



MASTER EN MEDIO AMBIENTE LITORAL Y MARINO.

Organizado por la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria y el Centro de Estudios Medio Ambientales (CEMA).

MÓDULO II: ASPECTOS ECOLÓGICOS DE LOS AMBIENTES LITORAL Y MARINO.

Coordinador: Prof. Javier Arístegui.

INTRODUCCIÓN A LA CONTAMINACIÓN BIOLÓGICA.

Dr. Leopoldo O' Shanahan Roca.

ASPECTOS GENERALES DE LA CONTAMINACIÓN MARINA.

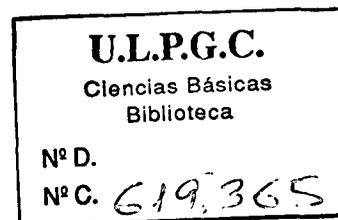
- Definición de contaminación.
- Tipos de contaminación.
- Algunas fuentes de contaminación marina.
- Algunos efectos peligrosos o negativos de la contaminación marina.
- Contaminación microbiana marina.

EUTROFIZACIÓN.

- Conceptos generales.
- Casos particulares.

AUTODEPURACION DE LAS AGUAS MARINAS.

- Concepto de autodepuración.
- Factores que determinan la autodepuración del agua de mar.
 - Factores bióticos.
 - Factores físico-químicos.
- Algo sobre emisarios submarinos.



CONTAMINACION POR AGUAS RESIDUALES.

Parámetros utilizados para medir la contaminación por aguas residuales en el medio marino.

Parámetros microbiológicos: Bacterias:

Coliformes Totales (CT). Definición. Especies.

Coliformes Fecales (CF). Definición. Especies.

Estreptococos Fecales (EF). Definición.

Salmonella.

MÉTODOS DE ESTUDIO DE LA CONTAMINACION FECAL EN EL MAR.

Aplicados esencialmente a zonas de baño y recreativas, mediante la utilización de parámetros bacteriológicos.

Muestreos: Número de muestras, frecuencia de muestreo, época de muestreo.

Método de análisis por recuento bacteriológico.

Valoración cuantitativa de CT, CF y EF por el Número Más Probable (NMP) y las Membranas Filtrantes (MF): medios de cultivo, aparatos de filtración, membranas filtrantes, etc.

Valoración cualitativa de patógenos: *Salmonella*, medios de enriquecimiento, medios selectivos, serotipado, etc.

ASPECTOS GENERALES DE LA CONTAMINACION MARINA.

Dr. Leopoldo O' Shanahan Roca

Definición de contaminación.

Tipos de contaminación.

Algunas fuentes de contaminación marina.

Algunos efectos peligrosos o negativos de la contaminación marina.

Contaminación microbiana marina

Eutrofización. Conceptos generales.

Casos particulares.

Definición de Contaminación:

¿"Polución" o "contaminación"?

Los anglosajones y los de habla francesa emplean "pollution" en lo que nosotros usamos "contaminación". Nosotros usaremos ambos términos como sinónimos. Para Davis (1) polución es: "*The introduction (in the environment) by man of materials or effects at a harmful level*", que traducimos por "Polución (o contaminación) es la introducción por el hombre en el medio ambiente de materiales o efectos a un nivel perjudicial". El término introducción implica tanto "producción" (como en la producción de sustancias químicas) como "transferencia" (como en el tratamiento y vertido de las aguas residuales).

El uso de los términos materiales y efectos es necesario para cubrir aspectos de la polución por radiación, ruidos y otros contaminantes no materiales. El término nivel perjudicial (*harmful level*) asevera que un material o un efecto llega a constituir una polución cuando la intensidad alcanza un nivel en el que los efectos perjudiciales son comprobados.

Si usamos una analogía en el terreno de la alimentación, no existe una

frontera clara entre lo que es un tóxico y una sustancia inocua, todo es cuestión de concentraciones. Así, el arsénico y el plomo son inocuos a concentraciones de 10^{-9} g (concentraciones que encontramos en nuestro organismo) pero alcanzan el umbral de toxicidad a 10^{-6} g y son fuertemente letales a concentraciones de 10^{-3} g.

La utilización en esa definición del término “por el hombre” es necesaria, para distinguir entre causas naturales y causas artificiales de esa “introducción” en el ambiente. La erupción de un volcán introduce en el ambiente cenizas y gases de azufre, al igual que una industria. En el primer caso no deberíamos hablar de contaminación, aunque los efectos sean similares. Igualmente, no es lo mismo la aparición por causas naturales de una enfermedad epidémica que el vertido al mar de los microbios contenidos en las aguas residuales domésticas.

Un ejemplo muy común del papel del ser humano en la producción de contaminación es el efecto de los fosfatos en los efluentes industriales. Frecuentemente, los fosfatos se descargan a los cursos de agua en los que pueden aumentar el crecimiento de las algas de forma que el aumento de población algal disminuirá la disponibilidad de oxígeno disuelto, alterándose el balance ecológico en el río, lago o mar al que desemboque este caudal.

Finalmente, la definición habla de introducción y transferencia, no especifica a donde se producen ambas acciones, pero es claro que se refiere a medios naturales, cualquiera que sea el sistema o el entorno considerado.

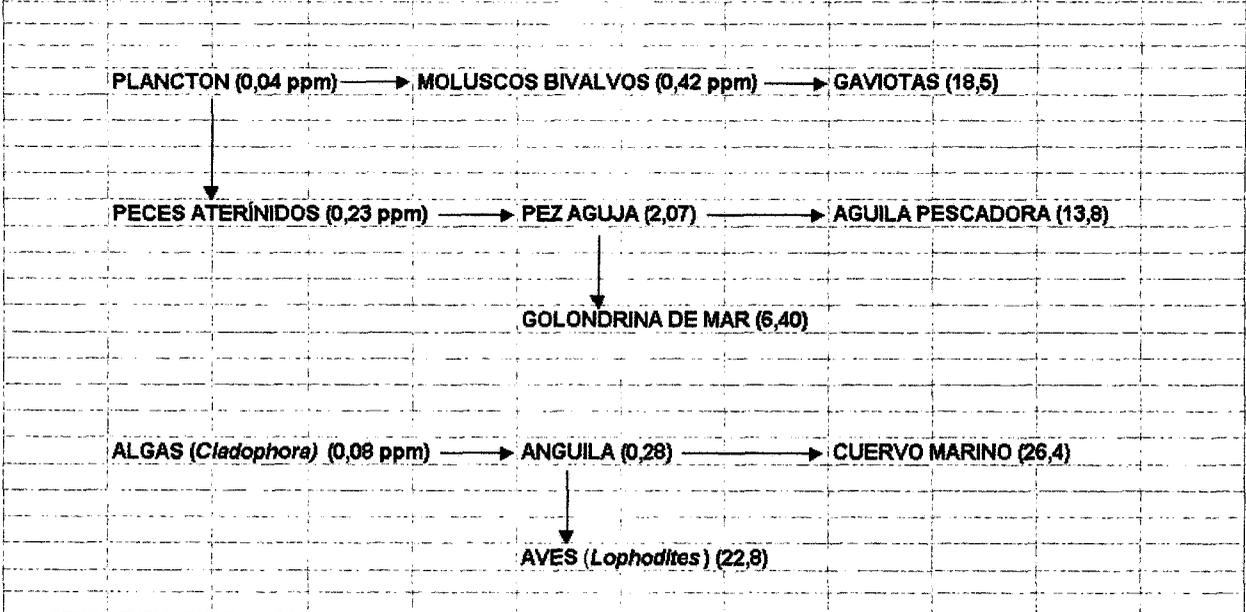
Tipos de contaminación.

Especificar los tipos de contaminación de acuerdo a un origen conocido o determinado puede ser difícil si se tiene en cuenta que una misma causa puede producir “tipos” diferentes de contaminación. Un caso concreto es el del efecto de las aguas residuales vertidas en sistemas acuáticos. Las aguas residuales pueden entrañar tipos diferentes, si queremos ajustar definiciones muy concretas, aunque el origen sea el mismo.

Podemos hablar de una contaminación por hidrocarburos, por detergentes, microbiológica, por metales pesados y hasta por energía calorífica. Todos ellos producidas por las aguas residuales. Lo importante es considerar el efecto global en los ecosistemas receptores directos y las repercusiones en toda la cadena trófica o de las diferentes redes tróficas que pueden depender del área contaminada directamente.

AUMENTO DE LA CONCENTRACIÓN DE UN CONTAMINANTE QUÍMICO A LO LARGO DE SUCESIVOS

ESLABONES DE CADENAS TRÓFICAS MARINAS. (Según Margaleff, "Ecología", 1974)



En el Cuadro anterior tenemos un ejemplo de cómo un contaminante químico se va distribuyendo por la cadena trófica marina. Cualquier contaminante que pueda asimilarse en los productores primarios (Plancton, algas superiores) adquiere en ellos unas determinadas concentraciones. Lo más importante de la idea es que al pasar a los herbívoros (moluscos bivalvos, peces aterínidos, anguila) las concentraciones del contaminante se han multiplicado por un factor de diez y, de nuevo, al pasar al siguiente eslabón de los carnívoros se vuelve a multiplicar por diez. De esta forma, un contaminante llegado al medio marino en concentraciones analíticamente indetectables, alcanza valores que implican toxicidad en los eslabones más lejanos de la cadena trófica.

Podemos además ser muy estrictos al considerar la contaminación como alteración de un ecosistema en sus cualidades puramente naturales o considerar el deterioro respecto al uso que se da a ese ecosistema por el hombre, es decir desde la visión puramente del naturalista hasta una visión más pragmática. De hecho, cuando se considera la calidad microbiológica de las aguas, las normas legales distinguen si el agua va a ser usada para el recreo, baño, deportes náuticos, etc., si se va a usar para cultivos marinos, marisqueo, o si se va a usar ese agua para bebida. Es decir si en el primer caso se puede usar como cifra de referencia que el agua para el baño no debe contener más de 100 bacterias coliformes fecales por 100 ml, en el segundo caso no se tolera más de 10 coliformes y en el caso último,

bebida, el agua no puede contener un solo coliforme fecal por 100 ml.

De este modo un agua natural marina que contenga 50 Coliformes Fecales/100 ml no está “contaminada” para efectos del baño pero sí lo estaría para el suministro de cultivos marinos. En cualquier caso, la evaluación de esta cualidad para el agua de un entorno concreto: “contaminada o no contaminada” no dependerá de un examen puntual, de uno o muy pocos análisis bacteriológicos, sino de la observación prolongada en el tiempo, lo que implica un número suficientemente elevado de muestras analizadas que permita hacer una evaluación global de la calidad microbiológica de esa playa, o río o área de cultivos.

Un análisis puntual, único, puede informarnos de una situación puntual. Si la playa de Maspalomas, en cuyo entorno desembocan emisarios submarinos ofrece a lo largo de un período de muestreo los siguientes valores de Coliformes fecales: 23, 56, 350, 11, 0, 6, 9, 5 por ejemplo, en muestras tomadas cada quince días durante cuatro meses, el 80% de las muestras son inferiores a la concentración de 100 CF/100 ml, con lo que la Norma Europea de Calidad de Aguas de Baño se cumple. Sin embargo, el día que ofreció la concentración de 350 CF/100 ml estaba legalmente “contaminada”.

El resultado “global” es que esta playa es satisfactoria para el baño (y lo es en la realidad) según las Normas Europeas. Un resultado elevado (350 CF/100 ml) es una circunstancia excepcional si tenemos en cuenta que el resto de los datos está por debajo del límite legal.

El caso contrario sería el de una playa que excepcionalmente presenta cifras por debajo de la norma, pero que habitualmente está “contaminada”. Todas estas consideraciones, además, deben ser contempladas desde la perspectiva 1º) que la contaminación medida por elementos vivos, las bacterias, o que se disuelven o dispersan en el agua receptora, los detergentes o aceites, está sometida a las variaciones u oscilaciones de esas concentraciones y 2º a la metodología de análisis que, como en cualquier estudio, puede estar sometida a errores.

Algunas fuentes de contaminación marina.

Hemos mencionado en varias ocasiones la contaminación por aguas residuales vertidas directamente al mar, sin tratamiento, lo cual es muy frecuente, o a través de una Depuradora y un emisario submarino. Pero existe una serie de factores o fuentes que pueden suponer la llegada de la contaminación al agua de mar. Estos podrían ser:

1. Agricultura.

La agricultura es la principal fuente de contaminación no localizada sobre las aguas naturales. La contaminación de aguas superficiales y subterráneas se produce por el uso excesivo de fertilizantes nitrogenados y fosforados, además de los pesticidas, todo ello en zonas de cultivo cuyas aguas terminan llegando al mar por una u otra vía. Estos fertilizantes no sólo estimulan el crecimiento de las cosechas sino también en los ecosistemas marinos. Dado que el N es el factor limitante del crecimiento en plantas y algas, grandes cantidades de N implican altos niveles de crecimiento o producción primaria.

2. Ganadería.

La ganadería intensiva (bovinos, aves, cerdos, etc.) en granjas próximas a la costa, aporta cantidades importantes de nutrientes a las aguas superficiales y subterráneas. El almacenamiento y evacuación impropios de los residuos de ganadería también contribuye al incremento del aporte de nutrientes a las aguas marinas.

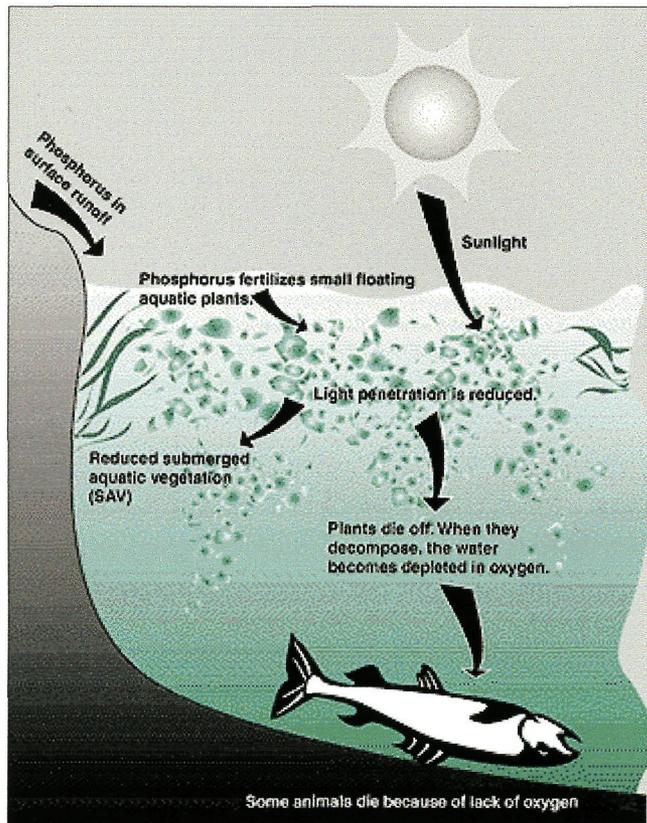
3. Erosión del suelo.

La erosión del suelo provoca la degradación de las aguas naturales y de muchos hábitats de peces. El aporte a las aguas costeras de tierras erosionadas produce una gran cantidad de sólidos en suspensión que afectan negativamente a la vida marina. Estos sólidos en suspensión aportan un exceso de nutrientes al agua de mar y bloquean el paso de la luz solar que necesitan los productores primarios (fitoplancton, algas superiores y fanerógamas marinas) para la fotosíntesis. La falta de luz solar origina la muerte de los productores primarios llevando a la descomposición y consumo de oxígeno que puede, a su vez, originar condiciones de anoxia o hipoxia fatales para los productores secundarios.

4. Escorrentías urbanas.

Las escorrentías (así hemos traducido la expresión inglesa “urban runoff”) de aguas urbanas, principalmente de aguas de lluvias, son una fuente importante de contaminación a los ecosistemas marinos. Está determinada por el desarrollo urbano, como es la construcción, la pavimentación o asfaltado de calles, la eliminación de vegetación, etc. Dado que las escorrentías urbanas se producen rápidamente y se acumulan grandes cantidades de agua hay poca oportunidad de que las aguas se filtren en el terreno y, por tanto sean absorbidas por el mismo, las aguas al llegar al mar van a aportar grandes cantidades de nutrientes al medio marino. El efecto es tanto más

filtran en el terreno y, por tanto sean absorbidas por el mismo, las aguas al llegar al mar van a aportar grandes cantidades de nutrientes al medio marino. El efecto es tanto más

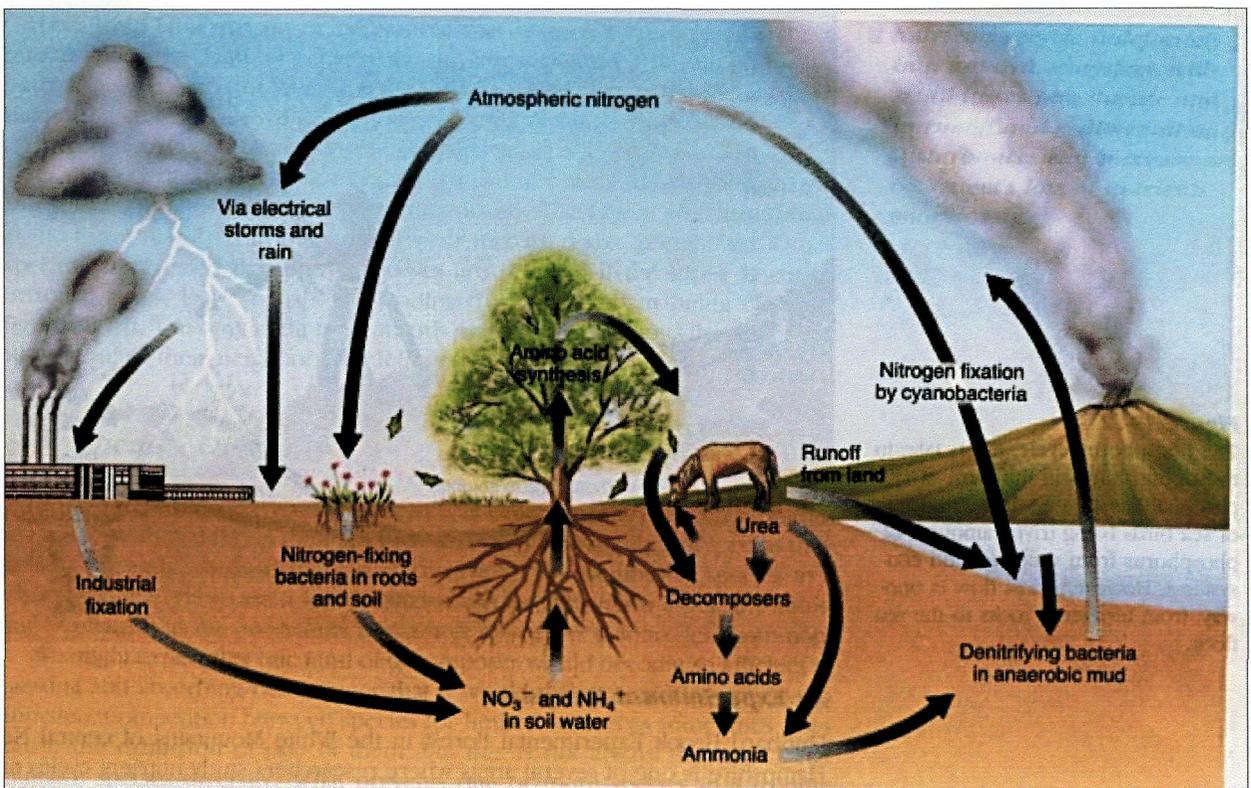


El exceso de fósforo procedente de las escorrentías y de la erosión del suelo, al ser un nutriente esencial de los vegetales, junto con el N, causa graves problemas de eutrofización en los ecosistemas acuáticos. Al fertilizar las aguas en superficie, las algas del plancton se multiplican rápidamente y oscurecen el paso de la luz para las algas macrófitas del fondo. La muerte de estas algas reduce el espacio habitable para los animales acuáticos. La descomposición del plancton y de las macrófitas muertas reducen el O disuelto lo que impide la supervivencia de los organismos acuáticos.

dañino cuanto menos renovación y circulación ocurra en el sistema acuático receptor.

