



UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
NÚCLEO DE SUCRE  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA  
POSTGRADO DE BIOLOGÍA APLICADA

CAPACIDAD DE DEPURACIÓN BACTERIANA EN CUATRO ESPECIES DE  
MOLUSCOS BIVALVOS DE INTERÉS EN ACUICULTURA  
(Modalidad: Investigación)

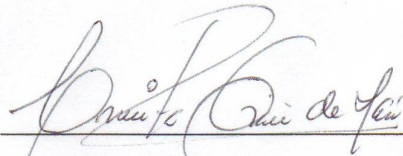
KARLA ROSA RIVAS RUIZ

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA  
OPTAR AL TÍTULO DE MAGISTER SCIENTIARUM EN BIOLOGÍA  
APLICADA MENCIÓN MICROBIOLOGÍA

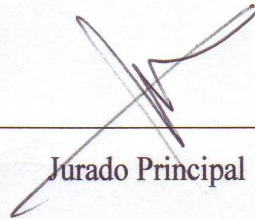
CUMANÁ, 2012

CAPACIDAD DE DEPURACIÓN BACTERIANA EN CUATRO ESPECIES DE  
MOLUSCOS BIVALVOS DE INTERÉS EN ACUICULTURA

APROBADO POR:



M.Sc. Crucita Grau de Marín  
Asesora



Jurado Principal



Jurado Principal

## ÍNDICE

<u>DEDICATORIA.....</u>	<u>I</u>
<u>AGRADECIMIENTOS.....</u>	<u>II</u>
<u>LISTA DE TABLAS.....</u>	<u>III</u>
<u>LISTA DE FIGURAS.....</u>	<u>IV</u>
<u>RESUMEN.....</u>	<u>VII</u>
<u>INTRODUCCIÓN.....</u>	<u>1</u>
<u>METODOLOGIA.....</u>	<u>7</u>
<u>CONTAMINACIÓN DE LOS ORGANISMOS.....</u>	<u>7</u>
<u>ENSAYO DE DEPURACIÓN DE LOS ORGANISMOS.....</u>	<u>8</u>
<u>ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS.....</u>	<u>10</u>
<u>DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE ARN/ADN.....</u>	<u>13</u>
<u>DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE CONDICIÓN DE LOS ORGANISMOS.....</u>	<u>14</u>
<u>ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.....</u>	<u>15</u>
<u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</u>	<u>16</u>
<u>ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS BACTERIOLÓGICOS EN LOS TEJIDOS</u> <u>    DE LAS CUATRO ESPECIES DE BIVALVOS.....</u>	<u>16</u>
<u>CALIDAD SANITARIA DEL AGUA DURANTE EL ENSAYO DE</u> <u>    DEPURACIÓN.....</u>	<u>32</u>
<u>ÍNDICE ARN/ADN DE LAS CUATRO ESPECIES DE MOLUSCOS</u> <u>    BIVALVOS DURANTE LA DEPURACIÓN.....</u>	<u>39</u>
<u>ÍNDICE DE CONDICIÓN DE LAS CUATRO ESPECIES DE MOLUSCOS</u> <u>    BIVALVOS DURANTE LA DEPURACIÓN.....</u>	<u>43</u>
<u>CONCLUSIONES.....</u>	<u>47</u>
<u>RECOMENDACIONES.....</u>	<u>49</u>
<u>BIBLIOGRAFÍA.....</u>	<u>51</u>
<u>APÉNDICE.....</u>	<u>60</u>
<u>HOJA DE METADATOS.....</u>	<u>79</u>

## DEDICATORIA

A

Dios, por permitirme avanzar en este camino gracias a la fé puesta en ellos.

Mis padres, Rosa y Cruz, por todo el esfuerzo, paciencia, apoyo y amor brindado.

Mis hermanos, Carlos, Karlina y María Eugenia, por estar en los momentos importantes de mi vida.

Mis tíos, primos y sobrinos, por su cariño y ayuda incondicional, en especial para Francisco, Carmen Elena, Cenia, Francys, Frank, Francelys, Jesús Eduardo, Carlos Gabriel y Santiago.

Mis amigos, Yanna, Juanny, Nancy, Jennellis, Maira, Richard, Felipe y Miguel, quienes han compartido buenos y malos momentos.

A todos esos seres que se han ido...

## **AGRADECIMIENTOS**

A

La profesora Crucita Grau de Marín por su apoyo, orientación y consejos brindados para la realización y culminación de este trabajo de investigación.

Al personal del Laboratorio de Microbiología del Instituto de Investigaciones Agrícolas (INIA Sucre/Nueva Esparta).

Al personal de la Fundación para la Investigación y Desarrollo de la Acuicultura en el Estado Sucre (FIDAES) Sede, Estación de FIDAES-Mochima y especialmente a los obreros de la Estación de FIDAES en Guacarapo, quienes mostraron una colaboración desinteresada para la puesta en marcha de la parte experimental de esta investigación.

Al personal adscrito a la Estación Hidrobiológica de Turpialito del Instituto Oceanográfico de Venezuela (IOV) de la Universidad de Oriente (UDO).

Al profesor Luis Freites, del Departamento de Biología Pesquera (IOV), por toda la orientación brindada durante el desarrollo de esta investigación.

Al Laboratorio de Acuicultura y el Laboratorio de Ecofisiología y Ecotoxicología, ambos del Instituto Oceanográfico de Venezuela de la Universidad de Oriente. En las personas de César Lodeiros, Miguel Guevara, Paulino Núñez, Roraisy Cortez y Mairín Lemus, quienes facilitaron de forma desinteresada la colaboración para la consecución de los objetivos de la tesis.

Enrique Vásquez, Miguel Carpio, Richard Bauza, Yanna Ortiz, amigos y compañeros sin cuyo apoyo y colaboración técnica habría sido difícil finalizar este proyecto.

A todos los que de una u otra forma contribuyeron al desarrollo de la investigación.

## LISTA DE TABLAS

<u>TABLA 1. PRESENCIA DE SALMONELLA SP. EN LOS TEJIDOS DE CUATRO ESPECIES DE MOLUSCOS BIVALVOS: P. IMBRICATA, C. RHIZOPHORAE, P. VIRIDIS Y P. PERNA EXPUESTOS A DIFERENTES TIEMPOS DE DEPURACIÓN EN AGUA DE MAR TRATADA CON LUZ ULTRAVIOLETA Y FLUJO CONTINUO.....</u>	<u>31</u>
--	-----------

## LISTA DE FIGURAS

<u>FIGURA 1. DISEÑO DEL SISTEMA DE DEPURACIÓN.....</u>	<u>10</u>
<u>FIGURA 2. PROMEDIO DE LA CONCENTRACIÓN INICIAL DE COLIFORMES TOTALES (CT), COLIFORMES FECALES (CF), ESCHERICHIA COLI (EC), AEROBIOS MESÓFILOS (AM) Y STREPTOCOCCUS FAECALIS (SF) EN LOS TEJIDOS DE CUATRO ESPECIES DE MOLUSCOS BIVALVOS: P. IMBRICATA, C. RHIZOPHORAE, P. VIRIDIS Y P. PERNA EXPUESTOS A CONTAMINACIÓN INDUCIDA.....</u>	<u>17</u>
<u>FIGURA 3. PROMEDIO DE LA CONCENTRACIÓN DE COLIFORMES TOTALES EN LOS TEJIDOS DE CUATRO ESPECIES DE MOLUSCOS BIVALVOS: P. IMBRICATA, C. RHIZOPHORAE, P. VIRIDIS Y P. PERNA EXPUESTOS A DIFERENTES TIEMPOS DE DEPURACIÓN EN AGUA DE MAR TRATADA CON LUZ ULTRAVIOLETA Y FLUJO CONTINUO.....</u>	<u>22</u>
<u>FIGURA 4. PROMEDIO DE LA CONCENTRACIÓN DE COLIFORMES FECALES EN LOS TEJIDOS DE CUATRO ESPECIES DE MOLUSCOS BIVALVOS: P. IMBRICATA, C. RHIZOPHORAE, P. VIRIDIS Y P. PERNA EXPUESTOS A DIFERENTES TIEMPOS DE DEPURACIÓN EN AGUA DE MAR TRATADA CON LUZ ULTRAVIOLETA Y FLUJO CONTINUO.....</u>	<u>23</u>
<u>FIGURA 5. PROMEDIO DE LA CONCENTRACIÓN DE ESCHERICHIA COLI EN LOS TEJIDOS DE CUATRO ESPECIES DE MOLUSCOS BIVALVOS: P. IMBRICATA, C. RHIZOPHORAE, P. VIRIDIS Y P. PERNA EXPUESTOS A DIFERENTES TIEMPOS DE DEPURACIÓN EN AGUA DE MAR TRATADA CON LUZ ULTRAVIOLETA Y FLUJO CONTINUO.....</u>	<u>24</u>
<u>FIGURA 6. PROMEDIO DE LA CONCENTRACIÓN DE AEROBIOS MESÓFILOS EN LOS TEJIDOS DE CUATRO ESPECIES DE MOLUSCOS BIVALVOS: P. IMBRICATA, C. RHIZOPHORAE, P. VIRIDIS Y P. PERNA EXPUESTOS A DIFERENTES TIEMPOS DE DEPURACIÓN EN AGUA DE</u>	

<u>MAR TRATADA CON LUZ ULTRAVIOLETA Y FLUJO CONTINUO.....</u>	<u>27</u>
<u>FIGURA 7. PROMEDIO DE LA CONCENTRACIÓN DE STREPTOCOCCUS FAECALIS EN LOS TEJIDOS DE CUATRO ESPECIES DE MOLUSCOS BIVALVOS: P. IMBRICATA, C. RHIZOPHORAE, P. VIRIDIS Y P. PERNA EXPUESTOS A DIFERENTES TIEMPOS DE DEPURACIÓN EN AGUA DE MAR TRATADA CON LUZ ULTRAVIOLETA Y FLUJO CONTINUO.....</u>	<u>29</u>
<u>FIGURA 8. PROMEDIO DE LA CONCENTRACIÓN DE COLIFORMES TOTALES EN MUESTRAS DE AGUA DE MAR DE LOS TANQUES DURANTE 0 (SIN BIVALVOS), 6, 12, 24 Y 48 H DE EXPOSICIÓN DE BIVALVOS A DEPURACIÓN CON LUZ UV Y FLUJO CONTINUO.....</u>	<u>33</u>
<u>FIGURA 9. PROMEDIO DE LA CONCENTRACIÓN DE COLIFORMES FECALES EN MUESTRAS DE AGUA DE MAR DE LOS TANQUES DURANTE 0 (SIN BIVALVOS), 6, 12, 24 Y 48 H DE EXPOSICIÓN DE BIVALVOS A DEPURACIÓN CON LUZ UV Y FLUJO CONTINUO.....</u>	<u>34</u>
<u>FIGURA 10. PROMEDIO DE LA CONCENTRACIÓN DE E. COLI EN MUESTRAS DE AGUA DE MAR DE LOS TANQUES DURANTE 0 (SIN BIVALVOS), 6, 12, 24 Y 48 H DE EXPOSICIÓN DE BIVALVOS A DEPURACIÓN CON LUZ UV Y FLUJO CONTINUO.....</u>	<u>35</u>
<u>FIGURA 11. DISTRIBUCIÓN DE LOS PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS: A) TEMPERATURA (°C), B) SALINIDAD (‰), C) OXÍGENO DISUELTO (MG/L) EN EL AGUA DE LOS TANQUES DURANTE 0 (SIN BIVALVOS), 6, 12, 24 Y 48 H DE EXPOSICIÓN DE BIVALVOS A DEPURACIÓN CON LUZ UV Y FLUJO CONTINUO.....</u>	<u>37</u>
<u>FIGURA 12. ÍNDICE DE ARN/ADN DE LAS CUATRO ESPECIES DE MOLUSCOS BIVALVOS: P. IMBRICATA, C. RHIZOPHORAE, P. VIRIDIS Y P. PERNA EXPUESTOS A DIFERENTES TIEMPOS DE DEPURACIÓN EN AGUA DE MAR TRATADA CON LUZ ULTRAVIOLETA Y FLUJO CONTINUO.....</u>	<u>40</u>
<u>FIGURA 13. ÍNDICE DE CONDICIÓN (%) DE LAS CUATRO ESPECIES DE MOLUSCOS BIVALVOS: P. IMBRICATA, C. RHIZOPHORAE, P. VIRIDIS Y P.</u>	



PERNA EXPUESTOS A DIFERENTES TIEMPOS DE DEPURACIÓN EN AGUA  
DE MAR TRATADA CON LUZ ULTRAVIOLETA Y FLUJO CONTINUO.....44

## RESUMEN

Se evaluó la capacidad de depuración bacteriana en los moluscos bivalvos *Pinctada imbricata*, *Crassostrea rhizophorae*, *Perna viridis* y *P. perna* expuestos a agua de mar tratada con UV y flujo continuo en un sistema abierto. Para esta experiencia, se realizó la contaminación de los organismos en tanques con aguas residuales de una alta carga bacteriana durante 24 horas (mejillones) y 72 horas (ostras) de exposición. Se tomaron muestras por triplicado de cada especie, las cuales correspondieron al tiempo 0 (inicio del tratamiento). Para el inicio de la depuración, los ejemplares contaminados se dispusieron en tanques de polietileno (por triplicado) con un flujo continuo de agua de mar expuesta a UV, previamente filtrada. Se establecieron lapsos de muestreo de 6, 12, 24 y 48 horas. Durante cada una de ellas, se tomaron muestras de cada especie para los análisis microbiológicos: coliformes totales (CT), coliformes fecales (CF), *Escherichia coli* (EC), aerobios mesófilos (AM), *Streptococcus faecalis* (SF) y *Salmonella* sp., así como para la determinación del índice ARN/ADN e índice de condición de los animales. Las diferencias en los tiempos de contaminación bacteriana de los mejillones y las ostras estuvieron relacionadas con sus tasas de bombeo. Los resultados indican que para la eliminación de bacterias CT, CF; EC y AM, se requirió entre 12 - 24 horas (*P. viridis* y *C. rhizophorae*) y 48 horas (*P. imbricata* y *P. perna*) de depuración. La respuesta más rápida en *P. viridis* y *C. rhizophorae* se relacionó con una mayor resistencia ante la colonización bacteriana, en cambio una respuesta lenta fue relacionada con una alta capacidad para retener partículas en sus tejidos. Se evidenció la formación de dos grupos con comportamientos similares: uno formado por *P. viridis* y *C. rhizophorae* y el otro por *P. perna* y *P. imbricata*. En las cuatro especies se eliminó la población de *S. faecalis* en tan solo 6 horas de depuración. Con respecto a *Salmonella* sp., hubo ausencia a las 12 horas para *C. rhizophorae*, *P. viridis* y *P. perna*, y a las 24 horas en *P. imbricata*. La calidad del agua en los tanques durante el proceso de depuración fue óptima, evidenciando el buen funcionamiento del sistema de depuración. En todas las especies, se detectó un incremento progresivo del índice ARN/ADN a medida que avanzó el proceso de depuración. Esta relación constituyó un índice fisiológico apropiado que reflejó la respuesta del estado metabólico de los organismos ante situaciones de estrés y de homeostasis. El proceso de depuración no afectó el índice de condición de los animales y sus valores relativamente bajos probablemente correspondieron a las condiciones en las que venían los organismos desde el medio natural. La aplicación de un sistema de depuración para bivalvos con flujo continuo de agua irradiada con luz ultravioleta, demostró ser un método rápido y eficaz para la purificación de los bivalvos estudiados, además que garantizaría la inocuidad de los bivalvos para su posterior comercialización.

## INTRODUCCIÓN

La producción mundial de moluscos bivalvos ha aumentado considerablemente en los últimos cincuenta años, pasando de casi un millón de t en 1950 a unos 13,6 millones de t en 2005; representando el 10% en cantidad y el 7% en valor del total de la producción pesquera mundial. Siendo China el principal productor seguido de Japón, los Estados Unidos de América, la República de Corea del Norte, Tailandia, Francia, España, Italia y Chile. En el mismo año la producción acuícola de moluscos bivalvos en América Latina y el Caribe alcanzó aproximadamente 128.500 t lo que representó el 1,0% del total mundial de la producción acuícola (Lovatelli *et al.*, 2008).

Particularmente en Venezuela y en el nororiente, siempre se ha mantenido una alta expectativa en relación al cultivo masivo de moluscos bivalvos; sin embargo, a pesar de que en la década de los 70 y 80 hubo un desarrollo con producciones entre 200-300 t/año, con las especies de ostras *Crassostrea rhizophorae* y *C. virginica* y el mejillón marrón *Perna perna*, en la actualidad la producción es prácticamente inexistente (Lodeiros y Freites, 2008). Estos mismos autores sostienen que otras especies de bivalvos con potencial para producción acuícola, tales como el mejillón verde *Perna viridis* y las ostras perlíferas *Pteria colymbus* y *Pinctada imbricata*, las cuales muestran una aceptable recolecta de semilla en el medio natural y tasas altas de crecimiento y supervivencia en condiciones de cultivo.

Concretamente en el estado Sucre, la caída de la industria del cultivo de mejillón se inició a partir de la década de los 70, con una incidencia de mareas rojas que produjo la acumulación de biotoxinas en mejillones y la muerte de 9 personas tras su consumo, específicamente para 1977 (Férraz-Reyes *et al.*, 1979). Esto trajo como consecuencia que las autoridades sanitarias y de reglamentación establecieran

controles que limitaron el mercado y la producción durante los años siguientes. Para los años 80, la industria mostró una mejoría, sin embargo, nuevos florecimientos algales nocivos provocaron la debacle del mercado por la desconfianza creada en el consumidor (Lodeiros y Freites, 2008). Para los años 1992, 1997 y 1998, nuevamente los moluscos bivalvos se vieron implicados en brotes de toxiinfecciones alimentarias, específicamente en brotes de cólera, causado por la bacteria *Vibrio cholerae* O1, biotipo clásico, serotipo Inaba (Graü *et al.*, 2007).

La problemática de la contaminación marina y su marcada influencia en la salud de los ecosistemas costeros, está estrechamente relacionada con el vertiginoso crecimiento demográfico e industrial, y con ello el incremento de las actividades domésticas, agrícolas e industriales que se generan, incrementándose la cantidad y tipo de residuos que llegan al mar con un inadecuado control, situación que ha sobrepasado la capacidad depuradora y conduciendo a la degradación de muchos ambientes marino costeros (Davies *et al.*, 1995; Garay *et al.*, 2002; Marín *et al.*, 2004). Los principales impactos de contaminación de las aguas superficiales en las cercanías de los sitios de desembarco o de las plantas procesadoras de sardinas incluyen: la gran cantidad de desechos de pesquerías derramados al mar, vertederos de aguas residuales, descargas de residuos tóxicos y peligrosos; residuos sólidos urbanos, que producen contaminación difusa por escorrentías y lixiviación, además de los proyectos turísticos adyacentes a estuarios o zonas costeras, con la adición elevada de contaminación bacteriana (Canter, 1998; Dalsgaard y Thamdrum, 2002).

De lo mencionado anteriormente, parte la premisa de considerar que al momento de cultivar bivalvos en áreas costeras, existe una alta probabilidad de exposición de estos organismos a contaminación por aguas residuales, un factor implicado en la transmisión de enfermedades entéricas por su alto contenido de bacterias, parásitos, virus y toxinas con potencial patogénico. Esto podría conllevar a problemas sanitarios, si se toma en cuenta la naturaleza biofiltradora de los moluscos

y su capacidad de concentrar microorganismos por un largo periodo de tiempo (Vilariño *et al.*, 2007). En estas condiciones se crea un mayor riesgo para la salud pública cuando el consumo es en crudo o ligeramente cocidos (Rippey, 1994).

Cuando los moluscos bivalvos crecen en medios contaminados por bacterias fecales se requiere de métodos adecuados que permitan disminuir estas concentraciones. En líneas generales, la depuración es un proceso en el que se trata de reducir la carga bacteriana de los moluscos a un nivel aceptable que no represente un riesgo para la salud pública al ser consumidos crudos o parcialmente cocidos (Blogoslawski *et al.*, 1995). La purificación controlada de los tejidos de los moluscos con luz ultravioleta (UV) es utilizada extensivamente a nivel mundial y ha sido asociada con la disminución de enfermedades transmitidas por el consumo de moluscos contaminados con bacterias. Al respecto, diversos estudios han demostrado una rápida y eficiente tasa de reducción de las bacterias hasta niveles no detectables dentro de aproximadamente 48 h de depuración con irradiación UV (Doré y Lees, 1995). La desinfección por radiación UV es un procedimiento físico que no altera la composición química, sabor ni olor de los moluscos, constituyendo una alternativa segura y eficaz frente a otros métodos de desinfección, como la cloración y el ozono, que generan subproductos como trihalometanos (THM) y bromato, que son considerados cancerígenos (Rodríguez *et al.*, 2007). La radiación UV de 250 - 270 nm constituye la franja del espectro electromagnético considerada germicida y su utilización conlleva a la inactivación del microorganismo (Oguma *et al.*, 2001).

Desde los años ochenta diversos autores han trabajado con éxito en la depuración bacteriana (*Escherichia coli*, *Salmonella* sp., estreptococos fecales, *Vibrio* sp., etc.) de especies de bivalvos tales como los mejillones (*P. viridis*, *Mytilus edulis* y *M. galloprovincialis*) y las ostras (*Crassostrea belcheri*, *C. gigas* y *C. virginica*) en países asiáticos, europeos y del continente americano (Sangrungruang *et al.*, 1989;

Power, y Collins, 1990; Mesquita *et al.*, 1991; Doré y Lees, 1995; Harris *et al.*, 1995 y Croci *et al.*, 2002). Sin embargo, en el país son casi nulos los estudios de cómo responden los bivalvos al proceso de descontaminación por el mecanismo de agua tratada con UV y de allí parte la necesidad de tener mayor información acerca de esta interrogante. Una de las pocas experiencias de depuración se realizó en la almeja *Polymesoda solida*, provenientes de la Laguna de Sinamaica, en el estado Zulia, evaluando indicadores bacterianos como los coliformes totales, fecales, estreptococos fecales, enterococos y las bacterias aerobias mesófilas (Montiel *et al.*, 2009).

Para evaluar la calidad sanitaria del molusco depurado es necesario utilizar de manera conjunta indicadores tales como *E. coli* y los estreptococos fecales. En particular, es conveniente utilizar las bacterias fecales para supervisar la respuesta de los bivalvos durante el tratamiento de depuración. Una reducción del promedio de los indicadores bacterianos fecales en los moluscos puede proporcionar una evidencia inequívoca del éxito del tratamiento de depuración (Mesquita *et al.*, 1991). Herrera y Suárez (2005) señalan que *E. coli* y los estreptococos son los indicadores apropiados para determinar la presencia de contaminación de origen fecal, dado que su nicho ecológico habitual es el intestino de los seres humanos y otros animales.

Fujioka *et al.* (1999) sostienen que *E. coli* y estreptococos son frecuentes y pueden persistir por largos periodos de tiempo en aguas tropicales y subtropicales, pudiendo afectar potencialmente a los moluscos en crecimiento. Cabe destacar que la presencia de estreptococos puede afectar la inocuidad de los bivalvos en cultivo, dado que este indicador puede persistir viable por su capacidad de activar diferentes tipos de estrategias de sobrevivencia, que incluye la adhesión, lo cual posibilita la formación de biopelículas en superficies bióticas y abióticas (Signoretto *et al.*, 2005).

Otro agente microbiano vinculado a enfermedades asociadas al consumo de alimentos es la *Salmonella*, la cual constituye un vector significativo para la infección

de alimentos crudos como es el caso de los moluscos. La detección de este género bacteriano en moluscos bivalvos cultivados ha sido frecuentemente relacionada con su crecimiento en ambientes marinos con influencia de aguas residuales domésticas, industriales o de escorrentías, que acarrea la entrada de bacterias entéricas que representan una fuente de contaminación potencial en los hábitats costeros (Venkateswaran *et al.*, 1989).

En cuanto a indicadores fisiológicos de los organismos acuícolas, cuando se habla sobre depuración de moluscos hay que tomar en cuenta variables importantes como el índice de condición de los organismos. El índice de condición o cantidad relativa de un tejido en los bivalvos, ha sido asociado generalmente a la reproducción y disponibilidad de alimento (Arrieche *et al.*, 2002). Otro índice reportado es la relación ARN/ADN el cual es un índice bioquímico con gran aplicación en las investigaciones sobre organismos acuáticos y las respuestas de éstos a cambios ambientales, es decir, el nivel de ARN/ADN indica la actividad metabólica asociada a la síntesis de proteínas, que se refleja en un crecimiento por aumento de volumen (Gil *et al.*, 2003). Este índice permite conocer la condición fisiológica de los organismos en un momento dado, constituyendo una valiosa herramienta para estimar los posibles impactos producidos por ciertos contaminantes y constituye una forma de determinar los cambios metabólicos y fisiológicos producidos en los organismos bajo situaciones estresantes (Acosta y Lodeiros, 2004; Narváez *et al.*, 2005).

