



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar

**“Distribución espacial de la presencia de coliformes totales en
el embalse de la ESPOL”**

TESIS DE GRADO

Previa a la obtención del Título de:

BIÓLOGA

Presentado por:

SOFÍA CRISTINA MÁRQUEZ ENRÍQUEZ

Guayaquil – Ecuador

2010

AGRADECIMIENTO

A Dios por darme la oportunidad de realizar mis sueños.

A mis padres y mi hermano por su apoyo incondicional.

A Joseph Milne por su inmenso amor y comprensión en esta etapa de mi vida.

Al PhD. Marcelo Muñoz y a mis evaluadores por su apoyo,
y su ayuda en el desarrollo de esta Tesis.

Al Blgo. Alberto Zambrano por la ayuda brindada en el CSA.

A la FIMCM por compartir sus conocimientos durante mi carrera.

A todas las personas que me ayudaron desinteresadamente en el proceso de la Tesis.

DEDICATORIA

A mis padres Antonio y Marina por darme
la oportunidad de cumplir mi sueño y apoyarme
en esta importante etapa de mi vida.

A mi hermano Ricardo por su inmenso apoyo.

“Toda manifestación de vida merece respeto.

Pensemos en nosotros, en nuestro mundo,

es el único que tenemos”.

TRIBUNAL DE GRADUACIÓN



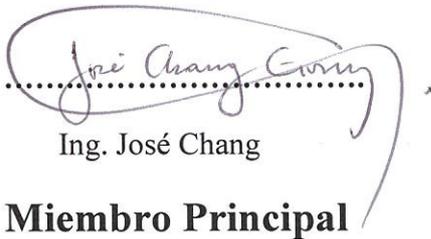
Msc. Jerry Landivar

Presidente del Tribunal



PhD. Marcelo Muñoz

Director de Tesis



Ing. José Chang

Miembro Principal



Msc. Sonia Guartatanga

Suplente

DECLARACIÓN EXPRESA

“La responsabilidad del contenido de esta Tesis de Grado, me corresponden exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL”



.....

Sofía Cristina Márquez Enríquez

RESUMEN

Este estudio es la primera línea base biológica que posee la Escuela Superior Politécnica del Litoral en el Campus Gustavo Galindo con respecto al embalse que fue construido en 1990. La situación biológica que enfrenta el embalse de la ESPOL en la época seca en el año 2009, fue analizada de acuerdo a los datos encontrados de bacterias coliformes totales en el embalse y basados en la metodología del método del número más probable. Se realizó un muestreo a nivel superficial y a 5 metros de profundidad del embalse dividido en 3 zonas A, B y C. También se tomó parámetros físicos (Oxígeno Disuelto, pH y Temperatura).

En base a los datos obtenidos en el muestreo, se realizó un análisis de dos vías para determinar el nivel de presencia de coliformes totales en el área de estudio. Luego se realizó una comparación con los estándares nacionales presentados en el libro TULAS de 2002.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
ÍNDICE GENERAL.....	I
ÍNDICE DE TABLAS.....	III
ÍNDICE DE FIGURAS.....	IV
ÍNDICE DE ANEXOS.....	V
ABREVIATURAS.....	VI
INTRODUCCIÓN.....	1
 CAPITULO 1: GENERALIDADES	
1.1. Embalse.....	4
1.2. Coliformes.....	7
1.3. Efectos de los coliformes en la salud humana.....	10
1.4. Efectos de los coliformes en la salud animal.....	14
1.5. Estándares Nacionales.....	18
1.6. Descripción histórica del embalse de la ESPOL.....	19
 CAPITULO 2: MATERIALES Y METODOS	
2.1 Área de estudio.....	22
2.2 Estrategia de Muestreo.....	25
2.3 Monitoreo de Oxígeno disuelto, pH y Temperatura.....	25
2.4 Método del número más probable (NMP).....	30
2.5 Análisis estadístico.....	35

Pág

CAPITLO 3: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Análisis de Resultados.....	36
3.2 Análisis de los parámetros Físicos (Oxígeno disuelto, pH y Temperatura).....	39
3.3 Comparación de los resultados con los datos históricos.....	43
3.4 Comparación de los resultados con el estándar.....	43
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	45-46
Bibliografía.....	47
Anexos.....	50

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág
Tabla #I. Tabla de las principales bacterias coliformes con relación a su fuente, periodo de incubación, duración y síntomas.....	14
Tabla #II. La cantidad máxima de oxígeno que puede disolverse en agua dulce es 9 ppm. Si la temperatura del agua está por debajo de 20° C.....	27
Tabla #III. Resultados del muestreo Octubre 2009	38
Tabla #IV. Resultados del muestreo Noviembre 2009.....	38
Tabla #V. Valores de Oxígeno Disuelto, pH y temperatura a 0 y 5 metros de profundidad durante el mes de octubre.....	41
Tabla #VI. Valores de Oxígeno Disuelto, pH y temperatura a 0 y 5 metros de profundidad durante el mes de noviembre.....	42
Tabla #VII. Valores promedio de Oxígeno Disuelto, pH y temperatura a 0 y 5 metros de profundidad de todas las zonas en el mes de octubre y noviembre vs los valores estipulados por el Libro TULAS 2002.....	42
Tabla #VIII. Comparación de resultados con los estándares establecidos en el libro TULAS.....	44

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág
Figura 1. Zonificación de un embalse.....	6
Figura 2. Normativa del INEN para agua potable.....	11
Figura 3. Hidropesia.....	16
Figura 4. Colitis.....	16
Figura 5. Furunculosis.....	17
Figura 6. Ubicación Geográfica del Embalse de la ESPOL.....	21
Figura 7. Mapa de 1998.....	24
Figura 8. Mapa de 2009 y sus coordenadas.....	24
Figura 9. Oxigenómetro.....	26
Figura 10. pH metro.....	28
Figura 11. Resultado positivo de coliformes totales.....	35
Figura 12. Mapa del embalse de la ESPOL, 2009.....	36

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág
Anexo A. Tabla del análisis de dos vías de los resultados en el muestreo en la época seca los días 19 de Octubre y 9 de Noviembre de 2009.....	50
Anexo B. Tabla del análisis de dos vías de los resultados en el muestreo de la época seca de los meses Octubre y Noviembre de 2009.....	51
Anexo C. Distribución de coliformes a nivel superficial y a 5 metros de profundidad en el mes de Octubre de 2009.....	52
Anexo D. Distribución de coliformes a nivel superficial y a 5 metros de profundidad en el mes de Noviembre de 2009.....	53
Anexo E. Distribución de coliformes a nivel superficial y a 5 metros de profundidad Octubre y Noviembre de 2009.....	54
Anexo F. Resultados de Parámetros Físicos en la estación seca los días 19 de Octubre y 9 de Noviembre de 2009.....	55
Anexo G. Comparación de Parámetros Físicos Vs Libro TULAS 2002.....	55
Anexo H. Tablas del Método del Número Más Probable (NMP).....	56

ABREVIATURAS

CDT:	Colónicas – disentéricastifoideas
CT:	Coliformes Totales
E. coli:	Escherichia coli
ESPOL:	Escuela Superior Politécnica del Litoral
FIMCM:	Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar
GOE:	Grupo de Operaciones Especiales de la Policía Nacional
INEN:	Instituto Ecuatoriano de Normalización
NMP:	Número Más Probable
OD:	Oxígeno Disuelto
ONPG:	Orto-nitrofenilgalactopiranosido
pH:	Pondus Hydrogenium
SEBIOCA:	Sociedad Ecuatoriana de Biotecnología
SUH:	Síndrome hemolítico urémico
T°:	Temperatura
TULAS:	Texto Unificado de Legislación Ambiental Secundaria
USEPA:	Agencia de Protección del Medioambiente de los Estados Unidos
VTEC:	Escherichia coli verocitotoxigénicos

INTRODUCCIÓN

El Embalse de la ESPOL fue diseñado e incluido en la planificación institucional en 1984 por el Ing. Miguel Angel Chávez, docente de la ESPOL. El Embalse era conocido como Presa 1 asignado por el Departamento de Planificación, pero en la actualidad se lo conoce como Embalse de la ESPOL. Actualmente adorna el área urbanizada del Campus.

La presa fue construida en el año de 1990, en las proximidades de la Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar, posee una altura máxima de 20 metros, a su vez posee 17 metros de profundidad máxima, su longitud es de 300 metros de largo, con un muro de coronación de 14 metros de ancho. En la cota 80 puede embalsar 380.000 m^3 , su profundidad del reservorio puede variar tanto en la época seca como en la época lluviosa. La presa está dotada de un vertedero capaz de desalojar 5.5 m^3 por segundo.

El propósito de esta investigación es para determinar la presencia de coliformes totales en el embalse de la ESPOL. Se comparó los resultados obtenidos con los estándares presentados por el Libro TULAS del 2002. Siendo la primera línea base biológica del embalse de la ESPOL y así poder tener una idea de la situación que enfrenta el embalse en la época seca. El mismo que es utilizado por la Escuela Superior Politécnica del Litoral para uso recreativo, prácticas de entrenamiento por parte del Grupo de Operaciones Especiales de la Policía Nacional (GOE) y uso de riego o agropecuario, además de ser un hábitat de muchos animales como langostas y peces.

Los coliformes totales se definen como aeróbicos y anaerobios facultativamente, gram-negativo, no formador de esporas, bacterias de forma redondeada que fermentan la lactosa del azúcar lácteo para producir ácido y gas en el plazo de 48 horas a 35°C . Los géneros de coliformes pueden encontrarse en el intestino de los animales, la mayoría de

estas bacterias están muy bien diseminadas en el medioambiente, incluyendo el agua potable y las aguas residuales. Una excepción importante es el *Escherichia coli*, que usualmente no sobrevive mucho tiempo, fuera del intestino, excepto quizá en el agua caliente en los climas tropicales. (American Water Works Association. 2002)

A principios de este siglo la detección y el recuento de bacterias patógenas en el agua era un proceso laborioso, el concepto de la utilización de los organismos indicadores para inferir la presencia o ausencia de estos patógenos fue adoptado, utilizando la metodología para cuantificar los niveles de coliformes totales y coliformes fecales. (Wallace, H ,2004)

Existen varias razones para que el *Escherichia coli* sea el principal indicador bacteriano en agua potable, aguas residuales, aguas recreativas y aguas de sistemas de producción tanto de moluscos como de crustáceos. (Allen, M ,1996)

La concentración de bacterias indicadoras ha sido usada por décadas para evaluar la seguridad de las aguas recreacionales. Para aquello se usa estándares internacionales y nacionales, que se calculan a partir de la información epidemiológica y permiten establecer correlaciones entre densidades de microorganismos patógenos y/o microorganismos indicadores que son utilizados con fines recreativos. (Apha, 1998)

En el Texto Unificado de Legislación Ambiental Secundaria (TULAS), la Norma de Calidad Ambiental y de Descarga de Efluentes: Recurso Agua. La presente norma técnica ambiental es dada bajo el amparo de la Ley de Gestión Ambiental y del Reglamento a la Ley de Gestión Ambiental para la Prevención y Control de la Contaminación Ambiental que rige en todo el territorio nacional; estableciendo 3 diferentes puntos importantes que son: Los límites permisibles, disposiciones y prohibiciones para las descargas en cuerpos de aguas o sistemas de alcantarillado; los criterios de calidad de las aguas para sus distintos usos y los métodos para determinar la presencia de contaminantes en el agua.

Los estándares nacionales para los diferentes usos que se dan en el Embalse de la ESPOL del agua son: Preservación de Flora y Fauna, el uso Agrícola o de Riego y el uso Recreativo. Según el Texto TULAS del 2002, la preservación de la Flora y Fauna de Número Más Probable Coliformes Totales (NMP CT) es de 200/100ml, para el uso Agrícola de NMP CT es de 1000/100ml, para el uso Recreativo primario (natación y buceo) de NMP CT es de 1000/100ml y secundario (deportes náuticos y pesca) de NMP CT es de 4000/100ml. (TULAS, 2002)

Los resultados obtenidos en el muestreo de la época seca. Se realizó un análisis de dos vías, demostrando que no sobrepasan los estándares nacionales establecidos en el libro TULAS.

CAPITULO I

GENERALIDADES

1.1 Embalse

Mucho de los conocimientos de la limnología vienen de la observación en los ecosistemas de lagos. Sin embargo cientos de miles de embalses fueron creados por el hombre. Estos cuerpos artificiales de agua son creados por específicos propósitos de la gestión de agua. Por ejemplo el almacenamiento de agua, el control de inundaciones, la generación de energía eléctrica y la recreación.

