 10^4$  UFC/mL. Guevara (2015), determinó la concentración de bacterias heterótrofas en las playas El Tunco y El Sunzal, ambas ubicadas a 10 Km del Puerto de La Libertad; reportando para El Tunco una concentración de  $1.42 \times 10^3$  UFC/mL y en El Sunzal una concentración de  $7.73 \times 10^2$  UFC/mL. Al comparar los estudios se puede observar que en El ANP Complejo Los Cóbano las concentraciones de bacterias heterótrofas son mayores.

Estudios realizados en la zona costera de Cuba, determinaron la concentración de bacterias heterótrofas, Miravet (2003) en los arrecifes del Golfo de Batabanó, Cuba, con  $7.83 \times 10^1$  UFC/mL a  $3.65 \times 10^2$  UFC/mL de 1998 al 2000; Lugioyo (2007) en la zona económica exclusiva sur de Cuba de 1988 a 1989, obteniendo una concentración promedio de  $1.63 \times 10^3$  UFC/mL. Morales et al. (2009), en muestras de agua de la Bahía de La Habana, en el año 2003 y 2005, obteniendo valores de concentraciones de  $10^3$  UFC; estas investigaciones al igual que Guevara (2015) presenta menores concentraciones que el estudio realizado.

A diferencia de Malaver et al. (2014) en su análisis de la concentración de bacterias heterótrofas en la laguna costera de Tacariagua en Venezuela, reportó valores de  $10^{10}$  -  $10^{14}$  UFC/mL del 2009 al 2011, en comparación al presente estudio donde se obtuvieron menores concentraciones.

Las diferentes concentraciones de bacterias se deben a que los ambientes costeros están influenciados por disturbios locales como la escorrentía de agua dulce, la transferencia de nutrientes y materia orgánica a través de la descarga de los ríos y la mezcla de áreas poco profundas inducidas por corrientes de marea, además de ciclos estacionales y condiciones ambientales que afectan los parámetros fisicoquímicos de las zonas (Chénard et al. 2019), por lo que cada ecosistema costero puede presentar una dinámica bacteriana diferente.

Es importante destacar que en aguas costeras o neríticas influenciadas por el aporte de materia orgánica procedente del arrastre de los ríos, vegetación costera, residuales domésticos y agroindustriales, entre otros; son las bacterias heterótrofas los organismos intermediarios obligados entre la materia orgánica detrítica y los organismos de niveles tróficos superiores, aunque es poco probable que la interacción entre las bacterias heterótrofas y la cadena trófica obedezca a un esquema único y universal, ya que estas interacciones tienen lugar en un ambiente dinámico sujeto a cambios naturales o de origen antrópico (Torretón 1991).

Al comparar la concentración promedio de bacterias heterótrofas con  $2.82 \times 10^4$  UFC/mL y *Vibrio spp.* con  $4.69 \times 10^4$  UFC/mL en el ANP Complejo Los Cóbano, la concentración de *Vibrio spp.* supera la concentración de bacterias heterótrofas. Un estudio similar se realizó en corales endémicos brasileños en el banco de arrecifes de Abrolhos, que evaluó bacterias heterótrofas cultivables y *Vibrio spp.* en las muestras de agua circundante al arrecife, la concentración de *Vibrio spp.* fue de  $1 \times 10^4$  UFC/mL y ocupó más del 70 % del total de bacterias heterótrofas, debido a que estas bacterias pueden crecer rápidamente y superar a otros miembros de la comunidad bacteriana en condiciones ambientales estresantes, por ejemplo: altas temperaturas y cargas de nutrientes (Alves et al. 2010).

Vijayan (2014) en su estudio realizado en la costa oeste de Malasia reportó un “bloom” de *Vibrio spp.* de diciembre a marzo, ocasionado por un aumento de nutrientes en la zona debido

al aumento de precipitaciones, en este estudio observaron que el “bloom” parecía ser un fenómeno natural recurrente y podría ser relevante para otras aguas tropicales y subtropicales. En el ANP Complejo Los Cóbanos en todos los sitios muestreados de febrero-abril la concentración de *Vibrio spp.* fue de  $4.69 \times 10^4$  UFC/mL por lo que las concentraciones podrían indicar grandes cantidades de nutrientes en la zona producto de la contaminación, lo que coincide con Gregoracci et al. (2012) que proponen que las concentraciones mayores de 200 UFC de *Vibrio spp.* reflejan aguas marinas contaminadas.

De igual manera Gilbert et al 2011 reporta un “bloom” de *Vibrio sp.* el cuál represento el 54 % de todas las secuencias del bacteriplancton, por lo que se evidenciaron picos de las Gammaproteobacteria (Vibrionales y Pseudomonadales), lo cual sugiere que las concentraciones de nutrientes, los parámetros físicos y la biología del microbioma demuestran una influencia significativa en una matriz extraordinariamente compleja, así mismo Beleneva y Zhukova en 2007 reportan que *Vibrio spp.* fue el género predominante dentro de las bacterias Gramnegativas aisladas de muestras de agua marina.

Las concentraciones de *Vibrio spp.* están bien distribuidas en el medio marino ya que pueden consumir una amplia gama de fuentes de carbono orgánico. Además, el tiempo de replicación extremadamente corto de *Vibrio spp.* puede dar lugar a extensos “bloom”, que se producen en respuesta a fluctuaciones de nutrientes (Zhang et al. 2018).

En playa El Flor se registró la concentración más elevada de bacterias heterótrofas ( $3.81 \times 10^4$  UFC/mL) y las menores concentraciones de *Vibrio spp.* ( $1.06 \times 10^4$  UFC/mL). En este sitio se encuentra una camaronera con modalidad superintensiva de siembra, esto podría ser un factor que causa el aumento de la concentración de bacterias heterótrofas ya que, según López et al. (2013) en su estudio realizado en la bahía de Kino, Sonora, México para determinar las condiciones bacteriológicas de un efluente de granjas de camarón, la concentración de bacterias heterótrofas aumenta a medida aumentan los recambios de agua de la camaronera, en este estudio la concentración máxima de bacterias heterótrofas fue de  $2.5 \times 10^4$  UFC/mL y la concentración de *Vibrio spp.* fue de  $5.0 \times 10^2$  UFC/mL, cabe destacar que en todos los muestreos

realizados de este estudio la concentración de bacterias heterótrofas fue más elevada que la de *Vibrio spp.*

Se reportó una colonia con una pigmentación rojiza en agar TCBS que apareció en febrero, en Salinitas a 400 m de la costa. Posteriormente esta colonia fue identificada mediante pruebas API 20 NE como *Chryseobacterium indologenes*. La mayoría de las especies de este género pueden ser cultivados en una variedad de medios (Bernardet et al. 2006). Muchos de los medios adecuados contienen extracto de levadura y proteínas (caseína y peptona) hidrolizadas o digeridas, con azúcares para algunas especies y sales para especies marinas. La utilización de macromoléculas tales como polisacáridos y proteínas es una característica común de miembros de la familia Flavobacteriaceae a la que pertenece *C. indologenes* (McBride et al. 2009). Si observamos la fórmula de reactivos del agar TCBS: extracto de levadura, sacarosa (disacárido), digerido pancreático de caseína y digerido péptico de tejido animal (peptona A); se puede considerar como un medio donde *Chryseobacterium spp.* es capaz de desarrollarse.

*Chryseobacterium spp.* típicamente presenta colonias con pigmentaciones amarillas a anaranjadas, debido a la presencia del pigmento Flexirrubina (Bernardet et al. 2006). Este pigmento es amarillo en pH neutros, pero experimenta un cambio reversible a rojo, bajo condiciones alcalinas, pH mayores a 7 (McBride et al. 2009). El agar TCBS es un medio con un pH alcalino (8.6 +/-), esta puede ser la razón por la que se observó el crecimiento de colonias de *Chryseobacterium* con una pigmentación rojiza.

Croci et al. (2001), reporta en muestras de agua y moluscos el crecimiento de *C. indologenes* en agar TCBS identificadas por medio de pruebas API 20 NE; las especies de *Chryseobacterium* están ampliamente distribuidas en la naturaleza, pueden ser aislados de ambientes acuáticos, suelos, plantas y en algunos productos alimenticios (Zamora et al. 2012). El conocimiento de su distribución en ambientes marinos es escaso y solo una serie de estudios ha documentado la presencia de *C. indologenes*, en camarones (Matyar et al. 2008; Uyaguar et al. 2009), y focas (Bogomolni et al. 2008; Rose et al. 2009).

Además, *C. indologenes* ha sido identificada como una bacteria capaz de degradar anilina (Radianingty et al. 2003), una amina aromática que se utiliza en herbicidas y fungicidas (García y Quinto 2001). El uso del suelo cerca del sistema arrecifal del ANP Complejo Los Cóbanos corresponde a cultivos de caña de azúcar y granos básicos (ICMARES 2006). La cuenca del río Las Marías abarca toda la zona estudio la cual esta impactada por las actividades de las comunidades humanas cercanas, así como también por la agricultura, ganadería y acuicultura (ICMARES 2008), la descarga de este afluente podría estar acumulando componentes de los herbicidas, fungicidas y fertilizantes que se utilizan, y así crear las condiciones para la presencia de esta bacteria.

La plasticidad genética de los microorganismos les permite cambiar rápidamente sus capacidades metabólicas, sus huéspedes, sus funciones y la dinámica de la comunidad en respuesta a cambios en las condiciones ambientales por lo que comparar la dinámica bacteriana entre sistemas arrecifales es difícil ya que cada uno tiene diferentes parámetros fisicoquímicos (Rosenberg et al. 2012).

Frente a playa El Flor las concentraciones de bacterias heterótrofas ( $3.81 \times 10^4$  UFC/mL) fueron mayores que la de *Vibrio spp.* ( $1.06 \times 10^4$  UFC/mL), en este sitio se observó la menor salinidad, mayor turbidez, mayor oxígeno disuelto. Guevara (2015) en su estudio realizado frente a la playa El Tunco y El Zonte presenta que la salinidad es uno de los parámetros más influyentes en la concentración de bacterias heterótrofas con una correlación de -0.280. En el presente estudio la concentración de bacterias heterótrofas tuvo una correlación con la salinidad de -0.5216 con una significancia estadística de 0.0002, cabe destacar que en el presente estudio se evaluaron más parámetros fisicoquímicos, mostrando una correlación más elevada y con significancia estadística que en el estudio de Guevara (2015); aunque en ambos estudios las correlaciones fueron negativas.

Las concentraciones de *Vibrio spp.* fueron mayores en Punta Remedios con  $9.73 \times 10^4$  UFC/mL y Salinitas con  $3.27 \times 10^4$  UFC/mL, que la de bacterias heterótrofas, estos dos sitios presentaron un leve aumento de la salinidad, concordando con Guevara (2015), que a mayor salinidad menor concentración de bacterias heterótrofas.



La concentración de bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.* encontradas en el ANP Complejo Los Cóbano fue más elevada en febrero, cuando las condiciones fueron de alta temperatura, menor salinidad, alto oxígeno disuelto, y alta turbidez. Lo que concuerda con Thomson et al. (2004), que sugiere que la temperatura es uno de los factores más determinantes para las concentraciones de *Vibrio spp.*, y que poseen una relación directa, entre más alta la temperatura, más alta la concentración del grupo. De igual manera en el estudio realizado por Cavallo y Stabili (2004), encontraron esta misma relación directa, solamente que entre la temperatura y la concentración de bacterias heterótrofas.

De igual manera en febrero la salinidad fue más baja en comparación con los otros meses por lo que la salinidad tiene una correlación negativa con la biomasa de bacterias heterótrofas (Laghdass et al. 2010) y tiene influencia con la concentración de *Vibrio spp.* (Cavallo y Stabili 2004), por lo que la salinidad podría ser uno de los parámetros que este influyendo en la concentración de bacteria heterótrofas y *Vibrio spp.*

En febrero el oxígeno disuelto (2.27 ppm) y la turbidez (2.01) fue uno de los factores fisicoquímicos que favoreció a las concentraciones de bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.*, presentando valores altos de oxígeno disuelto comparado con abril y valores altos de turbidez comparado con marzo.

Al observar los niveles de oxígeno disuelto en el ANP Complejo Los Cóbano durante el período muestreado se podría describir como una “zona hipóxica”, es decir, que la concentración de oxígeno disuelto es menor a 3 mg/L o ppm, lo cual podría deberse a la contaminación por nutrientes, específicamente de nitrógeno y fósforo que incluyen la escorrentía agrícola, la quema de combustibles fósiles y el tratamiento de aguas residuales (NOAA 2014). Patrones temporales y espaciales de hipoxia en ambientes de arrecifes de coral han sido descritos en varios estudios, alcanzando concentraciones de oxígeno tan bajas como 2.1 mg/L o ppm (Kinsey D y Kinsey B 1967).

Según Kriss E. (1976). la concentración relativamente alta de materia orgánica disuelta en la zona ecuatorial-tropical se debe a la cantidad de descargas de los ríos en las regiones oceánicas,

adyacentes al ecuador, y es evidente que, en mares y océanos, la distribución de materia orgánica disuelta es el principal factor que influye en la distribución cuantitativa de microorganismos heterótrofos.

