

ARTÍCULO

Evaluación de la calidad microbiológica del agua de lastre de buques de tráfico internacional en Bahía de Portete y Puerto Bolívar, Guajira

Assessment of the microbiological quality of international traffic ships ballast water at Bahía Portete and Puerto Bolívar, Guajira

Fecha recepción: 2008-09-12 / Fecha aceptación: 2008-09-26



Diana Quintana Saavedra, d.quintana@dimar.mil.co

Mary Luz Cañón, mcanon@cioh.org.co

Iván Castro, ifcastro@cioh.org.co

Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas - CIOH,
Isla Manzanillo, Cartagena de Indias D.T. y C.

Resumen

Bahía Portete está ubicada en la Alta Guajira, se encuentra exactamente en el costado oriental de la península de la Guajira entre los 12°14'N y 71°52'W. Presenta una superficie aproximada de 80 km² y una estrecha boca de comunicación con el mar. Cuenta con uno de los puertos carboníferos más grandes del país al cual arriban en promedio cerca de 400 buques de tráfico internacional anualmente. En vista de la importancia que representa este puerto a nivel nacional se realizó el levantamiento de la línea base de la zona, cuyo objetivo principal fue determinar el comportamiento de tres componentes en la bahía (físicoquímico, biológico y microbiológico). Paralelo a esto, se realizó la toma de muestra del agua de lastre de 25 tanques de buques que arribaron a puerto durante seis campañas de monitoreo, entre marzo y noviembre de 2007 a las cuales se les realizó la evaluación de los mismos parámetros mencionados. Se determinó por ejemplo, que el 12% de los tanques analizados sobrepasa los límites permisibles por la Organización Marítima Internacional (OMI) para *E. coli* (250 UFC/100mL); para *Enterococos*, el 8% (100 UFC/mL). Con base en información secundaria recolectada en la zona, sólo se han efectuado análisis de carácter físicoquímico y biológico. Constituyéndose así en una herramienta preliminar de diagnóstico del componente microbiológico en la zona.

Palabras claves: Bahía Portete, agua de lastre, calidad del agua.

Abstract

Portete Bay is located on the Discharge Guajira, exactly on the east side of Guajira between the 12°14'N and 71°52'W. It has a surface of approximately 80 Km² and a narrow mouth of communication with the sea. It counts on with one of the country's largest coal-carrying ports with an annual arrival average of close to 400 international traffic ships. In view of the importance that this national port represents, the raising of the base line of the zone, whose main purpose was to determine the behavior of three components in the bay (physicochemical, biological and microbiological) was carried out; at the same time, the sample taking of ballast

water from 25 tanks of ships which had arrived in the port during the six monitoring campaigns, between March and November, 2007 to which the assessment of the same parameters was undertaken. We determine that the 12% of the analyzed tanks were above the International Maritime Organization (IMO) permissible limits for *E. coli* (250 CFU/100mL); for *Enterococcus*, 8% of the ships is above the limit (100 CFU/mL). Based on secondary information gathered in the zone, only physicochemical and biological type analyses have been carried out. This way, they become a preliminary diagnosis tool of this component in the zone.

Key words: Portete Bay, ballast water, water quality.

Introducción

El océano hasta hace unos pocos cientos de años mezclaba sus diferentes componentes a través de una lenta dispersión natural y tolerable [1]. Con el desarrollo de la navegación por largas distancias, se ha incrementado paulatinamente el volumen de agua de lastre¹ y con en ella se ha favorecido la colonización de especies exóticas a través del mundo [2]. Acelerando de esta forma su recambio ya que como es sabido, algunos buques demandan grandes cantidades de agua para el transporte de diferentes productos como minerales, gas licuado, hidrocarburos entre otros [3]. Se estima que aproximadamente 10 billones de toneladas de agua de lastre son transferidos globalmente en el año, y que 7000 especies de bacterias [4], virus [5], plantas y animales [6] son trasladadas en el agua de lastre de los buques alrededor del mundo [3,7,8,9].

El agua transportada como lastre actúa como reservorio de muchas especies macro y microscópicas. De hecho se estima que el 39% de organismos introducidos en el agua costera europea ha sido transferida por barcos (22% en el agua de lastre y 17% en las bioincrustaciones adheridas al casco) y un 16% por acuicultura, un 9% es intencionalmente liberada

[9]. Joachimsthal, *et al* [4] compararon la concentración total de bacterias, determinando tres parámetros Enterobacterias, *Vibrio sp* y *E. coli* del agua de lastre de barcos que arribaron en Singapore, los resultados encontrados por los autores mostraron una alta variabilidad de organismos, Eubacterias 0.67-39.5%; Enterobacterias 0-2.46% y *Vibrio spp* 0.18-35.82%. De estos resultados se describe que la calidad microbiológica del agua de lastre se encuentra relacionada con la presencia de patógenos y parásitos.

De otra parte la contaminación fecal del agua de lastre, ocurre por la toma de agua en puertos contaminados con agua residual doméstica y representa un riesgo potencial para la salud y el ecosistema marino. El 44% de las muestras de agua marina tomada durante la estación cálida cerca a playas del Mar Negro se encontraron altamente contaminadas con bacterias indicadoras de contaminación fecal, cuya posible fuente sea el agua de lastre descargado en el mar [4].

En Colombia, se han desarrollado diferentes investigaciones para valorar el impacto de la descarga de aguas de lastre. En la Bahía de Cartagena, se han detectado especies fitoplanctónicas y zooplanctónicas no reportadas previamente, evidenciando otra fuente de contaminación de la bahía [10,11]. El Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas (CIOH), desarrolló la quinta etapa del proyecto presencia de organismos exógenos y patógenos en el agua de lastre de buques de tráfico internacional.

Esta etapa del proyecto se desarrolló en Bahía Portete, en el departamento de La Guajira. Es allí donde opera el puerto carbonífero más grande del país y al cual arriban embarcaciones de gran calado y enorme capacidad de almacenamiento de aguas de lastre al día. Este puerto está ubicado en un extremo de la bahía, por ende representa un factor de riesgo para el equilibrio propio del lugar.

Las acciones relacionadas con el deslastre por parte de los buques son actualmente competencia del Estado Rector del Puerto quien en Colombia está representado por la Dirección General Marítima (DIMAR), entidad que tiene por objeto, entre otros, la dirección, coordinación y control de las actividades marítimas. Es así como mediante el apoyo del Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas (CIOH), se adelantó en el 2007 la evaluación de la

¹ Lastre: La OMI lo define como todo sólido o líquido colocado en un buque para aumentar su calado o modificar el asiento, regular la estabilidad o mantener cargas de tensión dentro de unos límites aceptables. El agua es el lastre más empleado ya que los sólidos representan una peligrosa inestabilidad del buque en su desplazamiento.

calidad del agua de lastre de buques de tráfico internacional que arribaron a puerto durante cada muestreo, cuyo objetivo fue establecer la línea base de parámetros fisicoquímicos (nutrientes, salinidad, pH, oxígeno disuelto, pigmentos fotosintéticos), componente microbiológico (*Enterococcus*, Coliformes totales, *Escherichia coli*, *Vibrio sp*, *Salmonella sp*, *Shigella sp*, *Pseudomonas auriginosa*, hongos filamentosos y levaduriformes) y biológico (fitoplancton y zooplancton), en la bahía durante las 6 campañas de muestreo realizadas durante el año 2007, abarcando tres etapas climáticas: época seca, de transición y época de lluvias. Se analizó el agua de la bahía la cual fue dividida en 10 estaciones, a tres profundidades de la columna de agua (superficie, medio y fondo).