Pantanos difieren de manera significativa de los ecosistemas lacustres naturales. Estudio de los ecosistemas de depósito, sin embargo, indican muchas similitudes funcionales entre los lagos artificiales o embalses y naturales. Con el fin de gestionar eficazmente y utilizar los embalses, es importante comprender las diferencias estructurales creadas por el hombre y los ecosistemas de lagos naturales y al mismo tiempo reconocer la similitud funcional. (Wetzel, 1983)

Características de los embalses

Los embalses son construidos con más frecuencia por un río, el agua se acumula detrás de la presa. Agua liberada aguas abajo está regulado de acuerdo a las entradas de agua de la cuenca de drenaje, así como los usos del agua. Como resultado de la morfología lineal común en un valle fluvial, varios patrones como físicos y biológicos desarrollan longitudinalmente a lo largo del embalse. Pequeños embalses

y estanques artificiales se construyen también en las depresiones de los valles que se producen por las corrientes de superficie y / o filtración. En algunos casos, las excavaciones del suelo para la construcción o la explotación minera dan como resultado embalses o lagos artificiales. Los diques pueden ser sobrepasados sólo ocasionalmente durante y después de eventos de precipitaciones importantes.

Los grandes embalses también pueden lograr complejas características hidrodinámicas con los cambios físicos y químicos que influyen en la biota acuática en muchas maneras y pueden ser perjudiciales para el medio ambiente y el bienestar humano. A menudo los grandes embalses modifican las regiones en sus alrededores o para grandes distancias por debajo de la presa. El depósito sirve como una fuente o sumidero de calor, los sedimentos y solutos pueden causar graves efectos debajo de la presa. Los patrones de las inundaciones anuales son alterados, y los movimientos de los peces anádromos se ven dificultados o inhibidos.

Debido a la función de muchos embalses, se reducen las corrientes fluviales, que sirven como colectores de las cargas de sedimentos fluviales. Como resultado, la longevidad de los embalses a menudo es muy corta, generalmente menos de 100 años. Las ganancias a corto plazo en el control de inundaciones, energía hidroeléctrica, y otros activos deben ser cuidadosamente evaluados frente a los inconvenientes. Los embalses pueden contribuir a la propagación de ciertas enfermedades transmitidas por el agua que contienen los vectores y puede reducir la incidencia de los demás. (Wetzel, 1983)

Zonificación en Embalses

Tres zonas distintas se producen a lo largo de la pendiente longitudinal del embalse: una zona ribereña, una zona de transición, y una zona lacustre. Cada zona posee dinámica física, y características biológicas. La zona ribereña es a menudo relativamente estrecha, como resultado de la geomorfología del río.

Las velocidades del agua disminuirán a medida que el agua entre en el depósito, el transporte por las corrientes de advección es suficiente para mover grandes cantidades de partículas en suspensión finas como limos, arcillas y materia orgánica.

Las velocidades de aguas fluviales disminuirán a medida que la energía se dispersa en zonas más extensas en la zona de transición. Una parte apreciable de la carga de la turbidez se instala fuera de las capas superiores del agua como resultado. Disminución de los resultados de la turbidez en mayor profundidad de penetración de la luz y las tasas de aumento de la productividad fotosintética del fitoplancton. Poco a poco, se produce un cambio de un porcentaje creciente de la carga total de materia orgánica de fitoplancton y, en algunos embalses superficiales, de raíces de plantas vasculares.

Dentro de la zona lacustre, características cada vez más similares a los ecosistemas lacustres. Esta parte de la reserva a menudo se estratifica térmicamente y asume muchas de las propiedades de los lagos naturales en lo que respecta a la producción de plancton, la limitación de nutrientes, la sedimentación de materia orgánica, y la descomposición en el hipolimnion. (Wetzel, 1983)

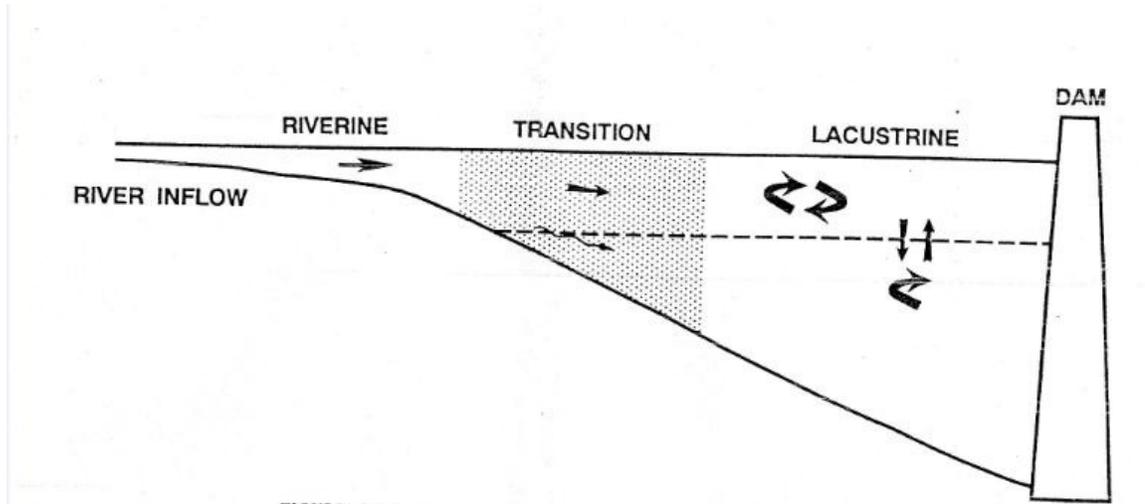


Figura 1. Zonificación de un embalse (Wetzel, 1983)

1.1 Coliformes

Los coliformes totales son un grupo de bacterias relacionadas de cerca (familia de las *Enterobacterias*), que han sido utilizadas durante muchas décadas como el indicador idóneo para el agua potable. El grupo se define como aeróbico y anaerobio facultativo, gran-negativo, no formador de esporas, bacterias de forma redondeada que fermentan la lactosa del azúcar lácteo para producir ácido y gas en el plazo de 48 horas a 35°C. Pocas bacterias distintas de las coliformes pueden metabolizar los lácteos, por esta razón, la lactosa se usa como base para la identificación (la hidrólisis de *o*-nitrofenil- β -d-galactopiranoxido, o ONPG; se usa también para identificación en algunas pruebas de coliformes).

El grupo de coliformes totales incluye la mayoría de las especies de los géneros *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Websiella* y *Escherichia coli*. También incluye algunas especies de *Serratia* y otros géneros. Aunque todos los géneros coliformes pueden encontrarse en el intestino de los animales, la mayoría de estas bacterias están muy bien diseminadas en el medioambiente, incluyendo el agua potable y las aguas residuales. Una excepción importante es el *E. coli*, que usualmente no sobrevive mucho tiempo fuera del intestino, excepto quizá en el agua caliente en los climas tropicales.

Los coliformes totales se utilizan para fijar la efectividad del tratamiento y la integridad del sistema de distribución. También se utilizan como test o prueba de cribado para la contaminación fecal reciente. El tratamiento que proporciona el agua libre de coliformes debería también reducir los patógenos a niveles mínimos. Un avance principal para el uso de los coliformes totales como indicador es que son sólo marginalmente adecuados para predecir la presencia potencial de protozoos patógenos, quistes, ooquistes y algunos virus, porque los coliformes totales son menos resistentes a la desinfección que estos otros organismos. Otro avance es que los coliformes bajo ciertas sustancias pueden proliferar en los biofilms de los sistemas de distribución de agua, oscureciendo o nublando su uso como indicador de

contaminación externa. Los coliformes, a veces, son también de origen no fecal. A pesar de estos inconvenientes, los coliformes totales permanecen como indicadores útiles de la calidad microbiana del agua potable, y el grupo está regulado bajo la Norma de Coliformes Totales de la USEPA, Agencia de protección del medioambiente de los Estados Unidos. (American Water Works Association. 2002).

Fermentaciones del grupo coliforme

Los integrantes del grupo coliforme a menudo se denominan fermentadores mixtos de ácidos, fermentadores del ácido fórmico o bacterias colónicas-disentéricastifoideas (grupo CDT). La fermentación mixta de ácidos es característica de los miembros de la familia Enterobacteriaceae y estos microorganismos degradan la glucosa en una diversidad de productos finales.

El grupo coliforme puede subdivirse en dos categorías:

- a) Los microorganismos que rinden diversos productos mixtos de ácido.
- b) Los que elaboran butilenglicol como principal producto final.

El tipo o las combinaciones y cantidades del producto final producidas dependen del género o de las especies que se prueban.

Los productos de los microorganismos que elaboran varios ácidos incluyen los siguientes: ácidos fórmico, acético, láctico y succínico, etanol y CO_2 e H_2 ; pero no butilenglicol (butanodiol). El alcohol se forma por la fermentación alcohólica, el ácido láctico, ácido acético y el CO_2 se forman por la fermentación láctica a través de la dismutación del ácido pirúvico. En la dismutación, una molécula de ácido pirúvico es reducida para dar ácido láctico y la otra molécula es oxidada y se forma ácido acético y CO_2 . Entre los miembros de la familia Enterobacteriaceae, *Escherichia coli* exhibe este tipo de fermentación.

2 moléculas de ácido pirúvico \rightarrow ácido acético + ácido láctico + CO_2 .

El segundo grupo está compuesto por microorganismos cuyo principal producto final es el butilenglicol. Entre los miembros de la familia Enterobacteriaceae, los grupos Klebsiella-Enterobacter muestran este tipo de fermentación. (MacFaddin, J. 2003)

Tasado de calidad microbiana

La calidad microbiana de una fuente de agua, o la eficacia de un sistema de tratamiento para la remoción de microorganismos, puede aquilatarse bien por monitorización directa de patógenos o bien por el uso de un sistema indicador. Como los patógenos son un grupo altamente diverso, que requieren generalmente una técnica analítica altamente especializada (y a menudo insensible y cara) para cada patógeno, el uso de organismos indicadores es una técnica más popular.

Un grupo indicador de organismos puede utilizarse para controlar la contaminación de la fuente de agua o el grado de tratamiento; sin embargo, el mismo grupo indicador a menudo se utiliza para señalar ambas propiedades. Esto pone severos reparos sobre el grupo indicador de organismos elegido. Bonde (1966) ha propuesto que un indicador ideal debe:

1. Estar presente siempre que los patógenos de riesgo estén presentes.
2. Estar presente sólo cuando la presencia de patógenos es un peligro inminente, que está siendo capaz de proliferar en una gran extensión en el ambiente acuoso.
3. Ocurrir en mucho mayor número que los patógenos.
4. Ser más resistente a los desinfectantes y al ambiente acuoso que los patógenos.

5. Desarrollarse fácilmente en medios relativamente sencillos.
6. Conseguir características y capacitar o posibilitar las reacciones sencillas, en tanto que sea posible, como identificación no ambigua del grupo.
7. Ser distribuido al azar en la muestra a examinar, o ser capaz de distribuirse uniformemente por procedimientos simples de homogenización.
8. Desarrollarse muy independientemente de otros organismos presentes cuando se inoculen en un medio artificial, que no esté seriamente inhibido en su crecimiento por la presencia de otras bacterias.

El uso de coliformes como organismos indicadores hace frente o lidera el trabajo primero de Phelps (1909). La razón básica fue que los coliformes y bacterias patógenas se originasen desde una fuente común, principalmente contaminación fecal humana. El trabajo subsiguiente de muchos científicos confirmó que estos organismos fueron al menos tan resistentes al cloro libre o contaminado como los agentes patógenos bacterianos.

El grupo coliforme es un conglomerado heterogéneo de microorganismos, incluyendo formas naturales de los tractos gastrointestinales de los mamíferos, así como un número de formas exclusivamente del estiércol, abono o tierra vegetal. (American Water Works Association. 2002).

1.2 Efectos de los coliformes en la salud humana

Los microorganismos causantes de las enfermedades pueden entrar a nuestro cuerpo por varias vías, como la boca y los pies descalzos. Cuando salen lo hacen también por la boca y nariz, así como por las excretas, es decir, heces y orina. Si una persona está infectada, los microorganismos o sus huevos salen por las excretas, estas infectan las aguas y suelos, pasando a otros organismos, denominados vectores

de transmisión (moscas, mosquitos o cucarachas, entre otros), desde los cuales vuelven al hombre.

El agua es sumamente importante para el organismo, es un elemento esencial para la subsistencia de los seres vivos. Pero no siempre el agua tiene las condiciones ideales para ser consumida. El agua potable debe tener las siguientes características: carecer de sustancias orgánicas en suspensión, ser clara, incolora, inodora e insípida, debe tener un residuo salino inferior al 5% y un valor de bacterias coliformes totales $< 1,1 \text{ NMP}/100 \text{ cm}^3$.