La materia orgánica podría ser otro de los factores que está determinando la mayor concentración de bacterias heterótrofas en febrero, ya que la turbidez es una manera indirecta de medir la materia orgánica que refleja una aproximación del contenido de materias coloidales, minerales u orgánicas (Espigares y Fernández 1999) y para febrero se reportó una turbidez de 2.01 FNU, a diferencia de marzo donde las concentraciones tanto de bacterias heterótrofas como de *Vibrio spp.* fueron las más bajas para los tres meses y se reportó la menor turbidez con 0.47 FNU.

La turbulencia provocada por vientos, en ocasiones es la causa principal de la poca transparencia del agua dada la relativamente baja profundidad, aunque en condiciones de mar en calma también es posible encontrar poca transparencia (Miravet 2003). Según Yoon y Rosson (1990), la concentración de bacterias heterótrofas y la transparencia en el momento del muestreo pueden indicar la naturaleza de la turbidez, es decir, si la concentración de bacterias heterótrofas y la turbidez son altas, se les atribuye a las partículas en suspensión, un origen orgánico y, por el contrario, si la concentración de bacterias heterótrofas es baja y la turbidez alta, tienen un origen inorgánico.

De los tres meses muestreados, marzo reporta la mayor concentración de oxígeno disuelto y se reportan vientos de 10-40 km/h (MARN 2018) lo que podría haber causado un cambio en la columna de agua (Ni et al. 2014). Bryant et al. (2015) realizó un estudio en las aguas superficiales del Pacífico Subtropical Norte de Gyre, donde se observó que las variaciones en la velocidad del viento estaban relacionadas con la diversidad microbiana; ya que las concentraciones de oxígeno modulan la composición de comunidades bacterianas principalmente debido a los cambios en los aceptores de electrones terminales y los donantes de oxígeno (Aldunate et al. 2018), por lo que todos estos factores podrían estar definiendo la diferencia de concentración de bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.* en marzo.

Para febrero y marzo se presentó la etapa de finalización de las condiciones de La Niña y en abril una transición de La Niña débil a condición Neutral (CIIFEN 2018), cabe destacar que en abril La cantidad promedio total de lluvia fue de 140.9 mm para Acajutla, esto ha superado más de tres veces la cantidad normal para este mes (Anexo 25) y se convierte en el más lluvioso desde 1971 a escala nacional (MARN 2018), esto puede provocar cambios en las concentraciones de bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.*, ya que, Malaver et al. 2014 reporta que las condiciones Neutral y de El Niño favorecen más las concentraciones de bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.* y al haber presencia de La Niña estas concentraciones disminuyen.

## 7 CONCLUSIONES.

---

- El estudio determinó que la concentración de bacterias heterótrofas en la zona arrecifal del ANP Complejo Los Cóbano tiene un promedio de  $2.82 \times 10^4$  UFC/mL, la cual fue decreciendo a medida se alejaba de la costa, por lo que la influencia de la zona costera tiene un impacto en la dinámica microbiana.
- Según la identificación por pruebas API 20NE se reportó en febrero en Salinitas *Chryseobacterium indologenes*, primer registro en las costas de El Salvador, la cual es una bacteria patógena para el ser humano y podría indicar contaminación por parte de pesticidas en la zona.
- De los sitios muestreados la playa El Flor se ubica cerca de la zona de descarga del río Las Marías y una camaronera, las cuales podrían estar generando los nutrientes necesarios para la elevada concentración de bacterias heterótrofas en este lugar.
- Los resultados de este estudio evidencian que la concentración de bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.* presentan una diferencia de  $1.87 \times 10^4$  UFC/mL siendo más elevada la concentración de *Vibrio spp.* lo que podría ser indicador de contaminación por materia orgánica en la zona.
- Los factores fisicoquímicos que influyeron en la concentración de bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.* en la zona arrecifal del ANP Complejo Los Cóbano, fueron mayor turbidez, mayor oxígeno disuelto, menor salinidad y mayor temperatura.
- Las variaciones climáticas como lluvia y viento, en los meses muestreados reflejan tener un efecto en la concentración de bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.* en la zona arrecifal del ANP Complejo Los Cóbano.
- Debido a la importancia de las bacterias heterótrofas en los ecosistemas marinos este estudio da un primer paso para conocer la dinámica de este grupo en la zona arrecifal del ANP Complejo Los Cóbano.

## 8 RECOMENDACIONES.

---

- Es importante identificar las especies de *Vibrio spp.* y de bacterias heterótrofas con metodologías moleculares, para determinar la diversidad bacteriana y las especies dominantes en el ANP Complejo Los Cóbanos para poder conocer el rol de las especies más abundantes y su relación con los factores bióticos y abióticos del ecosistema.
- Debido a los niveles de oxígeno disuelto en la zona es importante hacer un estudio enfocado a las bacterias nitrato reductoras y sulfato reductoras debido al aumento de nutrientes que se podrían estar dando en la zona y evaluar cuál podría ser la dinámica de estas bacterias cerca y lejos de la costa.
- Es necesario llevar un monitoreo constante de las comunidades bacterianas en el ANP Complejo Los Cóbanos, tomando en cuenta sedimentos y diferentes profundidades, para poder conocer cuál es la dinámica natural del ecosistema en época seca y lluviosa y como fluctúan los grupos bacterianos con factores antrópicos, de esta manera se pueden proponer normas específicas para el ecosistema.
- Para futuros estudios tomar en cuenta variables como: nitratos, fosfatos, sulfuros, clorofila, hidrocarburos y carbono orgánico disuelto y quitina, de igual manera otros grupos como fitoplancton, zooplancton, virus, hongos y protozoarios para indagar la relación de estos con las comunidades bacterianas.
- Ya que la concentración de *Vibrio spp.* fue aumentada debido a los datos de Punta Remedios y Salinitas a los 400m, se sugiere que se hagan estudios más prolongados en esta zona tomando en cuenta más parámetros fisicoquímicos, nutrientes y otros grupos de microorganismos.

- Es importante hacer estudios de la composición bacteriana del tejido, mucus y agua circundante de *Porites lobata* ya que es el único coral formadores de arrecifes en El Salvador localizado en el ANP Complejo Los Cóbano y comparar con los parámetros fisicoquímicos y nutrientes de la zona.
- Ya que algunas especies de *Vibrio spp.* pueden ser patógenos para el ser humano es vital evaluar su concentración en especies comerciales del ANP Complejo Los Cóbano para conocer si esta pudiera ser una vía para la transmisión de enfermedades al ser humano y comparar la concentración de estos organismos con la del agua circundante.

## 9 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

---

- Abdul K, Tahmida B, Sariful I. 2012. Bacterial Load in Relation To Physicochemical Parameters. 41:15–20.
- Ainsworth TD, Kramasky-Winter E, Loya Y, Hoegh-Guldberg O, Fine M. 2007. Coral disease diagnostics: What's between a plague and a band? *Appl. Environ. Microbiol.* 73:981–992.
- Alavandi S. 1990. Relationship between heterotrophic bacteria and suspended particulate matter in the Arabian Sea (Cochin). *Indian Journal on Marine Science*, 30: 89-92.
- Aldunatea M, De la Iglesia R, Bertagnollia A, Ulloaa O. 2018. Deep-Sea Research Part II Oxygen modulates bacterial community composition in the coastal upwelling waters off central Chile. *Deep. Res. Part II* 156:68–79.
- Alves N, Maia O, Silva B, Moura R, Francini R, Barreira C, Paranhos R, Bitner-Mathé B, Kruger R, Vicente A, et al. 2010. Diversity and pathogenic potential of vibrios isolated from Abrolhos Bank coral. *Environmental Microbiology Reports* 2(1): 90–95.
- Apella M, Araujo P. 2005. Capítulo 2: Microbiología de agua. Conceptos básicos. p. 33-50.
- Atlas RM, Bartha R. 1998. *Microbial Ecology: Fundamentals and Applications*. Fourth Edition. University of California (CA): Benjamin/Cummins Co, Inc.
- Austin B, Allen D, Zachary A, Belas M, Colwell R. 1979. Ecology and taxonomy of bacteria attaching to wood surfaces in a tropical harbor. *Canadian Journal of Microbiology*. Vol. 25(4): 446-461.
- Azam F, Fenchel T, Field J, Gray J, Meyer-Reil L, Thingstad F. 1983. The ecological role of water-column microbes in the sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* [Acceso octubre 2017]; Vol. 10: 257-263.
- Banin E, Israely TM, Fine Y, Rosenberg E. 2001. Role of endosymbiotic zooxanthellae and coral mucus in the adhesion of the coral bleaching pathogen *Vibrio shiloi* to its host. *FEMS Microbiology Letters*. 199(1):33-3.

- Ben-Haim Y, Thompson F, Thompson C, Cnockaert M, Hoste B, Swings J, Rosenberg E. 2003. *Vibrio coralliilyticus* sp. nov., a temperature dependent pathogen of the coral *Pocillopora damicornis*. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology [Acceso octubre 2017]; Vol. 53: 309–315.
- Beleneva I. A, Zhukova N. 2017. Dynamics of Cell Numbers and Biodiversity of Marine Heterotrophic Bacteria Inhabiting Invertebrates and Water Ecosystems of the Peter the Great Bay, Sea of Japan. 78:414–420.
- Bernardet J, Bruun H. 2006. The genera *Chryseobacterium* and *Elizabethkingia*. In: Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer KH, Stackebrandt E (eds) The prokaryotes, vol 7. Springer, New York, pp 638–676
- Bryant J, Aylward F, Eppley J, Karl D, Church M, DeLong E. 2015. Wind and sunlight shape microbial diversity in surface waters of the North Pacific Subtropical Gyre. The ISME Journal.
- Buchan A, LeClerc G, Gulvik C, González J. 2014. Master recyclers: features and functions of bacteria associated with phytoplankton blooms. Nature Reviews Microbiology. Vol. 12 (10): 686-698.
- Bogomolni A, Gast R, Ellis J, Dennett M, Pugliarès K, Lentell B, Moore M. 2008. Victims or vectors: a survey of marine vertebrate zoonoses from coastal waters of the Northwest Atlantic. Dis Aquat Org 81:13–38.
- Bonilla & Barraza, 2003. Coral and associated marine communities from El Salvador. 20 pp.
- Bourne D, Morrow K, Webster N. 2016. Insights into the Coral Microbiome: Underpinning the Health and Resilience of Reef Ecosystems. Annu. Rev. Microbiol. 70:317–340.
- Caldwell D. 1995. Microbial Physiology Metabolism: The effects or environmental factors on microbes. Oxford, England: Brown Publishers.
- Cavallo R, Stabili L. 2004. Culturable vibrios biodiversity in the Northern Ionian Sea (Italian coasts). Sci. Mar. [Acceso octubre 2017]; Vol. 68: 23–29. doi:10.3989/scimar.2004.68s123.



- Chrost R. 1991. Microbial ectoenzymes in aquatic environments. *Aquatic Microbial Ecology: Biochemical and Molecular Approaches* [Acceso octubre 2017]; Springer-Verlag, New York: 47-48.
- Chakraborty S, Nair G y Shinoda S. 1997. Pathogenic vibrios in the natural aquatic environment. *Rev Environ Health* 12, 63–80.
- Chénard C, Wijaya W, Vaultot D, Lopes A, Martin P, Kaur A, Lauro F. 2019. Temporal dynamics of Bacteria, Archaea and protists in equatorial coastal waters. *bioRxiv* 658278.
- Chimetto L, Brocchi M, Gondo M, Thompson C, Gomez-Gil B, Thompson F. 2009. Genomic diversity of *vibrios* associated with the Brazilian coral *Mussismilia hispida* and its sympatric zoanthids (*Palythoacaribaeorum*, *Palythoavariabilis* and *Zoanthussolanderi*). *J. Appl. Microbiol.* 106, 1818–1826.
- Centro Internacional para la Investigación del Fenómeno del Niño (CIIFEN). 2018. El Niño/La Niña en América Latina - Marzo 2018.
- Cifuentes J, Torres M, Frías M. 1997. El océano y sus recursos. II. Las ciencias del mar: oceanografía geológica Y oceanografía química. Segunda Edición. pp. 99
- Cole J, Findlay S, Pace M. 1988. Bacterial production in fresh and saltwater ecosystems: a cross-system overview. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* [Acceso septiembre 2017]; Vol. 43: 1-10.
- Croci L, Serratore P, Cozzi L, Stacchini A, Milandri S, Suffredini E, Toti L. 2001. Detection of Vibrionaceae in mussels and in their seawater growing area. 57–61.
- Croquer A, Bastidas A, Sweet M. 2013. Bacterial assemblages shifts from healthy to yellow band disease states in the dominant reef coral *Montastraea faveolata*. *Environ. Microbiol.* 5:90–96.
- Crossland C, Barnes D, Borowitzka M. 1980. *Marine Biology*. pp.60-81.
- Currie D. 1995. Ordenación y desarrollo del cultivo de camarón marino. [Reporte de estudio]. [El Salvador]: PRADEPESCA, UNION EUROPEA-OLDEPESCA.
- DasSarma S, Arora P. 2002. Halophiles. *Encyclopedia Of Life Sciences*. p. 1-9.