Área de estudio

Estudios previos describen la bahía como la más grande de una serie de bahías ubicadas cerca al extremo Noreste de la costa Caribe de Colombia, entre el Cabo de La Vela y Punta Gallinas [12,13]. La bahía es somera, pues la máxima profundidad es de unos 20m y más del 60% del fondo está a menos de 9 m [9,14].

Cuenta con un canal de entrada de suficiente profundidad que permite el paso de barcos pequeños a medianos, no obstante, se debe tener precaución al cruzarla debido a que su ancho es limitado [15]. Cuenta con diversidad de hábitats tales como arrecifes rocosos, coralinos, manglares, praderas de vegetación marina, playas arenosas y áreas pantanosas bajas, que se encuentran en otras bahías de la región (figura 1) [1,16]. Los fondos sedimentarios se caracterizan por ser fangosos y arenosos, se encuentran distribuidos a lo largo de la bahía acorde con el ecosistema asociado [17]. Ha sido identificada como un área con alto grado de diversidad y heterogeneidad de hábitats que proporciona un medio único para distintas especies [18] por ende ha sido propuesta como área marina protegida por el Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial a través del INVEMAR [19].

Es bien sabido que en Bahía Portete se han reportado diferentes grupos para conservación, dentro de los cuales están algunos invertebrados como *Acropoda*

cervicornis (coral cuernos de ciervo), *Porites porites* (coral de dedos), *Strombus gigas*, (caracol de pala), *Panulirus argus* (langosta espinosa); reptiles como *Crocodylus acutus* (caimán de aguja), *Dermochelys coriácea* (tortuga canal), *Eretmochelys imbricata* (tortuga carey), *Caretta caretta* (gogo), *Chelonia mydas* (tortuga verde); Peces como *Tarpon atlanticus* (Sábalo real), *Arius proops* (Bagra Blanco), *Batrachoides manglae* (Guasa Lagunar), *Hippocampus reidi* (Caballito de mar hocico largo), entre otros [12]. Como se observa en ella figura 1, toda la línea de costa que bordea la bahía posee vegetación que resguarda variedad de especies animales. De esta forma cualquier afectación en estas zonas generaría un desequilibrio en la bahía. Por tanto se considera que todas las zonas de la bahía son vulnerables [12].

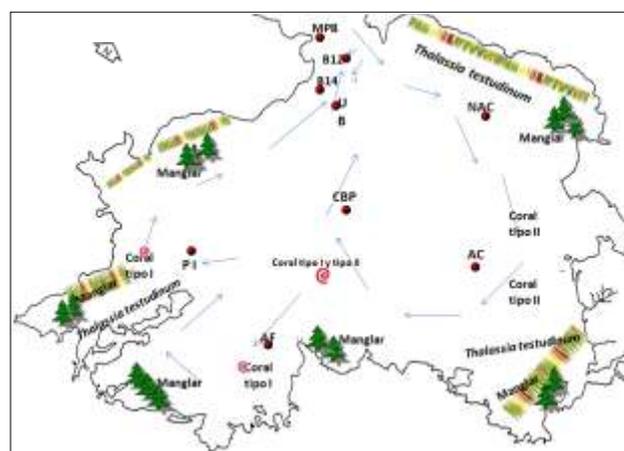


Figura 1. Ubicación estaciones de muestreo en Bahía Portete. Fuente: adaptado de INVEMAR (MC158. 019581).

Condiciones meteorológicas

Son variados los factores que interactúan sobre el sector, entre estos: la precipitación, la temperatura, los vientos, la humedad relativa, insolación o brillo solar.

Precipitación. La mayor parte de las lluvias (más del 60%) cae en los meses de septiembre, octubre y noviembre, el principal y a veces único período lluvioso, alrededor de abril o mayo se sitúa un segundo período de lluvias, mucho menos importante que el anterior, son comunes aguaceros entre 80 y 181 mm en 24 horas, en contraste con períodos de sequía de seis meses [12].

Tabla 1. Valores promedio anuales de precipitación en Bahía Portete [12].

AÑOS	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006
PROM ANUAL (mm)	296.5	74.5	147.1	354.9	98	136.2	224.3	331	703.1	686.2	15.7

Temperatura. Los meses más cálidos son junio, julio, agosto y septiembre con una temperatura máxima mensual multianual de 38.6°C y los meses más frescos son diciembre, enero, febrero y marzo con una temperatura mínima mensual multianual de 19.4°C . La temperatura media mensual multianual es de 28.5°C [12].

Tabla 2. Valores promedio anuales de temperatura en Bahía Portete [12].

AÑOS	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006
PROM ANUAL (° C)	28.3	28.53	29.03	28.23	28.13	28.43	28.63	28.63	28.33	28.53	27.33

Vientos. En algunos sectores los vientos alcanzan velocidades promedios cercanas a los 10 km/h. Los vientos en su mayor parte, son provenientes del cuadrante Norte-Este y en menor proporción del Norte. Entre otros aspectos, el viento tiene importancia por su acción en la dispersión de contaminantes, en la desecación de los suelos, formación de médanos, desarrollo de la vegetación, fuente de producción de energía, etc.[12].

Tabla 3. Valores promedio anuales de viento en Bahía Portete Fuente. UMI, 2006.

AÑOS	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006
PROM ANUAL (m/s)	6.8	7.5	7.0	6.23	6.53	5.7	7.3	6.8	6.4	5.43	6.1

Brillo solar. El valor promedio multianual de brillo solar medido en la estación tipo CP ubicada en Puerto Bolívar es de 2.998 horas, registrándose valores altos de 324 horas de brillo solar. Los meses con mayor brillo solar son enero, marzo, julio, agosto y diciembre [12].

Tabla 4. Valores promedio anuales de brillo solar en Bahía Portete [12].

AÑOS	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006
PROM ANUAL (h)	2465.1	3053.3	3054.5	2994.8	3167.3	3025.1	3121.8	2915.9	2902.8	2970.7	519.2

Humedad relativa Presenta valores medios mensuales multinuales del 74% y 68% respectivamente con valores extremos del 84% y 80% y mínimos del 67% y 59% respectivamente.

Tabla 5. Valores promedio anuales de humedad relativa en Bahía Portete [12].

AÑOS	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006
PROM ANUAL (%)	75.3	73.3	75.3	77.3	77.3	73.3	73.3	73.3	75.3	76.3	76.3

Registros basados en las dos únicas estaciones no suspendidas, se puede deducir que no existe un patrón bien definido. Estaciones como Puerto Bolívar y Rancho Grande presentan valores medios mensuales multianuales del 74% y 68% respectivamente con valores extremos del 84% y 80% y, mínimos del 67% y 59% respectivamente[12].