Requisitos microbiológicos	
	Máximo
Coliformes totales (1) NMP/100 cm ³	< 1,1 *
Coliformes fecales NMP/100 cm ³	< 1,1 *
<i>Cryptosporidium</i> , número de quistes/100 litros	ausencia
<i>Giardia Lamblia</i> , número de quistes/100 litros	ausencia
* < 1,1 significa que en el ensayo del NMP utilizando 5 tubos de 20 cm ³ ó 10 tubos de 10 cm ³ ninguno es positivo	
(1) En el caso de los grandes sistemas de abastecimiento, (Ver anexo 1), debe dar ausencia en el 95 % de las muestras, tomadas durante cualquier periodo de 12 meses.	

Figura 2. Normativa del INEN para agua potable. (INEN, 2010)

El agua puede contener microorganismos que producen enfermedades y que no se detectan a simple vista o por el olor o sabor. El agua, en este aspecto, se contamina fácilmente y por tanto es importantísimo tomar medidas de saneamiento, higiene y adecuada disposición de las excretas. (Nataro JP y Kaper JB, 1998)

Existen diferentes bacterias que producen diferentes enfermedades en el ser humano como son presentadas a continuación. *Escherichia coli* parece vivir en simbiosis en el intestino casi desde el nacimiento. Es causa importante de infecciones en vías urinarias, pero rara vez produce enfermedades en otros sitios en el ser humano, excepto posiblemente con la base de oportunismo. *E. coli* puede llegar a los tejidos por vía linfática o sanguínea, o puede introducirse en ellos por contaminación de la superficie corporal. El microorganismo es causa importante de infecciones cutáneas piógenas focales; infecciones de vías urinarias como pielonefritis y cistitis aguda, de peritonitis, apendicitis aguda, colecistitis, colangitis y cirrosis biliar infecciosa. En todos los sitios de localización provoca reacción

supurada completamente inespecífica, con formación de abscesos, idénticos a los causados por estafilococos.

Además, cepas específicas de *E. coli* pueden ser la causa de una forma muy grave de diarrea epidémica, que suele ocurrir en niños hospitalizados. Las infecciones localizadas pueden ir seguidas de complicaciones neumónicas bacteriémicas, sobre todo en niños y ancianos. (Nataro JP y Kaper JB, 1998)

E coli O157: H7

La *E. coli* O157:H7 fue reconocida inicialmente como causa de enfermedad en 1982 durante un brote de diarrea aguda con sangre; el brote determinó que se debía a hamburguesas contaminadas. Desde entonces, la mayoría de las infecciones han provenido de comer carne de vacuno molida insuficientemente cocinada. (wikipedia, 2009)

Existen cientos tipos de E.coli, y la mayoría son inofensivas. Sin embargo, la E.coli O157:H7 es un tipo que vive en los intestinos del ganado saludable que puede causar enfermedades severas en humanos como el Síndrome urémico hemolítico. (Indiana state department of health, 2009)

La importancia de *Escherichia coli* verocitotoxigénicos (VTEC) como agentes causales de toxiinfecciones alimentarias está aumentando en el mundo en general y en Europa en particular. Entre los VTEC, el serotipo más frecuentemente implicado es el O157. En el año 1982 Riley *et al* describieron por primera vez un brote de colitis hemorrágica causado por este serotipo. (Usera Miguel, 2009)

Algunos incidentes recientes demuestran que tanto el agua de consumo como la de uso recreativo pueden servir como vehículo para la transmisión de las infecciones por el *E. coli* O157:H7. En Missouri, en 1989, ocurrió el primer y más importante brote hídrico asociado con este microorganismo. Aunque de nuevo no se identificó la fuente, se sospechó que el refluo derivado de la rotura de una tubería podría haber contaminado el suministro de agua potable. Como la mayoría de *E. coli*, los

aislamientos de este serotipo son sensibles a los efectos del cloro. (Usera Miguel, 2009)

Síntomas

La patogenicidad de las cepas de VTEC parece estar asociada con varios factores de virulencia, entre los que se incluyen la producción de varias citotoxinas. Estas toxinas se denominan en conjunto verotoxinas o toxinas *Shiga-like*, debido a su gran similitud con la toxina de Shiga de *Shigella dysenteriae* tipo 1. Aunque se conocen más de 60 serotipos de *E. coli* capaces de producirlas, y aún se están describiendo más, el serotipo O157:H7. (Usera Miguel, 2009)

La infección frecuentemente causa severa diarrea con sangrado y dolor de estómago con poca o nada de fiebre. Los síntomas usualmente comienzan de 2 a 5 días después de su exposición y duran aproximadamente de 5 a 10 días. Algunas personas quizá solo tengan diarrea ligera sin sangre o quizá no tengan síntomas del todo. (Indiana state department of health, 2009)

Raramente, las personas infectadas con E.coli O157:H7 pueden desarrollar una condición llamada síndrome hemolítico urémico o “SUH”. Esta condición es muy seria y puede llevar al fallo de riñones y la muerte. Los niños menores de 5 y personas de edad avanzada tienen más posibilidad de desarrollar esta condición. (Indiana state department of health, 2009)

Las personas se pueden infectar con E.coli O 157:H7 por medio de:

- comer productos de res no bien cocidos, particularmente carne de res molida;
- tomar leche y jugos de frutas sin pasteurizar, incluyendo la sidra de manzana;
- comer frutas y vegetales crudos y sin lavar; y
- nadar o tomar agua que ha sido contaminada con excremento animal o humano.

Una persona infectada puede expulsar la bacteria en su defecación hasta 2 semanas después de que sus síntomas hayan cesado. (Indiana state department of health, 2009)

Bacterias	Fuente	Periodo de Incubación	Duración	Sintomas Clinicos
Salmonella typhi	Heces, Orina	7-28 días (14)	5 - 7 días	Fiebre, tos, nausea, dolor de cabeza, vómito, diarrea
Salmonella sp	Heces	8-48 horas	3 - 5 días	Diarrea acuosa con sangre
Shigellae sp.	Heces	1 - 7 días	4 - 7 días	Disentería (diarrea con sangre), fiebres altas, síntomas tóxicos, retortijones, pujos intensos e incluso convulsiones
Vibrio Cholerae	Heces	9 - 72 horas	3 - 4 días	Diarrea Acuosa, vómito, deshidratación
V. Cholerae No.-01	Heces	1 - 5 días	3 - 4 días	Diarrea Acuosa
Eschericha Coli enterohemorrágica O157:H7	Heces	3 - 9 días	1 - 9 días	Diarrea Acuosa con sangre y moco, dolor abdominal agudo, vómitos, no hay fiebre
Eschericha Coli enteroinvasiva	Heces	8 - 24 horas	1 - 2 semanas	Diarrea Acuosa con sangre y moco, dolor abdominal, a veces las heces son mucosas y con sangre
Eschericha Coli enterotoxigena	Heces	5 - 48 horas	3 - 19 días	Dolores abdominales, diarrea acuosa, fiebre con escalofríos, nausea, mialgia
Yersinia enterocolitica	Heces, orina	1 - 11 días (24 - 48 horas)	1 - 21 días (9)	Dolor Abdominal, diarrea con moco, sangre, fiebre, vómito
Campylobacter jejuni	Heces	2 - 5 días (42 - 72 horas)	7 - 10 días	Diarrea, dolores abdominales, fiebre y algunas veces heces fecales con sangre, dolor de cabeza
Plesiomonas Jugelloides	Heces	20 - 24 horas	1 - 2 días	Fiebre, escalofríos, dolor abdominal, nausea, diarrea o vómito
Aeromonas sp.	Heces	Desconocido	1 - 7 días	Diarrea, dolor abdominal, náuseas, dolor de cabeza y colitis, las heces son acuosas y no son sanguinolentas

Tabla I. Tabla de las principales bacterias coliformes con relación a su fuente, periodo de incubación, duración y síntomas. (Indiana state department of health, 2009)

1.3 Efectos de los coliformes en la salud animal.

En aguas Tropicales característica del embalse de la ESPOL, se encuentra que la carga bacteriana de los peces de este tipo de agua, no difieren en gran medida que el de las aguas templadas, solo con la diferencia de que existe un ligero aumento de la carga de microorganismos gram- positivos y bacterias entéricas.

Dentro de la microflora de los peces se encuentran la Salmonella y E. coli, son capaces de crecer en aguas tropicales, la presencia de estos microorganismos no es considerada como la flora normal de las aguas naturales, si no que se debe a una

contaminación ya sea por el hábitat del pez o por el manejo del pescado. (Lund B, 2000)

Los organismos acuáticos en un periodo de estrés se vuelven vulnerables a ciertos microorganismos que en condiciones normales no les causarían daño. Dichos microorganismos toman el nombre de oportunistas debido a su capacidad de provocar una enfermedad sin ser un patógeno estricto aprovechándose de las condiciones debilidad del huésped.

Muchas de las enfermedades causadas por bacterias oportunistas, como lo pueden ser los coliformes, han sido puestas en evidencia a continuación se hace una breve descripción de las enfermedades más comunes presentes en los peces causadas por estos microorganismos.

Hidropesia: Esta resulta de una degeneración de los órganos internos causando una acumulación de líquidos en el área peritoneal (abdomen), esta solo es curable en sus etapas iniciales. Sus síntomas son en el área abdominal que se torna enorme debido a la cantidad de líquidos acumulados. En las etapas finales las escamas se levantan a causa de la deformidad del abdomen

La sintomatología que presenta un pez afectado por diversas infecciones, malas condiciones acuáticas o trastornos en su metabolismo, queda patente por la inflamación del abdomen debido a la retención de líquido en los tejidos. Debido a esta inflamación las escamas se erizan.

Cuando estos síntomas aparecen se debe mirar más allá del pez afectado puesto que la razón de esta dolencia puede estar causada por algún trastorno que está presente en el acuario y puede afectar al resto de animales.

La presencia de Hidropesía es muy sencilla de detectar a simple vista puesto que el pez presenta las aletas erizadas y una hinchazón anormal en la zona abdominal, enrojecimiento de la zona anal o en la base de las aletas, pérdida de apetito, oscurecimiento, palidez en las agallas y ojos saltones.

Aunque todos los tipos de peces pueden padecer Hidropesía hay especies que presentan una mayor debilidad. Especialmente los peces de agua dulce que a diferencia de los de agua salada. (Aquanovel, 2009)

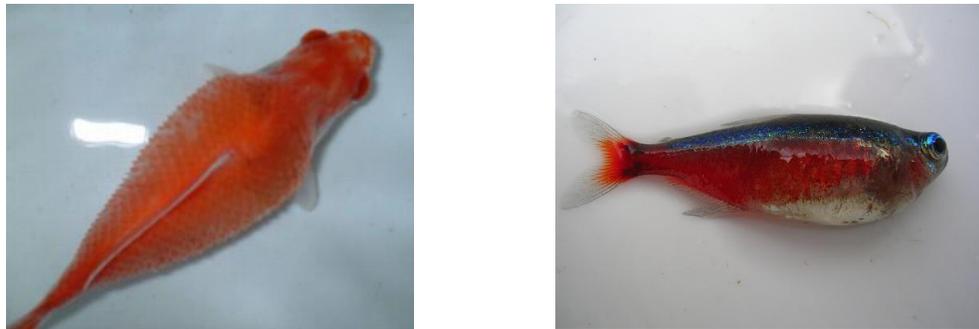


Figura 3. Hidropesía. Foto: Aquabay

Colitis: Una colitis es un proceso inflamatorio del colon, que es una de las partes que forman el intestino grueso. Se cree que las prostaglandinas y leucotrienos causan inflamación gastrointestinal lo que aumenta el daño de los tejidos y afecta negativamente la habilidad de los animales, particularmente mamíferos y aves, para transformar la ingesta en peso corporal. Limitando así la disponibilidad de los precursores de estos metabolitos de lípidos se reduce el espesor de la pared intestinal, se altera el comportamiento de alimentación del animal y se mejora la salud del animal. (Aquanovel, 2009)



Figura 4. Colitis. Foto: Hospital Veterinario Málaga

Furunculosis: es la causa de mucha mortalidad. Usualmente ocurre durante el periodo de aclimatación o al pasar de una jaula a otra. Se pueden utilizar sulfas, furanos y otros antibióticos en los estadios iniciales de esta enfermedad, para contrarrestar esta enfermedad. Se deben revisar cuidadosamente los animales antes de introducirlos a otro medio. Esta enfermedad es causada generalmente por estrés durante la transportación y la aclimatación, esto a su vez produce que su sistema inmunológico se debilite y sea sensible a cualquier enfermedad, en este momento es donde las bacterias gram-negativas actúan como oportunistas dañando el sistema digestivo del animal.