5. Deposición atmosférica.

Existe un aporte de N a la atmósfera, proveniente principalmente de la combustión de combustibles fósiles tales como el carbón y los derivados del petróleo. Otra fuente de N que pasa a la atmósfera puede ser el estiércol del ganado y el abonado de las tierras de cultivo, en ambos casos en forma de amonio. La liberación de amonio de la agricultura excede, en mucho, al Nitrógeno utilizado en la producción de alimento. El exceso de N en forma de amonio en la atmósfera accede a los ecosistemas en forma de viento y lluvia puesto que su peso molecular no le permite permanecer demasiado tiempo en el aire, de esta forma se constituye en un contaminante importante.



Diversas vías de penetración del N en los ecosistemas acuáticos

6. Aguas subterráneas.

Las principales fuentes de aguas subterráneas son la lluvia y la nieve. El agua penetra en el suelo llenando los espacios entre las partículas de grava, arena y tierra y la fuerza de la gravedad hace que se vaya infiltrando en el terreno, lavando

(disolviendo) los contaminantes a lo largo de su recorrido. Cualquier contaminante procedente p.e. de minas abandonadas, acumulaciones de desechos o basuras y fosas sépticas mal construidas puede originar una seria contaminación en los sistemas de captación de aguas para el consumo humano. Los vertederos de basuras cerca del mar producen lixiviados que pueden llegar al mar. Un caso podría ser el vertedero del salto del Negro, muy próximo al mar situado en las proximidades de la playa de La Laja en Las Palmas de Gran Canaria.

7. Estaciones depuradoras de aguas residuales.

Las plantas de tratamiento de aguas residuales urbanas e industriales que descargan en puntos concretos del litoral, a través de emisarios submarinos o de vertidos directos en la propia orilla del mar. Se ha estimado que el aporte de Nitrógeno al mar debido a los vertidos de aguas residuales constituye el 25% de todo el N que llega al mismo. De este 25%, tres cuartas partes proceden de plantas de tratamiento d aguas domésticas y una cuarta parte de Depuradoras de aguas



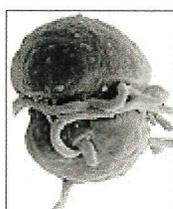
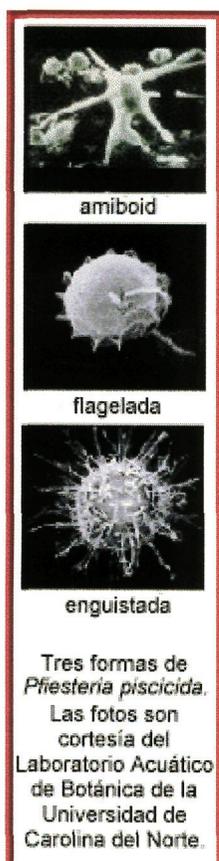
industriales.

Avenida Marítima de Las Palmas de Gran Canaria. Los vertidos de aguas residuales (en el caso de la figura aguas sin pasar por una Depuradora) son importantes causas de contaminación y eutrofización en el litoral.

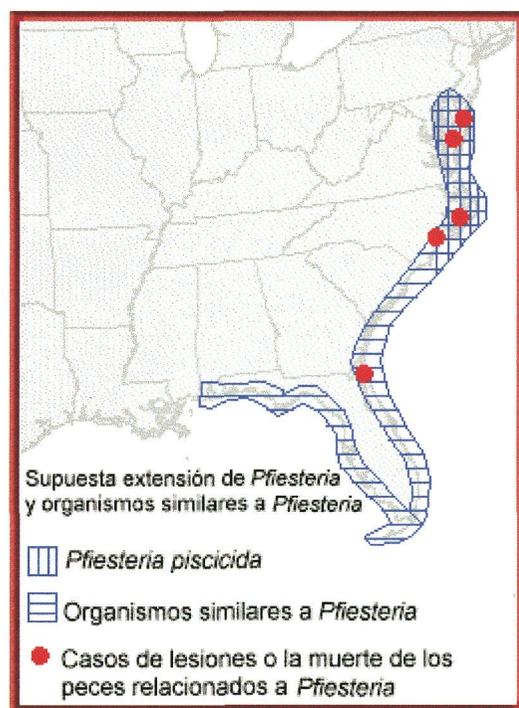
Algunos efectos peligrosos o negativos de la contaminación marina.

1. "Blooms" de algas perjudiciales.

En los últimos años ha habido un aumento de mareas rojas, es decir, blooms de algas fitoplanctónicas tóxicas o peligrosas, tanto en su intensidad, frecuencia como en su distribución geográfica. Muchas de las especies tóxicas o peligrosas del fitoplancton están siendo estimuladas en virtud de la contaminación por nutrientes, mientras que otras están siendo transportadas a través de todo el mundo en el agua que se usa en barcos como lastre y, así, pueden aparecer y por tanto desarrollarse en lugares del mundo donde nunca habían estado históricamente presentes. Muchas de estas especies algales producen toxinas virulentas que se acumulan en algunas especies o perjudican o matan a otras. Hace pocos años ha sido descubierta una nueva especie de dinoflagelado llamada *Pfiesteria piscicida* que produce una toxina que ha matado millones de peces en las costas americanas. Tan es así que ha sido llamada en lengua inglesa: "cell from hell" Los humanos expuestos a esta toxina experimentan síntomas de enfermedades como son: pérdida de memoria, problemas gástricos, náusea, etc. La aparición de este organismo ha sido propiciada por los efluentes ricos en nutrientes de diversa naturaleza. Principalmente se ha detectado en costas atlánticas de los Estados Unidos y en el Golfo de México y ha causado también mortandades en mamíferos marinos. En humanos puede producir parálisis e incluso la muerte.



Pfiesteria piscicida
vista al ME.



2. Invasión por especies exóticas y patógenas.

Especies que son transportadas a través de las actividades humanas a regiones donde nunca habían existido. Especies foráneas o invasoras han causado la extinción de otras especies, enfermedades en plantas superiores, en animales y seres humanos y cambios totales en la organización de los ecosistemas naturales.

Los ecosistemas marinos son invadidos por especies de algas macrófitas y del fitoplancton, además de moluscos, crustáceos, poliquetos y otros. Algunas áreas han sido particularmente impactadas. En Canarias desde hace muchos años se viene estudiando una verdadera plaga producida por el equinodermo *Diadema antillarum*, un tipo de erizo de púas largas que ha invadido nuestras costas produciendo verdaderas masacres en los sistemas rocosos en los que se fija, esquilmando todo tipo de organismos sésiles y produciendo lo que se ha llamado “blanquizales”. La causa de tal plaga no se conoce aún, se está investigando en ese aspecto. Habrá que dilucidar si se trata de la contaminación por aguas residuales u otro tipo de contaminación, el transporte en el agua de lastre de los grandes barcos que atraviesan las aguas canarias o qué otro factor es la causa de esta plaga.

En algunos lugares en los que se ha investigado se han detectado hasta 150 especies exógenas nuevas. En la bahía de San Francisco se ha asentado una nueva especie de almeja (almeja china) en concentraciones de hasta 10.000 individuos por metro cuadrado. El medio de transporte más común por el que estas especies son introducidas en nuevos ambientes es el de la descarga del agua de lastre de petroleros u otros. Otra acción invasora de especies en un ecosistema natural es la producida por las instalaciones de cultivos marinos que de forma deliberada o accidental liberan al medio circundante cantidades de peces o de otros animales marinos. Las instalaciones de acuariología también son responsables de este fenómeno. Cada año se estima que se descargan en los Estados Unidos 50.000 millones de litros de agua de otro origen en los ecosistemas costeros, por lo que han sido encontrados más de 367 plantas y animales acuáticos en el agua del lastre de barcos procedentes de Japón solamente.

Contaminación microbiana marina.

Hablar de contaminación bacteriana marina equivale prácticamente a referirnos a la contaminación originada por las aguas residuales de origen urbano, aunque se debe insistir en la idea que las aguas urbanas no sólo provocan contaminación por bacterias. Casi todos los tipos o categorías de contaminación son producidos por las aguas residuales (hidrocarburos, detergentes, pesticidas, materia orgánica, elementos minerales...). Casos particulares de introducción de bacterias en el mar lo constituyen las aguas pluviales al desembocar al mar, efluentes de mataderos o granjas de animales, de instalaciones de cultivos marinos o agrícolas, si están próximos al mar y se les abona con estiércol. Todas ellas aportan bacterias “telúricas” (en el sentido de origen terrestre, no marino) y si se pueden excluir de la red urbana de saneamiento. Las aguas de zonas de litoral en las que no hay red urbana pero sí fosas sépticas, al alcanzar el mar se consideran como aguas domésticas.

Pero el mayor volumen global de bacterias no marinas inyectadas a los sistemas acuáticos proviene de las aglomeraciones humanas.

Ello constituye uno de los aspectos negativos de la explosión demográfica en las zonas litorales (“La polución de las aguas marinas”. Pérès.- M.J. Gauthier, pg.127). Las aguas residuales urbanas o domésticas contienen en suspensión partículas que le confieren el color pardusco debido a la materia orgánica disuelta, coloidal o particulada. Además transporta una enorme cantidad de microorganismos, de entre los que destacan las bacterias.

Los agentes causantes de la contaminación microbiana en el mar son la casi totalidad de los microorganismos patógenos: hongos inferiores, levaduras, bacterias, virus, son de origen humano y son transportados hasta el mar por las aguas de alcantarilla:

Huevos de metazoos parásitos: tenias, ascáridos, tricocéfalos, etc.

Bacterias: salmonelas, micobacterias, vibrios, shigellas, pseudomonas, etc.

Hongos patógenos, como Cándida.

Virus patógenos: polio, hepatitis, enterovirus diversos.

La carga bacteriana de las aguas residuales se estima como media es de 10^8 /100 ml.

Entre ellas destacan los coliformes y estreptococos, que son los indicadores de contaminación fecal más sensibles y fiables por lo que se usan para evaluar la

contaminación bacteriana en las aguas naturales. Estos se encuentran en las cantidades siguientes:

Coliformes Fecales: $2-5 \times 10^7 / 100 \text{ ml}$ (20-50%)

Estreptococos Fecales: $1-2 \times 10^6 / 100 \text{ ml}$ (1-2%)

Estos dos grupos de bacterias no son patógenos en condiciones normales, ya que son bacterias saprófitas del intestino de animales de sangre caliente pero son indicadoras de la presencia de otras bacterias patógenas que se encuentran también en las aguas residuales, como las salmonelas, vibrios y muchas otras.

La principal causa de contaminación en playas, puertos y zonas de marisqueo se debe en gran parte al funcionamiento defectuoso de las plantas depuradoras, la falta de emisarios submarinos y el vertido directo al mar de aguas crudas (sin depurar y sin emisario submarino).

A ello se une el deterioro con el tiempo de las redes de saneamiento cercanas al litoral, y los vertidos a cauces de barrancos secos o fluviales.

EUTROFIZACIÓN.

Separar los conceptos de Contaminación y de Eutrofización no es sencillo. La consecuencia más inmediata en las zonas marinas contaminadas crónicamente por las aguas fecales es la eutrofización. Según Margalef (“Limnología”, Ed. Omega. pg.896), la eutrofización es un aumento de la producción de un sistema acuático. Las aguas residuales urbanas son un aporte de materia orgánica y nutrientes al medio acuático receptor. Dependiendo de la capacidad de absorción o “metabolización” de los materiales aportados, se podrá notar este efecto más o menos intensamente. Las zonas del litoral próximo o influido por los vertidos se diferencian por un excesivo crecimiento de las algas macrófitas más resistentes a las condiciones impuestas por las aguas fecales, sobre todo *Ulva* y *Enteromorpha*. Son zonas más pobres en diversidad de especies Algunos autores llaman a esto “mareas verdes” en analogía con las mareas rojas.

Muchas veces la consecuencia del binomio Eutrofización-Contaminación es la presencia de “mareas rojas”, proliferación excesiva de algas dinoflageladas tóxicas y que produce intoxicación en humanos por acumulación de toxinas y, por ello, pérdidas monetarias importantes en las áreas de cultivo de moluscos filtradores

filtradores (almeja, mejillón, ostras, etc.)

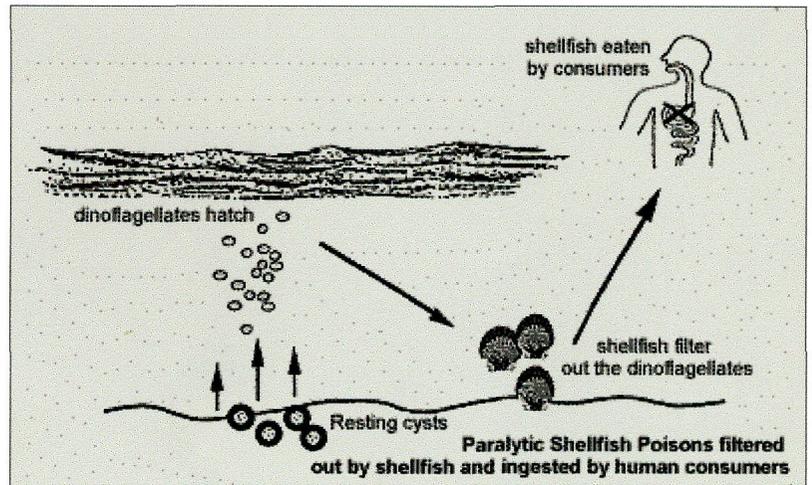


Imagen macroscópica de una marea roja y camino de la toxina de un alga causante de marea roja hasta afectar al ser humano. Los llamados “resting cysts” (literalmente “quistes en reposo”) son formas de resistencia que permanecen en los sedimentos hasta que determinadas condiciones ambientales (mar de fondo, tormentas) los elevan a la zona eufótica donde se multiplican rápidamente formando una marea roja. Al ser filtrados por los moluscos, estos acumulan la toxina que pasa, así, a la cadena de alimentos humana.

Siguiendo a AUBERT (“EUTROPHIE ET DISTROPHIE EN MILIEU MARIN. PHENOMENES PLANCTONIQUES ET BACTERIENNES. AUBERT, M. ET AUBERT, J. REV. INTERNAT. OCEANOGR. MEDICALE TOMES LXXXIII ET LXXXIV) el término “trofia” expresa la base de procesos de proliferación de la biomasa primaria porque significa nutrición. El prefijo “eu” calificaría de excelente la producción de un sistema acuático pero no responde siempre a la realidad porque una sobreabundancia fitoplanctónica no es siempre un signo de buena calidad del medio. Esta sobreabundancia ligada frecuentemente a aportes exógenos se aleja de las condiciones naturales. Es frecuentemente el primer estadio de una evolución hacia una destrucción de la flora y la fauna, es decir hacia un estado de enfermedad grave del medio.

Después de un estado de eutrofización puede sobrevenir bruscamente un estado de “distrofia” que se caracteriza por modificaciones importantes de las condiciones químicas y una transformación regresiva de las poblaciones.

Clásicamente, los fenómenos de eutrofización se producen cuando las concentraciones de minerales nutrientes sobrepasan ampliamente las concentraciones que se encuentran normalmente, ayudados en ocasiones por aumentos de la temperatura. A partir de estas condiciones físico-químicas comienza a desarrollarse una proliferación de especies fitoplanctónicas normalmente presentes en el medio, con predominancia inicial de las Diatomeas. Estas producen una elevación del oxígeno disuelto. Después, el predominio de las Diatomeas se invierte, en provecho de los Dinoflagelados. La medida de las sales minerales muestra un descenso progresivo de los nutrientes. Sin embargo el descenso de los compuestos nitrogenados y fosforados puede ser temporalmente compensados con respecto a los Dinoflagelados, que son al mismo tiempo autótrofos y heterótrofos, por la presencia de compuestos carbonados que se pueden encontrar en cantidades aún elevadas mientras que los nutrientes están en tasas muy bajas, aunque las concentraciones celulares continúan aumentando. Además se produce la secreción de sustancias “mediadoras” que van a bloquear la proliferación de ciertas especies fitoplanctónicas.

La falta de nutrientes unida a la presencia de estos tóxicos (mediadores) entraña la muerte rápida de esta biomasa primaria. Por ello la tasa de oxígeno disminuye, agravado por la descomposición bacteriana de la biomasa muerta. La abundancia de estos materiales en descomposición aumenta la proliferación bacteriana y el consumo de oxígeno que ello implica conduce a una anoxia del medio.

La flora bacteriana sufre una modificación: las bacterias aerobias son progresivamente reemplazadas por bacterias anaerobias o predominan las bacterias sulfatoredutoras que liberan sulfhídrico. La fauna plantófaga muere, de una parte por anoxia y otra por falta de alimentación, aumentando la masa en descomposición. La fauna no sésil se aleja de esta zona insalubre y progresivamente se instala una zona azoica, poblada solo por microorganismos anaerobios.

Las causas que originan el comienzo de este proceso descrito son múltiples. La principal es el aporte a las zonas marinas cerradas de materia orgánica que se mineraliza lentamente o materia ya mineralizada disuelta, que es la forma más fácilmente asimilable (nutrientes: nitratos, nitritos, fosfatos, amonio) por el fitoplancton. También hay formas orgánicas, aminoácidos y vitaminas, que se asimilan directamente y otras formas “mediadores” (¿hormonas?, ¿ferhormonas?) que son inductoras o inhibidoras interespecíficas.

El problema de la eutrofización y la evolución hacia la distrofia está de actualidad en la medida que, debido a la superpoblación de las zonas marinas costeras, la evacuación de las aguas residuales no está aún resuelta en la mayor parte de las costas.

De esta forma, es evidente que estos fenómenos biológicos y bioquímicos

ligados a la presencia de microorganismos tóxicos, provocan efectos ecológicos importantes que entrañan consecuencias económicas y sanitarias graves: mortalidad masiva de peces, prohibición de explotación de recursos marisqueros, intoxicaciones humanas que pueden implicar la hospitalización e incluso la muerte en algunos casos, disminución de la calidad de otros recursos económicos dependientes del litoral: el turismo, por ejemplo, en Canarias.

(De “Cultural Eutrophication- Case Estudios, pp. 55-100. In: Aquatic pollution, an Introductory Text, Second edition, Edward A. Laws, Ed. John Wiley & Sons, INC., 1993).

La *Eutrofización* es un proceso natural que sucede en casi todas las masas de agua. La acumulación gradual de nutrientes y biomasa orgánica acompañada de un incremento de la producción y un decrecimiento en la profundidad media de la columna de agua constituye el proceso natural de eutrofización. Cualquier aceleración no natural del proceso de eutrofización debida a las actividades del ser humano se llama *cultural eutrophication* (C.E.) (traducción: ¿eutrofización antropogénica?). Esta llamada C.E. puede ser causada, por ejemplo, por las descargas de aguas residuales que contienen una alta concentración de nutrientes y materia orgánica. Ejemplos de C.E. constituyen uno de los problemas más comunes y extendidos de la contaminación acuática.

La C.E. es simplemente la aceleración antropogénica de la contaminación. Esta aceleración antropogénica es frecuentemente ocasionada por la descarga de residuos orgánicos y nutrientes.

Algunos problemas derivados de la eutrofización antropogénica son los siguientes.

1. Las **especies asociadas con los sistemas eutróficos son muchas veces menos deseables** que las especies características de los sistemas oligotróficos. Así, en lagos eutróficos, las especies de peces que han empezado a dominar las áreas polucionadas son comercialmente menos valiosas que las especies que habitaban previamente dichas áreas. Desde el punto de vista humano, los cambios en la biota de los sistemas contaminados son realmente indeseables. Aunque la eutrofización antropogénica incrementa casi invariablemente la productividad de un sistema, el valor (monetario, estético, científico, etc.) de los organismos producidos disminuye frecuentemente.

