



Universidad de Guayaquil

**UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL**

**TRABAJO DE TITULACIÓN
PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERO AMBIENTAL**

**TEMA:
CONTAMINACIÓN POR COLIFORMES TOTALES Y ESCHERICHIA COLI EN
OSTIONES (*Crassostrea columbiensis*), CONCESIÓN DE MANGLARES,
PUERTO SALINAS - GOLFO DE GUAYAQUIL- ECUADOR**

AUTOR: Henry Narciso Carreño Rosario

TUTOR: Blga. Mireya Pozo Cajas, MSc.

GUAYAQUIL, ABRIL 2019



Universidad de Guayaquil

**UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL**

**TRABAJO DE TITULACIÓN
PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERO AMBIENTAL**

**TEMA:
CONTAMINACIÓN POR COLIFORMES TOTALES Y ESCHERICHIA COLI EN
OSTIONES (*Crassostrea columbiensis*), CONCESIÓN DE MANGLARES,
PUERTO SALINAS - GOLFO DE GUAYAQUIL- ECUADOR**

AUTOR: Henry Narciso Carreño Rosario

TUTORA: Blga. Mireya Pozo Cajas, MSc.

COTUTORA: Blga. Rosa Siguencia, MSc.

GUAYAQUIL, ABRIL 2019



UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
FACULTAD CIENCIAS NATURALES
CARRERA INGENIERIA AMBIENTAL
UNIDAD DE TITULACIÓN



ANEXO 4

Guayaquil, 20 de febrero del 2019

Sr.

Ing. Vinicio Macas Espinosa, MSc.
DIRECTOR DE LA CARRERA INGENIERIA AMBIENTAL
FACULTAD CIENCIAS NATURALES
UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
Ciudad.-

De mis consideraciones:

*Envío a Ud. el Informe correspondiente a la tutoría realizada al Trabajo de Titulación CONTAMINACIÓN POR COLIFORMES TOTALES Y ESCHERICHIA COLI EN OSTIONES (*Crassostrea columbiensis*), CONCESIÓN DE MANGLARES, PUERTO SALINAS - GOLFO DE GUAYAQUIL- ECUADOR del estudiante CARREÑO ROSARIO HENRY NARCISO, indicando ha cumplido con todos los parámetros establecidos en la normativa vigente:*

- *El trabajo es el resultado de una investigación.*
- *El estudiante demuestra conocimiento profesional integral.*
- *El trabajo presenta una propuesta en el área de conocimiento.*
- *El nivel de argumentación es coherente con el campo de conocimiento.*

Adicionalmente, se adjunta el certificado de porcentaje de similitud y la valoración del trabajo de titulación con la respectiva calificación.

*Dando por concluida esta tutoría de trabajo de titulación, **CERTIFICO**, para los fines pertinentes, que el estudiante está apto para continuar con el proceso de revisión final.*

Atentamente,


TUTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN
09109378432


RECIBIDO

HOR: 11:02 20 FEB 2019


Herlinda Flores Freire



UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
FACULTAD CIENCIAS NATURALES
CARRERA INGENIERIA AMBIENTAL
UNIDAD DE TITULACIÓN



ANEXO 5

RÚBRICA DE EVALUACIÓN TRABAJO DE TITULACIÓN

Título del Trabajo: CONTAMINACIÓN POR COLIFORMES TOTALES Y ESCHERICHIA COLI EN OSTIONES (*Crassostrea columbiensis*), CONCESIÓN DE MANGLARES, PUERTO SALINAS - GOLFO DE GUAYAQUIL- ECUADOR
Autor(s): Carreño Rosario Henry Narciso

ASPECTOS EVALUADOS	PUNTAJE MÁXIMO	CALF.
ESTRUCTURA ACADÉMICA Y PEDAGÓGICA	4.5	4.5
Propuesta integrada a Dominios, Misión y Visión de la Universidad de Guayaquil.	0.3	0.3
Relación de pertinencia con las líneas y sublíneas de investigación Universidad / Facultad/ Carrera	0.4	0.4
Base conceptual que cumple con las fases de comprensión, interpretación, explicación y sistematización en la resolución de un problema.	1	1
Coherencia en relación a los modelos de actuación profesional, problemática, tensiones y tendencias de la profesión, problemas a encarar, prevenir o solucionar de acuerdo al PND-BV	1	1
Evidencia el logro de capacidades cognitivas relacionadas al modelo educativo como resultados de aprendizaje que fortalecen el perfil de la profesión	1	1
Responde como propuesta innovadora de investigación al desarrollo social o tecnológico.	0.4	0.4
Responde a un proceso de investigación – acción, como parte de la propia experiencia educativa y de los aprendizajes adquiridos durante la carrera.	0.4	0.4
RIGOR CIENTÍFICO	4.5	4.5
El título identifica de forma correcta los objetivos de la investigación	1	1
El trabajo expresa los antecedentes del tema, su importancia dentro del contexto general, del conocimiento y de la sociedad, así como del campo al que pertenece, aportando significativamente a la investigación.	1	1
El objetivo general, los objetivos específicos y el marco metodológico están en correspondencia.	1	1
El análisis de la información se relaciona con datos obtenidos y permite expresar las conclusiones en correspondencia a los objetivos específicos.	0.8	0.8
Actualización y correspondencia con el tema, de las citas y referencia bibliográfica	0.7	0.7
PERTINENCIA E IMPACTO SOCIAL	1	1
Pertinencia de la investigación	0.5	0.5
Innovación de la propuesta proponiendo una solución a un problema relacionado con el perfil de egreso profesional	0.5	0.5
CALIFICACIÓN TOTAL *	10	10
* El resultado será promediado con la calificación del Tutor Revisor y con la calificación de obtenida en la Sustentación oral.		

[Firma manuscrita]
 Firma del docente tutor de trabajo de titulación
 No. C.I. 0909378432

RECIBIDO
 HORA 11:03 **20 FEB 2019**
[Firma]
Herlinda Flores Freire

fecha: 20/02/2019

[Firma]
Centro de Estudios de Titulación



**UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
FACULTAD CIENCIAS NATURALES
CARRERA INGENIERIA AMBIENTAL
UNIDAD DE TITULACIÓN**



ANEXO 6

CERTIFICADO PORCENTAJE DE SIMILITUD

Habiendo sido nombrado MIREYA POZO CAJAS MSc, tutor del trabajo de titulación certifico que el presente trabajo de titulación ha sido elaborado por HENRY NARCISO CARREÑO ROSARIO, C.C.:1311157166, con mi respectiva supervisión como requerimiento parcial para la obtención del título de INGENIERO AMBIENTAL.

Se informa que el trabajo de titulación: CONTAMINACIÓN POR COLIFORMES TOTALES Y ESCHERICHIA COLI EN OSTIONES (Crassostrea columbiensis), CONCESIÓN DE MANGLARES, PUERTO SALINAS - GOLFO DE GUAYAQUIL- ECUADOR ha sido orientado durante todo el periodo de ejecución en el programa antiplagio (URKUND) quedando el 7 % de coincidencia.

<https://secure.orkund.com/view/46974038-596014-456169#DcYxCsMwEEXBu6h+BO3XaiX5KsFFMLFRETeuQ+4ewxTzTZ8rLc+MYbcCBdawgVBGhu4U5KiiQA11CIVTAidodMZKuuZxznIur3N7pyU/cvReW/hwV6ul6/cH>

[Handwritten signature]

Nombre del docente tutor
C.I. 0909378432

RECIBIDO
HORA
11:23 20 FEB 2017
[Signature]
Herlinda Flores Freire





UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
FACULTAD CIENCIAS NATURALES
CARRERA INGENIERIA AMBIENTAL
UNIDAD DE TITULACIÓN



ANEXO 7

Guayaquil, Jueves 14 de Marzo de 2019

Señor Ingeniero

Vinicio Macas Espinosa, MSc.

DIRECTORA (E) DE LA CARRERA INGENIERIA AMBIENTAL

FACULTAD CIENCIAS NATURALES

UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL

De mis consideraciones:

Envío a Ud. el Informe correspondiente a la **REVISIÓN FINAL** del Trabajo de Titulación **CONTAMINACIÓN POR COLIFORMES TOTALES Y ESCHERICHIA COLI EN OSTIONES (*Crassostrea columbiensis*), CONCESIÓN DE MANGLARES, PUERTO SALINAS - GOLFO DE GUAYAQUIL- ECUADOR**, del estudiante **Henry Narciso Carreño Rosario**. Las gestiones realizadas me permiten indicar que el trabajo fue revisado considerando todos los parámetros establecidos en las normativas vigentes, en el cumplimiento de los siguientes aspectos:

Cumplimiento de requisitos de forma:

- El título tiene un máximo de 20 palabras.
- La memoria escrita se ajusta a la estructura establecida.
- El documento se ajusta a las normas de escritura científica seleccionadas por la Facultad.
- La investigación es pertinente con la línea y sublíneas de investigación de la carrera.
- Los soportes teóricos son de máximo 7 años.
- La propuesta presentada es pertinente.

Cumplimiento con el Reglamento de Régimen Académico:

- El trabajo es el resultado de una investigación.
- El estudiante demuestra conocimiento profesional integral.
- El trabajo presenta una propuesta en el área de conocimiento.
- El nivel de argumentación es coherente con el campo de conocimiento.

Adicionalmente, se indica que fue revisado, el certificado de porcentaje de similitud, la valoración del tutor, así como de las páginas preliminares solicitadas, lo cual indica el que el trabajo de investigación cumple con los requisitos exigidos.

Una vez concluida esta revisión, considero que el estudiante **Henry Narciso Carreño Rosario** está apto para continuar el proceso de titulación. Particular que comunicamos a usted para los fines pertinentes.

Atentamente,


Olga Arevalo Castro MSc.

C.I. 0913807830



RECIBIDO

14 MAR 2019


Steclinda Flores Freire



UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
FACULTAD CIENCIAS NATURALES
CARRERA INGENIERIA AMBIENTAL
UNIDAD DE TITULACIÓN



ANEXO 8

RÚBRICA DE EVALUACIÓN MEMORIA ESCRITA TRABAJO DE TITULACIÓN

Título del Trabajo: *CONTAMINACIÓN POR COLIFORMES TOTALES Y ESCHERICHIA COLI EN OSTIONES (Crassostrea columblensis), CONCESIÓN DE MANGLARES, PUERTO SALINAS - GOLFO DE GUAYAQUIL- ECUADOR*

Autor(s): *Henry Narciso Carreño Rosario.*

ASPECTOS EVALUADOS	PUNTAJE MÁXIMO	CALF.	COMENTARIOS
ESTRUCTURA Y REDACCIÓN DE LA MEMORIA	3	3	
Formato de presentación acorde a lo solicitado	0.6	0.6	
Tabla de contenidos, índice de tablas y figuras	0.6	0.6	
Redacción y ortografía	0.6	0.6	
Correspondencia con la normativa del trabajo de titulación	0.6	0.6	
Adecuada presentación de tablas y figuras	0.6	0.6	
RIGOR CIENTÍFICO	6	6	
El título identifica de forma correcta los objetivos de la investigación	0.5	0.5	
La introducción expresa los antecedentes del tema, su importancia dentro del contexto general, del conocimiento y de la sociedad, así como del campo al que pertenece	0.6	0.6	
El objetivo general está expresado en términos del trabajo a investigar	0.7	0.7	
Los objetivos específicos contribuyen al cumplimiento del objetivo general	0.7	0.7	
Los antecedentes teóricos y conceptuales complementan y aportan significativamente al desarrollo de la investigación	0.7	0.7	
Los métodos y herramientas se corresponden con los objetivos de la investigación	0.7	0.7	
El análisis de la información se relaciona con datos obtenidos	0.4	0.4	
Factibilidad de la propuesta	0.4	0.4	
Las conclusiones expresa el cumplimiento de los objetivos específicos	0.4	0.4	
Las recomendaciones son pertinentes, factibles y válidas	0.4	0.4	
Actualización y correspondencia con el tema, de las citas y referencia bibliográfica	0.5	0.5	
PERTINENCIA E IMPACTO SOCIAL	1	1	
Pertinencia de la investigación/ Innovación de la propuesta	0.4	0.4	
La investigación propone una solución a un problema relacionado con el perfil de egreso profesional	0.3	0.3	
Contribuye con las líneas / sublíneas de investigación de la Carrera/Escuela	0.3	0.3	
CALIFICACIÓN TOTAL*		10	
10			

* El resultado será promediado con la calificación del Tutor y con la calificación de obtenida en la Sustentación oral.



Olga Arevalo Castro MSc.
No. C.I.0913807830



RECIBIDO

HORA 9:43 14 MAR 2013


Herlinda Flores Freire



UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
FACULTAD CIENCIAS NATURALES
CARRERA INGENIERIA AMBIENTAL
UNIDAD DE TITULACIÓN



ANEXO 10



Presidencia
de la República
del Ecuador



Plan Nacional
de Ciencia, Tecnología,
Innovación y Saberes



SENESCYT
Secretaría Nacional de Educación Superior,
Ciencia, Tecnología e Innovación

**REPOSITORIO NACIONAL EN CIENCIA Y
TECNOLOGÍA**

**FICHA DE REGISTRO DE TESIS/TRABAJO DE
GRADUACIÓN**

TÍTULO Y SUBTÍTULO:	CONTAMINACIÓN POR COLIFORMES TOTALES Y ESCHERICHIA COLI EN OSTIONES (<i>Crassostrea columbiensis</i>), CONCESIÓN DE MANGLARES, PUERTO SALINAS - GOLFO DE GUAYAQUIL- ECUADOR		
AUTOR(ES) (apellidos/nombres):	CARREÑO ROSARIO HENRY NARCISO		
REVISOR(ES)/TUTOR(ES) (apellidos/nombres):	POZO CAJAS MIREYA MATILDE MSC. ARÉVALO CASTRO OLGA RAQUEL MSC.		
INSTITUCIÓN:	UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL		
UNIDAD/FACULTAD:	FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES		
TERCER NIVEL:	INGENIERÍA AMBIENTAL		
GRADO OBTENIDO:	INGENIERO AMBIENTAL		
FECHA DE PUBLICACIÓN:	9 DE ABRIL 2019	No. DE PÁGINAS:	67
ÁREAS TEMÁTICAS:	CIENCIAS AMBIENTALES		
PALABRAS CLAVES/ KEYWORDS:	COLIFORMES TOTALES, <i>RHIZOPHORA SP</i> , <i>ESCHERICHIA COLI</i> , <i>CRASSOSTREA COLUMBIENSIS</i> , CONTAMINACIÓN.		
RESUMEN/ABSTRACT:	<p>En el presente trabajo de investigación se establece como objetivo principal determinar el nivel de contaminación por Coliformes totales y <i>Escherichia coli</i> utilizando como bioindicador de las condiciones ambientales en los manglares, a la especie de moluscos bivalvos <i>Crassostrea columbiensis</i> que habita adheridas a las raíces de los árboles de mangle rojo (<i>Rhizophora sp</i>), en los manglares que están bajo Custodia de la comunidad de Puerto Salinas dentro del Estuario del Golfo de Guayaquil, se establecieron ocho puntos de muestreo en el mes de noviembre 2018, realizándose el análisis microbiológico dando como resultado la ausencia de <i>E. coli</i>, sin embargo se evidencio que existe contaminación por Coliformes totales en los ocho puntos de muestreo sobre el límite máximo permisible, siendo los de mayor índice de contaminación los que se encuentran ubicados más cercanos a la comunidad de Puerto Salinas, donde se ubica directamente al sistema estuarino, afectando además de la calidad del agua y a especies con características filtradoras que se desarrollan también en el ecosistema de manglar, concluyendo así que la especie de bivalvos <i>Crassostrea columbiensis</i> no puede considerarse apta para el consumo humano sin previo tratamiento de depuración antes de su venta o consumo.</p>		
ADJUNTO PDF:	<input checked="" type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	
CONTACTO CON AUTOR/ES:	Teléfono: 043879517	E-mail: Henrycarrenorosario19@gmail.com	
CONTACTO CON LA INSTITUCIÓN:	Nombre: BLGA. MIRIAM SALVADOR BRITO MSC Teléfono: 3080777 - 3080758 E-mail: info@fccnnugye.com miriam.salvadorb@ug.edu.ec		



UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
FACULTAD CIENCIAS NATURALES
CARRERA **INGENIERIA AMBIENTAL**
UNIDAD DE TITULACIÓN



ANEXO 11

CERTIFICACIÓN DEL TUTOR REVISOR

*Habiendo sido nombrado Olga Arévalo Castro MSc., tutor revisor del trabajo de titulación : **CONTAMINACIÓN POR COLIFORMES TOTALES Y ESCHERICHIA COLI EN OSTIONES (Crassostrea columbiensis), CONCESIÓN DE MANGLARES, PUERTO SALINAS - GOLFO DE GUAYAQUIL- ECUADOR**, certifico que el presente trabajo de titulación, elaborado por **HENRY NARCISO CARREÑO ROSARIO**, con C.I. No. **1311157166**, con mi respectiva supervisión como requerimiento parcial para la obtención del título de Ingeniera Ambiental, en la Carrera de Ingeniería Ambiental de la Facultad de Ciencias Naturales, ha sido **REVISADO Y APROBADO** en todas sus partes, encontrándose apto para su sustentación.*

Guayaquil, martes 12 de marzo de 2019

Olga Arévalo Castro MSc.