Figura 5. Furunculosis. Foto Marcos Godoy

Aparte de bocio por deficiencia de yodo y el daño del páncreas endocrino siguientes virus y enfermedades nutricionales, existe poca información disponible sobre los cambios patológicos en los órganos endocrinos en oposición a los cambios degenerativos que normalmente se encuentran en el desove de los peces. Granulomas bacteriana se encuentra ocasionalmente en la corteza suprarrenal y la participación de los corpúsculos de Stannius en la enfermedad renal corinobacterium o furunculosis crónica y un collar de infiltrado leucocitario con frecuencia se encuentran alrededor de la hipófisis por Ferguson y Roberts (1975) en el síndrome de la leucosis mieloide en el rodaballo. (Roberts R., 1978)

1.4 Estándares Nacionales

En el Texto Unificado de Legislación Ambiental Secundaria (TULAS, 2002) se tiene la Norma de Calidad Ambiental y de Descarga de Efluentes: Recurso Agua. Esta norma técnica ambiental es dada bajo el amparo de la Ley de Gestión Ambiental y del Reglamento a la Ley de Gestión Ambiental para la Prevención y Control de la Contaminación Ambiental que rige en todo el territorio nacional. Dicha norma técnica determina o establece:

- a) Los límites permisibles, disposiciones y prohibiciones para las descargas en cuerpos de aguas o sistemas de alcantarillado.
- b) Los criterios de calidad de las aguas para sus distintos usos.
- c) Métodos y procedimientos para determinar la presencia de contaminantes en el agua.

El Texto Unificado de Legislación Ambiental Secundaria (TULAS), presenta los diferentes criterios para la calidad de agua en los diferentes usos, que se presentan a continuación.

Criterios de calidad de aguas para la preservación de flora y fauna en aguas dulces frías o cálidas, y en aguas marinas y de estuarios

El uso del agua para la preservación de la flora y fauna, su empleo en actividades destinadas a mantener la vida natural de los ecosistemas asociados, sin causar alteraciones en ellos, o para actividades que permitan la reproducción, supervivencia, crecimiento, extracción y aprovechamiento de especies bioacuáticas en cualquiera de sus formas, tal como en los casos de pesca y acuicultura.

El estándar permitido por TULAS con respecto a los coliformes fecales en el agua es de: NMP: 200/100 ml. (TULAS, 2002)

Criterios de calidad de aguas de uso agrícola o de riego

El agua de uso agrícola es aquella empleada para la irrigación de cultivos y otras actividades conexas o complementarias que establezcan los organismos competentes.

Prohibido por parte de TULAS el uso de aguas servidas para riego, exceptuándose las aguas servidas tratadas y que cumplan con los niveles de calidad establecidos en esta Norma.

El estándar permitido por TULAS con respecto a los coliformes totales en el agua es de: NMP: 1000/100 ml. (TULAS, 2002)

Criterios de calidad para aguas con fines recreativos

El uso del agua para fines recreativos, es la utilización en la que existen dos diferentes contactos con el agua como son:

- a) Contacto primario, como en la natación y el buceo, incluidos los baños medicinales.
- b) Contacto secundario como en los deportes náuticos y pesca.

El estándar permitido por TULAS con respecto a los coliformes totales en el agua de tipo primario es de: NMP: 1000/100ml

El estándar permitido por TULAS con respecto a los coliformes totales en el agua de tipo secundario es de: NMP: 4000/100 ml (TULAS, 2002)

1.5 Descripción histórica del embalse de la ESPOL.

Uno de los proyectos trazados por el Dpto. de Planificación de ESPOL para el Campus La Prosperina, fue la construcción de un embalse, que actualmente adorna el área urbanizada del Campus. Este embalse es producto del estudio y diseño realizado en 1984 por el Ing. Miguel Angel Chávez.

El Campus Gustavo Galindo, es una zona de bosque seco tropical, rodeado de dos cerros el bloque sur de la Cordillera Chongón Colonche y el Cerro Azul, representan un componente básico en el ecosistema, ya que amortiguan la velocidad de los vientos. Estos cerros albergan especies como aves, mamíferos y reptiles.

La presa, según lo previsto, se llenó luego de tres meses de construida y desde 1992 hasta la actualidad constituye el embalse rodeado de flora y fauna.

Esta obra realizada en el Campus Gustavo Galindo, constituye indudablemente un aporte tecnológico porque con él se ha demostrado que las cuencas hidrográficas tienen escorrentías que sólo en la época lluviosa pueden servir para generar grandes depósitos de agua, como es el caso de la presa de la ESPOL. El agua almacenada en la presa puede ser utilizada para riego, hábitat de muchos animales como langostas y peces, además de prácticas estudiantiles y del GOE.

El área total del embalse es de 4.5 hectáreas que representan el espejo de agua, construidas y destinadas para áreas de estudio, investigación, deportes, administración, entre otras. Hay que mencionar que nunca se tuvo la idea de construir un embalse en el Campus Prosperina sino un dique, que permita tener una carretera de circunvalación que cubra la necesidad de unir las áreas de Tecnologías con Ingenierías. Con el tiempo este dique se convirtió en un cuerpo de agua que posibilitó mejorar el paisaje del campus y sus alrededores. (Chavez, 2009 com. per)

El embalse era conocido como Presa 1 asignado por el Departamento de Planificación de ESPOL, en la actualidad se lo conoce como Embalse de la ESPOL. El embalse se encuentra en la cota 80 y su entorno oscila entre la cota 77 y la 105. (Cadena, M., Yáñez, A. 2002).

Se conoce muy poco en la actualidad sobre la calidad del agua existente en el embalse. No existe una línea base de los microorganismos presentes en el cuerpo de agua. Tampoco existe abundante información sobre los procesos físicos y químicos, sus interacciones en el embalse de la ESPOL. A continuación se presenta una

imagen del embalse obtenido de Goggle Earth con su ubicación geográfica de cada punto del muestreo.

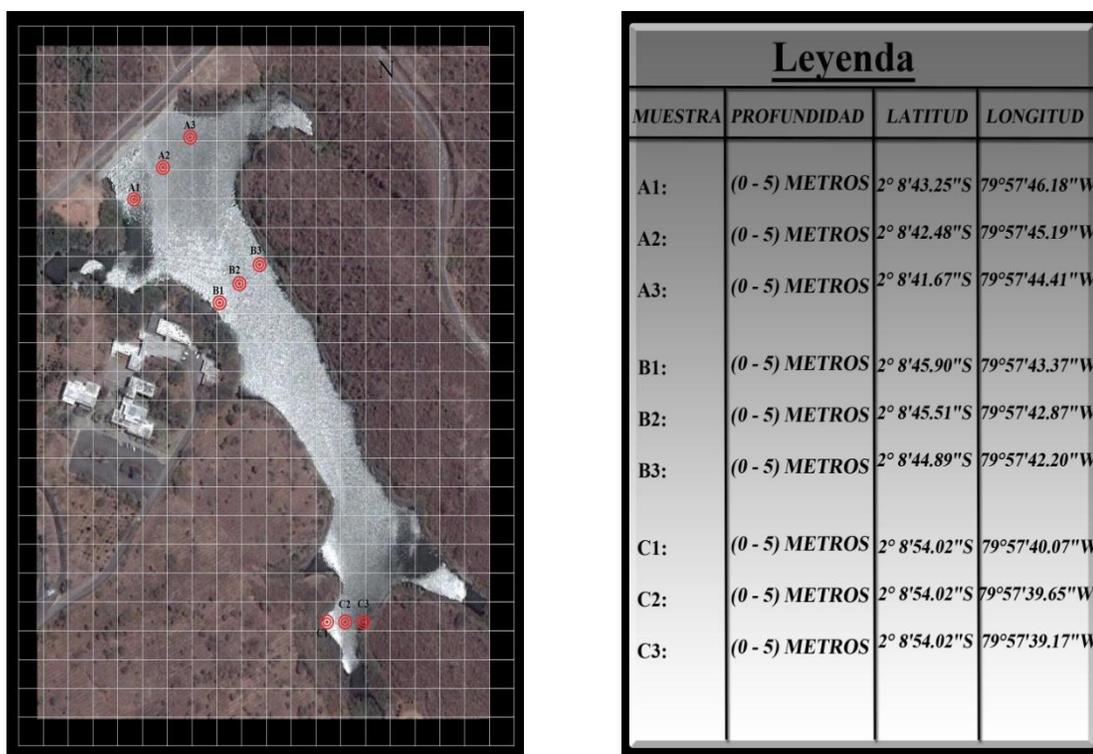


Figura 6. Ubicación Geográfica del Embalse de la ESPOL. Foto: Goggle Earth

CAPITULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Área de estudio

En la planificación del Embalse participó en 1984 el Ing. Miguel Angel Chávez, profesor de la ESPOL. El Embalse era conocido como Presa 1 asignado por el Departamento de Planificación de ESPOL, pero en la actualidad se lo conoce como Embalse de la ESPOL.

El Embalse posee una altura máxima de 20 metros, a su vez posee 17 metros de profundidad máxima, su longitud es de 300 metros de largo, con un muro de coronación de 14 metros de ancho. En la cota 80 puede embalsar 380.000 m^3 , su profundidad del reservorio puede variar tanto en la época seca como en la época lluviosa en un rango de volumen aproximado de 380.000 m^3 . La presa está dotada de un vertedero capaz de desalojar 5.5 m^3 por segundo. El agua del embalse se utiliza corrientemente para acuicultura, agricultura y recreación.

Desde el punto de vista Geológico la presa fue construida en la formación cayo formación del cretácico que está formado principalmente por rocas areniscas y lutitas silicificadas, son rocas sedimentarias, relativamente resistentes y duras. Sin embargo poseen un problema que es la fracturación, tienen hasta 3 familias de

fractura que fragmentan los estratos o capas de esta formación eso implica un problema técnico al momento de analizar las filtraciones a través de la cimentación del embalse. El embalse como tal está constituido por una estructura interna de arcilla, se llama núcleo de arcilla, los espaldones que rodean al núcleo es de arenisca meteorizada compactada. El resultado final es la resistencia, especialmente a la carga, además tiene en el paramento aguas arriba que es el talud que da hacia el embalse posee un revestimiento enrocado el cual evita que se erosione el suelo compactado.

La presa, según lo previsto, se llenó luego de tres meses de construida y desde 1992 hasta la actualidad constituye un hermoso embalse rodeado de flora y fauna visitado por aves migratorias. Esta obra realizada en el Campus Gustavo Galindo constituye indudablemente un aporte tecnológico demostrando que las cuencas hidrográficas tienen esorrentías que sólo en la época lluviosa pueden servir para generar grandes depósitos de agua.

El embalse, se encuentra en la cota 80 y su entorno oscila entre la cota 77 y la 105, con una extensión de 4,5 has. que representan el espejo de agua, construidas y destinadas para áreas de estudio, investigación, deportes entre otras.

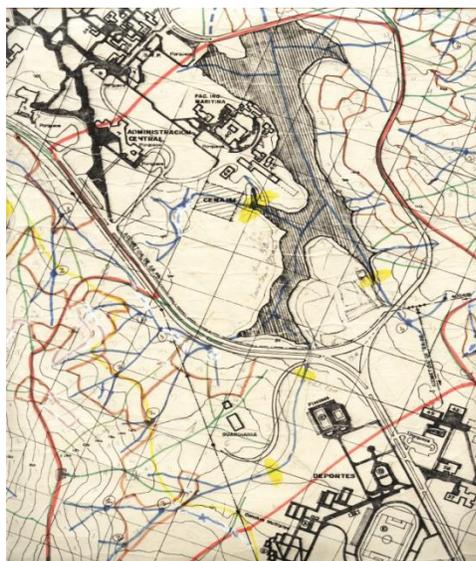


Figura 7. (Mapa de 1998) – Foto: Ing. Ayón.



Figura 8. (Mapa de 2009 y sus coordenadas) – Foto: Gloogle Earth

1. $2^{\circ}08'42.48''\text{S} - 79^{\circ}57'47.06''\text{O}$
2. $2^{\circ}08'41.30''\text{S} - 79^{\circ}57'40.61''\text{O}$
3. $2^{\circ}08'53.42''\text{S} - 79^{\circ}57'35.68''\text{O}$
4. $2^{\circ}08'55.71''\text{S} - 79^{\circ}57'39.13''\text{O}$

2.2 Estrategia de Muestreo

Toma de muestra en superficie (0 metros) y a 5 metros de profundidad.

Los muestreos realizados fueron tomados en los días 19 de Octubre y 9 de Noviembre de 2009, teniendo una duración aproximada de 2 horas. Se procedió a tomar la muestra de forma directa en la superficie en un frasco esterilizado, de manera que no se contamine la muestra, se etiquetó la muestra con su respectiva zona (A, B, C) y con su respectivo número (1, 2, 3). Luego fueron tomadas las muestras a los 5 metros de profundidad con la ayuda de una botella Van Dor, a continuación se depositó la muestra en un frasco esterilizado, de manera que no se contamine la muestra.