Metodología

En este estudio se le asignó un nombre abreviado a cada una de las diez estaciones seleccionadas, de la siguiente manera: MBP: Muelle Puerto Bolívar; B11: Boya 11; B12: B14: Boya 14; Baliza: Última Baliza; PI: Punta Ishep; AF: Área de Fondeo; CBP: Centro Bahía Portete; AC: Área de Cuarentena; NEAC: Norte Área de Cuarentena. En total se establecieron 10 estaciones a tres profundidades cada una (superficie 0.5 m bajo el agua) media agua y fondo (1 m por encima del fondo), distribuidas como se observa en el la figura 1.

Toma de muestra componente microbiológico

Durante el 2007 se monitorearon 25 tanques de buques de tráfico internacional, la técnica que se utilizó para la toma de muestra fue directa en las escotillas (manholes), sumergiendo un frasco shott previamente esterilizado de 500 mL, sin ser llenadas hasta el tope para evitar la muerte de microorganismos por anaerobiosis, posteriormente fueron refrigeradas hasta llegar al laboratorio para su posterior análisis. El plan de monitoreo para Bahía Portete se llevó a cabo a lo largo de tres épocas climáticas, seca, de transición y lluviosa. Esto con el fin de determinar la calidad sanitaria de las aguas marinas en función a la estación.

Toma de parámetros químicos

Los parámetros químicos evaluados fueron oxígeno disuelto (OD), demanda bioquímica de oxígeno (DBO₅), nutrientes, salinidad, turbidez y sólidos suspendidos totales (SST). Se tomaron en campo muestras de agua a través del lanzamiento de una botella niskin de 5 L. En campo, el contenido de las botellas fue recolectado en galones de 1L, preservados en hielo, para su posterior procesamiento en el laboratorio. *In situ*, se registraron los datos correspondientes a OD, pH, temperatura del agua, salinidad, conductividad y turbidez, con sondas multiparamétricas marcas WTW, HORIBA, WPA, refractómetro y turbidímetro, de cada una de las

muestras. Adicionalmente las condiciones meteorológicas al momento de la toma de muestra.

Procesamiento de las muestras

El análisis de Coliformes totales, *Escherichia coli*, Enterococos y *Pseudomonas sp.* se hizo mediante la técnica filtración por membrana, siguiendo el protocolo de la APHA [20], empleando 10 mL de la muestra. Para el caso de Coliformes totales y *E. coli*, el medio de cultivo empleado fue Chromocult®. Para *Enterococos* se utilizó agar selectivo para Enterococos. Para *Pseudomonas*, se sembró en agar Cetrimide. Posteriormente los medios inoculados se incubaron a $35 \pm 2^\circ\text{C}$, durante 24 a 48h. Los resultados se calcularon acorde con la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{UFC}}{100\text{mL}} = \frac{\text{No. colonias típicas contadas} \times (100)}{\text{Volumen de muestra filtrada (mL)}} \quad (1)$$

Los aislamientos e identificación de *Salmonella sp* y *Shigella sp* se hicieron mediante el procedimiento descrito por APHA [20], el cual consta de dos etapas; una de pre-enriquecimiento selectivo, en caldo Tetratonato con Lugol con un volumen de muestra de 50 ml y otra de aislamiento, sembrando con asa por agotamiento en agar XLD® (Xilosa- Lisina- Desoxicolato de Sodio). Se incubó por 24 horas a temperatura de $35 \pm 2^\circ\text{C}$. En caso de encontrar colonias sospechosas, se procedía a realizar una confirmación bioquímica mediante una batería conformada por TSI, CITRATO, LIA y SIM.

El aislamiento de *Vibrio cholera* también se realizó con una etapa preliminar de pre-enriquecimiento en Agua Peptona (pH 8.6) con NaCl 6.5% con un volumen de muestra de 100 mL. Se incubó por 24 horas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$. A partir de cada uno de los cultivos obtenidos, se sembró por agotamiento en agar TCBS (tiosulfato, citrato, sales biliares y sacarosa). Se llevó a incubar por 24 horas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$. Se escogieron las colonias típicas sospechosas de *Vibrio* y se realizó confirmación bioquímica en TSI, Oxidasa y Catalasa [20].

Para el componente de hongos filamentosos y levaduriformes, se sembró en profundidad 1 ml de la muestra en una caja de petri, a la cual se le adicionó aproximadamente 12-15 mL del medio de cultivo

fundido (agar OGYE). Una vez solidificado el medio, se incubó a temperatura ambiente durante 5 -7 días. Una vez terminado el tiempo de incubación, se realizó el recuento y se informó en UFC/100mL [20].

Resultados y discusión

Una embarcación de tráfico internacional cuenta con un número determinado de tanques de agua de lastre de diferente capacidad, cuya función principal es asegurar la estabilidad durante la trayectoria de la embarcación. Al momento de efectuar el muestreo de estas aguas, se deben seleccionar algunos de ellos, acorde a los recursos técnicos y operacionales. En este estudio, se evaluó el agua de lastre de 12 embarcaciones para un total 25 tanques de lastre que fueron escogidos en las seis campañas de muestreo, constituyéndose en un reflejo de la actividad portuaria, ya que sólo en este año se registró en Puerto Bolívar el deslastre del agua de 123 buques tipo granelero.

El componente microbiológico analizado mostró que todos los tanques contenían Coliformes totales, de los cuales el 75% de las muestras analizadas alcanzaron concentraciones entre 1.720 y 280 UFC/100ml. De igual forma el 12% de las muestras presentó concentraciones de *E. coli*, entre 600 y 250 UFC/100mL y el 8% para Enterococos sobrepasan el límite (100 UFC/100mL), donde la concentración más alta fue de 320 UFC/100ml [3] (figura 2). El principal riesgo para la población que entre en contacto con esta agua es que estos microorganismos al ser habitantes del tracto gastrointestinal tanto del hombre como de animales de

sangre caliente, actúan como agentes productores de enfermedades diarreicas agudas, respiratorias o infecciones en la piel al encontrarse en el agua [21,22,23].

Paralelo a este análisis se evaluó la presencia del género *Vibrio sp*, cuyas especies son habitantes por excelencia de mares y estuarios ya que tienen la capacidad de crecer en elevadas concentraciones de sales. Sin embargo algunas de sus especies como *V. cholerae*, pueden tener una patogenicidad alta comprometiendo la vida del huésped [24]. La OMI, establece que las cepas 01 y 0139 deben estar ausentes en el agua de lastre. En este sentido se encontró que todas las embarcaciones cumplen con el patrón, pues ninguna de ellas contenía esta especie en el agua. Otros géneros de importancia epidemiológica analizados en el agua de lastre son *Salmonella sp* y *Shigella sp*, los cuales no fueron detectados en el agua de lastre. Este resultado es de gran importancia, ya que la población aledaña al puerto no corrió el riesgo de sufrir diferentes patologías puesto que estos organismos son agentes productores de diferentes enfermedades entre ellas: fiebre tifoidea y disentería bacilar, las cuales comprometen la vida de la persona infectada [25,26,27].