C.I. No. 0913807830





UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
FACULTAD CIENCIAS NATURALES
CARRERA INGENIERIA AMBIENTAL
UNIDAD DE TITULACIÓN



ANEXO 12

**LICENCIA GRATUITA INTRANSFERIBLE Y NO EXCLUSIVA PARA EL
USO NO COMERCIAL DE LA OBRA CON FINES ACADÉMICOS**

Yo, **HENRY NARCISO CARREÑO ROSARIO** con C.I. No. 1311157166, certifico que los contenidos desarrollados en este trabajo de titulación, cuyo título es **CONTAMINACIÓN POR COLIFORMES TOTALES Y ESCHERICHIA COLI EN OSTIONES (*Crassostrea columbiensis*), CONCESIÓN DE MANGLARES, PUERTO SALINAS - GOLFO DE GUAYAQUIL- ECUADOR**, son de mi absoluta propiedad y responsabilidad Y SEGÚN EL Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN*, autorizo el uso de una licencia gratuita intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la presente obra con fines académicos, en favor de la Universidad de Guayaquil, para que haga uso del mismo, como fuera pertinente

HENRY NARCISO CARREÑO ROSARIO
C.I. No. 1311157166

*CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN (Registro Oficial n. 899 - Dic./2016) Artículo 114.- De los titulares de derechos de obras creadas en las instituciones de educación superior y centros educativos.- En el caso de las obras creadas en centros educativos, universidades, escuelas politécnicas, institutos superiores técnicos, tecnológicos, pedagógicos, de artes y los conservatorios superiores, e institutos públicos de investigación como resultado de su actividad académica o de investigación tales como trabajos de titulación, proyectos de investigación o innovación, artículos académicos, u otros análogos, sin perjuicio de que pueda existir relación de dependencia, la titularidad de los derechos patrimoniales corresponderá a los autores. Sin embargo, el establecimiento tendrá una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra con fines académicos.





UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
FACULTAD CIENCIAS NATURALES
CARRERA INGENIERIA AMBIENTAL
UNIDAD DE TITULACIÓN



ANEXO 13

***CONTAMINACIÓN POR COLIFORMES TOTALES Y ESCHERICHIA COLI EN
OSTIONES (*Crassostrea columbiensis*), CONCESIÓN DE MANGLARES, PUERTO
SALINAS - GOLFO DE GUAYAQUIL- ECUADOR***

Autor: Henry Carreño Rosario

Tutor: Mireya Pozo Cajas MSc.

Resumen

En el presente trabajo de investigación se establece como objetivo principal determinar el nivel de contaminación por Coliformes totales y *Escherichia coli* utilizando como bioindicador de las condiciones ambientales en los manglares, a la especie de moluscos bivalvos *Crassostrea columbiensis* que habita adheridas a las raíces de los árboles de mangle rojo (*Rhizophora sp*), en los manglares que están bajo Custodia de la comunidad de Puerto Salinas dentro del Estuario del Golfo de Guayaquil, se establecieron ocho puntos de muestreo en el mes de noviembre 2018, realizándose el análisis microbiológico dando como resultado la ausencia de *E. coli*, sin embargo se evidencio que existe contaminación por Coliformes totales en los ocho puntos de muestreo sobre el límite máximo permisible, siendo los de mayor índice de contaminación los que se encuentran ubicados más cercanos a la comunidad de Puerto Salinas, donde se ubica directamente al sistema estuarino, afectando además de la calidad del agua y a especies con características filtradoras que se desarrollan también en el ecosistema de manglar, concluyendo así que la especie de bivalvos *Crassostrea columbiensis* no puede considerarse apta para el consumo humano sin previo tratamiento de depuración antes de su venta o consumo.

Palabras Claves: Coliformes totales, *Rhizophora sp*, *Escherichia coli*, *Crassostrea columbiensis*, contaminación.



UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
FACULTAD CIENCIAS NATURALES
CARRERA INGENIERIA AMBIENTAL
UNIDAD DE TITULACIÓN



ANEXO 14

***CONTAMINATION BY TOTAL COLIFORMS AND ESCHERICHIA COLI IN
OSTIONS (*Crassostrea columbiensis*), MANGROVES CONCESSION, PUERTO
SALINAS - GOLFO DE GUAYAQUIL- ECUADOR***

Author: Henry Carreño Rosario

Advisor: Mireya Pozo Cajas MSc.

Abstract

In the present research work, the main objective is to determine the level of contamination by total coliforms and *Escherichia coli*, using as a bioindicator of the environmental conditions in the mangroves, the bivalve mollusc species *Crassostrea columbiensis* that lives attached to the roots of trees of red mangrove (*Rhizophora sp.*). In the mangroves that are under the Custody of the community of Puerto Salinas within the Gulf of Guayaquil Estuary, eight sampling points were established in the month of November 2018, after a microbiological analysis resulted in the absence of *E. coli*, however it was evidenced that there is contamination by total Coliforms in the eight sampling points over the maximum permissible limit, showing a higher contamination index for those located closest to the community of Puerto Salinas, where it is located directly to the estuarine system, affecting not only water quality, but also to species with filtering characteristics that also develop in the mangrove ecosystem, concluding that the species of bivalves *Crassostrea columbiensis* can't be considered safe for human consumption without prior treatment of purification before sale or consumption

Keywords: Total coliforms, *Rhizophora sp.*, *Escherichia coli*, *Crassostrea columbiensis*, contamination.

DEDICATORIA

Este trabajo de investigación es dedicado.

A Dios, a mis Padres Francisco Carreño y Elena Rosario, a mis Hermanas Erika y Nallely, a mis Pastores Martin Ellis y Narcisa Carreño a mi Familia y Amigos en General, ya que son las bases fundamentales de mi vida.

AGRADECIMIENTO

Es apremiante poder agradecer a Dios porque siempre ha estado allí mostrándome su gracia y su amor cada día, pero también es meritorio y de forma especial agradecerles a mis padres que han sido mi inspiración y me han brindado su apoyo y amor incondicional de forma especial y deseo retribuir su esfuerzo demostrándole a través de este trabajo, que cada esfuerzo valió la pena, agradezco a la familia Ellis Carreño quienes fueron un apoyo fundamental para llegar a esta primera meta y me incorporaron en su familia durante todo este trayecto, a mi tutora la Dra. Mireya Pozo Cajas quien me incentivo en todo momento, quien fue una excelente guía a pesar de circunstancias adversas a su salud, siempre estuvo allí cumpliendo no solo su trabajo, si no que se convirtió en un ejemplo de perseverancia y amor a la investigación.

Como no agradecer además a la Msc. Olga Arévalo quien fue la punta de lanza para iniciar esta investigación guiándome en la formulación del tema en la primera etapa y la etapa final como Tutor revisor, de forma extraordinaria, además debo agradecer a la Dra. Beatriz Pernía quien además de haber sido una de las mejores docentes en mi etapa estudiantil, fue un apoyo fundamental en cada obstáculo que se pudo haber presentado en esta investigación brindando sus conocimientos de forma desinteresada por amor a la ciencia, a mi cotutora la MSc. Rosita Siguencia quien me guio en la parte experimental y tuvo la paciencia de enseñarme cada paso del proceso microbiológico obteniendo al final no solo los resultados de la investigación si no experiencia y conocimiento del tema.

Finalmente debo agradecer a mis compañeros quienes siempre estuvieron presentes en esta trayectoria: Christian Lajones, Ariana Pluas, Alba Hidalgo, Stefania Viñan, María Elena Cevallos, Arianna Canga, Yuliana Ellis, Carlos Gordillo, Sharon Medrano, Karen Chaparro, Erick Morales, Eduardo Pico, Domenica Montes y al grupo en general de los Buenos Hermanitos.

Tabla de Contenido

Introducción.....	1
CAPÍTULO I	4
1.1. Planteamiento Del Problema	4
1.2. Objetivos.....	6
1.2.1. Objetivo General:	6
1.2.2. Objetivos Específicos:.....	6
1.3. Justificación.....	7
1.4. Delimitación.....	9
1.5. Hipótesis.....	12
CAPÍTULO II	13
2.1. Antecedentes.....	13
2.2. Marco Teórico.....	16
2.2.1. Contaminación Hídrica.....	16
2.2.1.1. Coliformes Totales.....	16
2.2.1.2. <i>Escherichia Coli</i>	16
2.2.2. Organismos bioindicadores.....	17
2.2.2.1. Organismos bivalvos filtradores.....	17
2.2.3. <i>Crassostrea columbiensis</i>	18
2.2.3.1. Taxonomía	18
2.2.3.2. Hábitat	19
2.2.4. Estuario.....	19
2.2.5. Manglares	22
2.2.6. Concesión de manglares	23
2.2.7. Servicios ambientales del manglar.....	23
2.2.8. Parámetros Fisicoquímicos.....	23
2.2.8.1. pH.....	23

2.2.8.2.	Salinidad.....	24
2.2.8.3.	Temperatura.....	24
2.2.8.4.	Conductividad eléctrica	24
2.3.	Marco Legal.....	25
CAPÍTULO III	27
3.	Metodología.....	27
3.1.	Reconocimiento del área de estudio.	27
3.2.	Etapa de muestreo	28
3.3.	Transporte de las muestras.....	31
3.4.	Medios de cultivo.....	32
3.4.1.	Agar Chromocult	32
3.4.2.	Agua de Peptona	32
3.5.	Etapa de Laboratorio	33
3.5.1.	Selección de muestras y lavado.	33
3.5.2.	Medición morfométrica de los ostiones.....	33
3.5.3.	Desconchado y Pesaje	34
3.5.4.	Maceración	35
3.5.5.	Diluciones	35
3.5.6.	Sembrado de muestras.....	36
3.5.7.	Incubación y conteo de muestras	36
3.5.8.	Control negativo y positivo	37
3.5.9.	Pruebas de confirmación	38
3.5.9.1.	Tinción de Gram.....	38
3.5.9.2.	Prueba de Oxidasa.....	39
3.6.	Análisis Estadístico.....	39
CAPÍTULO IV	40
4.	Resultados.....	40

4.1. Caracterización del Hábitat de la especie <i>Crassostrea Columbiensis</i>	40
4.1.1. Medición Morfométrica de los individuos de <i>Crassostrea columbiensis</i> . 41	
4.2. Determinación del nivel de coliformes totales y <i>E. coli</i>	43
4.3. Medición de los Parámetros Físicoquímicos del agua en los puntos de muestro	44
4.3.1. Correlación de Pearson entre los resultados de los parámetros físicoquímicos y el nivel de coliformes totales.....	45
4.3.2. Correlación de Pearson entre Coliformes Totales Vs la distancia al Poblado de Puerto Salinas en (km).....	46
4.4. Comparación de los niveles de coliformes totales con el límite máximo permisible establecido en la NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-031-SSA1- 1993	47
4.5. Discusión.....	48
4.6. Conclusiones.....	53
4.7. Recomendaciones.....	54
Referencias Bibliográficas.....	56
Anexos	63

Índice de Tablas

Tabla 1 Taxonomía de <i>Crassostrea columbiensis</i> Fuente:.....	18
Tabla 2. Características generales del estuario	21
Tabla 3 Normativa Nacional e internacional Aplicable a la Investigación	25
Tabla 4 Calendario de Actividades de Campo	27
Tabla 5. Equipos utilizados para el análisis fisicoquímico del agua	30
Tabla 6 Características generales de la especie <i>Crassostrea columbiensis</i> en Puerto Salinas.....	40
Tabla 7 Talla (largo y ancho) del 30% de individuos de la especie (<i>Crassostrea columbiensis</i>), recolectada en cada punto de muestro.....	42
Tabla 8. Resultados de Los Parámetros Fisicoquímicos pH, Salinidad, Temperatura, Conductividad eléctrica.....	44
Tabla 9 Correlación Coliformes Totales, pH, Salinidad, Temperatura, Conductividad eléctrica.....	45

Índice de Figura

Figura 1. Mapa del Golfo de Guayaquil, Isla Escalante.....	10
Figura 2. Mapa Concesión de manglar APARABAFIE Isla Escalante – Comunidad de Puerto Salinas.....	11
Figura 3. Gradiente de Salinidad en un Estuario.....	20
Figura 4. Área concesionada.....	28
Figura 5. Comunidad de Puerto Salinas.....	28
Figura 6. Mapa de Muestreo	29
Figura 7. Extracción de ostiones vivos	30
Figura 8. Toma de muestra de agua para análisis de pH, Salinidad, Conductividad eléctrica.....	31
Figura 9. Análisis In Situ Temperatura	31
Figura 10. Lavado de las muestras con solución salina	33
Figura 11 Medición Morfométrica	33
Figura 12 Desconchado de las muestras	34
Figura 13. Pesaje de 30 g de cada muestra después del desconchado	34
Figura 14 Muestra madre, macerada y homogenizada	35
Figura 15 Proceso de dilución en tubos de ensayo.....	35
Figura 16 Siembra de las muestras por la Técnica ISO 9308-1 vertido en placa .	36
Figura 17 Crecimiento de colonias de coliformes totales en todas las muestras .	36
Figura 18 Cuantificación de colonias de coliformes totales mediante un contador de colonias bacterianas.....	37
Figura 19 Cepas certificadas de referencia ATCC 11229 de E. coli.....	37
Figura 20 Prueba de Gram en el microscopio	38
Figura 21 Prueba de Oxidasa.....	39
Figura 22 . Especies que habitan en el ecosistema de manglar en Puerto Salinas-Golfo de Guayaquil.....	41
Figura 23 Niveles de Coliformes totales en <i>Crassostrea columbiensis</i> en los diferentes puntos. Los resultados se muestran como media \pm desviación estándar y con la varianza de cada punto representada por las letras a, b, ab.	43
Figura 24 Correlación de Pearson entre la distancia al poblado y los niveles de coliformes totales de cada Punto	46
Figura 25 Comparación entre los niveles de coliformes totales detectados para cada punto con el límite máximo permisible.....	47

Índice de Anexos

Anexo 1 Mapa de zonas de manglares estudiada por diferentes autores por contaminación de Coliformes totales y Escherichia coli en moluscos bivalvos en la Provincia del Guayas.....	63
Anexo 2 Comunidad de Puerto Salinas.....	63
Anexo 3 Análisis de Parámetros Fisicoquímicos del agua.	64
Anexo 4 Toma de muestras.....	64
Anexo 5 Rotulación de muestras en el laboratorio	64
Anexo 6 Procesamiento de las muestras en el Laboratorio.....	64
Anexo 7 Pruebas de confirmación.....	64
Anexo 8 Análisis Estadístico.....	64

Introducción

En los ambientes estuarinos se encuentran los manglares, que es un ecosistema que está compuesto por especies arbóreas denominadas mangles, está ubicada en las zonas costeras y por lo consiguiente es influenciada por aguas estuarinas con oleaje mínimo y con suelo arenoso o limo-arcillosos; pueden estar distribuidos desde unas pocas franjas de terreno a bosques densos, esto dependerá de la topografía, marea, salinidad y el tipo de suelo (Diaz, 2011).

La estructura, funcionamiento y existencia de los manglares se pueden ver afectados por las actividades antropogénicas realizadas en su habitan como la contaminación por descargas de aguas residuales o el uso indebido de estos recursos, lo que además provoca una pérdida de la diversidad, perdida del hábitat, especies introducidas y contaminación de sus aguas (Foroughbakhch, Céspedes, Alvarado, Núñez, & Badii, 2004).

Esta contaminación afecta a los organismos biológicos existentes en los ecosistemas, por lo que para determinar la contaminación de un hábitat uno de los métodos es realizar monitoreos biológicos utilizando organismos bioindicadores, estos organismos pueden ser plancton, fitoplancton, zooplancton, ictioplancton, macroinvertebrados y peces (Viteri, Chalen, & Cevallos, 2017).

De acuerdo a lo establecido por et al. Day (2013), en su libro *Estuarine Ecology* menciona que los principales factores que causan alteraciones en el sistema estuarino; es el enriquecimiento con niveles excesivos de materia orgánica e inorgánica, las alteraciones físicas, la introducción de materiales tóxicos y los cambios directos en la estructura de la comunidad mediante la recolección o introducción de especies exóticas.

Según Sabatini & Calcagno (2014), los moluscos están conformados por más de 50 mil especies, de las cuales la mayoría son marinos, y su alimentación es muy variable, herbívoros, carnívoros y filtradores. En algunas investigaciones se utilizan los moluscos como bioindicadores para caracterizar y cuantificar los contaminantes, los organismos más utilizados son los bivalvos para determinar la perturbación del medio, por medio de los rasgos sedentarios, resistencia, capacidad bioacumuladora de xenobioticos de la columna de agua y de los sedimentos; la principal característica es la capacidad de detectar afectaciones tempranas de estrés en los ecosistemas, los cuales se detectan por los cambios en los niveles de los organismos de las poblaciones y comunidades (Sabatini & Calcagno, 2014).

La alteración a la estructura física o química del agua es considerada contaminación hídrica, la misma que puede ser causada por la introducción de nutrientes, agentes infecciosos, químicos y físicos también denominados contaminantes (Valencia, Sánchez, Ortiz, & Gómez, 2007).

La medida de parámetros que determinan la calidad de agua nos da un resultado puntual del estado de un cuerpo de agua en ese momento, los organismos al desarrollarse dentro del agua y pasar las diferentes alteraciones ambientales en el ecosistema nos darán como resultado todos los cambios que se han producido en el medio, como los organismos macro invertebrados en los que podemos identificar diferentes grupos con la existencia o no de agentes contaminantes (Ladrera, Rieradevall, & Prat, 2013).

Según Reinbold (2018), los ecosistemas acuáticos se pueden clasificar en sistemas lenticos y loticos, el sistema lentico también denominado ecosistema lacustre hace referencia a cuerpos de agua estancadas (sin movimientos) que incluye zanjas, estanques, piscinas, pantanos, lagos y lagunas y estos son capaces de soportar un rango considerable de diversas plantas acuáticas por su estabilidad.

Mientras que un sistema lotico, también denominado ecosistema ribereño describe cualquier tipo de sistema acuático en movimiento, como una corriente, cala, arroyo, río, manantial, canal o riada, una de sus características es que desde la fuente de la desembocadura debe tener gases atmosféricos, turbidez, materiales disueltos, gradación de temperatura longitudinal en él, además los ecosistemas loticos tienen dos zonas principales, rápidos y remansos, los rápidos son zonas donde la corriente el agua es necesariamente rápida la cual mantiene la parte inferior sobre de materiales, en cuanto los remansos son zonas son más profundas donde las aguas son más lentas llegando acumular limo (Reinbold, 2018).

Para determinar la calidad bacteriológica, se utiliza como indicadores de contaminación fecal a los coliformes totales, coliformes fecales, *E.coli* y *salmonella*, al sobrevivir en los ambientes marinos conlleva la contaminación de productos marinos alimenticios, en especial de los moluscos, los cuales poseen características filtradoras, y que por lo general son consumidos crudos o semicrudos, lo que implica un riesgo a la salud en los seres humanos y contraer enfermedades de tipo infeccioso (González, Graü, Villalobos, Gil, & Vásquez, 2009).