Sin embargo, en nuestro país no se han realizado estudios de cómo responden estas especies de mejillones y ostras de importancia comercial a procesos de descontaminación que no involucren procesos engorrosos ni de alto valor monetario, con el fin de que puedan ser aplicados por pequeños productores a corto plazo. Esto es de gran importancia dado que en el estado Sucre la economía se basa en la

actividad pesquera y adicionalmente en la comercialización de moluscos, pero su consumo representa un riesgo para la población por el poco control higiénico sanitario que tienen las autoridades, situación que es alarmante si se considera que el 4% de los brotes de toxoinfecciones alimentarias asociadas al consumo de moluscos se vinculan a patógenos asociados a la contaminación fecal y el 20% de los casos a la flora endógena (Muñoz *et al.*, 2008). De hecho, en un estudio retrospectivo de las historias epidemiológicas de enfermedades transmitidas por consumo de pescados y moluscos en el estado Nueva Esparta entre 1990-1999, confirmó que los principales agentes causales fueron bacterias, como *Staphylococcus aureus*, *V. parahaemolyticus* y *E. coli* (Delgado *et al.*, 2003), por lo cual la depuración podría constituir una alternativa para el consumo de moluscos con una calidad sanitaria aceptable y que por ende no acarree consecuencias para la salud de los consumidores. Dado lo expuesto, en este estudio se evaluó la capacidad de depuración bacteriana en los moluscos bivalvos *Pinctada imbricata*, *Crassostrea rhizophorae*, *Perna viridis* y *Perna perna* expuestos a agua de mar tratada con luz ultravioleta (UV).



## METODOLOGIA

### CONTAMINACIÓN DE LOS ORGANISMOS

Los ejemplares de las cuatro especies de moluscos: *Pinctada imbricata*, *Crassostrea rhizophorae*, *Perna viridis* y *P. perna* con tallas promedios de  $55 \pm 1,6$  mm,  $50 \pm 1,8$  mm,  $72 \pm 2,4$  y  $69 \pm 1,4$  mm de longitud respectivamente, se obtuvieron de diferentes zonas del estado Sucre. Las muestras de *P. imbricata* fueron recolectadas en Mochima ( $10^{\circ} 21' 00,0''$  N,  $64^{\circ} 20' 35,2''$  O), municipio Sucre, *C. rhizophorae* en Laguna Grande del Obispo ( $10^{\circ} 35' 18,2''$  N,  $64^{\circ} 02' 17,5''$  O) y *P. viridis* en Chacopata ( $10^{\circ} 40' 20,9''$  N,  $63^{\circ} 49' 15,0''$  O), ambas en el municipio Cruz Salmerón Acosta y finalmente, *P. perna* en Playa Guiria ( $10^{\circ} 40' 14,8''$  N,  $63^{\circ} 19' 40,2''$  O), municipio Bermúdez. Para este ensayo se utilizaron aproximadamente 450 individuos de cada especie.

Las aguas residuales destinadas a inducir la contaminación de los organismos, se tomaron de la salida del canal de aguas negras del Guapo ubicado en Cumaná ( $10^{\circ} 27' 32,9''$  N,  $64^{\circ} 11' 24,3''$  O), municipio Sucre. La salida de este canal desemboca directamente al mar y el intercambio de las masas de agua provoca un ambiente estuarino que conlleva a una salinidad adecuada para la experiencia (32 ‰), asimismo estas aguas presentan una alta carga bacteriana (2400 NMP coli. totales, coli. fecales y *E. coli*/100 ml) que correspondió a la flora inicial contaminante de los organismos. Estas aguas fueron trasladadas a la Estación de la Fundación para la Investigación y Desarrollo de la Acuicultura en el Estado Sucre (FIDAES) en Guacarapo ( $10^{\circ} 30' 38,5''$  N,  $63^{\circ} 44' 56,1''$  O), municipio Ribero, estado Sucre, donde se efectuó el proceso de contaminación de los organismos. Ensayos previos

realizados en la Estación Hidrobiológica de Turpialito del Instituto Oceanográfico de Venezuela de la Universidad de Oriente, ubicada en el Golfo de Cariaco, al noreste de Venezuela (10° 26' 56" N, 64° 02' 00" O), permitieron determinar el tiempo promedio para la contaminación de cada especie de molusco, siendo de 24 horas para los mejillones y de 72 horas para las ostras.

Para el proceso de contaminación, los ejemplares se expusieron en tanques de polietileno (1500 litros de capacidad) con aguas residuales con alta carga bacteriana, durante los tiempos estipulados previamente, tras lo cual se tomaron muestras por triplicado de cada una de las especies consideradas en el estudio, con el fin de verificar que los moluscos acumularan un grado considerable de bacterias en la carne, la cual correspondió al inicio del proceso de depuración (tiempo 0).

### **ENSAYO DE DEPURACIÓN DE LOS ORGANISMOS**

El proceso de depuración fue realizado en la Estación de FIDAES en Guacarapo, para lo cual se dispuso de tanques de polietileno de 1500 litros de capacidad (1,15 m de alto, 1,36 m de diámetro) y lapsos de muestreo que abarcaron el período comprendido entre las 6, 12, 24 y 48 horas de exposición al UV. El agua de mar, previamente se sometió a un proceso de filtración mecánica (filtros de 10 y 5 µm) y de esterilización por irradiación UV (12 voltios, 197-326 G/h), mantuvo un flujo de 30-40 L/h en un sistema abierto, siguiendo las recomendaciones de Mesquita *et al.* (1991) y Doré y Lees (1995).

La ventaja de utilizar un sistema abierto es que hay una renovación continua del agua utilizada para la depuración de los organismos. Los moluscos sometidos al proceso de depuración se mantuvieron en cajas plásticas (45 cm de largo, 32 cm de ancho y 13 cm de profundidad), separadas de acuerdo a la hora establecida de muestreo, con una elevación de 15 cm del fondo del tanque para evitar recontaminación por la materia fecal y permitir el libre paso del agua. Se utilizaron 30

ejemplares por cada caja plástica, correspondiente a cada hora de toma de la muestra, con un total de 150 ejemplares por réplica de cada especie a estudiar (Figura 1).

Durante los lapsos establecidos del ensayo se tomaron muestras de agua de mar de los tanques con el fin de monitorear la calidad microbiológica del agua y se midió la temperatura (°C) y la salinidad (‰) con un salinómetro inductivo YSI 30 y el oxígeno disuelto (mg/l) con un oxigenómetro inductivo YSI. Para los análisis microbiológicos, las muestras de agua se trasladaron en refrigeración (4 °C) al Laboratorio de Microbiología del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA Sucre/Nueva Esparta), donde fueron procesadas inmediatamente.

Para los análisis microbiológicos, la determinación del índice de condición y relación ARN/ADN, se tomó por triplicado muestras de *Pinctada imbricata*, *Crassostrea rhizophorae*, *P. viridis* y *P. perna*.

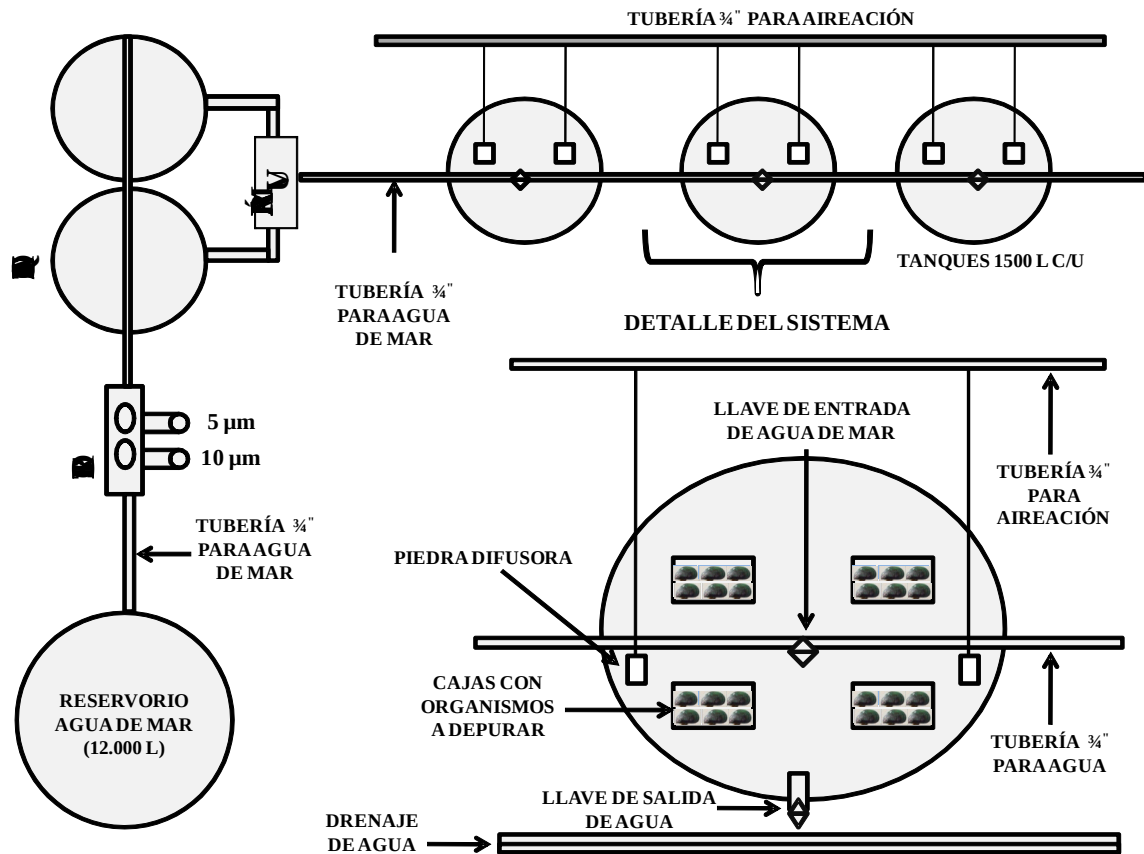


Figura 1. Diseño del sistema de depuración

## ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

### Procesamiento de las muestras de moluscos

Bajo estrictas condiciones de asepsia se obtuvieron muestras del interior de los ejemplares. Se pesaron 10 g de la carne del molusco y se homogeneizaron en 90 ml de agua peptonada alcalina al 1% (APW, Merck). Luego, se realizaron diluciones decimales seriadas en tubos con agua peptonada alcalina. Este homogeneizado se utilizó para la determinación de bacterias coliformes, *Escherichia coli*, aerobios mesófilos y *Streptococcus faecalis*. Además, se pesaron 25 g del molusco y se

homogeneizaron en 225 ml de agua peptonada (Merck), el cual se destinó para la detección de *Salmonella*.

### **Procesamiento de las muestras de agua**

A las muestras de agua se le realizaron diluciones seriadas en tubos con 9 ml de agua peptonada alcalina al 1% (APW, Merck), los cuales se utilizaron para la determinación de bacterias coliformes y *Escherichia coli*.

### **Determinación de bacterias coliformes y *Escherichia coli* en los organismos y en muestras de agua**

La densidad de bacterias coliformes se determinó mediante la técnica de fermentación en tubos múltiples o técnica del número más probable, según APHA (1995) y COVENIN (1104-1996), se realizaron siembras de 1 ml en tres tubos por dilución, que contenían caldo Lauryl Sulfato Triptosa (CLTS, Merck), provistos de una campana de Durham invertida y se incubaron a  $35 \pm 1$  °C durante 48 horas; la producción de gas producto de la utilización de la lactosa por parte de las bacterias se consideró como prueba presuntiva positiva. Posteriormente, se hizo una prueba confirmatoria, para lo cual a partir de cada tubo positivo se inoculó por duplicado una asada en tubos que contenían 10 ml de Caldo Bilis Verde Brillante (CBVB, Difco) y caldo para *E. coli* (EC, Merck), cada uno con una campana de Durham invertida. Se incubaron durante 48 horas una serie a  $35 \pm 1$ °C para coliformes totales y otra serie a  $44,5 \pm 1$ °C para coliformes fecales, respectivamente; la presencia de gas luego de transcurrido este tiempo confirmó la presencia de coliformes totales y fecales. La numeración de bacterias coliformes se expresó como NMP/g de molusco y se obtuvo según la tabla propuesta por McCrady (APHA, 1995). Para determinar el NMP de *E. coli* se sembró por estría, a partir de los tubos positivos con gas del caldo EC, placas con agar Levine Eosina-Azul de Metileno (EMB, Merck).

Posterior al tiempo de incubación, se relacionaron aquellos tubos con caldo EC (Merck) que resultaron positivos con el número de placas de agar Levine EMB que resultaron positivas para *E. coli* y los resultados se expresaron en NMP de *E. coli*/g de molusco y NMP/100 ml de agua, respectivamente. Las placas con desarrollo de colonias típicas se aislaron para la obtención de cultivos puros. A las colonias aisladas y purificadas se les realizaron tinciones de Gram y las pruebas bioquímicas recomendadas por Mac Faddin (1990); citrato, prueba de rojo de metilo, Voges-Proskauer, indol, motilidad y fermentación de azúcares.

### **Aerobios mesófilos**

La concentración de bacterias aerobias mesófilas se determinó de acuerdo a la norma COVENIN (902-1987). Para ello se realizaron siembras por duplicado, inoculando 1 ml de cada una de las diluciones previamente preparadas, en placas de Petri, agregando agar para conteo en placa (Plate Count, Merck), mezclando con cuidado y dejando solidificar. Estas placas se incubaron durante 48 h a  $35 \pm 1$  °C y luego se realizó el recuento en placas con desarrollo entre 30 a 300 colonias, en un cuenta colonias digital marca Québec modelo 330. Los resultados se expresaron como unidades formadoras de colonias por gramo de molusco (UFC/g).

### **Streptococcus faecalis**

Se realizó de acuerdo a la metodología propuesta por COVENIN (2522-1988). Para ello, a partir de las diluciones preparadas en agua peptonada alcalina (APW, Merck), se transfirió 1 ml a placas de petri estériles, por duplicado. Luego se vertió alrededor de 15 a 20 ml de agar KF para estreptococos con solución al 1% de 2,3,5-cloruro trifetil-tetrazolium (TTC) previamente fundido y temperado a 44-46 °C en cada placa. Se mezcló suavemente por rotación y se dejó solidificar para proceder a incubar 24 h a  $35 \pm 1$  °C. Las colonias positivas para *Streptococcus faecalis* presentaron una coloración roja oscura por reducción del TTC. Estas colonias fueron

aisladas para la realización de la tinción de Gram y las pruebas bioquímicas correspondientes según Mac Faddin (1990); catalasa, manitol, crecimiento a 10 °C, 6,5% NaCl y pH 9,6. Los resultados se expresaron como unidades formadoras de colonias por gramo de molusco (UFC/g).

### **Salmonella sp.**

La determinación de este tipo bacteriano se realizó de acuerdo a la metodología descrita por (COVENIN, 1291-1988). Para el enriquecimiento inicial se tomaron 25 g del molusco y se homogeneizaron en 225 ml de agua peptonada (Merck), posteriormente se transfirió 1 ml del homogenizado a tubos que contenían caldo Rappaport Vassiliadis y se incubó a una temperatura de  $35 \pm 1$  °C por 18 h.

Transcurrido este tiempo, se tomó una asada del cultivo y se sembró en placas con agar Bismuto Sulfito (Merck) y se incubarán a  $35 \pm 1$  °C por 24 a 48 h. En el agar bismuto sulfito, las colonias sospechosas para *Salmonella* se presentarán como colonias marrones o de grises a negro, con o sin brillo metálico. El medio circundante a la colonia cambiará de marrón a negro y algunas cepas producen colonias verdes con o sin ennegrecimiento del medio circundante. Finalmente, las cepas se aislaron y se practicaron las pruebas bioquímicas de fenilalanina, rojo de metilo, Voges-Proskauer, indol, malonato y fermentación de azúcares. Los resultados se expresaron como crecimiento positivo de *Salmonella* en 25 g de muestra o negativo en 25 g de muestra (presencia o ausencia).

### **DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE ARN/ADN**

La respuesta fisiológica de los bivalvos se determinó a través del índice ARN/ADN, de acuerdo a la metodología de Canino y Calderone (1995). Estos análisis se realizaron en el Laboratorio de Ecofisiología y Ecotoxicología del Instituto Oceanográfico de Venezuela de la Universidad de Oriente.

Se tomaron tres (03) ejemplares por réplica de cada especie (*P. imbricata*, *C. rhizophorae*, *P. viridis* y *P. perna*) a las 0, 6, 12, 24 y 48 h de haberse iniciado el proceso de depuración. A cada muestra se le extrajeron 10 mg del músculo aductor. Los tejidos se homogenizaron (4 °C) en 1000 µl de buffer TRIS-EDTA (50 mM; 0,5 mM; pH 7,5) en viales eppendorf de 1,5 ml, hasta formar un homogeneizado. A cada vial se le añadieron 100 µl de sarcosina (1% p/v), mezclando inmediatamente con un agitador eléctrico y se dejó reposar, para agitar nuevamente luego de 30 minutos y finalmente tras una hora de haber agregado el reactivo. Posteriormente se centrifugó a 2500 rpm durante 15 minutos. De cada muestra, se tomaron 1000 µl del sobrenadante y se colocaron en tubos de borosilicato (12×75 mm).

Para la medición de la fluorescencia total (ARN y ADN), al sobrenadante de cada muestra se le añadió 1000 µl de bromuro de etidio (0,2 mmol/l) y se midió la fluorescencia en un Fluorómetro Modelo 450 Sequoia-Turner a una longitud de onda de excitación de 360 nm y de emisión de 585 nm. Posteriormente, la muestra fue tratada con 50 µl de Ribonucleasa A (ARNasa A) (2,5 mg/ml), con el fin de hidrolizar el ARN presente en la muestra y se midió la fluorescencia emitida por el ADN. Durante este proceso el equipo fue calibrado cada 10 mediciones. La determinación del ARN fue realizada por sustracción entre el valor de la fluorescencia total y la fluorescencia del ADN. El índice fue calculado dividiendo el valor de ARN entre el de ADN (ARN/ADN).

#### **DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE CONDICIÓN DE LOS ORGANISMOS**

Estos análisis se realizaron en el Laboratorio de Acuicultura del Instituto Oceanográfico de Venezuela de la Universidad de Oriente. Para ello, se tomaron cinco (05) ejemplares por réplica de cada especie. Se obtuvo la masa del tejido blando fresco (Mh), el cual fue deshidratado en una estufa durante 72 h a 60 °C y se pesó en una balanza analítica ( $\pm 0,0001$  g), la cual representó la masa seca (Ms). El índice de condición se expresa en porcentaje (%) y se determinó mediante la fórmula:



$$IC = (Ms/Mh) \times 100$$

## ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Dado que no se cumplieron los supuestos de normalidad de los datos, se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis para determinar diferencias significativas en la concentración de los indicadores bacterianos: coliformes, *Escherichia coli*, aerobios mesófilos y *Streptococcus faecalis* con respecto al tiempo de depuración y especie. Este análisis estadístico se aplicó del mismo modo para determinar diferencias en los índices de condición y ARN/ADN con respecto al tiempo de depuración y especie. En aquellos tratamientos donde se encontraron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ), estas se mostraron mediante el uso de diagramas de caja y bigotes (Sokal y Rohlf, 1995). Estas pruebas estadísticas se efectuaron con el programa Statgraphics Plus 4.1.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS BACTERIOLÓGICOS EN LOS TEJIDOS DE LAS CUATRO ESPECIES DE BIVALVOS

#### Densidad bacteriana inicial en los moluscos tras el proceso de contaminación natural

Los valores de los parámetros bacteriológicos fueron representados en gráficas con escalas logarítmicas ( $\text{Log}_{10}$ ) debido a las fluctuaciones de los valores.

En la Figura 2 se muestran las concentraciones iniciales de los diferentes indicadores bacterianos: coliformes totales (CT), coliformes fecales (CF), *Escherichia coli* (EC), aerobios mesófilos (AM) y *Streptococcus faecalis* (SF) en los tejidos de cuatro especies de moluscos bivalvos: *P. imbricata*, *C. rhizophorae*, *P. viridis* y *P. perna* expuestos a contaminación inducida. Las ostras (*P. imbricata* y *C. rhizophorae*) se contaminaron luego de 72 horas de exposición a aguas residuales. La densidad inicial para *P. imbricata* fue de  $4,6 \times 10^4 \pm 0$  NMP coli. totales y coli. fecales/g,  $4,2 \times 10^4 \pm 4,9 \times 10^3$  NMP *E. coli*/g,  $2,8 \times 10^3 \pm 3,3 \times 10^2$  UFC aerobios mesófilos/g y  $2,4 \times 10^2 \pm 8,8$  UFC *Streptococcus faecalis*/g, mientras que para *C. rhizophorae* las densidades bacterianas iniciales fueron de  $2,3 \times 10^3 \pm 1,4 \times 10^2$  NMP coli. totales, coli. fecales y *E. coli*/g,  $1,6 \times 10^3 \pm 1,4 \times 10^2$  UFC aerobios mesófilos/g y  $2,2 \times 10^2 \pm 1,5 \times 10^1$  UFC *S. faecalis*/g. Para las dos especies de mejillones estudiados, la acumulación de una alta concentración bacteriana se presentó a tan solo 24 horas de exposición, lo cual representó el momento en que se dio inició el proceso de depuración. *P. viridis* presentó una densidad inicial de  $2,3 \times 10^4 \pm 1,7 \times 10^2$  NMP coli. totales, coli. fecales y *E. coli*/g,  $6,3 \times 10^3 \pm 1,4 \times 10^2$  UFC aerobios mesófilos/g y  $2,0 \times 10^2 \pm 1,4 \times 10$  UFC *S. faecalis*/g. *P. perna* acumuló en sus tejidos un promedio de  $3,6 \times 10^4 \pm 1,2 \times 10^3$  NMP coli. totales y coli. fecales/g,  $1,2 \times 10^4 \pm 3,2 \times 10^3$  NMP *E. coli*/g,  $2,8 \times 10^3 \pm 2,9 \times 10^2$  UFC aerobios mesófilos/g y  $2,3 \times 10^2 \pm 4,0 \times 10$  UFC

*S. faecalis*/g. Asimismo, para todas las especies bajo estudio se reportó la presencia de *Salmonella* en 25 g de carne durante la hora inicial.

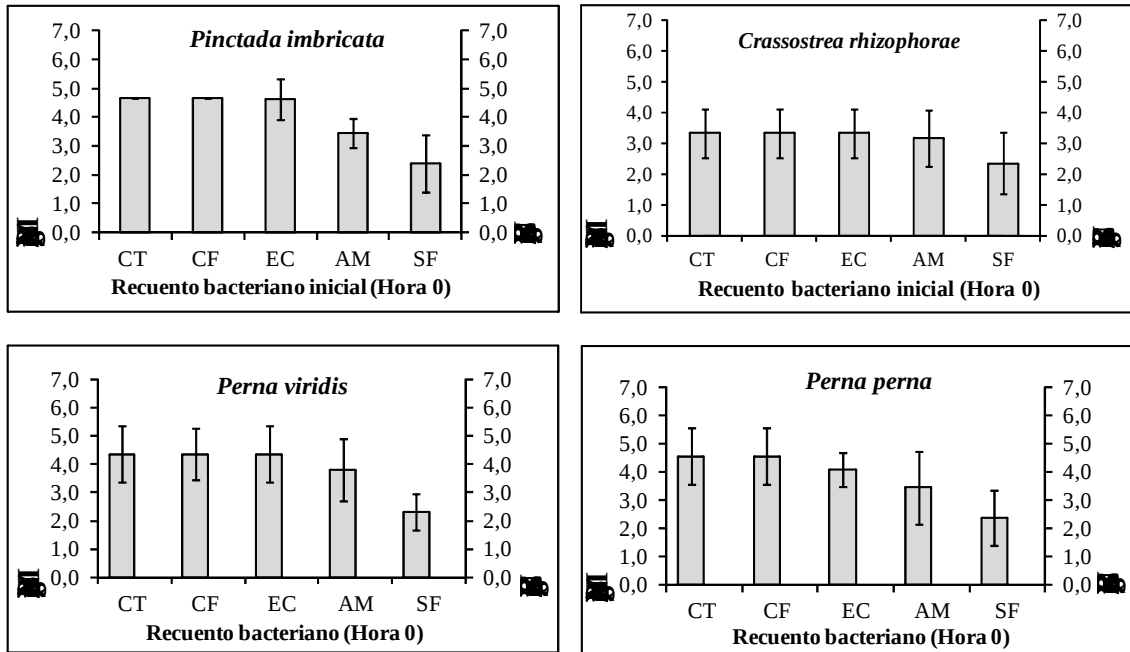


Figura 2. Promedio de la concentración inicial de coliformes totales (CT), coliformes fecales (CF), *Escherichia coli* (EC), aerobios mesófilos (AM) y *Streptococcus faecalis* (SF) en los tejidos de cuatro especies de moluscos bivalvos: *P. imbricata*, *C. rhizophorae*, *P. viridis* y *P. perna* expuestos a contaminación inducida.