2.3 Monitoreo de Oxígeno disuelto, pH y Temperatura

Oxígeno Disuelto

Verificación del normal funcionamiento del oxigenómetro y toma de muestra

El oxigenómetro marca YSI HQ30d fue calibrado para luego medir el oxígeno disuelto en los distintos puntos en el embalse de la ESPOL, una vez efectuada la medición, el sensor fue lavado con agua destilada y su posterior secado. Los resultados fueron depositados en el libro de anotaciones y después de cada toma de muestra se lavó con agua destilada y se secó cuidadosamente el sensor.



Figura 9. Oxigenómetro Foto: Sofía Márquez

El Oxígeno es el parámetro más importante de un cuerpo de agua. El oxígeno disuelto es esencial para el metabolismo de todos los organismos acuáticos que presentan una respiración de tipo aerobio. Por lo tanto la solubilidad y la distribución del oxígeno en la columna de agua son esenciales para comprender la distribución, el comportamiento y crecimiento fisiológico de los organismos acuáticos. La determinación de oxígeno disuelto es de limitado valor si la recolección de la muestra no es hecha con todas las precauciones del caso. Entre otros parámetros que afectan la medición de OD se tiene temperatura, luz solar, población biológica, movimientos del agua y salinidad. La concentración de oxígeno adecuada para tener a unos peces en buenas condiciones es de 8 a 10 mg/litro. (Stevens Institute of Technology, 2006)

El Oxígeno Disuelto (OD) es la cantidad de oxígeno que está disuelta en el agua y que es esencial para los riachuelos y lagos saludables. El nivel de oxígeno disuelto puede ser un indicador del grado de contaminación. Generalmente, un nivel más alto de oxígeno disuelto indica agua de mejor calidad. Si los niveles de oxígeno disuelto son demasiado bajos, algunos peces y otros organismos no pueden sobrevivir. En gran parte el oxígeno disuelto en el agua proviene del oxígeno del aire que se ha disuelto en el agua. Parte del oxígeno disuelto en el agua es el resultado de la fotosíntesis de las plantas acuáticas.

Otros factores como la vegetación del medio, la temperatura, la turbulencia de las corrientes, las bacterias que requieren oxígeno para descomponer desechos orgánicos

y los animales en descomposición: también afectan los niveles de OD. En medios acuáticos con niveles de 4 ppm o menores, algunas poblaciones de peces como la corvina, la trucha y el salmón empezarán a bajar su población. (Stevens Institute of Technology, 2006)

<u>Nivel de OD</u> <i>(in ppm)</i>	<u>Calidad del Agua</u>
0,0 - 4,0	Mala Algunas poblaciones de peces y macroinvertebrados empezarán a bajar.
4,1 - 7,9	Aceptable
8,0 - 12,0	Buena
12,0 +	Repita la prueba El agua puede airearse artificialmente.

Tabla II. La cantidad máxima de oxígeno que puede disolverse en agua dulce es 9 ppm. Si la temperatura del agua está por debajo de 20º C. (Stevens Institute of Technology, 2006)

Los valores encontrados de Oxígeno Disuelto en el agua del embalse de la ESPOL se encuentran en un rango de 0.1 a 8.9 lo cual determinan que los valores obtenidos tanto como para superficie como para 5 metros de profundidad son óptimos para la vida acuática y no presentan variación en todo el embalse.

pH

Verificación del normal funcionamiento del pH metro y toma de muestra

La verificación del normal funcionamiento del pH metro se realiza con el uso de sustancias tampón, antes de proceder a la toma de muestra. Se realiza un enjuague riguroso del sensor y luego secar delicadamente con papel toalla. Para la verificación de la calibración se introduce el sensor en una sustancia con pH equilibrada 7 (buffer), se realiza un enjuague riguroso del electrodo y luego se seca. Se introduce el sensor en una sustancia con pH equilibrada 4 (buffer), se realiza un enjuague

riguroso del electrodo y se seca. Al final se procede a la toma de muestra, una vez efectuada la medición, el sensor fue lavado con agua destilada y su posterior secado. Los resultados fueron depositados en el libro de anotaciones y después de cada toma de muestra se lavó con agua destilada y se secó cuidadosamente el sensor.



Figura 10. pH metro Foto: Sofía Márquez

La determinación del pH es uno de los procedimientos analíticos más importantes y más usados en ciencias tales como química, bioquímica, química de suelos y medios acuáticos. El pH determina muchas características notables de la estructura y actividad de las biomacromoléculas, por tanto, del comportamiento de células y organismos. (Wikipedia,2009)

La palabra pH es la abreviatura de "pondus Hydrogenium" que quiere decir potencial de hidrógeno. Este término fue descubierto por el químico danés Sørensen, quien lo definió como el logaritmo negativo de base 10 de la actividad de los iones hidrógeno. (Lenntech BV, 2009)

El pH del agua varía según factores como el tipo de sustrato, cantidad de plantas y peces en el medio acuático. Como por ejemplo las rocas que pueden alcalinizar el agua excesivamente. El agua, posee iones libres de Hidrógeno. Ese conjunto de iones tiene un peso, el cual define el valor del pH. (Blanco Adrian, 2007)

Este parámetro en general para la mayoría de los peces de agua dulce, lo soportan entre (6.0 a 7.5), también hay que recalcar que cada especie tiene un pH al cual están adaptados por su lugar de origen, como por ejemplo los peces amazónicos pueden vivir en condiciones más ácidas que los ciclados africanos los cuales necesitan un pH más alcalino. (Blanco Adrian, 2007)

Los valores encontrados de pH en el embalse de la ESPOL se encuentran en un rango de 7 a 8 lo cual exceden en cierto rango de límites de tolerancia de este parámetro para algunas especies de peces de agua dulce. (Blanco Adrian, 2007)

Temperatura

Es el factor que más influencia tiene en los lagos, pues determina la densidad, viscosidad y movimiento del agua. La temperatura juega un papel importante en la distribución, periodicidad y reproducción de los organismos. Además los peces no son capaces de regular su propia temperatura y adquieren la temperatura del agua.

El agua posee propiedades térmicas que serán descritas a continuación:

- a. Calor específico. La capacidad calórica del agua a 15° C representa la unidad y, por tanto, el calor específico de otras sustancias se expresa como referencia al del agua. Una masa de agua requiere gran cantidad de calor para elevar su temperatura, pero tarda más para enfriarse; por esto el agua actúa como regulador térmico.
- b. Calor latente de fusión. Para convertir 1 gramo de hielo en agua se requieren 80 calorías a 0° C.
- c. Conductividad térmica. La conductividad térmica del agua es muy baja, por tanto su calentamiento por conducción es muy lento.
- d. El calor latente de evaporación. Es el más alto. Gran parte de la radiación solar se utiliza en la evaporación del agua, produciendo efectos beneficiosos sobre los climas y éstos a su vez sobre las comunidades.

e. Densidad del agua. El agua al solidificarse aumenta de volumen, por tanto el hielo flota sobre las aguas. Esta propiedad evita que los lagos se solidifiquen totalmente, cuando las aguas se congelan en la superficie. (Marcano, J., 2009)

Los valores encontrados de Temperatura en el agua del embalse de la ESPOL se encuentran en un rango de 24 a 27 lo cuales establecen que son óptimos para la vida acuática y no presentan variación en todo el embalse.

2.4 Método del número más probable (NMP)

Las pruebas seriales de la dilución miden la concentración de un microbio del blanco en una muestra con una estimación llamada el número más probable (NMP). El método de fermentación de tubos múltiples es utilizado para determinar estadísticamente al número más probable (NMP) de bacterias presentes en una muestra de agua o alimentos. Así como se puede utilizar para varios tipos de alimentos, también se puede utilizar en diferentes tipos de muestras de agua como: lodo de agua residual, sedimentos, agua turbia y agua de lagos, ríos, etc. Este método es útil para detectar pequeñas cantidades de microorganismos. (Armas Javier, 1998)

El NMP es particularmente útil para las concentraciones bajas de los organismos (<100/g), especialmente en leche y agua y para esos alimentos que la materia de partículas puede interferir con la colonia exacta cuenta, solamente los organismos viables son enumerados por la determinación del NMP. El NMP se debe juzgar como estimación de las unidades del crecimiento (GUs) o de las unidades de la formación de colonias (GFUs) en vez de bacterias individuales.

Las bacterias se distribuyen aleatoriamente dentro de la muestra, las bacterias son separadas, no arracimado juntas, y no se rechazan. Cada tubo que inoculan contiene incluso un organismo viable producirán crecimiento perceptible o cambiarán, sin embargo los tubos individuales de la muestra son independientes.

La esencia del método del NMP es diluir la muestra a tal grado que los inocula en tubos a veces pero no siempre contengan organismos viables. El “resultado”, es decir, el número de tubos y el número de tubos con crecimiento de cada dilución,

implicará una estimación de la concentración original, no diluida de bacterias en la muestra. Para obtener estimaciones sobre una amplia gama de concentraciones posibles, los microbiólogos utilizan diluciones seriales que incuban los tubos en varias diluciones.

El NMP es el número que hace más probable observar el resultado. Es la solución para el λ , concentración, en la ecuación siguiente

$$\sum_{j=1}^K \frac{g_j m_j}{1 - \exp(-\lambda m_j)} = \sum_{j=1}^K t_j m_j \text{ del } \lambda$$

Donde el $\exp(x)$ significa e^x , y

K denota el número de diluciones,

El g_j denota el número (o el crecimiento) de tubos positivos en la dilución del j th,

El m_j denota la cantidad de la muestra original puesta en cada tubo en la dilución del j th,

El t_j denota el número de tubos en la dilución del j th.

Esta ecuación se puede solucionar generalmente por la iteración.

McCrary (1915) publicó la primera valoración exacta del número de bacterias viables por el método del MPN. Halvorson y Ziegler (1933), Eisenhart y Wilson (1943), y Cochran (1950) publicaron los artículos sobre las fundaciones estadísticas del MPN. Woodward (1957) recomendó que las tablas del MPN deben omitir esas combinaciones de los tubos positivos (altos para las concentraciones bajas y bajo

para las altas concentraciones) que son tan improbables que levantan preocupaciones por error o la contaminación del laboratorio. De Man (1983) publicó un método del intervalo de la confianza que fue modificado para hacer las tablas para este apéndice.

Intervalos de la confianza

Los intervalos de la confianza de 95 por ciento en las tablas tienen el significado siguiente:

Antes de que se inoculen los tubos, la ocasión es por lo menos 95 por ciento que el intervalo de la confianza asociado al resultado eventual incluirá la concentración real, es posible construir muchos diversos sistemas de los intervalos que satisfacen este criterio.

Resultados improbables

Varios problemas potenciales pueden causar resultados improbables. Por ejemplo, puede haber interferencia en las diluciones bajas o seleccionar a demasiadas pocas colonias en las diluciones bajas para una prueba de la confirmación puede pasar por alto el microbio de la blanco. Si el problema se cree limitado a las diluciones bajas, después usar solamente las altas diluciones con los tubos positivos pudo ser más confiable. Si la causa del problema es desconocida, después la estimación puede ser no fiable. También podemos encontrar tubos poco concluyentes, en estos casos especiales donde los tubos no se pueden juzgar o positivos o negativos, estos tubos se deben excluir del resultado.

Límites y aproximaciones para un diseño sin una tabla

Se puede calcular con una estimación del MPN. Primero, seleccionar la dilución más baja que no tiene todos los tubos positivos. En segundo lugar, seleccionar la dilución más alta con por lo menos un tubo positivo. Finalmente, seleccionar todas las diluciones entre ellas. Utilizar solamente las diluciones seleccionadas en la formula siguiente de Thomas (1942):

$$\text{MPN/g} = \frac{(\text{del } g_j \text{ del } ? \text{ m}_j) \text{ del } ? \text{ del } t_{j\text{m}_j} \text{ del } ?}{(t_j - g_j)^{(1/2)}}$$

La adición de las diluciones y el g_j del $?$: denota el número de tubos positivos.

El $t_{j\text{m}_j}$ del $?$: denota los gramos de la muestra en todos los tubos en las diluciones seleccionadas.

El m_j del $?$ ($t_j - g_j$): denota los gramos de la muestra en todos los tubos negativos en las diluciones seleccionadas.

Los ejemplos siguientes ilustrarán el uso de la fórmula de Thomas. Asumimos que las diluciones son 1.0, 0.1, 0.01, 0.001 y 0.0001 G.