- Deepanjali A, Kumar H, Karunasagar I. 2005. Seasonal variation in abundance of total and pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* bacteria in oysters along the southwest coast of India. *Applied and Environmental Microbiology* [Acceso octubre 2017]; Vol.71: 3575-3580.
- D'croz L, Robertson D. 1997. Coastal oceanographic conditions affecting coral reefs on both sides of the Isthmus of Panama. *Proc. 8th Int Coral Reef Symp.*, 2: 2053-2058.
- Díaz J, Sánchez J, Díaz-Pulido G. 1996. Geomorfología y formaciones arrecifales recientes de Isla Fuerte y Bajo Bushnell, plataforma continental del Caribe colombiano. *Bol. investig. mar. Cost.* [Acceso octubre 2017]; vol. 25(1): 87-105.
- Diaz R. 2001. Overview of Hypoxia around the World, *J. Environ. Qual.* 30: 275–281.
- Diaz RJ, Rosenberg R. 2008. Spreading dead zones and consequences for marine ecosystems. *Science.* 321: 926–929.
- Escamilla M. 1986. Geografía de El Salvador. San Salvador (SV): Dirección de Publicaciones. Ministerio de Cultura y Comunicaciones.
- Escribano R, Castro L. 2004. Biología marina y oceanografía: conceptos y procesos. Capítulo 14: Plancton y productividad. Tomo I: 289-314.
- Espigares M, Fernández-Crehuet M. 1999. Calidad del agua para consumo público: caracteres físico-químicos. En *Estudio sanitario del agua*. Pérez López. J. A. y Espigares García M. (eds). Editorial Universidad de Granada, Granada, pp. 85- 114.
- Fabiano T, Brian Austin and JS. 2006. The biology of vibrios.
- FUNDE. 2002. Bienvenidos a la Microregión del Pacífico-Sonsonate. San Salvador (SV): Fundación Nacional para el Desarrollo.
- Friedrich J, Janssen F, Aleynik D, Bange H, Boltacheva N, Çagatay M, Dale A, Etiope G, Erdem Z, Geraga N, et al. 2014. Investigating hypoxia in aquatic environments: diverse approaches to addressing a complex phenomenon. *Biogeosciences.* 11: 1215–1259
- García P, Qinto J. 2001. NTP 584: Evaluación de la exposición a anilina: control ambiental y biológico. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. España.

- Gavilán R, Martínez J. 2011. Factores ambientales vinculados con la aparición y dispersión de las epidemias de *Vibrio* en América del Sur. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* 28:109–124.
- Gilmour D. 1990. Halotolerant and Halophilic microorganisms. En: *Microbiology of Extreme Environments*. Edición C. Edwards. McGraw-Hill (NY).
- Gilbert JA, Steele JA, Caporaso JG, Steinbrun L, Reeder J, Temperton B, Huse S, Mchardy AC, Knight R, Joint I, et al. 2011. Defining seasonal marine microbial community dynamics. :298–308.
- Golterman HL. 2004. *The chemistry of phosphate and nitrogen compounds in sediments*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Gómez-León, J., L. Villamil, M. L. Lemos, B. Novoa, and A. Figueras. 2005. Isolation of *Vibrio alginolyticus* and *Vibrio splendidus* from aquacultured carpet shell clam (*Ruditapes decussatus*) larvae associated with mass mortalities. *Appl. Environ. Microbiol.* 71:98–104
- González J, Pedrós-Ali C, Gasol J. 2008. Plancton bacteriano de los océanos. *Investigación y Ciencia* [Acceso Noviembre 2017]; Vol. 387: 76-84.
- González R, Echeverría O, Juárez S, Vázquez G. 2011. Los dinoflagelados, un grupo excepcional. *Ciencias* 103, julio-septiembre, 66-69. [En línea].
- Guevara C. 2015. Determinación de la calidad microbiológica del agua de 2 playas: El Tunco y El Sunzal, ubicadas en el departamento de La Libertad, El Salvador. [Tesis]. [San Salvador (SV)]: Universidad de El Salvador.
- Grau C, Barbera A, Zerpa A, Silva S y Gallardo O. 2004. Aislamiento de *Vibrio spp.* y evaluación de la condición sanitaria de los moluscos bivalvos *Arca zebra* y *Perna perna* procedentes de la costa nororiental del edo. Sucre. Venezuela. *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias*, vol. 14, no. 6, 2004, p. 513+. Academic OneFile, Accessed 24 Feb. 2019
- Gregoracci G, Nascimento J, Cabral A, Paranhos R, Jean L, Thompson C, Thompson F. 2012. Structuring of Bacterioplankton Diversity in a Large Tropical Bay. *PLoS ONE*. 7(2): e31408.
- Hadfield MG. 2011. Biofilms and marine invertebrate larvae: what bacteria produce that larvae use to choose settlement sites. *Ann. Rev. Mar. Sci.* [Acceso noviembre 2017]; Vol. 3: 453–470.

Heidelberg J, Heidelberg K, Colwell R. 2002. Bacteria of the gamma-subclass Proteobacteria associated with zooplankton in Chesapeake Bay. *Applied and Environmental Microbiology*; Vol. 68: 5498-5507.

Heinänen, A. 1992. Measuring thymidine incorporation in the open Baltic Sea, a brackish water estuary: comments in saturation level of thymidine 1-2. In *Bacterioplankton in the open Baltic Sea*. Finnish Marine Research [Acceso noviembre 2017]; Vol. 260.

Hernandez J. 1996. Estado Actual del Cultivo de Camarón Marino en El Salvador. [San Salvador (SV)]: Ministerio de Agricultura y Ganadería. Centro de Desarrollo Pesquero.

Hernando-Morales V. 2016. Bacterioplanctón marino en la plataforma exterior a las Rías de Vigo y A Coruña. Centro Singular de investigación Marina. [Acceso noviembre 2017]. <https://oceanocimat.wordpress.com/2016/04/18/bacterioplancton-marino-en-la-plataforma-exterior-a-las-rias-de-vigo-y-a-coruna/>

Ilce O. 2000. Acción desintegradora de las bacterias marinas. [Acceso Noviembre 2017]; Vol. 2: 1-6.

Instituto de Ciencias del Mar y Limnología de la Universidad de El Salvador (ICMARES-UES). 2006. Línea base de las condiciones biofísicas y socioeconómicas del sistema arrecifal de Los Cóbano. [Investigación]. [San Salvador (SV)]: Universidad de El Salvador.

Instituto de Ciencias del Mar y Limnología de la Universidad de El Salvador (ICMARES-UES). 2008. Propuesta de “Plan de manejo para el Área Natural Protegida Arrecife Los Cóbano”. [Investigación]. [San Salvador (SV)]: Universidad de El Salvador.

Jacques M, Aragon V, Tremblay YDN. 2010. Biofilm formation in bacterial pathogens of veterinary importance. *Animal Health Research Reviews* 11:97–121.

Kaysner C, DePaola A. 2004. *Bacteriological Analytical Manual*: Chapter 9: *Vibrio*. Food and Drug Administration (FDA).

Kinsey DW, Kinsey BE. 1967. Diurnal changes in oxygen content of the water over the coral reef platform at Heron I. *Aust J mar Freshwat Res* 18: 23–34.

Kirchman D. 2000. Microbial ecology of the Oceans. Primera edición. New York: Wiley-Liss Inc.

Kelman D, Kashman Y, Rosenberg E, Kushmaro A, Loya Y. 2006. Antimicrobial activity of Red Sea corals. *Mar Biol.* [Acceso noviembre 2017]; Vol. 149: 357-363.

Kushmaro A, Banin E, Loya Y, Stackebrandt E, Rosenberg E. 2001. *Vibrio shiloi* sp. nov., the causative agent of bleaching of the coral *Oculina patagonica*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* Vol. 51:1383–1388.

Kriss E. 1976. The Vertical Distribution Patterns of Heterotrophic Bacteria in the Depths of the World Ocean and the Importance of their Regularity.

Koren O, Rosenberg E. 2006. Bacteria associated with mucus and tissues of the coral *Oculina patagonica* in summer and winter. *Appl. Environ. Microbiol.* 72, 5254–5259.

Leyton Y, Riquelme C. 2008. Vibrios en los sistemas marinos costeros. *Rev. Biol. Mar. Oceanogr.* 43:441–456.

Lee E, Shin D, Hyun S, Ko K, Moon H, Koh D, Ha K, Kim B. 2017. Periodic change in coastal microbial community structure associated with submarine groundwater discharge and tidal fluctuation. *Limnol. Oceanogr.* 62:437–451.

Laghdass M, West NJ, Batailler N, Caparros J, Catala P, Lantoine F, Oriol L, Lebaron P, Obernosterer I. 2010. Impact of lower salinity waters on bacterial heterotrophic production and community structure in the offshore NW Mediterranean Sea. *Environ. Microbiol. Rep.* 2:761–769.

Littman R, Willis B, Pfeffer C, Bourne D. 2006. Diversities of coral-associated bacteria differ with location, but not species, for three acroporid coral son the Great Barrier Reef. Publishing Ltd. [Acceso noviemnre 2017]; Vol. 68 (2):152-163.

Lugioyo M. 2003. Distribución, relaciones tróficas y diversidad del bacterioplanctón de las aguas oceánicas de Cuba. [Tesis] Ciudad de La Habana (CU): Instituto de Oceanología.

Lugioyo M, Miravet M, Pérez R, Álvarez C, Espinosa G. 2007. Evaluación del estado trófico de las aguas oceánicas adyacentes al sur de cuba a partir de indicadores microbiológicos y fitoplanctónicos. *Rev. Invest. Mar.* 28(3): 201-207.

López A, Zaballos M. 2005. Diversidad y actividad procariótica en ecosistemas marinos. Revista Ecosistemas [Acceso noviembre 2017]; Vol.14 (2): 11-16.

López-Torres MA, Chomina-Huérigo BE, Haros-Méndez MD los Á, Barraza-Guardado RH, Valdez-Holguín E. 2013. Determinacion De La Carga De Bacterias En Zona De Efluente Camaronícola. Biotecnia 15:33.

Mann K. H. 2000. Ecology of coastal waters, with implications for management. Blackwell Publishing; Chapter 6 – The fate of macrophyte detritus.

Matyar F, Kaya A, Dincer S. 2008. Antibacterial agents and heavy metal resistance in Gram-negative bacteria isolated from seawater, shrimp and sediment in Iskenderun Bay, Turkey. Sci Total Environ 407:279–285.

McBride M, Xie G, Martens E, Lapidus A, Henrissat B, Rhodes R, Goltsman E, Wang W, Xu J, Hunnicutt D, Staroscik A, Hoover T, Cheng Y, Stein J. 2009. Novel features of the polysaccharide-digesting gliding bacterium *Flavobacterium johnsoniae* as revealed by genome sequence analysis. Appl Environ Microbiol 75:6864–6875

Miller K, Chang E, Johnson N. 2001. En busca de un enfoque común para el Corredor Biológico Mesoamericano. WRI-WWF-CATIE. Washington, USA. 49p.

Ministerio del Medio Ambiente y Recursos Naturales de El Salvador (MARN). 2015. Quinto Informe Nacional para el Convenio sobre la Diversidad Biológica. El Salvador. [San Salvador (SV)].

Ministerio del Medio Ambiente y Recursos Naturales. 2018. Almanaque Marino-Astronómico. [San Salvador (SV)]: MARN.

Ministerio del Medio Ambiente y Recursos Naturales de El Salvador. 2018. Informes especiales N° 4 y 5. Vientos Nortes y Norestes debilitándose. San Salvador (en línea) <http://www.snet.gob.sv/ver/meteorologia/informes+especiales/archivo/>

Ministerio del Medio Ambiente y Recursos Naturales de El Salvador. 2018. Informes N° 2. Finaliza época seca e inicia la lluviosa 2018 en El Salvador.

Malaver N, Rodríguez M, Montero R, Aguilar V, Salas M. 2014. Cambios espaciales y temporales en las características fisicoquímicas y microbiológicas del agua de la laguna de Tacarigua, Estado de Miranda, Venezuela.

Miravet M. 2003. Abundancia, actividad y diversidad de las bacterias heterótrofas en el Golfo de Batabanó y su uso como indicadores ambientales. [Tesis]. [Ciudad de La Habana (CU)]: Instituto de Oceanología.

Miravet M, Lugioyo M, Loza S, Enríquez D, Delgado Y, Carmenate M, Pérez D. 2009. Procedimientos para el monitoreo de la calidad ambiental en la zona marino-costera a partir de microorganismos. [Investigación]. [La Habana (CU)]: Instituto de Oceanología.

Mishustina I, Wegloba I, Miskevich I. 1985. Microbiología Marina. Ed. Idaltebo. [en Ruso].

Montoya V. 2008. Microbiología básica para el área de salud y áreas afines. Ed. Universidad de Antioquia. 2a Ed. Colombia.

