



**UNIVERSIDAD ESTATAL
PENÍNSULA DE SANTA ELENA
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR
CARRERA DE BIOLOGÍA**

**DETERMINACIÓN DEL BIOFILM BACTERIANO EN LOS
MICROPLÁSTICOS PRESENTES EN SEDIMENTOS COSTEROS DE
LA PLAYA LA LIBERTAD, PUERTO LUCÍA Y SANTA ROSA**

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Previo a la Obtención del Título de:

BIÓLOGA

AUTOR:

CASTILLO ROGEL KERLY PAMELA

TUTOR:

Ac. SONNYA MENDOZA LOMBANA Ph.D.

La Libertad - Ecuador

2022

UNIVERSIDAD ESTATAL

PENÍNSULA DE SANTA ELENA

FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR

CARRERA DE BIOLOGÍA

**DETERMINACIÓN DEL BIOFILM BACTERIANO EN LOS
MICROPLÁSTICOS PRESENTES EN SEDIMENTOS COSTEROS DE
LA PLAYA LA LIBERTAD, PUERTO LUCÍA Y SANTA ROSA**

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

★ Previo a la Obtención del Título de:

★ **BIÓLOGA**

AUTORA:

CASTILLO ROGEL KERLY PAMELA

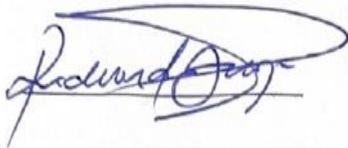
TUTORA

Ac. SONNYA MENDOZA LOMBANA Ph.D.

La Libertad - Ecuador

2022

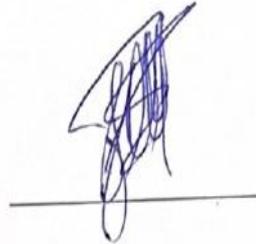
TRIBUNAL DE GRADUACIÓN



Blgo Richard Duque, MSc

Decano

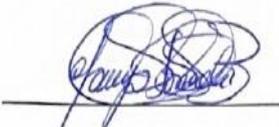
Facultad de Ciencias del Mar



Ing. Jimmy Villón, Msc

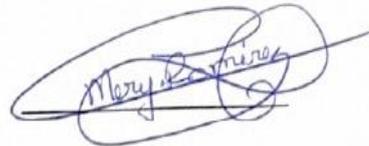
Director de carrera

Carrera de Biología



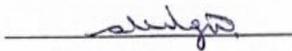
Blga. Tanya González MSc

Docente de Área



Q. F. Mery Ramírez, MSc

Docente de Área



Acui. Sonya Mendoza Ph.D

Docente Tutor

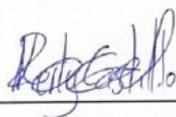


Ab. Victor Coronel Ortiz, MSc.

Secretario General

DECLARACIÓN EXPRESA

La responsabilidad por la idea y resultados expuestos en esta tesis de grado me corresponden exclusivamente, y el patrimonio intelectual de la misma a la Universidad Estatal Península de Santa Elena.



Castillo Rogel Kerly Pamela

C.I. 0706569381

DEDICATORIA

A mis padres, Tayro y Amparito quienes me han brindado su apoyo y esfuerzo incondicional a lo largo de mi vida estudiantil, y gracias a ello se ha podido alcanzar este objetivo.

A mi familia en general, por ser fuente de motivación y apoyo moral en cada una de mis metas.

Kerly Pamela Castillo Rogel

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por brindarme la vida, ser guía en cada uno de mis pasos y permitirme contar con el amor de mis padres y familiares.

A mis padres y hermanos por ser el pilar fundamental en mi vida y haberme brindado todo su apoyo durante el transcurso de ella.

A las autoridades y personal Académico de la Universidad Estatal Península de Santa Elena por permitir formarme académicamente y liderar el proceso de formación profesional.

A mi tutora la Ac. Sonnya Mendoza Lombana, por brindarme su tiempo, orientación y conocimiento para la realización de este trabajo investigativo.