Las diferencias en los tiempos de contaminación bacteriana de los mejillones y las ostras, posiblemente dependió más de las características propias de cada especie y sus tasas de bombeo, que de la alta densidad microbiana presente en el agua residual utilizada para estos fines (con concentraciones similares), y como señalan Nunes y Parsons (1998), a diferentes velocidades de filtración, cada una de ellas es capaz de asimilar los contaminantes bióticos y abióticos presentes en su entorno. Asimismo, hay que tomar en cuenta que quizás el proceso de filtración de los animales pudo verse afectado por la cantidad de partículas en suspensión presentes en el agua residual, ocasionando que la tasa de bombeo no estuvieran a su máxima capacidad.

Las ostras, *P. imbricata* y *C. rhizophorae* requirieron mayor cantidad de tiempo de exposición a aguas residuales (72 horas) para acumular una alta carga bacteriana. Estas son especies con tasas bajas de bombeo, 10 y 4 litros/h, respectivamente (Ward, 1996, Silva *et al.*, 2003), lo cual pudo provocar que el proceso de bioacumulación fuera lento. En el caso particular de *C. rhizophorae* la concentración bacteriana baja encontrada en sus tejidos podría involucrar diversos factores que van desde su baja tasa de bombeo hasta la poca apertura de sus valvas y la producción de pseudoheces y heces observadas durante su depuración. Caso contrario, las especies de mejillones, *P. perna* y *P. viridis*, exhibieron una respuesta más rápida (24 horas) a la contaminación bacteriana, debido posiblemente a sus tasas altas de filtración, con un promedio de 40 l/h (Castelló, 1993).

De manera general, la acumulación bacteriana en las ostras y mejillones, probablemente estuvo relacionada con la capacidad de estos bivalvos de capturar partículas grandes (2 - 3  $\mu\text{m}$ ) y retener las partículas pequeñas ( $\sim 2 \mu\text{m}$ ), las cuales se ajustan a los tamaños de *E. coli* y otras bacterias coliformes (Govorin, 2000). De hecho, los miembros de la familia Mytilidae y Ostreidae, a las cuales pertenecen las especies bajo estudio, no presentan selección de partículas en las lamelas branquiales pero si a nivel de los palpos labiales, es decir, los palpos son los órganos encargados de controlar la cantidad de alimento a ingerir, basando la selección en el diámetro de la partícula, composición química, densidad o carga electrostática y el resultado de este proceso será la expulsión de las partículas rechazadas en forma de pseudoheces (Ward, 1998). Tal como señala Barnes (1984), los palpos dirigen las partículas alimenticias en dirección anterior, hacia la boca del animal, favoreciendo la entrada de la materia orgánica.

El análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis (K-W= 15,59; P = 0,0013) mostró diferencias significativas en la densidad bacteriana acumulada en los tejidos de acuerdo a la especie y mediante el diagrama de caja y bigotes se evidenció la

formación de tres grupos, uno conformado por *P. imbricata*, otro por *P. perna* y *P. viridis* y finalmente por *C. rhizophorae*, lo cual denota que las tasas de filtración de estos bivalvos se encuentran implicadas tanto en la velocidad como en el grado de bioacumulación (Apéndice 1).

### **Depuración de bacterias coliformes y *Escherichia coli***

El proceso de depuración se basó en el aprovechamiento de la naturaleza filtradora de los bivalvos, exponiéndolos a agua de mar de buena calidad (sin o muy baja densidad microbiana y de partículas en suspensión), lo cual favoreció la disminución de la carga bacteriana acumulada en sus tejidos. Tal como señalan Lee *et al.* (2008), al colocar estos animales durante cierto tiempo en una corriente de agua de mar limpia, son capaces de reanudar con normalidad su actividad de bombeo y expulsar los contaminantes bacterianos de sus branquias y tracto intestinal.

Para la verificación de la eficiencia del proceso de depuración bacteriana en los bivalvos, se consideraron los niveles máximos permitidos para el consumo de moluscos definidos en la legislación nacional e internacional. En Venezuela, el Ministerio de Agricultura y Cría (MAC) del 6 de abril de 1998, en la providencia N° 4, establece que los moluscos destinados para el consumo humano inmediato, no deben sobrepasar los 230 coliformes fecales, 230 *Escherichia coli* NMP/g de carne y líquido intervalvar y ausencia de *Salmonella* en 25 g de carne. A nivel internacional, la Directiva 91/492 de la Comunidad Económica Europea (CEE) del 15 de julio de 1991 y su transposición en el Real Decreto 345/1993 de 5 de marzo de 1993 de las *Normas sanitarias aplicables a la producción y puesta en el mercado de moluscos bivalvos vivos*, fija límites de 300 coliformes fecales, 230 *Escherichia coli* por 100 g de carne y ausencia de *Salmonella* en 25 g de carne. Mientras que la Administración de Alimentos y Drogas de los Estados Unidos señala un recuento menor a  $5 \times 10^5$  UFC de aerobios mesófilos/g de carne de molusco (FDA, 1990).

El proceso de depuración de bacterias coliformes para *P. imbricata* tomó alrededor de 48 horas, con disminución desde  $4,6 \times 10^4 \pm 0$  NMP coli. totales y coli. fecales/g de tejido a 0 coli. totales y coli. fecales/g, sin embargo la ostra *C. rhizophorae* mostró una respuesta de depuración más rápida, requiriendo solo 12 y 24 horas para eliminar por completo su carga inicial de  $2,3 \times 10^3 \pm 1,4 \times 10^2$  NMP coli. totales y coli. fecales, respectivamente. El mejillón *P. viridis* evidenció un proceso de depuración más rápido con respecto a *P. perna*, pasando en solo 24 horas de concentrar  $2,3 \times 10^4 \pm 1,7 \times 10^2$  NMP coli. totales/g y coli. fecales/g de tejido a 0 coli. totales/g y coli. fecales/g, mientras que *P. perna* requirió 48 horas para disminuirla de  $3,6 \times 10^4 \pm 1,2 \times 10^3$  NMP coli. totales y coli. fecales/g a 0 coli. totales y coli. fecales/g (Figuras 3 y 4). Las concentraciones iniciales de *E. coli* en los tejidos de *P. imbricata*, *C. rhizophorae*, *P. viridis*, y *P. perna* fueron de  $4,2 \times 10^4 \pm 0$ ;  $2,3 \times 10^3 \pm 1,4 \times 10^2$ ;  $2,3 \times 10^4 \pm 1,7 \times 10^2$  y  $1,2 \times 10^4 \pm 3,2 \times 10^3$  NMP *E. coli*/g, respectivamente. Tras 24 horas de exposición al agua tratada con luz ultravioleta, se observó la eliminación de esta especie bacteriana en el mejillón verde, *P. viridis* y en la ostra de mangle, *C. rhizophorae*. Sin embargo, para *P. imbricata* y *P. perna* se necesitaron 48 horas de exposición al agua tratada con UV para una reducción total de la carga bacteriana (Figura 5).

Estadísticamente la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis mostró diferencias significativas en la eliminación de los coliformes totales, coliformes fecales y *E. coli* con respecto a la especie estudiada (K-W= 13,14; P = 0,004, K-W= 10,78; P = 0,012 y K-W= 10,36; P = 0,015, respectivamente). Mediante el diagrama de caja y bigotes se evidenció la formación de dos grupos: el formado por las especies *P. viridis* y *C. rhizophorae* y el otro por *P. perna* y *P. imbricata*, es decir, cada grupo mostró un comportamiento similar durante el proceso de depuración de coliformes y *E. coli*. Asimismo, presentaron diferencias significativas en la densidad de coliformes totales, coliformes fecales y *E. coli* con respecto a las horas de depuración (K-W= 39,12; P =  $6,5 \times 10^{-8}$ , K-W= 41,23; P =  $2,4 \times 10^{-8}$  y K-W= 41,79; P

=  $1,8 \times 10^8$ , respectivamente). Mediante el diagrama de caja y bigotes se demostró la formación de dos grupos, uno conformado por la hora inicial del proceso y el otro por las horas 6, 12, 24 y 48. Esto resulta válido dada la diferencia clara en la densidad bacteriana durante el inicio del proceso de depuración y las horas posteriores, con una reducción gradual de los indicadores bacterianos (Apéndices 2-7). Asimismo, a cada especie de bivalvo se le efectuó el análisis estadístico de Kruskal Wallis, detectándose diferencias significativas en las densidades de coliformes totales, fecales y *E. coli* con respecto a los tiempos de depuración en cada una de las especies de bivalvos (Apéndice 8). En los apéndices 9-20 se muestran los grupos formados para cada uno de ellos.

Mediante la depuración de los moluscos con luz ultravioleta se logró en cortos periodos de tiempo la eliminación de las bacterias coliformes, especialmente las de naturaleza fecal como *Escherichia coli*. Este aspecto es de vital importancia, dado que la presencia de este microorganismo representa un riesgo para la salud de los consumidores y abre la posibilidad que existan otras bacterias entéricas patógenas para el hombre, como *Salmonella* sp. y *Shigella* sp. (Jay, 2000). En los bivalvos la eliminación de la carga bacteriana involucra las funciones de defecación o digestión, esto debido a que bacterias como *E coli* son secuestradas a nivel del tracto digestivo de estos organismos, lo cual fue comprobado por Power y Collins (1989) en la depuración del mejillón, *Mytilus edulis* para establecer el porcentaje de reducción de esta bacteria en diferentes órganos y tejidos, entre los que se encuentran, tracto digestivo, hemolinfa, pie y músculo, manto, branquias y palpos labiales.

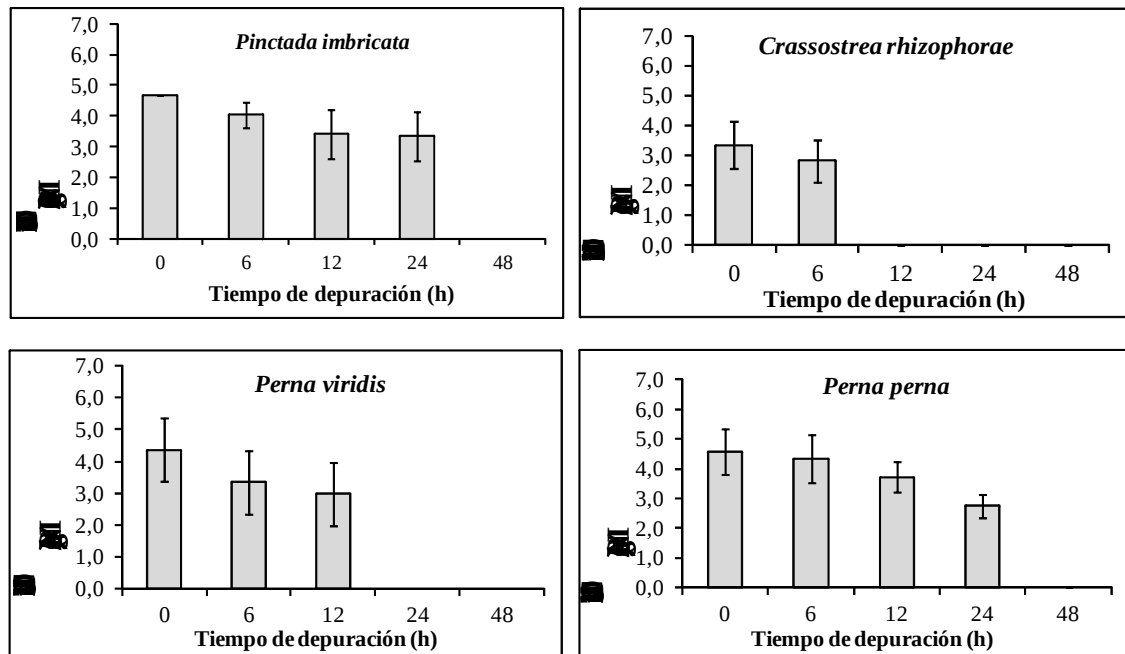


Figura 3. Promedio de la concentración de coliformes totales en los tejidos de cuatro especies de moluscos bivalvos: *P. imbricata*, *C. rhizophorae*, *P. viridis* y *P. perna* expuestos a diferentes tiempos de depuración en agua de mar tratada con luz ultravioleta y flujo continuo.

El proceso de depuración bacteriana fue eficiente pero más lento en *P. imbricata* y *P. perna* en comparación con las otras especies en estudio. Para ambas, esto posiblemente estuvo relacionado con una capacidad alta para retener partículas muy pequeñas como las bacterias bacilares (coliformes, *E. coli*, *Salmonella* sp.), con una magnitud entre 1,5 a 3  $\mu\text{m}$ . En concordancia con ello, Yukihiro *et al.* (1999) demostraron que en *Pinctada margaritifera* y *P. máxima*, las partículas menores a 3  $\mu\text{m}$  pueden pasar con mayor facilidad y ser retenidas en el interior de estos organismos.



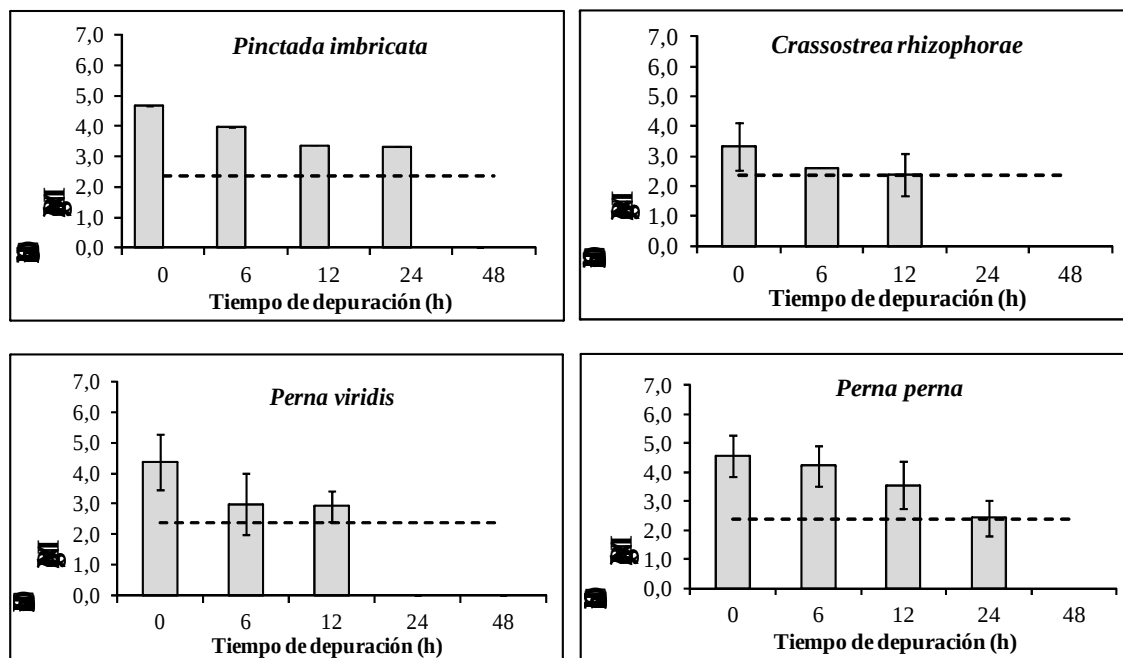


Figura 4. Promedio de la concentración de coliformes fecales en los tejidos de cuatro especies de moluscos bivalvos: *P. imbricata*, *C. rhizophorae*, *P. viridis* y *P. perna* expuestos a diferentes tiempos de depuración en agua de mar tratada con luz ultravioleta y flujo continuo.

----- Límite máximo permitido para moluscos destinados para consumo humano (criterio nacional)

Se han realizado varios trabajos de depuración de moluscos bivalvos en aguas templadas con especies relacionadas como los mejillones, *Mytilus edulis* y *M. galloprovincialis*. Para *Mytilus edulis* varios autores han señalado reducciones de la concentración de *E. coli* a partir de las 24 y 48 horas de depuración, debido a la susceptibilidad de esta bacteria a los procesos digestivos de este bivalvo (Power y Collins, 1990; Mesquita *et al.*, 1991). Mientras que para *M. galloprovincialis* la remoción sustancial de la concentración de *E. coli* se evidenció a partir de las 44 horas de depuración, con una reducción de hasta 95,8% de esta bacteria en las primeras 5 horas del proceso (Crocì *et al.*, 2002). En Venezuela, se efectuó un estudio de depuración bacteriana en la almeja *Polymesoda solida*, reportando una reducción marcada de los coliformes totales y coliformes fecales a partir de las 3 y 24 horas,

respectivamente (Montiel *et al.*, 2009), similar a lo reportado en esta investigación para *C. rhizophorae* y *P. viridis*.

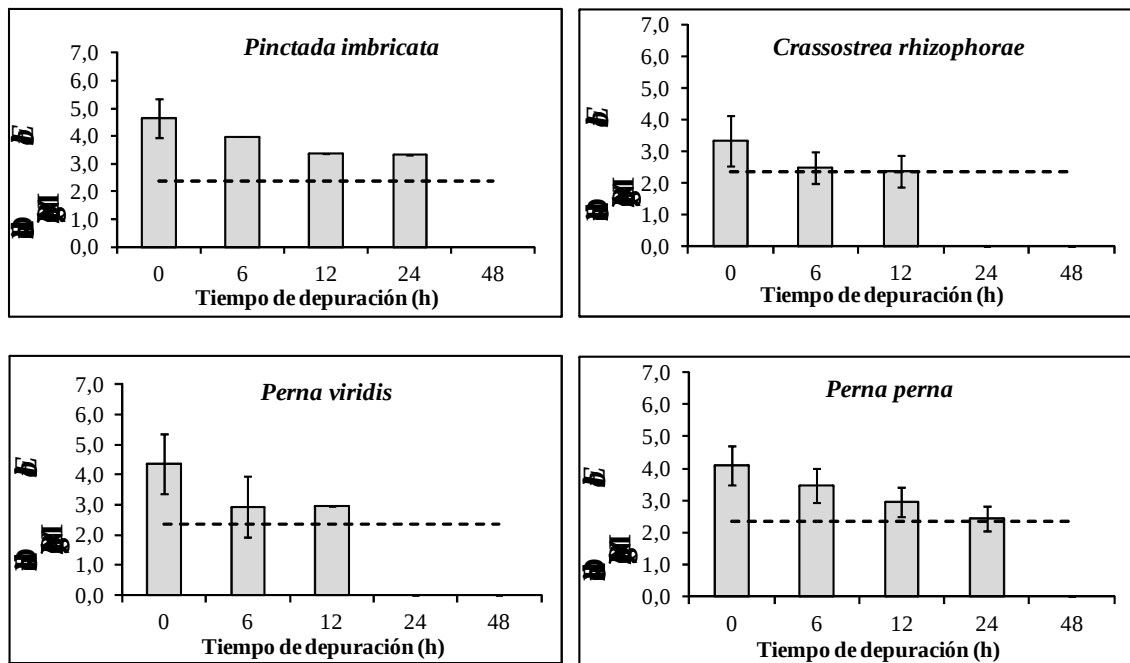


Figura 5. Promedio de la concentración de *Escherichia coli* en los tejidos de cuatro especies de moluscos bivalvos: *P. imbricata*, *C. rhizophorae*, *P. viridis* y *P. perna* expuestos a diferentes tiempos de depuración en agua de mar tratada con luz ultravioleta y flujo continuo.

----- Límite máximo permitido para moluscos destinados para consumo humano (criterio nacional)

### Depuración de aerobios mesófilos

Otro grupo de indicadores de calidad sanitaria utilizado en el análisis microbiológico de moluscos son los aerobios mesófilos, estos son microorganismos heterótrofos, aerobios o anaerobios facultativos, con temperaturas óptimas de crecimiento entre 20 a 45 °C. Su recuento en alimentos, particularmente en bivalvos, implica un riesgo para los consumidores, pues hay que considerar que casi todos los

agentes patógenos humanos son mesófilos, pues la temperatura corporal humana es, casi constantemente de 37 °C (Prescott *et al.*, 2004).

La concentración inicial de aerobios mesófilos aunque por debajo del límite máximo permitido por la FDA (1990) de  $5 \times 10^5$  UFC/g, permitió iniciar el ensayo de depuración y evidenciar la eficacia de este proceso. En la figura 6 se constata que la ostra de mangle, *C. rhizophorae*, presentó una rápida disminución de la carga bacteriana, pasando de  $1,6 \times 10^3 \pm 1,4 \times 10^2$  UFC aerobios mesófilos/g a 0 UFC aerobios mesófilos/g en solo 12 horas de depuración. Mientras que en el caso de *P. viridis* fueron necesarias 24 horas para la eliminación del 100% de una población inicial de  $6,3 \times 10^3 \pm 1,4 \times 10^2$  UFC aerobios mesófilos/g. Sin embargo, para *P. perna* y *P. imbricata* el proceso de depuración se efectuó en 48 horas, pasando de  $2,8 \times 10^3 \pm 2,9 \times 10^2$  y  $2,8 \times 10^3 \pm 3,3 \times 10^2$  UFC aerobios mesófilos/g a 0 UFC aerobios mesófilos/g.

Estadísticamente la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis mostró diferencias significativas en la eliminación de aerobios mesófilos con respecto a la especie estudiada (K-W= 10,14; P = 0,0049). Mediante el diagrama de caja y bigotes se evidenció la formación de dos grupos, uno conformado por *P. viridis* y *C. rhizophorae* y otro por *P. perna* y *P. imbricata*, mostrando cada grupo un comportamiento similar durante el proceso de depuración de este grupo bacteriano. Asimismo, se presentaron diferencias significativas en la densidad de aerobios mesófilos con respecto a las horas de depuración (K-W= 48,18; P =  $8,6 \times 10^{10}$ ). Mediante el diagrama de caja y bigotes se confirmó la formación de dos grupos, uno conformado por la hora inicial de depuración y el otro por las horas 6, 12, 24 y 48, es decir, aquel conformado por el momento en que los bivalvos presentan la mayor concentración de este grupo bacteriano y las horas restantes, donde se evidencia la respuesta positiva de los bivalvos, mediante una reducción gradual de la concentración de aerobios mesófilos en sus tejidos (Apéndices 21-22).

Esta situación fue similar, cuando se le efectuó el análisis estadístico de Kruskal Wallis a cada especie de bivalvo, detectándose diferencias significativas en las concentraciones de bacterias aerobias mesófilas con respecto a los tiempos de depuración (Apéndices 8, 23-26).

En el proceso de depuración de este grupo bacteriano, *P. perna* y *P. imbricata* mostraron una tasa de eliminación más lenta (48 horas) con respecto a *P. viridis* (24 horas) y *C. rhizophorae* (12 horas). Como se mencionó anteriormente, la disminución paulatina en la densidad de aerobios mesófilos en *P. perna* y *P. imbricata*, pudo estar relacionada con una mayor capacidad de retención bacteriana y a mecanismos menos eficientes que eviten la invasión de los microorganismos en sus tejidos. En el trabajo de depuración realizado por Montiel *et al.* (2009) en la almeja, *Polymesoda solida* se requirieron 24 horas para eliminar la población de aerobios mesófilos, es decir, mostró un comportamiento similar a *P. viridis*. Sin embargo, el mejillón, *Mytilus galloprovincialis*, solo mostró una reducción del 36,5% de la población de bacterias mesófilas tras 48 horas de depuración, lo cual pudo estar relacionado con las bajas temperaturas del agua en España (14-18 °C), que provoca una disminución de la velocidad del metabolismo de los animales (Martínez *et al.*, 2009). De manera particular, las diferencias en los tiempos de depuración además de estar relacionadas con la especie estudiada, también puede relacionarse con la temperatura del agua. En nuestro trabajo la temperatura varió entre 26-27 °C y en el de Montiel *et al.* (2009) se mantuvo en 30 °C. La temperatura es un factor que acelera la tasa metabólica y probablemente esto influye en una mayor tasa de filtración y con ello en un menor tiempo de depuración. Love *et al.* (2010) señalaron que las temperaturas más cálidas del agua aumentan las tasas de depuración bacteriana en moluscos. La base biológica es que las aguas cálidas, dentro de los límites fisiológicos de cada especie, promueven una mayor tasa de digestión, velocidad de bombeo y actividad enzimática de los bivalvos, lo cual contribuye a la reducción microbiana.