Ejemplo (1) Para el uso del resultado (5/5, 10/10, 4/10, 2/10, 0/5) solamente (--, --, 4/10, 2/10, --); tan $t_{j\text{m}_j}$ del $?$ = $10 * 0.01 + 10 * 0.001 = 0.11$. Donde $*$ multiplicación de los medios. Hay 6 tubos negativos en 0.01 y 8 tubos negativos en 0.001, tan m_j del $?$ ($t_j - g_j$) = $6 * 0.01 + 8 * 0.001 = 0.068$. Hay 6 tubos positivos.

$$\text{MPN/g} = 6 (0.068 * 0.11)^{(1/2)} = 6/0.086 = 70/\text{g}$$

Procedimiento en el laboratorio

Preparar el material

La preparación de los materiales se realizó dos días antes de la toma de la muestra. Se pesaron 129.94 gm del caldo lauryl tryptose y se preparó con agua destilada, una vez disuelto el caldo lauryl tryptose fue calentado hasta quedar una solución homogénea. Luego se procedió a llenar los 360 tubos cada uno con 10 ml de la solución preparada anteriormente. Los tubos fueron sometidos a la esterilización en húmedo, utilizando el autoclave marca Selecta.

Procesar la muestra

Después de tomar la muestra en el área de estudio, se colocó 9 ml de solución buffer en los tubos para realizar las diluciones, luego se etiquetó los tubos. Al empezar a procesar la muestra se necesitó homogenizar la muestra traída del área de estudio (18 muestras). Luego se tomó 1 ml de muestra en 9 ml de solución buffer (10^{-1}) y se continuó colocando 1 ml de muestra en los primeros tubos de caldo lauryl (10^0), este proceso continuó hasta llegar a la dilución 10^{-3} . Finalmente se colocaron los 360 tubos en la incubadora por 48 horas a 35°C .

Procedimiento de la confirmación con el caldo Bile al 2%

En base a los resultados obtenidos después del periodo de incubación, se determinó los “resultados presuntivos” para la presencia de coliformes totales. El proceso de confirmación de la presencia de coliformes totales fue realizado utilizando caldo Bile al 2% luego de su esterilización en húmedo. Así muestras presuntivas positivas fueron inoculadas en el caldo Bile al 2%. El proceso de inoculación fue realizado introduciendo las asas previamente esterilizadas al fuego para eliminar cualquier contaminante. Luego se introdujo en los tubos de caldo Bile al 2% (respectivamente etiquetados). Al final fueron colocados los tubos por 48 horas a 35°C en la incubadora. Después de las 48 horas de incubación se determinó la presencia de burbujas de gas en los tubos de fermentación los cuales a su vez fueron registrados. Los resultados obtenidos fueron leídos en las tablas estándares del método del número más probable para estimar el MPN/100 ml de bacterias coliformes totales.



Figura 11. Resultado positivo de coliformes totales Foto: Sofía Márquez

2.5 Análisis estadístico

El análisis estadístico utilizado para la comparación de datos fue realizado por ANOVA de dos vías utilizando el programa Excel, como se puede apreciar en los Anexos 1 y 2. La comparación fue realizada entre los estándares nacionales por el Libro TULAS 2002 y los resultados obtenidos en las distintas zonas distribuidas en el embalse de la ESPOL.

CAPITULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Análisis de Resultados

Las zonas seleccionadas para esta investigación fueron la zona que se encuentra cercana al dique (zona A), la zona intermedia del embalse (zona B) y la zona cercana a las instalaciones de SEBIOCA (zona C).

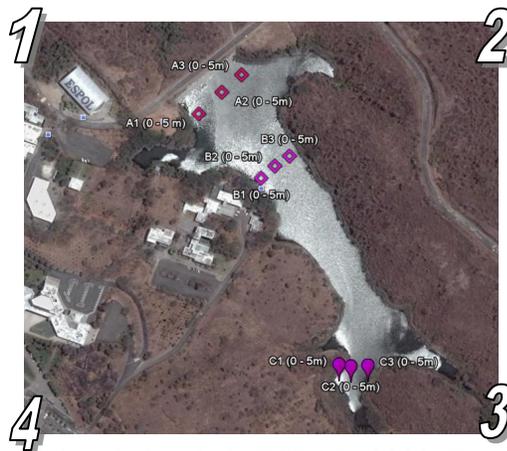


Figura 12. Mapa del embalse de la ESPOL, 2009. Foto: Google Earth

1. $2^{\circ}08'39.48''\text{S} - 79^{\circ}57'53.59''\text{O}$
2. $2^{\circ}08'39.89''\text{S} - 79^{\circ}57'33.94''\text{O}$
3. $2^{\circ}08'55.74''\text{S} - 79^{\circ}57'32.96''\text{O}$
4. $2^{\circ}08'56.47''\text{S} - 79^{\circ}57'52.71''\text{O}$

En cada una de estas zonas se determinaron 6 puntos de muestreo 3 a nivel de superficie (0m) y 3 a una profundidad (5 m). Estas zonas son representativas de todo el embalse, el cual se encuentra en contacto con el hombre y los animales que habitan este lugar. El método para el análisis para determinar la calidad de agua fue el método del número más probable de coliformes totales (NMP). El periodo en que se realizó esta investigación fue entre el mes de octubre y noviembre del año 2009, considerados meses importantes debido a que estos meses representan la finalización de la época seca.

Los muestreos tomados durante el mes de octubre y noviembre en las distintas zonas distribuidas en el embalse de la ESPOL fueron utilizados para elaborar el método del número más probable para determinar los coliformes totales. Estos datos se describen en la tabla III y tabla IV para el mes de octubre y noviembre respectivamente. Realizando un análisis de estos datos pudimos determinar que en el mes de octubre en la zona A presenta un valor promedio de 375 NMP/100ml. De la misma manera se pudo establecer que el mes de noviembre presentó un valor promedio de 358.33 NMP/100ml.

En la zona B durante el mes de octubre se registró un valor promedio de 335 NMP/100ml. En la zona B en el mes de noviembre presentó un valor de 240.33 NMP/100ml. En el mes de octubre para la zona C presenta un valor promedio de 40.33 NMP/100ml. En el mes de noviembre se determinó un valor promedio de 381.67 NMP/100ml.

Los resultados obtenidos durante los muestreos realizados en el mes de octubre y noviembre de 2009 no presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$). Así se pudo inferir que la presencia de coliformes fue constante sin presentar variaciones de importancia en este periodo de tiempo.

OCTUBRE	MPN/100ml	
	0 M	5 M
A	300	1300
A	60	210
A	170	210
B	140	230
B	40	1300
B	40	260
C	20	90
C	20	40
C	40	32

Tabla III. Resultados del muestreo Octubre 2009.

Fuente: Sofía Márquez

NOVIEMBRE	MPN/100ml	
	0 M	5 M
A	1100	140
A	260	120
A	210	320
B	900	70
B	340	40
B	32	60
C	260	480
C	130	120
C	1300	0

Tabla IV. Resultados del muestreo Noviembre 2009.

Fuente: Sofía Márquez

3.2 Análisis de parámetros Físicos (Oxígeno disuelto, pH y Temperatura)

Además del realizar el muestreo para la toma de agua utilizada para la elaboración del método del número más probable distintos parámetros físicos (Oxígeno Disuelto, Temperatura y pH) fueron establecidos en paralelo con la toma de muestra del agua. Estos datos se describen en la tabla V y tabla VI. Haciendo un análisis de estos datos se pudo determinar que en el mes de octubre el Oxígeno Disuelto, la temperatura y el pH presentaron valores 4.49 OD, 25.82 T°, 7.99 pH respectivamente. De la misma manera en la zona A se pudo establecer los valores de dichos parámetros en el mes de noviembre los cuales presentaron valores promedio 5.21 OD, 24.9 T°, 8.13 pH respectivamente. En la zona B durante el mes de octubre del 2009 se pudo observar valores promedio para Oxígeno Disuelto de 4.45, la temperatura 25.6 y el pH de 8.12. Para la zona B en el mes de noviembre los valores promedio de los parámetros de Oxígeno Disuelto es de 5.59, temperatura 25.28 y pH de 8.23. En la zona C en el mes de octubre se registraron valores de Oxígeno Disuelto de 6.23, temperatura 25.55 y pH de 8.03. De la misma manera en el mes de noviembre en la zona C se pudieron establecer valores promedio de Oxígeno Disuelto, temperatura y pH de 5.46, 25.18, 8.19 respectivamente. Así pudimos determinar que los valores promedio de los parámetros físicos en todo el embalse de la ESPOL durante el 2009 durante la época seca (octubre y noviembre) fueron los siguientes: OD de 5.24, temperatura 25.39 y pH de 8.12.

Los resultados obtenidos durante esta investigación demuestran que el OD a la hora de la toma de la muestra (entre 8H00 y 13H00) presentó niveles aceptables en relación a los límites de tolerancia para la vida acuática descrita por el Libro TULAS de 2002. Los valores obtenidos tanto como para superficie como para 5 metros de profundidad son óptimos para la vida acuática y no presentan variación en todo el embalse.

Los resultados obtenidos de temperatura en la investigación presentan niveles aceptables para la vida de los peces que habitan el embalse de la ESPOL y no presentan mayor variación entre las distintas zonas. Tampoco se observó a 5 metros

de profundidad una variación de temperatura importante en relación a la temperatura de la superficie. Los resultados obtenidos de pH en la investigación presentan niveles muy bajos (alcalino) en relación a los límites de tolerancia para los peces descrita por el Libro TULAS 2002. Este análisis se encuentra resumido en la tabla VII.

OCTUBRE	0 M			5 M		
	OD (mg/ml)	T (°C)	Ph	OD (mg/ml)	T (°C)	pH
A1	7,26	26,8	8,3	1,93	25,8	7,66
A2	6,03	25,9	8,22	0,82	25	7,36
A3	6,52	26,1	8,41	4,4	25,3	7,96
B1	7,28	26,4	8,38	0,32	25,5	7,95
B2	7,39	25,8	8,55	0,13	24,8	7,73
B3	7,24	25,8	8,3	4,35	25,3	8,08
C1	8,1	26,1	8,43	6,61	25,4	7,95
C2	8,72	25,8	8,4	0,53	24,7	7,52
C3	8,21	26,2	8,23	5,18	25,1	7,66

Tabla V. Valores de Oxígeno Disuelto, pH y temperatura a 0 y 5 metros de profundidad durante el mes de octubre 2009.

NOVIEMBRE	0 M			5 M		
	OD (mg/ml)	T (°C)	Ph	OD (mg/ml)	T (°C)	pH
A1	7,63	25,8	8,38	2,28	24,5	7,77
A2	8,08	25,6	8,36	2,88	24,2	7,93
A3	7,99	25,2	8,35	2,42	24,1	8
B1	9,13	27	8,42	2,61	25,1	7,98
B2	8,96	25,7	8,36	2,78	24,1	8,23
B3	8,79	25,5	8,37	1,24	24,3	8,02
C1	8,99	25,9	8,31	2,79	24,2	8,02
C2	9,08	25,8	8,37	2,97	24,1	8,19
C3	8,75	26,2	8,34	0,15	24,9	7,93

Tabla VI. Valores de Oxígeno Disuelto, pH y temperatura a 0 y 5 metros de profundidad durante el mes de noviembre 2009.

	OD (mg/ml)	T (°C)	pH
ZONA	5,24	25,39	8,12
TULAS 2002	5	32	9

Tabla VII. Valores promedio de Oxígeno Disuelto, pH y temperatura a 0 y 5 metros de profundidad de todas las zonas en el mes de octubre y noviembre vs los valores estipulados por el Libro TULAS 2002.

3.3 Comparación de los resultados con los datos históricos

	1995	2008	2009
Ing. Ecuador Marcillo	200 MPN/100ML	0	0
Estudiantes de la ESPOL	0	130 MPN/100ML	0
Bioensayo	0	0	300 MPN/100ML

Los datos históricos sobre la calidad del agua por bacterias coliformes totales encontrados en el embalse de la ESPOL, fueron previamente analizados en los años de 1995 y el 2008. El valor encontrado para la presencia de coliformes totales en el año de 1995 por el Ing. Ecuador Marcillo fue de 200MPN/100ML. Así también el valor encontrado en el año del 2008 por un grupo de estudiantes de la Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar (FIMCM) fue de 130MPN/100ML. Los resultados obtenidos entre 1995 y el 2008 indican que el número de bacterias coliformes se redujo por la precipitación que se presentó durante el 2008, sin embargo por la sequía observada en el 2009, se puede dar cuenta que las bacterias coliformes han aumentado con relación a los años anteriores.

3.4 Comparación de los resultados con el estándar

El Texto Unificado de Legislación Ambiental Secundaria (TULAS) tenemos la Norma de Calidad Ambiental y de Descarga de Efluentes: Recurso Agua en el 2002. Los diferentes criterios para la calidad de agua en los diferentes usos son preservación de flora y fauna, uso agrícola o de riego y recreativo. Cada estándar establecido en el libro TULAS posee un límite permitido de NMP/100 ml. Los resultados obtenidos en el Embalse de la ESPOL, comparados con los estándares nacionales indicaron que no se encuentran fuera del límite permitido. El estándar para las actividades de recreativo secundario no se aplica para los 5 metros de profundidad (solo se aplica a botes). Se describe en la tabla VIII.