El análisis hecho para los hongos filamentosos y levaduriformes registró concentraciones elevadas en las muestras. Una de las principales razones que explican este resultado es su naturaleza cosmopolita. Se detectó la presencia del género *Aspergillus sp*, cuyas especies están asociadas con enfermedades dermatológicas. De esta forma cabe resaltar que el intercambio realizado en mar abierto, no garantiza la

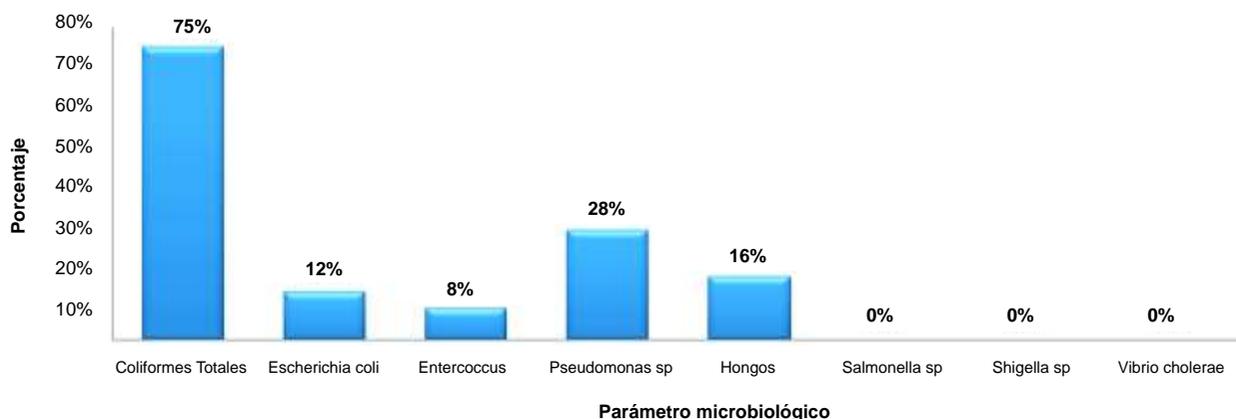


Figura 2. Porcentaje de tanques que sobrepasan los límites permisibles.

ausencia de microorganismos patógenos en el agua [5] y que se hace necesario comenzar a legislar sobre la presencia de otros organismos patógenos a parte de los tres legislados por la OMI.

Las diferencias encontradas entre embarcaciones se relacionan con el lugar de la toma del agua de lastre, el tiempo de permanencia del agua en los tanques, la gestión realizada a bordo de los buques y el tiempo de traslado de un puerto al otro [3]. Ya que un tiempo de confinamiento más largo del agua de lastre en un tanque determina que algunas formas bacterianas o fúngicas predominen progresivamente sobre otras. Lo anterior permitiría, en principio, determinar si el agua de lastre ha sido renovada en mar abierto antes de arribar a puerto [5].

Se recomienda que las embarcaciones eviten la toma de agua en áreas contaminadas [3], al igual que realicen planes de mantenimiento y limpieza de los tanques y así evitar la acumulación de sedimentos de formas bacterianas o fúngicas resistentes que puedan ser liberadas en algún puerto [5].

Cuando el agua de lastre es descargada en puerto, genera dentro del ecosistema receptor, una serie de cambios físicos, biológicos y microbiológicos, debido a que estas aguas se mezclan con el agua receptora provocando un cambio en la temperatura del agua, en la salinidad y en el pH, afectando las diferentes comunidades biológicas costeras, particularmente, los manglares, arrecifes y praderas submarinas [28]. Este cambio afecta directamente tanto a la población nativa como a la foránea, ejerciendo presión sobre el sistema, generando todo tipo de interacciones microbianas y biológicas desde el sinergismo hasta la predación de especies, haciendo que las poblaciones más resistentes logren establecerse y en algunos casos erradicar las especies nativas [29].

Es por esta razón que el presente estudio se complementó con el análisis del agua de Bahía de Portete, el cual es un ecosistema ecológicamente sensible. Para esto se evaluaron las diferentes estaciones (figura 1), con miras a determinar la influencia de las aguas de lastre sobre la bahía. Efectivamente se estableció que varias estaciones cercanas al puerto, reciben el mayor aporte de las aguas de lastre. Se registraron concentraciones más altas respecto a otras estaciones ubicadas en la parte

interna de la bahía (Centro Bahía Portete). Además se observó que en la época de lluvias, el crecimiento de los hongos filamentosos y levaduriformes se ve favorecido, respecto a la época de transición. En esta época, el aporte de nutrientes inorgánicos a las capas superficiales se incrementa, contribuyendo así a una mayor actividad planctónica, que sumado a las condiciones meteorológicas (vientos, precipitaciones, brillo solar, entre otras), condicionan la distribución del componente microbiológico por fenómenos de mezcla de la columna de agua [15].

Las estaciones que registraron las concentraciones más altas fueron Muelle Puerto Bolívar, Boya 12, Centro Bahía Portete y Boya 14 (figura 3), las cuales indicaron la presencia de Coliformes totales, *E. coli*, *Pseudomonas sp*, Enterococos y hongos filamentosos y levaduriformes. Cabe destacar que en ninguna estación, a lo largo del año, se registró la presencia de *Salmonella sp*, *Shigella sp* o *Vibrio cholerae*, con lo cual se estableció que en la zona no hubo riesgo de contraer enfermedades como fiebre tifoidea, disentería bacilar o cólera.

Durante la época de lluvias mayores Coliformes totales, *E. coli* y *Enterococos*, incrementaron su concentración en todas las estaciones de la bahía (figura 3 a, b y c). lo cual se atribuye posiblemente a que estas especies tienen una alta sobrevivencia en el mar y logran incrementar su población con condiciones ambientales favorables, pudiendo permanecer en sólidos suspendidos o sedimentables que se encuentren en el agua por un tiempo más prolongado [30,31]. El crecimiento de estas especies se ve favorecido por la biodisponibilidad de nutrientes, propias de la época del año. Por otra parte, el hecho de ser estos organismos indicadores de contaminación fecal y estar presentes en el agua de lastre de los tanques analizados, se concluye que el agua de lastre es la fuente de esos organismos.