Debido a las descargar de aguas residuales en la comunidad de Puerto Salinas, es necesario conocer el estado bacteriológico del molusco bivalvo *Crassostrea columbiensis*, y así conocer cómo influyen las aguas domesticas en estos organismos que sirven como productos alimenticios de la población.

CAPÍTULO I

1.1. Planteamiento Del Problema

La contaminación de forma general está causando que nuestro planeta cada día se vea afectado, y una de las principales causas se cree que es el deficiente tratamiento de las aguas residuales que provienen de los hogares e industrias (Asamblea de las Naciones Unidas sobre el Medio Ambiente del Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente, 2017).

Lo que conlleva a daños ecológicos en especies marinas que tienen movilidad reducida y están expuestos a todo tipo de contaminantes como son los moluscos (Valenzuela, 2013).

Atendiendo a estas consideraciones los ostiones son especies de bivalvos que por su alta capacidad de filtración puede llegar acumular agentes patógenos cuando las aguas donde se desarrollan están contaminadas, causando la proliferación de enfermedades en la población humana al consumirlos. (Flores, 2018).

Tal es el caso de la especie *Crassostrea columbiensis* que habita en las raíces de los árboles de las especies de mangle rojo, encontrándose este bosque en el Golfo de Guayaquil (Bravo & Ortega, 2012)

Siendo una de las características de la población de Puerto Salinas el aprovechamiento y consumo directo que se realiza en crudo sin previo tratamiento, además no tienen planta tratamiento de las aguas residuales, por otra parte encontramos especies introducidas como el ganado porcino, y especies de aves de corral como patos y gallinas, por ello se estima que toda la carga orgánica que se

genera dentro de la isla, es descargada directamente al sistema estuarino del Golfo de Guayaquil.

Como resultado de este dinamismo, en efecto existe la necesidad de conocer si el nivel de Coliformes totales y E. coli en la especie *Crassostrea columbiensis* están sobre los límites permisibles para el consumo humano ya que son comercializados y consumidos sin conocer su nivel de concentración de contaminación y el daño que pueden llegar a producir a la salud humana.

Debido que los comuneros tienen la custodia del manglar con el Plan De Manejo Para Uso Sustentable Y Custodia De 4.434,8 Hectáreas De Manglar Ubicada en Las Islas: Escalante, Puerto Arturo, Mosquiñaña Y San Francisco, Golfo De Guayaquil, una de las actividades es realizar trabajos de investigación para monitorear la salud del ecosistema de manglar y del estuario, ellos no cuentan con personal ni laboratorio para realizar las diferentes actividades una de las estrategias de ellos es unirse a grupos o persona para que ejecuten estas actividades que están planteada en el Plan y una oportunidad para estudiantes de realizar un trabajo que contribuye al cuidado del ambiente en especial el ecosistema de manglar (Bravo & Ortega, 2012).

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo General:

- Analizar la contaminación por Coliformes totales y *Escherichia coli* en la especie de ostiones (*Crassostrea columbiensis*) en la concesión de Custodia del Ecosistema de Manglar en la comunidad de Puerto Salinas-Golfo de Guayaquil.

1.2.2. Objetivos Específicos:

- Caracterizar el hábitat y medición morfométrica de los individuos de (*Crassostrea columbiensis*).
- Determinar la presencia de Coliformes totales y *Escherichia coli* en ostiones (*Crassostrea columbiensis*) en Puerto Salinas, Golfo de Guayaquil.
- Medir los parámetros fisicoquímicos del agua del estuario: pH, salinidad, temperatura y conductividad eléctrica en cada estación de muestreo.
- Comparar los resultados de los niveles de Coliformes totales y *Escherichia coli* en ostiones (*Crassostrea columbiensis*) con los estándares internacionales para el consumo humano de moluscos bivalvos.

1.3. Justificación

En los últimos años se ha relacionado el consumo de moluscos bivalvos con brotes epidemiológicos como el cólera, además de provocar intoxicaciones alimentarias y gastroenteritis, según un estudio realizado en México, la calidad sanitaria del producto colectado en algunas lagunas costeras no cumple las especificaciones sanitarias nacionales debido en gran parte a que no existe un monitoreo y verificación sanitaria de la actividad ostrícola (Galaviz, Lango, & Castañeda, 2013).

En Ecuador al igual que México no existe ningún tipo de monitoreo ni verificación sanitaria estable en la comercialización de bivalvos, por lo tanto, no hay una prevención en cuanto a la inocuidad alimenticia de estos moluscos.

La comunidad de Puerto Salinas está localizada dentro de la concesión de manglares APARABAFIE en el Golfo de Guayaquil, siendo los ostiones (*Crassostrea columbiensis*), una de las especies de importancia comercial para la Comunidad y son consideradas como principal fuente de comercialización para el sustento familiar.

Los ostiones son especies de bivalvos de gran demanda de consumo en la ciudad de Guayaquil por sus propiedades nutritivas debido a que contiene vitamina A, B, C, D; compuestos glicerofosféricos; cloruros; carbohidratos, proteínas, y además otros agentes patógenos (Flores, 2018).

Por ello se realiza una alianza estratégica con los pobladores de la Comunidad de Puerto Salinas debido que ellos son los custodios legales de la zona de manglar de la Isla Escalante, la misma que consiste en adquirir por parte de ellos información básica de la zona, como el arte de pesca, la distribución de la especie en el área, el manejo de las aguas residuales de la isla y las bases fundamentales del Plan de manejo del área concesionada, para finalmente poder retribuir con su colaboración

a través de los resultados del presente estudio el mismo que demostrara la inocuidad alimentaria de la especie de ostión de mangle, y el nivel de contaminación del estuario a través de estos bioindicadores; siendo de gran aporte científico para incluirlo en su Plan de Manejo para uso sustentable y custodia de 4.434,8 Hectáreas de manglar ubicadas en las islas: Escalante, Puerto Arturo, Mosquiñaña, y San Francisco, Golfo de Guayaquil (Bravo & Ortega, 2012).

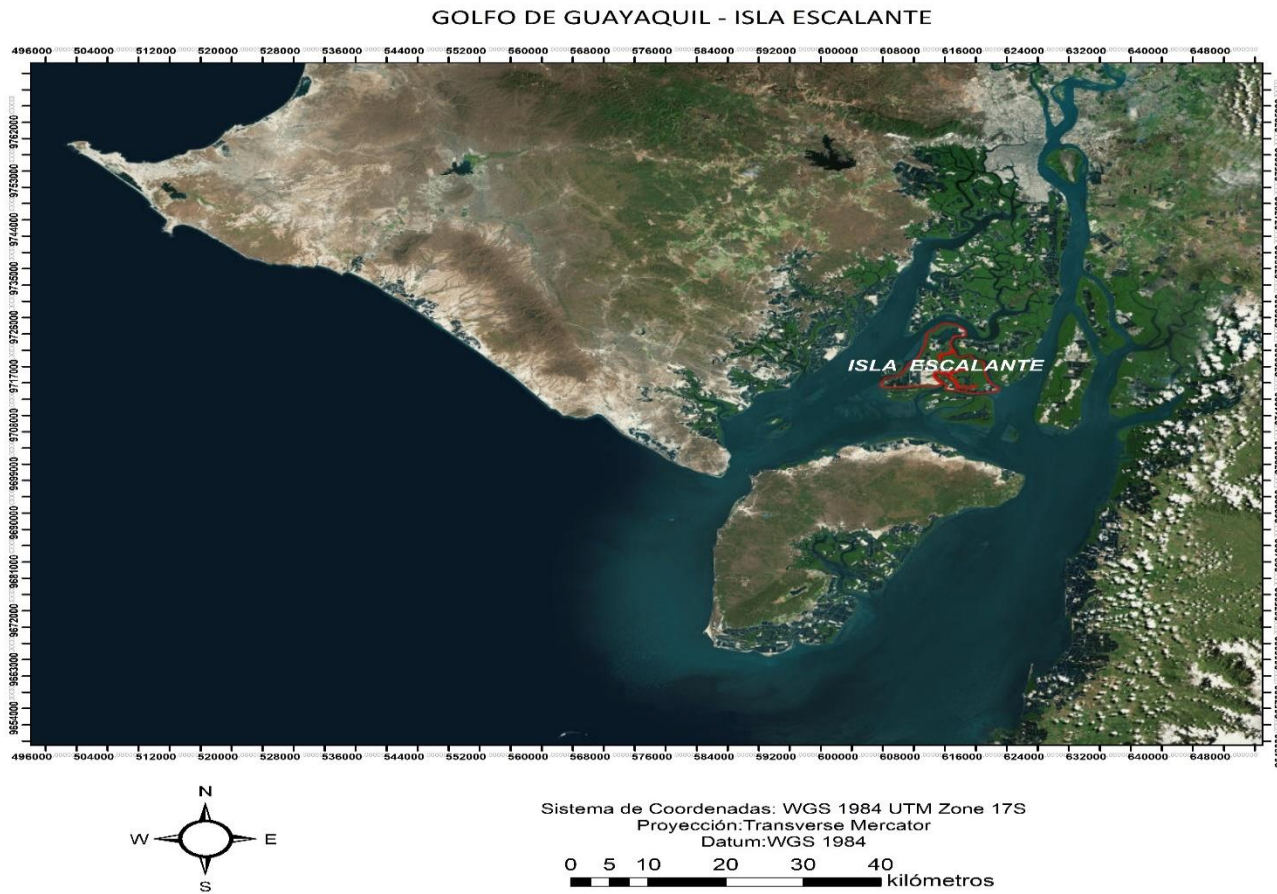
Por lo tanto, es de gran importancia conocer el grado de contaminación y determinar la seguridad alimentaria de la especie ya que por su tipo de alimentación que es filtradora puede llegar acumular altos niveles de Coliformes totales y *E. Coli*.

1.4. Delimitación

El Golfo de Guayaquil cuenta con una cuenca de drenaje con un área de 51.230 km² la cual recibe el caudal de aproximadamente de 20 ríos, donde 5 de ellos vierten más del 81% del drenaje total, estos son Río Guayas, Río Jubones, Río Cañar, Río Taura y Río Arenillas, contando además el aporte de varios estuarios con canales internos de la ciudad de Guayaquil y Puerto Bolívar, con la influencia de las comunidades asentadas en el interior del Golfo de Guayaquil y Archipiélago de Jambelí (INOCAR, 2005).

El Golfo de Guayaquil incluye como tal las masas de aguas e islas contando con una extensión de 13.701 km² donde 11.711 km² corresponden a la superficie de agua y 1990 km² de islas e islotes, constituyendo la característica geomorfológica más singular de todo el perfil litoral Ecuatoriano (Santana & Atiencia, 2013) (ver figura 1).

En cuanto la Concesión de Manglar APARABAFIE, se encuentra ubicada al suroeste del Cantón Guayaquil y el estero Chupadores Grande cuenta con una extensión de 4434,8 hectáreas de manglar, al lugar se accede por el Río Guayas o por el Estero Salado. La Concesión está compuesta por la Isla Escalante, la Isla Mosquiñaña, Isla San Francisco y la Isla Carrusel y custodiada por la comunidad de Puerto Salinas ubicada dentro de la Isla Escalante donde se realizó este estudio (ver figura 2), (Bravo & Ortega, 2012).



GUAYAQUIL RESPECTO A LA PROVINCIA DEL GUAYAS



GOLFO DE GUAYAQUIL RESPECTO A GUAYAQUIL



FUENTE:
 Google Maps

ELABORADO POR:
 Henry Carreño

Figura 1. Mapa del Golfo de Guayaquil, Isla Escalante
Elaborado por: (Carreño, 2019)

CONCESION DE MANGLAR APARABAFIE, ISLA ESCALANTE - PUERTO SALINAS

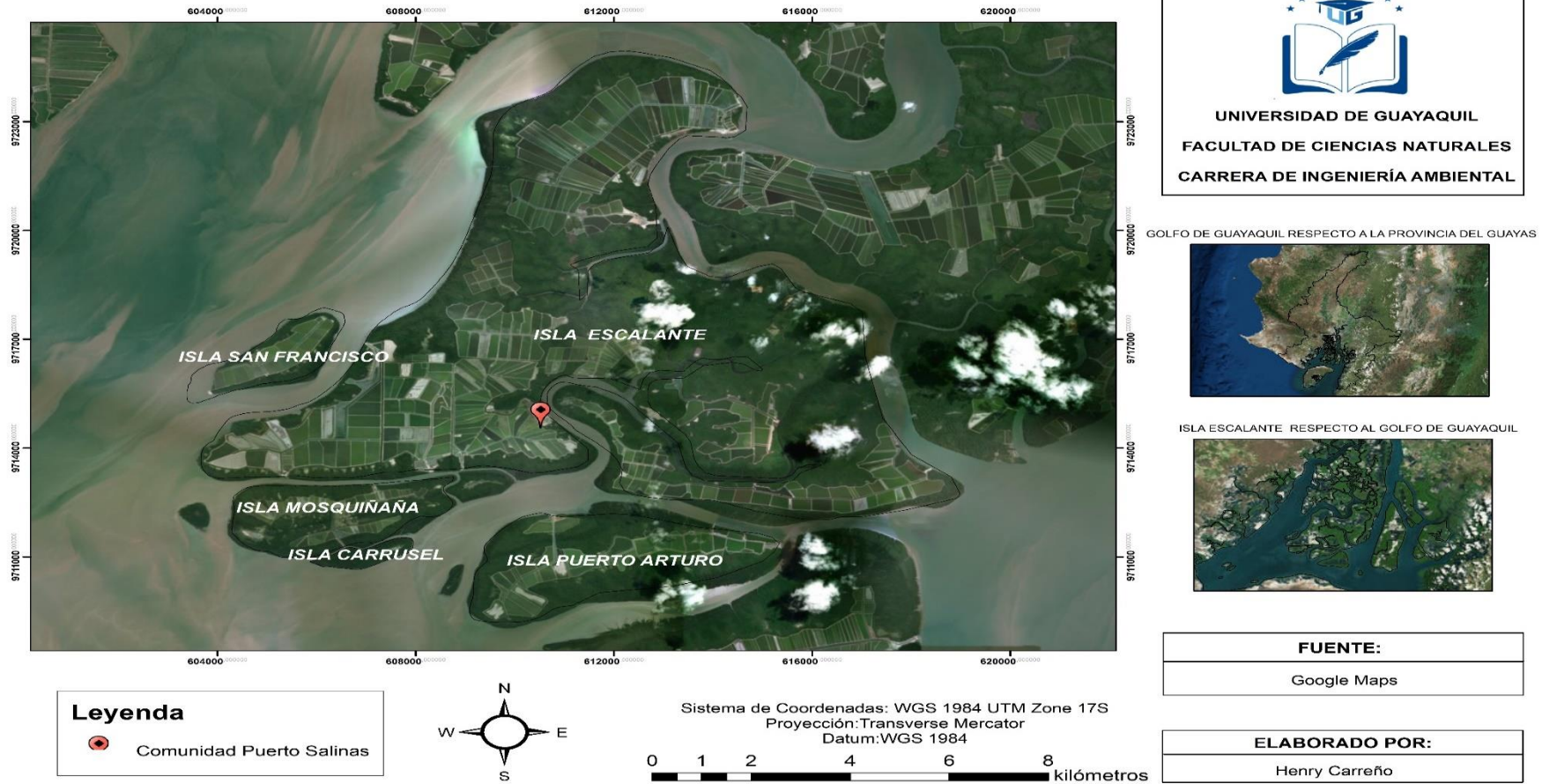


Figura 2. Mapa Concesión de manglar APARABAFIE Isla Escalante – Comunidad de Puerto Salinas

Elaborado por: (Carreño, 2019)

1.5. Hipótesis

Los ostiones (*Crassostrea columbiensis*) que habitan en el ecosistema de manglar del Golfo de Guayaquil están siendo contaminados por bacterias Coliformes totales y *Escherichia coli*, por la influencia de las aguas residuales provenientes de los asentamientos humanos de la Comunidad Puerto Salinas – Golfo de Guayaquil-Ecuador.

CAPÍTULO II

2.1. Antecedentes

Según Moreno et al, (2002) es común, las malas prácticas ambientales en las comunidades como la generación de aguas residuales a los cuerpos hídricos, de acuerdo al diagnóstico realizado en los manglares de Veracruz donde aproximadamente el 48% de la población envía sus desechos domésticos a fosas sépticas en algunos casos y en otros directamente a ríos o al mar, por lo cual en los análisis de bacteriológicos de coliformes totales y coliformes fecales. En todos los puntos de muestreos sobrepasaban límite permisible en agua marina y estuarina, para ser considerado como adecuado para la explotación de moluscos bivalvos y acuacultura, establecidos por la SEDUE - Secretaría de Desarrollo Urbano y Ecología, 1989 Moreno et al, (2002).

Por otro lado la evaluación de la calidad ambiental de los manglares de la Ciénaga Mallorquín, Departamento del Atlántico, se utilizó como indicadores de contaminación de origen fecal a las bacterias coliformes totales, coliformes termotolerantes y enterococos fecales lo que afirmo la hipótesis establecida previo a este estudio en la que se afirmaba que debido al aportes de aguas residuales domesticas provenientes de las poblaciones cercanas existía un deterioro de calidad de agua, la misma que afectaba a los organismos en estadios larval y juvenil (Garcés, Rios, & Vivas, 2016).

Según Cabrera, Díaz, Parra, & Ojeda (2010), menciona que para la detección de parásitos protozoarios y helmintos en el molusco bivalvo *Geukensia demissa*, donde se utilizó 400 ejemplares vivos en dos épocas del año, seca (enero a mayo) y lluviosa (junio a octubre) en el sector Nazarét del municipio Mara, Venezuela, obteniendo como resultado que el 42% de los organismos contenían los siguientes parásitos en forma quística sus intestinos complejos *Entamoeba histolytica/dispar*, *Entamoeba coli*, *Entamoeba hartmanni*, *Giardia lamblia*, *Iodamoeba spp.*,

Blastocystis spp. y *Cryptosporidium spp.*, en comparación entre las épocas del año, los organismos recolectados en épocas secas contenían más parásitos.