2. Las **concentraciones de oxígeno** en los sistemas altamente eutróficos fluctúan generalmente dentro de un rango mucho más amplio que en los sistemas oligotróficos o mesotróficos. Así, algunos organismos que necesitan la saturación de oxígeno en el agua para funcionar eficazmente están ausentes de los ambientes eutróficos. En los sistemas altamente eutróficos pueden darse muertes masivas de peces a causa de un rápido descenso de la concentración de oxígeno en horas nocturnas. La muerte a gran escala de peces y la eliminación de especies valiosas como consecuencia de la falta de oxígeno puede constituir un serio problema de eutrofización en algunos sistemas acuáticos.
3. **Excesivas cantidades de fitoplancton y plantas acuáticas** en el agua de un sistema eutrófico crean problemas estéticos y reduce el valor de una masa de agua como recurso recreacional. Desde un punto de vista puramente estético el agua transparente de los sistemas oligotróficos es más atractiva para la natación y la navegación deportiva. Las grandes concentraciones de fitoplancton originan una apariencia del agua turbia y poco atractiva. La muerte y descomposición de grandes cantidades de biomasa vegetal no consumida por herbívoros, puede originar olores desagradables y una apariencia altamente antiestética, lo cual convierte a una masa de agua poco apetecible desde el punto de vista recreacional.
4. **Competencia por los recursos y fuerte presión predatoria** en virtud de la alta concentración de organismos es otra consecuencia de los sistemas eutróficos. Como consecuencia de ello, la diversidad de organismos es con frecuencia mucho más baja que en los sistemas oligotróficos. En otras palabras, sólo un pequeño número de clases de organismos es capaz de sobrevivir en los sistemas eutróficos.

1. CASO PARTICULAR TIPICO DE EUTROFIZACIÓN EN LA ZONA INTERMAREAL: PLAYA DE LA HOYA DEL POZO-PLAYA DEL HOMBRE (TELDE, GRAN CANARIA).

En la Playa de la Hoya del Pozo hace pocos años existía un vertido de aguas residuales con tratamiento primario que vertía en la zona intermareal y que dejaba sentir su influencia en todo el litoral rocoso de la zona. La influencia del vertido alcanzaba hasta la Playa del Hombre (unos 400 metros) produciendo unos niveles de contaminación fecal elevadísimos, por lo que ambas playas eran declaradas habitualmente No Aptas para el baño por las autoridades sanitarias.

habitualmente No Aptas para el baño por las autoridades sanitarias.



Vista de la Playa de Hoya del Pozo. Obsérvese a la derecha un vertido de aguas fecales y la gran proliferación de *Ulva* en el intermareal rocoso

Entre la Playa del Hombre y la de Hoya del Pozo se encuentra un saliente rocoso en el que se asentaba una comunidad de *Ulva* muy frondosa que era prácticamente la única especie vegetal que dominaba la zona (Foto inferior).

Saliente rocoso del intermareal ocupado por *Ulva* en su totalidad

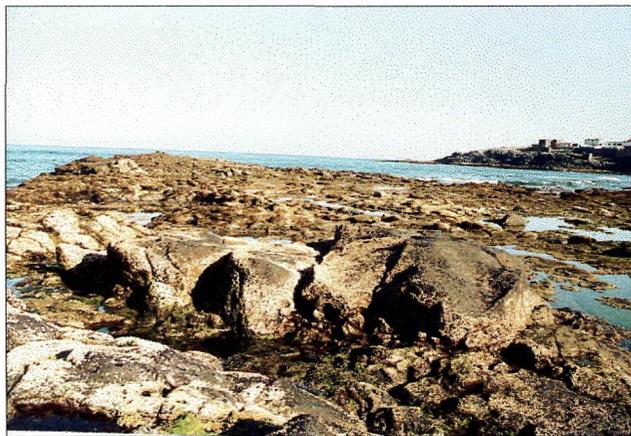


Los charcos del intermareal estaban prácticamente ocupados por la comunidad monoespecífica de *Ulva*, como puede verse en las fotografías siguientes:



Charcos del intermareal mostrando una comunidad monoespecífica de *Ulva lactuca*.

El vertido fue eliminado cuando se construyó un emisario submarino por el que se vierten las aguas que antes desembocaban en el intermareal, con lo que la comunidad anterior se recuperó, como se ve en las Fotografías siguientes.



En las fotografías recientes se observa que los charcos se encuentran actualmente cubiertos de una variadísima flora de diferentes tipos de algas y de peces e invertebrados. La foto inmediatamente anterior ha sido tomada desde una perspectiva similar a la de la foto 2 y se observa un cambio radical en la imagen.

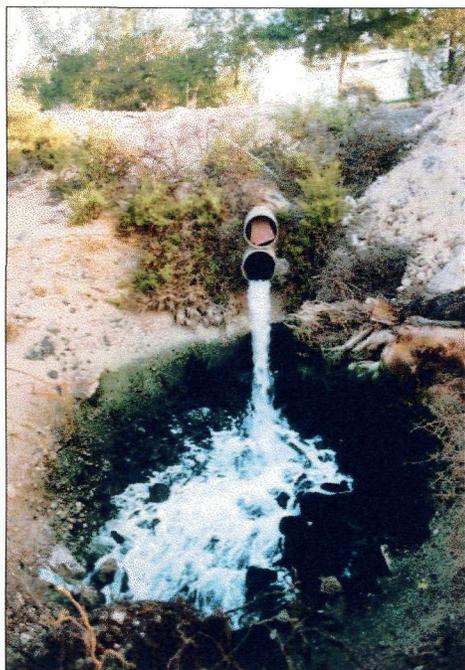


La conclusión, clara y rotunda, es que el ecosistema inetrmareal se ha regenerado después de la construcción de un emisario submarino que ha liberado de este entorno de la contaminación y eutrofización que habían cambiado radicalmente las condiciones naturales de la zona. La cobertura de *Ulva* ha

desaparecido casi totalmente de la zona.

2. CASO PARTICULAR DE EUTROFIZACIÓN EN ZONA INTERMAREAL: PLAYA DE SOTAVENTO DE JANDÍA (FUERTEVENTURA).

En esta playa se produce un proceso de eutrofización por vertido del efluente de una estación depuradora de aguas residuales (EDAR) en el supralitoral. Se produce una inundación permanente de la zona intermareal, de forma que la riqueza nutritiva de las aguas vertidas ha determinado la producción masiva de algas cianofíceas que invaden una amplia superficie arenosa, típica de esta zona de Fuerteventura.



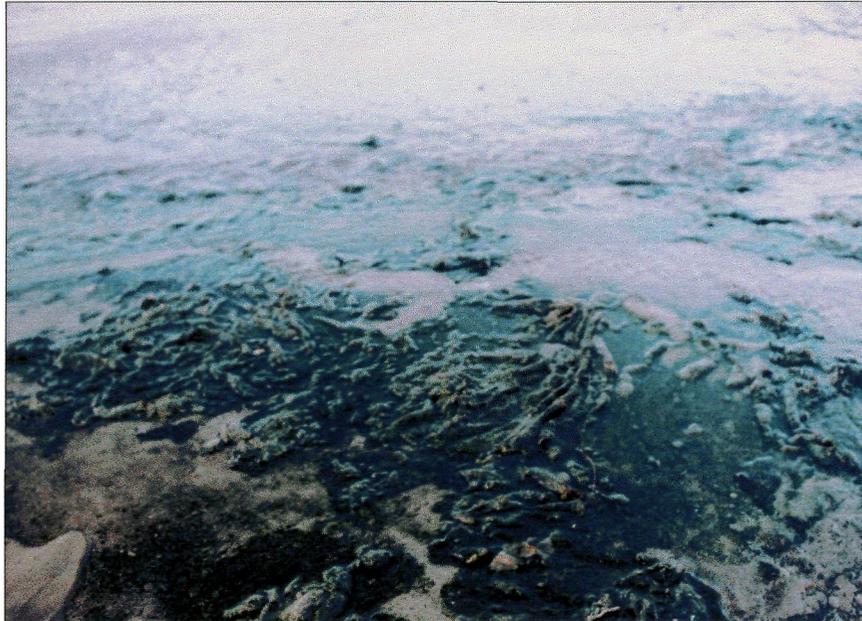
Efectivamente, en este sitio se produce una zona intermareal amplísima, de más de 100 metros de ancho, de manera que en la pleamar se inunda una anchísima banda de la línea de costa y en la bajamar se vacía de nuevo del agua marina, quedando de nuevo la arena emergida.

Sin embargo, el vertido continuo del efluente de la EDAR hace que una zona que debería quedar seca durante la bajamar permanezca inundada en buena parte,

con lo que las condiciones naturales del entorno quedan totalmente modificadas.

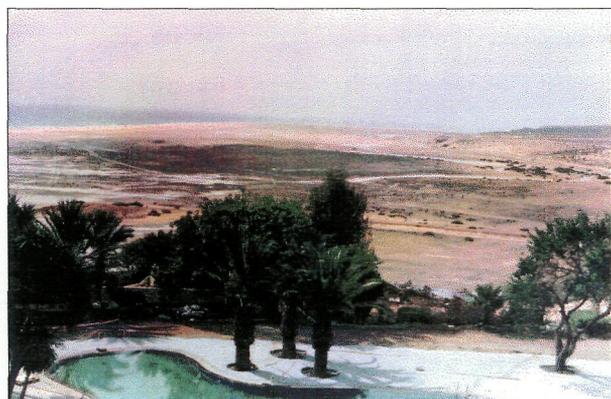


En la fotografía puede observarse que la zona de influencia del vertido, es decir todo lo que sus aguas abarcan, se encuentra inundada y ocupada masivamente por algas cianofíceas, como las que aparecen en las fotografías siguientes.

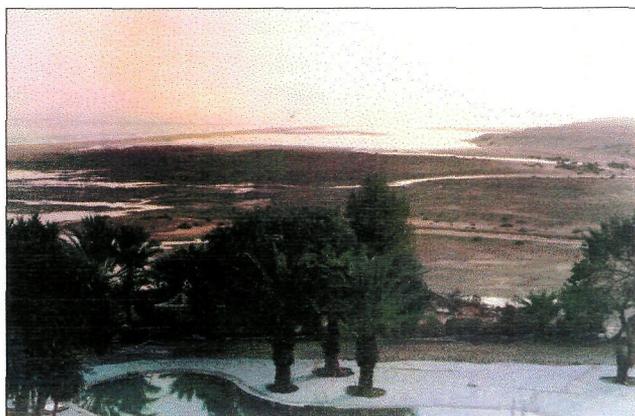


Imágenes de los dos tipos de algas cianofitas, que han invadido el sistema arenoso a favor de los dos factores de influencia: 1. la riqueza en nutrientes del vertido y 2. La inundación permanente por las aguas del vertido de la zona intermareal.

Las fotografías siguientes muestran la diferencia de aspecto del entorno considerado en bajamar y en pleamar:



Bajamar



Pleamar

Al fondo de ambas fotografías es donde mejor se aprecia como la bajamar deja al descubierto una amplia zona que ha estado inundada en pleamar, una barra de arena que no se aprecia en la fotografía correspondiente a la bajamar y no a la de pleamar. El agua del vertido inunda permanentemente una zona que, de no existir el mismo, estaría emergida y albergaría otra clase de vegetales.

Consecuencias de este proceso, en el que se combina una consecuencia biológica del vertido: aparición de una extensa comunidad de algas que empobrecen el área y una consecuencia ambiental: inundación de un ecosistema.

ALGUNOS EJEMPLOS TOMADOS DE LA BIBLIOGRAFÍA SOBRE EFECTOS DE LA EUTROFIZACIÓN DE ZONAS LITORALES EN RELACIÓN CON LA PRESENCIA DE *ULVA LACTUCA*.

1. (Anderson, R.J., Monteiro, P.M.S, Levi, G.J., 1996. The effect of localised eutrophication on competition between *Ulva lactuca* (Ulvaceae, Chlorophyta) and a commercial resource of *Gracilaria verrucosa* (Gracilariaceae,

Rhodophyta). *HYDROBIOLOGIA* vol.326-327, pp. 291-296)

Estos autores citan el efecto de una eutrofización localizada, debida al vertido de una factoría de pescado, muy rico en NH₄. Cantidades importantes de *Ulva* contaminaron la playa de Saldanha Bay (S.Africa) y parte de una explotación comercial del alga rodofita *Gracilaria verrucosa* hubo de ser descartada. La descarga del vertido rico en amonio procedente de la factoría de pescado creó condiciones favorables para el desarrollo de *Ulva*, demostrando el poderoso efecto disruptivo que tiene la eutrofización, en este caso desde un punto de vista económico: invasión de una playa e inutilización de la explotación de un alga de la que se extraen productos comerciales.

2. (MacKenzie, C.L., Jr., 1997. The natural history and habitat characteristics of softshells (*Mya arenaria*) in Northern New Jersey. *Journal of Shellfish Research* vol.16, no. 1, p. 310).

Otro ejemplo de efectos de eutrofización constituye el de una mortandad de la almeja *Mya arenaria* aecida en una bahía y en la desembocadura de ríos afluentes a la misma, citando el autor varias posibles causas de origen humano. Este molusco tiene un gran interés comercial y una de las causas ha sido la proliferación, debida a la eutrofización, de *Ulva lactuca*, bajo cuyos frondes se ahogan los moluscos dadas las condiciones anóxicas que origina la proliferación de esas algas. Otra causa de origen humano es atribuida al fuerte oleaje que arranca a las almejas del sedimento arenoso el cual, anteriormente, estaba cubierto por un tipo de algas macrofitas ("eelgrass"). La eutrofización había provocado la pérdida de esa cubierta que, anteriormente, amortiguaba el efecto del oleaje sobre las almejas. Las algas macrofitas fijaban el sustrato arenoso dentro del cual vivían los moluscos. La eutrofización produjo unas condiciones insoportables para la vida de dichas algas que desaparecieron, dejando el sustrato al descubierto y facilitando la acción erosiva del oleaje lo que impedía la fijación de las almejas al fondo.

3. (Smith, S.D.A., 1997. The effects of domestic sewage effluent on marine communities at Coffs Harbour, New South Wales, Australia. *MARINE POLLUTION BULLETIN*, vol. 33, no. 7-12, pp. 309-316.

Se realizaron estudios del impacto de un efluente de aguas residuales domésticas con tratamiento secundario durante ocho años. Durante este tiempo, los datos de distintos parámetros demostraron que los impactos se limitaron a unos 300 metros aproximadamente del lugar de vertido para la mayoría de las variables (por

ejemplo, riqueza de especies de algas, cambios en la estructura de comunidad de invertebrados que viven sobre campos de kelpo), pero el alga verde *Ulva lactuca* produjo una mayor cobertura en comparación con zonas no influidas por vertidos, alcanzando una distancia de 500 metros del punto de descarga. Como consecuencia de ello, los autores proponen cambiar la localización del vertido.

4. (MacKenzie, C.L., Jr. 1999. Effects of sea lettuce, *Ulva lactuca*, mats on abundances of softshell clams, *Mya arenaria*, and associated invertebrates in New Jersey. *National Shellfisheries Association*, vol. 18, no. 1, p. 304.)

La eutrofización de las aguas de estuarios a lo largo del planeta ha provocado una proliferación de *Ulva lactuca* y otras algas. En este trabajo se describe como las plantas de este alga crecieron sobre lechos arenosos donde se criaba la almeja *Mya arenaria*. El molusco inicialmente respondió extendiendo sus sifones varios centímetros por fuera de la cobertura algal, pero al cabo de pocas semanas emergieron los cuerpos enteros de los moluscos, acabando por morir. Las plantas de *Ulva* también redujeron dramáticamente la abundancia de otros invertebrados asociados tales como poliquetos, otros moluscos y crustáceos. Pocos invertebrados vivían sobre la superficie de las plantas de *Ulva*. En otros trabajos se ha demostrado que las plantas de la lechuga de mar proporcionan un habitat para algunas especies de pequeños peces. Los autores preconizan la necesidad de estudios de un mayor espectro de animales antes de proceder a la retirada de las algas para aumentar la abundancia de moluscos de valor comercial.

5. (Ho, Y.B. 1988. *Ulva lactuca* (Chlorophyta, Ulvales) in Hong Kong intertidal waters. Its nitrogen and phosphorus contents and its use as a bioindicator for eutrophication. *PROCEEDINGS ON MARINE BIOLOGY OF THE SOUTH CHINA SEA*. Xu, Gongzhao; Morton, B. Eds. 1988, pp. 277-286).

La utilización del alga verde cosmopolita *Ulva* como bioindicador también es citada por algunos autores. Este alga se encuentra con mucha frecuencia creciendo en lugares contaminados por aguas residuales domésticas, reflejando así su capacidad para crecer bajo tales condiciones. Con objeto de estudiar el efecto de las aguas eutróficas sobre el contenido en nutrientes del alga y su potencial utilización como especie indicadora, los autores recogieron muestras del alga y del agua de mar de la zona intermareal de 11 puntos del litoral de ambiente urbano y otros 10 de ambiente rural alrededor de la isla de Hong Kong, durante dos años. El análisis de las muestras de agua demostró que la media de las concentraciones de N (Nitrito más amonio) y P (fosfato) inorgánico disuelto era notablemente superior en los

ambientes urbanos. Lo mismo sucedía con los tejidos de *Ulva*. Las concentraciones en uno y otro sitio eran como sigue:

	<u>Agua de mar</u>		<u>Tejido de Ulva</u>	
	<u>Medio Rural</u>	<u>Medio Urbano</u>	<u>Medio Rural</u>	<u>Medio Urbano</u>
N	49,7 µg N/l	222,4 µg N/l	1%	71%
P	6,7 µg P/l	45,3 µg P/l	1%	93%

6. (Harlin, M.M., 1989. Restoration of a eutrophic community. *Journal of Phycology*, vol. 25, no. 2 suppl, p. 16).

Se estudia el proceso de regeneración de una comunidad eutrófica cuando cesa la causa de eutrofización. El trabajo describe como en una pequeña cala (Mumford Cove, USA) el alga *Ulva lactuca* se había constituido como un virtual monocultivo antes de que fuera desviado un vertido de aguas residuales. Al cabo de un año del desvío del vertido, el área total cubierta por el alga se había reducido desde el 74% hasta el 3%. El número de especies aumentó notablemente, de forma que del “monocultivo” de *Ulva* se pasó a una población vegetal compuesta por angiospermas (dos especies), y diversos grupos de otras algas superiores: seis especies de clorofitas, nueve de feofitas y 12 de rodofitas, dándose además un aumento del número de invertebrados.

7. (Bayssade Dufour C. et al., 1996. *Catatropis lagunae* n. sp., Trematoda, Notocotilydae, a parasite of marine birds. *Canadian Field Nat.*, vol. 110, no. 03, pp. 302-402.)

Los autores describen el ciclo de una nueva especie de parásito de aves marinas cuyo ciclo de vida incluye el molusco *Hydrobia ulvae* y el alga verde *Ulva lactuca* los cuales son consumidos por algunas aves marinas. Este es otro ejemplo de cómo el binomio Contaminación-Eutrofización influye negativamente en los procesos de vida natural:

Aguares residuales → Contaminación → Eutrofización → *Ulva* →
Parásitos → Aves marinas

8. (Fletcher, R.L. *et al.*, 1990. The "green tide" problem, with particular reference to the Venice Lagoon. *British Phycological Journal*, vol. 25, no. 1, pp. 87.)

El excesivo crecimiento de macroalgas es una consecuencia bien conocida del enriquecimiento en nutrientes de las aguas costeras, a causa de los crecientes niveles de descarga de aguas residuales urbanas y agrícolas. Estos crecimientos son característicamente dominados por algas verdes, en particular especies de *Enteromorpha* y *Ulva* y son llamados oportunamente "mareas verdes". Algunos problemas causados por este excesivo crecimiento algal incluyen el "fouling" de redes y dragas, cambios en la estructura de la comunidad de invertebrados en el sedimento y un excesivo depósito de algas flotantes en putrefacción en las playas de recreo, lo que requiere su limpieza y eliminación por parte de las autoridades locales. Este problema es de particular importancia en la Laguna de Venecia.

9. (Lavery, P.S. *et al.*, 1991. Changes in the biomass and species composition of macroalgae in a eutrophic estuary. *ESTUAR. COAST. SHELF. SCI.*, vol. 33, no. 1, pp. 1-22.)

Otra cita más de cómo las altas concentraciones de nutrientes favorecen la presencia de *Ulva* y *Enteromorpha* en aguas eutróficas. El trabajo indica períodos de alternancia en la composición de la comunidad algal según los niveles de concentración de nutrientes; cuando estos niveles descienden aparece una nueva comunidad dominante, el alga *Chaetomorpha*.

10. (Dion, P., 1991. The green tides-Les marées verts. *PENN. AR. BED.*, vol. 137, pp. 63-67).

En la Bretaña francesa las mareas verdes son el resultado del desarrollo excesivo de *Ulva*. Este fenómeno es observado durante el verano, se extiende a numerosos lugares del litoral y produce molestias en las actividades turísticas, navegación costera y cultivo de moluscos y otros frutos del mar. La presencia de esta contaminación es importante para las poblaciones del litoral, dadas sus repercusiones económicas y ecológicas.