Morales M, Ortiz E, Cartaya Y, Miranda A, Fonseca E, Paneque K, Caballero V, Martínez C, Díaz Y. 2009. Aislamiento y caracterización de bacterias heterótrofas procedentes de la bahía de La Habana.

Mowery, P, Ostler J. B, and Parkinson J. S. 2008. Different signaling roles of two conserved residues in the cytoplasmic hairpin tip of Tsr, the Escherichia coli serine chemoreceptor. *Journal of Bacteriology*. 190:8065-8074.

Munn C. 2015. The role of *vibrios* in diseases of corals. *Microbiol. Spectr.* 3, 4.

Munster U. 1991. Extracellular enzyme activity in eutrophic and polyhumic lakes. Chapter 3, R. J. Chróst (ed.), *Microbial Enzymes in Aquatic Environments* © Springer-Verlag New York Inc.

Ni X, Huang D, Zeng D, Zhang T, Li H, Chen J. 2014. The impact of wind mixing on the variation of bottom dissolved oxygen off the Changjiang Estuary during summer. *J. Mar. Syst.*:0–8.

Nishibuchi M. 2006. Molecular Identification, p 44-64. In Thompson F, Austin B, Swings J (ed), *The Biology of Vibrios*. ASM Press, Washington, DC.

Oppenheimer C, ZoBell C. 1952. The growth and viability of sixty three species of marine bacteria as influenced by hydrostatic pressure. *Journal Marine Research* 11:10-18.

National Oceanic and Atmospheric Administration (NOAA). c2014-2017. Hipoxia. [Accesado Febrero 22 de 2019] <https://oceanservice.noaa.gov/hazards/hypoxia/>.

National Centers for Coastal Ocean Science (NCCOS). c2017. Integrated Ecosystem Modeling of the Causes of Hypoxia. [Accesado Febrero 22 de 2019]. <https://coastalscience.noaa.gov/project/integrated-ecosystem-modeling-causes-hypoxia/>.

Parvathi A, Kumar H, Karunasagar I. 2004. Detection and enumeration of *Vibrio vulnificus* in oysters from two estuaries along the southwest coast of India, using molecular methods. *Applied and Environmental Microbiology*. [Acceso diciembre 2017]; Vol. 70: 6909-6913

Payne, W. J. 1973. Reduction of nitrogenous oxides by microorganisms. *Bacterial. Rev.* 37: 409-452.

Pérez J, Miravet M. 1988. Actividad microbiana en manglares del litoral habanero. Inédito. [Investigación]. [La Habana(CU)]: Instituto de Oceanología.

Pinet PR. 1998. The properties of seawater Chapter 4. En: *Invitation to Oceanography*. [London (UK)]: Jones and Barhett Publishers International.

Plante A, Stewart C, Conant R, Paustian K, Six J. 2006. Soil management effects on organic carbon in isolated fractions of a Gray Luvisol. *Canadian Journal of Soil Science* 86: 141-151.

Pomeroy LR. 1974. The ocean's food web, a changing paradigm. *Bioscience*. Vol. 24: 499-504.

Purushothaman A. 1998. Microbial Diversity. In: M.S. Swaminathan. *Proceedings of the Technical Workshop on Biodiversity of Gulf of Mannar Marine Biosphere Reserve*, Research Foundation, Chennai. p. 86-91.

Qasim S. 1999. *The Indian Ocean: Images and Realities*. Oxford and ibh, New Delhi.

Rabalais N, Turner R, Wiseman W. 2001. Hypoxia in the Gulf of Mexico. *J Environ. Qual.* 30: 320–329.



- Radianingty H, Robinson GK, Bull AT. 2003. Characterization of a soil-derived bacterial consortium degrading 4-chloroaniline. :3279–3287.
- Raymundo L, Harvell C, Reynolds T. 2003. *Porites* ulcerative white spot disease: Description, prevalence, and host range of a new coral disease affecting Indo-Pacific reefs. *Dis. Aquat. Organ.* 56:95–104.
- Ritchie K, Smith G. 2004. Microbial communities of coral surface mucopolysaccharide layers. In: *Coral health and disease*. Springer Berlin Heidelberg. 259-264 pp.
- Ritchie K. 2006. Regulation of marine microbes by coral mucus and mucus associated bacteria. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 322, 1–14.
- Reyna M, Sermeño A, Guillen R, Abrego C, Herrera N, Vasquez M, Arriaza N. 1996. Plan del Sistema de Áreas Protegidas, Zonas de Amortiguamiento y Corredores Biológicos. Proyecto Corredor Biológico Mesoamericano PNUD/GEF. Comisión Centroamericana de Ambiente y Desarrollo (CCAD), Secretaría Ejecutiva del Medio Ambiente.
- Rohwer F, Kelly S. 2004. Culture-independent analyses of oral-associated microbes in *Coral Health and Diseases*, eds E. Rosenberg and Y. Loya (Berlin, NY: Springer Press). 265–277.
- Romanenko V, Kuznetsov S. 1981. Ecología de microorganismos de aguas interiores. Manual de laboratorio. En ruso. Ed. Nauka.
- Rose J, Gast R, Bogomolni A, Ellis J, Lentell B, Touhey K, Moore M. 2009. Occurrence and patterns of antibiotic resistance in vertebrates off the Northeastern United States coast. *FEMS Microbiol Ecol* 67:421–431.
- Rosenberg E, Koren O, Reshef L, Efrony R, Zilber-Rosenberg I. 2007. The role of microorganisms in coral health, disease and evolution. *Nat. Rev. Microbiol.* 5:355–362.
- Rosenberg E, DeLong E, Lory S, Stackebrandt E, Thompson F. 2012. The prokaryotes: Prokaryotic communities and ecophysiology. *Prokaryotes Prokaryotic Communities Ecophysiol.*:1–528.

- Segovia J, Navarrete M. 2007. Biodiversidad a nivel de ecosistema en parches de corales hermatípicos (*Porites lobata*, *Pocillopora* sp.) en la zona intermareal de la playa Los Cóbano, departamento de Sonsonate, El Salvador. [Tesis]. [San Salvador (SV)]: Universidad de El Salvador.
- Segovia J. 2018. Impactos de El Niño 2014-2016 en las comunidades bénticas de los arrecifes de borde, Los Cóbano, El Salvador, Centroamérica. 17º Congreso Latino-Americano de Ciências do Mar – COLACMAR´2017.
- Seoánez M. 2000. Manual de contaminación marina y restauración del litoral. Ediciones Mundi-prensa. Madrid. 565 pp.
- Sherr EB, Sherr BF. 1996. Temporal Offset in oceanic production and respiration process implied by seasonal changes in atmospheric oxygen: The role of heterotrophic microbes. *Aquatic Microbial Ecology*, 1: 91-100.
- Sorokin Y. 1973. Tropical role of bacteria in the ecosystem of the coral reef. *Nature* [Acceso enero 2018]; Vol. 242: 415-417.
- Smith R, Smith T. 1998. Componentes del Agua de mar. En: *Elements of Ecology*. 4 ta Ed.
- Stabili L, Cavallo R. 2004. Biodiversity of culturable heterotrophic bacteria in the Southern Adriatic Sea Italian coastal waters. *Sci. Mar.* 68:31–41.
- Strahler A. 1977. Geografía física. [Barcelona (SP)]: Ed. Omega.
- Sheridan C, Kramarsky-Winter E, Sweet M, Kushmaro A, Leal MC. 2013. Diseases in coral aquaculture: Causes, implications and preventions. *Aquaculture* 396–399:124–135.
- Sweet M, Bythell J. 2012. Ciliate and bacterial communities associated with White Syndrome and Brown Band Disease in reef-building corals. *Environ. Microbiol.* 14:2184–2199.
- Takemura A, Chien D, Polz M. 2014. Associations and dynamics of *Vibrionaceae* in the environment, from the genus to the population level. *Front. Microbiol.* 5:38.
- Taylor BF. 1992. Marine Habitats, Bacteria. En: *Encyclopedia of Microbiol.* Vol. 3: 29- 44.
- Thompson F, Iida T, Swings J. 2004. Biodiversity of Vibrios. *Microbiol Mol Biol.* Vol. 68(3): 403–31.

Thompson JR, Randa M, Marcelino L, Tomita A, Lim E, Polz M. 2004. Diversity and dynamics of a North Atlantic coastal *Vibrio* community. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 70: 4103-4110.

Thompson JR, Polz MF. 2006. Dynamics of *Vibrio* populations and their role in environmental nutrient cycling. *The biology of vibrios*. Vol. 13: 190-203.

Torretón J. 1991. Importance des bacteries heterotrophes aerobies dans une lagune eutrophe tropicale (Lagune Ebrie, Cote d Ivoire). Biomasse, production. Exportations. [Tesis]. [Marsella (FR)]: Universidad de Marsella.

Trtanj J. 1998. Exploring the Linkages between the El Niño-Southern Oscillation (ENSO) and Human Health. *The ENSO Experiment. Research Activities*.

Turner R, Rabalais N. 2003. Linking landscape and water quality in the Mississippi River basin for 200 years. *BioScience*. 53: 563–72.

Uyaguar M, Key P, Moore J, Jackson K, Scott G. 2009. Acute effects of the antibiotic oxytetracycline on the bacterial community of the grass shrimp, *Palaemonetes pugio*. *Environ Toxicol Chem* 28:2715–2724.

Valea S. 2016. Ecosistemas microbianos endolíticos en nódulos superficiales de halita del desierto hiperárido de Atacama: microclima, microhábitat y biodiversidad. Universidad Complutense de Madrid, Tesis Doctoral. 270 págs.

Vijayan M, Lee C. 2014. Seasonality and diversity of culturable vibrios in tropical coastal waters. *Bull. Mar. Sci.* 90:599–610.

Vitousek P, Aber J, Howarth R, Likens G, Matson P, Schindler D, Schlesinger W, Tilman D. 1997. Human alteration of the global nitrogen cycle: Sources and consequences. *Ecological Applications* 7: 737–750.

Wachmuth K, Blake P, Olsvik Ø. 1994. *Vibrio cholera* an Cholera: Molecular to Global Perspectives. First Edition. [Washington DC. (USA)]: ASM PRESS.

Watnick P, Lauriano C, Klose K, Croal L, Kolter R. 2001. The absence of a flagellum leads to altered colony morphology, biofilm development and virulence in *Vibrio cholerae* O139. *Molecular Microbiology*. Vol. 39: 223-235.

Williams P. 2000. Heterotrophic Bacteria and the Dynamics of Dissolved Organic Material (Chapter 6). En: *Microbial Ecology of the Oceans*. Ed. Kirchman, D. L., Wiley-Liss, New York. 153-200.

Worden A, Seidel M, Smriga S, Wick A, Malfatti F, Bartlett D, Azam F. 2006. Trophic regulation of *Vibrio cholerae* in coastal marine waters. *Environmental Microbiology*. Vol. 8: 21-29.

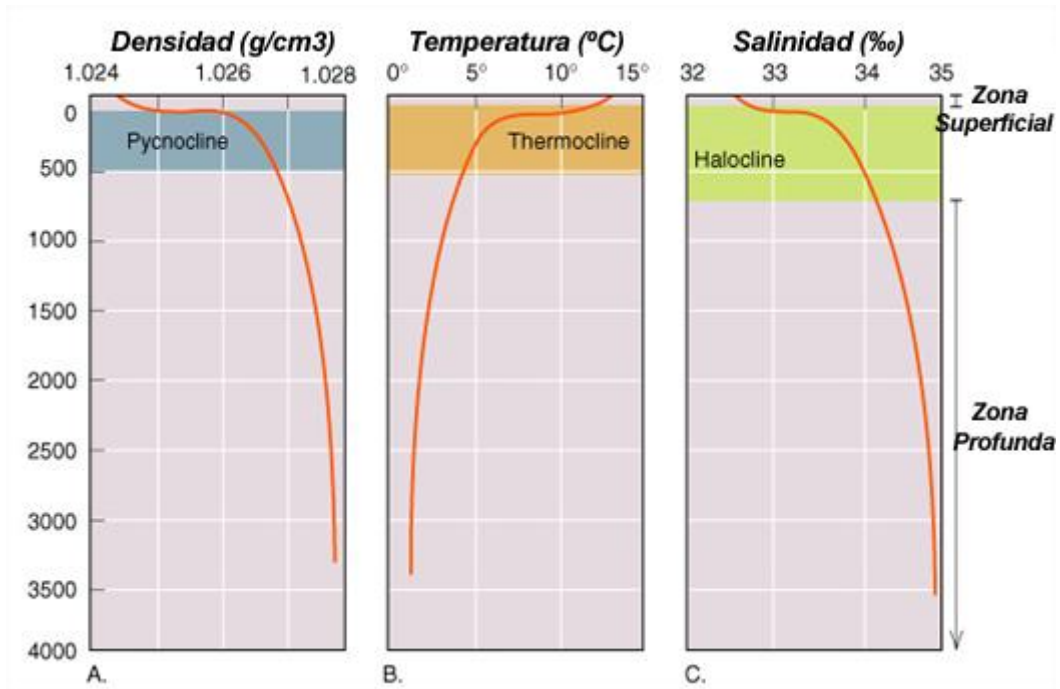
Yoon W, Rosson R. 1990. Improved method of enumeration of attached bacteria for study of fluctuation in the abundance of attached and free living bacteria in response to diel variation in sea water turbidity. *Appl. and Environ. Microbiol.*, 595-600.