		Octubre						Noviembre					
		0 M			5 M			0 M			5 M		
		A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
		300	140	20	1300	230	90	1100	900	260	140	70	480
		60	40	20	210	1300	40	260	340	130	120	40	120
		170	40	40	210	260	32	210	32	1300	320	60	0
	x	176,67	73,33	26,67	573,33	596,67	54,00	523,33	424,00	563,33	193,33	56,67	200,00
	s	120,14	57,74	11,55	629,31	609,29	31,43	500,03	440,05	641,27	110,15	15,28	249,80
	n	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	MPN /100 ML	t Max	2,92	2,92	2,92	2,92	2,92	2,92	2,92	2,92	2,92	2,92	2,92
Preservacion de flora y fauna	200	Iguales	Iguales	Iguales	Iguales	Iguales	Iguales						
	t	-0,34	-3,80	-26,00	1,03	1,13	-8,05	1,12	0,88	0,98	-0,10	-16,25	-
Agricola	1000	Iguales	Iguales	Iguales	Iguales	Iguales	Iguales						
	t	-11,87	-27,80	-146,00	-1,17	-1,15	-52,13	-1,65	-2,27	-1,18	-12,68	-106,96	-5,55
Recreativo primario	1000	Iguales	Iguales	Iguales	Iguales	Iguales	Iguales						
	t	-11,87	-27,80	-146,00	-1,17	-1,15	-52,13	-1,65	-2,27	-1,18	-12,68	-106,96	-5,55
Recreativo secundario	4000	Iguales	Iguales	Iguales	Iguales	Iguales	Iguales						
	t	-55,12	-117,80	-596,00	-9,43	-9,67	-217,44	-12,04	-14,08	-9,28	-59,86	-447,13	-26,35

Tabla VIII. Comparación de resultados con los estándares establecidos en el libro TULAS.

CONCLUSIONES

1. El rango encontrado de coliformes totales en el embalse es de 0 a 100, lo cual no se encontró variaciones importantes en la presencia de coliformes totales durante los meses de octubre y noviembre (época seca) del año 2009 en la zona A, B y C analizadas durante el presente estudio. Las zonas fueron dispuestas a nivel superficial y a 5 metros de profundidad a fin de distribuir la toma de muestras en el embalse de forma homogénea.
2. Los valores obtenidos en el presente estudio no se encuentran fuera del límite permitido por el libro Texto Unificado de Legislación Ambiental Secundaria (TULAS) 2002 con respecto a los criterios establecidos que son: preservación de flora y fauna, uso agropecuario o de riego y uso recreativo a nivel de superficie.
3. Los valores encontrados de Oxígeno Disuelto en el agua del embalse de la ESPOL se encuentran en un rango de 0.1 a 8.9 lo cual determinan que los valores obtenidos tanto como para superficie como para 5 metros de profundidad exceden en cierto rango los límites de tolerancia como indica el estándar nacional en el Libro TULAS 2002.
4. Los valores encontrados de Temperatura en el agua del embalse de la ESPOL se encuentran en un rango de 24 a 27 lo cuales establecen que son óptimos para la vida acuática y no presentan variación en todo el embalse.
5. Los valores encontrados de pH en el embalse de la ESPOL se encuentran en un rango de 7 a 8 lo cual exceden en cierto rango de límites de tolerancia de este parámetro para algunas especies de peces de agua dulce. (Blanco Adrian, 2007)

RECOMENDACIONES

1. Dada a la limitación de los materiales utilizados para la presente investigación no se pudo realizar un muestreo continuo de cada punto de las respectivas zonas distribuidas en el embalse de la ESPOL, por esta razón, se sugiere que para próximas investigaciones se realice un muestreo continuo en los 6 puntos por cada zona para tener un mayor análisis de la situación del embalse.
2. Se recomienda realizar un análisis continuo de los parámetros físicos (Oxígeno Disuelto, temperatura y pH) que soportan el equilibrio del embalse y así poder determinar las relaciones de estos parámetros con los parámetros biológicos entre los distintos puntos de muestreo.
3. Es muy importante considerar que para tener una línea base biológica completa del embalse, se sugiere realizar un muestreo en la época lluviosa y así poder comparar las dos épocas del año que tenemos en el Ecuador y que influyen en el ecosistema del embalse de la ESPOL.
4. Adicionalmente de las actividades que ya se están realizando en el embalse de la ESPOL, también se pueden realizar el siguiente uso que a continuación se describe.

5. Para el uso Pecuario.

Se entiende como aguas para uso pecuario a aquellas empleadas para el abrevadero de animales, así como otras actividades conexas y complementarias que establezcan los organismos competentes. Con relación al Libro TULAS de 2002 es menor a 5000 NMP/100 ml y los datos obtenidos en el muestreo realizado en Octubre y Noviembre de 2009 permiten que se pueda realizar el uso pecuario en el embalse de la ESPOL.

BIBLIOGRAFÍA

1. American Water Works Association. 2002. “Calidad y tratamiento del agua”. Manual de suministro de agua comunitaria”. 5^{ta} Edición. Madrid. 1231 pp.
2. Wallace, H. Andrews, Cecile, D. Diggs and Clyde R. Wilson. 2004. “Evaluation of a Medium for the Rapid Recovery of *Escherichia coli* from Shellfish”. Vol.29, No.1. *Appl. Microbiol.*, 130-131.
3. Allen, M. AWWA Research foundation, Stephen C. Edberg, Universidad de Yale. 1996. “La importancia para la salud pública de los indicadores bacterianos que se encuentran en el agua potable”. pag 3-10.
4. Awwa, Wef, Apha, 1998. “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater”. 20th Edition. Washington DC. American Public Health Association.
5. Texto Unificado de Legislación Ambiental Secundaria 2002. “Norma de Calidad Ambiental y de Descarga de Efluentes: Recurso Agua”. Libro VI Anexo I, última versión.
6. Wetzel, Robert. 1983. “Limnology”. Third Edition. Academic Press. Pag. 1006.
7. MacFaddin, J. 2003. “Pruebas Bioquímicas para la Identificación de Bacterias de Importancia Clínica”. 3^{era} Edición. Argentina. 850 pp.
8. INEN. 2010. “Norma Técnica Ecuatoriana. Agua Potable”. Primera Edición. Ecuador. 6 pp.
9. Nataro JP y Kaper JB, 1998: Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews*, 11:142– 201.
10. Wikipedia. 2009 “*Escherichia coli*”. [Acceso el 30 de Diciembre de 2009]http://es.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli
11. Indiana state department of health. 2009. “la *Escherichia coli* O 157:H7”, [Acceso el 30 de Diciembre de 2009] <http://www.in.gov/isdh/23625.htm>

12. Usera Miguel A., 2009. “*Escherichia coli* O157 PRODUCTOR DE VEROTOXINA”. Sección de Enterobacterias. Servicio de Bacteriología, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Madrid.
13. Lund B. 2000. “The microbiological safety and quality of food”. Vol. 1. An Aspen publication.
14. Aquanovel. 2009. “Hidropesia”, [Acceso el 19 de Octubre del 2009]
<http://www.aquanovel.com/hidropesia.htm>
15. Aquanovel. 2009. “Colitis”, [Acceso el 19 de Octubre del 2009]
<http://www.aquanovel.com/colitis.htm>
16. Roberts, Ronald. 1978. “Fish Pathology”. London. pag. 318
17. Cadena, M., Yáñez A. 2002. “Evaluación del Potencial Turístico Recreativo del Lago de la ESPOL”. Tesis de grado.
18. Stevens Institute of Technology. 2006. “Oxígeno Disuelto”. [Acceso el 19 de Octubre del 2009]
<http://www.ciese.org/curriculum/diproj2/es/fieldbook/oxigeno.shtml>
19. Wikipedia. 2009. “Peachimetro”. [Acceso el 19 de Octubre del 2009].
<http://es.wikipedia.org/wiki/PH>
20. Lenntech B.V. 2009. “Medida de calidad de agua: el pH”. [Acceso el 19 de Diciembre del 2009]. <http://www.lenntech.es/ph-y-alcinidad.htm>
21. Blanco Adrián. 2007. “Definición y medición del pH”. [Acceso el 19 de Diciembre del 2009]. http://peces-tropicales.idoneos.com/index.php/Generalidades/Medicion_de_pH
22. Marcano, J. 2009. “Ecología de las Aguas Dulces”. [Acceso el 19 de Diciembre del 2009]. <http://www.jmarcano.com/nociones/fresh1.html>
23. Armas, Javier. 1998. “Cuantificación de coliformes y Determinación de la Salmonella en pescados del lago de Amatitlan”. Guatemala, pag. 58.

24. Wetzel, Robert. 1983. "Limnology". Second Edition. Michigan State University.
Pag. 763.

ANEXOS

OCTUBRE

ANÁLISIS DE VARIANZA						
<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Zona	400860,4444	2	200430,2222	1,529700687	0,256000743	3,885293835
Profundidad	448720,2222	1	448720,2222	3,424671311	0,088990569	4,747225336
Interacción Zona x Prof	199233,7778	2	99616,88889	0,76028466	0,488784698	3,885293835
Dentro del grupo	1572309,333	12	131025,7778			

NOVIEMBRE

ANÁLISIS DE VARIANZA						
<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Zona	68887,11111	2	34443,55556	0,222292657	0,803905316	3,885293835
Profundidad	562506,8889	1	562506,8889	3,63032064	0,080972362	4,747225336
Interacción Zona x Prof	1260,444444	2	630,2222222	0,004067344	0,995942289	3,885293835
Dentro del grupo	1859362,667	12	154946,8889			

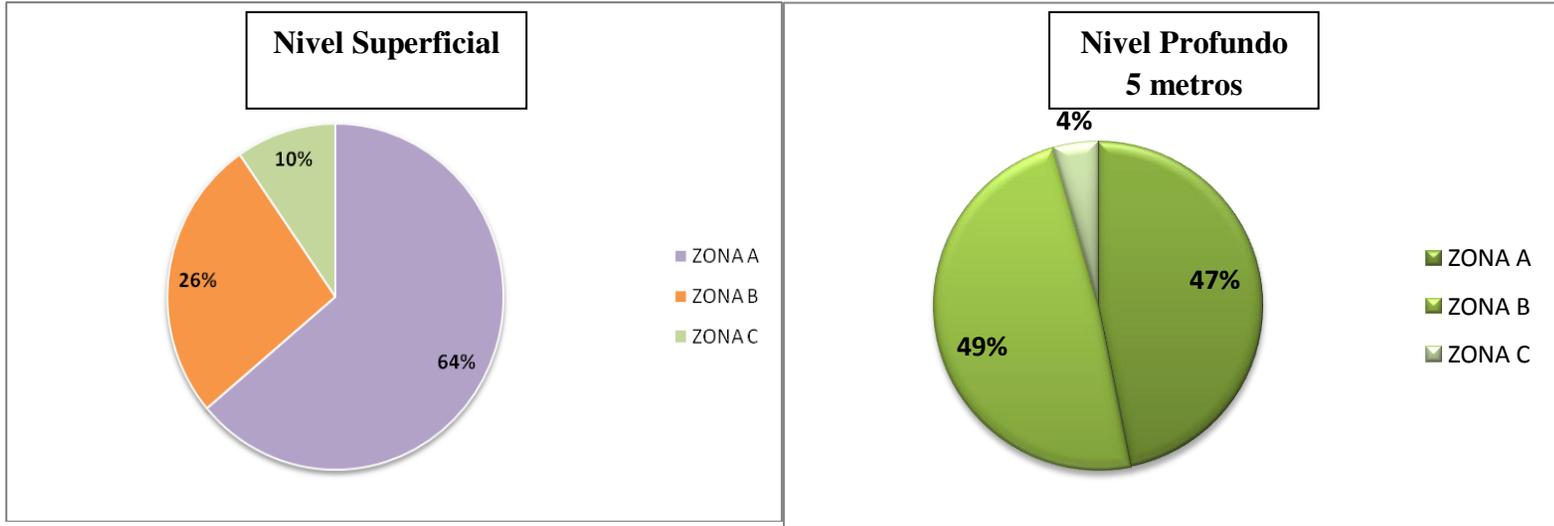
Anexo A. Tabla del análisis de dos vías de los resultados en el muestreo en la época seca los días 19 de Octubre y 9 de Noviembre de 2009

OCTUBRE 2009 VS NOVIEMBRE 2009

	<i>Octubre</i>	<i>Noviembre</i>
Media	250,1111111	326,7777778
Varianza	154183,7516	146589,2418
Observaciones	18	18
Varianza agrupada	150386,4967	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	34	
Estadístico t	-0,593093842	
P(T<=t) una cola	0,278521628	
Valor crítico de t (una cola)	1,690924198	
P(T<=t) dos colas	0,557043255	
Valor crítico de t (dos colas)	2,032244498	