Los resultados encontrados registran que los grupos Hongos y *Pseudomonas sp* se encuentran ampliamente distribuidos a lo largo de la bahía (figura 3 d y e), debido a que son capaces de tolerar diferentes condiciones ambientales anuales [32,34]. No obstante se hace necesario vigilar su presencia en el agua, pues a pesar de que pueden ser patógenos exógenos, también pueden ser organismos nativos con potencial biotecnológico o de importancia a nivel de salud

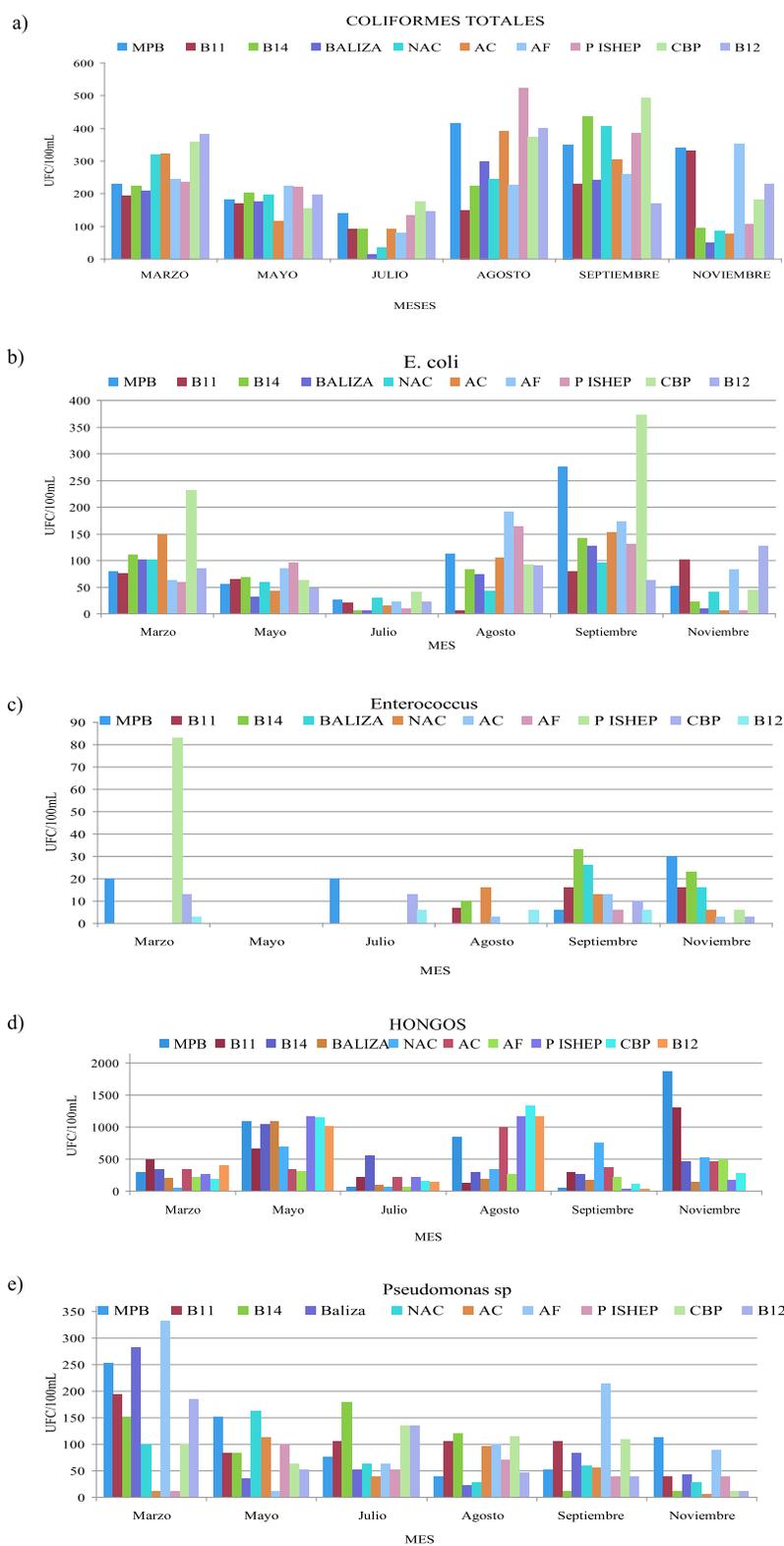


Figura 3. Comportamiento de microorganismos durante los meses de marzo, mayo, julio, agosto, septiembre y noviembre. a) Coliformes totales, b) *E. coli*, c) *Enterococos*, d) Hongos, e) *Pseudomonas sp.*

pública [32,33].

Las concentraciones registradas para hongos, se incrementan en meses del año en los cuales el promedio de precipitaciones es de 20 mm (mayo, agosto y noviembre). Este hecho, indica que para su crecimiento requieren condiciones, que les permitan establecerse en un área determinada mediante la diseminación de esporas reproductivas en el aire. Debido a que cuando hay altas precipitaciones, dichas esporas no pueden migrar tan fácil. Los hongos tienen como función principal la de descomponer la materia orgánica, y sustratos como la lignina, celulosa y queratina, proveniente de los esqueletos calcáreos de moluscos, crustáceos, corales, algas, pastos marinos, tallos, raíces y madera que flota a la deriva [34]. Algunas de las colonias de hongos más representativas fueron aisladas de manera independiente en el laboratorio (figura 4), se identificó microscópicamente y por crecimiento en agar la presencia de géneros como *Aspergillus sp*, *Cephalosporium sp*, *Verticillium sp* y *Cladosporium sp*.



Figura 4. Aislamiento de colonias representativas de hongos aisladas en el laboratorio de microbiología de muestras provenientes del agua mar de Bahía Portete, Guajira.

El hecho de haber encontrado los géneros mencionados (*Aspergillus sp*, *Cephalosporium sp*, *Verticillium sp* y *Cladosporium sp*), permite prever su ubicuidad en la zona ya que se registraron en diferentes lugares de Bahía Portete, así como en el agua de lastre de los buques analizados. Este factor está asociado con la manera en que se reproducen los hongos, quienes a partir de una spora o conidio pueden colonizar diferentes ambientes así se encuentren en condiciones favorables o no para su desarrollo, estas, pueden quedar en estado latente durante cierto tiempo, pero germinarán tan pronto como la humedad relativa del aire sea lo bastante elevada y que el aporte de nutrientes se adecuado para crecer.

Constituyéndose este hecho en la posibilidad de encontrar especies patógenas en el agua de lastre, ya que el agua de lastre puede ser uno de los vehículos de transmisión no sólo de patógenos de origen bacteriano, como ya se ha reportado en las otras fases de este proyecto, sino también patógenos de origen

fúngico, sin descartar la presencia de posibles virus en el agua o de otros agentes causantes de enfermedades en el ser humano.

Para *Pseudomonas* (figura 3e) se registró que a pesar de estar presente durante todo el año en la bahía, su concentración tuvo la tendencia a disminuir a medida que se incrementaban las precipitaciones. Este hecho conduce a pensar que la influencia de agua dulce, altera su concentración, ya que este género encuentra condiciones más favorables de crecimiento a pH alcalino, dado que en la zona no confluyen ríos que puedan modificar el pH, su variabilidad está dada por el aporte de agua lluvia la cual tiene un ligeramente ácido 5 a 5.5 [32].

Se realizó un análisis multivariado de agrupación empleando el coeficiente de Pearson, en el que se relacionó cada grupo de organismos analizados, respecto a los parámetros fisicoquímicos. Se estableció así que los microorganismos evaluados se encuentran asociados principalmente a la temperatura del agua, la salinidad y los sólidos suspendidos. Con un porcentaje alto de similitud de 95.57% en la superficie, 95.9% en medio y 91.49% en fondo a lo largo de la bahía. (figura 5 a, b y c). A pesar de que la diferencia en la asociación entre las variables no es significativa, si se observa mayor asociación a nivel medio de la columna, lo cual se podría explicar por ser ésta una zona de la columna de agua, donde las condiciones ambientales y fisicoquímicas, como temperatura, radiación solar, salinidad, sólidos suspendidos, entre otros, son más favorables para su crecimiento [30].