Se realizó además un análisis de contaminación fecal mediante las bacterias coliformes totales y coliformes fecales en ostión (*Crassostrea virginica*) durante la recolección en mercados ubicados en el Golfo de México durante 12 meses, los análisis se hicieron tanto en el agua como en los organismos, las muestras de ostiones se recolectaron con valvas y sin valvas (envasadas); como resultado se encontró que el 50% de las muestras superaran los límites máximos permisibles establecidos para consumo de alimentos en México, mientras que el 80% de las muestras supera en coliformes fecales (Rosas, Yela, & Bàez, 1985).

Una evaluación de la calidad microbiológica en el mejillón (*Mytilus galloprovincialis*) debido a su forma de alimentación filtradora, lo que provoca una acumulación de virus y bacterias lo que implica un riesgo alimentario, esto incluye la determinación de *Enterobacterias*, *E. coli*, *Vibrio spp.*, *Listeria monocytogenes* y *Cl. perfringens* y *Salmonella spp.*, el análisis de 15 lotes de mejillones en zonas de producción en España e Italia resulto, la prevalencia de *Cl. perfringens* (86,6%). *Salmonella spp.* 26,6%, incumpliendo los criterios microbiológicos del Reglamento (CE) 2073/2005 del Parlamento Europeo, *Vibrio spp.* (46,6%), una prevalencia baja de *E. coli* (6,66%) y la ausencia de *L. monocytogenes* (López, Sousa, & Alapont, 2016).

En la Ciudad de Maracaibo Venezuela se comercializa la especie de molusco bivalvo *Rangia spp.*, donde el agua marino costera donde se realiza la cría de estos organismos para ser consumidos, son clasificadas como aguas tipo 3 lo que significa que deben de tener un promedio mensual de 70 NPM/100ml de coliformes totales, debido a esto se realizó un análisis bacteriológicos de coliformes totales, coliformes fecales, estreptococos y enterococos por la técnica del número más probable descrita en los métodos estándares de estos organismos, en el agua y el

sedimento en el que se desarrollan según la investigación desarrollada por Montiel, Silva, Nuñez, Espinoza, & Morales (2011), lo que dio como resultado que las concentraciones más altas se encontraron en las almejas para coliformes totales (36,6% de las muestras de *R. cuneata* sobrepasaron los límites establecidos por la normativa en Venezuela), de forma general, las mayores concentraciones bacteriológicas se encontraron en los organismos, seguidos por los sedimentos y el agua (Montiel, Silva, Nuñez, Espinoza, & Morales, 2011).

En Ecuador un estudio desarrollado por Sigüencia (2010), muestra el nivel de contaminación por coliformes totales y *Escherichia coli* en dos especies de moluscos bivalvos, *Mytella guayanensis* y *Ostrea columbiensis* muestreadas en época seca, estableciéndose cuatro puntos de muestreo en Puerto Hondo Provincia del Guayas, donde se evidenció la inocuidad alimentaria de las dos especies de moluscos como no aptas para el consumo humano por su alto nivel de carga bacteriana.

Asimismo un estudio realizado por Delgado (2018), desarrollado en los manglares de Puerto el Morro – Golfo de Guayaquil Ecuador, se detectaron concentraciones de coliformes totales y *E. coli* en *Anadara tuberculosa* y *Anadara similis* que superan el límite máximo permisible, en donde se tomaron 30 individuos de cada especie en cuatro puntos de muestreos en época seca y lluviosa.

2.2. Marco Teórico

2.2.1. Contaminación Hídrica

La contaminación del agua refiere a la alteración del ciclo del agua que inciden en la capacidad de dilución de los cuerpos hídricos, sobrepasando sus límites de depuración, algunas de las causas de la contaminación es la explotación minera, los depósitos de aguas residuales municipales o las industriales sin un tratamiento (Kopta, 1999).

2.2.1.1. Coliformes Totales

Las bacterias coliformes se encuentran en los suelo las plantas y animales, estas bacterias son indicadoras de contaminación, por la cual la presencia de estas en cuerpos hídrico dan indicio de contaminación producto de desechos orgánicos o aguas residuales, estas bacterias en su mayoría se encuentran en la superficie de las aguas y en los sedimentos (Ramos, Vidal, Vilardey, & Saavedra, 2008).

Las bacterias pertenecientes al grupo de los coliformes totales (excluida *E. coli*) están presentes tanto en aguas residuales como en aguas naturales, algunas de estas bacterias se excretan en las heces de personas y animales, pero muchos coliformes son heterótrofos y capaces de multiplicarse en suelos y medios acuáticos, los coliformes totales pueden también sobrevivir y proliferar en sistemas de distribución de agua, sobre todo en presencia de biopelículas (Organización Mundial de la Salud, 2006).

2.2.1.2. *Escherichia Coli*

La *Escherichia coli*, abreviada *E. coli*, es una bacteria que se desarrolla en los intestinos de los animales y los humanos por lo tanto son de origen fecal, de forma general esta bacteria es importante para la digerir los alimentos consumidos, sin embargo algunos tipos provocan síntomas como diarrea y otras afecciones digestivas (Boston public health commission , 2014).

Los serotipos de ECEH, como E. coli O157:H7 y E. coli 0111, producen diarrea que puede ser desde leve y no hemorrágica hasta altamente hemorrágica, siendo esta última indistinguible de la colitis hemorrágica, entre el 2% y el 7% de los enfermos desarrollan el síndrome hemolítico urémico (SHU), que puede ser mortal y se caracteriza por insuficiencia renal aguda y anemia hemolítica (Organización Mundial de la Salud, 2006).

2.2.2. Organismos bioindicadores

Los organismos bioindicadores son aquellos que nos dan un indicio de la alteración de un ecosistema o su preservación, por medio de estos se podrán determinar los cambios físicos químicos y biológicos de un hábitat, por lo que se determina el riesgo en el que se encuentran los otros organismos de la cadena trófica (Morales, 2011).

De igual manera Morales (2011), indica que los macroinvertebrados son organismos bentónicos que se encuentran en los cuerpos de agua o adheridos a sustratos como rocas, residuos vegetales o enterrados, estos se encuentran en sus diferentes etapas de su desarrollo y este grupo conformado por insectos, crustáceos, anélidos y moluscos, estos organismos son los más utilizados para poder determinar la alteración de un ecosistema debido a que: su ciclo de vida es igual o mayor a un año, son sensibles a los cambios ambientales, son sésiles, estenotolerantes y algunos euritolerantes. Son abundantes en la mayoría de cuerpos de aguas fácil de recolectar, son sedentarios por los que se encuentra de forma localizada, los efectos en su organismo de las variaciones ambientales son a corto plazo, fácil de identificar, varían poco genéticamente y se pueden cultivar en laboratorios (Morales, 2011).

2.2.2.1. Organismos bivalvos filtradores

La principal característica de los bivalvos es que tienen dos valvas unidas en la zona dorsal con una charnela, para el ingreso y salida del agua en su organismos abre ventralmente esta charnela dejando salir dos sifones uno inhalante y el otro exhalante, a este proceso se lo conoce como filtración (Sarabia-Deraz, Santos-

Ixcoy, & Ramírez-López, n.d.), como ejemplo un mejillón puede filtrar de 0.5 A 0.7 litros de agua por hora (Caceres & Vasquez, 2014).

Debido al proceso de filtración estos van acumulando dentro de su organismo (tubo digestivo, tejidos gonadales, sifonales y branquiales) contaminantes de origen biológico como bacterias, virus o parásitos que se encuentran presentes en el medio en el que se desarrollan (Cabrera, Díaz, Parra, & Ojeda, 2010).

En este sentido, los bivalvos al ser organismos filtradores concentran mayores contaminantes con respecto al ambiente acuático, entonces al ser utilizados como alimentos, son de interés de estudio, debido a los problemas de salud que pueden llevar consigo (Lee, Lovatelli, & Ababouch., 2010).

2.2.3. Crassostrea columbiensis

2.2.3.1. Taxonomía

Tabla 1 Taxonomía de *Crassostrea columbiensis* Fuente: (*World Register of Marine Species, 2018*)

Reino: Animalia

Phylum: Mollusca

Clase: Bivalvia

Subclase: Pteriomorphia

Orden: Ostreida

Superfamilia: Esteroideo

Subfamilia: Crassostreinae

Género: Crassostrea

Especie: *Crassostrea columbiensis*

2.2.3.2. Hábitat

La especie de molusco bivalvo *Crassostrea columbiensis* es una especie que habita en zonas estuarinas bajo un rango de salinidad aproximado de 30 a 41 UPS constituyéndose como una especie eurihalina, puede soportar temperaturas de 23.8 a 28 °C, el hábitat de este organismo es comúnmente las raíces de las especies de mangle rojo (*Rhizophora sp*) donde se encuentran adheridos rodeando esta superficie en su totalidad, su mayor grado de fijación es de 34 a 65 cm por debajo del nivel de la marea, puede permanecer de 6 a 8 horas aproximadamente fuera de la superficie (Baquerizo, 2003).

Geográficamente distribuido desde baja California hasta el norte de Perú, en nuestro País se encuentra localizado principalmente en el estuario del Golfo de Guayaquil, el Morro, Puna y Archipiélago de Jambeli (Mora, 1990).

2.2.4. Estuario

Se denomina estuario al sistema hídrico cuya corriente de agua dulce desemboca en ríos, los mismos que a su vez tienen su desembocadura al mar, entorno a esta desembocadura en donde el río y el mar se intersectan, formando un ambiente con características especiales y distintivas, entre agua dulce y agua salobre y entre ecosistemas terrestres y acuáticos de río y mar, el mismo que muestra características de transición entre dichos ecosistemas, formando un cuerpo de agua costero y semicerrado, que se extiende hasta el límite efectivo de la influencia de la marea, donde el agua salada ingresa por una o más conexiones significativamente con agua dulce derivada del drenaje terrestre, alojando así a diferentes especies biológicas desde oligohalinas hasta eurihalinas ya sea en su totalidad o de forma parcial en su ciclo de vida (Chang, 2009).

Por otra parte según Pierini (s. f.), un estuario es un área en la que el agua dulce de un río se mezcla con el agua salada del océano formando así un área de transición de la tierra y el océano, una de sus características es que esta mezcla

de agua dulce y salada producen que haya un cambio gradual en la salinidad conocido como gradiente de salinidad que se distribuye de la siguiente manera (ver figura 3).

Según la ubicación geográfica del estuario este se puede dividir desde el río hasta su desembocadura, presentando diferentes características: como el sustrato, el rango de salinidad desde la zona Limnética hasta la zona Eurihalina y una diversidad biológica de especies adaptadas a cada zona (ver tabla 2).

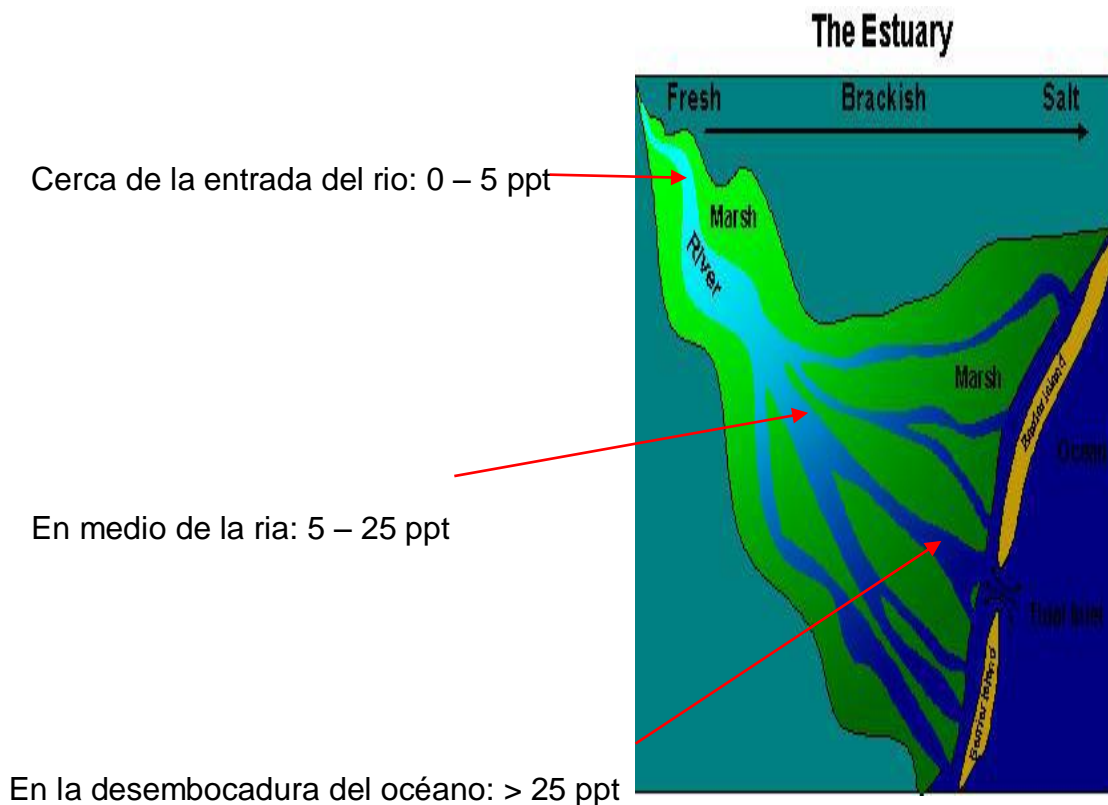


Figura 3. Gradiente de Salinidad en un Estuario (Pierini, s. f.)

Elaborado por: (Carreño, 2019)

Tabla 2. Características generales del estuario (Day, Crump, Kemp, & Yanez, 2013)

División de estuario	Sustrato	Rango de salinidad	Zona	Tipo de organismos
Rio	Gravas	<0.05	Limnética	Agua dulce
Cabeza	Cada vez más fino	0.5 – 5.0	Oligohalina	Oligohalinos, migrante de agua dulce
Alcances superiores	Barro, corrientes mínimas	5.0 – 18.0	Mesohalina	Estuario verdadero, límite de migrantes no transitorios
Medio alcance	Barros, un poco de arena	18.0 – 25.0	Polihalina	Estuarino, eurihalino
Alcances inferiores	Arena/ barro dependiendo de las corrientes de marea	25.0 – 30.0	Polihalina	Estuarino, eurihalino, migrantes marinos
Boca	Arena limpia/ roca.	30.0 – 35.0	Eurihalina	Estenohalino, todo marino

2.2.5. Manglares

Los manglares son ecosistemas de humedales dominado por especies arbóreas de mangle colonizadoras de la zona intermareal de paisajes costeros tropicales y subtropicales además de otras especies herbáceas que se adaptan al agua salada, es decir no solo está compuestos por especies de mangle sino por diversos organismos vegetales adaptados a esta zona (Day, Crump, Kemp, & Yanez, 2013).

Por otra parte, según Cornejo (2014), establece que los manglares son áreas de tierras ubicadas geográficamente cerca de zonas salinas, las cuales son influenciadas por el cambio de mareas, las mismas que pueden provocar la inundación de la zona por sus altas mareas, con una lenta capacidad de drenaje hace que estas áreas permanezcan inundadas durante un tiempo considerable, mantienen una salinidad alta durante la época seca la cual declina variablemente en época lluviosa.

La alta salinidad es uno de los parámetros contribuyentes a un desarrollo estructural de la vegetación menor, siendo las especies de mayor adaptabilidad el mangle negro (*Avicennia germinans*), y el mangle jeli (*Conocarpus erectus*) (Cornejo, 2014).

Los bosques de manglares están distribuidos en perches esparcidos a lo largo de las desembocaduras y deltas de los ríos estuarinos, los cuales forman considerables extensiones a lo largo del Golfo de Guayaquil y en el noroccidente del país, específicamente entre las Islas de Cayapas y Mataje, donde la marea varía desde 2.5 y 3 m llegando hasta 5 m en el Golfo de Guayaquil, donde se estima que existe un aproximado de setenta y nueve especies de plantas entre ellas: *Rhizophora mangle*, *R. racemosa*, *R. harrisonii*, *Laguncularia racemosa*, *Avicennia germans*, *Conocarpus erectus*, *Pelliciera rhizophorae* entre otras (Cornejo, 2014).

2.2.6. Concesión de manglares

Una concesión de manglar es una herramienta que se aplica a lo largo del perfil costero a través del Acuerdo de Uso Sustentable y de Custodia de Manglar, el cual otorga a las comunidades ancestrales el derecho para aprovechar de forma sustentable los recursos del área de manglar concesionada como; peces, moluscos y crustáceos, para su posterior comercialización, este derecho incluye única y exclusivamente las áreas de manglar ubicada dentro del área según las coordenadas establecida en los acuerdos, excluyendo esteros, bosques, matorrales, piscinas camaroneras y poblaciones, los requisitos para que una comunidad pueda acceder a una concesión se encuentran en los acuerdos ministeriales 129 y 144 (Ministerio del Ambiente , s. f.).

2.2.7. Servicios ambientales del manglar

Los servicios ambientales de mayor importancia que provee el ecosistema de manglar es que son bases fundamentales del ciclo de vida con una gran biodiversidad marino costera, esto atribuido principalmente al gran aporte de la materia orgánica que ejercen los manglares, manteniendo así a especies de importancia comercial, además entre los usos del mangle que no son tangibles al ser humano se ha reportado el aprovechamiento en forma de leña, madera y carbón, así como actividades de recreación y captura de carbono (Hernández, Molina, & Agraz, 2017).

2.2.8. Parámetros Físicoquímicos

Las aguas naturales suelen verse afectados por actividades antrópicas las mismas que alteran la composición fisicoquímica del agua, como la ganadería, las industrias a través de las descargas de sus aguas residuales sin tratamiento al sistema acuático.