Zamora L, Fernández-Garayzábal J, Palacio M, Sánchez-Porro C, Svensson L, Domínguez L, Moore E, Ventosa A, Vela A. 2012. *Chryseobacterium oncorhynchi* sp. nov., isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Syst Appl Microbiol* 35:24–29.

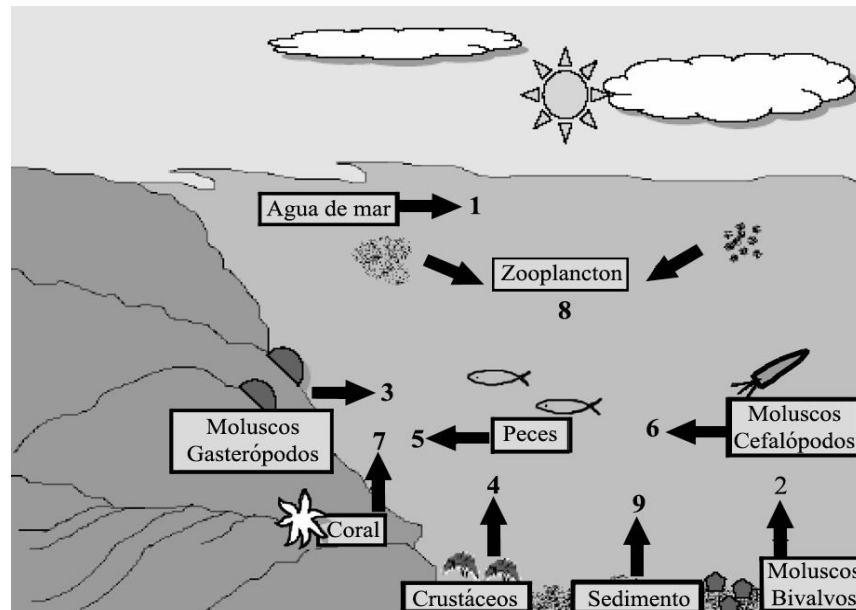
Zhang X, Lin H, Wang X, Austin B. 2018. Significance of *Vibrio* species in the marine organic carbon cycle — A review

## 10 ANEXOS

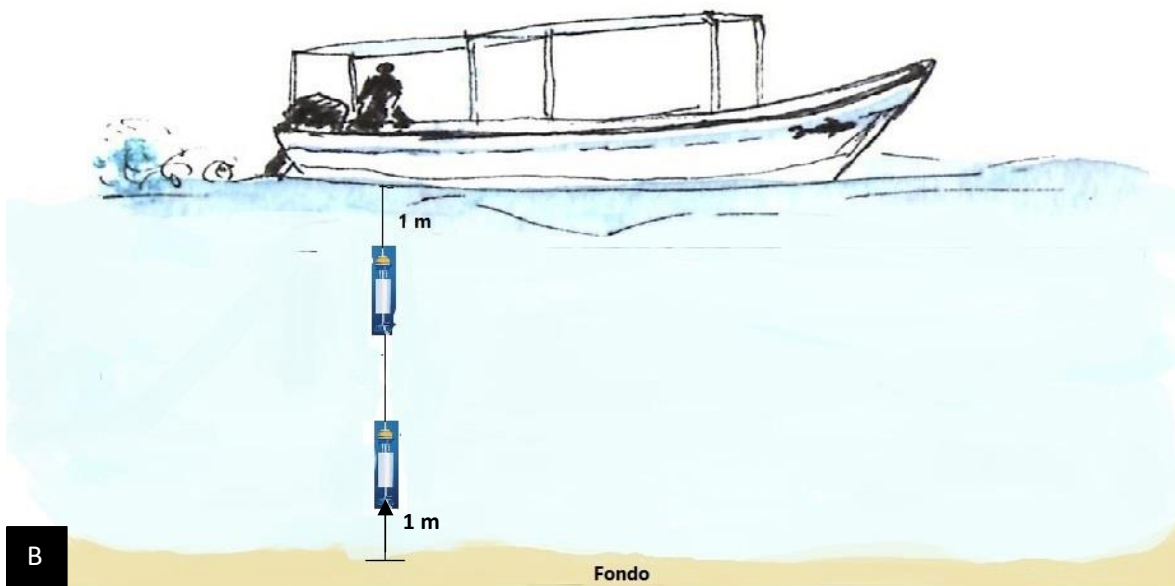
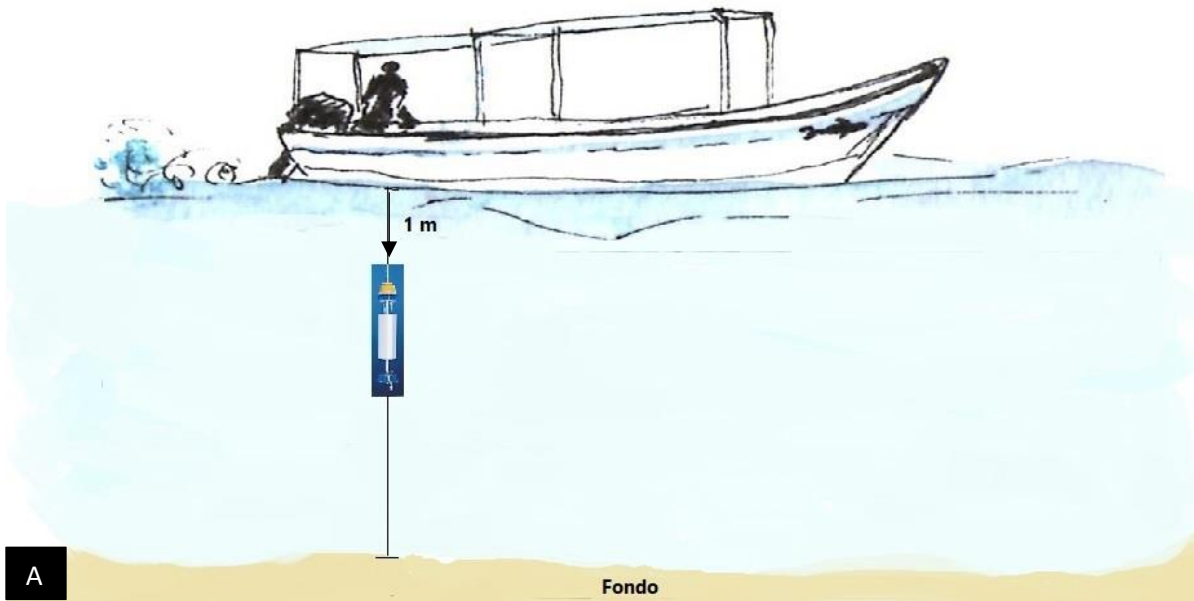
Anexo 1. Estratificación de la columna de agua: A) Densidad, B) Temperatura y C) Salinidad.



Anexo 2. Representación gráfica de las interacciones de *Vibrio spp.* en diferentes compartimentos del ecosistema costero (Leyton y Riquelme 2008).



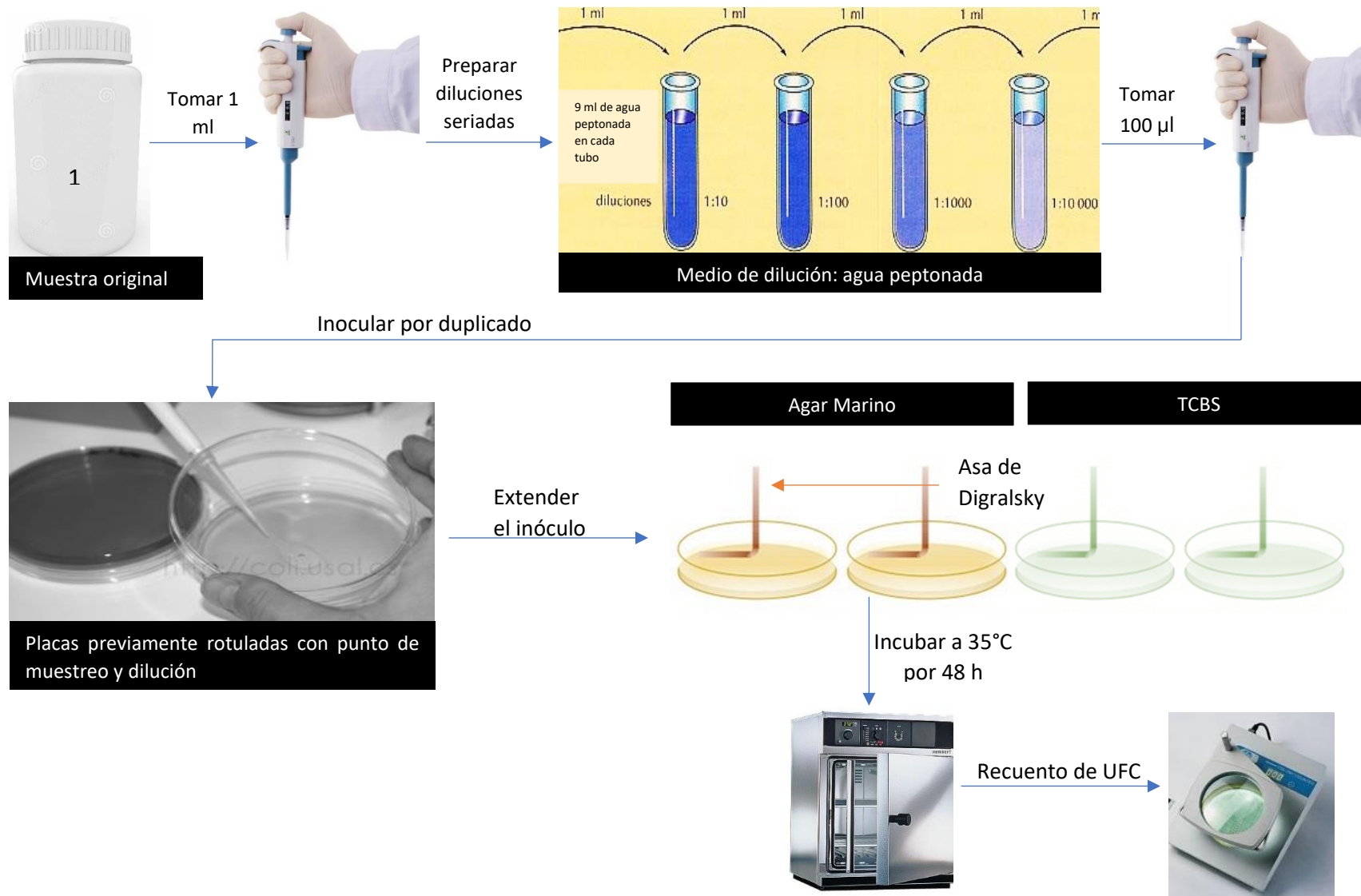
**Anexo 3.** Colecta de muestras según la distancia de la costa a 200 m, se tomará la muestra a un metro de la superficie (A); a los 400 m y 600 m, se tomará la muestra a un metro de la superficie y un metro del fondo (B).



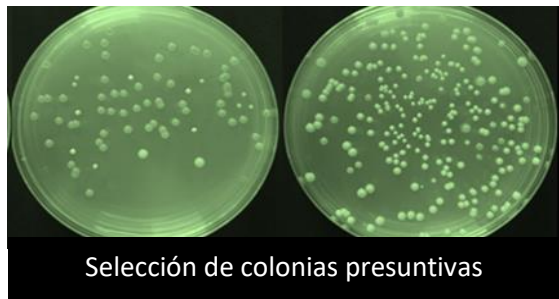
**Anexo 4.** Componentes para la elaboración del medio agar marino.

Componente	Cantidad (500 ml de medio)
Peptona	2.5 g
Extracto de levadura	0.5 g
FeSO <sub>4</sub>	0.05 g
Agar	7.5 g
Agua destilada	150 ml
Agua de mar	350 ml

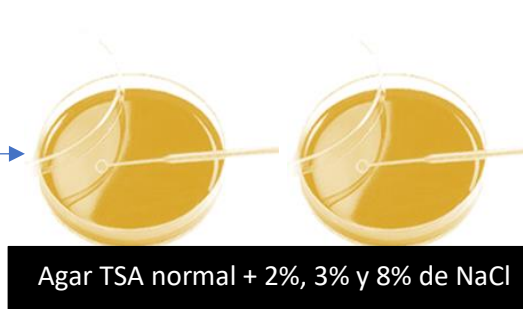
Anexo 5. Procesamiento de las muestras.