11. (Phaneuf, D., 1999. Evaluation of the contamination of marine algae (seaweeds) from the St. Lawrence River and likely to be consumed by humans. *Environmental Research*, vol. 80 no. 2, pp. S175-S182.)

Se trata de un estudio en el que se valoran los riesgos para la salud humana del consumo de algas que crecen en el estuario de St. Lawrence (Canadá). Después de analizar numerosas especies de algas para distintos metales: As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Pb, etc., además de Yodo y pesticidas organoclorados. Una de las conclusiones es la de que el consumo regular de algas, especialmente *Laminaria* sp., puede producir niveles elevados de yodo en sangre suficientes para causar problemas de tiroides.

AUTODEPURACION DE LAS AGUAS MARINAS.

Dr. Leopoldo O'Shanahan Roca

Concepto de autodepuración.

Factores que determinan la autodepuración del agua de mar.

Factores bióticos.

Factores fisico-químicos.

Algo sobre emisarios submarinos.

CONCEPTO DE AUTODEPURACION.

La idea de autodepuración marina implica que un agua contaminada puede volver por sí misma a sus cualidades primitivas en virtud de mecanismos naturales, con la condición de que cesen las causas que han originado la alteración. La autodepuración constituye, pues, un mecanismo de retorno espontáneo al equilibrio, a la normalidad de un ecosistema, accidentalmente o temporalmente modificada física, química o biológicamente, o todas a la vez. Si la contaminación o alteración es permanente, no hay depuración posible, no hay retorno al equilibrio, por lo que se han subrayado los términos accidentalmente y temporalmente.

La superabundancia de *Ulva* y *Enteromorpha* en el litoral de la playa de San Cristóbal o en el caso estudiado en Playa de Hoya del Pozo-Playa del Hombre (ver Cap. Sobre EUTROFIZACIÓN) es una consecuencia de la contaminación procedente de los diversos efluentes de aguas residuales situados en su proximidad. Estos son casos de alteración permanente del ecosistema el cual tiene una "producción" aumentada debido al exceso de sales minerales y materia orgánica disueltas en las aguas marinas contaminadas, que bañan permanentemente la zona intermareal.

La autodepuración actúa a partir del momento que las aguas de mar dejan de



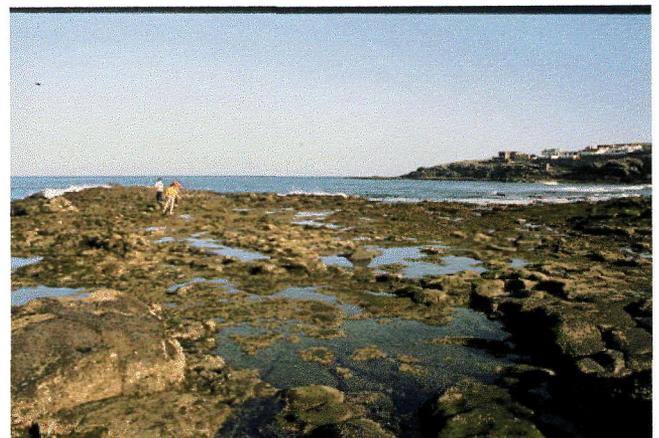
recibir estos aportes, en el supuesto de que la alteración sufrida por el ecosistema no sea irreversible.



Arriba, vistas de la playa de San Cristóbal (Las Palmas de Gran Canaria), con gran profusión del alga verde *Ulva lactuca* en la zona intermareal, debido a vertidos situados aguas arriba (la corriente suele provenir del N a causa de los alisios), en la Avda. Marítima. Mientras los vertidos no cesen, esta alteración se considera permanente.

Debajo, vista parcial de la playa del Hombre (Telde, Gran Canaria), antes y después de la eliminación de un vertido de aguas residuales domésticas. La comunidad natural se ha regenerado, ha desaparecido prácticamente la cobertura de *Ulva*, dando paso a otras numerosas especies algales y a una fauna acompañante más diversa. Se ha producido un proceso de autoregeneración del entorno por autodepuración del agua de mar y ausencia de enriquecimiento antrópico. El agua de mar, antes excesivamente rica en nutrientes, generaba un sistema eutrófico.

Al no haber vertidos, el agua de mar genera un sistema con un equilibrio entre la producción primaria y el resto de la cadena trófica, como debía ser antes de que se instalara el vertido al N de las playas.



En el conjunto de playa del Hombre y playa de Hoya del Pozo, el agua de mar ha sufrido un proceso de autoregeneración (autodepuración) desde el momento en que se interrumpió un vertido de aguas residuales (excedentes de una Estación Depuradora de Aguas Residuales (EDAR), lodos de la misma, e inclusive efluente del tratamiento secundario) que desaguaba en el intermareal. El exponente más claro de la autodepuración natural del agua que bañaba todo el sistema se manifiesta en la regeneración de la comunidad natural del intermareal rocoso, en el que desapareció prácticamente el alga verde *Ulva lactuca*, dando paso a nuevas comunidades algales con su correspondiente fauna acompañante. Uno de los factores que ha intervenido en este caso de vuelta a la comunidad clímax de este entorno es que el sustrato físico de asentamiento de las comunidades vegetales no cambió en el tiempo que se produjo el vertido de aguas residuales.

Cuando el sustrato físico es alterado, sobre todo por acciones humanas, las comunidades primitivas no pueden asentarse de nuevo, ya que las condiciones son diferentes. Este es el caso del litoral de Mogán (Gran Canaria), en donde los ecosistemas de rasa intermareal han sido sepultados por los propios acantilados que han sido derribados y vertidos para allanar el área y construir puertos o edificios.



Litoral de Mogán (Gran Canaria). Vertido de tierras y rocas que producen una destrucción irreversible del sustrato físico de asentamiento de comunidades naturales.

El sistema intermareal ha sido totalmente alterado, las pequeñas charcas intermareales sepultadas y las cuevas taponadas por grandes bloques basálticos. A ello se une el vertido de tierras, que producen la muerte por verdadera “asfixia” de la fauna y la flora (lo que se ha llamado “contaminación mecánica”). Aún cuando las tierras depositadas pudieran ser eliminadas por corrientes de fondo, la alteración física del ecosistema hace imposible la vuelta al estado anterior.

La autodepuración se produce como resultado de la acción combinada de múltiples factores, una serie de acciones en cadena que se desarrollan a ritmo lento y estrechamente sometido a las condiciones del conjunto del ecosistema marino. En ello participan el clima, la dinámica de las aguas, la temperatura, la salinidad, el pH, la estructura física, la luz, la composición química, radiaciones diversas. Dentro de los factores climáticos, el viento, al crear corrientes superficiales del agua de mar es un factor destacable dentro de los factores climáticos y de dinámica marina.

La acción de autodepuración se atribuye, pues, a una serie de factores que se pueden agrupar en dos clases: Factores Biológicos y Factores Físico-químicos, teniendo en cuenta que su acción no es independiente, es decir, que pueden combinarse y actuar sinérgicamente.

FACTORES FISICOS.

La adsorción, unida a la difusión, dispersión, sedimentación y a la propia dilución, son factores que actúan conjuntamente.

La adsorción es un proceso físico por el cual se produce la fijación de una partícula sobre otra sin intervención de procesos químicos.

Las bacterias y otros elementos particulados se fijan a otras partículas que, siendo minerales u orgánicas, constituyen verdaderos nichos ecológicos donde las bacterias pueden encontrar condiciones favorables a su supervivencia.

De esta manera, mediante la adsorción, las bacterias patógenas pueden sufrir la dispersión en el medio acuático o la sedimentación hacia el fondo marino. Por tanto, las bacterias no llegan a desaparecer, al menos durante un tiempo. La sedimentación trae como consecuencia una acumulación de las bacterias en el fondo marino. Los sedimentos, levantados del fondo por la turbulencia o las corrientes pondrán en resuspensión la flora bacteriana superviviente. Es decir, las bacterias “desaparecen” del agua pero se acumulan en el sedimento.

Este es un factor importante que puede determinar el aumento en momentos concretos, de la concentración bacteriana en el agua de mar de zonas litorales influidas por emisarios submarinos o vertidos directos en el litoral. Las aguas vertidas por los emisarios submarinos a determinadas profundidades, sufren un ascenso formando el “penacho” o “pluma” de forma que la mancha aflorada pronto comienza a ser dispersada por la corriente superficial marina. A partir de este momento las bacterias absorbidas en partículas suficientemente pesadas, comienzan un proceso de sedimentación, mientras que las otras seguirán el camino de la mancha superficial que origina el penacho al aflorar a superficie.

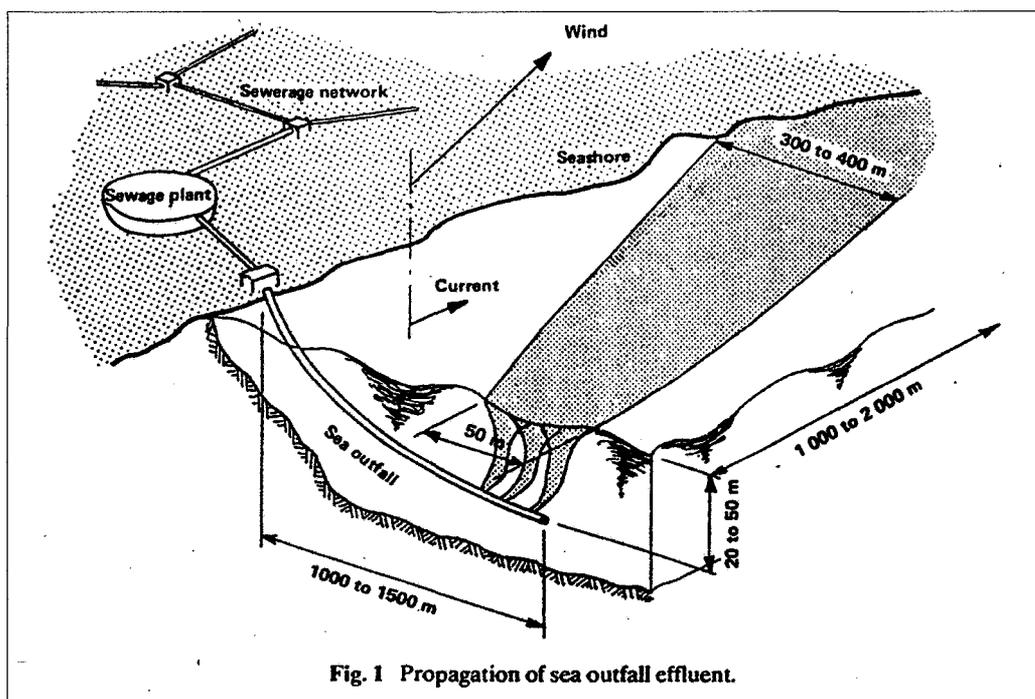


Fig. 1 Propagation of sea outfall effluent.

Esquema de Emisario Submarino. Su origen en tierra ha de estar en conexión con una Planta Depuradora de Aguas Residuales, la cual, a su vez, recibe las aguas de la red sanitaria. Las aguas son vertidas por el emisario a partir de varios puntos (difusores) y según salen de la tubería, enseguida suben a superficie debido a su menor densidad con respecto a la densidad del agua de mar: Penacho de ascenso. Durante la subida, el agua emitida genera una turbulencia arrastrando al agua de mar con la que se mezcla y sufre una primera dilución. En superficie, el penacho superficial sufre un proceso de emigración determinado por las corrientes. La dirección del viento va a determinar una dirección de corriente marina en superficie. En la migración superficial continúan los procesos de autodepuración: dilución-dispersión, adsorción de los microorganismos a partículas, sedimentación, dilución etc.

Resuspensión de los sedimentos. El mar de fondo, producido por temporales de viento lejano, los temporales de viento próximos a la costa (por ejemplo, los temporales de viento Sur o Este en las Islas) o la alta frecuencia de vientos próximos e intensos, como los alisios (de dirección N a NE), son algunos factores que pueden actuar creando turbulencias del agua de mar hasta alcanzar el fondo marino y que terminan por resuspender los sedimentos de la franja costera.

Ello hace que el agua de litoral muestreada experimente aumentos considerables en la concentración bacteriana. Hasta tal punto que algunos autores preconizan eliminar estos datos de una serie muestral ya que, según ellos, son causas excepcionales que determinan un dato excepcional en una serie o conjunto que luego nos va a servir para evaluar la calificación sanitaria de una playa de baños.



Vista desde tierra del penacho superficial del emisario submarino de Las Palmas de Gran Canaria, que vierte en el litoral sureste de la ciudad.



Penacho superficial del E.S. de Las Palmas de Gran Canaria.

También existe la opinión de que los datos bacteriológicos que se miden en la orilla después de los temporales no son tan excepcionales, sobre todo si los fenómenos que hemos descrito ocurren con relativa frecuencia en una misma serie muestral y, por tanto, no deben eliminarse de una serie o conjunto de datos que hemos tomado para la calificación sanitaria de una playa, ya que, si hasta ese momento los recuentos bacterianos han sido bajos, o, al menos, por debajo de los límites bacteriológicos legales, es que en los análisis previos no hemos encontrado sino las bacterias vertidas por el emisario, que han sobrevivido y no han sedimentado y que además han accedido, arrastradas por las corrientes hasta la zona de muestreo. Pero después de un mar de fondo, temporal o período constante de alisio u otro factor de los apuntados, vamos a encontrar además las que han sobrevivido y a la vez sedimentado y que, removidas del sedimento, ahora han sido arrastradas hasta la zona de baños por las corrientes superficiales, el oleaje o las mareas. Y son bacterias que “estaban ahí”, con todo su potencial patógeno, el cual se pone de manifiesto al poder crecer a las temperaturas de cultivo, que coinciden con la temperatura fisiológica humana.

En resumen, se debe decir que estas bacterias no han sido eliminadas del ecosistema, sino que se encuentran “puestas en reserva” en las partículas sobre las que se adsorben y en los sedimentos. Otro tanto puede decirse de la materia orgánica.

Con todo ello, se pone de manifiesto que los factores de dispersión, difusión,

adsorción y sedimentación, en el caso de las bacterias, actúan depurando el agua, pero no eliminándolas del ecosistema acuático, al menos durante el tiempo que las condiciones ambientales del sedimento les permita sobrevivir en él.

Por su parte, los contaminantes solubles experimentan un rápido proceso de dilución en la masa acuática marina. La dilución-dispersión contribuye a mantener un nivel aceptable de un determinado contaminante en un ecosistema. Actúa tanto sobre la materia orgánica como sobre las partículas (microorganismos incluidos). La dilución es un factor de depuración en tanto que un mismo número de bacterias, diluido cada vez más en una mayor cantidad de agua, llega a perder su capacidad infectiva.

En la dispersión-dilución intervienen solamente condiciones de densidad del agua de mar y la del vertido, temperatura, viscosidad del medio, salinidad, pH, concentración inicial del medio en contaminantes. No intervienen procesos químicos, ni acciones tóxicas. Pero por sí mismo este factor constituye un elemento importante de autodepuración del agua.

La acción sinérgica de estos factores físicos se interpreta de modo que los contaminantes tóxicos, las bacterias, virus, materia orgánica, materia mineral son, desde su llegada al ecosistema acuático, dispersados, diluidos y en gran parte adsorbidos, tanto más fácilmente como mayor sea la dilución. La adsorción puede alcanzar hasta el 90-95% de las bacterias y los virus. Los contaminantes se adsorben sobre las partículas en suspensión, particularmente sobre el plancton. A partir de aquí, el contaminante va a seguir el camino que siga su soporte.

Si se trata de un contaminante poco o nada “asimilable”, un xenobiótico, por ejemplo, va a ser transmitido y concentrado hacia el resto de la red trófica que se inicie a partir del plancton contaminado. Por ello, hoy día muchos trabajos van encaminados a la determinación de la concentración de metales pesados (Cd, Hg, Pb) en los tejidos de mejillones que se crían en zonas influidas por descargas de aguas contaminadas. Y se observa que las concentraciones disminuyen a medida que nos alejamos del foco contaminante. Otros trabajos se encaminan a la determinación de hidrocarburos en estos organismos u otros similares.

Algunos contaminantes del tipo hidrocarburo, se detectan en los epitelios digestivos de peces, y acaban destruyendo su capacidad funcional. Lo mismo que en las branquias, destruyendo la posibilidad de intercambio gaseoso.

La luz interviene en estos procesos físicos de autodepuración en el sentido de que condiciona los movimientos verticales y horizontales de las masas de plancton. La acción bactericida de la luz actúa solamente sobre los primeros centímetros de agua,

con la condición de que ésta sea transparente. Admitida una modesta acción, las radiaciones ultravioletas deben alcanzar hasta el nivel del ADN de las bacterias y virus. Se conocen acciones como la de provocar la formación de dímeros de la pirimidina. En cualquier caso, toda la acción de la luz se considera modesta dado que desde el momento que las bacterias se adsorben sobre partículas, encuentran en ellas la protección de tales radiaciones.

Variaciones del pH. Las variaciones del pH son débiles en el medio marino, debido a su tamponamiento natural, aunque no pueden ser descartadas acciones bruscas debidas a vertidos de origen industrial.

FACTORES BIOLÓGICOS.

Según la escuela de Aubert, del CERBOM (Niza), en el caso de la contaminación bacteriana inducida por aguas telúricas (Aguas residuales domésticas, de escorrentías pluviales, de origen agrícola, etc.) el proceso de la autodepuración determina el que las bacterias terminen por desaparecer de las aguas del mar.

Existe una actividad antibacteriana del agua de mar frente a las bacterias patógenas, que experimentalmente se ha demostrado que disminuye si el agua de mar es filtrada y desaparece cuando el agua de mar se esteriliza al autoclave. Lo cual induce a pensar en otros microorganismos que, como factores biológicos de depuración (o autodepuración), se retiran del agua de mar al ser filtrada y en sustancias que sobrepasando la filtración, no resisten la temperatura de esterilización (121 °C, normalmente) (Factores químicos).

Los fenómenos o factores biológicos que condicionan la autodepuración del agua de mar, se clasifican en tres tipos, según las zonas marinas que las aguas residuales van sobrepasando a medida que son vertidas al mar:

A) En la Zona de Extensión de las Aguas Residuales al llegar al mar, tanto si se trata del vertido directo en la propia orilla del mar como en los emisarios submarinos, destaca la acción de:

Microorganismos depredadores de bacterias: virus bacteriófagos y bacterias bacteriófagas (p.e. el género *Bdellovibrio bacteriovorus*, que lisan las bacterias provenientes de las aguas residuales)

Macrodepredadores, animales uni o pluricelulares que se alimentan de bacterias (desde protozoos a filtradores superiores).



En las fotografías anteriores, zona de extensión de aguas residuales en la superficie marina (penachos de aguas residuales). En la fotografía de arriba extensión de las aguas vertidas en la propia orilla del mar (Barranco de Guiniguada) y en la de abajo, penacho superficial del emisario submarino de Las Palmas de Gran Canaria.

Macrodepredadores, animales uni o pluricelulares que se alimentan de bacterias (desde protozoos a filtradores superiores).



En las fotografías anteriores, zona de extensión de aguas residuales en la superficie marina (penachos de aguas residuales). En la fotografía de arriba extensión de las aguas vertidas en la propia orilla del mar (Barranco de Guinguada) y en la de abajo, penacho superficial del emisario submarino de Las Palmas de Gran Canaria.

B) En la **Zona Pelágica**, donde se vierte una gran parte de las bacterias, movilizadas por las corrientes, podemos enumerar:

Acción biológica antibacteriana, debida al fitoplancton, ya que entre el 10 y el 25% de las especies (Diatomeas y Crisofíceas) que lo constituyen liberan al agua de mar sustancias antibacterianas.

Acción depredadora debida a los crustáceos filtradores del zooplancton.

C) En la Zona Bentónica, (zona que abarca el sedimento de los fondos marinos y el agua inmediatamente por encima) destacamos:

Antagonismo por competencia por parte de bacterias específicamente marinas.

Algas bentónicas que producen secreciones antibacterianas.