2.2.8.1. pH

El potencial de hidrogeno es una medida del acidez o de la alcalinidad de cierta sustancias, el agua contiene iones libres de hidrogeno los cuales poseen un peso, o que define el pH, los iones pueden ser negativos (radical oxidrilo) o positivos (radical hidrogeno), el agua neutra tiene el mismo peso de aniones y cationes; los

números entre 0 a 7 son soluciones acidez, mientras los entre 7 a 14 son alcalinas (Gonzales, 2011).

2.2.8.2. Salinidad

El agua tiene la capacidad de disolver sales en fase sólida, por lo que es normal encontrar concentraciones de compuestos inorgánicos en forma iónica lo que en conjunto definen la salinidad de un medio acuoso; por lo que la salinidad es la suma de los iones inorgánicos disueltos, mayormente de Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , SO_4^{2-} , CO_3 , HCO_3 , esta salinidad puede tener origen geológico o antropogénicos por vertidos o lixiviados (Ribera, 2016).

En el ecosistema acuático tanto la salinidad como la conductividad son aportantes de información de sales solubles en el agua, además estos parámetros influyen netamente en el equilibrio osmótico de los organismos, limitando así la presencia de aquellos organismos no tolerantes, un impacto a menudo que suele presentarse en algunos estuarios es la modificación de las entradas de agua dulce y de flujos mareales con una marcada alteración de la salinidad del agua (Ibáñez, Caiola, Nebra, & Wessels, 2009).

2.2.8.3. Temperatura

Los cambios en la temperatura del agua no solo afecta a los organismos biológicos presentes en los cuerpos hídricos sino también la solubilidad de las sustancias, aumentando la de los sólidos disueltos y disminuyendo la de los gases, estos cambios en la temperatura suelen tener causas antropogénicas como el vertido de aguas industriales que interfieren en los procesos de intercambio de calor (Aznar & Alonso, 2000).

2.2.8.4. Conductividad eléctrica

La conductividad es la medida de la capacidad de conducir la corriente eléctrica algún medio acuoso, esta dependerá de los iones que contienen la sustancia líquida, la concentración, movilidad y valencia y temperatura; por lo que las soluciones con compuesto inorgánicos son mejores conductoras que las que contienen compuestos orgánicos (Sanabria, 2006).

2.3. Marco Legal

Tabla 3 Normativa Nacional e internacional Aplicable a la Investigación (Carreño, 2019)

Nº	REGISTRO OFICIAL	NORMATIVA LEGAL
NACIONALES		
1	R. O. 449 20/10/ 2008	Constitución de la república del Ecuador
2	R. O. 983 12/04/2017	Codigo Organico del Ambiente
3	Acuerdo Ministerial N° 299, Registro oficial N°34 del 11 de Julio de 2013	Normativa General Para Promover Y Regular La Producción Orgánica Ecológica -Biológica En El Ecuador
4	Acuerdo Ministerial N° 097A Edición Especial N° 387 Miércoles 4 de noviembre de 2015	ANEXO 1 del Libro VI del Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente: Norma de Calidad Ambiental y de Descarga de efluentes al recurso agua establecidos en la tabla 10 sobre las normas generales para descarga de efluentes a cuerpos de agua marina.
5	Acuerdo Ministerial 129 del 11 de Agosto del 2010	Acuerdos de Uso Sustentable y Custodia del manglar.
6	Acuerdo Ministerial 144 del 09 de agosto de 2011	Reforma el Acuerdo 129 con la finalidad de simplificar procedimientos para la aprobación de los Acuerdos de Uso sustentable y Custodia del Manglar.

7	Acuerdo Ministerial 131 del 19 de diciembre de 2013	Programa Nacional de incentivos a la conservación y uso sostenible del Patrimonio Natural Socio Bosque
8	Acuerdo Ministerial N° 002-2013	APARABAFIE, Puerto Salinas, La Merced, Puerto Arturo.

INTERNACIONALES

9	CODEX STAN 292-2008	Norma para los moluscos bivalvos vivos y los moluscos bivalvos crudos
10	DECRETO SUPREMO N° 07-2004	Norma Sanitaria de Moluscos Bivalvos Vivos Perú
11	REGLAMENTO (CE) N° 854/2004	Parlamento Europeo Y El Consejo De La Unión Europea
12	NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-031-SSA1-1993	Bienes Y Servicios. Productos De La Pesca. Moluscos Bivalvos Frescos -Refrigerados y Congelados. Especificaciones Sanitarias.

CAPÍTULO III

3. Metodología

Para el desarrollo metodológico de este estudio y análisis, partiendo de los supuestos anteriores se establecieron 8 estaciones de muestreo, en una salida de campo, en consecuencia, a las características de los ostiones que según los comuneros recolectores de Puerto Salinas mencionan que en época lluviosa estos organismos tienden a migrar de su hábitat Chalen (2018), permitiendo así desarrollar el muestreo en época seca.

Sobre las bases de las ideas expuestas, se fijaron 2 visitas al área de estudio en el siguiente calendario.

Tabla 4 Calendario de Actividades de Campo (Carreño, 2019)

FECHA	ACTIVIDAD
20/10/2018	Reconocimiento del área de estudio y caracterización del hábitat de la especie.
20/11/2018	Toma de puntos con GPS, Muestreo de ostiones y parámetros fisicoquímicos del agua.

3.1. Reconocimiento del área de estudio.

Con el objeto del desarrollo de esta investigación se realizó una visita previa al muestreo, para el reconocimiento del área de estudio y la distribución de la especie en la zona, donde también se logró entablar una comunicación con los recolectores de ostiones y cangrejeros de la zona, para determinar la caracterización del hábitat de la especie *Crassostrea columbiensis*, en base a la información brindada por los comuneros (ver anexo 2), respaldada por el Plan de Manejo de la Concesión.



Figura 4. Área concesionada
Elaborado por: (Carreño, 2019)



Figura 5. Comunidad de Puerto Salinas
Elaborado por: (Carreño, 2019)

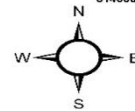
3.2. Etapa de muestreo

El muestreo se realizó en el mes de noviembre 2018 en la época más seca del año donde se establecieron 8 estaciones utilizando GPS (ver figura 6), mientras que las muestras fueron recolectadas en bajamar tomando 30 ejemplares de la especie (*Crassostrea columbiensis*) en cada punto establecido para proceder al análisis microbiológico.

MAPA DE MUESTREO, PUERTO SALINAS



Muestras de Ostión	Coordenada X	Coordenada Y	Muestras de Agua	Coordenada X	Coordenada Y
Muestra 1	610785,4561	9715851,855	Muestra 1	610887,0004	9715904,63
Muestra 2	610602,6693	9715063,073	Muestra 2	610682,8641	9714983,155
Muestra 3	611664,4298	9714481,049	Muestra 3	611710,1477	9714378,35
Muestra 4	611672,0018	9712478,404	Muestra 4	611670,4115	9712594,806
Muestra 5	609402,6179	9713432,889	Muestra 5	609515,926	9713432,676
Muestra 6	608766,5971	9713209,426	Muestra 6	608874,6703	9713248,724
Muestra 7	608945,4106	9712537,273	Muestra 7	609047,8692	9712493,327
Muestra 8	609097,6833	9709573,58	Muestra 8	609010,213	9709649,243



Sistema de Coordenadas: WGS 1984 UTM Zone 17S
 Proyección: Transverse Mercator
 Datum: WGS 1984
 0 0,425 0,85 1,7 2,55 3,4 kilómetros



GOLFO DE GUAYAQUIL RESPECTO A LA PROVINCIA DEL GUAYAS



ISLA ESCALANTE RESPECTO AL GOLFO DE GUAYAQUIL



Leyenda

- Muestras de Ostiones
- Muestras de Agua

FUENTE:
 Google Maps

ELABORADO POR:
 HENRY CARREÑO

Figura 6. Mapa de Muestreo
 Elaborado por: (Carreño, 2019)

El método de recolección que se empleó fue de forma artesanal y propio de los pescadores y recolectores de Puerto Salinas (ver anexo 4), el cual consistió en identificar mediante observación simple las raíces de mangle rojo (*Rhizophorae sp*) que contiene los ostiones adheridos a las mismas, utilizando navaja o cuchillo para desprender el ostión vivo de las raíces y (ver figura 7).



Figura 7. Extracción de ostiones vivos

Elaborado por: (Carreño, 2019)

Al mismo tiempo se establecieron 8 estaciones adicionales en cada punto de muestreo, para la toma de muestras de agua para el análisis de parámetros fisicoquímicos como salinidad, conductividad eléctrica y pH, en cuanto a la temperatura se la determino in situ (ver anexo 3), (ver figura 6).

Tabla 5. Equipos utilizados para el análisis fisicoquímico del agua (Carreño, 2019)

PARAMETRO	EQUIPO	ANALISIS
Temperatura	Termómetro de mercurio	In-Situ
PH	PH metro modelo YSI pH10	Ex-Situ
Salinidad	refractómetro modelo ATC/mil-E	Ex-Situ
Conductividad eléctrica	Multiparametro Apera PC60	Ex-Situ



Figura 8. Toma de muestra de agua para análisis de pH, Salinidad, Conductividad eléctrica

Elaborado por: (Carreño, 2019)



Figura 9. Análisis In Situ Temperatura

Elaborado por: (Carreño, 2019)

3.3. Transporte de las muestras

Las muestras fueron colocadas en fundas de ziploc hermetizadas y correctamente rotuladas (ver anexo 4), igualmente las muestras de agua fueron colocadas en envases plásticos herméticos y rotulados para evitar la contaminación cruzada, y fueron transportadas en refrigeración manteniendo una temperatura promedio de 8 a 15°C, al laboratorio de Microbiología del Instituto de Investigaciones de Recursos Naturales (IIRN) de la Facultad de Ciencias Naturales, donde fueron

correctamente procesadas dentro de un tiempo menor de 24 horas, desde la recolección como lo establecen las normas del laboratorio.

3.4. Medios de cultivo.

Los medios de cultivos utilizados para el procesamiento de las muestras en el laboratorio se detallan a continuación.

3.4.1. Agar Chromocult

Es un medio de detección simultánea para *E. coli* y Coliformes en muestras de alimentos y muestras de agua, este cuenta con la aprobación de la EPA (Agencia de Protección Ambiental) y la AOAC (Asociación de Químicos Agrícolas Oficiales), el cual está compuesto por la combinación de dos sustratos cromogénicos que son los que permiten la detección de los dos tipos de bacterias coliformes los de tipo β -D Galactosidasa y los de β -D Glucuronidasa provocando una coloración roja en el primer grupo y de color azul violeta para el segundo grupo que son las que identifican las colonias positivas de *E. coli* (Merck, 2014).

3.4.2. Agua de Peptona

El agua de Peptona es un medio de enriquecimiento no selectivo, por el cual la peptona proporciona nutrientes indispensables para el desarrollo microbiano mientras el cloruro de sodio es el encargado de mantener el balance osmótico, permitiendo así recuperar todo tipo de células de enterobacterias dañadas por distintos procesos fisicoquímicos a los que hayan estado expuestas (Laboratorios Britania S.A., 2015).

3.5. Etapa de Laboratorio

3.5.1. Selección de muestras y lavado.

Una vez en el laboratorio se llevó a cabo la selección al azar de 10 ejemplares de la especie *Crassostrea columbiensis* para luego proceder a realizar el lavado con solución salina al 0.85% con el objetivo eliminar la contaminación de la parte externa de los organismos (ver figura 10) y en cuanto a los 20 individuos de cada muestra restante se lo tomo como contra muestra (ver anexo 6).



Figura 10. Lavado de las muestras con solución salina

Elaborado por: (Carreño, 2019)

3.5.2. Medición morfométrica de los ostiones

Una vez lavados todos los ostiones se tomó el 30% de cada muestra para medir el ancho y largo utilizando el equipo pie de rey, calibrado por el INEN bajo la Norma NTE INEN-ISO 17025:2006. (Ver figura 11).



Figura 11 Medición Morfométrica

Elaborado por: (Carreño, 2019)

3.5.3. Desconchado y Pesaje

Posteriormente se procedió al desconchado de cada uno de los moluscos (ver figura 12), colocando en frascos estériles todo el líquido y la pulpa generado por cada organismo, luego se pesó 30 g de cada muestra (ver figura 13).



Figura 12 Desconchado de las muestras

Elaborado por: (Carreño, 2019)

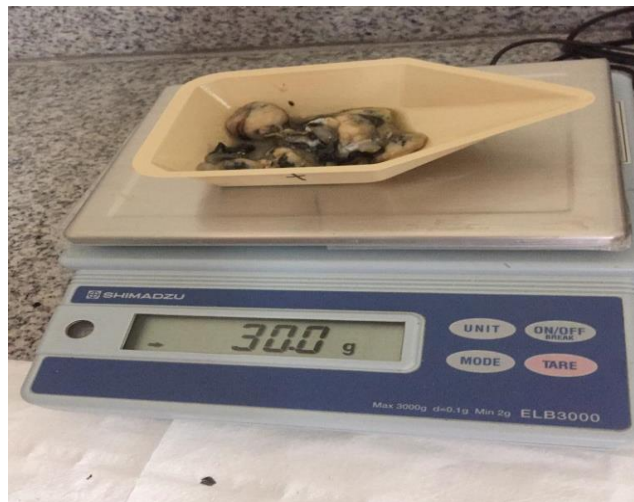


Figura 13. Pesaje de 30 g de cada muestra después del desconchado

Elaborado por: (Carreño, 2019)

3.5.4. Maceración

Se macero los 30 g de cada muestra con 270 ml de agua de peptona (medio de enriquecimiento) para obtener la muestra madre (ver figura 14).



Figura 14 Muestra madre, macerada y homogenizada

Elaborado por: (Carreño, 2019)

3.5.5. Diluciones

Siguiendo con esta actividad se procedió a colocar 9 ml de agua de peptona en tubos de ensayo esterilizados y rotulados (ver anexo 5), para realizar las diluciones, que consistió en colocar 1ml de la muestra madre en el tubo $1/10^{-1}$, $1/10^{-2}$, $1/10^{-3}$, $1/10^{-4}$ $1/10^{-5}$ dilución por triplicado de cada muestra (ver figura 15).



Figura 15 Proceso de dilución en tubos de ensayo

Elaborado por: (Carreño, 2019)

3.5.6. Sembrado de muestras

Posteriormente se procedió a realizar las siembras por la técnica ISO 9308-1 vertido en placa, colocando 1ml de cada dilución en cajas Petri, luego se adicionó 15 ml de medio de cultivo Agar Chromocult, homogenizando con movimientos en forma circular y se dejó solidificando durante 5 min (ver figura 16).



Figura 16 Siembra de las muestras por la Técnica ISO 9308-1 vertido en placa

Elaborado por: (Carreño, 2019)

3.5.7. Incubación y conteo de muestras

Posteriormente se incubaron las placas a una temperatura de 35 -37°C por un lapso de 20 horas, luego de este tiempo se observó por la coloración en las placas que no hubo crecimiento de *Escherichia coli*, pero se evidencio el crecimiento de coliformes totales (ver figura 17), las cuales se procedió a cuantificar mediante un contador de colonias bacterianas seleccionando la cuarta dilución en todas las muestras (ver figura 18).



Figura 17 Crecimiento de colonias de coliformes totales en todas las muestras

Elaborado por: (Carreño, 2019)



Figura 18 Cuantificación de colonias de coliformes totales mediante un contador de colonias bacterianas

Elaborado por: (Carreño, 2019)

3.5.8. Control negativo y positivo

También se realizaron controles negativos (sin bacteria) y positivos con cepas certificadas de referencia ATCC 11229 de *E. coli*, para comprobar que dentro del método utilizado en el laboratorio no hubo contaminación cruzada y que los valores obtenidos en el resultado final son confiables (ver figura 19).

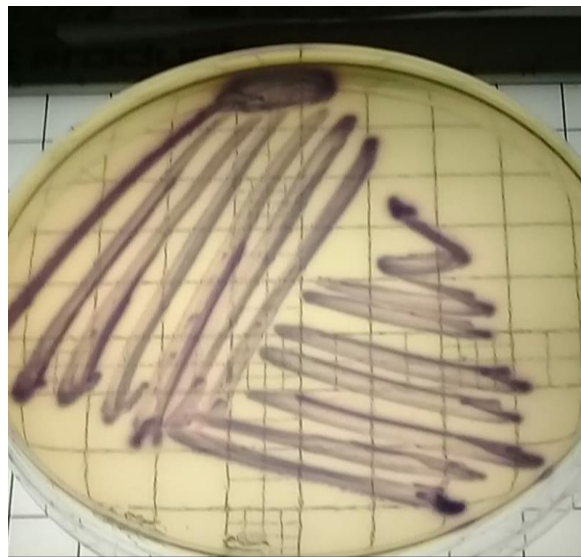


Figura 19 Cepas certificadas de referencia ATCC 11229 de *E. coli*

Elaborado por: (Carreño, 2019)

3.5.9. Pruebas de confirmación

Adicionalmente también se realizaron pruebas de confirmación (ver anexo 7).

3.5.9.1. Tinción de Gram.

Esta prueba fue desarrollada en 1884 por el bacteriólogo Danes Hans Christian Gram, y es considerada uno de los más útiles procedimientos de tinción debido a que divide a las bacterias en dos grupos; las Gram positivas y Gram negativas, esto se puede verificar en el microscopio con el fundamento que si se colorean de violeta oscuro o purpura, las bacterias que retienen este color después que el alcohol a intentado decolorarlas son clasificadas como Gram positivas, mientras que las bacterias que pierden el color violeta o purpura después de la decoloración son clasificadas como Gram negativas (Gram, 1884).

Según Lopez et al, (2014), La tinción de Gram es una prueba microbiológica diferencial ya que determina dos grandes grupos bacterianos las Gram negativas y positivas, la misma que en la actualidad sigue siendo una de las tinciones más utilizada en microbiología clínica por su capacidad potencial de diferenciar microorganismos causantes de una infección además de obtener resultados confiables por su bajo valor económico y por el sencillo desarrollo de la misma (ver figura 20).