Resiembra



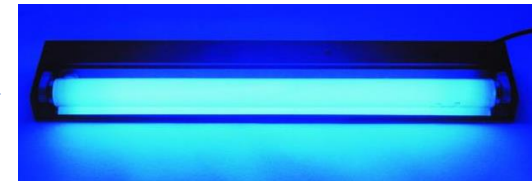
Incubar a 35°C por 24 h



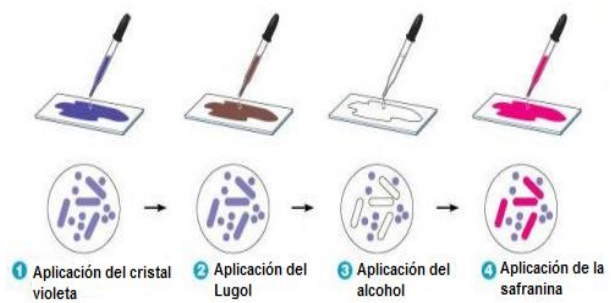
Observar el crecimiento de colonias en agar TSA



Observar las placas con agar cetrimida con luz UV



Tinción de Gram



Prueba oxidasa



Prueba

Oxapi<sup>®</sup> 20 NE

**Anexo 6.** Características bioquímicas de *Vibrio spp.* Abbreviations: TCBS, thiosulfate-citrate-bile salts-sucrose; mCPC, modified cellobiose polymyxin B-colistin; AGS, arginine-glucose slant; Y = yellow NG = no or poor growth S = susceptible nd = not done G = green V = variable among strains R = resistant P = purple, V = variable KK = Slant alkaline / Butt alkaline KA = Slant alkaline /Butt acidic, Ka = Slant alkaline/ Butt slightly acidic.

	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. cholerae</i>	<i>V. fluvialis</i>	<i>V. furnissii</i>	<i>V. hollisae</i>	<i>V. metschnikovii</i>	<i>V. mimicus</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>V. vulnificus</i>	<i>A. hydrophila</i> **	<i>P. shigelloides</i> **
TCBS agar	Y	Y	Y	Y	NG	Y	G	G	G	Y	G
mCPC agar	NG	P	NG	NG	NG	NG	NG	NG	Y	NG	NG
CC agar	NG	P	NG	NG	NG	NG	NG	NG	Y	NG	NG
AGS	KA	Ka	KK	KK	Ka	KK	KA	KA	KA	KK	nd
Oxidase	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
Arginine dihydrolase	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+
Ornithine decarboxylase	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+
Lysine decarboxylase	+	+	-	-	-	+	+	+	+	V	+
Growth in (w/v):	0% NaCl	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+
	3% NaCl	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	6% NaCl	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-
	8% NaCl	+	-	V	+	-	V	-	+	-	-
	10% NaCl	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Growth at 42°C	+	+	V	-	nd	V	+	+	+	V	+
Acid from:	Sucrose	+	+	+	+	-	+	-	-	-	V
	D- Cellobiose	-	-	+	-	-	-	-	V	+	+
	Lactose	-	-	-	-	-	-	-	-	+	V
	Arabinose	-	-	+	+	+	-	-	+	-	V
	D- Mannose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	V
	D- Mannitol	+	+	+	+	-	+	+	+	V	+
	ONPG	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+
	Voges-Proskauer	+	V	-	-	-	+	-	-	-	+
Sensitivity to:	10 µg O/129	R	S	R	R	nd	S	S	R	S	S
	150 µg O/129	S	S	S	S	nd	S	S	S	S	R
	Gelatinase	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
	Urease	-	-	-	-	-	-	-	V	-	-

\* Adapted from Elliot et al. (31)



\*\* *Aeromonas hydrophila*, *Plesiomonas shigelloides*

Anexo 7. Tabla de identificación para la prueba API 20 NE.

TESTS	COMPONENTES ACTIVOS	CANT. (mg/cúp.)	REACCIONES/ENZIMAS	RESULTADOS	
				NEGATIVO	POSITIVO
NO <sub>3</sub>	nitrato potásico	0,136	reducción de Nitratos en nitritos	NIT 1 + NIT 2 / 5 min. inoloro      rosa-rojo	
			reducción de Nitratos en nitrógeno	Zn / 5 min. rosa      inoloro	
TRP	L-triptofano	0,2	formación de indole (TRiPtofano)	JAMES / inmediato inoloro verde pálido / amarillo      rosa	
<u>GLU</u>	D-glucosa	1,92	fermentación (GLUcosa)	azul a verde	amarillo
<u>ADH</u>	L-arginina	1,92	Arginina DiHidrolasa	amarillo	naranja / rosa / rojo
<u>URE</u>	urea	0,76	UREasa	amarillo	naranja / rosa / rojo
ESC	esculina citrato férrico	0,56 0,072	hidrólisis (β-glucosidasa) (ESCuлина)	amarillo	gris / marrón / negro
GEL	gelatina (origen bovino)	0,6	hidrólisis (proteasa) (GELatina)	sin difusión del pigmento	difusión del pigmento negro
PNPG	4-nitrofenil-βD-galactopiranosida	0,22	β-galactosidasa (Para-NitroFenil-βD-Galactopiranosidasa)	inoloro	amarillo
<u>GLU</u>	D-glucosa	1,56	asimilación (GLUcosa)	transparencia	turbio
<u>ARA</u>	L-arabinosa	1,4	asimilación (ARABinosa)	transparencia	turbio
<u>MNE</u>	D-manosa	1,4	asimilación (MaNosA)	transparencia	turbio
<u>MAN</u>	D-manitol	1,36	asimilación (MANitol)	transparencia	turbio
<u>NAG</u>	N-acetil-glucosamina	1,28	asimilación (N-Acetil-Glucosamina)	transparencia	turbio
<u>MAL</u>	D-maltosa	1,4	asimilación (MALtosa)	transparencia	turbio
<u>GNT</u>	gluconato potásico	1,84	asimilación (GlucNaTo potásico)	transparencia	turbio
<u>CAP</u>	ácido cáprico	0,78	asimilación (ácido CAPrico)	transparencia	turbio
<u>ADI</u>	ácido adípico	1,12	asimilación (ácido ADIpico)	transparencia	turbio
<u>MLT</u>	ácido málico	1,56	asimilación (MaLaTa)	transparencia	turbio
<u>CIT</u>	citrato trisódico	2,28	asimilación (CITrato trisódico)	transparencia	turbio
<u>PAC</u>	ácido fenilacético	0,8	asimilación (ácido fenilACético)	transparencia	turbio
OX	(ver ficha técnica del ensayo de oxidasa)	-	citocromo-oxidasa	(ver ficha técnica del ensayo de oxidasa)	

- Las cantidades indicadas pueden ser ajustadas en función de los títulos de las materias primas.
- Ciertas cúpulas contienen componentes de origen animal, especialmente peptona bovina/porcina.

Anexo 8. Tabla de toma de coordenada geográficas y temperatura de cada punto de muestreo.

		<b>Universidad de El Salvador</b> <b>Facultad de Ciencias Naturales y Matemática</b> <b>Escuela de Biología</b>				
<b>Tesis:</b>		Bacterias heterótrofas de la zona arrecifal del ANP Complejo Los Cóbanos, Sonsonate, El Salvador.				
<b>Fecha de muestreo:</b>					<b>Hora de inicio:</b>	
<b>N° de muestreo:</b>					<b>Hora de finalización</b>	
<b>Playa</b>	<b>Punto</b>	<b>N° de bote</b>	<b>Profundidad (m)</b>	<b>Georreferencia</b>		<b>T °C</b>
El Flor	1	1	5			
	2	2	10			
		3*	10			
	3	4	15			
		5*	15			
Punta Remedios	1	6	5			
	2	7	10			
		8*	10			
	3	9	15			
		10*	15			
Salinitas	1	11	5			
	2	12	10			
		13*	10			
	3	14	15			
		15*	15			

\*Fondo

Anexo 9. Tabla de toma de parámetros fisicoquímicos.

pH	Salinidad (PSU)	Oxígeno disuelto (ppm)	Sólidos suspendidos totales o TDS (ppt)	Turbidez (FNU)

Anexo 10. Concentración de bacterias heterótrofas por playas.

Playas	Febrero	Marzo	Abril	Total general
Salinitas	7.31 x10 <sup>4</sup> UFC/mL	3.75 x10 <sup>3</sup> UFC/mL	1.40 x10 <sup>4</sup> UFC/mL	3.03 x10 <sup>4</sup> UFC/mL
Punta Remedios	4.42 x10 <sup>4</sup> UFC/mL	2.22 x10 <sup>3</sup> UFC/mL	2.11 x10 <sup>3</sup> UFC/mL	1.62 x10 <sup>4</sup> UFC/mL
El Flor	1.08 x10 <sup>5</sup> UFC/mL	2.93 x10 <sup>3</sup> UFC/mL	3.09 x10 <sup>3</sup> UFC/mL	3.81 x10 <sup>4</sup> UFC/mL
Total general	7.52 x10 <sup>4</sup> UFC/mL	2.97 x10 <sup>3</sup> UFC/mL	6.38 x10 <sup>3</sup> UFC/mL	2.82 x10 <sup>4</sup> UFC/mL

Anexo 11. Concentración de *Vibrio spp.* por playas.

Playas	Febrero	Marzo	Abril	Total general
Salinitas	9.44 x10 <sup>4</sup> UFC/mL	1.62 x10 <sup>3</sup> UFC/mL	2.05 x10 <sup>3</sup> UFC/mL	3.27 x10 <sup>4</sup> UFC/mL
Punta Remedios	2.83 x10 <sup>5</sup> UFC/mL	9.06 x10 <sup>3</sup> UFC/mL	8.80 x10 <sup>1</sup> UFC/mL	9.73 x10 <sup>4</sup> UFC/mL
El Flor	1.89 x10 <sup>4</sup> UFC/mL	1.13 x10 <sup>3</sup> UFC/mL	1.17 x10 <sup>4</sup> UFC/mL	1.06 x10 <sup>4</sup> UFC/mL
Total general	1.32 x10 <sup>5</sup> UFC/mL	3.93 x10 <sup>3</sup> UFC/mL	4.60 x10 <sup>3</sup> UFC/mL	4.69 x10 <sup>4</sup> UFC/mL

Anexo 12. Comparación de concentración de bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.* en El Flor, Punta Remedios y Salinitas.

Playas	Promedio de bacterias heterótrofas	Promedio de <i>Vibrio spp.</i>
Salinitas	3.03 x10 <sup>4</sup> UFC/mL	3.27 x10 <sup>4</sup> UFC/mL
Punta Remedios	1.62 x10 <sup>4</sup> UFC/mL	9.73 x10 <sup>4</sup> UFC/mL
El Flor	3.81 x10 <sup>4</sup> UFC/mL	1.06 x10 <sup>4</sup> UFC/mL
Total general	2.82 x10 <sup>4</sup> UFC/mL	4.69 x10 <sup>4</sup> UFC/mL

Anexo 13. Comparación de concentración de bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.* de febrero-abril del año 2018.

Mes	Concentración de bacterias heterótrofas	Concentración de <i>Vibrio spp.</i>
Febrero	7.52 x10 <sup>4</sup> UFC/mL	1.32 x10 <sup>5</sup> UFC/mL
Marzo	2.97 x10 <sup>3</sup> UFC/mL	3.9 x10 <sup>3</sup> UFC/mL
Abril	6.38 x10 <sup>3</sup> UFC/mL	4.60 x10 <sup>3</sup> UFC/mL
Total general	2.82 x10 <sup>4</sup> UFC/mL	4.69 x10 <sup>4</sup> UFC/mL

Anexo 14. Concentración de bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.* según la distancia de la costa.

Distancia	Concentración de Bacterias Heterótrofas	Concentración de <i>Vibrio spp.</i>
200 m	3.42 x10 <sup>4</sup> UFC/mL	1.61 x10 <sup>4</sup> UFC/mL
400 m	1.96 x10 <sup>4</sup> UFC/mL	6.83 x10 <sup>4</sup> UFC/mL
600 m	3.38 x10 <sup>4</sup> UFC/mL	4.08 x10 <sup>4</sup> UFC/mL

Anexo 15. Concentración de bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.* según la distancia de la costa y playa.

Playa	Distancia	Concentración de Bacterias heterótrofas	Concentración de <i>Vibrio spp.</i>
El Flor	200 m	2.50 x10 <sup>4</sup> UFC/mL	2.37 x10 <sup>4</sup> UFC/mL
	400 m	3.42 x10 <sup>4</sup> UFC/mL	5.55 x10 <sup>3</sup> UFC/mL
	600 m	4.86 x10 <sup>4</sup> UFC/mL	9.01 x10 <sup>3</sup> UFC/mL
Punta Remedios	200 m	1.88 x10 <sup>4</sup> UFC/mL	2.16 x10 <sup>4</sup> UFC/mL
	400 m	1.44 x10 <sup>4</sup> UFC/mL	1.24 x10 <sup>5</sup> UFC/mL
	600 m	1.67 x10 <sup>4</sup> UFC/mL	1.09 x10 <sup>5</sup> UFC/mL
Salinitas	200 m	5.87 x10 <sup>4</sup> UFC/mL	2.90 x10 <sup>3</sup> UFC/mL
	400 m	1.02 x10 <sup>4</sup> UFC/mL	7.55 x10 <sup>4</sup> UFC/mL
	600 m	3.62 x10 <sup>4</sup> UFC/mL	4.77 x10 <sup>3</sup> UFC/mL
<b>Total general</b>		<b>2.82 x10<sup>4</sup> UFC/mL</b>	<b>4.69 x10<sup>4</sup> UFC/mL</b>

Anexo 16. Concentraciones de bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.* en la columna de agua.