Este método de depuración con luz ultravioleta aplicado a las especies de ostras y mejillones de interés comercial ensayadas, mostraron una excelente respuesta para la remoción de bacterias aerobias mesófilas en cortos periodos de tiempo y este grupo es recomendado como un indicador de la calidad general y, en menor medida, de un manejo sanitario adecuado del producto para su consumo (Tellez *et al.*, 1999).

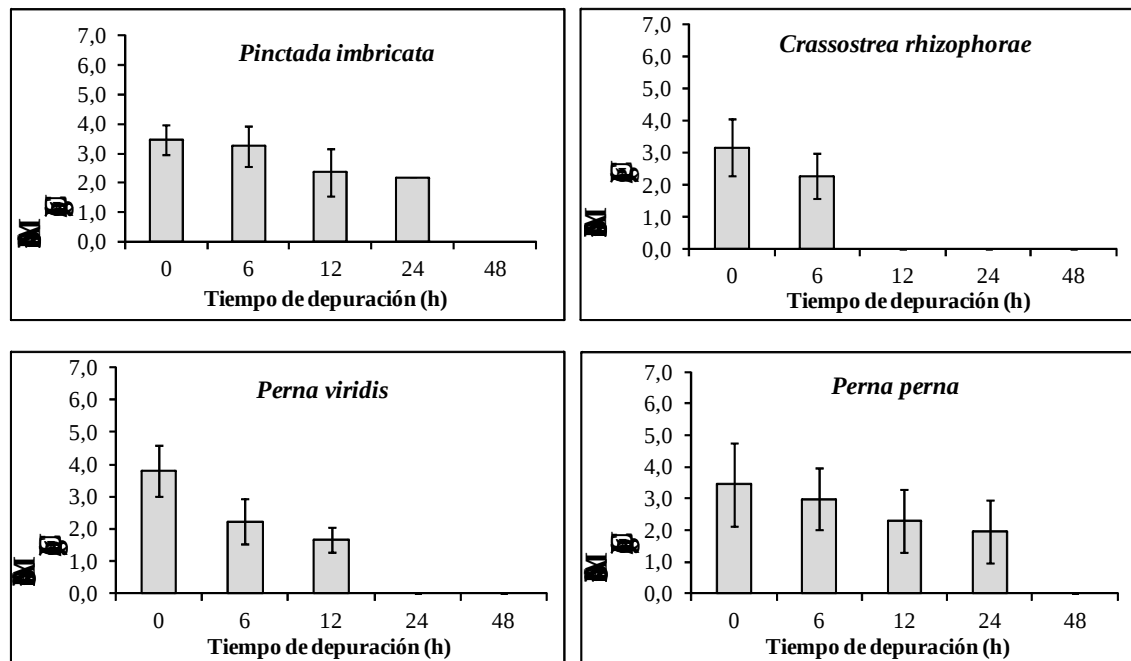


Figura 6. Promedio de la concentración de aerobios mesófilos en los tejidos de cuatro especies de moluscos bivalvos: *P. imbricata*, *C. rhizophorae*, *P. viridis* y *P. perna* expuestos a diferentes tiempos de depuración en agua de mar tratada con luz ultravioleta y flujo continuo.

### Depuración de *Streptococcus faecalis*

En la figura 7 se evidencia que las cuatro especies de bivalvos presentaron una respuesta similar para la remoción de *S. faecalis*, requiriendo solo 6 horas para disminuir el 100% de la carga bacteriana inicial desde  $2,4 \times 10^2 \pm 8,8$ ;  $2,2 \times 10^2 \pm 1,5 \times 10$ ,  $2,0 \times 10^2 \pm 1,4 \times 10$  y  $2,3 \times 10^2 \pm 4,0 \times 10$  UFC *S. faecalis*/g en *P. imbricata*, *C. rhizophorae*, *P. viridis* y *P. perna*, respectivamente hasta 0 UFC *S. faecalis*/g.

De hecho, estadísticamente la prueba de Kruskal Wallis no mostró diferencias en la eliminación de *S. faecalis* de acuerdo a la especie (K-W= 0,09; P= 0,99), corroborando un comportamiento semejante entre ellas con respecto a la eliminación de esta especie bacteriana. Sin embargo, se detectó diferencias significativas en las concentraciones de *S. faecalis* con respecto a los tiempos de depuración (K-W= 57,04; P =  $1,2 \times 10^{11}$ ). El diagrama de caja y bigotes mostró la formación de dos grupos, uno conformado por la hora 0 y el otro por las horas 6, 12, 24 y 48 (Apéndice 27). El análisis estadístico para cada especie de bivalvo detectó diferencias significativas en las concentraciones de *S. faecalis* con respecto a los tiempos de depuración y resaltando en todas una diferencia marcada entre la concentración de esta bacteria durante el inicio de la depuración (hora 0) y las horas posteriores, momento en el cual ya se había dado la eliminación de esta especie bacteriana (Apéndices 8, 28-31).

En este ensayo se logró suprimir en un corto periodo de tiempo la población de estreptococos fecales en los bivalvos, lo cual es importante pues es parte de la flora del tracto gastrointestinal de los animales de sangre caliente y por lo tanto permite valorar la calidad sanitaria de los alimentos (Pita, 2002).

A pesar de que *S. faecalis* presenta una alta tolerancia en el medio marino, en este trabajo exhibió una alta sensibilidad al proceso de depuración al que se expusieron los bivalvos. *S. faecalis* es una bacteria esférica con un diámetro entre 0,5 a 1  $\mu\text{m}$ , por lo se podría pensar en una mayor probabilidad de entrada y retención en los tejidos de los moluscos estudiados, sin embargo, existe la posibilidad de una respuesta a nivel enzimático que disminuyera la capacidad de colonización de esta bacteria. Costa (2008), señala la presencia de la lisozima, una enzima que hidroliza los enlaces  $\beta$ -1,4 existentes entre el ácido N-acetilmurámico y los residuos de N-acetilglucosamina presentes en el peptidoglicano de la pared celular bacteriana,

presentando una mayor actividad microbicida contra bacterias Gram-positivas, tal como *S. faecalis*. La actividad de la lisozima se ha manifestado en varios bivalvos, entre los que destacan especies pertenecientes a algunas familias de las especies utilizadas en este estudio como la ostra americana, *Crassostrea virginica*, (Itoh *et al.*, 2007), la ostra japonesa, *Crassostrea gigas* (Itoh y Takahashi, 2007), la ostra plana, *Ostrea edulis* (Matsumoto *et al.*, 2006), la almeja americana (*Mercenaria mercenaria*), el mejillón azul (*Mytilus edulis*) (Olsen *et al.*, 2003) y el mejillón del Mediterráneo (*Mytilus galloprovincialis*) (Carballal *et al.*, 1997). Tal como señalan Li *et al.* (2010), la evidencia disponible apoya la hipótesis de que la persistencia de bacterias en el tejido de bivalvos depende en gran parte su sensibilidad a la actividad bactericida, las propiedades de la superficie celular de las bacterias y las condiciones ambientales.

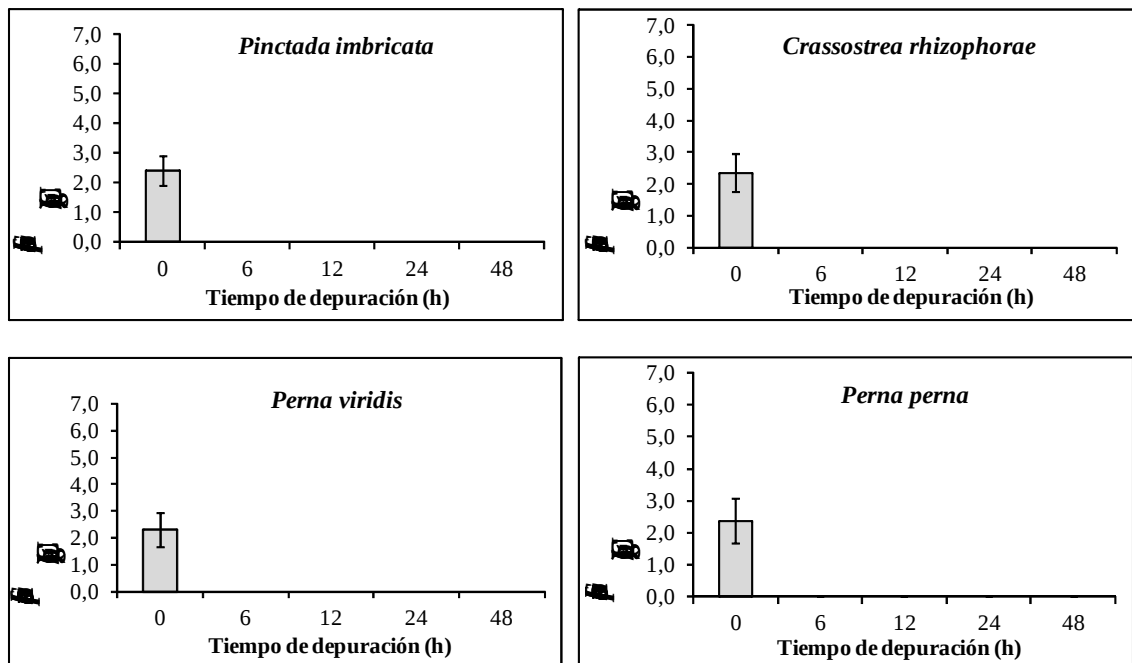


Figura 7. Promedio de la concentración de *Streptococcus faecalis* en los tejidos de cuatro especies de moluscos bivalvos: *P. imbricata*, *C. rhizophorae*, *P. viridis* y *P. perna* expuestos a diferentes tiempos de depuración en agua de mar tratada con luz ultravioleta y flujo continuo.

De manera análoga a esta investigación, trabajos de depuración en especies como el mejillón azul, *Mytilus edulis* (Mesquita *et al.*, 1991) y la almeja, *Polymesoda solida*, (Montiel *et al.*, 2009) con un alto recuento inicial de esta bacteria, mostraron una reducción de *S. faecalis* en solo 12 y 3 horas de exposición a agua tratada con luz ultravioleta, respectivamente. Sin embargo, Love *et al.* (2010) manifestaron que en la ostra, *Crassostrea virginica* fueron necesarias 44 horas de depuración para disminuir esta población bacteriana en un 95,6%, un tiempo mucho mayor que el requerido en este estudio, lo que probablemente estuvo vinculado con un metabolismo más lento de los animales debido a las menores temperaturas del agua (12-25 °C).

#### **Depuración de *Salmonella* sp.**

El proceso de depuración de *Salmonella* sp. en *P. imbricata* tomó alrededor de 24 horas, es decir, la ausencia de esta bacteria en 25 g del molusco. Mientras que para *C. rhizophorae*, *P. viridis* y *P. perna*, la remoción de esta bacteria se evidenció a partir de las 12 horas de depuración (Tabla 2). Los resultados permiten inferir que este método de depuración puede ser aplicado con éxito para la remoción de la misma en ostras y mejillones, ya que solo en la ostra perla, *P. imbricata*, este proceso requirió un poco más de tiempo, aunque no por ello puede considerarse menos exitoso. Posiblemente, esto pudo relacionarse con la naturaleza de esta especie de ostra, a la cual se le ha reportado una alta capacidad de retención de partículas menores a 3  $\mu\text{m}$  y por ende una gran probabilidad de retención de esta bacteria (Yukihira *et al.*, 1999).



Tabla 1. Presencia de *Salmonella* sp. en los tejidos de cuatro especies de moluscos bivalvos: *P. imbricata*, *C. rhizophorae*, *P. viridis* y *P. perna* expuestos a diferentes tiempos de depuración en agua de mar tratada con luz ultravioleta y flujo continuo.

Especie	Tiempo de Depuración (h)				
	0	6	12	24	48
<i>Pinctada imbricata</i>	+	+	+	-	-
<i>Crassostrea rhizophorae</i>	+	+	-	-	-
<i>Perna viridis</i>	+	+	-	-	-
<i>Perna perna</i>	+	+	-	-	-

- Ausencia; + Presencia/25 g de molusco

Esta investigación arrojó resultados positivos para el control de *Salmonella* sp., sin embargo, en un trabajo de depuración realizado por Morrison *et al.* (2011) en la ostra del pacífico, *Crassostrea gigas*, esta no mostró una disminución considerable en la concentración de *Salmonella* sp., tras 72 horas de exposición a agua irradiada con luz ultravioleta. Estos autores atribuyeron esta situación a una alta capacidad de esta bacteria para colonizar la ostra debido a la presencia de factores de virulencia que facilitarían su persistencia en el molusco.

Por ello, la aplicación de esta técnica debe ser aprovechada a los fines de responder responsablemente cuando se realicen actividades de acuicultura. Hay que tomar en cuenta que la presencia de *Salmonella* sp. en moluscos representa un riesgo para los consumidores, y de hecho es señalada como uno de los patógenos implicados en intoxicaciones alimentarias por consumo de alimentos crudos, siendo la salmonelosis una de las infecciones entéricas más serias, con una tasa de mortalidad a nivel mundial de 4,1 % (Quiñones *et al.*, 2000).

## **CALIDAD SANITARIA DEL AGUA DURANTE EL ENSAYO DE DEPURACIÓN**

Como referencia de la calidad del agua utilizada para la depuración de los moluscos, se tomaron en consideración los valores permitidos para aguas tipo 3, es decir, “aguas marinas o medios costeros destinados a la cría y explotación de organismos acuáticos”, establecido en la Gaceta Oficial Venezolana N° 5.021 (18-12- 95). Decreto 883, el cuales establece que éstas no deben superar los 70 NMP/100 ml coliformes totales y 14 NMP/100 ml coliformes fecales. Asimismo, se contrastaron con los índices reportados para varios países por la World Health Organization (WHO, 1999) para zonas de cultivo de moluscos, los cuales deben estar por debajo de 90 NMP/100 ml coliformes totales y de 10 NMP/100 ml coliformes fecales.

En las figuras 8-10, se muestran la densidades de coliformes y *E. coli* en las muestras de agua de los tanques durante las horas de exposición de las cuatro especies de bivalvos estudiadas, las cuales oscilaron entre 0-10 coli. totales/100 ml y 0-7 coli. fecales y *E. coli* /100 ml de agua, respectivamente. En general, la calidad del agua irradiada con luz UV durante todo el proceso de depuración se mantuvo por debajo del límite máximo permitido para aguas destinadas a cría de organismos acuáticos, lo cual indicó un buen funcionamiento del sistema de depuración, es decir, del proceso de filtrado, luz ultravioleta y la velocidad de flujo (entrada y salida) del agua de mar; que consecuentemente reducen la cantidad de partículas y bacterias indicadoras que afectan el proceso de descontaminación de los bivalvos.

La aplicación de un sistema de depuración para bivalvos con flujo continuo de agua irradiada con luz ultravioleta, demostró ser eficaz en la purificación de los bivalvos. Su principal ventaja es que se realiza bajo condiciones controladas, es decir, los animales no están expuestos a los cambios bruscos que pueden producirse en el medio marino (mareas, actividades antropogénicas, etc) y que la remoción bacteriana se da en un corto periodo de tiempo, con un máximo de dos días, en el caso de *P. imbricata*. Tal como señalan Jones *et al.* (1991) entre más tiempo se extienda la purificación, se incrementan las posibilidades de reducir el sabor y la calidad de los bivalvos y puede incluso, llevar a la mortalidad de los animales debido a la falta de disponibilidad de alimentos, lo cual no es conveniente para los productores desde el punto de vista económico.

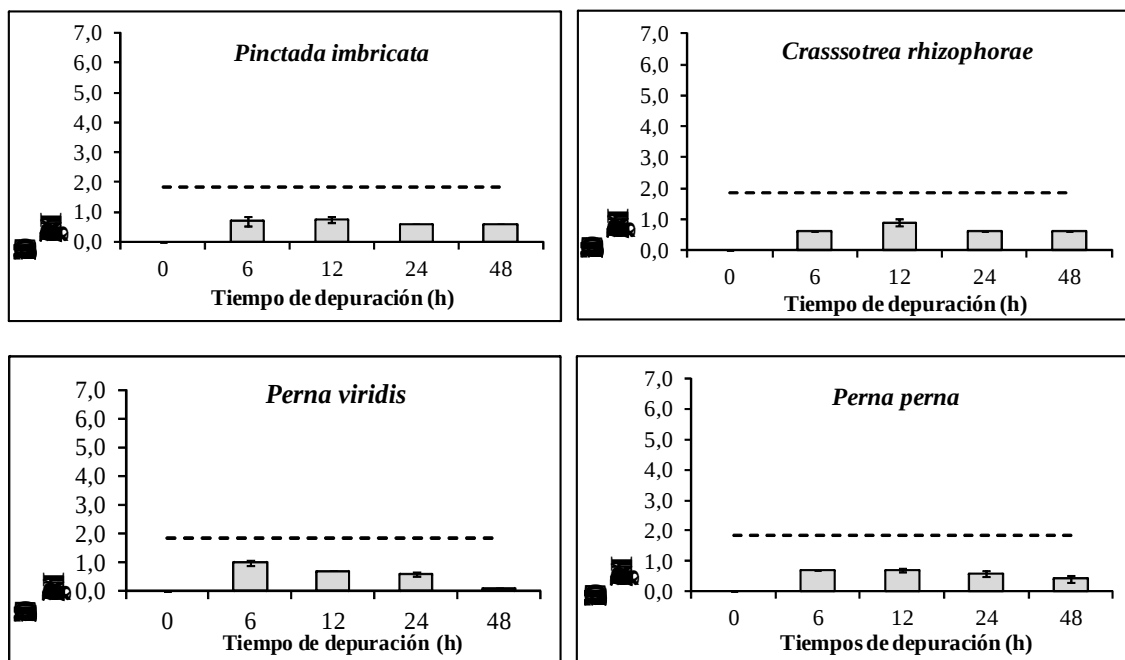


Figura 8. Promedio de la concentración de coliformes totales en muestras de agua de mar de los tanques durante 0 (sin bivalvos), 6, 12, 24 y 48 h de exposición de bivalvos a depuración con luz UV y flujo continuo.

----- Límite máximo permitido para aguas destinadas a cría de organismos acuáticos

Esto deriva en una ventaja de este sistema sobre otros métodos como los de autodepuración en el medio natural, donde los animales deben estar expuestos por lo menos dos meses cuando presentan una alta carga de contaminantes, tal como recomienda la norma de la Comunidad Económica Europea (CEE) 91/492, en cuanto a las condiciones sanitarias de producción y comercialización de moluscos bivalvos vivos (CEE, 1991; Lees, 2000). En este tipo de depuración los bivalvos son más susceptibles a las perturbaciones ambientales como las fluctuaciones de temperatura, los movimientos del agua (mareas), asfixia, obstrucción por sedimentos, estrés fisiológico, floraciones algales nocivas, etc. Así como a las variaciones naturales en las poblaciones de bacterias o agentes contaminantes producto de lluvias y escorrentías que aumentan las posibilidades de recontaminación de los bivalvos (Oliveira *et al.*, 2011).

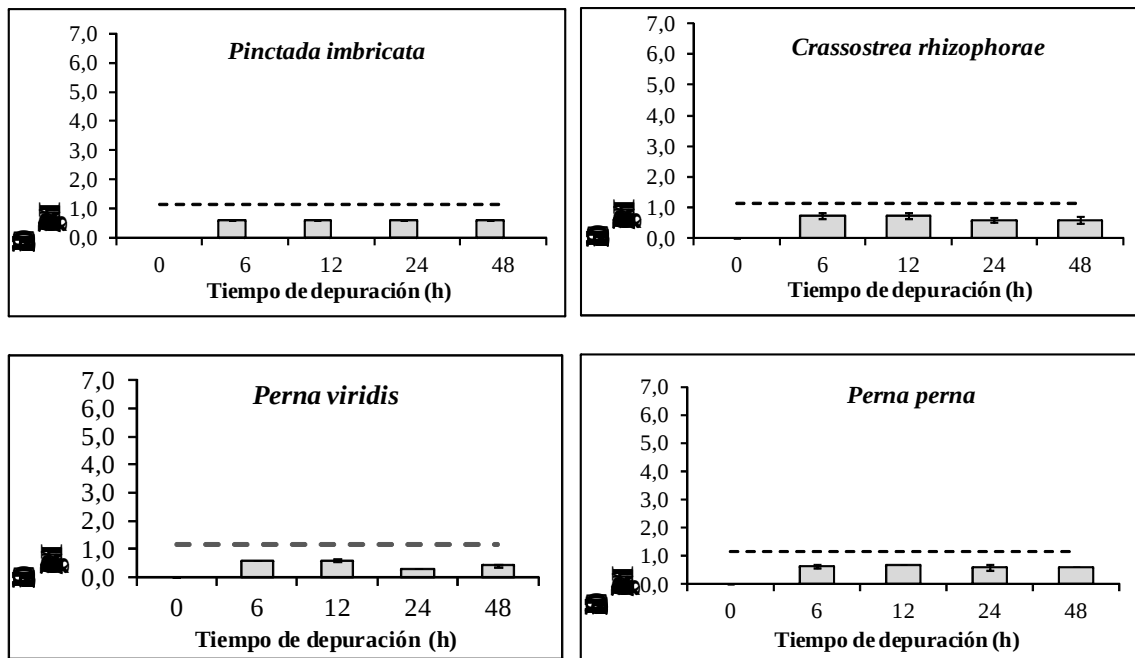


Figura 9. Promedio de la concentración de coliformes fecales en muestras de agua de mar de los tanques durante 0 (sin bivalvos), 6, 12, 24 y 48 h de exposición de bivalvos a depuración con luz UV y flujo continuo.

----- Límite máximo permitido para aguas destinadas a cría de organismos acuáticos

El sistema de depuración a escala piloto utilizado en esta investigación es una alternativa para una acuicultura sustentable, procurando un producto seguro para el consumidor, dado que en estos momentos no se cuentan con controles sanitarios permanentes de los bivalvos comercializados, lo que incrementa las probabilidades de que se presenten brotes de toxoinfecciones alimentarias en la población. De hecho trabajos realizados en mejillones (*P. perna* y *P. viridis*) (Muñoz, 2006) y ostras (*C. rhizophorae*) (González, 2008) extraídas de bancos naturales del estado Sucre, han sugerido la necesidad de realizar procesos de depuración antes de que sean consumidos dada la alta carga bacteriana que presentan (coliformes, *E. coli*, etc).

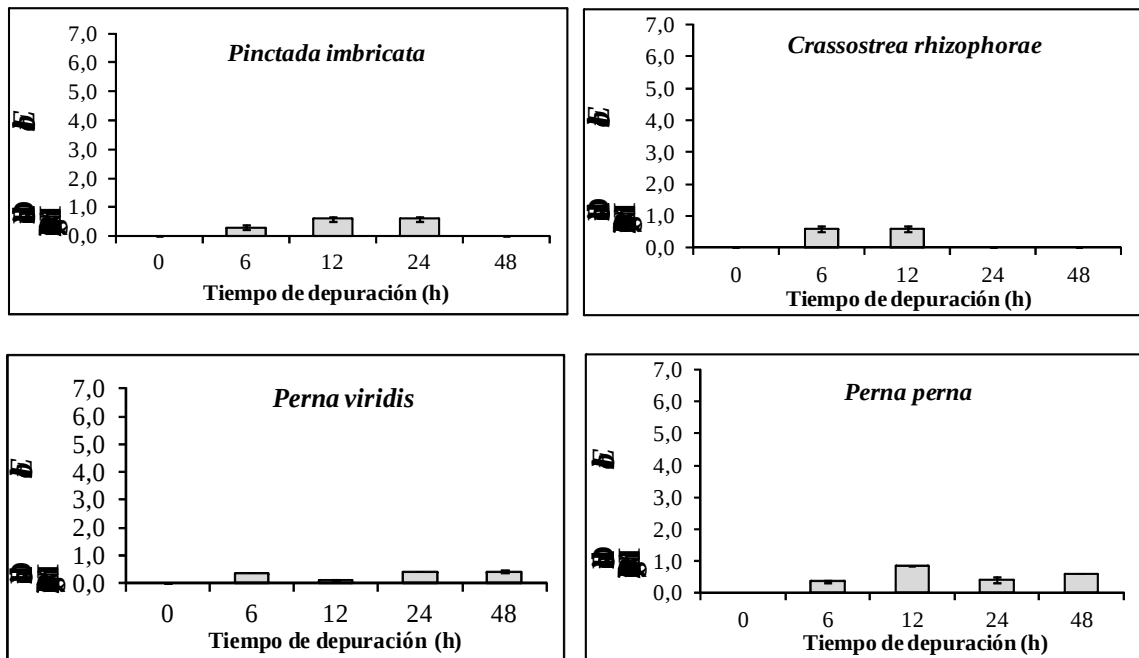


Figura 10. Promedio de la concentración de *E. coli* en muestras de agua de mar de los tanques durante 0 (sin bivalvos), 6, 12, 24 y 48 h de exposición de bivalvos a depuración con luz UV y flujo continuo.