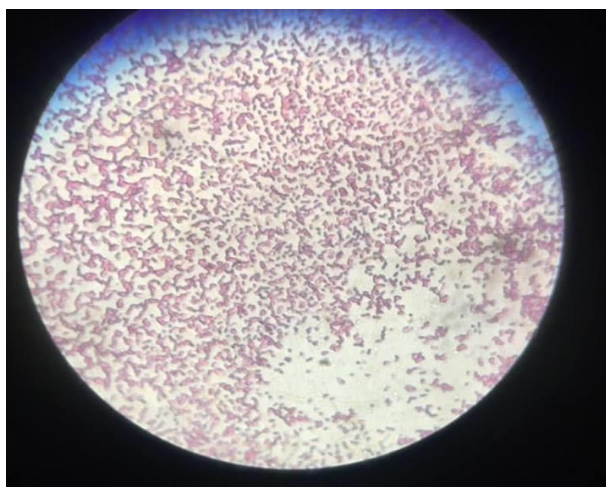


Figura 20 Prueba de Gram en el microscopio

Elaborado por: (Carreño, 2019)

3.5.9.2. Prueba de Oxidasa

Con esta prueba se detecta la presencia de la enzima citocromo oxidasa, utilizando el asa de platino debido a que el asa de nícrón cromada da un resultado falso positivo, para determinar esta prueba existe el papel impregnado con el reactivo, el mismo que debe ser humedecido con agua destilada, tomando el inóculo bacteriano y al frotarlo sobre el papel reactivo este se torna de un color violeta fuerte en caso de ser positivo y de ser negativo no cambia de color (ver figura 21), (Montoya, 2008).

Al aplicar la prueba de Oxidasa se verificó que el inóculo bacteriano es negativo debido que el mismo no presentó ninguna variabilidad de color (ver figura 21).



Figura 21 Prueba de Oxidasa

Elaborado por: (Carreño, 2019)

3.6. Análisis Estadístico

Una vez realizado el análisis microbiológico, se utilizó el programa estadístico de Minitab para el procesamiento de datos mediante el método de ANOVA de dos vías (ver anexo 8), para identificar la variabilidad de contaminación por bacterias entre los diferentes puntos (Prueba de Tukey) (ver figura 23), y para establecer una correlación entre los resultados de contaminación y los parámetros fisicoquímicos aplicando la correlación de Pearson (ver tabla 9).

CAPÍTULO IV

4. Resultados

4.1. Caracterización del Hábitat de la especie *Crassostrea Columbiensis*.

Basándose en la observación técnica del lugar y la información brindada por los comuneros de Puerto Salinas, se caracterizó el hábitat de las especie *Crassostrea columbiensis* en época seca, la cual es una especie de molusco bivalvo que habita en el bosque de manglar del Golfo de Guayaquil, específicamente adheridas a las raíces de mangle rojo del genero *Rhizophora*, a una profundidad aproximada de 30 a 60 cm por debajo del nivel de la marea, se la considera una especie eurihalinas ya que su hábitat presenta una salinidad constante de 30 UPS y una temperatura promedio de 25,8 °C (ver tabla 6).

Tabla 6 Características generales de la especie *Crasostrea columbiensis* en Puerto Salinas
(Carreño, 2019).

Característica	Descripción
Características Morfológicas	Concha de talla mediana de forma variable desde triangular a trapezoidal o redondeada, rugosa y con lamelas irregulares, interiormente es de color blanco amarillenta con una franja gris oscura bordeando las valvas.
Distribución Local (Puerto Salinas)	Estuario del Golfo de Guayaquil, área concesionada APARABAFIE, isla Escalante, Comunidad de Puerto Salinas (en Época Seca).
Habitad	En ecosistema de manglar, adherida a las raíces aéreas de los árboles de mangle rojo Genero <i>Rhizophora</i> .
Tipo de pesca	Artesanal.
Arte de pesca	Extracción Manual (se emplea cuchillo).

Además se realizó un análisis general del estuario en Puerto Salinas dentro del Golfo de Guayaquil, donde se detallan las especies representativas y el lugar que ocupan dentro del ecosistema de manglar (ver Figura 22).

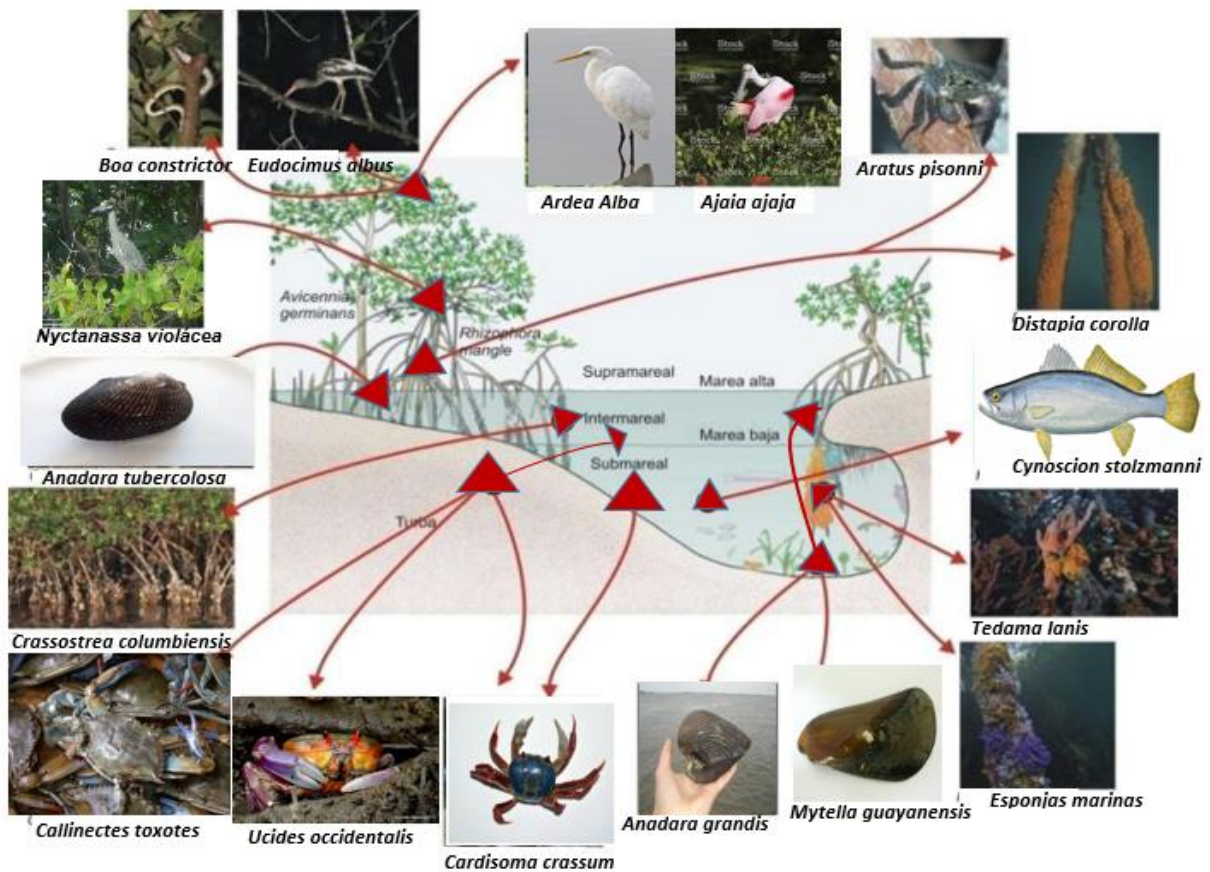


Figura 22 . Especies que habitan en el ecosistema de manglar en Puerto Salinas- Golfo de Guayaquil

Elaborado por: (Carreño, 2019)

4.1.1. Medición Morfométrica de los individuos de *Crassostrea columbiensis*.

Se llevó a cabo la medición morfométrica en el laboratorio estando todavía los individuos vivos. Las medidas que se tomaron fueron; el largo (mm), y el ancho de las valvas (mm) de los ostiones en cada punto de muestreo se seleccionaron al azar el 30% de los individuos colectados.

Los resultados obtenidos se describen en la tabla N.- 7, donde se detalla cada una de las tallas de los individuos que fueron medidos.

Tabla 7 Talla (largo y ancho) del 30% de individuos de la especie (*Crassostrea columbiensis*), recolectada en cada punto de muestro (Carreño, 2019)

INDIVIDUOS OSTIONES	PUNTO 1		PUNTO 2		PUNTO 3		PUNTO 4		PUNTO 5		PUNTO 6		PUNTO 7		PUNTO 8	
	largo (mm)	ancho (mm)	largo (mm)	ancho (mm)	largo (mm)	ancho (mm)	largo (mm)	ancho (mm)	largo (mm)	ancho (mm)	largo (mm)	ancho (mm)	largo (mm)	ancho (mm)	largo (mm)	ancho (mm)
1	50,12	42,1	44,45	36,33	55,26	48,12	56,43	47	56,31	46,8	64,44	58,1	55,64	48	57,12	50,37
2	56,43	49,32	42,43	34,3	54,2	44,3	55,13	47,9	55,46	47,5	66,43	59,7	57,69	50,6	48,33	37,3
3	52,23	43,3	40,44	31,5	49,73	38,3	58,29	49,8	61,43	50,2	66,12	58,7	60,45	50,8	56,42	48,5
4	58,3	50,1	48,65	38,2	51,89	42,2	58,21	49,3	49,7	38,6	64,5	54,5	61,3	49,7	55,54	44,4
5	55,45	48,2	53,18	42,23	48,32	37,4	52,31	43,5	58	49,7	68,11	59,7	52,45	41,5	53,58	42,4
6	55,3	48,1	48,61	37,9	43,14	35,3	49,16	36,4	56,5	47,8	61,31	49,7	53,65	41,6	59,88	49,4
7	57	49,8	52,57	43,7	45,87	36,4	58,15	48,9	55,18	47,2	65,9	55,6	52,66	40,3	50,4	41,9
8	58,15	50,1	46,4	38,3	42,32	34,2	51,6	40,2	57,2	49,3	64,6	54,6	59,12	48,5	55,66	43,8
9	53,19	42,7	55,72	48,2	54,95	48	47,08	38,3	51,88	40,6	72,32	60,3	52,48	41,3	50,33	43,8
PROMEDIO	55,13	47,08	48,05	38,96	49,52	40,46	54,04	44,59	55,74	46,41	65,97	56,77	56,16	45,81	54,14	44,65

1.- En la cual se identificó que el individuo más pequeño pertenece al P2 con un tamaño de 40,44 mm de largo y 31,5 mm de ancho.

2.- Así mismo se identificó que el individuo de mayor tamaño medido pertenece al P6 con un tamaño de 72,32 mm de largo y 60,3 mm de ancho.

3.- En cuanto al promedio de la talla de los ostiones de forma general en cada punto se detectó que esta se encuentra en un promedio mínimo de 48,05 mm de largo y 38,96 mm de ancho identificado en el P2 y un promedio máximo de 65,97 mm de largo y 56,77 mm de ancho.

4.2. Determinación del nivel de coliformes totales y *E. coli*

Para determinar el nivel de contaminación de Coliformes totales y *E. coli* se llevó a cabo el análisis microbiológico descrito en la metodología, mediante el cual se obtuvo los siguientes resultados (ver figura 23).

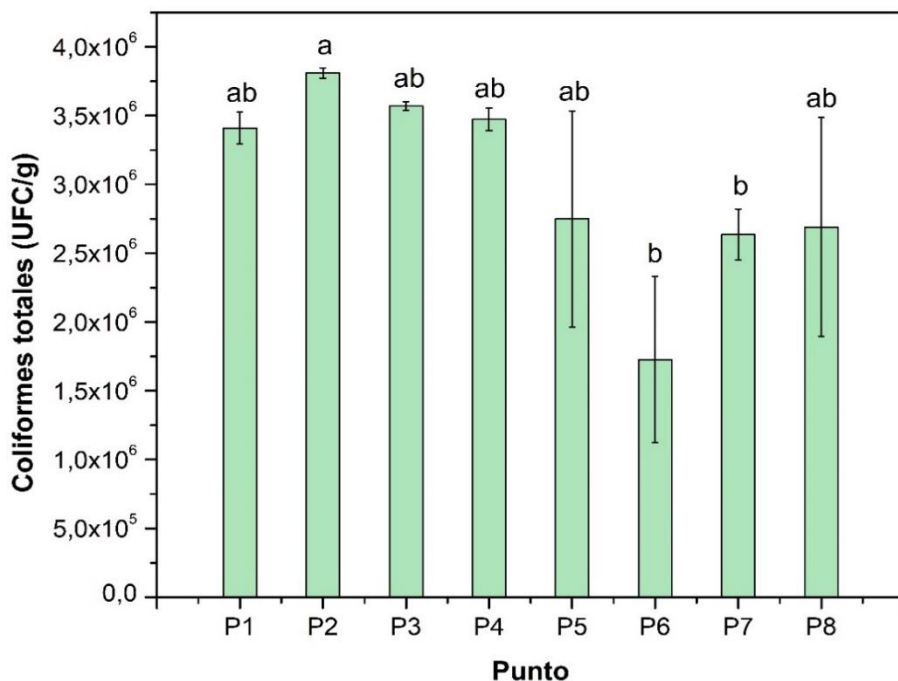


Figura 23 Niveles de Coliformes totales en *Crassostrea columbiensis* en los diferentes puntos. Los resultados se muestran como media \pm desviación estándar y con la varianza de cada punto representada por las letras a, b, ab.

Elaborado por: (Carreño, 2019)

1.- En los ocho puntos hubo ausencia de *Escherichia coli*.

2.- En cuanto a las coliformes totales se observó una alta concentración en todos los puntos. Como se aprecie en la (figura 23) siendo el de mayor concentración el P2 con $3,8 \times 10^6 \pm 3,7 \times 10^4$ UFC/g y la menor $1,72 \times 10^6 \pm 6,04 \times 10^5$ UFC/g ($F= 4,74$; $p= 0,005$).

4.3. Medición de los Parámetros Físicoquímicos del agua en los puntos de muestro

Los resultados de los parámetros físicoquímicos del agua (pH Salinidad Temperatura Conductiva Eléctrica) que se obtuvieron fueron los siguientes (ver tabla 8).

Tabla 8. Resultados de Los Parámetros Físicoquímicos pH, Salinidad, Temperatura, Conductividad eléctrica (Carreño, 2019)

PUNTOS	PH	SALINIDAD (UPS)	TEMPERATURA (°C)	CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA (mS/cm)
P1	7.1	30	26	19.99
P2	6.3	30	26	19.99
P3	7.5	30	25.6	19.99
P4	7.6	30	25.7	19.99
P5	7.5	30	25.7	19.99
P6	7.7	30	26	19.99
P7	7.5	30	25.8	19.99
P8	7.6	30	25.6	19.99
\bar{X}	7,35	30	25.8	19.99

Los parámetros fisicoquímicos no tuvieron una variabilidad significativa en los ocho puntos de muestreo, con una conductividad eléctrica de 19,99 estable para todos los puntos. En cuanto el parámetro de salinidad detectado fue de 30 UPS (Unidades Practicas de Salinidad), lo que demuestra una estabilidad apropiada para especies eurihalinas como los ostiones en temporada seca, lo que nos indica además que el estuario se encuentra ubicado próximo a la desembocadura del océano (figura 3) según (Pierini, s. f.).

Sin embargo, se detectó una variabilidad poco significativa en cuanto a la temperatura del área la cual oscila entre los 25,6°C a 26°C. En cuanto al nivel de pH el más bajo fue de 6.3 (ácido) el cual se detectó en el P2 y el nivel más alto fue de 7.7 (alcalino) el cual fue detectado en el P6 (ver tabla 8).

4.3.1. Correlación de Pearson entre los resultados de los parámetros fisicoquímicos y el nivel de coliformes totales.

En base a estos resultados se aplicó la correlación de Pearson (Valor p) entre los parámetros fisicoquímicos con respecto a los valor de coliformes totales detectados en cada punto, la cual determina una medida lineal entre las dos variables aleatorias cuantitativas (ver tabla 9).

Tabla 9 Correlación Coliformes Totales, pH, Salinidad, Temperatura, Conductividad eléctrica (Carreño, 2019)

Temperatura	Coliformes Totales	pH	Salinidad
PH	-0,436 0,033		
Salinidad	*	*	
Temperatura	-0,07 0,744	-0,543 0,006	*
Conductividad Eléctrica	*	*	*

Dando como resultado que existe una correlación inversamente proporcional entre los valores de pH y el nivel de coliformes totales, es decir cuando el nivel de pH tiende decrecer (ácido) el nivel de coliformes totales incrementa (ver tabla 9).

4.3.2. Correlación de Pearson entre Coliformes Totales Vs la distancia al Poblado de Puerto Salinas en (km)

Por otra parte también se aplicó la correlación de Pearson de coliformes totales y la distancia al poblado de Puerto Salinas en kilómetros (ver figura 24).

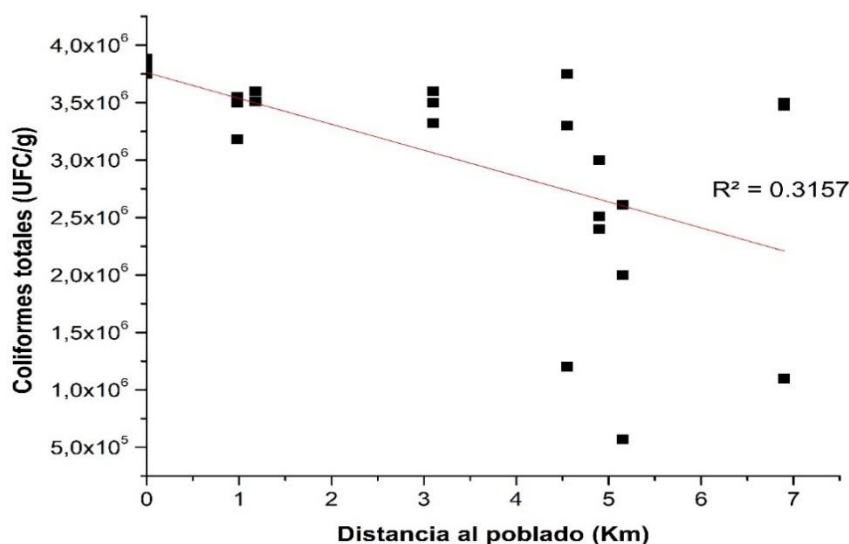


Figura 24 Correlación de Pearson entre la distancia al poblado y los niveles de coliformes totales de cada Punto

Elaborado por: (Carreño, 2019)

Mostrando como resultado una correlación inversamente proporcional entre la concentración de coliformes totales y la distancia del punto de muestreo a la zona poblada ($r=-0,562$; $p= 0,004$), es decir, en las zonas más cercanas a la población se aprecia mayor concentración de coliformes totales (ver figura 24).