Profundidad	Concentración de bacterias heterótrofas	Concentración de <i>Vibrio spp.</i>
Superficie	3.57x10 <sup>4</sup> UFC/mL	5.97x10 <sup>4</sup> UFC/mL
Fondo	1.69x10 <sup>4</sup> UFC/mL	2.75x10 <sup>4</sup> UFC/mL
<b>Total general</b>	<b>2.82x10<sup>4</sup> UFC/mL</b>	<b>4.69x10<sup>4</sup> UFC/mL</b>

Anexo 17. Concentración de bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.* en la columna de agua de la playa El Flor

Distancia	Columna de agua	Concentración de bacterias heterótrofas	Concentración de <i>Vibrio spp.</i>
400 m	Fondo	7.00 x10 <sup>3</sup> UFC/mL	1.07 x10 <sup>4</sup> UFC/mL
	Superficie	6.15 x10 <sup>4</sup> UFC/mL	4.33 x10 <sup>2</sup> UFC/mL
600 m	Fondo	6.36 x10 <sup>4</sup> UFC/mL	1.54 x10 <sup>4</sup> UFC/mL
	Superficie	3.36 x10 <sup>4</sup> UFC/mL	2.64 x10 <sup>3</sup> UFC/mL
<b>Total general</b>		<b>3.81 x10<sup>4</sup> UFC/mL</b>	<b>1.06 x10<sup>4</sup> UFC/mL</b>

Anexo 18. Concentración de bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.* en la columna de agua de la playa Punta Remedios.

Distancia	Columna de agua	Concentración de bacterias heterótrofas	Concentración de <i>Vibrio spp.</i>
400 m	Fondo	5.47 x10 <sup>2</sup> UFC/mL	3.45 x10 <sup>3</sup> UFC/mL
	Superficie	2.82 x10 <sup>4</sup> UFC/mL	2.44 x10 <sup>5</sup> UFC/mL
600 m	Fondo	8.47 x10 <sup>3</sup> UFC/mL	1.27 x10 <sup>5</sup> UFC/mL
	Superficie	2.49 x10 <sup>4</sup> UFC/mL	9.00 x10 <sup>4</sup> UFC/mL
<b>Total general</b>		<b>1.62 x10<sup>4</sup> UFC/mL</b>	<b>9.73 x10<sup>4</sup> UFC/mL</b>

Anexo 19. Concentración de bacterias heterótrofas y *Vibrio spp.* en la columna de agua de la playa Salinitas.

Distancia	Columna de agua	Concentración de bacterias heterótrofas	Concentración de <i>Vibrio spp.</i>
400 m	Fondo	1.95 x10 <sup>4</sup> UFC/mL	1.03 x10 <sup>3</sup> UFC/mL
	Superficie	8.00 x10 <sup>2</sup> UFC/mL	1.50 x10 <sup>5</sup> UFC/mL
600 m	Fondo	2.37 x10 <sup>3</sup> UFC/mL	7.67 x10 <sup>3</sup> UFC/mL
	Superficie	7.00 x10 <sup>4</sup> UFC/mL	1.87 x10 <sup>3</sup> UFC/mL
<b>Total general</b>		<b>3.03 x10<sup>4</sup> UFC/mL</b>	<b>3.27 x10<sup>4</sup> UFC/mL</b>

Anexo 20. Resultados de prueba API 20 NE. Bacteria identificada: *Chryseobacterium indologenes*.



Anexo 21. Tabla matriz de los promedios de concentración de los parámetros fisicoquímicos salinidad, temperatura, pH, oxígeno disuelto (OD), sólidos totales suspendidos (TDS), turbidez (FMU) y de las variables biológicas bacterias heterótrofas (BH) y *Vibrio spp.*

Etiquetas de fila	Salinidad (PSU)	Temperatura (°C)	pH	OD (ppm)	TDS (ppt)	Turbidez (FMU)	Promedio de BH	Promedio de <i>Vibrio spp.</i>
El Flor	33.35	30.47	8.35	2.21	25.46	1.77	3.81E+04	1.06E+04
200	33.14	31.00	8.32	2.33	25.32	1.77	2.50E+04	2.37E+04
Superficie	33.14	31.00	8.32	2.33	25.32	1.77	2.50E+04	2.37E+04
Febrero	33.39	30.00	8.36	2.32	25.63	3.00	6.80E+04	5.10E+04
Marzo	32.97	32.00	8.25	3.24	25.09	0.60	3.50E+03	1.00E+02
Abril	33.05	31.00	8.35	1.44	25.23	1.70	3.50E+03	2.00E+04
400	33.35	30.33	8.36	2.17	25.40	2.52	3.42E+04	5.55E+03
Superficie	33.32	30.67	8.38	2.32	25.27	3.73	5.90E+04	1.99E+03
Febrero	32.98	31.00	8.36	2.44	25.26	2.00	1.70E+05	9.50E+02
Marzo	33.68	31.00	8.30	3.24	25.06	1.50	3.00E+03	5.00E+03
Abril	33.30	30.00	8.47	1.28	25.50	7.70	4.00E+03	1.00E+01
Fondo	33.37	30.00	8.35	2.02	25.53	1.30	9.47E+03	9.12E+03
Febrero	32.63	30.00	8.37	2.41	25.12	1.50	1.40E+04	2.70E+04
Marzo	33.74	31.00	8.26	2.45	25.64	0.80	7.20E+03	2.00E+02
Abril	33.75	29.00	8.42	1.19	25.84	1.60	7.20E+03	1.50E+02

	Salinidad (PSU)	Temperatura (°C)	pH	OD (ppm)	TDS (ppt)	Turbidez (FMU)	Promedio de BH	Promedio de <i>Vibrio spp.</i>
<b>600</b>	<b>33.47</b>	<b>30.33</b>	<b>8.35</b>	<b>2.18</b>	<b>25.60</b>	<b>1.03</b>	<b>4.86E+04</b>	<b>9.01E+03</b>
<b>Superficie</b>	<b>33.38</b>	<b>30.67</b>	<b>8.39</b>	<b>2.34</b>	<b>25.54</b>	<b>0.80</b>	<b>3.36E+04</b>	<b>1.53E+04</b>
Febrero	33.17	31.00	8.39	2.43	25.49	1.10	1.00E+05	7.70E+03
Marzo	33.86	31.00	8.31	2.86	25.73	0.10	4.30E+02	2.40E+02
Abril	33.11	30.00	8.46	1.74	25.39	1.20	3.30E+02	3.80E+04
<b>Fondo</b>	<b>33.55</b>	<b>30.00</b>	<b>8.31</b>	<b>2.01</b>	<b>25.66</b>	<b>1.27</b>	<b>6.36E+04</b>	<b>2.70E+03</b>
Febrero	32.72	31.00	8.35	2.27	25.12	1.90	1.90E+05	7.90E+03
Marzo	33.94	31.00	8.23	2.57	25.76	0.30	5.30E+02	1.10E+02
Abril	34.00	28.00	8.35	1.20	26.11	1.60	4.00E+02	1.00E+02
<b>Punta Remedios</b>	<b>33.58</b>	<b>30.43</b>	<b>8.33</b>	<b>2.09</b>	<b>25.65</b>	<b>1.43</b>	<b>1.62E+04</b>	<b>9.73E+04</b>
<b>200</b>	<b>33.46</b>	<b>30.67</b>	<b>8.33</b>	<b>2.11</b>	<b>25.56</b>	<b>1.17</b>	<b>1.88E+04</b>	<b>2.16E+04</b>
<b>Superficie</b>	<b>33.46</b>	<b>30.67</b>	<b>8.33</b>	<b>2.11</b>	<b>25.56</b>	<b>1.17</b>	<b>1.88E+04</b>	<b>2.16E+04</b>
Febrero	32.76	31.00	8.27	2.48	25.05	1.50	5.40E+04	6.40E+04
Marzo	34.16	31.00	8.26	2.51	25.91	0.20	1.40E+03	6.40E+02
Abril	33.45	30.00	8.46	1.33	25.72	1.80	1.10E+03	3.00E+02
<b>400</b>	<b>33.59</b>	<b>30.42</b>	<b>8.34</b>	<b>2.20</b>	<b>25.66</b>	<b>1.40</b>	<b>1.44E+04</b>	<b>1.24E+05</b>
<b>Superficie</b>	<b>33.63</b>	<b>30.67</b>	<b>8.35</b>	<b>2.15</b>	<b>25.67</b>	<b>1.27</b>	<b>5.47E+02</b>	<b>3.45E+03</b>
Febrero	33.08	31.00	8.31	1.99	25.30	1.80	7.00E+01	9.90E+03
Marzo	33.92	31.00	8.27	3.04	25.74	0.30	9.00E+02	4.50E+02
Abril	33.89	30.00	8.47	1.43	25.96	1.70	6.70E+02	0.00E+00
<b>Fondo</b>	<b>33.55</b>	<b>30.17</b>	<b>8.32</b>	<b>2.24</b>	<b>25.65</b>	<b>1.53</b>	<b>2.82E+04</b>	<b>2.44E+05</b>
Febrero	33.08	30.50	8.31	2.16	25.34	2.60	7.10E+04	7.30E+05
Marzo	33.51	31.00	8.27	3.17	25.46	0.20	6.80E+03	3.00E+03
Abril	34.05	29.00	8.38	1.38	26.16	1.80	6.80E+03	3.00E+01
<b>600</b>	<b>33.62</b>	<b>30.33</b>	<b>8.32</b>	<b>1.97</b>	<b>25.69</b>	<b>1.58</b>	<b>1.67E+04</b>	<b>1.09E+05</b>
<b>Superficie</b>	<b>33.66</b>	<b>30.67</b>	<b>8.36</b>	<b>2.22</b>	<b>25.73</b>	<b>1.43</b>	<b>8.47E+03</b>	<b>1.27E+05</b>
Febrero	32.94	31.00	8.34	2.34	25.27	2.20	2.30E+04	3.80E+05
Marzo	34.33	31.00	8.27	2.90	26.02	0.60	1.20E+03	1.20E+03
Abril	33.71	30.00	8.46	1.42	25.91	1.50	1.20E+03	1.00E+02
<b>Fondo</b>	<b>33.58</b>	<b>30.00</b>	<b>8.28</b>	<b>1.71</b>	<b>25.65</b>	<b>1.73</b>	<b>2.49E+04</b>	<b>9.00E+04</b>
Febrero	32.99	31.00	8.29	1.16	25.30	3.00	7.30E+04	2.30E+05
Marzo	34.27	31.00	8.21	2.43	25.97	0.50	7.90E+02	4.00E+04
Abril	33.49	28.00	8.34	1.55	25.69	1.70	7.90E+02	1.00E+01
<b>Salinitas</b>	<b>33.73</b>	<b>30.37</b>	<b>8.31</b>	<b>2.10</b>	<b>25.74</b>	<b>1.29</b>	<b>3.03E+04</b>	<b>3.27E+04</b>
<b>200</b>	<b>33.61</b>	<b>30.50</b>	<b>8.32</b>	<b>2.11</b>	<b>25.65</b>	<b>1.77</b>	<b>5.87E+04</b>	<b>2.90E+03</b>
<b>Superficie</b>	<b>33.61</b>	<b>30.50</b>	<b>8.32</b>	<b>2.11</b>	<b>25.65</b>	<b>1.77</b>	<b>5.87E+04</b>	<b>2.90E+03</b>
Febrero	32.77	30.50	8.31	2.44	25.09	2.80	1.10E+05	3.10E+03
Marzo	34.20	31.00	8.23	2.41	25.93	0.30	1.30E+04	6.00E+02