A la M Sc Laura Pachón por el apoyo y confianza dentro de esta investigación

A aquellas amistades, Galo, Cindy, Andy, que dedicaron un poco de su tiempo y brindaron apoyo moral para que yo pudiera realizar este trabajo.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	12
CAPÍTULO I	14
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	14
OBJETIVOS	16
HIPÓTESIS	16
JUSTIFICACIÓN.....	17
CAPÍTULO II.....	18
MARCO TEÓRICO	18
2.1 MICROPLÁSTICOS	18
2.1.1 Microplásticos en ambientes marinos.....	19
2.1.2 Microplásticos en sedimentos costeros.....	21
2.2 BIOFILM BACTERIANO.....	22
2.2.1 Biofilm en los microplásticos	22
2.2.2 Bacterias asociadas al biofilm adherido a los microplásticos	23
2.3 GRANULOMETRÍA.....	26
2.4 Siembra en placa	26
CAPÍTULO III	31
METODOLOGÍA.....	31

Localización de la investigación.....	31
Población de unidades y variables de medición	33
Diseño para la recolección de datos primarios	34
Recolección de muestras.	35
Procesamiento de las muestras.	36
Modelos de análisis e interpretación.	37
CAPÍTULO IV.....	38
ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS	38
Análisis estadísticos	40
Mediana de las Bacterias Totales presentes en cada playa	40
Mediana de las colonias amarillas presentes en cada playa	40
Mediana de las colonias verdes presentes en cada playa	40
ANOVA para Bacterias Totales entre cada zona.....	41
Prueba de Múltiples Rangos HSD de Tukey para Bacterias Totales entre zona	42
ANOVA para colonias amarillas entre cada zona	43
Prueba de Múltiples Rangos HSD de Tukey para colonias amarillas entre zona	44
ANOVA para colonias verdes entre cada zona	45
Prueba de Múltiples Rangos HSD de Tukey para colonias verdes entre zona..	46

COMPARACIÓN DE LA CARGA MICROBIANA (Bacterias Totales y Vibrios) PRESENTES EN LA ZONA DE MAREA ALTA Y MAREA BAJA DE LA PLAYA LA LIBERTAD	47
COMPARACIÓN DE LA CARGA MICROBIANA (Bacterias Totales y Vibrios) PRESENTES EN LA ZONA DE MAREA ALTA Y MAREA BAJA DE LA PLAYA PUERTO LUCÍA.....	50
COMPARACIÓN DE LA CARGA MICROBIANA (Bacterias Totales y Vibrios) PRESENTES EN LA ZONA DE MAREA ALTA Y MAREA BAJA DE LA PLAYA SANTA ROSA	54
CAPÍTULO V	58
DISCUSIONES, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	58
DISCUSIONES	58
CONCLUSIONES	61
RECOMENDACIONES	63
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64
ANEXOS	69

ÍNDICE DE IMÁGENES

Imagen 1: Siembra en placa por estrías.	27
Imagen 2: Siembra en placa por superficie.	28
Imagen 3A: Playa La Libertad coordenadas 2°13'14.5"S 80°54'53.2"W	31
Imagen 4A: Playa Puerto Lucía con coordenadas 2°13'10.4"S 80°55'24.1"W ...	32
Imagen 5: Playa Santa Rosa con coordenadas 2°12'37.6"S 80°56'53.4"W	33
Imagen 6: Referencia del Low strand line (Zona baja de marea) y High strand line (Zona alta de marea).	34
Imagen 7: Recolección y extracción de las muestras.	36
Imagen 8: Placas de la sona LSL1 Y LSL3 de la playa La Libertad con presencia de colonias negras.	39
Imagen 9: Gráfico de dispersión ANOVA para Bacterias Totales.....	42
Imagen 10: Gráfico de medias y prueba de HSD de Tukey para bacterias totales.	43
Imagen 11: Gráfico de dispersión ANOVA para colonias amarillas.	44
Imagen 12: Gráfico de medias y prueba de HSD de Tukey para bacterias totales	45
Imagen 13: Gráfico de dispersión ANOVA para colonias verdes.....	46
Imagen 14: Gráfico de medias y prueba de HSD de Tukey para colonias verdes	47
Imagen 15: Gráfico de medias y prueba de HSD de Tukey para Bacterias totales	48
Imagen 16: Gráfico de medias y prueba de HSD de Tukey para colonias amarillas	49