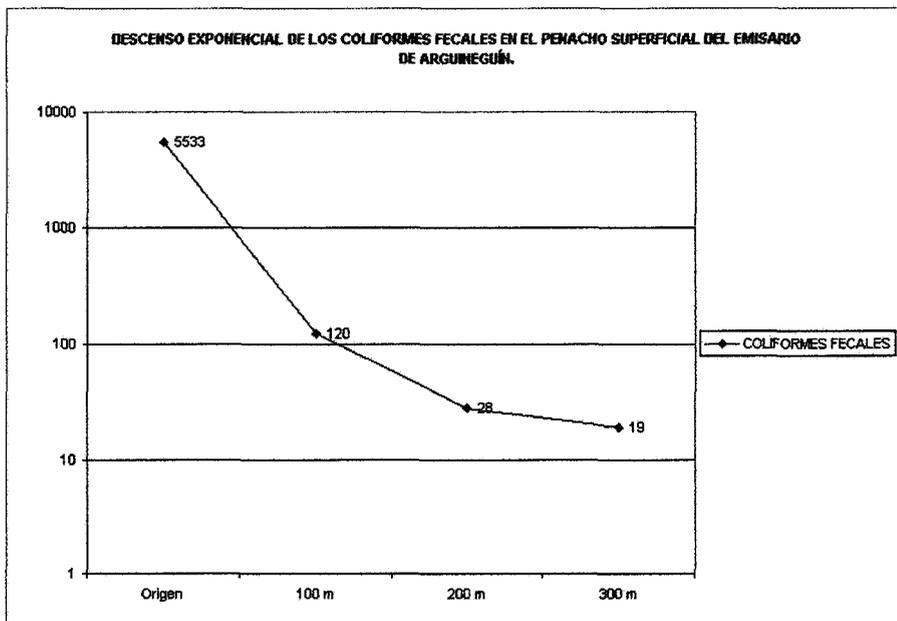
En el primer caso, debido a las propias bacterias marinas se produce un antagonismo por competencia y una destrucción por antibiosis. Las algas bentónicas, por su parte, segregan sustancias fuertemente antibacterianas como fenoles y taninos que actúan por mecanismos de tipo antiséptico.

Existe una controversia sobre el poder antibiótico del agua de mar preconizado por la escuela de Aubert. Otros autores, también en Francia, seguidores de la escuela de Brisou, han discutido ampliamente esta posibilidad, argumentando que los datos experimentales de aquellos se basan en estudios de laboratorio y que las concentraciones para las que los extractos de algas ejercen su poder antibiótico o bacteriostático nunca se dan en el mar. Incluso en condiciones experimentales, es decir enfrentando en cultivos bacterias antagonicas, no encontraron ninguna secreción de sustancias nocivas contra los gérmenes patógenos que se vierten al mar.

Algunos autores de la segunda escuela han afirmado que no se libera al agua de mar ninguna sustancia susceptible de impedir el crecimiento de los gérmenes patógenos. De hecho, han encontrado un mejor desarrollo de bacterias en medios de cultivo preparados con agua de mar.

CASOS PARTICULARES DE AUTODEPURACIÓN EN UN EMISARIO SUBMARINO Y EN UN VERTIDO DIRECTO EN EL LITORAL.

1. Estudio realizado en el emisario submarino de El Pajar (Arguineguín, Gran Canaria). En la Gráfica siguiente se puede observar un descenso de la concentración de Coliformes Fecales en el penacho de superficie. La curva refleja



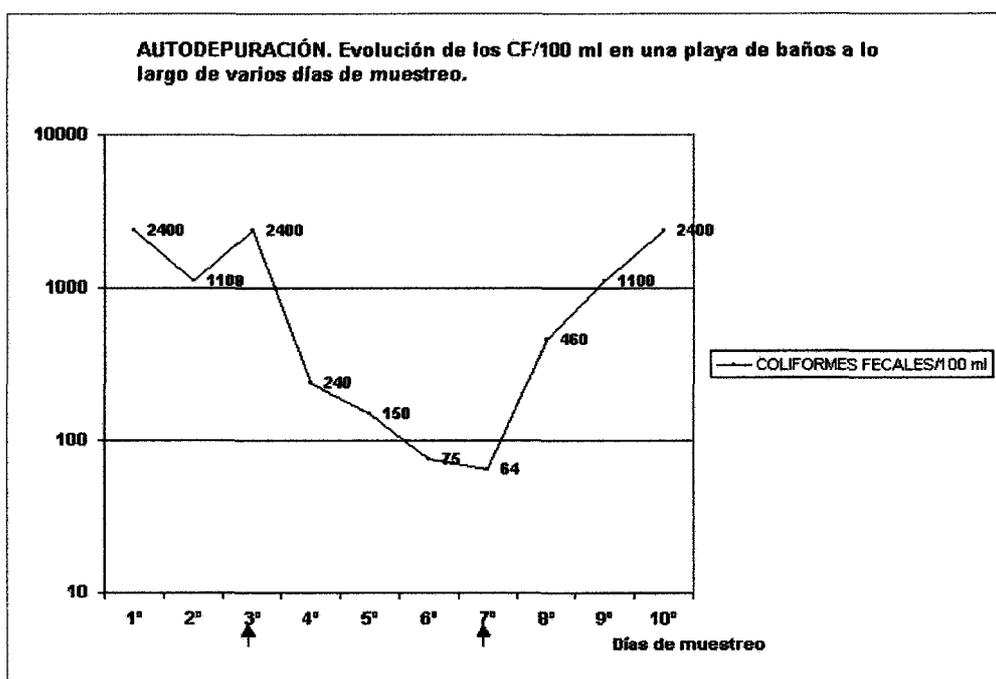
la

autodepuración en el penacho del emisario.

Los Coliformes Fecales se reducen de forma exponencial a distancias de 100, 200 y 300 metros del origen, punto en el que afloran las aguas vertidas por el emisario submarino. Ha sido importante determinar las distancias del origen en las que los niveles de CF se estabilizan por debajo del límite Guía de Coliformes Fecales. El estudio, que ha durado unos meses, permite predecir que con el régimen actual de vertidos no se producirá influencias de aguas residuales en la costa próxima, que se encuentra a más de 800 metros del lugar de vertido. Todavía a los 100 metros de distancia la curva sigue descendiendo, pero a los 200 y 300 metros ya se ha estabilizado. En estudios como éste, controlar el emisario siguiendo la trayectoria del penacho es más productivo y esclarecedor que estudiar el problema desde la misma costa, es decir, tomando muestras en la orilla del mar con hipotética influencia del emisario, ya que a veces existen en tierra vertidos

incontrolados, que son muchas veces los contaminantes y no los emisarios.

2. Autodepuración en una playa de baños. Se realizaron análisis de Coliformes Fecales en una playa de baño (La Garita, Telde), aprovechando un cambio en el régimen de vientos en el área. La playa recibía los aportes de un vertido de aguas residuales situado a unos 300-400 metros al N de la misma (ubicado en la Punta de La Mareta), de manera que el régimen de vientos habitual, de dirección NE (alisios) aportaba hacia la zona de baños la contaminación fecal, con niveles muy elevados de coliformes fecales, de un equivalente poblacional de 50.000 personas.



A partir del día 3º de observación, se produjo un cambio en el régimen de vientos, entrando un temporal de viento del S-SE que viró la dirección de la corriente superficial, alejando de la zona de baños las aguas del vertido. En 24 horas la contaminación había descendido a valores 10 veces más bajos que lo habitual, hasta que alcanzó cifras por debajo del Límite Guía de Coliformes Fecales 48 y 72 horas más tarde. A partir del 7º día cesó el temporal de viento del SE, se recuperó el viento alisio y días más tarde la playa había recobrado sus valores habituales de contaminación fecal. Actualmente, la playa está libre de contaminación, al llevarse las aguas residuales que antes desembocaban en ella a la EDAR de Hoya del Pozo.

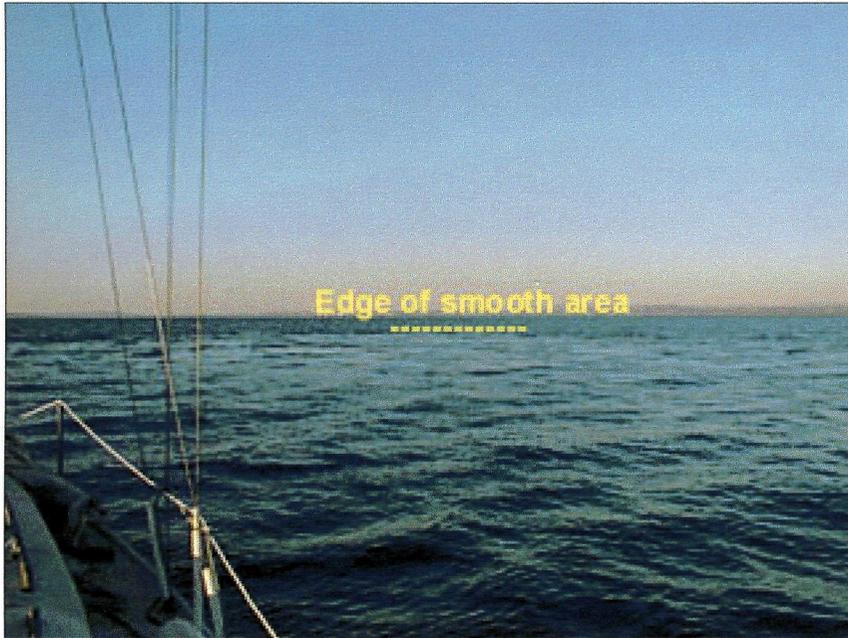


Al centro y a la izquierda de la fotografía se puede observar el penacho superficial del emisario submarino que desemboca a distancia de la costa de las playas Hoya del Pozo-Playa del Hombre. Este emisario está conectado a la EDAR de Hoya del Pozo y ha solucionado los problemas de contaminación en ambas playas de baño y el problema de eutrofización del intermareal rocoso que separa ambas playas.



Arriba y abajo, fotografías de otras vistas del penacho superficial del emisario submarino de Las Palmas de Gran Canaria.





Arriba, imagen de la zona de la interfase entre el agua de mar y el agua del penacho de un emisario submarino. Es probable que la distinta reflexión de la luz que producen ambas aguas se deba a la presencia en las aguas del emisario de materia orgánica de muy diversa índole. La diferencia de densidad entre una y otra hacen que la mezcla se produzca con dificultad. Abajo, instalación del inicio de un emisario submarino en tierra.





Buzos colocando las tuberías de un emisario en el fondo marino. Las dos tuberías paralelas se corresponden a un difusor y a la continuación del tubo principal. Los emisarios pueden tener diferentes bocas de salida del agua (difusores) de manera que cada difusor origina un penacho de ascenso distinto. Así se favorecen los procesos de dilución inicial por turbulencia al ascender el agua hacia la superficie, en donde se inician diferentes penachos superficiales que pueden acabar juntándose (ver fotografía del esquema general de un emisario, pg. 5)

CONTAMINACION POR AGUAS RESIDUALES.

Parámetros utilizados para medir la contaminación por aguas residuales en el medio marino.

Dr. Leopoldo O' Shanahan Roca

Parámetros microbiológicos:

Bacterias:

Coliformes Totales (CT): Definición, especies.

Coliformes Fecales (CF): Definición, especies.

Estreptococos Fecales (EF): Definición.

Salmonella.

NECESIDAD DE ESTABLECER PARÁMETROS INDICADORES DE CONTAMINACIÓN FECAL.

El conocer si un medio determinado está o no contaminado por aguas residuales ha sido uno de los objetivos más perseguidos en problemas de salud humana. Nos podemos referir a aguas de consumo humano, aguas de recreo marinas o continentales, productos alimenticios (leche y derivados), etc. La necesidad de establecer unos indicadores de contaminación fecal se fundamenta en conocer si ese medio contiene microbios patógenos perjudiciales para el ser humano.

Por otra parte, la detección de la contaminación tiene una dimensión ecológica y ambiental de interés más general que lo específicamente relacionado con la salud. Los problemas de contaminación no se limitan a que un medio natural o un alimento induzca directamente una enfermedad (una intoxicación por la ingestión de mejillones contaminados o el baño en playas contaminadas).

A última hora, cualquier problema de contaminación puede tener repercusión en la actividad humana o en el interés humano y, casi siempre, podrá repercutir en su salud. En los trabajos de Valiella, queda claramente

reflejado cómo una urbanización del territorio próximo a Buttermilk Bay, en los Estados Unidos, produjo un aumento de los aportes, a través de los acuíferos que accedían a la zona litoral, de nutrientes que terminaron por



Charco intermareal con abundante presencia de *Ulva*



“Hoja” de *Ulva lactuca*.

producir eutrofización en las aguas de la bahía. Esta eutrofización provocó la invasión de *Ulva* y el desplazamiento de la fanerógama *Zostera*, que genera un ecosistema más rico y equilibrado que la primera. Una de las consecuencias fue la pérdida de una pesquería de un molusco marino, un tipo de vieira. En el capítulo sobre contaminación y eutrofización se estudian ejemplos de las consecuencias del binomio Contaminación-Eutrofización.

Solamente pensando en una repercusión económica, si ello supone pérdidas de recursos económicos para poblaciones humanas, podemos relacionarlo con un problema de “salud humana”. Por su parte, la invasión de *Ulva* provocó el que se instalara un ecosistema más pobre, menos variado y con producción de zonas anóxicas en la zona del bentos en el que se implantó el alga. Entre otras consecuencias: imposibilidad de asentamiento de fauna acompañante y aparición de bacterias anaerobias, entre ellas las sulfatoredutoras productoras de sulfhídrico. Esto último lo podríamos tildar, si se quiere, como una repercusión más “ecológica” que “sanitaria”. El entrecomillado nos sirve para reflexionar que ambos conceptos están o pueden estar muy relacionados.

Ejemplos como este los podemos encontrar aquí. La pequeña laguna salobre de Maspalomas (San Bartolomé de Tirajana., Gran Canaria) se convierte de vez en cuando en un sistema eutrófico. La aparición de peces muertos (sargos, lebranchos, anguilas), junto con la gran densidad fitoplanctónica, una Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) altísima, correspondiéndose con una elevadísima tasa bacteriana (que hemos medido en forma de coliformes y heterótrofos totales) son datos que inducen a pensar en un aumento de la concentración de nutrientes (sales de N y de P),

debido, puede ser, a la evaporación y al posible aporte de aguas fecales procedentes del propio barranco de Maspalomas y de la urbanización aledaña.

La playa de Alcaravaneras (a falta de ulteriores estudios) es muy posible que se trata de un sistema “eutrofizado” por las aguas fecales de la Avda. Marítima, más las periódicas invasiones de hidrocarburos procedentes del puerto. Desde el punto de vista sanitario, es una de las playas cuyo uso se limita o desaconseja por las autoridades sanitarias.



Playa de Alcaravaneras (Las Palmas de Gran Canaria). La abundante presencia de espuma (año 1998) puede estar relacionada con el dragado de las aguas portuarias, que resuspendió sedimentos muy ricos en materia orgánica, sustancias tensioactivas que favorecen la producción de espumas en el mar.

En el caso de la contaminación bacteriológica marina, cuyo origen principal radica en las aguas residuales urbanas, los criterios de calidad microbiológica se orientan a conocer si las aguas de baño se encuentran en condiciones satisfactorias de uso, es decir, sin riesgo de que los bañistas puedan entrar en contacto con los patógenos y adquirir alguna infección a causa del baño. Además, y este es otro factor muy importante, el conocer si las zonas de cría de animales marinos, están libres de esta contaminación, ya que los animales infectados se convierten en transmisores para el hombre, de esos patógenos.

De muy antiguo está descrito que la presencia de los patógenos en aguas costeras está condicionada por las descargas de las aguas residuales. De forma que las aguas marinas adyacentes a los vertidos directos y los

emisarios submarinos siempre contienen variedad de patógenos que acceden al mar con las aguas fecales. Como sencillo ejemplo, Geldreich cita a varios autores que han encontrado: salmonelas en 10 playas de Nueva York (1971), vibrio cólera en aguas portuarias de Formosa (nosotros hemos encontrado salmonelas en las playas de Alcaravaneras y La Garita y *Vibrio* en el puerto deportivo de Las Palmas), enterovirus en descargas de aguas fecales a lo largo de la costa de Israel, cerca de playas de baño (1971), en playas de Barcelona (1987), incidencia de irritaciones cutáneas causadas por la penetración de larvas de esquistosomas que infectan aves y roedores (1961).

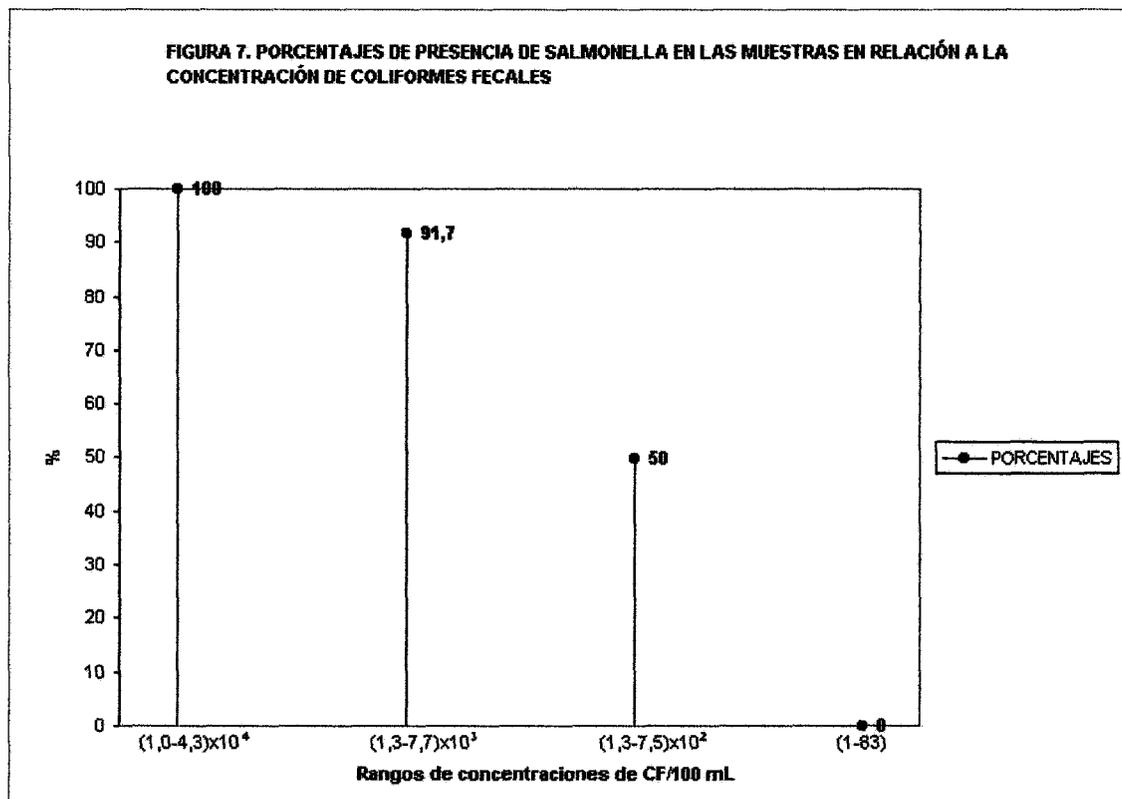
Estos y otros factores han conducido a la necesidad de establecer unos marcadores, indicadores, testigos, etc. que permitan detectar la contaminación fecal, es decir, la presencia de patógenos y, de algún modo, cuantificarla, es decir, establecer niveles de contaminación que luego puedan ser comparados con unos límites marcados por Normas establecidas a tal efecto.

Un indicador de patógenos (Berg) es, en definitiva, un indicador de posibles riesgos para la salud pública y puede sugerir la presencia de heces fecales, aguas residuales domésticas, virus y otros patógenos, o bien el suficiente número de patógenos para producir enfermedad. Cualquier organismo que se encuentra en condiciones naturales en las heces fecales puede ser un indicador de contaminación fecal. Pero hay organismos que son mejores indicadores que otros: son más fáciles de medir, se encuentran en mayor número y pueden sobrevivir más tiempo que otros. Todos los indicadores fecales se deben encontrar, por lo tanto, en las aguas residuales.