	Salinidad (PSU)	Temperatura (°C)	pH	OD (ppm)	TDS (ppt)	Turbidez (FMU)	Promedio de BH	Promedio de <i>Vibrio spp.</i>
Abril	33.87	30.00	8.41	1.47	25.94	2.20	5.30E+04	5.00E+03
<b>400</b>	<b>33.75</b>	<b>30.17</b>	<b>8.32</b>	<b>2.13</b>	<b>25.74</b>	<b>1.33</b>	<b>1.02E+04</b>	<b>7.55E+04</b>
<b>Superficie</b>	<b>33.79</b>	<b>30.67</b>	<b>8.34</b>	<b>2.27</b>	<b>25.77</b>	<b>1.30</b>	<b>2.95E+03</b>	<b>1.50E+05</b>
Febrero	33.48	31.00	8.35	2.52	25.65	1.30	1.50E+02	4.50E+05
Marzo	33.77	31.00	8.24	2.85	25.64	0.90	2.20E+03	8.00E+01
Abril	34.11	30.00	8.43	1.45	26.03	1.70	6.50E+03	0.00E+00
<b>Fondo</b>	<b>33.71</b>	<b>29.67</b>	<b>8.29</b>	<b>1.98</b>	<b>25.70</b>	<b>1.37</b>	<b>1.74E+04</b>	<b>1.03E+03</b>
Febrero	33.00	30.00	8.32	2.29	25.29	2.30	5.20E+04	3.00E+01
Marzo	34.36	31.00	8.21	2.42	26.01	0.50	5.00E+01	3.00E+03
Abril	33.76	28.00	8.34	1.24	25.80	1.30	5.00E+01	5.00E+01
<b>600</b>	<b>33.77</b>	<b>30.50</b>	<b>8.31</b>	<b>2.08</b>	<b>25.79</b>	<b>1.00</b>	<b>3.62E+04</b>	<b>4.77E+03</b>
<b>Superficie</b>	<b>33.76</b>	<b>31.00</b>	<b>8.34</b>	<b>2.10</b>	<b>25.46</b>	<b>0.90</b>	<b>6.68E+04</b>	<b>1.87E+03</b>
Febrero	33.26	31.00	8.36	2.48	25.51	1.50	2.00E+05	5.00E+03
Marzo	34.25	31.00	8.24	2.26	25.07	0.00	1.10E+02	4.00E+02
Abril	33.77	31.00	8.43	1.55	25.80	1.20	2.20E+02	2.00E+02
<b>Fondo</b>	<b>33.79</b>	<b>30.00</b>	<b>8.28</b>	<b>2.06</b>	<b>26.11</b>	<b>1.10</b>	<b>5.63E+03</b>	<b>7.67E+03</b>
Febrero	33.47	31.00	8.27	2.36	25.56	1.60	3.50E+03	1.40E+04
Marzo	34.28	31.00	8.21	2.24	26.01	0.30	3.40E+03	4.00E+03
Abril	33.61	28.00	8.37	1.58	26.76	1.40	1.00E+04	5.01E+03
<b>Total general</b>	<b>33.55</b>	<b>30.42</b>	<b>8.33</b>	<b>2.13</b>	<b>25.62</b>	<b>1.50</b>	<b>2.82E+04</b>	<b>4.69E+04</b>

Anexo 22. Parámetros fisicoquímicos de febrero-abril en el ANP Complejo Los Cóbanos.

Mes	Salinidad (PSU)	Temperatura (°C)	pH	Oxígeno disuelto (ppm)	Sólidos suspendidos totales (ppt)	Turbidez (FMU)
Febrero	33.05	30.73	8.33	2.27	25.33	2.01
Marzo	33.95	31.07	8.25	2.71	25.67	0.47
Abril	33.66	29.47	8.41	1.42	25.86	2.01
<b>Total</b>	<b>33.55</b>	<b>30.42</b>	<b>8.33</b>	<b>2.13</b>	<b>25.62</b>	<b>1.50</b>

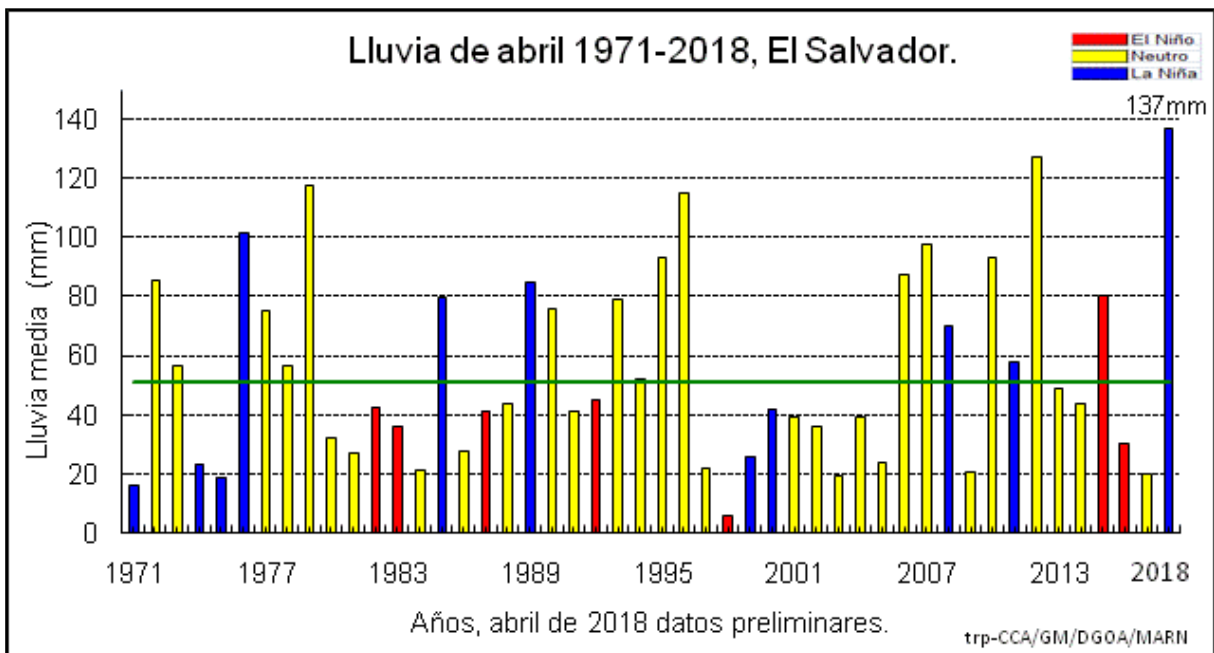
Anexo 23. Parámetros fisicoquímicos según la distancia de la costa en el ANP Complejo Los Cóbano.

Distancia	Salinidad (PSU)	Temperatura (°C)	pH	Oxígeno disuelto (ppm)	Sólidos totales disueltos (ppt)	Turbidez (FNU)
200	33.40	30.72	8.32	2.18	25.51	1.57
400	33.56	30.31	8.34	2.16	25.60	1.75
600	33.62	30.39	8.33	2.07	25.69	1.21
<b>Total</b>	<b>33.55</b>	<b>30.42</b>	<b>8.33</b>	<b>2.13</b>	<b>25.62</b>	<b>1.50</b>

Anexo 24. Parámetros fisicoquímicos según la distancia de la columna de agua en el ANP Complejo Los Cóbano.

Columna de agua	Salinidad (PSU)	Temperatura (°C)	pH	Oxígeno disuelto (ppm)	Sólidos suspendidos totales (ppt)	Turbidez (FMU)
Fondo	29.97	8.31	2.00	25.72	1.38	33.59
Superficie	30.72	8.35	2.22	25.55	1.57	33.53
<b>Total</b>	<b>30.42</b>	<b>8.33</b>	<b>2.13</b>	<b>25.62</b>	<b>1.50</b>	<b>33.55</b>

Anexo 25. Meses de abril desde 1971 hasta 2018. Variable de lluvia nacional Fuente: Dirección del Observatorio Ambiental.



## 11 SIGLAS Y ABREVIATURAS

---

ACP	Análisis de componentes principales
ANOSIM	Análisis de similitud
ANP	Área Natural Protegida
API	Índice analítico de perfil
atm	Unidad de presión atmosférica
BaCl <sub>2</sub>	Cloruro de Bario
CAMA	Agregados microbianos asociados a los corales
CBM	Corredor biológico mesoamericano
CIIFEN	Centro Internacional para la Investigación del Fenómeno del Niño
cm	Centímetros
CO <sub>2</sub>	Dióxido de carbono
CENSALUD	Centro de Investigación y Desarrollo en Salud
DSS	Síndrome de las manchas oscuras
ENSO	El Niño-Oscilación Sur
FNU	Unidad de formacina nefelométrica
FUNDE	Fundación Nacional para el Desarrollo.
ha	Hectárea
HCl	Ácido clorhídrico
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Ácido sulfúrico
ICMARES	Instituto de Ciencias del Mar y Limnología
ind/m <sup>2</sup>	Individuos por metro cuadrado
L	Litros
lb	Libras
μl	Microlitro
m	Metros
mg	Miligramo
mm	Milímetros
mL	Mililitro
MARN	Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales
MOD	Materia orgánica disuelta
MOP	Materia orgánica particulada
N	Normalidad
N <sub>2</sub>	Nitrógeno molecular
NaOH	Hidróxido de sodio
N <sub>2</sub> O	Anhídrido hiponitroso
NaCl	Cloruro de sodio

NCCOS	Centro nacional para la ciencia del océano costero
NO	Óxido de nitrógeno
NOAA	Administración Nacional Oceánica y Atmosférica
O <sub>2</sub>	Oxígeno disuelto
ppm	Partes por millón
ppt	Partes por millar
PSU	Unidades prácticas de salinidad
SDR	Reacción de muerte súbita
SIC-UES	Secretaria de Investigaciones Científicas de la Universidad de El Salvador
SIMPER	Porcentaje de similitud
SML	Capa superficial del mucus
SRB	Bacterias endolíticas reductoras de sulfato
TCBS	Tiosulfato citrato bilis sacarosa
TSA	Agar tripticasa soya
TDS	Sólidos totales disueltos
UFC	Unidades formadoras de colonias
UW	Manchas blancas ulcerosas
WBD	Enfermedad de la banda negra
WS	Síndrome blanco
YDB	Enfermedad de la banda amarilla

## 12 GLOSARIO

---

**Bajamar:** fin del reflujo del mar o movimiento descendente de la marea, cuando el agua alcanza su nivel más bajo.

**Biogeografía:** estudia la distribución de los seres vivos sobre la Tierra, así como los procesos que la han originado, que la modifican y que la pueden hacer desaparecer.

**Biopelículas bacterianas:** son una colonia estructurada de células bacterianas incrustadas en una matriz polimérica fabricada por ellas mismas y adheridas a la superficie (Jacques et al. 2010).

**Corales:** son antozoos cuyos pólipos, que tienen la apariencia de minúsculas anémonas, alojan algas unicelulares endosimbióticas llamadas zooxantelas (D'croz y Robertson 1997).

**Corredor biológico mesoamericano:** es un sistema de ordenación territorial compuesta por áreas naturales protegidas de diferentes categorías de manejo más sus interconexiones, organizado y consolidado para brindar un conjunto de bienes y servicios ambientales, tanto a la sociedad centroamericana como mundial, proporcionando los espacios de concertación social para promover la inversión en la conservación y el uso sostenido de los recursos (Miller et al. 2001).

**Detritus:** es una mezcla de partículas de materia orgánica y los microorganismos agregados a ellos, que actúan para descomponer o remineralizar la materia (Mann 2000).

**Dinoflagelados:** son protistas microscópicos unicelulares que forman el *phylum Pyrrophyta*, constituido por dos clases: *Dinophyceae* y *Syndinophyceae*. Su adaptación a una gran variedad de ambientes se ve reflejada en su diversidad de formas, tipos de nutrición y un enorme registro fósil que data de varios millones de años (González et al. 2011).

**Escala MacFarland:** son patrones de turbidez basados en suspensiones de sulfato de bario. La escala consta de 11 patrones (desde 0'5 hasta 10), cada uno de los cuales tiene una turbidez comparable a la de una suspensión bacteriana con una densidad determinada.

**Estuario:** es un cuerpo de agua parcialmente encerrado que se forma cuando las aguas dulces provenientes de ríos y quebradas fluyen hacia el océano y se mezclan con el agua salada del mar.

**Haloclina:** es una capa de la columna de agua en la que la salinidad del agua cambia rápidamente con la profundidad.

**Holobionte:** son todos los microorganismos asociados al coral: bacterias, arqueas, hongos, virus y protistas, incluido el dinoflagelado *Symbiodinium* y el huésped (coral).

**Hipoxia:** baja concentración de oxígeno disuelto, en el cual animales benticos invertebrados y peces experimentan un estrés fisiológico, típicamente <2 o 3 mg/L de O<sub>2</sub>.

**Marea:** movimiento periódico de ascenso y descenso del nivel del mar.

**Materia orgánica particulada:** es un compuesto dinámico del suelo y una importante fuente de carbono orgánico (CO) y nutrientes (Plante et al. 2006).

**Microhábitat:** parte más pequeña de un ecosistema que contiene una flora y una fauna distintiva.

**Microorganismos endolíticos:** son aquellos capaces de aprovechar la humedad de los espacios físicos que se encuentran dentro de rocas y minerales para colonizar sustratos líticos (Valea 2016).

**Mucus:** capa formada por una proteína de azúcar, llamada mucina, polisacáridos y lípidos (Crossland et al. 1980).

**Picnoclina:** una capa en la que se evidencia un cambio súbito en su densidad vinculado con la profundidad, causado por cambios en la temperatura como por cambios en la salinidad del agua.

**Plancton:** conjunto de organismos, ya sea animales o vegetales, que habitan en la columna de agua y que poseen una capacidad limitada para desplazarse, por lo cual sus movimientos dependen de las corrientes marinas (Escribano y Castro 2004).

**Pleamar:** fin del movimiento creciente de la marea, cuando el agua alcanza su nivel más alto.

**Quimiotaxis bacteriana:** mecanismo por el cual la bacteria responde eficiente y rápidamente a cambios en la composición química en su ambiente. Permite a la bacteria acercarse y permanecer en ambientes favorables y escapar de los hostiles. Este mecanismo es un movimiento activo y dirigido de la bacteria a través de un gradiente químico (Mowery et al. 2008).