Imagen 17: Gráfico de medias y prueba de HSD de Tukey para bacterias totales.	51
Imagen 18: Gráfico de medias y prueba de HSD de Tukey para colonias amarillas.	52
Imagen 19: Gráfico de medias y prueba de HSD de Tukey para colonias verdes.	53
Imagen 20: Gráfico de medias y prueba de HSD de Tukey para bacterias totales presentes en las 2 zonas de la playa Santa Rosa.	55
Imagen 21: Gráfico de medias y prueba de HSD de Tukey para colonias amarillas	56
Imagen 22: Gráfico de medias y prueba de HSD de Tukey para colonias verdes.	57
Imagen 23: Presencia de macro y microplásticos en la playa Santa Rosa.	71
Imagen 24: Recolección de muestras en la playa La Libertad.	72
Imagen 25: Aplicación de vortex las muestras.	72
Imagen 26: Placas sembradas con muestras de la playa Puerto Lucía, zona de marea alta.	73
Imagen 27: Placas sembradas con muestras de la playa Santa Rosa, zona de marea alta.	73

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: UFC de cada zona muestreada en la playa La Libertad.	38
Tabla 2: UFC de cada zona muestreada en la playa Puerto Lucía.	38
Tabla 3: UFC de cada zona muestreada en la playa Santa Rosa.	39
Tabla 4: UFC de cada zona muestreada en la playa La Libertad en la semana 4 con presencia de colonias negras en TCBS de las zonas HSL2, LSL1, LSL3.	39
Tabla 5: Prueba de medianas para Bacterias Totales en las 3 zonas de muestreo	40
Tabla 6: Prueba de medianas para colonias amarillas en las 3 zonas de muestreo	40
Tabla 7: Prueba de medianas para colonias verdes en las 3 zonas de muestreo. .	40
Tabla 8: Tabla ANOVA simple de las UFC de Bacterias Totales en las 3 zonas de muestreo.	41
Tabla 9: Prueba HSD de Tukey de las 3 estaciones de muestreo.....	42
Tabla 10: Tabla ANOVA simple de las UFC de colonias amarillas en las 3 zonas de muestreo.....	43
Tabla 11: Prueba de HSD de Tukey para colonias amarillas entre las 3 zonas de muestreo.	44
Tabla 12: Tabla ANOVA simple de las UFC de colonias verdes en las 3 zonas de muestreo.	45
Tabla 13: Prueba de HSD de Tukey para Colonias verdes en las 3 zonas de muestreo.	46
Tabla 14: Tabla ANOVA de las Bacterias Totales presentes en la zona de marea alta y marea baja en la playa La Libertad.	47

Tabla 15: Prueba HSD de Tukey.....	48
Tabla 16: Tabla ANOVA de las colonias amarillas presentes en la zona de marea alta y marea baja en la playa La Libertad.	49
Tabla 17: Prueba HSD de Tukey para colonias Amarillas en la playa La Libertad.	49
Tabla 18: Tabla ANOVA de las colonias verdes presentes en la zona de marea alta y marea baja en la playa La Libertad.	50
Tabla 19: Prueba HSD de Tukey para colonias verdes en las 2 zonas de la playa La Libertad.	50
Tabla 20: Tabla ANOVA de las bacterias totales presentes en la zona de marea alta y marea baja en la playa Puerto Lucía.	50
Tabla 21: Prueba de HSD de Tukey para bacterias totales entre las 2 zonas de la playa Puerto Lucía.	51
Tabla 22: Tabla ANOVA de las colonias amarillas presentes en la zona de marea alta y marea baja en la playa Puerto Lucía.	52
Tabla 23: Prueba HSD de Tukey para colonias amarillas presentes en las 2 zonas de la playa Puerto Lucía.	52
Tabla 24: Tabla ANOVA de las colonias verdes presentes en la zona de marea alta y marea baja en la playa Puerto Lucía.	53
Tabla 25: Prueba HSD de Tukey para colonias verdes presentes en las 2 zonas de la playa Puerto Lucía.	53
Tabla 26: Tabla ANOVA de las bacterias totales presentes en la zona de marea alta y marea baja en la playa Santa Rosa.	54