4.4. Comparación de los niveles de coliformes totales con el límite máximo permisible establecido en la NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-031-SSA1-1993

Se realizó un análisis comparativo entre los valores detectados de coliformes totales en el presente estudio con la NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-031-SSA1-1993, bienes y servicios productos de la pesca, moluscos bivalvos frescos - refrigerados y congelados, especificaciones sanitarias que es de $2,3 \times 10^2$ UFC/100g donde se obtuvo la siguiente representación, (ver figura 25).

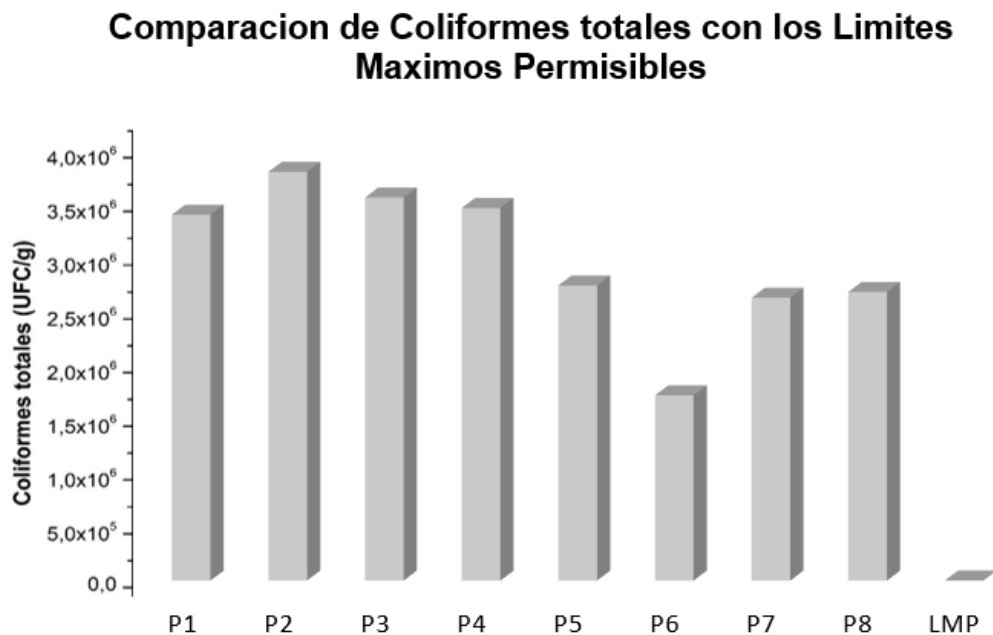


Figura 25 Comparación entre los niveles de coliformes totales detectados para cada punto con el límite máximo permisible

Elaborado por: (Carreño, 2019)

Lo que demuestra que todos los puntos superaron el límite máximo permisible siendo el punto más contaminado el P2 con una concentración de $3,8 \times 10^6$ UFC/g y el P6 el menos contaminado con $1,72 \times 10^6$ UFC/g a pesar de que el nivel de contaminación disminuyo notoriamente en los puntos más alejados del poblado todos se encuentran exageradamente sobre el límite.

4.5. Discusión

El estuario del Golfo de Guayaquil, es un área productiva considerada así por su capacidad de brindar múltiples servicios ambientales, siendo uno de ellos el hábitat de diferentes especies marinas (ver figura 22), que son consideradas de gran valor comercial por las poblaciones locales que viven en las islas del Golfo de Guayaquil, motivo por el cual se ejerce una presión sobre la captura de esta especie.

La contaminación del sistema estuarino es causada por diferentes actividades antropogénicas que se desarrollan en todo el delta de los ríos que forman el Estuario, principalmente por descargas de desechos orgánicos y agua residuales no tratadas previamente, lo que afecta no solo a la calidad del agua sino también a los organismos con características filtradoras como los moluscos bivalvos (Bravo & Ortega, 2012).

En este trabajo de investigación se determinó el nivel de contaminación por coliformes totales y *E.coli* en el área concesionada de Puerto Salinas Golfo de Guayaquil, mediante el cual se identificó la ausencia total de la bacteria *E. coli*, mientras que coliformes totales se detectaron valores que sobrepasan el límite máximo permisible de acuerdo a las normativas internacionales (ver figura 25).

Siendo el Punto 2 el que presenta el mayor índice de contaminación alcanzando un valor máximo de $(3,8 \times 10^6)$ UFC/g), este punto es el más cercano al poblado de Puerto Salinas con respecto a la distancia de los otros puntos (ver figura 6), identificándose como una de las principales fuentes de contaminación por las actividades locales de la comunidad que están dentro del ecosistema de manglar del Golfo de Guayaquil.

Sin embargo en todos los puntos muestreados presentaron altas concentraciones de coliformes totales (ver figura 23), lo que nos indica que además

del poblado de Puerto Salinas hay otros factores tanto naturales como antropogénicos que podrían estar contribuyendo a la distribución de este grupo de bacterias en todo el ecosistema, como otras poblaciones que se encuentran dentro del Golfo de Guayaquil, camarónicas que limitan el área, además de las corrientes marítimas dentro del sistema estuarino, las cuales fluctúan constantemente y en diferentes épocas que van arrastrando todo tipo de materiales orgánico e inorgánico desde la cuenca media de los ríos contribuyentes al estuario.

En cuanto a los parámetros de calidad de agua pH, salinidad, conductividad eléctrica y temperatura que fueron tomados en el día del muestreo en noviembre del 2018 que es el mes más seco de la zona (sin lluvia) (ver tabla 8), donde se realizó un análisis estadístico, para ello se empleó la correlación de Pearson, la cual dio como resultados, la existencia de una relación inversamente proporcional con las oscilaciones de pH y coliformes totales en los diferentes puntos, es decir cuando el pH tiende a ser ácido (menor a 7) el nivel de colonias formadoras de las bacterias de coliformes totales se incrementa (ver tabla 9).

Utilizando el mismo método estadístico dio como resultado una correlación descriptiva entre la distancia de los puntos de muestreo en kilómetros al poblado de Puerto Salinas y los niveles de colonias formadoras coliformes totales en cada punto de muestreo, los cuales se muestran con una relación inversamente proporcional, que nos indica que mientras el punto de muestreo se aleja del poblado este disminuye su nivel de contaminación por coliformes totales (ver figura 24).

En comparación a otros estudios realizados en moluscos bivalvos encontramos características comunes en cuanto al nivel de contaminación bacteriológico, esto debido a su capacidad de filtración, tal es el caso del estudio desarrollado por Siguencia (2010), en la cual se detectó mediante análisis microbiológico la presencia de coliformes totales y *E. coli* en las especies *Mytella guayanensis* y *Ostrea columbiensis* en Puerto Hondo Ecuador (Ver anexo 1), en el cual se

presentaron rangos desde 20 a 815 UFC/g para coliformes totales y de 20 a 350 UFC/g para *E. coli* pero con una particularidad que este parámetro estuvo ausente en la especie *Ostrea columbiensis* (Siguencia, 2010).

Lo que nos indica que en el presente trabajo de investigación detecto rangos mayores de contaminación por coliformes totales en la especie *Crassostrea columbiensis* en Puerto Salinas, mientras que en el estudio desarrollado por Siguencia (2010), en los manglares de Puerto Hondo - Estero Salado Golfo de Guayaquil km 20 vía la Costa, se determinó la presencia de *Escherichia coli* en la especie *Mytella guayanensis* y en la especie *Ostrea columbiensis* al igual que en el presente estudio en la especie *Crassostrea columbiensis* no se no se detectó presencia de *E. coli*.

Por otra parte según un estudio realizado por Delgado (2018), desarrollado en los manglares de Puerto el Morro – Golfo de Guayaquil (Ver anexo 1), se detectaron concentraciones de coliformes totales en *Anadara tuberculosa* y *Anadara similis* con oscilaciones que van desde 8×10^3 hasta 9×10^8 UFC/100g además en este estudio se detectó la presencia de *Escherichia coli* con un rango de 4×10^3 hasta 2×10^7 UFC/100g, presentando así un mayor índice de contaminación que en los resultados obtenidos, tanto por coliformes totales como la presencia de *Escherichia coli*.

En Venezuela un estudio desarrollado por Sarcos & Botero (2005), en el Estado de Zulia donde se analizó el nivel de coliformes totales y *Escherichia coli* en almejas de la especie (*Polymesoda solida*), dio como resultado concentraciones variables que van desde 1.8×10^2 hasta 9.2×10^2 NMP/100g de coliformes totales y valores significativos de *Escherichia coli* que van desde 1.8×10^2 - 1.9×10^3 NMP/100g.

De igual manera se realizó un estudio en los estuarios de Barra de Santiago, El Tamarindo y Jeltepeque ubicados en la Bahía de Jiquilisco en el Salvador en donde se determinó el nivel de contaminación por coliformes fecales en moluscos bivalvos de la especie *Anadara similis* y *Anadara tuberculosa*, mostrando altas concentraciones en el estuario el tamarindo demarcando oscilaciones desde 2 hasta 1100 NMP/g y bajas concentraciones en el estuario Barra de Santiago con un rango de 2 hasta 93 NMP/g (Sosa, 2006).

Asimismo se llevó a cabo un estudio por González (2014), donde se realizó una evaluación bacteriológica del ostion americano *Crassostrea virginica* en las lagunas de manglares de Tampamachoco, Veracruz, México en los meses de Abril a Septiembre donde se detectó que en el mes de abril se registraron los valores más bajos siendo estos de 11 NMP/100g para coliformes totales y de 3 NMP/100g de coliformes fecales los cuales incrementaron notablemente para los meses de agosto y septiembre llegando a registrar valores mayores de 1100 NPM/100g, tanto para coliformes totales como para coliformes fecales.

Lo que demuestra que en otros países se han desarrollado investigaciones similares en diferentes especies de moluscos bivalvos los cuales muestran valores inferiores de coliformes totales en sus resultados, pero muestran un alto índice de contaminación por *E. coli*.

Al comparar los niveles de contaminación en diversos estudios desarrollados tanto a nivel nacional e internacional con los resultados obtenidos en el presente estudio, se puede presumir que todas las especies de moluscos bivalvos bioacumulan enterobacterias de origen fecal, con una marcada variabilidad en sus concentraciones en las diferentes especies de bivalvos con características filtradoras que habitan en humedales marinos costeros, asumiendo que esto se debe a la ubicación geográfica de las Ciudades o pequeñas Poblaciones de Comunidades que se han desarrollado en los estuarios y las condiciones del mal

manejo de aguas residuales de estas zonas de influencia las cuales son descargadas directamente al estuario sin previo tratamiento, alterando como consecuencia los parametros fisicoquimicos del agua.

4.6. Conclusiones

Una vez obtenido los resultados se concluye con los siguientes puntos.

- El área estudiada en la zona de manglar en Puerto Salinas del Golfo de Guayaquil existe un alto nivel de contaminación por coliformes totales en todos los puntos de muestreo en la especie de moluscos bivalvos *Crassostrea columbiensis*.
- Se logró evidenciar a través del análisis microbiológico que el Punto donde hubo mayores concentraciones de coliformes totales fue el P2 con $3,8 \times 10^6$ UFC/g, siendo este el punto más cercano al poblado de Puerto Salinas.
- También se pudo evidenciar la ausencia de *Escherichia coli* en todos los puntos de muestreo.
- A través de la medición morfométrica de los ostiones se obtuvo la medida promedio de cada punto, la cual detalla que el punto P2 (Al pie del poblado) mantiene un promedio inferior a los otros puntos siendo este de 48,05mm de largo y 38,96mm de ancho y el punto P6 es el que presenta un promedio superior a los otros puntos siendo este uno de los puntos más alejados de la población, con 65,97mm de largo x 56,77mm de ancho (ver tabla 7), además cabe mencionar que el P2 es el punto donde se determinó mayores concentraciones de coliformes totales y el P6 el punto menos contaminado, concluyendo así que el nivel de contaminación por coliformes totales podría estar afectando el crecimiento de los ostiones.

4.7. Recomendaciones

- Basándose en el Plan de Manejo para uso sustentable y custodia de 4.434,8 Hectáreas de manglar ubicadas en las islas: Escalante, Puerto Arturo, Mosquiñaña, y San Francisco, Golfo de Guayaquil el cual pertenece el área de estudio y según su plan de monitoreo y seguimiento, en el numeral 27 este establece la gestión con instituciones Estatales para el monitoreo de la calidad de agua de los esteros que circundan el área concesionada, por lo cual se recomienda la inclusión de esta investigación para que puedan tener acceso a los resultados y puedan establecer medidas que permitan mejorar la calidad del estuario en general.
- En base a los resultados obtenidos en esta investigación se recomienda a las personas abstenerse del consumo en crudo de la especie *Crassostrea columbiensis*, sin llevar a cocción previo a su consumo.
- Implementar sistemas depuratorios que permitan eliminar la carga bacteriana en moluscos bivalvos.
- Se recomienda la utilización de especies de moluscos bivalvos como la *Crassostrea columbiensis* como bioindicadores de contaminación de distintos orígenes por su capacidad de filtración.
- Es recomendable además realizar este tipo de estudios en todo el Golfo de Guayaquil y otras zonas estuarinas del País para determinar el nivel de contaminación y la variabilidad en cada zona.

- Implementar un sistema de tratamiento casero para el manejo de aguas residuales en Puerto Salinas y replicar este proceso en todas las comunidades asentadas dentro del Golfo de Guayaquil.

- **Referencias Bibliográficas.**

- Asamblea de las Naciones Unidas sobre el Medio Ambiente del Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente. (2017). *Hacia un planeta sin contaminación*. Nairobi: UNEP. Obtenido de <https://papersmart.unon.org/resolution/uploads/k1708350s.pdf>
- Aznar, A., & Alonso, Á. (2000). *Determinación de los parámetros físico-químicos de calidad de las aguas*. Obtenido de Universidad Carlos III: <http://ocw.uc3m.es/ingenieria-quimica/ingenieria-ambiental/otros-recursos-1/OR-F-001.pdf>
- Baquerizo, J. (2003). *Análisis comparativo de diferentes dietas para el acondicionamiento de reproductores de ostión de mangle, crassostrea columbiensis*. Obtenido de Escuela Superior Politécnica del Litoral : <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/4642/1/7163.pdf>
- Boston public health commission . (2014). *E. coli (Escherichia coli)*. Obtenido de Boston Public Health Commission Infectious Disease Bureau: <http://www.bphc.org/whatwedo/infectious-diseases/Infectious-Diseases-A-to-Z/Documents/Fact%20Sheet%20Languages/E.coli/Spanish.pdf>
- Bravo, M., & Ortega, W. (2012). *Plan de manejo para uso sustentable y custodia DE 4.434,8 hectáreas de manglar ubicada en las islas: escalante, puerto arturo, mosquiñaña y san francisco, golfo de guayaquil*.
- Cabrera, L., Díaz, S., Parra, K., & Ojeda, G. (2010). Detección de parásitos protozoarios y helmintos en el molusco bivalvo *Geukensia demissa* (Dillwyn,. *Revista Científica*, 20(1). Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/959/95915974002.pdf>
- Caceres, J., & Vasquez, R. (2014). *Manual de buenas practicas de manejo para el cultivo de moluscos bivalvos*. Obtenido de OSPESCA : http://www.isamx.org/sitio/pdfs/Manual%20de_BPde_M_Version%20Digital_011014155613.pdf
- Carreño, H. (2019). *Google maps*. Obtenido de Golfo de Guayaquil, Isla Escalante

- Carreño, H. (2019). *Google Maps*. Obtenido de Mapa de Isla Escalante, Puerto Salinas .
- Carreño, H. (2019). *Google Maps*. Obtenido de Mapa de muestreo, Puerto Salinas Golfo de Guayaquil.
- Chalen, J. (20 de Octubre de 2018). Características de los ostiones en la zona de Puerto Salinas. (H. Carreño, Entrevistador)
- Chang, J. (2009). *Procesos Estuarinos*. Obtenido de Escuela Superior Politecnica del Litoral : <http://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/6230/1/Capitulo%201%20Definiciones.pdf>
- Cornejo, X. (2014). *Plants of the South American Pacific Mangrove Swamps*. Guayaquil : Universidad de Guayaquil EDUQUIL.
- Day, J., Crump, B., Kemp, M., & Yanez, A. (2013). *Estuarine Ecology*. New Jersey: Wiley-Blackwell.
- Delgado, D. (2018). *Niveles de Coliformes totales y Escherichia coli en Anadara tuberculosa y Anadara similis en el Recinto El Morro, Provincia Del Guayas*. Obtenido de Universidad de Guayaquil : <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/29451/1/Dayana%20Delgado.pdf>
- Diaz, J. (2011). UNA REVISIÓN SOBRE LOS MANGLARES: CARACTERÍSTICAS, PROBLEMÁTICAS Y SU MARCO JURÍDICO: CASO SISTEMA LAGUNAR DE TOPOLOBAMPO. *Ra Ximhai*, 7(3).
- Flores, E. (2018). *Ostión*. Recuperado el 2018, de Ecured: https://www.ecured.cu/Osti%C3%B3n#El_osti.C3.B3n_como_alimento
- Foroughbakhch, R., Céspedes, A., Alvarado, M., Núñez, A., & Badii, M. (2004). *Aspectos ecológicos de los manglares y su potencial como fitorremediadores en el golfo de México*. Obtenido de Ciencia UANL.
- Galaviz, I., Lango, F., & Castañeda, M. d. (2013). *Estudio de la calidad sanitaria del Ostión del Golfo de México*. Mexico: Editorial Academica Espanola.