Los parámetros bacterianos no son los únicos que se utilizan. De hecho, las normas europeas contienen una serie de ellos que complementan al análisis bacteriano. Lógicamente los parámetros bacterianos parecen tener mayor relación con otras bacterias, las patógenas, cuya presencia se trata de conocer (salmonelas, vibrio, pseudomonas, etc.). Ello le confiere a la Normativa una perspectiva de conocimiento no sólo sanitario sino además “ambiental” de la calidad de las aguas. Otros parámetros medidos u observados en las aguas naturales son: Color, transparencia, virus entéricos, espumas, materias flotantes, aceites minerales, pH, fenoles, metales pesados, salmonelas y otros. No obstante, la literatura científica contiene numerosas referencias a trabajos en los que se utilizan casi exclusivamente los parámetros bacteriológicos, sobre todo cuando no se trata exclusivamente de las redes de vigilancia.

Un problema ha sido y continúa siendo, el establecer correlaciones entre la presencia de los indicadores bacterianos (las bacterias coliformes y estreptococos) y los verdaderos patógenos. Según Geldreich, aunque el

mayor riesgo para la salud está directamente relacionado con la presencia de los patógenos en las aguas, los métodos para su detección son complicados, necesitan mucho tiempo y necesitan mejoras en su selectividad y sensibilidad. Además, la no presencia de un patógeno no excluye la de otros. Por ello, se requiere una detección indirecta de los patógenos, basada en el uso de grupos bacterianos indicadores mediante los cuales se detecte y cuantifique la contaminación fecal.



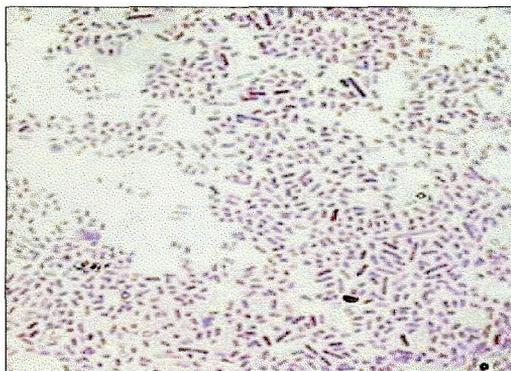
En la gráfica anterior se ilustra la correlación entre la presencia de *Salmonella* y la concentración de Coliformes Fecales, en muestras de agua de mar del penacho del emisario submarino de El Pajar (Arguineguín, Gran Canaria). Resulta evidente que a mayor concentración de CF mayor porcentaje de hallazgo de *Salmonella*, de forma que muestras con rango de 10^4 CF/100 ml arrojan un porcentaje del 100 % en cuanto a la presencia de este patógeno. Concentraciones de 10^3 y 10^2 CF/100 ml (valores muy corrientes en playas contaminadas) dan porcentajes altos (91,7 % y 50 %, respectivamente) de presencia de *Salmonella*, mientras que muestras con concentraciones entre 1 y 100 CF/100 ml no contienen *Salmonella*.

Los indicadores de contaminación fecal deben ser bacterias que estén siempre presentes en las aguas residuales y en número superior o al menos igual que el previsible para otras bacterias patógenas. Esto quiere decir que deben ser bacterias siempre presentes en el tracto intestinal de los animales

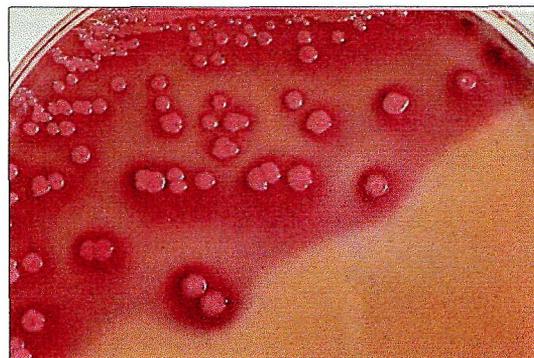
de sangre caliente, del que pasarán a las aguas usadas y de éstas a las aguas contaminadas. Los grupos de microorganismos intestinales más importantes que responden a estas características son las bacterias Coliformes Totales, los Coliformes Fecales y los Estreptococos Fecales.

Coliformes Fecales y Coliformes Totales.

Los Coliformes Fecales (CF) se definen como bacterias Gram negativas que fermentan la lactosa y producen indol a 44,5 °C, con producción de gas. No siempre es necesario poner de manifiesto las dos últimas propiedades. Normalmente, salvo necesidad de pruebas confirmativas no requeridas en análisis de rutina, basta con que evidencien la capacidad de ser fermentadores de lactosa a 44,5 °C. De las bacterias que cumplen estos requisitos bioquímicos, la especie *Escherichia coli* es la más numerosa, alcanzando el 97% de todos los coliformes fecales.



Tinción Gram negativa de *E. coli*



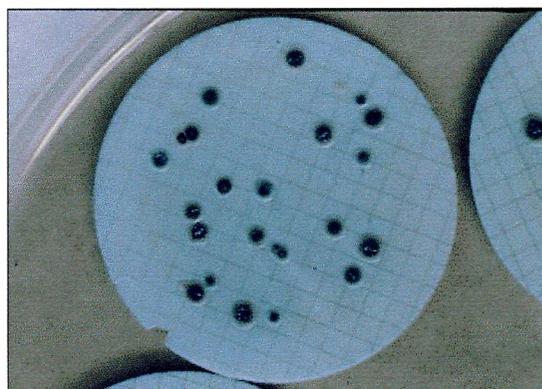
Fermentación de lactosa en agar de Mc Conkey.

También se utiliza como grupo indicador el de los Coliformes Totales (CT), que incluye a los coliformes fecales, y que está presente en gran cantidad en el tracto intestinal. La distinción técnica entre ambos grupos es la de que los CT se cultivan a 37 °C y el grupo de CF provienen exclusivamente del intestino de animales de sangre caliente: su presencia implica contaminación de origen fecal, mientras que los CT, sin embargo, también presentan una amplia distribución en el medio ambiente y no son específicos de materias fecales. Por ejemplo las bacterias coliformes *Enterobacter aerogenes* y *Enterobacter cloacae* se encuentran frecuentemente en varios tipos de vegetación y en suelos. Otro grupo de géneros está comprendido por parásitos de plantas. Además, se encuentran

también en las heces de animales y por tanto en las aguas contaminadas. Por ello el hallazgo de CT en aguas naturales no indicará necesariamente la contaminación de las mismas por aguas fecales. El grupo de las CT también incluye géneros bacterianos que también pueden resultar patógenos humanos, como *Klebsiella*.

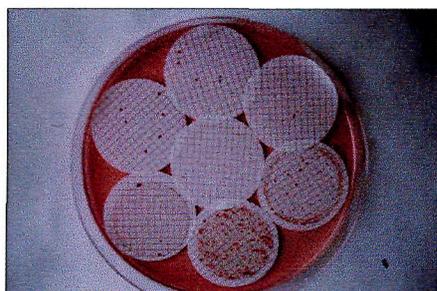
El hecho de que los CT no indiquen necesariamente la presencia de aguas fecales en el medio estudiado ha inducido a algunos autores (Cini *et al.*, en Francia, por ejemplo) a proponer la exclusión de los CT de entre los parámetros de Contaminación fecal, cuando se trata de estudios rutinarios con numerosas muestras. Estos autores demostraron, en trabajos de clasificación sanitaria de playas en cuanto a su calidad bacteriológica y puesto que las normas oficiales exigen el uso de los CT y los CF, que cerca del 100% de las playas tenían la clasificación de satisfactorias (o insatisfactorias) para el baño tanto si se evaluaba esta cualidad por CF como por CT. Con ello hacían ver que el test de los CT era prácticamente innecesario de realizar, con lo que se abaratan los costos de los análisis. No obstante se siguen realizando en estudios a largo y corto plazo de las playas de baño. De hecho, en los últimos años, Francia no realiza análisis de CT en los informes remitidos a la Comisión Europea.

Lo que sí está claro es que siempre que se detectan los CF se detectarán los CT y además en mayor concentración. En los estudios que realizamos en playas de esta isla, siempre hemos encontrado este hecho. Así, por ejemplo, las aguas de afloramiento de emisarios submarinos siempre contienen concentraciones de 10^6 CT/100 ml, 10^5 CF/100 ml y a medida que descenden los CF lo harán los CT y viceversa. Nunca se encuentra este orden invertido.



A la izquierda, crecimiento de colonias de CT sobre agar de Endo (incubación a 37 °C, 24 horas) y a la derecha, colonias de CF sobre agar m-FC (incubación a 44,5 °C, 24 horas). La fermentación de la lactosa origina colonias rojas, con o sin brillo metálico, sobre el agar de Endo y azules sobre el agar m-FC

Los Estreptococos Fecales (EF) están constituidos por un tercer grupo de bacterias intestinales Gram positivas, que se usan habitualmente en la detección de la contaminación fecal. La mayoría de los autores preconizan que en los estudios de vigilancia de calidad de playas y en otros fines (calidad del agua de abasto, por ejemplo), se deben estudiar conjuntamente los tres grupos. Los EF se pueden encontrar en la mayoría de las descargas fecales de animales de sangre caliente. Generalmente se admite para ellos una mayor capacidad de supervivencia en el medio marino que los CF, razón por la que no deben omitirse de análisis de rutina.



Colonias de EF sobre agar de Slanetz-Bartley



Tinción Gram + de E.Fecales

Es importante el análisis del llamado índice o coeficiente Coliformes Fecales/Estreptococos Fecales (CF/EF), que resulta de dividir la concentración hallada en una muestra de los CF por la de EF, con lo que resulta un número adimensional o coeficiente. Para algunos autores, el valor del índice CF/EF indica el origen de las aguas, es decir si son domésticas (urbanas) o de granjas de diferentes animales. Así, para aguas urbanas, Geldreich lo sitúa en aproximadamente $CF/EF = 4$, y para aguas de diferentes tipos de granjas lo sitúa entre 0,1 y 0,6. Los valores superiores a 4,1 se consideran indicativos de aguas domésticas compuestas de excretas humanas. Y valores entre 0,7 y 4,4 de aguas mezcladas de origen animal y humano.

Sin embargo, cuando se trata de un estudio de una zona afectada por vertidos de origen urbano, el análisis de los valores que va tomando este índice a medida que nos alejamos de la fuente de polución, nos da idea de la evolución o incluso del camino que en un período de muestreo suficientemente largo la mancha fecal ha seguido más frecuentemente. Otros autores europeos y la experiencia de trabajos realizados por nosotros en Gran Canaria, han llevado a la conclusión que a medida que nos alejamos del origen de la polución este índice va disminuyendo hasta alcanzar valores de 1 o inferiores.

En la zona de playa del Inglés, donde se sitúan emisarios submarinos a 1.200 metros de la costa, frente a la playa de Las Burras, el valor del índice CF/EF alcanza valores de 15 y 16, en la superficie de los penachos de las aguas residuales. A unos 300-400 metros, los valores se encuentran alrededor de $CF/EF = 3$. Al nivel de las playas del Inglés y Punta de Maspalomas, estos valores han descendido a valores de 1.2-1.4, mientras que en las zonas del Lago de Maspalomas hasta la playa de Meloneras los valores del índice CF/EF son entre 0.2 y 0.6. La única forma de que este índice descienda es de que aumente la concentración de los EF (cosa que no ocurre, sino al contrario), o que disminuya la concentración de los CF más rápidamente que la de los EF, lo que es lo mismo que decir que los EF resisten más tiempo a las condiciones ambientales del medio marino.

En áreas donde la calidad natural del agua ha sido degradada por debajo de los standards establecidos, las investigaciones de campo intentan identificar los orígenes de la contaminación, a través de estudios sanitarios y análisis de laboratorio apropiados. Dado que un asunto importante acerca de la polución del agua está en relación con la presencia de patógenos intestinales que pueden crear riesgos para la salud humana, los análisis bacteriológicos deben ser dirigidos hacia el establecimiento de la magnitud de la contaminación, incluyendo además la localización de los puntos de descarga de las aguas.

Las salmonelas constituyen uno de los grupos más representativos de los patógenos humanos, su repercusión sanitaria se extiende a todas las regiones y países del mundo. Se encuentran en el intestino de animales de sangre caliente, bien infectados o portadores “sanos” o asintomáticos. Mamíferos, aves y reptiles pueden por tanto ser vehículo de salmonelas a los medios naturales a través de las descargas de aguas fecales. Las toxiinfecciones alimentarias por salmonelas siguen siendo actualmente un problema sanitario de primera magnitud. La confección de alimentos a base de huevos crudos (mayonesas, ensaladas) es una de las formas más conocidas en nuestra sociedad. Al encontrarse en el intestino de las gallinas, pasan no sólo a la cáscara de los huevos sino incluso al interior de la misma.

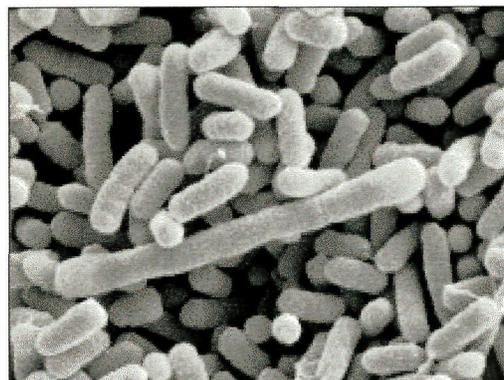
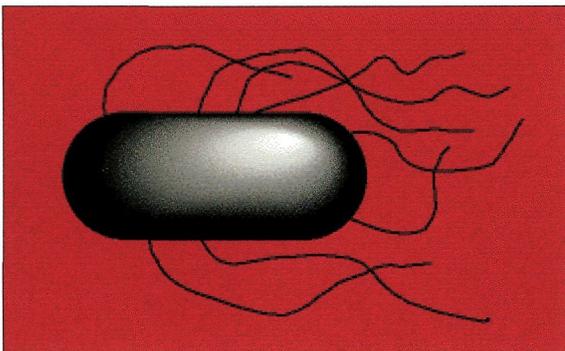
Esto se ha convertido en un problema económico: las granjas no pueden sacar este producto y los establecimientos de comidas no puede usarlo, dado el riesgo sanitario que implica.

Como resultado del desarrollo en las dos últimas décadas de las técnicas microbiológicas y serológicas cualitativas de detección de las

salmonelas, pueden ser aisladas regularmente y casi rutinariamente de las aguas polucionadas (Geldreich, (JOURNAL A.W.W.A, Feb. 1970).

Muchos estudios de contaminación de aguas naturales incluyen la detección de salmonelas como complemento a los parámetros bacteriológicos considerados como “clásicos”, los coliformes y los estreptococos, dado que la presencia de este patógeno implica un riesgo directo para la salud humana. Existe una correlación directa entre la concentración de los parámetros clásicos y la probabilidad de hallazgo de salmonelas en muestras de aguas contaminadas. A partir de algunos cientos de CF/100 ml, comienza a ser significativa la presencia de salmonelas. A concentraciones de 1.000 CF/100 ml la probabilidad de hallazgo de salomonela ya alcanza el 33% en aguas de mar contaminadas, según experiencias realizadas en Gran Canaria, en zonas como el Muelle Deportivo de Las Palmas o en la Playa de La Garita (Telde).

La presencia de salmonelas en las aguas polucionadas es altamente variable, estando relacionada a la incidencia de salmonelosis en una población determinada. El porcentaje de población excretando salmonelas a través de las heces fecales, necesario para que estas se encuentren regularmente en las aguas fecales varía, pero se ha establecido que oscila entre el 1 al 3,9%.



A la izquierda, imagen romántica e ideal de una célula de *Salmonella* con sus flagelos para desplazarse y causa de reacciones antigénicas que se utilizan para su serotipado. A la derecha, imagen más real, al ME, demostrando su forma de bacilo.

METODOS DE ESTUDIO DE LA CONTAMINACION FECAL EN EL MAR.

Dr. Leopoldo O' Shanahan Roca

Aplicados esencialmente a zonas de baño y recreativas, mediante la utilización de parámetros bacteriológicos.

- Muestras: Número de muestras, frecuencia de muestreo, época de muestreo.
- Método de análisis por recuento bacteriológico.
 - Valoración cuantitativa de CT, CF y EF por el Número Mas Probable (NMP) y las Membranas Filtrantes (MF): Medios de cultivo, aparatos de filtración, membranas, etc.
 - Valoración cualitativa de patógenos: *Salmonella*, medios de enriquecimiento, medios selectivos, serotipado, etc.

INTRODUCCIÓN.

La metodología más frecuente de detección y evaluación de la contaminación bacteriana marina se basa en la determinación cuantitativa de los parámetros indicadores bacterianos más corrientes que, como es bien sabido, los más sensibles y fiables son las bacterias coliformes totales (CT), coliformes fecales (CF) y los estreptococos fecales (EF). Estos microorganismos son los indicadores más usados, debido a su presencia constante en las heces fecales, en las aguas residuales y, por tanto, en las zonas marinas contaminadas por aquellas. Las aguas residuales contienen una carga bacteriana media muy importante, del orden de 10^8 bacterias/100 ml. Entre ellas destacan los coliformes, siendo *Escherichia coli* la más representativa. De esta última se estima una concentración media entre 2 y 5×10^7 *E. coli*/100 ml. Por su parte, los estreptococos fecales (*Streptococcus faecalis* Grupo D) se encuentran en concentraciones entre 1 y 5×10^6 bacterias /100 ml.

Otras bacterias pueden utilizarse como indicadores, pero su determinación suele ser más laboriosa. Por otra parte los métodos para la detección y recuento de los coliformes y estreptococos han sido largamente utilizados y su metodología está por tanto, muy experimentada.

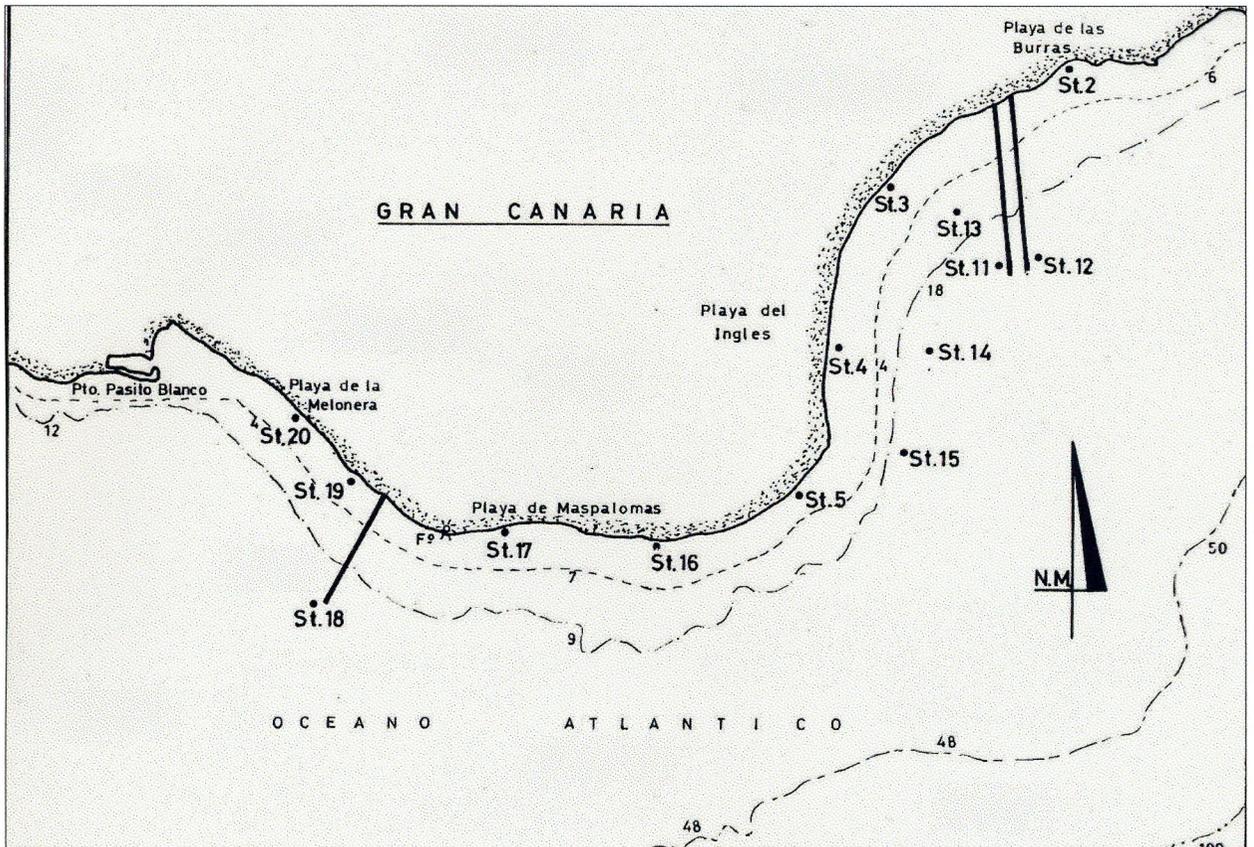
La detección y cuantificación de otros parámetros bacterianos, las bacterias

patógenas del género *Salmonella* y otros patógenos intestinales, los enterovirus, también se encuentran recomendados por las Normas Europeas de Calidad de las Aguas de Baño (Directiva de las Comunidades Europeas de 8 de Diciembre de 1975, J.O. des Communautés Européennes, 5 Février 1976) y su transcripción a la legislación española, el Real Decreto 734/88. Pero los métodos analíticos son más complejos y costosos, por lo que sólo se enfatiza su utilización en casos de riesgos epidemiológicos importantes y por laboratorios especializados, no de rutina.