Es importante señalar que durante el proceso de depuración de los bivalvos se monitorearon los parámetros fisicoquímicos en el agua, tales como, temperatura, salinidad y oxígeno disuelto, los cuales no presentaron cambios bruscos, oscilando entre 26,4 - 27,5 °C; 36,0 – 36,2 ‰ y 5,5 - 7,20 mg/l, respectivamente (Figura 11). La temperatura y la salinidad, son dos parámetros importantes a considerar en el proceso de purificación de los moluscos, de hecho Maffei *et al.* 2009 señalaron que temperaturas mayores a 20 °C pueden ser favorables para una rápida remoción de *E. coli* y otras bacterias indeseables, es decir, hay una posible disminución del tiempo requerido para una depuración efectiva. De manera general, la salinidad se mantuvo constante (36 ‰) y estos valores estuvieron dentro de lo reportado en los bancos naturales de *P. imbricata* (Marcano *et al.*, 2005), *C. rhizophorae* (Prieto *et al.*, 2008) y *P. perna* y *P. viridis* (Muñoz, 2006), es decir, probablemente la salinidad no afectó la respuesta de los bivalvos a la depuración.

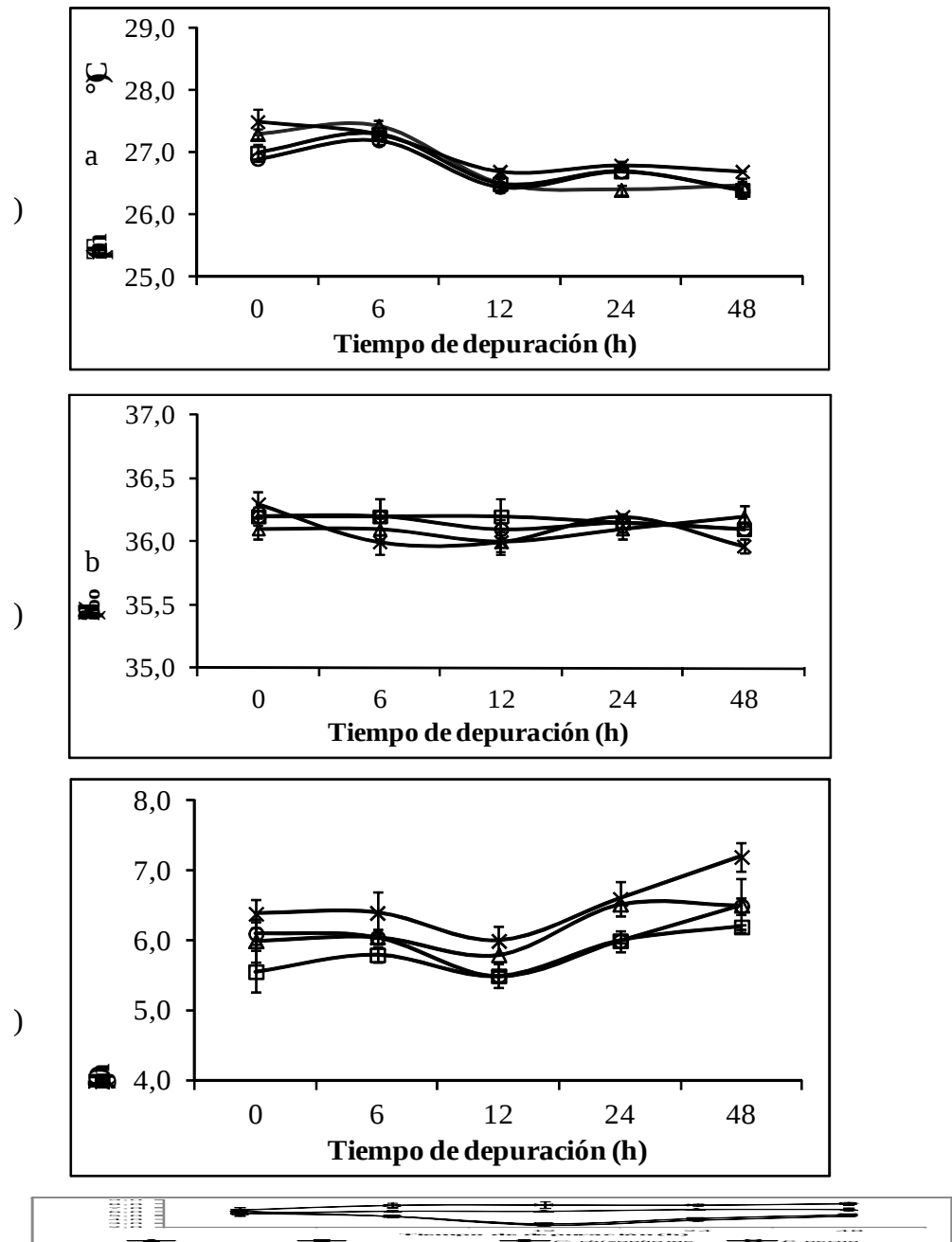


Figura 11. Distribución de los parámetros fisicoquímicos: a) temperatura (°C), b) salinidad (%), c) oxígeno disuelto (mg/l) en el agua de los tanques durante 0 (sin bivalvos), 6, 12, 24 y 48 h de exposición de bivalvos a depuración con luz UV y flujo continuo.

Durante las actividades de depuración, el oxígeno disuelto se mantuvo en niveles mayores a 5 mg/l, concentración que se considera óptima para la realización de actividades de acuicultura según la Gaceta Oficial de la República de Venezuela N° 5.021 (18 de diciembre de 1995), la cual señala que la concentración mínima de oxígeno disuelto aceptable para el cultivo de organismos marinos es 5 mg/l. Lee *et al.* (2008) sugieren que se deben mantener niveles adecuados de oxígeno disuelto en el agua para asegurar la actividad fisiológica de los bivalvos y por defecto la eficiencia de la depuración. Asimismo, estos autores señalan la importancia de que el método de aireación aplicado para procurar una buena concentración de oxígeno en el agua, no comprometa otros aspectos del proceso, por ejemplo, que no provoque la resuspensión o la correcta eliminación de las heces y pseudoheces expulsadas por los bivalvos.



## ÍNDICE ARN/ADN DE LAS CUATRO ESPECIES DE MOLUSCOS BIVALVOS DURANTE LA DEPURACIÓN

El índice ARN/ADN es utilizado para el seguimiento del estado fisiológico de una amplia gama de organismos marinos, entre los que se encuentran el fitoplancton, zooplancton, peces, bivalvos, cefalópodos y crustáceos (Chícharo y Chícharo, 2008). Particularmente en esta investigación, este índice permite evaluar la respuesta de los bivalvos ante el estrés ambiental, en este caso por contaminación antropogénica de origen bacteriano (Acosta y Lodeiros, 2003).

En la figura 12 se muestra la variación del índice ARN/ADN de las cuatro especies de bivalvos durante el proceso de depuración. *P. imbricata*, presentó valores que oscilaron entre  $0,515 \pm 0,178$  (hora 0) y  $1,396 \pm 0,202$  (hora 48), mientras que en *C. rhizophorae*, fluctuó entre  $0,560 \pm 0,129$  (hora 0) y  $1,311 \pm 0,253$  (hora 48). Durante el inicio de la depuración, el índice ARN/ADN del mejillón verde, *P. viridis*, estuvo entre  $0,698 \pm 0,193$  y para el final de la depuración (48 horas) fue de  $1,502 \pm 0,220$ . Asimismo, el mejillón marrón, *P. perna*, presentó valores que oscilaron entre  $0,632 \pm 0,167$  (hora 0) y  $1,761 \pm 0,104$  (hora 48). En todas las especies estudiadas, se detectó un menor índice ARN/ADN durante la hora inicial, correspondiente al momento en que los animales presentaron una alta carga bacteriana en sus tejidos y un incremento progresivo de este índice a medida que avanzó el proceso de depuración.

Esto se corroboró estadísticamente mediante la prueba de Kruskal Wallis, la cual mostró que no existían diferencias en el índice ARN/ADN de acuerdo a la especie de molusco (K-W= 1,65; P= 0,65), es decir que todas las especies mostraron un comportamiento similar, como se mencionó anteriormente. Sin embargo, se detectó diferencias significativas en este índice con respecto a los tiempos de depuración (K-W= 37,10; P =  $1,7 \times 10^7$ ). El diagrama de caja y bigotes evidenció la

formación de dos grupos, uno conformado por las horas 0, 6, 12, 24 y otro por la hora 48. Lo cual mostró el cambio que experimenta este índice desde que los organismos están contaminados hasta el momento en que se depuran (Apéndice 32). Para cada especie se encontraron diferencias significativas en los índices ARN/ADN reportados con respecto a los tiempos de depuración, siendo los siguientes: *P. imbricata* (K-W= 10,37; P = 0,03), *C. rhizophorae* (K-W= 11,34; P = 0,01), *P. viridis* (K-W= 39,12; P =  $6,5 \times 10^8$ ) y *P. perna* (K-W= 10,12; P = 0,03) (Apéndices 33-36).

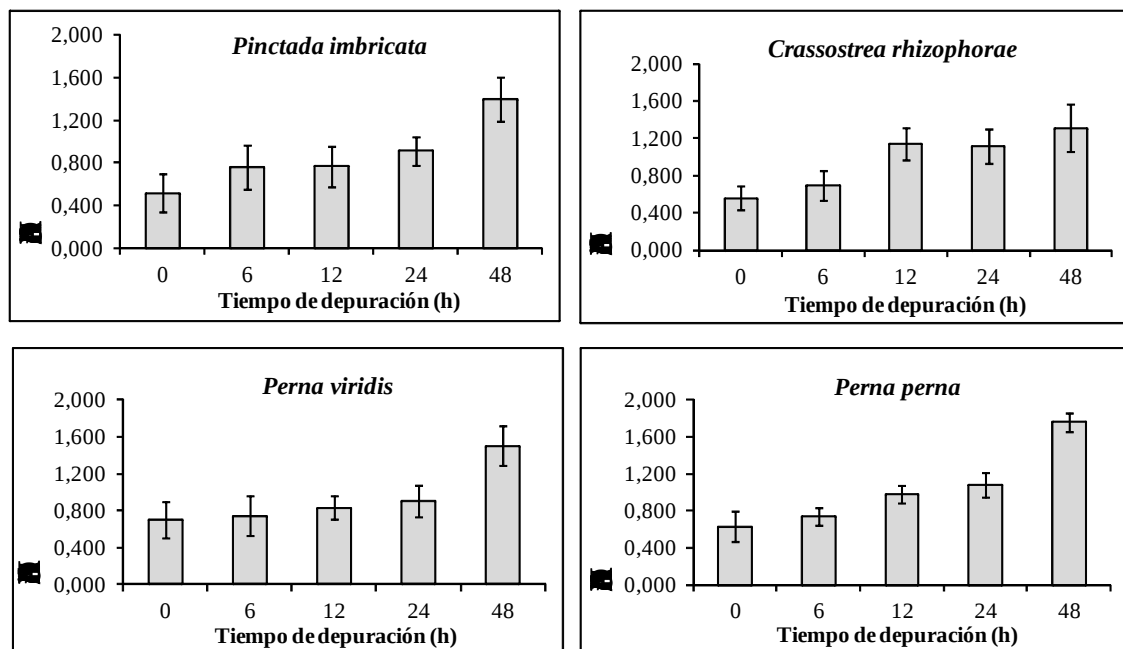


Figura 12. Índice de ARN/ADN de las cuatro especies de moluscos bivalvos: *P. imbricata*, *C. rhizophorae*, *P. viridis* y *P. perna* expuestos a diferentes tiempos de depuración en agua de mar tratada con luz ultravioleta y flujo continuo.

En las ostras y mejillones un bajo índice ARN/ADN (como el detectado durante la hora 0) pone de manifiesto que la exposición a una elevada carga bacteriana y su acumulación en los tejidos, ocasionó que los animales probablemente destinaran su energía a combatir las bacterias mediante la activación del sistema de defensa innato. Tal como señalan González y Arenas (2002), los mecanismos de defensa en moluscos

cumplen una importante función protectora contra bacterias, hongos, protozoarios y metazoos. Los hemocitos son los responsables de generar diferentes tipos de respuestas innatas tales como: fagocitosis, encapsulación, producción de sustancias citotóxicas y péptidos antibacterianos. Al contrario, la relación ARN/ADN fue incrementándose a medida que transcurrió el proceso de depuración en los bivalvos, esto evidencia que quizás estos organismos una vez que las condiciones han mejorado son capaces de dirigir nuevamente la energía hacia el crecimiento, mediante una mayor síntesis de proteínas (aumento del ARN) (Acosta y Lodeiros, 2003). Por lo tanto, la relación ARN/ADN constituyó un índice fisiológico apropiado que reflejó la respuesta del estado metabólico de los organismos tanto en condiciones de estrés por contaminación bacteriana como en condiciones de homeostasis tras el proceso de depuración.

Esta tendencia en la relación ARN/ADN fue reportada para varias especies de moluscos contaminados con metales. Trabajos realizados en el mejillón verde, *Perna viridis* (Acosta y Lodeiros, 2001) y en el guacuco, *Tivela mactroides* (Acosta y Lodeiros, 2004) expuestos a cobre demostraron que el incremento de la concentración de cobre en el medio disminuye el índice ARN/ADN, lo cual revela el efecto que ejerce este metal sobre el metabolismo fisiológico de estos bivalvos. Sin embargo, a menores concentraciones de este elemento se observó un incremento de este índice producto de una respuesta antitóxica, la cual estuvo acompañada por la síntesis de proteínas. Asimismo, Antón *et al.* (2008) en un ensayo realizado con *Donax denticulatus*, reportaron un valor más bajo de este índice en los organismos expuestos a altas concentraciones de cadmio y un aumento del mismo tras 21 días de depuración de los animales. Los autores relacionaron la baja del índice con el gasto energético que implican los procesos de incorporación, metabolización y excreción del metal.



## ÍNDICE DE CONDICIÓN DE LAS CUATRO ESPECIES DE MOLUSCOS BIVALVOS DURANTE LA DEPURACIÓN

El índice de condición es un método indirecto que permite inferir la calidad comercial y el estado fisiológico de los moluscos bivalvos, estando asociado intrínsecamente a la reproducción, ciclos de utilización y almacenamiento de energía y extrínsecamente se encuentra influenciado por la disponibilidad de alimento y temperatura, es decir, puede indicar la respuesta de los organismos ante variaciones ambientales (Prieto *et al.*, 1999; Orban *et al.*, 2002).

En la figura 13 se muestra la variación en el índice de condición de las cuatro especies de bivalvos durante el proceso de depuración. *P. imbricata*, con una talla promedio de  $55 \pm 1,6$  mm, presentó valores que oscilaron entre  $17,0 \pm 0,48\%$  (hora 0) y  $15,6 \pm 0,55\%$  (hora 48), mientras que en *C. rhizophorae*, con una longitud promedio de  $50 \pm 1,8$  mm, el índice fluctuó entre  $15,6 \pm 0,38\%$  (hora 0) y  $14,5 \pm 1,09\%$  (hora 48). Durante la hora inicial de depuración (hora 0), el índice de condición del mejillón verde, *P. viridis*, estuvo entre  $17,3 \pm 0,78\%$  y para el final de la depuración (48 horas) el porcentaje fue de  $15,5 \pm 0,80\%$ . Asimismo, el mejillón marrón, *P. perna*, presentó valores que oscilaron entre  $15,9 \pm 0,47\%$  (hora 0) y  $15,2 \pm 0,99\%$  (hora 48). Para los ejemplares de *P. viridis* y *P. perna* las tallas promedios fueron de  $72 \pm 2,4$  y  $69 \pm 1,4$  mm de longitud, respectivamente.

Durante el ensayo no se mostró un cambio brusco en los índices de condición de los organismos de cada especie durante el tiempo en que se efectuó la depuración bacteriana. Esto se corroboró mediante la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis, la cual no mostró diferencias significativas en estas variables para *P. imbricata* (K-W= 7,81; P = 0,09), *C. rhizophorae* (K-W= 4,41; P = 0,35), *P. viridis* (K-W= 5,34; P = 0,25) y *P. perna* (K-W= 2,02; P = 0,73). Asimismo, no se encontraron diferencias en los índices de condición de los organismos con respecto a las horas de depuración

(K-W= 8,96; P = 0,06). Sin embargo, si hubo diferencias significativas en estos índices con respecto a la especie sometida a depuración (K-W= 17,34; P= 0,0005) y mediante el diagrama de caja y bigotes se nostró la formación de dos grupos, uno conformado por las especies *P. imbricata* y *P. viridis* y el otro por *C. rhizophorae* y *P. perna*, es decir, cada uno de esos grupos presentaron un comportamiento similar (Apéndice 37).

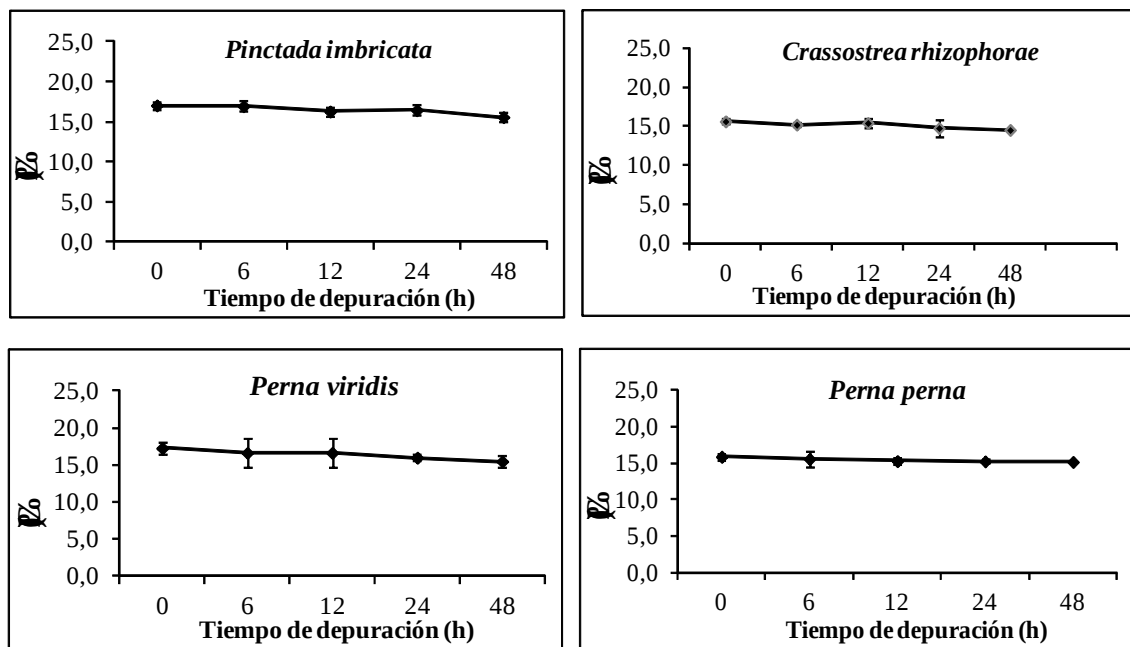


Figura 13. Índice de condición (%) de las cuatro especies de moluscos bivalvos: *P. imbricata*, *C. rhizophorae*, *P. viridis* y *P. perna* expuestos a diferentes tiempos de depuración en agua de mar tratada con luz ultravioleta y flujo continuo.

En líneas generales, el proceso de depuración no afectó el índice de condición de los animales y sus valores relativamente bajos probablemente correspondieron a las condiciones en las que venían los organismos desde el medio natural. El estrés al que se sometieron los bivalvos, generado principalmente por falta de alimento (solo se alimentaron con microalgas al inicio del ensayo), aparentemente no fue un factor desencadenante para una baja abrupta de este índice. García-Ulloa *et al.* (2006),

reportaron que el proceso de depuración en el caracol de agua dulce *Pomacea patula*, no provocó una reducción de su masa corporal, con un índice de condición que varió entre 77 y 76%, lo cual fue atribuido al suministro diario de alimento durante el estudio. Mientras que García-Ulloa *et al.* (1998) señalaron que a pesar de ser alimentados, la ostra *Crassostrea gigas*, evidenció una disminución en su índice de condición tras 96 horas de exposición a radiación ultravioleta para la eliminación de bacterias coliformes. Estos autores adjudican esto a la poca permanencia del alimento en los tanques, debido al flujo continuo del agua, el cual a su vez es necesario para un correcto proceso de purga de los organismos; aparentemente para los fines de esta investigación esto no representó un factor limitante.

Durante nuestra experiencia de depuración no se presentó una variación significativa de la masa corporal, reflejado por el índice de condición, sin embargo García-Ulloa *et al.* (1998) señalaron que este índice podría verse afectado por el estrés extra al que se ven sometidos los animales durante este proceso, ocasionando efectos adversos como la pérdida de apetito, y por ende a una disminución de su masa corporal, lo cual muchas veces es una estrategia reproductiva ante el cambio de ambiente y condiciones a las que se ven sometidos los organismos. Por lo tanto, es importante alimentar a los animales durante este proceso, con el fin de mantener las condiciones en las que vienen los mismos. Este índice es muy recomendado para actividades de acuicultura, y tal como indicaron Lucas y Beninger (1985), este expresa el porcentaje de materia seca en todo el tejido y por lo tanto también hace referencia a la proporción de agua, por lo que es utilizado para indicar el balance energético del animal, es decir, una alta proporción de agua en los tejidos puede indicar una disminución de la energía de reserva.

Los índices encontrados en los mejillones en este trabajo, son bajos pero comparables con los reportados para *P. perna* y *P. viridis* en el ambiente. El índice de condición de una población natural de *P. perna* en el Morro de Guarapo, Península de

Araya, osciló entre 15-30% (Arrieché *et al.*, 2002). Acosta *et al.* (2006) señalaron valores similares (16-39%) para esta especie bajo condiciones de cultivo suspendido en el Golfo de Cariaco, mientras que para el mejillón verde, *P. viridis* los índices reportados fueron más bajos (11-22%). Sin embargo, Narváez *et al.* (2009) reportaron índices de condición mucho menores (11-19%) para *P. perna* de origen intermareal y submareal bajo condiciones de cultivo y ambientales similares. Todos estos autores, relacionaron los menores porcentajes del índice de condición con poca disponibilidad de alimentos y la actividad reproductiva de los mejillones. Otro estudio realizado en la navaja, *Tagelus peruvianus*, colectados de bancos naturales, mostró un índice de condición que varió entre 13 y 27%, muy similar a los reportados para *P. perna* en Venezuela (Fonseca *et al.*, 2011).



## CONCLUSIONES

La eliminación de bacterias coliformes, aerobios mesófilos y *Salmonella* sp. requirió entre 12 - 24 horas (*P. viridis* y *C. rhizophorae*) y 24 - 48 horas (*P. imbricata* y *P. perna*) de depuración. La respuesta más rápida en *P. viridis* y *C. rhizophorae* se relacionó con una mayor resistencia ante la colonización bacteriana, en cambio una respuesta lenta fue vinculada con una alta capacidad para retener partículas en sus tejidos.

El proceso de depuración fue efectivo para la eliminación de *Streptococcus faecalis* en las cuatro especies de moluscos.

La ostra de mangle, *C. rhizophorae*, demostró ser la especie menos susceptible a la contaminación bacteriana.

Desde el punto de vista sanitario se puede garantizar la calidad e inocuidad de los bivalvos en cortos periodos de tiempo.

La aplicación de un sistema de depuración para bivalvos con flujo continuo de agua de mar irradiada con luz ultravioleta, demostró ser un método rápido y eficaz para la purificación de los bivalvos.

En todas las especies, se detectó un incremento progresivo del índice ARN/ADN a medida que avanzó el proceso de depuración. Esta relación constituyó un índice fisiológico apropiado que reflejó la respuesta del estado metabólico de los organismos ante situaciones de estrés y de homeostasis.

El proceso de depuración no afectó el índice de condición de los animales y sus valores relativamente bajos probablemente correspondieron a las condiciones en las que venían los organismos desde el medio natural.

## RECOMENDACIONES

Este sistema de depuración demostró ser confiable, por lo que se debe estudiar la viabilidad económica para su aplicación desde una escala piloto a una mayor.

Se debe promover y capacitar a los productores en el uso de este sistema como una alternativa eficaz para asegurar la calidad sanitaria de los bivalvos antes de ser comercializados.