- Garcés, O., Rios, M., & Vivas, L. (2016). *Calidad ambiental de los manglares de la ciénaga mallorquín, departamento del Atlántico*. Obtenido de Convenio CRA-IVEMAR:
https://www.researchgate.net/publication/313243549_EVALUACION_DE_LA_CALIDAD_AMBIENTAL_DE_LOS_MANGLARES_DE_LA_CIENAGA_MALLORQUIN_DEPARTAMENTO_DEL_ATLANTICO
- Gonzales, C. (2011). *Monitoreo de la calidad del agua*. Obtenido de El PH:
<http://academic.uprm.edu/gonzalezc/HTMLobj-862/maguaph.pdf>
- González, C. (2014). *Evaluación bacteriológica del ostión americano Crassostrea virginica, (Gmelin, 1971) en la laguna de Tampamachoco, Veracruz, durante el periodo abril septiembre 2014*. Obtenido de Universidad Veracruzana:
<https://cdigital.uv.mx/bitstream/handle/123456789/42336/GonzalezGarciaCristian.pdf?sequence=2>
- González, M., Graü, C., Villalobos, L., Gil, H., & Vásquez, A. (2009). Calidad Microbiológica De La Ostra Crassostrea rhizophorae Y Aguas de Extracción, Estado Sucre, Venezuela. *Revista Científica*, 19(6).
- Gram, C. (1884). *First publication for the Gram stain method*. Obtenido de Fortschritte der Medicin.
- Hernández, L., Molina, D., & Agraz, C. (2017). Servicios ecosistémicos y estrategias de conservación en el manglar de Isla Arena. *Agricultura, Sociedad y desarrollo*, 14(3).
- Ibáñez, C., Caiola, N., Nebra, A., & Wessels, M. (2009). *Estuarios*. Obtenido de Ministerio de Medio Ambiente, y Medio Rural y Marino. Secretaría General Técnica.
- INOCAR. (2005). *Derrotero de la Costa Continental e Insular del Ecuador*. Obtenido de Armada del Ecuador Instituto Oceanografico:
https://www.inocar.mil.ec/boletin/ALN/Derrotero_2005.pdf
- Kopta, F. (1999). *Problemática ambiental con especial referencia a la Provincia de Córdoba*. Obtenido de Fundación ACUDE.

- Laboratorios Britania S.A. (2015). *Agua de Peptona* . Obtenido de https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_5a280db392c81.pdf?fbclid=IwAR2-znKI64d5LnVJu8kROQZebkLFKNv6NRP8qzZaAgfJLQImliPOEth5wKg
- Ladrera, R., Rieradevall, M., & Prat, N. (2013). MACROINVERTEBRADOS ACUÁTICOS COMO INDICADORES BIOLÓGICOS: UNA HERRAMIENTA DIDÁCTICA. *Revista de Didáctica* 11.
- Lee, R., Lovatelli, A., & Ababouch., L. (2010). *Depuración De Bivalvos: Aspectos Fundamentales Y Prácticos*. Obtenido de FAO Documento tecnico de Pesca: <http://www.fao.org/3/a-i0201s.pdf>
- Lopez, L., Hernandez, M., Colin, C., Ortega, S., Ceron, G., & Franco, R. (2014). Las Tinciones Basicas en el Laboratorio de microbiologia. *Medigraphic*, 3(1).
- López, M., Sousa, S., & Alapont, C. (2016). Evaluación de la calidad microbiológica de mejillón (*mytilus galloprovincialis*) depurado. *FCV-LUZ*, 26(6). Obtenido de <http://www.saber.ula.ve/bitstream/handle/123456789/43189/articulo1.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Merck, M. (2014). *Chromocult Agar para coliformes*. Obtenido de Detección simultánea de bacterias coliformes: [MERCK:file:///F:/Anadara%20similis%20y%20tuberculosa/DS4485ES00_Chromocult%20Coliform%20\(6-25\).pdf](MERCK:file:///F:/Anadara%20similis%20y%20tuberculosa/DS4485ES00_Chromocult%20Coliform%20(6-25).pdf)
- Ministerio del Ambiente . (s. f.). *Acuerdos de Uso Sustentable y Custodia de Manglar benefician a pescadores de El Oro y Guayas*. Obtenido de <http://www.ambiente.gob.ec/acuerdos-de-uso-sustentable-y-custodia-de-manglar-benefician-a-pescadores-de-el-oro-y-guayas/>
- Montiel, M., Silva, R., Nuñez, J., Espinoza, N., & Morales, F. (2011). Indicadores bacterianos y materia inorgánica en la almeja *rangia cuneata* y su relación con el agua y sedimento. *Revista de la Universidad del Zulia, Ciencias Exactas, Naturales y de la Salud*. Obtenido de https://www.researchgate.net/publication/282649492_INDICADORES_BAC

TERIANOS_Y_MATERIA_INORGANICA_EN_LA_ALMEJA_Rangia_cunea
ta_Y_SU_RELACION_CON_EL_AGUA_Y_SEDIMENTO

- Montoya, H. (2008). *Microbiología básica para el área de la salud y afines*. Universidad de Antioquia. Obtenido de https://books.google.com.ec/books?id=5RjS6B0X5RgC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
- Mora, E. (1990). *Catlogo de Bivalvos Marinos en Ecuador* (Vol. 10). Guayaquil: Instituto Nacional de Pesca .
- Morales, N. (2011). *¿Qué es un bioindicador? Aprendiendo a partir del ciclo de indagación guiada con macroinvertebrados bentónicos*. Obtenido de Universidad Nacional de Colombia : <http://bdigital.unal.edu.co/10195/1/naferedivarmoralessalinas.2011.pdf>
- Moreno, P., Rojas, J., Zárate, D., Ortiz, M., Lara, A., & Saavedra, T. (2002). Diagnóstico de los manglares de Veracruz: distribución, vínculo con los recursos pesqueros y su problemática. *Madera y Bosques*, 8(1).
- Organización Mundial de la Salud. (2006). *Guías para la calidad del Agua Potable*. Obtenido de Organización Mundial de la Salud: https://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3_es_full_lowres.pdf
- Pierini, J. (s. f.). *Geomorphology and Estuarine dynamic*. Obtenido de River to Estuary.
- Ramos, L., Vidal, L., Vilardy, S., & Saavedra, L. (2008). Análisis de la contaminación microbiológica (coliformes totales y fecales) en la bahía de santa marta, caribe colombiano. *Acta Biológica Colombiana 2008*, 13(3). Obtenido de <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=319028004007>
- Reinbold, J. (2018). *Ecosistemas léntico y lótico*. Recuperado el 03 de 01 de 2019, de Geniolandia: <https://www.geniolandia.com/13107914/ecosistemas-lentico-y-lotico>
- Ribera, F. (2016). *Salinidad y aguas subterráneas*. Obtenido de Hidrogeología Emergente :

https://www.researchgate.net/publication/308327108_SALINIDAD_Y_AGUAS_SUBTERRANEAS

Rosas, I., Yela, A., & Bàez, A. (1985). Bacterias indicadoras de contaminación fecal en ostión (*Crassostrea virginica*) durante su desarrollo y procesamiento en el mercado. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 1(1).
Obtenido de <https://www.revistascca.unam.mx/rica/index.php/rica/article/view/20641>

Sabatini, S., & Calcagno, J. (2014). *LOS MOLUSCOS COMO BIOINDICADORES*.
Obtenido de https://www.researchgate.net/publication/278036242_Los_moluscos_como_bioindicadores

Sanabria, D. (2006). *Conductividad eléctrica por el método electrométrico en aguas*.
Obtenido de Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales : <http://www.ideam.gov.co/documents/14691/38155/Conductividad+El%C3%A9ctrica.pdf/f25e2275-39b2-4381-8a35-97c23d7e8af4>

Santana, C., & Atiencia, M. (2013). Turismo comunitario en el Cantón Guayaquil. estudio de caso “Cerrito de los Morreños”. *Revista de investigación en turismo y desarrollo local*, 6(15). Obtenido de <http://www.eumed.net/rev/turydes/15/cerrito-morrenos.pdf>

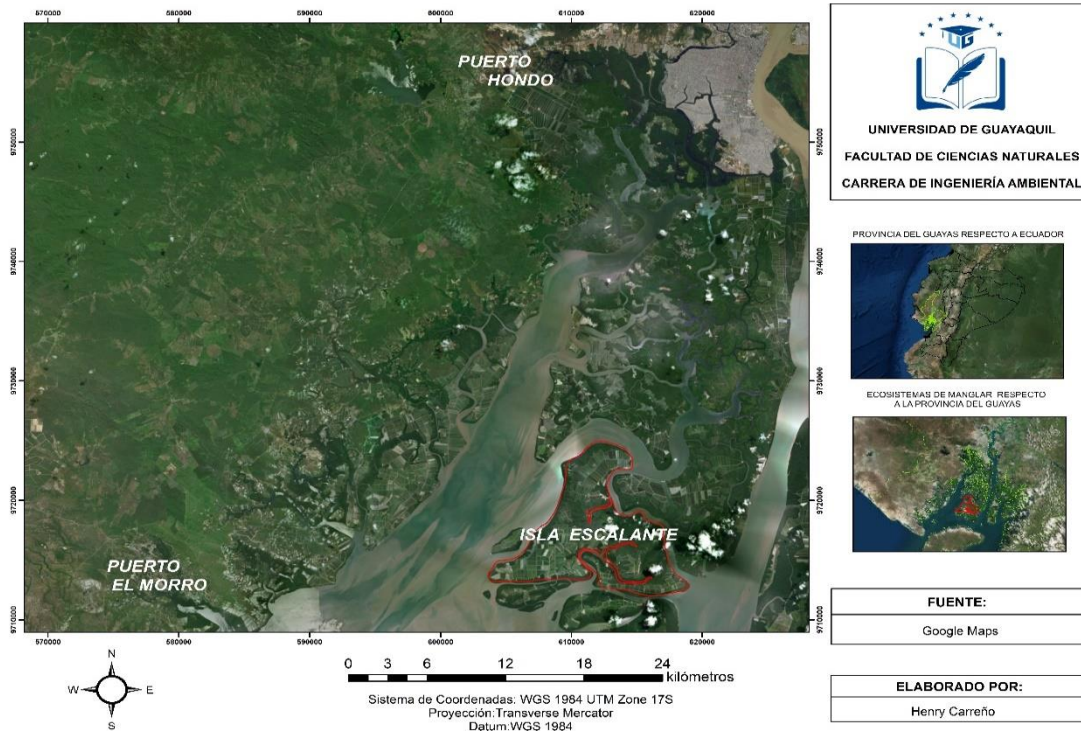
Sarcos, M., & Botero, L. (2005). Calidad microbiológica de la almeja *Polymesoda* sólida recolectada en playas del Municipio Miranda del estado Zulia. *Revista de Ciencias y Humanísticas*, 13(1).

Siguencia, R. (2010). *NIVELES DE Coliformes totales y Escherichia coli EN BIVALVOS DE INTERÉS COMERCIAL Ostrea columbiensis y Mytella guyanensis (Molusca: Bivalvia) COMO BIOINDICADOR DE CONTAMINACIÓN MICROBIOLÓGICA EN EL ESTERO PUERTO HONDO, PROVINCIA DEL GUAYAS – ECUADOR*. Obtenido de Universidad de Guayaquil:
<http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/11943/1/Tesis%20Blga.%20Rosa%20Siguencia%20Garc%C3%ADa.pdf>

- Sosa, D. (2006). *Determinación de contaminación por bacterias coliformes fecales en Bahía de Jiquilisco, Usulután, utilizando como biomonitor Anadara similis y A. tuberculosa*. Obtenido de Universidad de El Salvador.
- Valencia, R., Sánchez, J., Ortiz, E., & Gómez, J. (2007). La contaminación de los ríos, otro punto de vista. *Ciencia en la Frontera*.
- Valenzuela, T. (2013). *Efecto de los factores ambientales sobre el crecimiento y supervivencia de ostiones triploides y diploides de Crassostrea gigas en el estero La Piedra, Guasave, Sinaloa*. Obtenido de CIIDIR-IPN: <https://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/13151/Teresa%20Natividad%20Valenzuela%20Hern%C3%A0ndez.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Viteri, M., Chalen, J., & Cevallos, Z. (2017). Determinación de bioindicadores y protocolos de la calidad de agua en el Embalse de la Central Hidroeléctrica Baba. *Dominio de las Ciencias*, 3.
- World Register of Marine Species. (2018). *Crassostrea columbiensis (Hanley, 1846)*. Obtenido de <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=506703>

Anexos

Anexo 1 Mapa de zonas de manglares estudiada por diferentes autores por contaminación de Coliformes totales y *Escherichia coli* en moluscos bivalvos en la Provincia del Guayas.



Elaborado por: (Carreño, 2019)

Anexo 2 Comunidad de Puerto Salinas



Elaborado por: (Carreño, 2019)

Anexo 3 Análisis de Parámetros Físicoquímicos del agua.



Elaborado por: (Carreño, 2019)

Anexo 4 Toma de muestras.



Elaborado por: (Carreño, 2019)

Anexo 5 Rotulación de muestras en el laboratorio

Muestra Madre	Triplicado	Diluciones				
Muestra 1 P1	M1T1	M1T1D1	M1T1D2	M1T1D3	M1T1D4	M1T1D5
	M1T2	M1T2D1	M1T2D2	M1T2D3	M1T2D4	M1T2D5
	M1T3	M1T3D1	M1T3D2	M1T3D3	M1T3D4	M1T3D5
Muestra 2 P2	M2T1	M2T1D1	M2T1D2	M2T1D3	M2T1D4	M2T1D5
	M2T2	M2T2D1	M2T2D2	M2T2D3	M2T2D4	M2T2D5
	M2T3	M2T3D1	M2T3D2	M2T3D3	M2T3D4	M2T3D5
Muestra 3 P3	M3T1	M3T1D1	M3T1D2	M3T1D3	M3T1D4	M3T1D5
	M3T2	M3T2D1	M3T2D2	M3T2D3	M3T2D4	M3T2D5
	M3T3	M3T3D1	M3T3D2	M3T3D3	M3T3D4	M3T3D5
Muestra 4 P4	M4T1	M4T1D1	M4T1D2	M4T1D3	M4T1D4	M4T1D5
	M4T2	M4T2D1	M4T2D2	M4T2D3	M4T2D4	M4T2D5
	M4T3	M4T3D1	M4T3D2	M4T3D3	M4T3D4	M4T3D5
Muestra 5 P5	M5T1	M5T1D1	M5T1D2	M5T1D3	M5T1D4	M5T1D5
	M5T2	M5T2D1	M5T2D2	M5T2D3	M5T2D4	M5T2D5
	M5T3	M5T3D1	M5T3D2	M5T3D3	M5T3D4	M5T3D5
Muestra 6 P6	M6T1	M6T1D1	M6T1D2	M6T1D3	M6T1D4	M6T1D5
	M6T2	M6T2D1	M6T2D2	M6T2D3	M6T2D4	M6T2D5
	M6T3	M6T3D1	M6T3D2	M6T3D3	M6T3D4	M6T3D5
Muestra 7 P7	M7T1	M7T1D1	M7T1D2	M7T1D3	M7T1D4	M7T1D5
	M7T2	M7T2D1	M7T2D2	M7T2D3	M7T2D4	M7T2D5
	M7T3	M7T3D1	M7T3D2	M7T3D3	M7T3D4	M7T3D5
Muestra 8 P8	M8T1	M8T1D1	M8T1D2	M8T1D3	M8T1D4	M8T1D5
	M8T2	M8T2D1	M8T2D2	M8T2D3	M8T2D4	M8T2D5
	M8T3	M8T3D1	M8T3D2	M8T3D3	M8T3D4	M8T3D5
Blancos		B1	B2	B3	B4	B5

Elaborado por: (Carreño, 2019)

Anexo 6 Procesamiento de las muestras en el Laboratorio



Elaborado por: (Carreño, 2019)

Anexo 7 Pruebas de confirmación



Elaborado por: (Carreño, 2019)

Anexo 8 Análisis Estadístico

Transformación de Johnson para COLIFORMES TOTALES

Gráfica de prob. para datos originales
 N: 14
 JB: 2.069
 Valor p: 0.005

Selección de una transformación
 Valor p para pruebas AD: 0.5
 Valor p para pruebas KS: 0.005 (significativo < 0.05)

Gráfica de prob. para datos transformados
 N: 14
 JB: 0.047
 Valor p: 0.651

Valor p para mejor ajuste: 0.65091
 Espeje mejor ajuste: 0.5
 Mejor tipo de transformación: SU
 Función de transformación igualada:
 $1.64888 + 0.852825 * \text{Asinh}((X - 2192797) / 170328)$

ANOVA unidireccional: TRANS CT vs. PUNTOS

Método
 Hipótesis nula: Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna: Por lo menos una media es diferente
 Nivel de significancia $\alpha = 0,05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor
 Factor: Niveles Valores
 PUNTOS: 8 P1; P2; P3; P4; P5; P6; P7; P8

Análisis de Variación

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
PUNTOS	7	15,051	2,1501	4,74	0,005
Error	16	7,254	0,4534		
Total	23	22,305			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0,673332	67,48%	53,25%	26,82%

Medias

PUNTOS	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
P1	3	0,196	0,388	(-0,628; 1,020)
P2	3	1,569	0,317	(0,745; 2,393)
P3	3	0,5544	0,1562	(-0,2697; 1,3785)
P4	3	0,321	0,339	(-0,504; 1,145)
P5	3	-0,087	1,374	(-0,911; 0,738)
P6	3	-1,204	0,430	(-2,029; -0,380)
P7	3	-0,757	0,259	(-1,581; 0,067)
P8	3	-0,294	1,048	(-1,118; 0,530)

Desv.Est. agrupada = 0,673332

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

PUNTOS	N	Media	Agrupación
P2	3	1,569	A
P3	3	0,5544	A B
P4	3	0,321	A B
P1	3	0,196	A B
P5	3	-0,087	A B
P8	3	-0,294	A B
P7	3	-0,757	B
P6	3	-1,204	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Elaborado por: (Carreño, 2019)