Los métodos de análisis de CT, CF y EF que se vienen utilizando rutinariamente, el del Número Más Probable (NMP) y el de las Membranas Filtrantes (MF) pueden usarse indistintamente. La disponibilidad de materiales, presupuesto y medios humanos de cada laboratorio de análisis le harán optar por uno u otro. El rendimiento final, es decir, los resultados obtenidos por ambos procedimientos se consideran equivalentes.

Procedimiento de muestreo: Número de muestras, frecuencia de muestreo, periodo de muestreo, toma de muestras.

A la hora de decidir los procedimientos de muestreo, es necesario conocer la situación de los vertidos, emisarios, efluentes que puedan influir en el área de muestreo. La situación relativa del punto a estudiar, una playa de baños por ejemplo, con respecto a las posibles fuentes de contaminación es un factor importante a tener en cuenta, ya que se trata de prever de entrada, “de dónde” puede provenir la contaminación que queremos detectar y evaluar y qué factores pueden acercar o alejar la contaminación. Ello nos puede hacer decidir una época del año idónea y un número de muestras y frecuencia de muestreo.



Zona de muestreo del sur de Gran Canaria en la que se realizan muestreos anuales desde hace más de 10 años con objeto de vigilar la calidad de las aguas de baño. En la zona descargan emisarios submarinos (líneas alargadas) y la figura corresponde a un estudio de dispersión del vertido. En la actualidad se muestrean sólo los puntos St.2, St. 4, St.16, St.19 y St. 20 además de la Playa de San Agustín (St.1) que no está indicada en la figura. Obsérvese la situación relativa de los puntos de toma de muestras con respecto a la situación de los vertidos de aguas residuales, en este caso a ambos lados (N-S; E-W).

Los puntos del litoral que deben ser estudiados y vigilados continuamente se van a determinar por el interés intrínseco de ellos mismos: las playas de baño, por ejemplo, en un lugar de clima tan benigno como el de Canarias, con una utilización de prácticamente todo el año, con la dimensión social y económica de playas como Las Canteras o las del sur, han de muestrearse, lógicamente, todo el año.



En las imágenes de la página anterior, típicas playas de baño de Gran Canaria, Las Canteras y Maspalomas. La primera, atiborrada de bañistas, no posee vertidos en sus proximidades, por lo que los niveles de contaminación son nulos a lo largo de todo el año. La segunda (fotografía tempranera, los bañistas aún no han llegado), no se contamina significativamente a pesar de la proximidad de emisarios submarinos. La benignidad del clima permite el baño todo el año.

En todo caso, se trata siempre de obtener un número suficiente de muestras que permita evaluar, de forma global, la calidad microbiológica de las aguas del punto estudiado. Es decir, establecer un diagnóstico unificado de todo un período de muestreo y no una calificación puntual, que puede no reflejar el estado real de ese punto a lo largo del tiempo. Una estación de muestreo, habitualmente lejos de vertidos y, por tanto, sin influencia directa de sus efectos puede presentar en un día de toma de muestras recuentos bacterianos elevados debido a la rotura de una tubería de aguas fecales en sus proximidades. El caso contrario sería el de un lugar habitualmente contaminado, debido a que las corrientes superficiales le aportan día a día la contaminación proveniente de un vertido que le influye y que en uno de los días de muestreo ha cambiado la dirección de la corriente, por lo que las concentraciones bacterianas han descendido notablemente. En ninguno de los casos el análisis puntual sirve para diagnosticar la calidad real del punto estudiado.

El diseño del estudio a realizar, la modalidad de muestreo elegida dependerá de la importancia que se le quiera dar al problema de contaminación de una zona determinada, de la intensidad de su uso y de la preocupación “sanitaria” o “ecológica” del investigador. El interés de medir la contaminación (o su ausencia) de las áreas de baño puede ser por conocer la influencia de emisarios o vertidos (con lo que los puntos de muestreo no deben limitarse a las playas, sino además a las áreas de afloramiento de los emisarios y puntos intermedios) o a la realización de análisis de rutina para la Red de Vigilancia Sanitaria.

Los períodos o épocas de muestreo en los diferentes países de la Comunidad Europea varían. Así, en los informes de la Comisión de las Comunidades Europeas: “La calidad de las aguas de baño”, que se publican año tras año podemos observar que en Europa se considera, en general, como “estación de baños” el período comprendido entre el 15 de Mayo al 31 de Agosto. Lógicamente, en territorios como Canarias, y por las razones climáticas bien conocidas, el período de baños desborda estas fechas por ambos lados, pues las playas del sur de las islas, sobre todo, se utilizan a lo largo de todo el año, más aún en los núcleos turísticos. Por tanto, un período de muestreo en Canarias debe comprender el año completo.

Dentro de España, este período es también variable, encontrando períodos de sólo dos meses: 1 de Julio al 30 de Agosto, en Asturias, de 11 meses: 1 de Enero a 30 de Noviembre, en Andalucía. Igualmente en otros países, como Alemania, encontramos

variaciones que van desde Junio a Agosto (Bayern) y desde Abril a Octubre (Hessen).



Toma de muestras desde una embarcación en una playa de baños, mediante botellas de vidrio Pyrex. Las muestras también pueden ser tomadas desde tierra por el mismo procedimiento, por lo que es necesario mojarse hasta la rodilla, al menos.

existencia de cloro en el agua, lo cual no es corriente en el agua de mar.

En términos generales, cuando no se trata de “estudios de urgencia”, un período de muestreo de un año de duración es una buena referencia a seguir. La frecuencia de muestreo, según las normas europeas no debe ser inferior a los quince días entre cada dos muestras. De esto se deduce que el número de muestras sería el de 24 y la época de muestreo, todo el año. La distancia entre dos puntos de toma de muestra no debe ser inferior a los 1.000 metros.

Este período de tiempo de 1 año se puede estimar como suficiente para que en él se den todas o casi todas las circunstancias cambiantes que rodean al hecho de la contaminación y a los demás factores que influyen en ella:

- variaciones del caudal del vertido,
- variaciones en el contenido de las aguas residuales,
- cambios en la dirección de los vientos y de las corrientes superficiales que ellos determinan,
- mareas,
- fallos en las técnicas de análisis (que lógicamente deben ser mínimos y por tanto “absorbidos” por los análisis correctos.
- diferentes estaciones del año, que implican variaciones en las temperaturas del agua, nubosidad, etc.

Además de ello, se cuenta con un número suficiente de datos a los que aplicar los métodos estadísticos de evaluación de la contaminación.

MÉTODOS DE ANÁLISIS POR RECUENTO BACTERIOLÓGICO.

Valoración cuantitativa de CT, CF y EF por el Método del Número Más Probable (NMP) y las Membranas Filtrantes (MF): Medios de cultivo, aparatos de filtración, membranas, etc.

Método del Número Más Probable (NMP).

Esta denominación es la forma coloquial o resumida de denominar lo que los tratados (Métodos Estándar de APHA, por ejemplo) llaman: “Técnica de fermentación en tubos múltiples” a lo que otros tratados añaden “y valoración según el número más probable” (NMP). También es llamado Método Analítico de

diluciones sucesivas y valoración...”, según Mujeriego y cols.

Se basa en la capacidad de las bacterias coliformes de fermentar la lactosa produciendo un descenso del pH del medio y la producción de gas, a 37 °C. Estas serían las bacterias Coliformes Totales (CT), a las que nos referiremos a lo largo de esta explicación sobre la técnica del NMP.

El procedimiento, inicialmente, consiste en inocular tubos de ensayo conteniendo Caldo Lactosado, es decir un substrato compuesto de lactosa, proteínas hidrolizadas (peptona, triptosa), además de fosfatos de potasio, cloruro sódico y un colorante sensible a los cambios de pH. Los tubos van provistos de campanas Durham para retener el gas desprendido y sea así más fácilmente observable.

El término “diluciones sucesivas” alude a que hemos de sembrar series de tubos con volúmenes sucesivamente 10 veces menores del agua de muestra. El mínimo admisible es de 3 series de 3 tubos, de la siguiente forma:

- 1 serie de 3 tubos con caldo lactosado sembrada con 10 ml del agua problema
- 1 serie de 3 tubos con caldo lactosado sembrada con 1 ml de muestra
- 1 serie de 3 tubos con caldo lactosado sembrada con 0.1 ml de agua problema.

La siembra de volúmenes de 10 y 1 ml no ofrece dificultades y da pocas posibilidades de error. Mientras que la de 0.1 ml recogidos en una pipeta puede provocarlos, por lo que se debe optar a diluir la muestra original y tomar, para la última serie volúmenes mayores.

Si el agua problema está muy contaminada, entonces las series varían, debiéndose sembrar series con volúmenes de muestra de 1ml, 0.1 ml y 0.01 para lo cual la dilución de la muestra original es imprescindible.

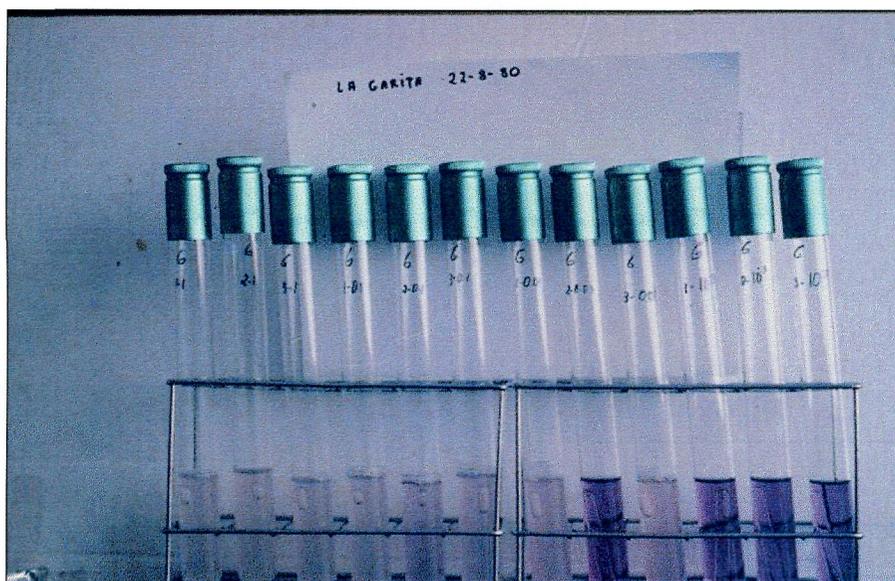
En mi opinión, salvo que se conozca muy bien “a priori” el nivel de contaminación del agua a examinar, se deben realizar por sistema 4 series de tubos, de la manera siguiente:

- 1 serie de 3 tubos con caldo lactosado sembrada con 10 ml del agua problema
- 1 serie de 3 tubos con caldo lactosado sembrada con 1 ml de muestra
- 1 serie de 3 tubos con caldo lactosado sembrada con 0.1 ml de agua problema.
- 1 serie de 3 tubos con caldo lactosado sembrada con 0.01 ml de agua problema.

De esta forma, se garantiza que al menos en la última serie quedará alguno de los tubos sin crecimiento (a menos que se trate de aguas residuales puras), por la razón que a continuación se expone.

El fundamento del método consiste en que al sembrar volúmenes sucesivamente decrecientes (en orden de 10) del agua problema, se inoculan las bacterias que queremos cuantificar. Estas bacterias, a favor de los componentes del medio, formarán un cultivo que observamos: por el crecimiento, retención del gas en la campana y viraje del color de púrpura a amarillo por acidificación del pH. En cada tubo donde esto ocurra, anotaremos un resultado positivo, mientras que en los otros anotaremos un resultado negativo.

Al ir sembrando diluciones sucesivas iremos inoculando cada vez menos cantidad de bacterias, con lo que en algún tubo (o en algunos tubos) el número de ellas será insuficiente para que se produzca un cultivo.



Cuatro series de tubos para la cuantificación de coliformes totales mediante el NMP.

En la Figura superior puede verse el viraje de los tubos donde han crecido bacterias coliformes. Al fermentar la lactosa, el pH se acidifica produciéndose el viraje a amarillo (tubos positivos) y se produce gas que se acumula en la campana invertida (burbuja) y forma espuma en la parte alta. En los tubos donde no se ha producido crecimiento no ha habido viraje y permanece el color púrpura original del colorante: no ha habido acidificación del pH. En este caso se han sembrado cuatro

series de tubos con caldo lactosado. Como la muestra se preveía que era muy rica en bacterias coliformes (muy contaminada) se sembraron diluciones de la misma:

1ª Serie: 3 tubos con 1 ml de muestra; 2ª Serie: 3 tubos con 0,1 ml; 3ª Serie: 3 tubos con 0,01 y 4ª Serie: 0,001 ml.

Los resultados obtenidos han sido los siguientes:

SERIE 1 (1 ML):	TUBO 1	TUBO 2	TUBO 3
	+	+	+
SERIE 2 (0,1 ML):	TUBO 1	TUBO 2	TUBO 3
	+	+	+
SERIE 3 (0,01 ML):	TUBO 1	TUBO 2	TUBO 3
	+	-	+
SERIE 4 (0,001 ML):	TUBO1	TUBO 2	TUBO 3
	-	-	-

Ello se traduce en lo siguiente:

SERIE 1: 1+1+1= 3; SERIE 2:1+1+1= 3; SERIE 3:1+0+1= 2; SERIE 4: 0+0+0 =0

es decir, a cada tubo positivo le asignamos el valor 1 y a cada negativo el valor 0. Con ello obtenemos una combinación: 3:3:2:0 y elegimos la combinación 3:3:2. Con esta combinación se acude a las Tablas de McGrady del Número Más Probable y obtendremos el número más probable de bacterias que había en la muestra original, que en este caso sería de: 1100. Como hemos sembrado a partir de 1 ml, se multiplica por 10, resultando:

11000 bacterias coliformes totales /100 ml de agua analizada, más resumidamente:

11000 CT/100 ml.

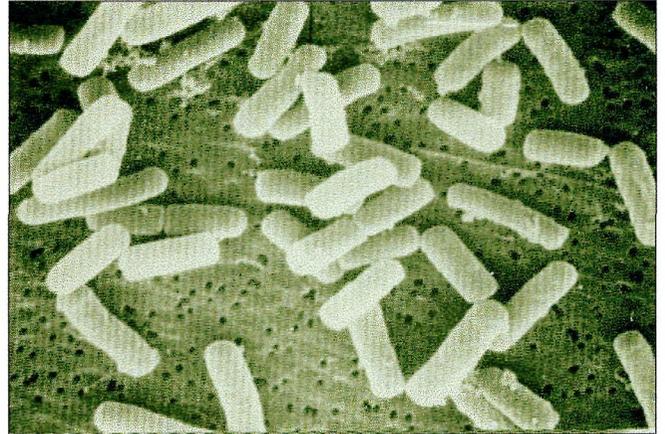
Método de las Membranas Filtrantes.

Generalidades.

El fundamento del método es hacer crecer las bacterias a analizar y cuantificar sobre membranas de derivados de celulosa (nitrato de celulosa, acetato de celulosa) en las que han quedado depositadas al filtrar el agua problema a través de ellas.

Estas membranas tienen unos poros por los que atraviesa el líquido problema (agua potable, leche, agua de mar, etc.), quedando retenidas las bacterias y todo lo que sea de diámetro superior a $0.45 \mu\text{m}$ que es el diámetro habitual de los poros de la membrana. También se comercializan con diámetro de $0.2 \mu\text{m}$.

Imagen al ME de bacterias retenidas sobre una membrana de filtración. Bacilos de gran tamaño que no pueden atravesar los poros de la membrana.



Al igual que en la Técnica del N.M.P., los aspectos biológicos de este método se basan también, en el caso de los Coliformes, en la capacidad de las bacterias de este grupo de fermentar la lactosa, produciendo el descenso del pH en el entorno de la colonia formada y produciendo la acumulación de un colorante que la tiñe de un determinado color permitiéndonos así distinguirla de otras colonias. La formación de gas no puede, obviamente, observarse. Por ello los medios de cultivo empleados llevan lactosa, hidrolizados de proteínas, sales y colorantes sensibles a variaciones de pH. Además suelen llevar sustancias inhibitorias del crecimiento de otras bacterias u otros grupos bacterianos.

En el caso de los CF además la temperatura de incubación elevada ($44.5 \text{ }^\circ\text{C}$) es un factor inhibitorio frente a los coliformes no fecales, que sí crecen a la temperatura de $37 \text{ }^\circ\text{C}$. Por ello, los recuentos de CT son siempre superiores a los de CF.

En ambos casos, e igualmente para los EF, la técnica de cuantificación consiste simplemente en contar las colonias de un determinado color que el método nos indica y que nos permite distinguirlas de colonias de otras bacterias que hayan podido desarrollarse sobre el medio de cultivo.

La técnica de las MF es equivalente al crecimiento de bacterias que al sembrarse sobre un medio sólido forman colonias sobre la superficie del agar. También se admite que cada bacteria ha formado una colonia, o dicho a la inversa, que cada

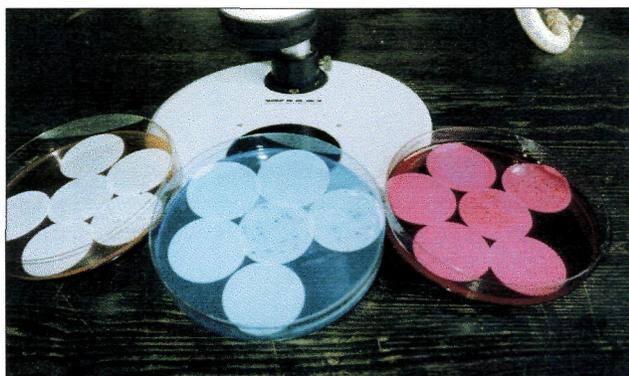


Equipo de filtración, preparado para su utilización, con los embudos de filtración (de vidrio o de acero inoxidable) y una bomba de vacío (a la izquierda). En la imagen, una batería de seis elementos lo que permite mayor rapidez a la hora de analizar varias muestras al mismo tiempo.

colonia que nosotros contamos asumimos que está formada a partir de una sola bacteria. No obstante, para prevenir que una colonia determinada se haya formado a partir de más de una bacteria (cuando la colonia se forma a partir de una partícula a la que hay adherida más de una bacteria, lo que puede ser normal en aguas contaminadas por aguas residuales) se anota el resultado del recuento como UFC (Unidades Formadoras de Colonias) sobre el agar.

La equivalencia con una técnica bacteriológica de siembra en superficie de placas de agar se refiere a que las membranas, a través de las cuales se ha filtrado el agua, se depositan sobre la superficie del agar contenido en placas con medios de cultivo específicos. Durante el período de incubación adecuado, los componentes nutritivos del medio, disueltos en el gel (el agar) difunden a través de la membrana hacia las bacterias ahí retenidas permitiendo la reproducción de las mismas con lo que se forman colonias bacterianas, que nosotros contaremos adecuadamente.

Uno de los primeros problemas que se nos presentan es el de decidir qué volúmenes de agua debemos filtrar. En cualquier caso, se trata siempre de conseguir



Colocación de las membranas filtradas sobre los medios de cultivo

que sobre la membrana crezcan colonias en número suficiente para que se puedan contar y que éste número sea el adecuado para que no ocurra crecimiento confluyente entre colonias próximas, o que si el número inicial de bacterias en el agua es alto, las colonias crecidas no representen a más de una bacteria.