De otra parte, la naturaleza de los fondos sedimentarios en la bahía es principalmente de tipo arenoso y fangoso, gracias a la marea son gradualmente liberados, logrando liberar partículas no solubles de diferente densidades a lo largo de la columna de agua, actuando como soporte para el crecimiento de algunos grupos microbianos, como es el caso del grupo Coliformes totales y *Escherichia coli* [35]. Para estos parámetros la relación se mantuvo a lo largo de la columna, como se observa en las tres profundidades evaluadas. De otra parte, se encontró que estos grupos están asociados con la temperatura del agua y la salinidad. Esta condición se basa en el hecho de ser microorganismos mesofílicos por excelencia, es decir que crecen entre 10 y 35° C y que son capaces de crecer en diferentes concentraciones de salinidad, como las encontradas en en

Bahía Portete, la cual osciló entre 34 y 35 [30].

En este análisis se pudo identificar una asociación de los SST con nutrientes, pH y oxígeno disuelto, la cual se desprende, principalmente, del proceso de degradación de la materia orgánica, ya que este proceso incluye, la oxidación y reducción de diferentes compuestos orgánicos, de forma física, química o biológica, liberando al medio iones hidróxilo e hidrogeniones, lo cual afecta el pH. Entre tanto, la agrupación encontrada con el oxígeno disuelto es concordante con procesos de recambio en el agua que suministran oxígeno, causando su degradación aeróbica. Todos estos factores se encuentran relacionados con el crecimiento de los diferentes grupos microbianos.

A nivel del fondo de la columna, la agrupación encontrada integró una nueva variable, la turbidez. A su vez esta variable integra los parámetros como nutrientes, pH y oxígeno disuelto, indicando que la supervivencia de los coliformes totales y *E. coli* se modifica con respecto a la profundidad debido a que las concentraciones encontradas fueron menores que las reportadas en las profundidades menores.

De otra parte los resultados encontrados para Enterococos en la superficie de la columna, agrupa las variables temperatura del agua y salinidad (figura 5), así como SST. Estas relaciones encontradas mediante el análisis de agrupación indican a nivel biológico su capacidad de crecer en ambientes salinos con temperatura mesofílica y que logran adherirse a sólidos en suspensión, como el fito y zooplancton. Se sabe que este grupo es capaz de adherirse a ellos para su supervivencia [35]. En la capa media se dan también condiciones favorables de alimentación y los microorganismos pueden reproducirse con mayor facilidad [36]. Los vientos y las mareas pueden alterar estas estratificaciones del agua de forma más o menos temporal, variando por ello la distribución de los microorganismos a lo largo de la columna.

En el dendograma que muestra la asociación entre *Enterococos* respecto a la parte media de la columna de agua (figura 5), se puede observar que los SST agrupan a los Enterococos, lo cual indica que estos están utilizándolos como soporte para su supervivencia, para adquirir de una manera más fácil

nutrientes en el ambiente acuático y que por efectos de la circulación del lugar logran mezclarse entre la superficie y el medio de la columna. En cuanto al fondo de la columna de agua (figura 5), se evidencia por el agrupamiento obtenido, la influencia de la turbidez y la presencia de SST, ya que a medida que la profundidad aumenta, aumenta la turbidez en el agua. Se observa además una estrecha relación con los nutrientes disponibles en el agua, el pH y el oxígeno disuelto.

Respecto a la concentración de *Pseudomonas sp* se encontró que a nivel de superficie (figura 5), este género está ligado tanto a la temperatura y salinidad del agua como también a la concentración de SST. Nótese como la turbidez se constituye en un parámetro que asocia tanto a la concentración de nutrientes como al pH y al oxígeno disuelto. En la sección media de la columna (figura 5), se encontró un comportamiento similar al registrado en la parte superficial de la columna de agua. La diferencia en esta sección está dada por su agrupación con la concentración de nutrientes, la turbidez, el oxígeno disuelto y el pH. Esto obliga a pensar que esta sección de la columna concentra los requerimientos nutricionales de este género, a su vez que modifica las condiciones de oxidación-reducción necesarias para el metabolismo microbiano. Mientras que a nivel del fondo de la columna, se observa que la concentración de SST y turbidez determinan la distribución de los nutrientes, haciendo que en esta sección la densidad de este microorganismo disminuya (figura 5).

En cuanto a los hongos filamentosos y levaduriformes, se observa que a nivel superficie y medio de la columna (figura 5), su crecimiento está involucrado con todas las variables fisicoquímicas, lo cual refleja una de sus principales características, su ubicuidad, que le permite crecer bajo diferentes condiciones ambientales, temperatura del agua, salinidad y nutrientes [34,38]. Sin embargo, en el dendograma que describe la asociación a nivel de fondo de la columna (figura 5), los hongos se agrupan tanto con los SST como con la temperatura y la salinidad del agua, indicando que la distribución de nutrientes, necesaria para su crecimiento, depende de su presencia en los sedimentos y otras partículas inorgánicas propias del fondo.