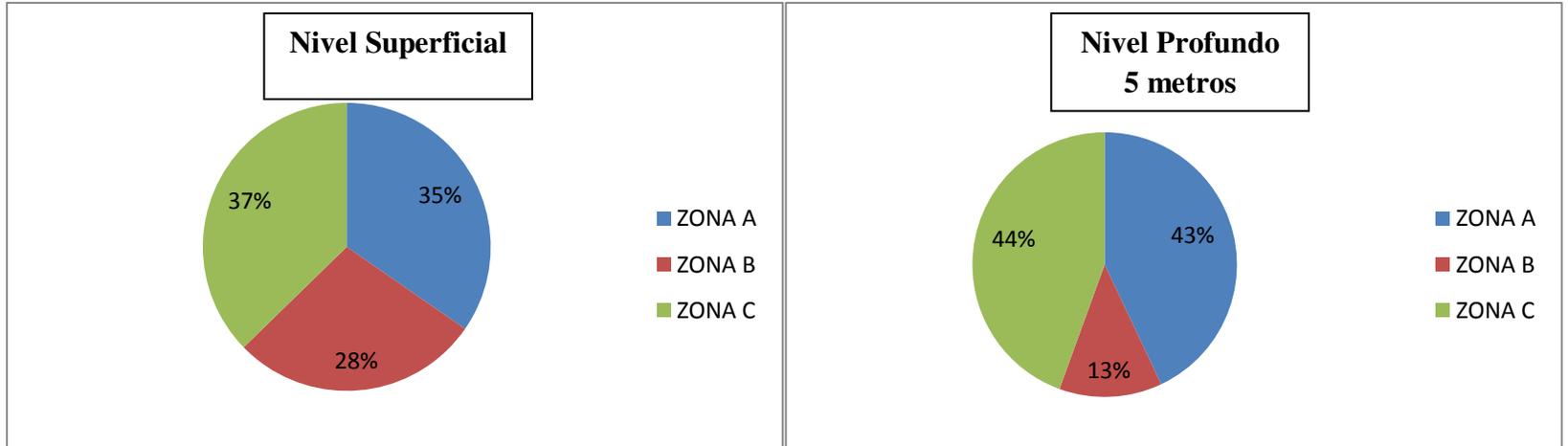
Anexo B. Tabla del análisis de dos vías de los resultados en el muestreo de la época seca de los meses Octubre y Noviembre de 2009.

OCTUBRE 2009



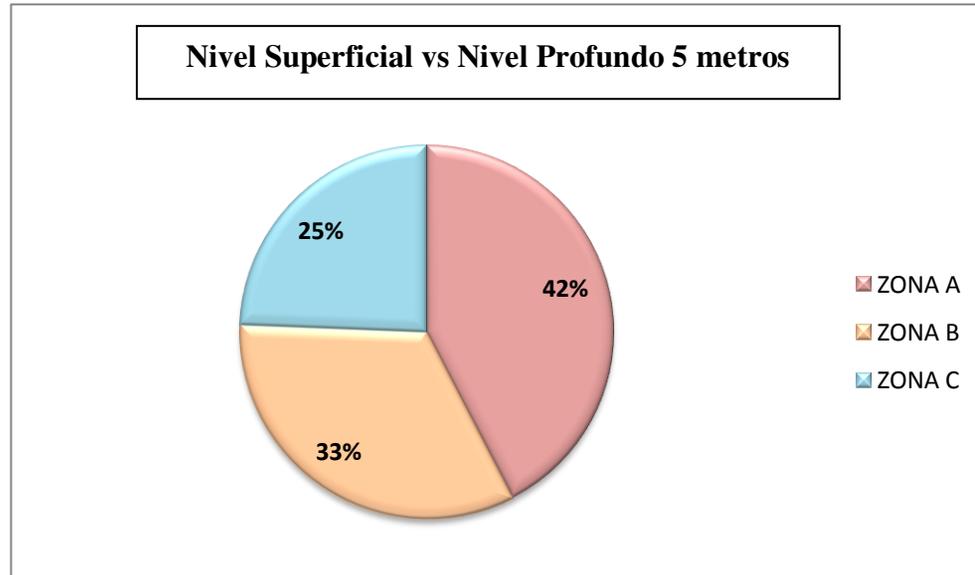
Anexo C. Distribución de coliformes a nivel superficial y a 5 metros de profundidad en el mes de Octubre.

NOVIEMBRE 2009



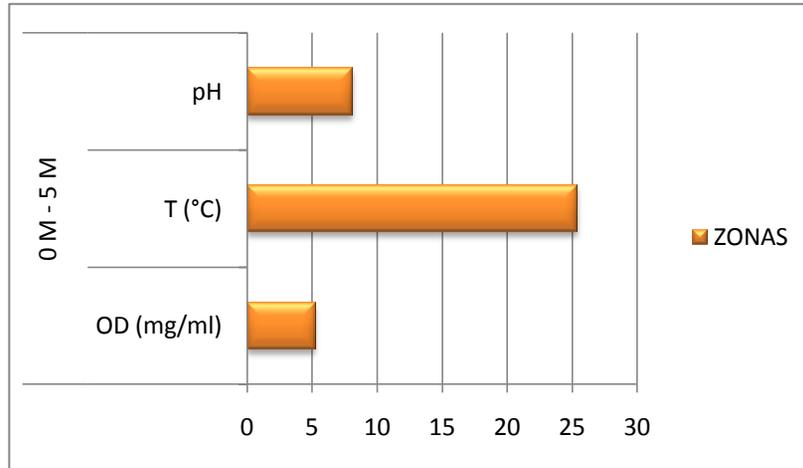
Anexo D. Distribución de coliformes a nivel superficial y a 5 metros de profundidad en el mes de Noviembre.

OCTUBRE 2009 VS NOVIEMBRE 2009



Anexo E. Distribución de coliformes a nivel superficial y a 5 metros de profundidad Octubre vs Noviembre.

PARAMETROS FÍSICOS



Anexo F. Resultados de Parámetros Físicos
 en la estación seca los días
 19 de Octubre y 9 de Noviembre de 2009

Anexo G. Comparación de Parámetros Físicos Vs Libro TULAS 2002

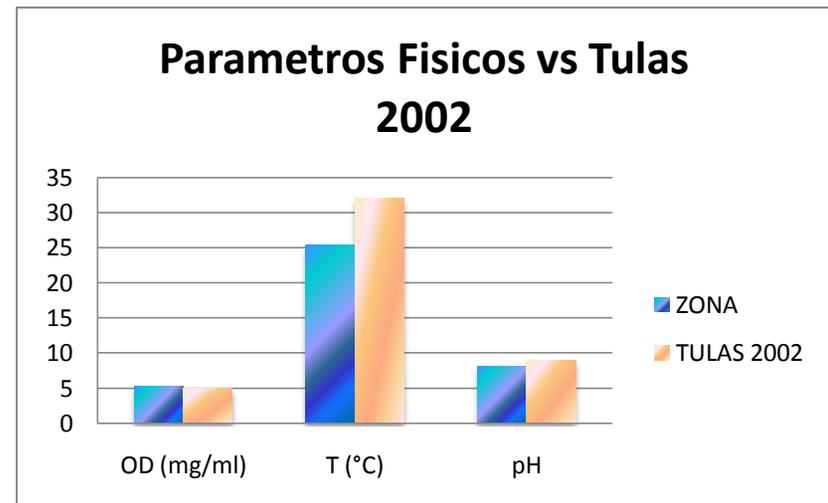


TABLA DEL MÉTODO DEL NÚMERO MÁS PROBABLE

Tabla 1. Para 3 tubos cada uno en 0.1, 0.01, y 0.001 inocula de g. el MPNs por gramo e intervalos de la confianza de 95 por ciento.

Tubos de la posición			MPN/g	Conf. lim.		Tubos de la posición			MPN/g	Conf. lim.	
0.10	0.01	0.001		Bajo	Alto	0.10	0.01	0.001		Bajo	Alto
0	0	0	<3.0	--	9.5	2	2	0	21	4.5	42
0	0	1	3.0	0.15	9.6	2	2	1	28	8.7	94
0	1	0	3.0	0.15	11	2	2	2	35	8.7	94
0	1	1	6.1	1.2	18	2	3	0	29	8.7	94
0	2	0	6.2	1.2	18	2	3	1	36	8.7	94
0	3	0	9.4	3.6	38	3	0	0	23	4.6	94
1	0	0	3.6	0.17	18	3	0	1	38	8.7	110
1	0	1	7.2	1.3	18	3	0	2	64	17	180
1	0	2	11	3.6	38	3	1	0	43	9	180
1	1	0	7.4	1.3	20	3	1	1	75	17	200
1	1	1	11	3.6	38	3	1	2	120	37	420
1	2	0	11	3.6	42	3	1	3	160	40	420
1	2	1	15	4.5	42	3	2	0	93	18	420
1	3	0	16	4.5	42	3	2	1	150	37	420
2	0	0	9.2	1.4	38	3	2	2	210	40	430
2	0	1	14	3.6	42	3	2	3	290	90	1,000
2	0	2	20	4.5	42	3	3	0	240	42	1,000
2	1	0	15	3.7	42	3	3	1	460	90	2,000
2	1	1	20	4.5	42	3	3	2	1100	180	4,100
2	1	2	27	8.7	94	3	3	3	>1100	420	--

Tabla 2. Para 5 tubos cada uno en 0.1, 0.01, y 0.001 inocula de g. el MPNs y los intervalos de la confianza de 95 por ciento.

Posición Tubos			MPN/g	Conf. lim.		Tubos de la posición			MPN/g	Conf. lim.	
0.1	0.01	0.001		Bajo	Alto	0.1	0.01	0.001		Bajo	Alto
0	0	0	<1.8	--	6.8	4	0	2	21	6.8	40
0	0	1	1.8	0.09	6.8	4	0	3	25	9.8	70
0	1	0	1.8	0.09	6.9	4	1	0	17	6	40

0	1	1	3.6	0.7	10	4	1	1	21	6.8	42
0	2	0	3.7	0.7	10	4	1	2	26	9.8	70
0	2	1	5.5	1.8	15	4	1	3	31	10	70
0	3	0	5.6	1.8	15	4	2	0	22	6.8	50
1	0	0	2	0.1	10	4	2	1	26	9.8	70
1	0	1	4	0.7	10	4	2	2	32	10	70
1	0	2	6	1.8	15	4	2	3	38	14	100
1	1	0	4	0.7	12	4	3	0	27	9.9	70
1	1	1	6.1	1.8	15	4	3	1	33	10	70
1	1	2	8.1	3.4	22	4	3	2	39	14	100
1	2	0	6.1	1.8	15	4	4	0	34	14	100
1	2	1	8.2	3.4	22	4	4	1	40	14	100
1	3	0	8.3	3.4	22	4	4	2	47	15	120
1	3	1	10	3.5	22	4	5	0	41	14	100
1	4	0	11	3.5	22	4	5	1	48	15	120
2	0	0	4.5	0.79	15	5	0	0	23	6.8	70
2	0	1	6.8	1.8	15	5	0	1	31	10	70
2	0	2	9.1	3.4	22	5	0	2	43	14	100
2	1	0	6.8	1.8	17	5	0	3	58	22	150
2	1	1	9.2	3.4	22	5	1	0	33	10	100
2	1	2	12	4.1	26	5	1	1	46	14	120
2	2	0	9.3	3.4	22	5	1	2	63	22	150
2	2	1	12	4.1	26	5	1	3	84	34	220
2	2	2	14	5.9	36	5	2	0	49	15	150
2	3	0	12	4.1	26	5	2	1	70	22	170
2	3	1	14	5.9	36	5	2	2	94	34	230
2	4	0	15	5.9	36	5	2	3	120	36	250
3	0	0	7.8	2.1	22	5	2	4	150	58	400
3	0	1	11	3.5	23	5	3	0	79	22	220
3	0	2	13	5.6	35	5	3	1	110	34	250
3	1	0	11	3.5	26	5	3	2	140	52	400
3	1	1	14	5.6	36	5	3	3	180	70	400
3	1	2	17	6	36	5	3	4	210	70	400
3	2	0	14	5.7	36	5	4	0	130	36	400
3	2	1	17	6.8	40	5	4	1	170	58	400
3	2	2	20	6.8	40	5	4	2	220	70	440
3	3	0	17	6.8	40	5	4	3	280	100	710
3	3	1	21	6.8	40	5	4	4	350	100	710
3	3	2	24	9.8	70	5	4	5	430	150	1,100
3	4	0	21	6.8	40	5	5	0	240	70	710
3	4	1	24	9.8	70	5	5	1	350	100	1100
3	5	0	25	9.8	70	5	5	2	540	150	1700
4	0	0	13	4.1	35	5	5	3	920	220	2600

Anexo H. Tablas del método del Número Más Probable (NMP)