Una vez conocidas y puestas a punto las técnicas de muestreo, de cultivo, el problema de la elección de los volúmenes a filtrar es el más importante. Los manuales recomiendan las cifras de 100 ml, 20 ml y 5 ml como referencia. Cuando se trata de estudios a largo plazo se consigue ajustar los volúmenes e incluso reducir el número de filtraciones a dos por muestra, pero esto sólo es después de que ya conocemos el comportamiento probable o posible de la muestra. Otras particularidades de ésta técnica se encuentran en los manuales especializados de forma detallada.

En el recuento de las colonias sobre las membranas es también la práctica lo que nos dará la pauta a seguir. Generalmente se hace situando las placas conteniendo las membranas a contar en una lupa binocular con iluminación incorporada por luz reflejada, a pocos aumentos. Muchas veces en el recuento de los EF se hace preciso, ya que las colonias suelen ser más pequeñas que las de CT y CF, utilizar mayores aumentos. A veces no se consigue obtener un número apropiado de colonias para el recuento y sólo tenemos membranas con abundante número de ellas. Entonces es necesario también el uso de mayores aumentos. Cada analista ha de buscar la forma de no contar una colonia más de una vez o dejarse colonias sin contar. Para ello

existe la ayuda del trazado en cuadros que llevan las membranas diseñadas para el recuento de colonias, lo cual sirve de ayuda para tener las referencias en que fijarse y evitar lo anterior.

Resultado de la incubación de las membranas.



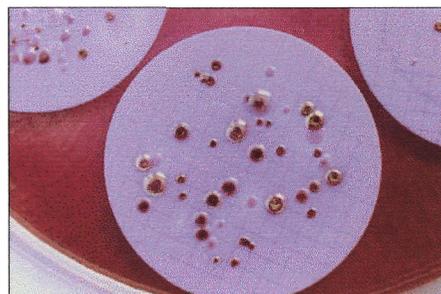
Contaje de colonias en la lupa binocular.



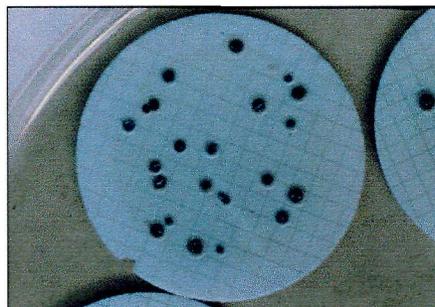
Análisis de Coliformes Totales, Coliformes Fecales y Estreptococos Fecales mediante el método de las Membranas Filtrantes.

Para el análisis de los Coliformes Totales se emplea el Agar de Endo, una temperatura de incubación de 37 °C y un tiempo de incubación de 24 horas. Las colonias de coliformes (fermentadoras de lactosa) se presentan de color rojo y pueden tener un brillo metálico como se ve en la fotografía.

Los Coliformes Fecales se cultivan sobre el agar m-FC a 44,5 °C durante 24 horas. Se han de contar las colonias de color azul. Es el medio de cultivo más eficaz de los que se utilizan en los recuentos de indicadores bacterianos.



Agar de Endo con colonias de Coliformes Totales. Nótese en algunas el brillo metálico característico



Agar de m-FC con colonias de Coliformes Fecales.

Los Streptococos Fecales.

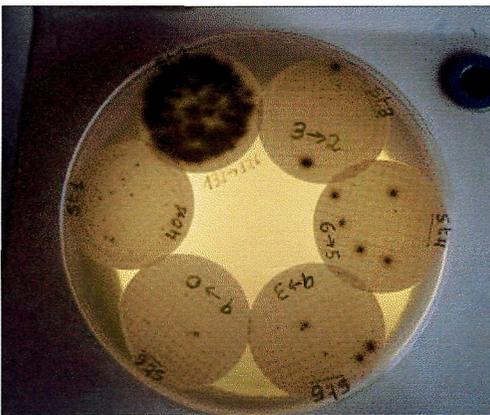
Así como el análisis de los CT y CF se viene realizando sin variaciones desde hace mucho tiempo, el análisis de los Streptococos Fecales ha sufrido modificaciones a lo largo del tiempo, debido a la poca especificidad de los medios sólidos que se venían empleando habitualmente, por lo que actualmente, la técnica más recomendada es la de realizar pruebas de confirmación de las colonias de EF, como a continuación se describe.

Como medio de cultivo inicial, sobre el que se depositan las membranas filtrantes se utiliza el agar de Slanetz Bartley, que se incuba a 37 °C durante 48 horas. Una vez producido el crecimiento y el recuento de las colonias sobre las membranas se realizan una o más pruebas confirmativas porque la selectividad del medio para los EF es muy baja y ello ha causado graves problemas a la hora de calificar las playas de baño como aptas o no aptas para el mismo.

Agar de Slanetz-Bartley con “presuntas” colonias de estreptococos fecales



La primera de las pruebas confirmativas es la de la hidrólisis de la esculina y aprovecha la cualidad enzimática de los EF de hidrolizar esta sustancia, produciendo un precipitado negro característico. Para realizar esta prueba se utiliza el agar de Bilis Esculina, de manera que las membranas con presuntas colonias de EF se colocan sobre una placa de este medio y se incuban una hora en la estufa de 37 °C, contándose las colonias con precipitado negro a su alrededor. Para ello nos podemos ayudar de iluminación por transparencia.



(Arriba) Colonias de falsos estreptococos y de verdaderos estreptococos sobre agar Bilis Esculina (colonias con precipitado negro) después de una hora de incubación. En la placa de la izquierda se han señalado los recuentos antes y después de la prueba. En la membrana St.1, de 40 colonias presuntas estreptococos, sólo se ha confirmado una sola colonia como verdadero EF. En la membrana St.6, de nueve colonias crecidas en Slanetz, sólo se han confirmado 3 colonias en el agar de Bilis Esculina.

Además se puede añadir una segunda prueba confirmativa, la hidrólisis de la catalasa. Los EF no tienen las enzimas necesarias para producir esa hidrólisis, mientras que otras Gram + como los estafilococos sí. La prueba consiste en aislar colonias que han precipitado la esculina y verificar que no hidrolizan el peróxido de hidrógeno. Se realiza añadiendo unas gotas de agua oxigenada al crecimiento bacteriano sobre Agar Nutritivo (ver Figura)



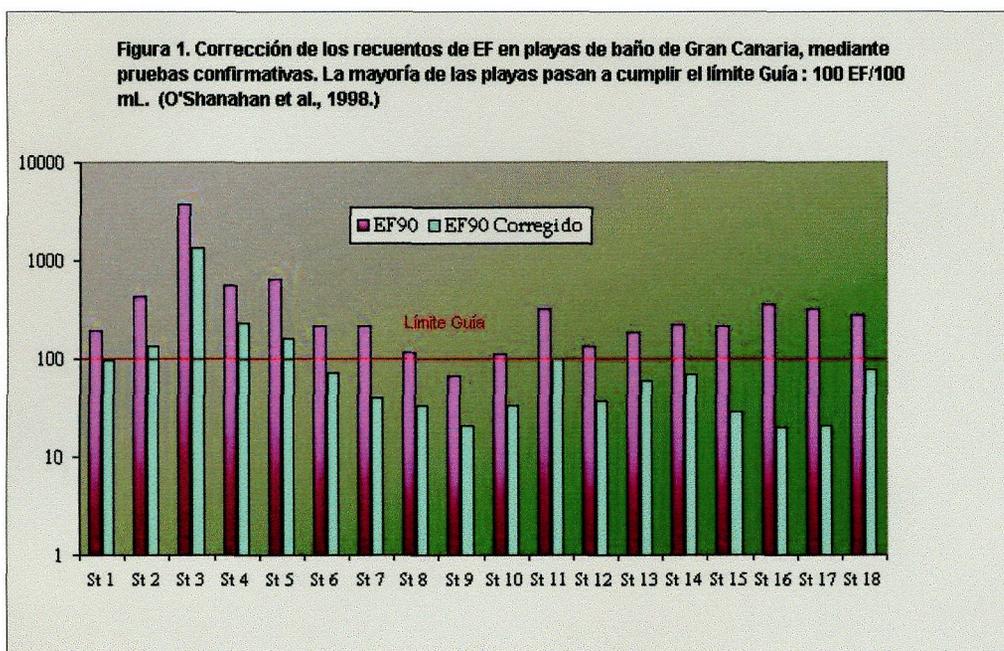
En la Figura, las cuatro cepas de la derecha no han producido la hidrólisis del peróxido de hidrógeno, son, por tanto, Catalasa negativas, lo que confirma que son estreptococos fecales, mientras que en las de la izquierda se produce el burbujeo típico de las Cat + por liberación de oxígeno al descomponerse el peróxido de hidrógeno, por lo que no son EF.

Este método de confirmación es innovador, ha sido diseñado por microbiólogos de la Sociedad Española de Microbiología (SEM) y no es oficial, pero su utilidad es incuestionable y ha permitido constatar que algunas playas que sí cumplen los requisitos legales de calidad para los coliformes, cumplen también para los EF. Sin la prueba confirmativa, la mayor parte de los análisis darían valores de EF por encima de los límites legales permitidos (R.D. 734/88). El cuadro siguiente se refiere a un estudio presentado por nosotros en una reunión especializada de la SEM (Gerona, 1998) en el cual, el estudio de 18 puntos de muestreo en playas de Gran Canaria reveló que solamente el 20 % (aprox.) de las colonias que habían crecido sobre el primer medio (agar Slanetz-Bartley) se pudieron confirmar como verdaderos estreptococos fecales. Según la bibliografía, el resto de las colonias (80%) son bacterias marinas y otras posiblemente de origen terrestre que pueden crecer sobre el Slanetz dada su poca selectividad para los EF.

	Cuadro 1				
En numerosos análisis de cada una de las 18 playas estudiadas en 1 solo año, se han obtenido los porcentajes indicados del número de colonias confirmadas después de su cultivo en el medio inicial (Slanetz-Bartley). El porcentaje global de colonias confirmadas (Media Geométrica) se reduce al 19,74 %.					
Porcentaje medio de confirmación de colonias en Agar Bilis Esculina más Catalasa					
Estaciones de muestreo	(MG)		(MA)		
ST. 1 Playa de La Laja	49,74293		56,14		
ST. 2 Playa de S. Cristóbal.	31,63511		42,13		
ST. 3 Playa de Alcaravaneras (I)	31,54944		45,58		
ST. 4 Playa de Alcaravaneras (C)	34,64482		53,81		
ST. 5 Playa de Alcaravaneras (C)	16,02956		35,3		
ST. 6 Playa de La Cicer	23,35374		36,7		
ST. 7 Playa de Las Cant.(H. S.)	24,17241		38,59		
ST. 8 Playa de Las Cant.(P. Chi)	24,07915		39,78		
ST. 9 Playa de las Cant.(H. R. I.)	21,9491		37,67		
ST.10 Playa de Las Cant.(H. Me)	19,76924		37,66		
ST.11 Playa de Las Cant.(Puntill)	25,94871		40,93		
ST.12 Playa de San Agustín	19,51187		25,88		
ST.13 Playa de Las Burras	18,90349		25,46		
ST.14 Playa del Inglés	17,74892		26,26		
ST.15 Playa de Maspalomas (C)	5,828302		15,57		
ST.16 Playa del Faro de Maspal	9,186471		17,61		
ST.17 Playa de Meloneras	10,27933		18,63		
ST.18 Playa de Las Burras (tard)	12,17916		21,72		
	GLOBAL MG: 19,74		MA: 34,14		

Las consecuencias del uso de esta metodología en la que se incluyen pruebas confirmativas en la determinación de los EF son de una trascendencia muy importante. Normalmente existe una reducción notoria en el número de verdaderos EF con respecto a los falsos EF. Muchas playas que no cumplirían el Límite Guía del R.D. 734/88 para los EF y sí el Límite Guía para los CF (cosa poco natural), cuando sólo se hace el recuento en el primer medio de cultivo (Slanetz-Bartley), pasan a cumplirlo cuando se realizan las pruebas confirmativas en Bilis Esculina y la catalasa. En un estudio sobre 18 puntos de muestreo en playas de baño de Gran Canaria, todos menos uno (St.9 en la Figura de la página siguiente) no cumplían el Límite Guía de EF (EF90). Al realizar la prueba confirmativa, la mayoría de los mismos pasaron a cumplir este Límite Guía. El cumplimiento de este límite es

fundamental para la calificación sanitaria óptima para las playas de baño.



Las ventajas del método de las membranas filtrantes sobre el del N.M.P. se pueden resumir en los siguientes puntos:

- Menor tiempo de duración de los análisis , para los CT y CF el período de incubación sólo es de 24 horas y para los EF de 48, mientras que para el del NMP puede durar hasta 4 o 5 días.
- Menor volumen de material a emplear, placas de Petri desechables, lo que se traduce en menos material a reciclar.
- Mayor espacio disponible en las estufas de cultivo.
- Menor cantidad de medio de cultivo a preparar, pues para cada indicador sólo se necesita una sola clase de medio sólido.
- El número de diluciones a realizar es el mismo que para el método del N.M.P. o menor, pues se pueden elegir volúmenes pequeños para filtrar.

MÉTODO DE ANÁLISIS DE SALMONELLA.

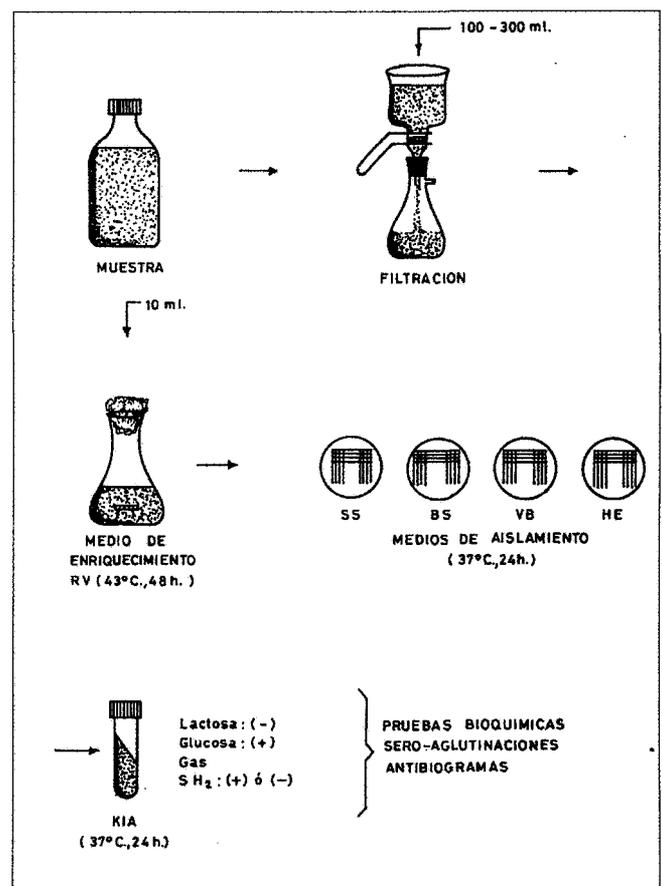
El Real Decreto 734/88 de calidad de aguas de baño, hace intervenir a salmonella como uno de los parámetros bacteriológicos indicadores de contaminación fecal. Esta norma especifica que no se puede encontrar salmonelas en 1000 ml de una muestra de agua de baño.

La diferencia con los coliformes y estreptococos es que las salmonelas son patógenos por naturaleza, y se encuentran en las heces fecales de individuos enfermos. Además existen portadores de salmonelas, es decir, individuos que no padeciendo unos síntomas de salmonelosis portan las salmonelas y las descargan, igualmente que los enfermos, con las heces fecales. También en el Reino Animal encontramos a los reptiles y las aves que portan salmonelas que pueden ser patógenos humanos.

Uno de los métodos de análisis de salmonela es el que se muestra en el esquema siguiente:

Método de Filtración para el análisis de Salmonella en agua de mar.

Se filtran 1000 ml de agua de muestra a través de una membrana tipo Millipore de 0,45 μm de diámetro de poro. La membrana se deposita en Caldo de enriquecimiento Rappaport-Vassiliadis RV43 y se incuba a 43°C 24 o más horas. Producido el crecimiento se siembran medios de aislamiento específicos para salmonela (Agar SS: *Salmonella Shigella*; Agar BS: Bismuto Sulfito; VB: Agar Verde Brillante y HE: Agar de Hektoen Enteric). Obtenidas colonias típicas se aíslan y se someten a siembra en Kligler Iron Agar (KIA). Seguidamente se someten a pruebas de identificación bioquímicas y enzimáticas, aglutinación con sueros específicos y antibiogramas

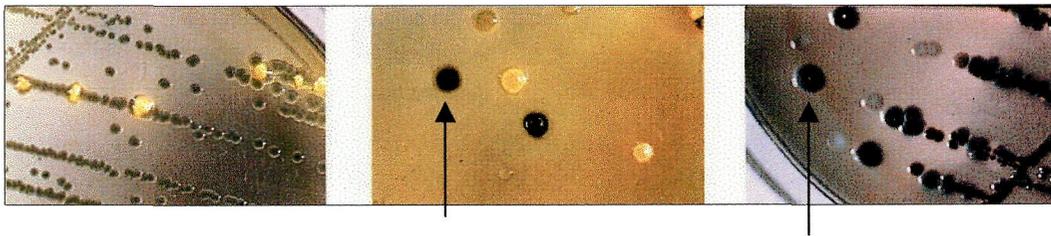


Procedimiento.

Consiste en filtrar 1000 ml del agua problema a través de una membrana Millipore de 0,45 µm de diámetro de poro e introducir la membrana en un Erlenmeyer con 100 ml de caldo de enriquecimiento selectivo Rappaport-Vassiliadis. Se incuba a 43 °C durante 24 o más horas. Esta temperatura más los ingredientes del caldo favorecen el desarrollo del cultivo de salmonela. De los matraces con crecimiento positivo se inoculan medios sólidos específicos para el aislamiento de colonias salmonela.

Medios de aislamiento.

Aspectos de las colonias de salmonellas en algunos de los agares de aislamiento de salmonellas:

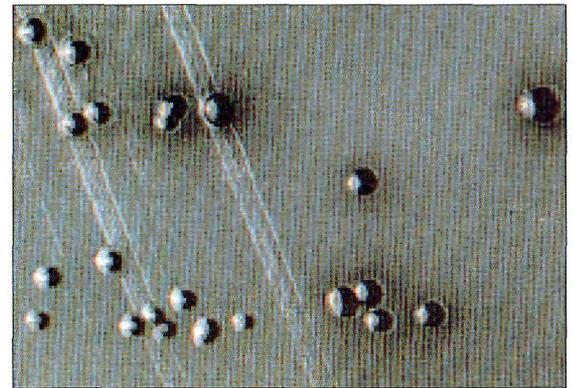
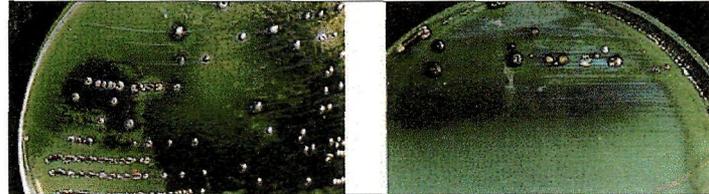


Colonias típicas de salmonella en agar Hektoen Enteric

Agar de Hektoen Enteric con una mezcla de colonias amarillas y verde oscuro con halo blanquecino. Las colonias amarillas pertenecen a bacterias fermentadoras de lactosa (p.ej. *E.coli*) mientras que las verde oscuro (prácticamente negras) pertenecen a *Salmonella*, presentando esta coloración por la precipitación de sulfuro de hierro.



Aspecto de una placa de Agar Hektoen Enteric con un cultivo puro de Salmonella. De las colonias más aisladas se pueden obtener cepas para su estudio posterior.



A la izquierda, colonias de color blanco de *Salmonella* sobre agar *Salmonella Shigella* y a la derecha y abajo, colonias de *Salmonella* sobre agar Bismuto Sulfato.

Con todos estos procedimientos anteriormente explicados se confirma la presencia de salmonelas en las muestras de agua de playas o de lugares contaminados por aguas residuales. Estudios posteriores sobre las cepas de salmonelas comprenden antibiogramas, determinación de serotipos, etc. que trascienden en gran medida de lo que es un seguimiento sanitario de la contaminación de las playas de baño y otros lugares de interés del litoral.