Es importante que se realicen análisis para conocer el valor nutricional (cenizas, grasas, proteínas y perfil lipídico) de los animales una vez que han pasado por el proceso de depuración.

Antes de iniciar el proceso de depuración los moluscos se deben limpiar, clasificar e inspeccionar, con el fin de eliminar cualquier molusco muerto o dañado, de otra especie, algas, etc. Estas operaciones son necesarias para minimizar la cantidad de contaminantes externos que entren al tanque.

Es importante mantener una buena recirculación del agua en los tanques, proporcionando un flujo de agua constante y cuidar que la aireación provea un nivel de oxígeno disuelto adecuado durante el proceso.

Se debe realizar un sifoneo del fondo de los tanques y de las cajas de depuración, con el fin de evitar que los moluscos entren en contacto con el material excretado.

En el futuro se deben plantear estudios para establecer las tasas de bombeo de estas especies de moluscos, con el fin de demostrar experimentalmente si este

constituye el factor determinante en el tiempo requerido para la contaminación bacteriana.

## BIBLIOGRAFÍA

- Acosta, V. y Lodeiros, C. 2001. Evaluación del efecto del cobre sobre juveniles del mejillón verde *Perna viridis* mediante la concentración de ADN y la relación ARN/ADN en el músculo abductor. *Rev. Cient. FCV-LUZ*, XI:(6): 485-490.
- Acosta, V. y Lodeiros, C. 2003. Índice ARN/ADN en poblaciones de la almeja *Tivela mactroides* (BIVALVIA: VENERIDAE) provenientes de localidades con diferentes niveles de contaminación. *Rev. Cient. FCV-LUZ*, XIII(5): 378-382.
- Acosta, V. y Lodeiros, C. 2004. Efecto del cobre en juveniles de bivalvos (*Tivela mactroides*) provenientes de ambientes con diferentes niveles de contaminación. *Bol. Centro Invest. Biol.*, 38: 41-51.
- American Public Health Association (APHA). 1995. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. Nineteenth edition. APHA - AWWA - WEF. Washington.
- Antón, Y., Lemus, M. y Chung, K. 2008. Índice ARN/ADN como indicador de la condición fisiológica en ejemplares de *Donax denticulatus* expuestos a dosis subletales de cadmio. *Saber*, 20(2): 149-154.
- Arrieche, D., Licet, B., García, N., Lodeiros, C. y Prieto, A. 2002. Índice de condición, gonádico y de rendimiento del mejillón marrón *Perna perna* (Bivalvia: Mytilidae), del morro de Guarapo, Venezuela. *Interciencia*, 27(11): 613-619.
- Barnes, R. 1984. *Zoología de invertebrados*. Nueva Editorial Interamericana. Distrito Federal, México.
- Blogoslawski, W., Pérez, C. y Hitchens, P. 1995. Ozone treatment of seawater to control vibriosis in mariculture of penaeid shrimp, *Penaeus vannamei*. *International Ozone Association*, PanAmerican Committee, Connecticut.
- Canino, M. y Calderone, E. 1995. Modifications and comparison of two fluorometric techniques for determining nucleic acids and contents of fish larvae. *Fish. Bull.*, 93: 15-65.
- Canter, L. 1998. *Manual de evaluación de impacto ambiental*. 2th Edición McGraw-Hill/Interamericana. España, Madrid.
- Carballal, M., López, C., Azevedo, C. y Villalba, A. 1997. *In vitro* study of the phagocytic of *Mytilus galloprovincialis* Lmk. haemocytes. *Fish Shellfish Immunol.* 7: 403-416.

- Castelló, F. 1993. *Acuicultura marina: fundamentos biológicos y tecnología de la producción*. Universitat de Barcelona Science.
- Chícharo, M. y Chícharo, L. 2008. RNA:DNA ratio and other nucleic acid derived indices in marine ecology. *Int. J. Mol. Sci.*, 9: 1453-1471.
- Comunidad Económica Europea (91/492 CEE). Normas sanitarias aplicables a la producción y puesta en el mercado de moluscos bivalvos vivos. 15 de julio de 1991. Madrid.
- Costa, M. 2008. Estudio de la respuesta inmune y expresión génica del mejillón mediterráneo, *Mytilus galloprovincialis*. Trabajo de Grado. Departamento de Bioquímica, Genética e Inmunología, Universidad de Vigo, Vigo, España.
- COVENIN (902-1987). Método para recuento de microorganismos aerobios mesófilos en placas de Petri. Comisión Venezolana de Normas Industriales. Ministerio de Fomento. Caracas.
- COVENIN (1291-1988). Alimentos. Aislamiento e Identificación de *Salmonella*. Primera revisión. Comisión Venezolana de Normas Industriales. Ministerio de Fomento. Caracas.
- COVENIN (2522-1988). Alimentos. Recuento de enterococos. Comisión Venezolana de Normas Industriales. Ministerio de Fomento. Caracas.
- COVENIN (1104-1996). Determinación del número más probable de coliformes, coliformes fecales y de *Escherichia coli*. Segunda revisión. Comisión Venezolana de Normas Industriales. Ministerio de Fomento. Caracas.
- Croci, L., Suffredini, E., Cozzi, L. y Toti, L. 2002. Effects of depuration of molluscs experimentally contaminated with *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae* O1 and *Vibrio parahaemolyticus*. *J. Appl. Microbiol.*, 92: 460-465.
- Dalsgaard, T. y Thamdrum, B. 2002. Factors controlling anaerobic ammonium oxidation with nitrite in marine sediments. *Appl. Environ. Microbiol.*, 68: 3802-3808.
- Davies, C., Long, J., Donald, M. y Ashbolt, N. 1995. Survival of fecal microorganisms in marine and freshwater sediments. *Appl. Environ. Microbiol.*, 61: 1888-1896.

- Delgado, R., Gutiérrez, C. y Hurtado, A. 2003. Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) de origen marino en Nueva Esparta: II. Características clínicas y etiológicas. *INHRR*, 34(2): 11-16.
- Doré, W. y Lees, D. 1995. Behavior of *Escherichia coli* and male-specific bacteriophage in environmentally contaminated bivalve molluscs before and after depuration. *Appl. Environ. Microbiol.*, 61(8): 2830–2834.
- Ferráz-Reyes, E., Reyes-Vásquez, G. y Bruzual, I. 1979. Dinoflagellate blooms in the Golfo de Cariaco, Venezuela. En: *Toxic dinoflagellate blooms*. Taylor, D. L. y Seliger, H. H. (eds). Elsevier press, North Holland. Págs. 155-160.
- Fonseca, C., Marín-Vindas, C., Chavarría-Solera, F., Cruz, R. y Toledo, P. 2011. Variación estacional de la composición proximal del mejillón *Tagelus peruvianus* (Bivalvia: Solecurtidae) del Golfo de Nicoya, Puntarenas, Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.*, 59(4): 1517- 1523.
- Food And Drug Administration (F.D.A.). 1990. Sanitation of shellfish growing areas. National shellfish sanitation program. Manual of Operations. Part. I. U.S. Dep. of Health and Human Services. Public Health Service. Food and Drug Administration, Washington, D.C., U.S.A.
- Fujioka, R., Sian-Denton, D., Borja, M., Castro, J. y Morphew, K. 1999. Soil: the environmental source of *Escherichia coli* and enterococci in Guam's streams. *J. Appl. Microbiol. Symp. Suppl.*, 85: 83-89.
- Garay, J., Marín, B., Ramírez, G., Betancourt, J., Troncoso, W. y Gómez, M. 2002. Diagnóstico y evaluación de la calidad ambiental marina en el Caribe y Pacífico colombiano. Red de vigilancia para la protección y conservación de la calidad de las aguas marinas y costeras. Diagnóstico. INVEMAR.
- García-Ulloa, G., Hinojosa-Larios, J., Gamboa-Delgado, J y Godínez-Siordia, D. 1998. Effect of different diets on the condition index and the coliform bacteria content of the pacific oyster (*Crassostrea gigas*, Thunberg, 1795) using an experimental depuration system. *Adv. Agricult. Research*, 7(3): 9-13.
- García-Ulloa, G., Ramnarine, I., Ponce, J. y Góngora, A. 2006. Efecto de la depuración en la biomasa del caracol *Pomacea patula* (Baker, 1922) usando el índice de condición. *Avances Invest. Agropec.*, 10(3): 69-80.
- Gil, H., Chung, K., Lemus, M. y Altuve, D. 2003. Relación ARN/ADN como índice de condición fisiológica del híbrido de la cachama *Colossoma macropomum* y el

- morocoto *Piaractus brachypomus* durante el desarrollo embrionario. *Rev. Biol. Trop.*, 51(4): 91-96.
- González, M. 2008. Condición sanitaria del ostión de mangle *Crassostrea rhizophorae* y aguas de extracción del bivalvo proveniente del banco natural de Laguna Grande del Obispo, estado Sucre, Venezuela. Trabajo de Grado. Departamento de Biología, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.
- González, M. y Arenas, G. 2002. Caracterización de la respuesta inmune en el ostión del norte *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819) (Mollusca: Bivalvia). *Ciencias Marinas*, 28(3): 247-255.
- Govorin, I. 2000. Role of bivalves in the depuration of seawaters contaminated by bacteria. *Russian J. Mar. Biol.*, 26(2): 81-88.
- Graü, C., Marval, H. y Zerpa, A. 2007. Enfermedades asociadas al consumo de productos pesqueros ocurridas en el estado Sucre. INIA Divulga 10 enero – diciembre.
- Harris, L., Tamplin, M., Mason, W., Aldrich, H. y Jackson, K. 1995. Viability of *Vibrio vulnificus* in association with hemocytes of the american oyster (*Crassostrea virginica*). *Appl. Environ. Microbiol.*, 61(1): 52–57.
- Herrera, A y Suárez, P. 2005. Indicadores bacterianos como herramientas para medir la calidad ambiental del agua costera. *INCI*, 30(3): 171-176.
- Itoh N., Xue Q., Li Y., Cooper R. y La Peyre J. 2007. cDNA cloning and tissue expression of plasma lysozyme in the eastern oyster, *Crassostrea virginica*. *Fish Shellfish Immunol.*, 23: 957-968.
- Itoh, N. y Takahashi K. 2007. cDNA cloning and *in situ* hybridization of a novel lysozyme in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol.* 148: 160-166.
- Jay, J. 2000. *Food microbiology. modern food microbiology*. Sexta edición. Aspen Publishers. New York.
- Jones, S., Howell, T. y O'Neill, K. 1991. Differential elimination of indicator bacteria and pathogenic *Vibrio* spp. from eastern oysters (*Crassostrea virginica* Gmelin, 1971) in a commercial controlled purification facility in Maine. *J. Shellfish Research*, 10(1): 105-112.
- Lee, R., Lovatelli, A., Ababouch, L. 2008. *Bivalve depuration: fundamental and practical aspects*. FAO Fisheries Technical Paper. N°. 51. FAO: Rome. xvii, 139 pp.



- Lees, D. 2000. Viruses and bivalve shellfish. *Int. J. Food Microbiol.*, 59(1 & 2): 81-116.
- Li, B., Chen, B., Qi, Z., Jiang, Z., Zhang, J. y Fang, J. 2010. Relationship between differential retention of *Escherichia coli* and *Enterococcus faecalis* and variations in enzyme activity in the scallop *Patinopecten yessoensis*. *Mar. Pollut. Bull.*, 60: 1600-1605.
- Lodeiros, C. y Freitas, L. 2008. Estado actual y perspectivas del cultivo de moluscos bivalvos en Venezuela. En: *Estado actual del cultivo y manejo de moluscos bivalvos y su proyección futura: factores que afectan su sustentabilidad en América Latina*. Lovatelli, A., Farías, A. y Uriarte, I. (eds). Taller Técnico Regional de la FAO. 20-24 de agosto de 2007, Puerto Montt, Chile. FAO Actas de Pesca y Acuicultura. No. 12. Roma, FAO. Págs. 135-150.
- Lovatelli, A., Vannuccini, S. y McLeod, D. 2008. Current status of world bivalve aquaculture and trade. En: *Estado actual del cultivo y manejo de moluscos bivalvos y su proyección futura: factores que afectan su sustentabilidad en América Latina*. Lovatelli, A., Farías, A. y Uriarte, I. (eds). Taller Técnico Regional de la FAO. 20-24 de agosto de 2007, Puerto Montt, Chile. FAO Actas de Pesca y Acuicultura. No. 12. Roma, FAO. Págs. 45-59.
- Love, D., Lovelace, G. y Sobsey, M. 2010. Removal of *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, coliphage MS2, poliovirus, and hepatitis A virus from oysters (*Crassostrea virginica*) and hard shell clams (*Mercinaria mercinaria*) by depuration. *Int. J. Food Microbiol.*, 143(3): 211-217.
- Lucas, A. y Beninger, P. 1985. The use of physiological condition indices in marine bivalve aquaculture. *Aquaculture*, 44: 187-200.
- MacFaddin, J. 1990 *Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica*. Segunda edición. Médica Panamericana. Buenos Aires.
- Maffei, M., Vernocchi, P. Lanciotti, R., Guerzoni, M., Belletti, N. y Gardini, F. 2009. Depuration of Striped Venus Clam (*Chamelea gallina* L.): Effects on Microorganisms, sand content, and mortality. *Food Microbiol. Safety*, 74(1): 1-7.
- Marín, B., Garay, J., Ramírez, G., Betancourt, J., Troncoso, W. y Gómez, L. 2004. Diagnóstico y evaluación de la calidad ambiental marina en el Caribe y Pacífico colombiano red de vigilancia para la conservación y protección de las aguas marinas y costeras de Colombia. Diagnóstico Nacional y Regional. INVEMAR.

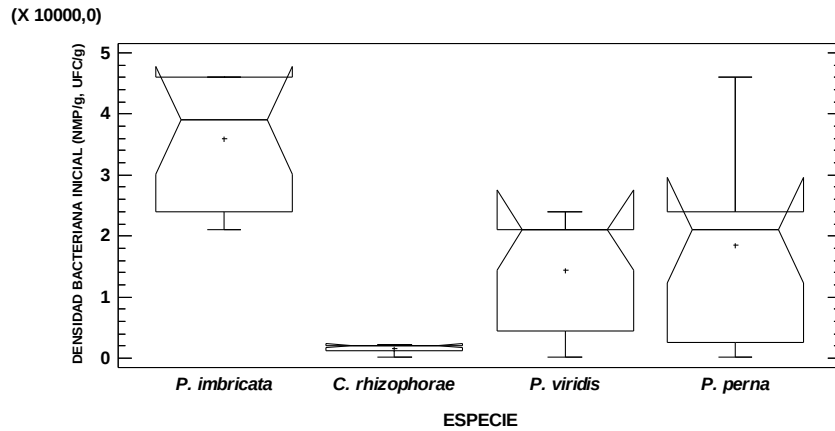
- Martínez, O., Rodríguez-Calleja, J., Santos, J., Otero, A. y García-López, M. 2009. Foodborne and indicator bacteria in farmed molluscan shellfish before and after depuration. *J. Food Protection*, 72(7): 1443–1449.
- Matsumoto, T., Nakamura A. y Takahashi, K. 2006. Cloning of cDNAs and hybridization analysis of lysozymes from two oyster species, *Crassostrea gigas* and *Ostrea edulis*. *Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol.* 145: 325-30.
- Mesquita, M., Evison, L. y West, P. 1991. Removal of faecal indicator bacteria and bacteriophages from the common mussel (*Mytilus edulis*) under artificial depuration conditions. *J. Appl. Bact.*, 70: 495-501.
- Ministerio de Agricultura y Cría (MAC) – Servicio Autónomo de los Recursos Pesqueros y Acuícolas (SARPA). Providencia N° 3 del 18-03-98: Normas para ejercer controles sanitarios y supervisión de la producción de moluscos bivalvos. Providencia N° 4 del 18-03-98: Condiciones sanitarias aplicables a los moluscos vivos. Gaceta Oficial 36429 del 06-04-98. Caracas. pp. 303-927.
- Montiel, M., García, Y., Severeyn, H. y Morales, F. 2009. Depuración bacteriana y física de la almeja *Polymesoda solida* a pequeña escala. *Rev. Cient. FCV-LUZ*, XIX(5): 533-538.
- Morrison, C., Armstrong, A., Evans, S., Mild, R., Langdon, C. y Joens, L. 2011. Survival of *Salmonella* Newport in oysters. *Int. J. Food Microbiol.*, 148(2): 93-98.
- Muñoz, D. 2006. Bacterias indicadoras de calidad sanitaria en mejillones *Perna* spp. y aguas procedentes de tres áreas de crecimiento: Ensenada La Chica, Bahía Iglesia y Punta Patilla, Estado Sucre, Venezuela. Trabajo de Grado. Departamento de Biología, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.
- Muñoz, D., Graü de Marín, C., Martínez, C., Marval, H. y Zerpa, A. 2008. Prevalencia de *Staphylococcus aureus*, *Vibrio* spp. y enterobacterias en carne de pepitona, *Arca zebra*, comercializada en Cumaná, Venezuela. *Zootecnia Trop.*, 26(4): 505-513.
- Narváez, M., Freitas, L., Mendoza, J. y Guevara, M. 2009. Influence of spat origin and environmental parameters on biochemical composition and biometry of the brown mussel *Perna perna* (Linné, 1758), under culture conditions. *Rev. Biol. Marina Oceanog.*, 44(2): 343-355.
- Nunes, A. y Parsons, G. 1998. Dynamics of tropical coastal aquaculture systems and the consequences to waste production. *World Aquac.*, 29(2): 27-37.

- Oguma, K., Katayama, H., Mitani, H., Morita, S., Hirata, T. y Ohgaki, S. 2001. Determination of pyrimidine dimers in *Escherichia coli* and *Cryptosporidium parvum* during UV light inactivation, photoreactivation, and dark repair. *Appl. Environ. Microbiol.*, 67(10): 4630–4637.
- Oliveira J., Cunha A., Castilho F., Romalde J. y Pereira M. 2011. Microbial contamination and purification of bivalve shellfish: Crucial aspects in monitoring and future perspectives – A minireview. *Food Control*, 22: 805-816.
- Olsen M., Nilsen I., Sletten K. y Myrnes, B. 2003. Multiple invertebrate lysozymes in blue mussel (*Mytilus edulis*). *Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol.* 136: 107-115.
- Orban, E., Di Lena, G., Nevigato, T., Casini, I., Marzetti, A. y Caproni, R. 2002. Seasonal changes in meat content, condition index and chemical composition of mussels (*Mytilus galloprovincialis*) cultured in two different italian sites. *Food Chem.*, 77: 57-65.
- Pita, M. 2002. Tendencia actual del estreptococo como indicador de contaminación fecal. *Rev. Cubana Hig Epidemiol.*, 40(1): 38-43.
- Power, U. y Collins, J. 1990. Differential depuration of poliovirus, *Escherichia coli*, and a coliphage by the common mussel, *Mytilus edulis*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 55:1386- 1390.
- Prescott, L., Harley, J. y Klein, D. 2004. *Microbiología*. Quinta edición. Mc Graw Hill Interamericana. Madrid.
- Prieto, A., Flores, M. y Lodeiros, C. 1999. Madurez sexual e índice de condición en una población del mejillón de fondo *Modiolus squamosus* (Mollusca, Bivalvia) en Tocuchare, Golfo De Cariaco, Venezuela. *Ecotropicos*, 12(2): 83-90.
- Prieto, A., Montes, A. y Ruiz, L. 2008. Potencial de producción de biomasa en una población natural de la ostra *Crassostrea rhizophorae*, en la Laguna Grande de Obispo, Golfo De Cariaco, Venezuela. *Interciencia*, 33(10): 747-753.
- Quiñones, F., Sepúlveda, L. y Rodas, O. 2000. Presencia de los géneros *Vibrio* y *Salmonella*, y detección de coliformes fecales en almejas del Golfo de México. *Hidrobiológica*, 10(2): 131-138.
- Real Decreto 345/93. Normas de calidad de las aguas y de la producción de moluscos y otros invertebrados marinos vivos. 5 de marzo de 1993. Madrid.

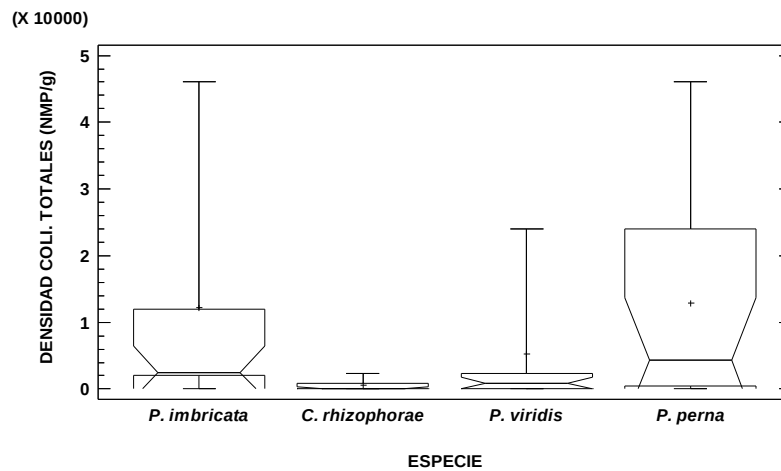
- Rippey, S. 1994. Infectious diseases associated with molluscan shellfish consumption. *Clinic. Microbiol. Rev.*, 7: 419-423.
- Rodríguez, M., Rodríguez, G., Serodes, J. y Sadiq, R. 2007. Subproductos de la desinfección del agua potable: Formación, aspectos sanitarios y reglamentación. *INCI*, 32(11): 749-756.
- Sangrungruang, K., Sahavacharin, S. y Ramanudom, J. 1989. Depuration of some economically important bivalves in Thailand. *ASEAN Food J.*, 4(3): 101-106.
- Signoretto, C., Burlacchini, G., Pruzzo, C. y Canepari, P. 2005. Persistence of *Enterococcus faecalis* in aquatic environments via surface interactions with copepods. *Appl. Environ. Microbiol.*, 71(5): 2756-2761.
- Silva, A., Vieira, R., Menezes, F., Fonteles-Filho, A., Torres, R. y Sant'anna, E. 2003. Bacteria of fecal origin in mangrove oysters (*Crassostrea rhizophorae*) in the Cocó river estuary, Ceará state, Brazil. *Braz. J. Microbiol.*, 34:126-130.
- Sokal, R. y Rohlf, F. 1995. *Biometry*. W Freeman (ed.). New York.
- Téllez, S., Oliva, M., Ramírez, J. y Vázquez, M. 1999. Evaluación de la calidad microbiológica del ostión de "La Laguna Madre" de Tamaulipas (México). *Cienc. Tecnol. Aliment.*, 2(3): 52-157.
- Venkateswaran, K., Takai, T., Navarro, I., Nakano, H., Hashimoto, H. y Siebeling, R. 1989. Ecology of *Vibrio cholerae* non-O1 and *Salmonella* spp. and role of zooplankton in their seasonal distribution in Fukuyama coastal waters, Japan. *Appl. Environ. Microbiol.*, 55(6):1591-1598.
- Vilariño, M., Parnaudeau, S., Schaeffer, J., Kröl, J., Le Guyader, F. y Romalde, J. 2007. Presencia de virus entéricos en moluscos bivalvos cultivados y salvajes de la Ría de Vigo. XI Congreso Nacional de Acuicultura. Libro de Actas. Tomo II. Vigo, 24-28 de septiembre de 2007. 1021-1024.
- Ward, J. 1996. Biodynamics of suspension-feeding in adult bivalve molluscs: particle capture, processing and fate. *Invertebrate Biology*, 115(3): 218-231.
- Ward, J., Sandford, L., Newell, R. y MacDonald, B. 1998. A new explanation of particle capture in suspension-feeding bivalve molluscs. *Limnol. Oceanogr.*, 43(5):741-752.

Yukihira, H., Klumpp, D. y Lucas, J. 1999. Feeding adaptations of the pearl oysters *Pinctada margaritifera* and *P. maxima* to variations in natural particulates. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 182: 161-173.