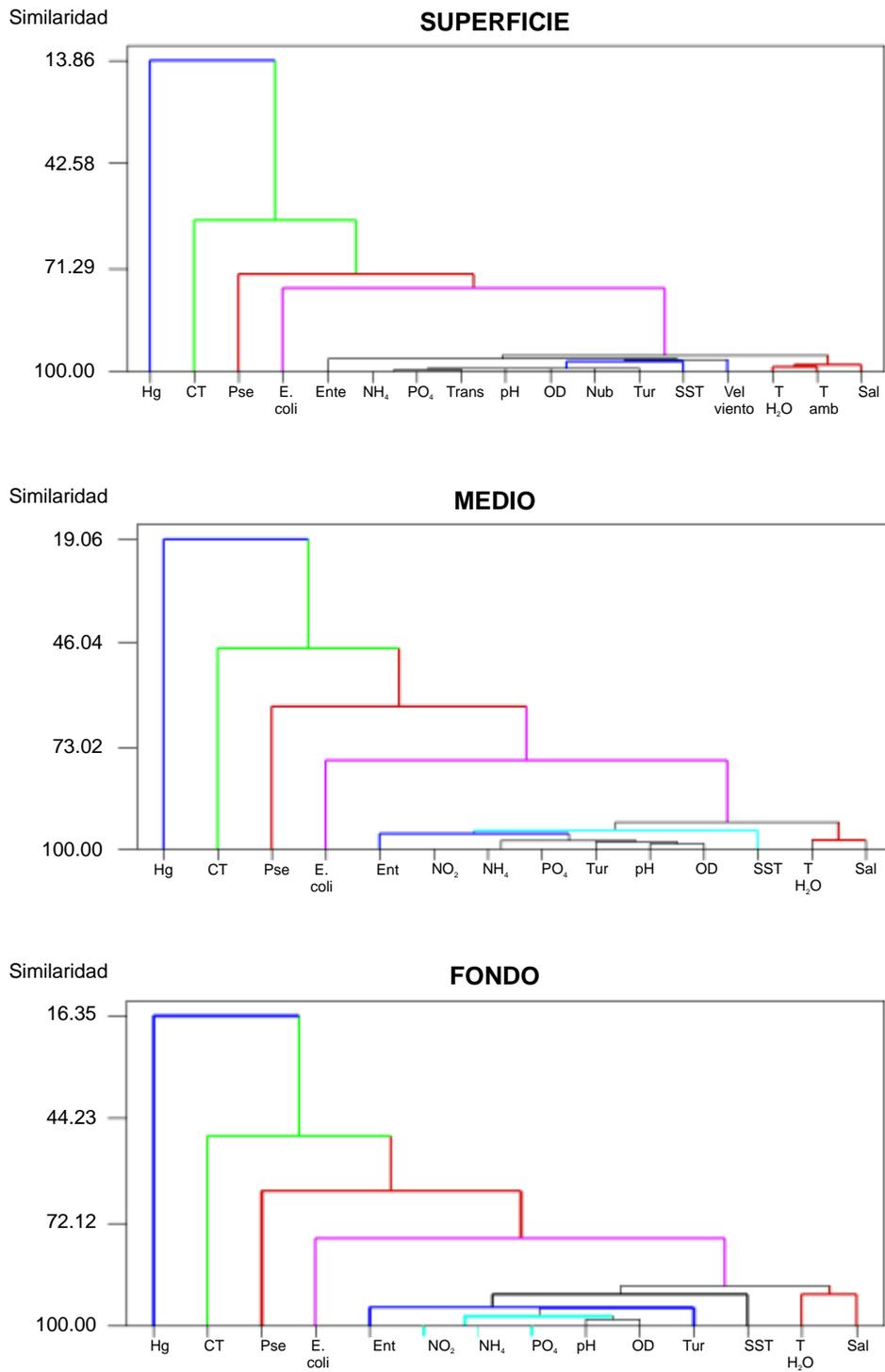


Figura 5. Dendrogramas de asociación por el coeficiente de Person del componente microbiológico con los parámetros fisicoquímicos: Hg: Hongos superficie; CT: Coliformes Totales; Pse: *Pseudomonas sp*; *E. coli*: *E. coli*; Ent: *Enterococos*. NO₂: Nitrito; NH₄: Amonio; PO₄: ortofosfatos; tur: turbidez; OD: Oxígeno disuelto; SST: Sólidos Suspendedos Totales; T°H₂O: Temperatura del agua; T°amb: Temperatura del ambiente; Sal: Salinidad.

Conclusiones

Las estaciones cercanas al puerto registran la presencia del grupo de indicadores de contaminación fecal como Coliformes totales y *E. coli*, factor que indica que por la marea propia del lugar las aguas que han sido deslastradas en puerto han llegado al interior de la bahía.

La presencia de estos organismos en el agua de lastre de los tanques analizados, indica que ésta, es la fuente principal de esos organismos, dado que en el área de estudio no existe otra fuente de contaminación como efluentes industriales o aportes continentales, lo anterior se afirma tras el hecho de haber analizado 25 tanques de los buques que arribaron a Bahía Portete y haber encontrado que para Coliformes Totales, el 75% de las muestras analizadas alcanzaron concentraciones entre 1.720 y 280 UFC/100ml. De igual forma el 12% de las muestras presentó concentraciones de *E. coli*, entre 600 y 250 UFC/100mL y el 8% para Enterococos donde la concentración más alta fue de 320 UFC/100 ml sobrepasando así el límite (100 UFC/100mL), establecido por la OMI.

La contaminación de origen fecal puede ser auto depurada por el sistema, siempre y cuando se disminuya el volumen de agua contaminada que se deslastra en puerto. De lo contrario la población del lugar podría estar expuesta a diferentes enfermedades diarreicas agudas, respiratorias o dermatológicas.

De otra parte la asociación entre las variables físico-químicas y el componente microbiológico permitió observar que todos los parámetros se encuentran relacionados con su crecimiento y adaptación, sin embargo, las agrupaciones principales se dieron con respecto a los parámetros de SST, temperatura del agua y la salinidad, lo cual indica que los microorganismos analizados responden a fluctuaciones registradas durante los períodos de muestreo.

El agua de Bahía Portete registra variabilidad en la presencia de *Vibrio sp.*, que corresponde a temperatura y la salinidad del agua durante cada época del año que favorezcan su asilamiento en el laboratorio. Es así como en época seca se obtuvieron más asilamientos de algunas especies respecto a la época de lluvias donde su aislamiento fue menor en los meses analizados, (mayo, julio, agosto, septiembre y noviembre).

No se registró presencia ni de *Salmonella sp* ni de *Shigella sp* en las muestras de agua analizadas en las diferentes estaciones de Bahía Portete. Por lo cual no se evidencia riesgo para la población de sufrir enfermedades como disentería o fiebre tifoidea.

Referencias bibliográficas

- [1] Munaylla U. Coordinación regional el plan de acción del Pacífico Sudeste en la ceremonia de inauguración de la reunión de expertos sobre el impacto de la introducción de especies exóticas. En: Reunión de expertos sobre el impacto de la introducción de especies exóticas en el Pacífico Sudeste, problema de las aguas de lastre en los buques. Panamá, República de Panamá, 9 al 11 de julio de 2003.
- [2] Streftaris N, Zenetos A, E Papathanassiou. Globalisation in marine ecosystems: the Story of non-indigenous marine species Across european seas. Oceanograph Mar Biol: An Annual Review 2005; 43: 419-453.
- [3] OMI. Hay que impedir que los organismos foráneos se desplacen aprovechando el agua de lastre. Boletín La OMI al día. 1998.
- [4] Joachimsthal EL, Ivanov V, Tay J-H, Tay ST-L. Bacteriological examination of ballast water in Singapore Harbour by flow cytometry with FISH. En: Marine Poll Bull 2004; 49: 334-343.
- [5] Soto K., Durán R, Kuznar J. Rapid examination of microorganisms in ballast waters En: Rev Biol Mar Oceanogr 2005;40(1): 77- 82.
- [6] Bailey SA, Duggan I C, Van-Overdijk C, PT Jenkins P, Hugh J. MacIsaac M. Viability of Invertebrate Diapausing Eggs Collected from Residual Ballast Sediment. Limnol Oceanog. 2003;48 (4):1701-1710.
- [7] Carvalho A. Presentación del proyecto OMI/PNUD/GEF Programa internacional de manejo de agua de lastre "GloBallast". En: Reunión de expertos sobre el impacto de la introducción de especies exóticas en el Pacífico Sudeste, problema de las aguas de lastre en los buques. Panamá, República de Panamá, 9 al 11 de julio de 2003.
- [8] Drake a, Lisa A, Doblin Martina A. Dobbs FC. Potential microbial bioinvasions via ships' ballast water, sediment, and Biofilm. En: Marine Poll Bull 2007; 55: 333-341.
- [9] Occhipinti-Ambrogi A. Global change and marine communities: Alien species and climate change En: Marine Poll Bull 2007; 55:342-352.
- [10] Rondón S, Vanegas T, Tigreros PC. Sampling ballast water for pathogens: the Colombian approach. En: 1st international Workshop on Guidelines and Standards for Ballast Water