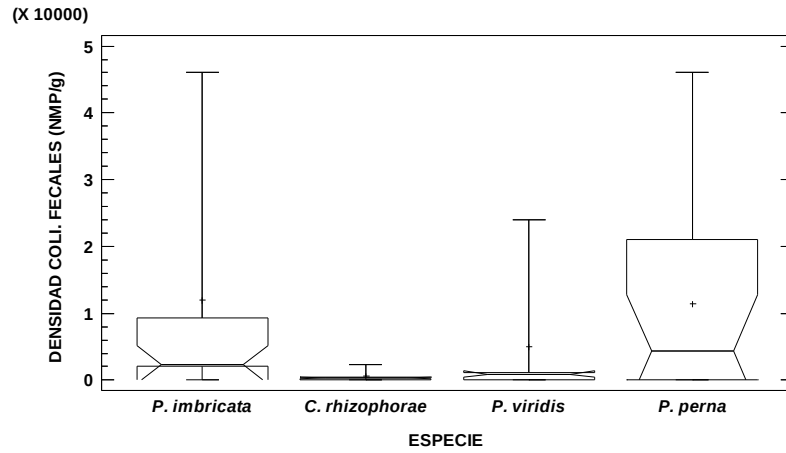
## APÉNDICE



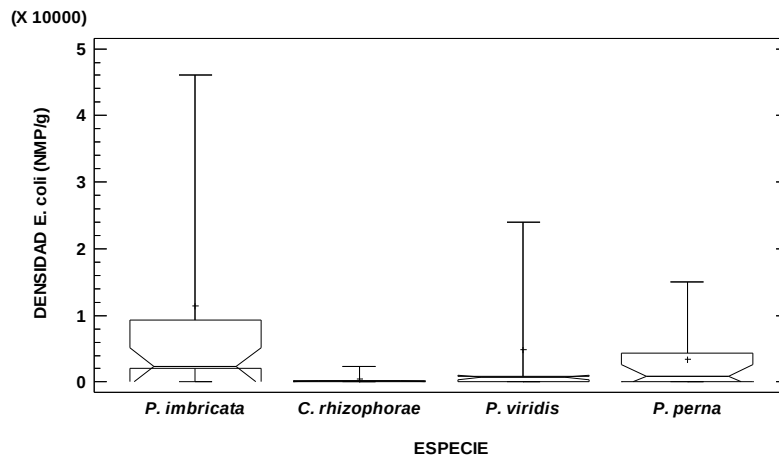
Apéndice 1. Diagrama de Caja y Bigotes para la comparación de la densidad bacteriana inicial con respecto a la especie de molusco bivalvo.



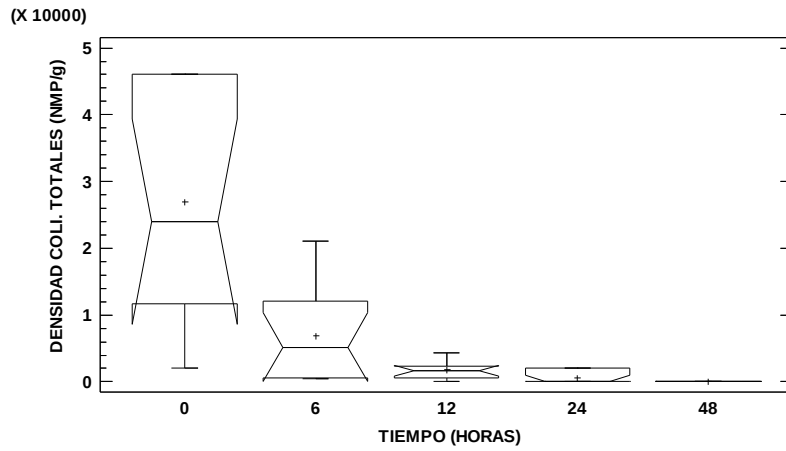
Apéndice 2. Diagrama de Caja y Bigotes para la comparación de la densidad de coliformes totales/g con respecto a la especie de molusco bivalvos.



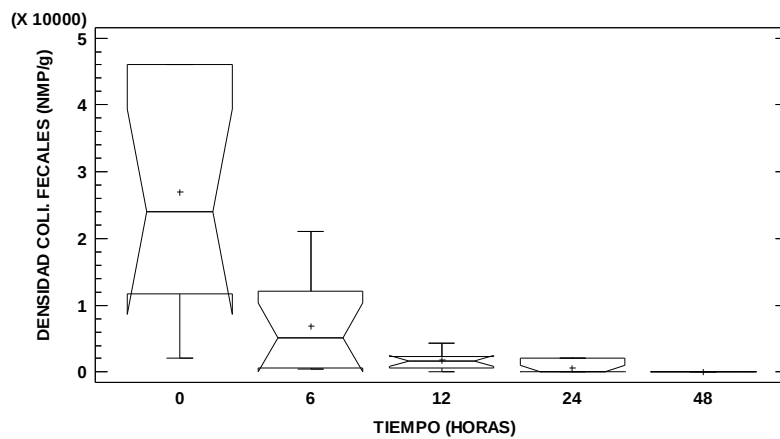
Apéndice 3. Diagrama de Caja y Bigotes para la comparación de la densidad d coliformes fecales/g con respecto a la especie de molusco bivalvo.



Apéndice 4. Diagrama de Caja y Bigotes para la comparación de la densidad de *Escherichia coli*/g con respecto a la especie de molusco bivalvo.

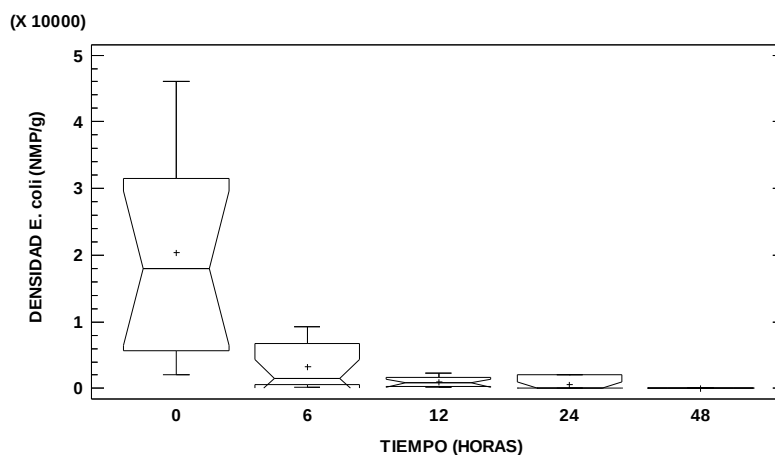


Apéndice 5. Diagrama de Caja y Bigotes para la comparación de la densidad de coliformes totales/g con respecto a los tiempos de depuración de cuatro especies de moluscos bivalvos.



Apéndice 6. Diagrama de Caja y Bigotes para la comparación de la densidad de coliformes fecales/g con respecto a los tiempos de depuración de cuatro especies de moluscos bivalvos.





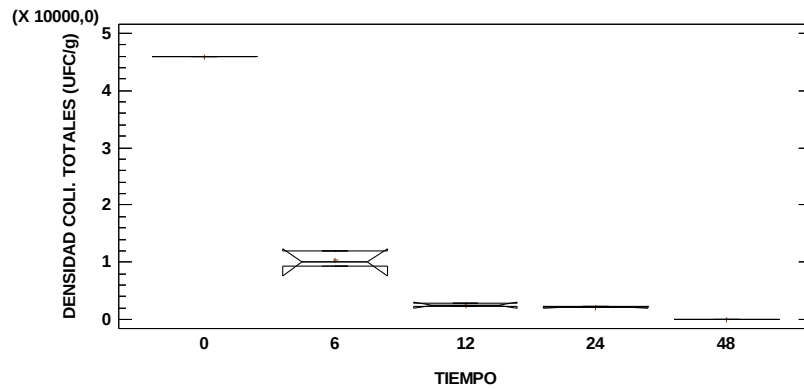
Apéndice 7. Diagrama de Caja y Bigotes para la comparación de la densidad de *Escherichia coli*/g con respecto a los tiempos de depuración de cuatro especies de moluscos bivalvos.

Apéndice 8. Resumen estadístico (Kruskal Wallis) para las densidades bacterianas con respecto a los tiempos de depuración de cuatro especies de moluscos bivalvos: *P. imbricata*, *C. rhizophorae*, *P. viridis* y *P. perna*.

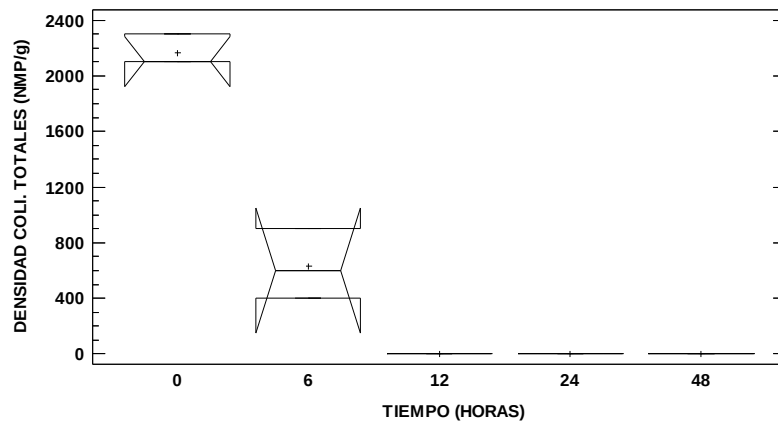
Especie	CT	K-W				
		C F	C C	E C	A M	S F
<i>Pinctada imbricata</i>	13,	1	1	1	1	1
	6*	4,0*	3,9*	3,6*	3,8*	
<i>Crassostrea rhizophorae</i>	13,	1	1	1	1	1
	7*	2,6*	3,1*	3,8*	3,8*	
<i>Perna viridis</i>	13,	1	1	1	1	1
	6*	3,1*	3,8*	3,6*	3,7*	
<i>Perna perna</i>	13,	1	1	1	1	1
	5*	3,4*	3,4*	3,6*	3,7*	

K-W: Coeficiente de Kruskal Wallis; NS: No significativas ( $P > 0,05$ ); \* Significativas ( $P < 0,05$ )

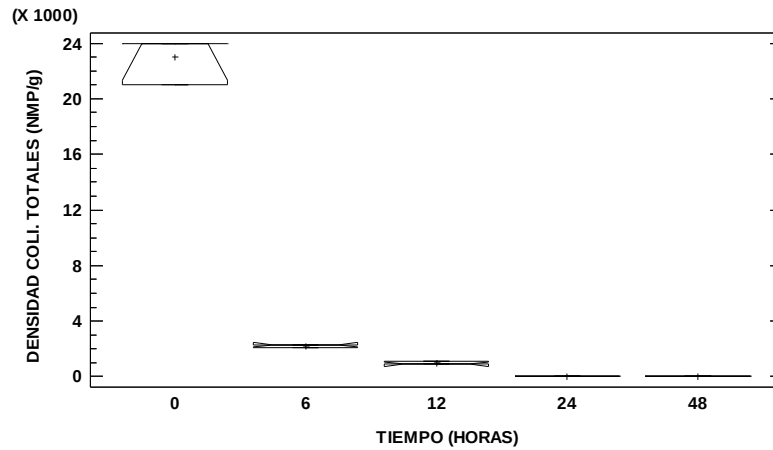
CT: Coliformes Totales, CF: Coliformes Fecales, EC: *E. coli*, AM: aerobios mesófilos, SF: *S. faecalis*



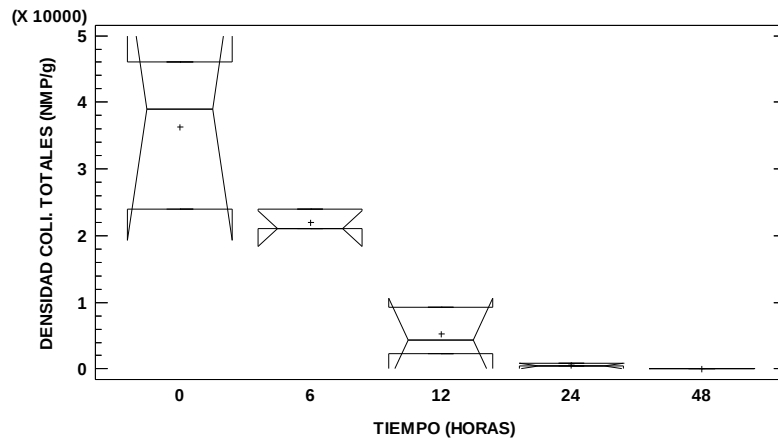
Apéndice 9. Diagrama de Caja y Bigotes para la comparación de la densidad de coliformes totales/g con respecto a los tiempos de depuración de *Pinctada imbricata*.



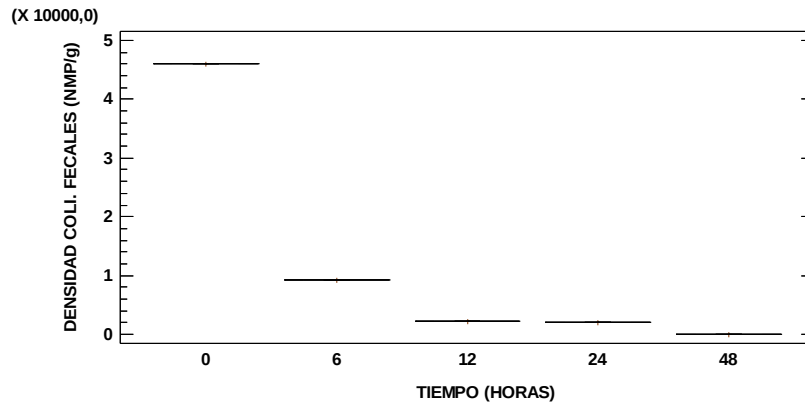
Apéndice 10. Diagrama de Caja y Bigotes para la comparación de la densidad de coliformes totales/g con respecto a los tiempos de depuración de *Crassostrea rhizophorae*.



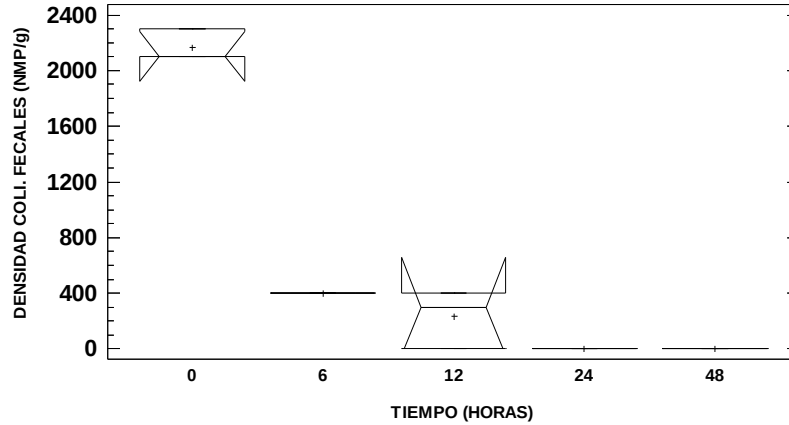
Apéndice 11. Diagrama de Caja y Bigotes para la comparación de la densidad de coliformes totales/g con respecto a los tiempos de depuración de *Perna viridis*.



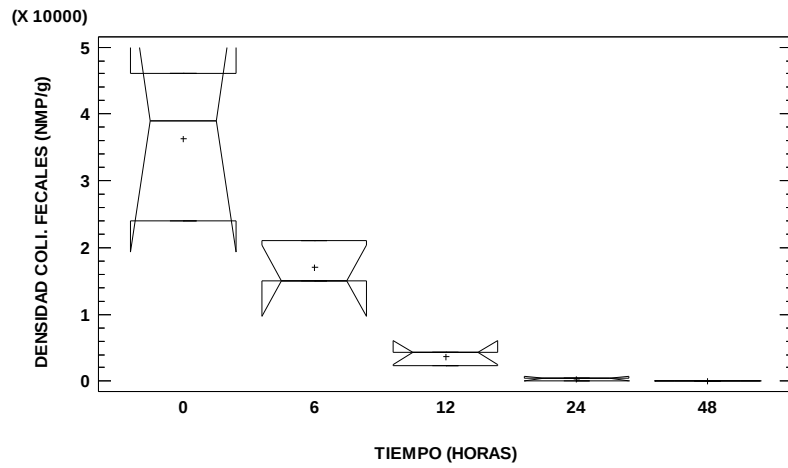
Apéndice 12. Diagrama de Caja y Bigotes para la comparación de la densidad de coliformes totales/g con respecto a los tiempos de depuración de *Perna perna*.



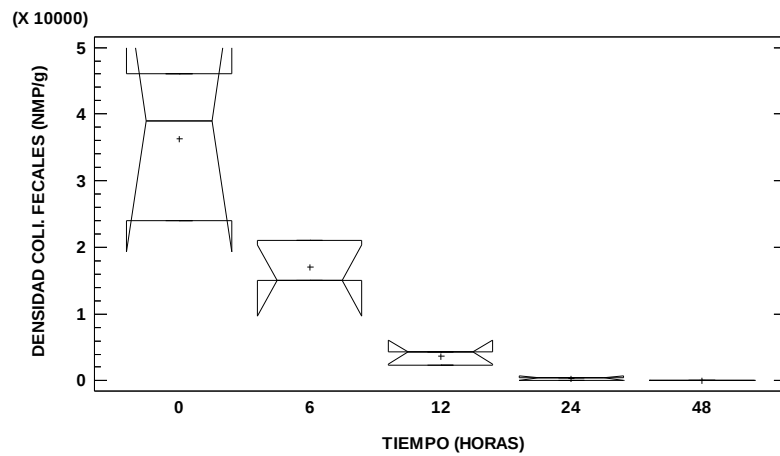
Apéndice 13. Diagrama de Caja y Bigotes para la comparación de la densidad de coliformes fecales/g con respecto a los tiempos de depuración de *Pinctada imbricata*.



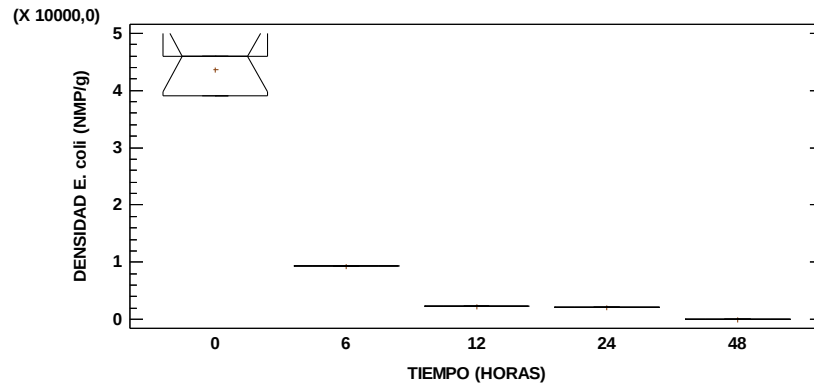
Apéndice 14. Diagrama de Caja y Bigotes para la comparación de la densidad de coliformes fecales/g con respecto a los tiempos de depuración de *Crassostrea rhizophorae*.



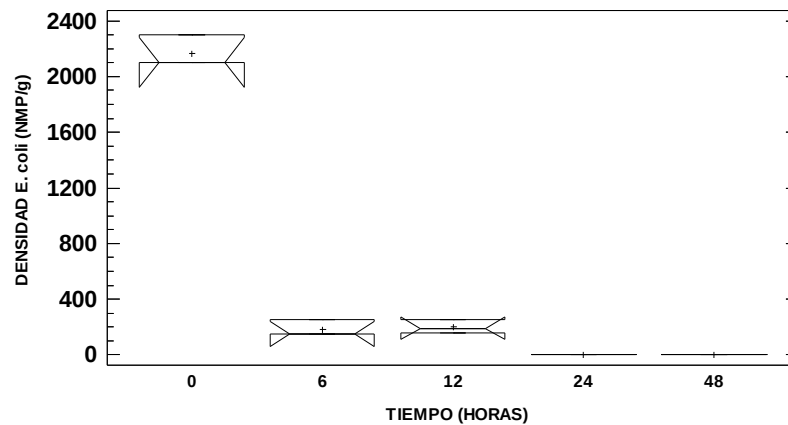
Apéndice 15. Diagrama de Caja y Bigotes para la comparación de la densidad de coliformes fecales/g con respecto a los tiempos de depuración de *Perna viridis*.



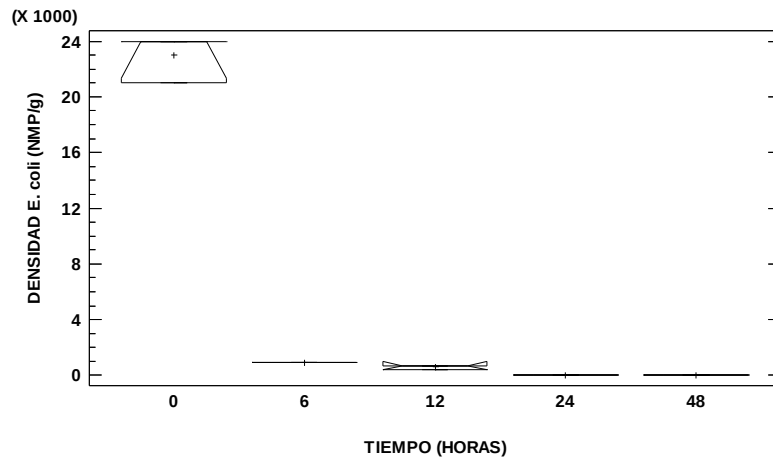
Apéndice 16. Diagrama de Caja y Bigotes para la comparación de la densidad de coliformes fecales/g con respecto a los tiempos de depuración de *Perna perna*.



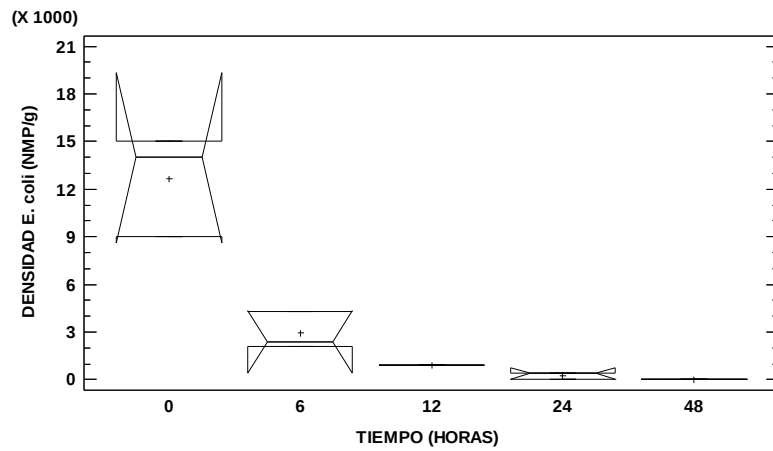
Apéndice 17. Diagrama de Caja y Bigotes para la comparación de la densidad de *Escherichia coli*/g con respecto a los tiempos de depuración de *Pinctada imbricata*.



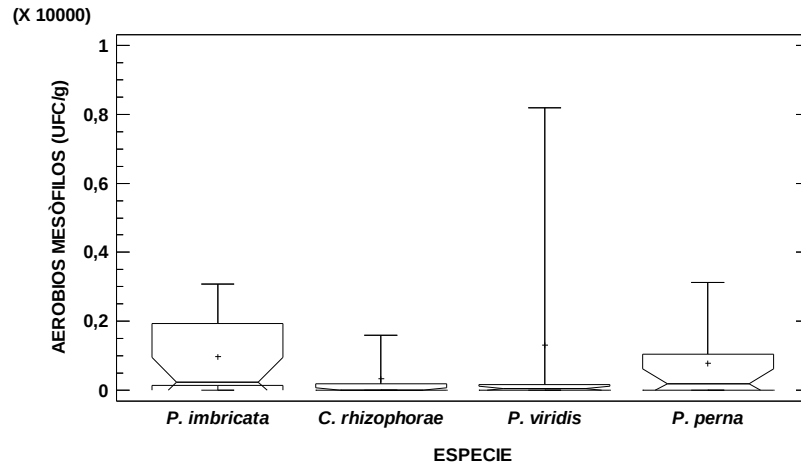
Apéndice 18. Diagrama de Caja y Bigotes para la comparación de la densidad de *Escherichia coli*/g con respecto a los tiempos de depuración de *Crassostrea rhizophorae*.



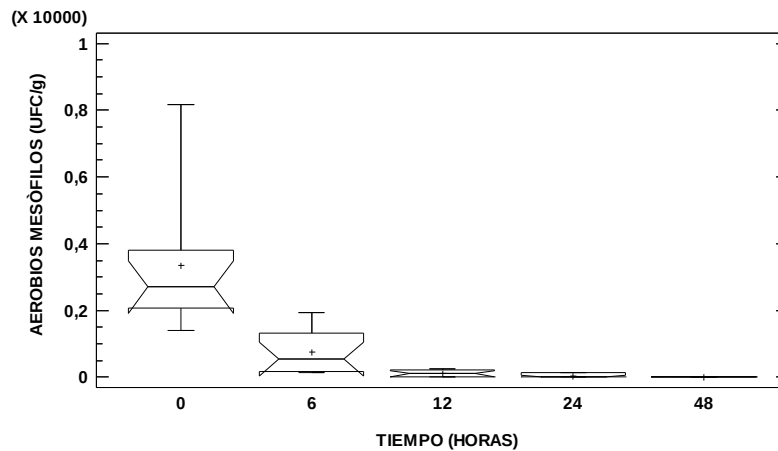
Apéndice 19. Diagrama de Caja y Bigotes para la comparación de la densidad de *Escherichia coli*/g con respecto a los tiempos de depuración de *Perna viridis*.



Apéndice 20. Diagrama de Caja y Bigotes para la comparación de la densidad de *Escherichia coli*/g con respecto a los tiempos de depuración de *Perna perna*.

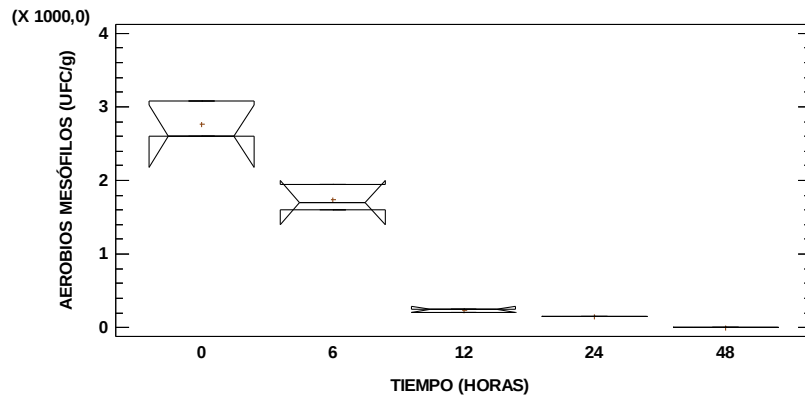


Apéndice 21. Diagrama de Caja y Bigotes para la comparación de la densidad de aerobios mesófilos/g con respecto a los tiempos de depuración de cuatro especies de moluscos bivalvos.

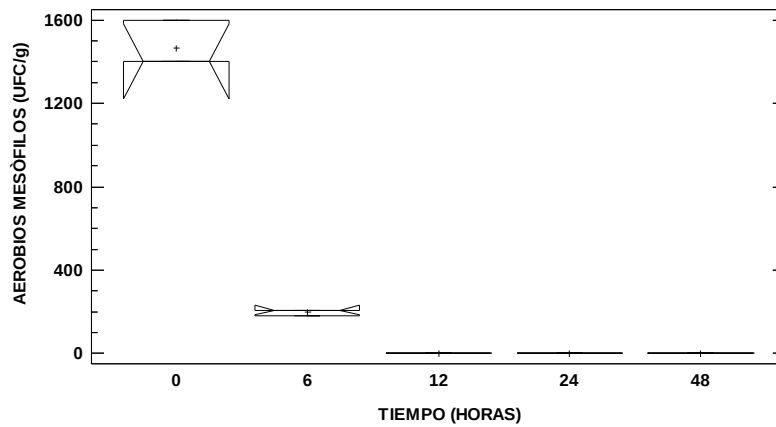


Apéndice 22. Diagrama de Caja y Bigotes para la comparación de la densidad de aerobios mesófilos/g con respecto a los tiempos de depuración de cuatro especies de moluscos bivalvos.

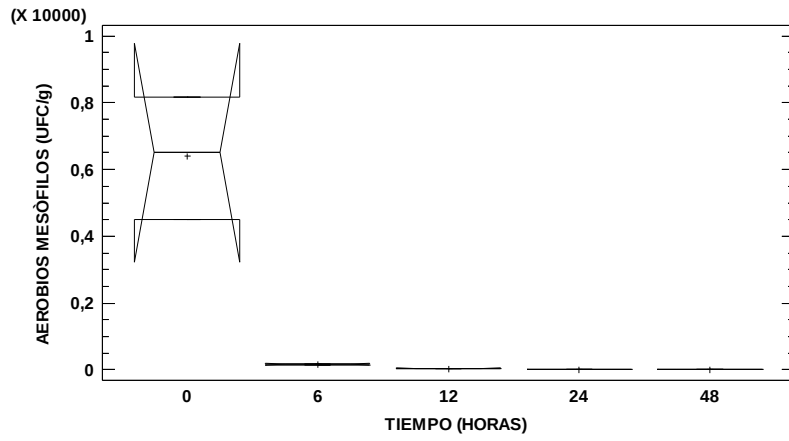




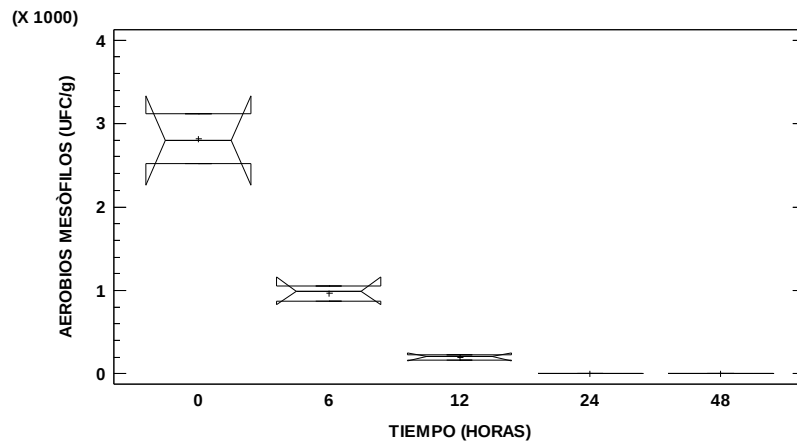
Apéndice 23. Diagrama de Caja y Bigotes para la comparación de la densidad de aerobios mesófilos/g con respecto a los tiempos de depuración de *Pinctada imbricata*.



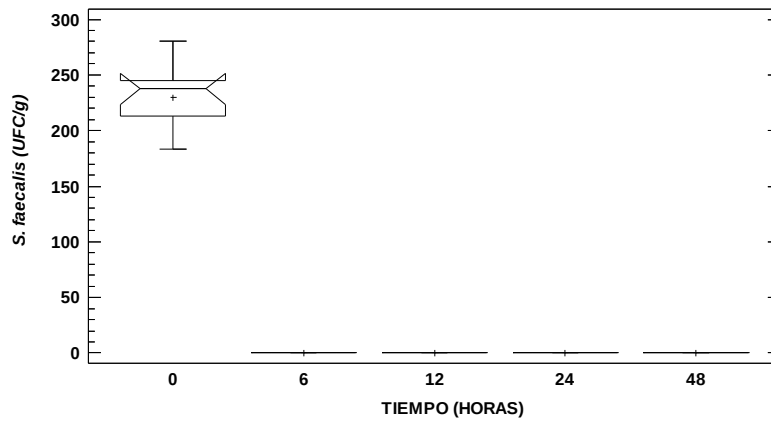
Apéndice 24. Diagrama de Caja y Bigotes para la comparación de la densidad de aerobios mesófilos/g con respecto a los tiempos de depuración de *Crassostrea rhizophorae*.



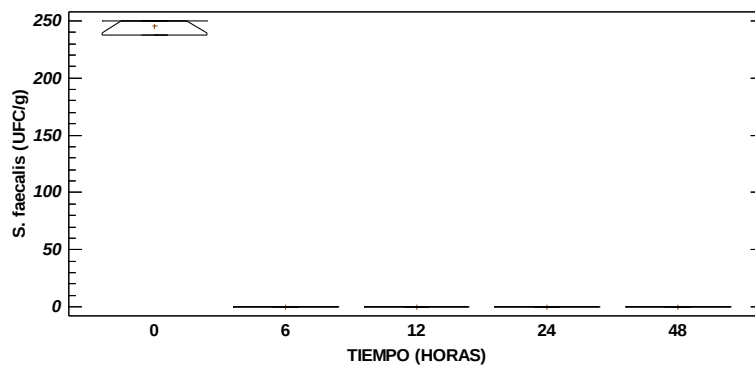
Apéndice 25. Diagrama de Caja y Bigotes para la comparación de la densidad de aerobios mesófilos/g con respecto a los tiempos de depuración de *Perna viridis*.



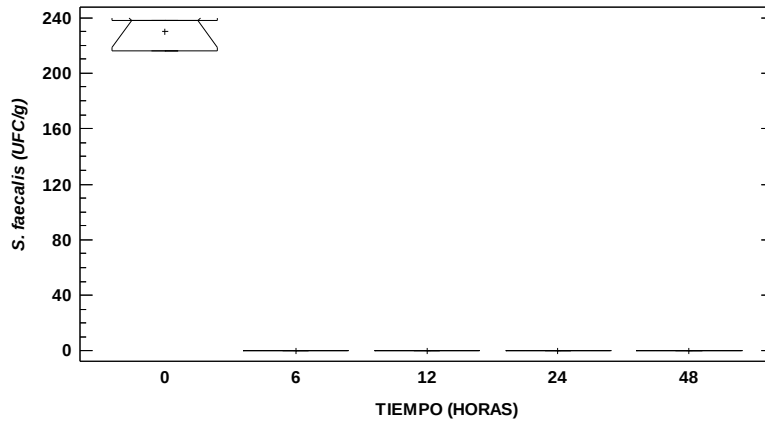
Apéndice 26. Diagrama de Caja y Bigotes para la comparación de la densidad de aerobios mesófilos/g con respecto a los tiempos de depuración de *Perna perna*.



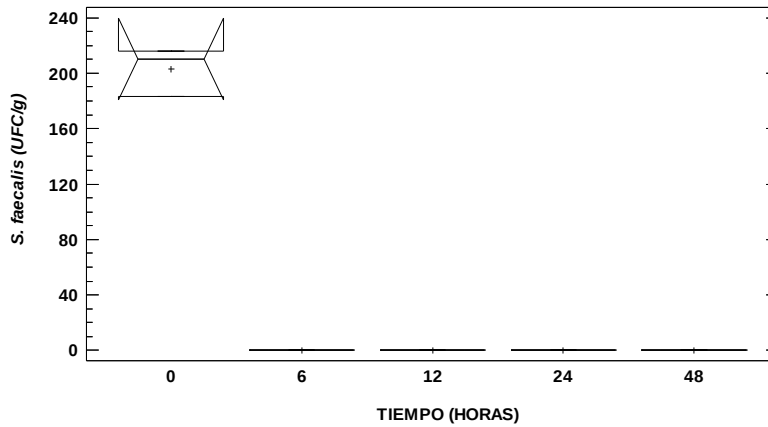
Apéndice 27. Diagrama de Caja y Bigotes para la comparación de la densidad de *Streptococcus faecalis*/g con respecto a los tiempos de depuración de cuatro especies de moluscos bivalvos.



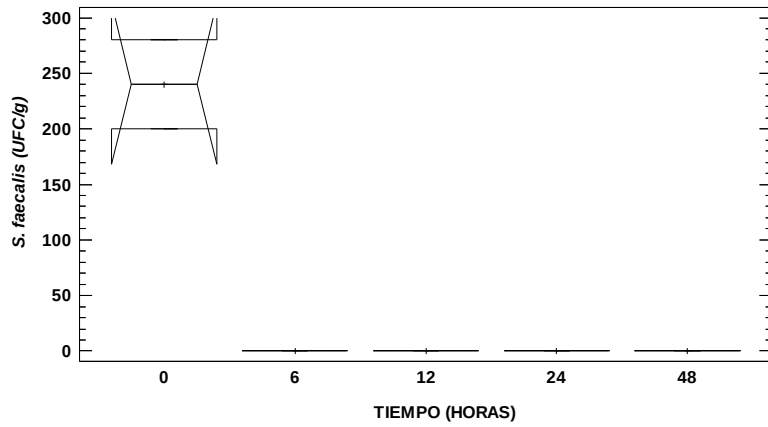
Apéndice 28. Diagrama de Caja y Bigotes para la comparación de la densidad de *Streptococcus faecalis*/g con respecto a los tiempos de depuración de *Pinctada imbricata*.



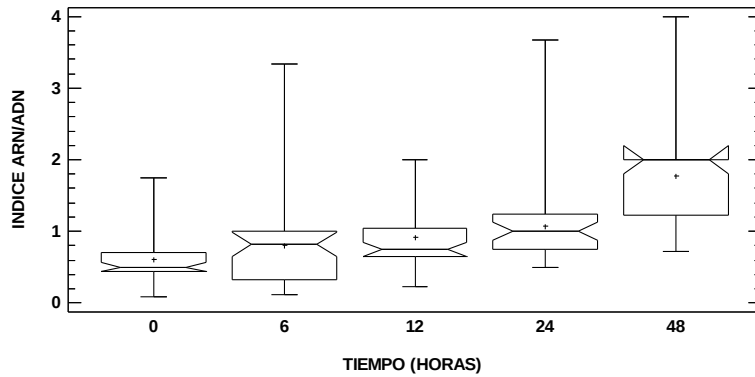
Apéndice 29. Diagrama de Caja y Bigotes para la comparación de la densidad de *Streptococcus faecalis/g* con respecto a los tiempos de depuración de *Crassostrea rhizophorae*.



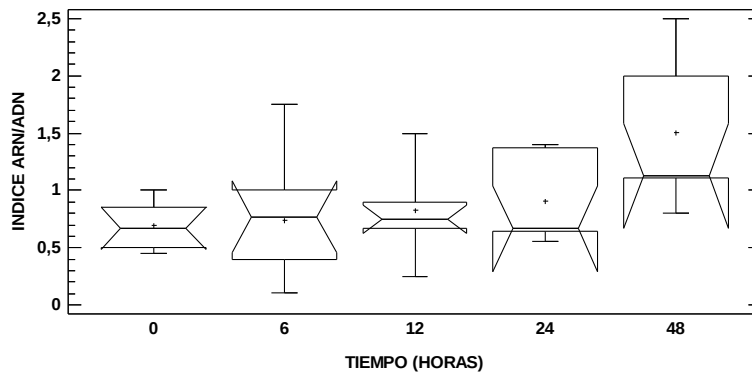
Apéndice 30. Diagrama de Caja y Bigotes para la comparación de la densidad de *Streptococcus faecalis/g* con respecto a los tiempos de depuración de *Perna viridis*.



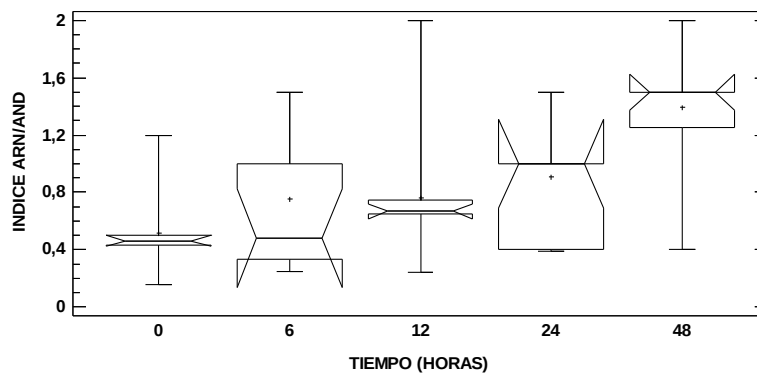
Apéndice 31. Diagrama de Caja y Bigotes para la comparación de la densidad de *Streptococcus faecalis*/g con respecto a los tiempos de depuración de *Perna perna*.



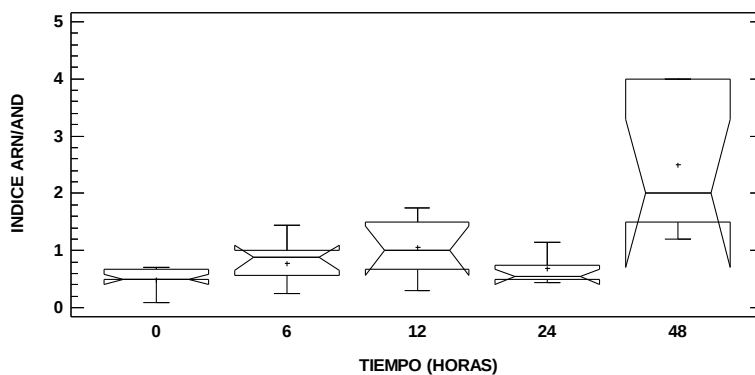
Apéndice 32. Diagrama de Caja y Bigotes para la comparación del índice ARN/ADN con respecto a los tiempos de depuración de cuatro especies de moluscos bivalvos.



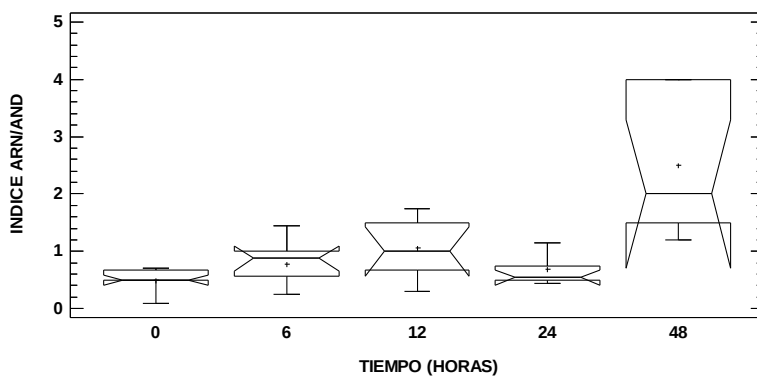
Apéndice 33. Diagrama de Caja y Bigotes para la comparación del índice ARN/ADN con respecto a los tiempos de depuración de *Pinctada imbricata*.



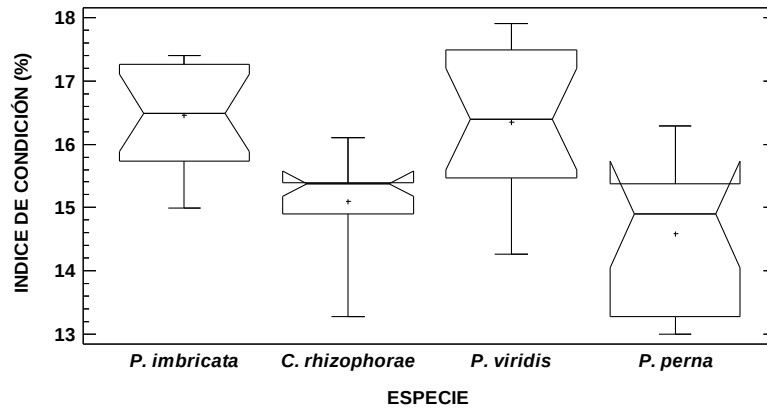
Apéndice 34. Diagrama de Caja y Bigotes para la comparación del índice ARN/AND con respecto a los tiempos de depuración de *Crassostrea rhizophorae*.



Apéndice 35. Diagrama de Caja y Bigotes para la comparación del índice ARN/ADN con respecto a los tiempos de depuración de *Perna viridis*.



Apéndice 36. Diagrama de Caja y Bigotes para la comparación del índice ARN/ADN con respecto a los tiempos de depuración de *Perna perna*.



Apéndice 37. Diagrama de Caja y Bigotes para la comparación del índice de condición con respecto a la especie de molusco bivalvo.



## HOJA DE METADATOS

### Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/6

<b>Título</b>	Capacidad De Depuración Bacteriana En Cuatro Especies De Moluscos Bivalvos De Interés En Acuicultura
<b>Subtítulo</b>	

### Autor(es)

<b>Apellidos y Nombres</b>	<b>Código CVLAC / e-mail</b>	
<b>Karla Rosa Rivas Ruiz</b>	<b>CVLAC</b>	<b>14.498.670</b>
	<b>e-mail</b>	Kriuz25@hotmail.com
	<b>e-mail</b>	

### Palabras o frases claves:

Depuración, acuicultura, bacterias, luz ultravioleta, bivalvos

## Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/6

### Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencias	Biología

### Resumen (abstract):

Se evaluó la capacidad de depuración bacteriana en los moluscos bivalvos *Pinctada imbricata*, *Crassostrea rhizophorae*, *Perna viridis* y *P. perna* expuestos a agua de mar tratada con UV y flujo continuo en un sistema abierto. Para esta experiencia, se realizó la contaminación de los organismos en tanques con aguas residuales de una alta carga bacteriana durante 24 horas (mejillones) y 72 horas (ostras) de exposición. Se tomaron muestras por triplicado de cada especie, las cuales correspondieron al tiempo 0 (inicio del tratamiento). Para el inicio de la depuración, los ejemplares contaminados se dispusieron en tanques de polietileno (por triplicado) con un flujo continuo de agua de mar expuesta a UV, previamente filtrada. Se establecieron lapsos de muestreo de 6, 12, 24 y 48 horas. Durante cada una de ellas, se tomaron muestras de cada especie para los análisis microbiológicos: coliformes totales (CT), coliformes fecales (CF), *Escherichia coli* (EC), aerobios mesófilos (AM), *Streptococcus faecalis* (SF) y *Salmonella* sp., así como para la determinación del índice ARN/ADN e índice de condición de los animales. Las diferencias en los tiempos de contaminación bacteriana de los mejillones y las ostras estuvieron relacionadas con sus tasas de bombeo. Los resultados indican que para la eliminación de bacterias CT, CF; EC y AM, se requirió entre 12 - 24 horas (*P. viridis* y *C. rhizophorae*) y 48 horas (*P. imbricata* y *P. perna*) de depuración. La respuesta más rápida en *P. viridis* y *C. rhizophorae* se relacionó con una mayor resistencia ante la colonización bacteriana, en cambio una respuesta lenta fue relacionada con una alta capacidad para retener partículas en sus tejidos. Se evidenció la formación de dos grupos con comportamientos similares: uno formado por *P. viridis* y *C. rhizophorae* y el otro por *P. perna* y *P. imbricata*. En las cuatro especies se eliminó la población de *S. faecalis* en tan solo 6 horas de depuración. Con respecto a *Salmonella* sp., hubo ausencia a las 12 horas para *C. rhizophorae*, *P. viridis* y *P. perna*, y a las 24 horas en *P. imbricata*. La calidad del agua en los tanques durante el proceso de depuración fue óptima, evidenciando el buen funcionamiento del sistema de depuración. En todas las especies, se detectó un incremento progresivo del índice ARN/ADN a medida que avanzó el proceso de depuración. Esta relación constituyó un índice fisiológico apropiado que reflejó la respuesta del estado metabólico de los organismos ante situaciones de estrés y de homeostasis. El proceso de depuración no afectó el índice de condición de los animales y sus valores relativamente bajos probablemente correspondieron a las condiciones en las que venían los organismos desde el medio natural. La aplicación de un sistema de depuración para bivalvos con flujo continuo de agua irradiada con luz ultravioleta, demostró ser un método rápido y eficaz para la purificación de los bivalvos estudiados, además que garantizaría la inocuidad de los bivalvos para su posterior comercialización.

## Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/6

### Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL /	Código CVLAC /	e-mail
<b>Grau de M., Crucita</b>	<b>ROL</b>	CA <input type="checkbox"/> A <input checked="" type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>	
	<b>CVLAC</b>	<b>4.190.086</b>	
	<b>e-mail</b>	crucitagrau@gmail.com	
	<b>e-mail</b>		
<b>Lodeiros. César</b>	<b>ROL</b>	CA <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>	
	<b>CVLAC</b>	<b>5.706.463</b>	
	<b>e-mail</b>	cesarlodeirosseijo@yahoo.es	
	<b>e-mail</b>		
<b>Villalobos de B., Luz B.</b>	<b>ROL</b>	CA <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>	
	<b>CVLAC</b>	<b>5.162.987</b>	
	<b>e-mail</b>	lbvillalobosb@yahoo.com	
	<b>e-mail</b>		

### Fecha de discusión y aprobación:

**Año            Mes            Día**

2012	03	06
------	----	----

**Lenguaje:    spa**

## Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/6

**Archivo(s):**

<b>Nombre de archivo</b>	<b>Tipo MIME</b>
<b>PG-RivasKarla.doc</b>	<b>Aplication/Word</b>

**Alcance:**

**Espacial :**      **Nacional**      (Opcional)

**Temporal:**      **Temporal**      (Opcional)

**Título o Grado asociado con el trabajo: MAGISTER  
SCIENTIARUM EN BIOLOGÍA APLICADA MENCIÓN  
MICROBIOLOGÍA**

**Nivel Asociado con el Trabajo: MAGISTER SCIENTIARUM**

**Área de Estudio: Biología**

**Institución(es) que garantiza(n) el Título o grado:**

**Universidad de Oriente**

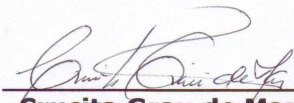
## Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 6/6

**Artículo 41 del REGLAMENTO DE TRABAJO DE PREGRADO (vigente a partir del II Semestre 2009, según comunicación CU-034-2009):** “Los trabajos de grados son de la exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente, y solo podrá ser utilizados para otros fines con el consentimiento del Consejo de Núcleo respectivo, quien deberá participarlo previamente al Consejo Universitario, para su autorización”.



---

**Karla Rivas Ruiz**  
Autor



---

**Crucita Grau de Marín**  
Asesor