- Sampling. Rio de Janeiro Brazil. Globallast Monograph Series 2003; (9) 46-53.
- [11] Cañón M, Vanegas T, Gavilán M, Morris LF, Tous G. Dinámica planctónica, microbiológica y fisicoquímica en cuatro muelles de la Bahía de Cartagena y buques de tráfico internacional - En: Boletín Científico CIOH 2005; (23):44-59.
- [12] UMI. Unidad de manejo integrado-Bahía Portete costa Caribe colombiana. CORPOGUAJIRA-ONG ASOCIACION DESARROLLOGUAJIRO 2006.
- [13] INVEMAR. Monitoreo de ecosistemas representativos de Bahía Portete. Carbones de Cerrejón L. L. C. Informe Final 2004;136.
- [14] Garzón-Ferreira. CARBOCOL - INTERCOR, El Cerrejón Zona Norte. Informe final. Santa Marta 1982;156.
- [15] INVEMAR. Diagnóstico actual de las comunidades marinas de la Bahía Portete, análisis de efectos reales por la construcción y operación de las instalaciones portuarias. Editado por JM Díaz, O.D Solano, R. Dueñas, 1988.
- [16] INVEMAR. Descripción inicial de unidades de monitoreo de ecosistemas marinos en la Bahía de Portete. Determinación del área de influencia de Puerto Bolívar afuera de Bahía Portete 1992.
- [17] Solano CO. Formaciones arrecifales y blanqueamiento de 1987 en Bahía Portete (Guajira-Colombia). Anuario INVEMAR 1994;(23):149-163.
- [18] Gutiérrez C, Alonso DA, Segura-Quintero C. y Ortega L. Diseño de un área marina protegida para Bahía Portete, La Guajira-Norte del Caribe colombiano. XIII Seminario Nacional de Ciencia y Tecnología del Mar 2007: 392.
- [19] MINAMBIENTE. Diagnóstico y zonificación preliminar de los manglares del Caribe de Colombia. Autores: Heliodoro Sánchez-Páez, Ricardo Alvarez-León Francisco Pinto-Nolla, Ana Soledad Sánchez-Alfárez, Juan Carlos Pino-Rengifo, Ingrid García-Hansen, Maria Teresa Acosta-Peñaloza. Bogotá 1997:510.
- [20] American Public Health Association Standard Methods for Examination of water and wastewater. 20th edition. 1998; 9-56.
- [21] Pulido M, Ávila SL, Estupiñán-Torres SM, Gómez-Prieto AC. Indicadores microbiológicos de contaminación de las fuentes de agua. En: Nova - Publicación Científica 2005; 3 (4):69-79.
- [22] PNUMA. Perspectivas del Medio Ambiente Mundial GEO 3. Programa de Naciones Unidas Para el Medio Ambiente. Mundi Prensa. Madrid España 2003;410.
- [23] Herrera A. Indicadores bacterianos como herramientas para medir la calidad ambiental del agua costera. En Interciencia 2005; 30(03):171-176.
- [24] Bravo F, Monte-Boada L, Ramirez RJ, Alvarez Margarita et al. Aplicación de la técnica de hibridación en colonias para la identificación de *Vibrio cholerae* 01 toxigénico. Rev Cubana Med Trop 1996;48(3):169-170.
- [25] Ohl Michael E, Miller Samuel I. Salmonella: A Model for Bacterial Pathogenesis En: Annu. Rev. Med. 2001; (52):25974.
- [26] Baumler AJ, Johannes L, Kusters G, Stojiljkovic I, Heffron F. Salmonella typhimurium Loci Involved in Survival within Macrophages. Infec Imm 1994;62(5):1623-1630.
- [27] Chover- Lara JL, Salazar- Cifre A, Gallego-Cruz M, Camaró-Sala ML, Segarra-Martínez C, Peñalver-Blasco M. Brote de shigellosis en un barrio de nivel social bajo. Rev. Esp. Salud Pública 1999 Mayo; 73(3): 393-401.
- [28] Lemay M. Coastal and Marine Resource Management in Latin America and the Caribbean. En: Interamerican Development Bank Technical Study N° ENV-129. Washington DC, EEUU. 1998; 57pp.
- [29] Rey J R, O'Connell, S. Efectos de descargas de agua de manglares embalsados en las praderas submarinas y en la atenuación de la radiación solar en el estuario colindante. INCI. 2003; (28):11.
- [30] Davis C, j. Long, M Donald, Ashobolt N. Survival of faecal microorganisms in marine and freshwater sediments. Appl. Environ. Microbiol 1995;(61):1888-1896.
- [31] Hughes EA. Influence of Seasonal Environmental Variables on the Distribution of Presumptive Fecal Coliforms around an Antarctic Research Station. Appl. Environ. Microbiol. Aug. 2003;69(8): 4884-4891.
- [32] Sánchez T, León J, Woolcott J, Arauco K. Proteasas extracelulares producidas por bacterias marinas aisladas de aguas contaminadas con efluentes pesqueros. Rev. Perú biol 2004. ISSN 1727-9933; 11 (2):179-186.
- [33] Danovaro R. Luna GM, Dell'Anno A, Pietrangeli B. Comparison of Two Fingerprinting Techniques, Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism and Automated Ribosomal Intergenic Spacer Analysis, for Determination of Bacterial Diversity in Aquatic Environments. Appl. Environ. Microbiol. Sept 2006; 72(9): 5982-5989.
- [34] Newell SY. Multiyear patterns of fungal biomass dynamics and productivity within naturally decaying smooth cordgrass shoots. Limnol. Oceanogr 2001;46: 573-583.
- [35] Santos FJ. Estudio de la dispersión de las partículas suspendidas en la Laguna de Términos. Simposio la investigación en la facultad de Ingeniería. Universidad de México 2004. En: http://www.fi-p.unam.mx/simposio_investigacion2dic04/estudio_dispersion_extenso.html.
- [36] Signoretto C, Burlacchini G, Lleo M, Pruzzo C, Zampini M, Pane L, Franzini G, Canepari P. Adhesion of *Enterococcus faecalis* in the Nonculturable State to Plankton Is the Main Mechanism Responsible for Persistence of This Bacterium in both Lake and Seawater Applied Environmental Microbiology, Nov. 2004; 70(11):6892-6896.

[37] Mallmann-Daniele LB, Milton L. Implementación de un modelo de evaluación de riesgo del agua de lastre en el puerto de Río Grande, Brasil* Nota Científica En: Invest. Mar., Valparaíso 2006; 34(2): 205-210.

[38] Sgueros PI, Simms J. Role of marine fungi in the biochemistry of the oceans. IV Growth responses to seawater inorganic macroconstituents' Journal of Bacteriology 1984; 88 (2):346-355.