Tabla 27: Prueba HSD de Tukey para bacterias totales presentes en las 2 zonas de la playa Santa Rosa.	54
Tabla 28: Tabla ANOVA de las colonias amarillas presentes en la zona de marea alta y marea baja en la playa Santa Rosa.	55
Tabla 29: Prueba HSD de Tukey para colonias amarillas presentes en las 2 zonas de la playa Santa Rosa.	56
Tabla 30: Tabla ANOVA de las colonias verdes presentes en la zona de marea alta y marea baja en la playa Santa Rosa.	56
Tabla 31: Prueba HSD de Tukey para colonias verdes presentes en las 2 zonas de la playa Santa Rosa.	57
Tabla 32: Base de datos de las UFC/ml que se presentaron por cada muestreo...	71

RESUMEN

Los microplásticos son residuos que se encuentran a nivel mundial y son de principal preocupación en los ambientes marinos. Existen diversos estudios en donde han encontrado niveles significativos de microplásticos en sedimentos costeros, suponiendo una amenaza para la salud del ecosistema. Estas partículas tienden a formar un biofilm bacteriano, el cual varía de acuerdo al lugar en donde se encuentre, por lo cual el presente estudio se planteó determinar la carga bacteriana (bacterias totales y vibrios) adherida a los microplásticos presentes en los sedimentos de 3 diferentes playas utilizando granulometría para la separación de microplásticos entre el sedimento y siembra en placa para la cuantificación de bacterias totales y vibrios, se consideró la actividad antropogénica de cada lugar, para a su vez realizar una comparación entre ellas, dando como resultado una diferencia de 10^{-5} entre las playas La Libertad y Puerto Lucía y La Libertad y Santa Rosa, tomando como referencia al trabajo de Fernández 2016 donde obtuvo presencia de bacterias totales de 10^{-6} se obtuvo resultados relevantes y estadísticamente significativos referente a la carga bacteriana (bacterias totales y vibrios) de las zonas de marea alta y baja no se observaron diferencias representativas en ninguna de las 3 estaciones de muestreo.

Palabras clave: microplásticos, biofilm, bacterias totales, vibrios

ABREVIATURAS

PP	Polipropileno
PE	Polietileno
PET	Tereftalato de polietileno
PVC	Cloruro de polivinilo
PS	Poliestireno
PCB	Policlorados
MPs	Microplásticos
HAP	Hidrocarburos aromáticos policíclicos
DDT	Diclorodifeniltricloroetano
UFC	Unidades formadoras de colonias
HSL	High strand line
LSL	Low strand line
ASTM	American Society for Testing and Materials
UCA	Universidad Centroamericana
HSD	Honestly significant difference
BT	Bacterias Totales
LL	La Libertad

PL Puerto Lucía

SR Santa Rosa

INTRODUCCIÓN

Es de gran conocimiento que la fragmentación de plástico ocurre en el mar, ocasionando así la formación de partículas microscópicas, denominadas “microplásticos”. Estas llegan a alterar la biota pelágica y a los habitantes de los sedimentos mediante la modificación de las propiedades físicas de sus hábitats. Debido a su pequeño tamaño se incorporan y cambian las propiedades de los sedimentos marinos (Carson, H. S. et al., 2013) (Reisser, J., et al., 2014). La ingesta de microplásticos se ha observado en una amplia gama de biota, desde organismos microscópicos como el zooplancton (Desforges et al., 2015), pequeños organismos marinos como percebes, gusanos y mejillones (Van Cauwenberghe et al., 2015), hasta grandes organismos marinos como los peces pelágicos (Romeo et al., 2015). La absorción de partículas de microplásticos provoca un aumento de la bioacumulación de contaminantes orgánicos persistentes en los gusanos de mar (Besseling et al., 2012), daños tisulares y celulares en los mejillones azules (Von Mooset et al., 2012) y alteraciones endocrinas en los peces medakos (Rochman et al., 2014). Estas pruebas indican que los microplásticos amenazan la vida marina y que es un problema que no debe ignorarse. Se ha informado de la presencia de microplásticos en las costas de África (Heskett et al., 2012; Ryan et al., 2012), América (Costa et al., 2010; Ríos et al., 2007; Heskett et al., 2011), Asia (Zurcher, 2009; Endo et al., 2005; Ismail et al., 2009), Australia (Gregory, 1977) y Europa (Turner y Holmes, 2011; Ashton et al., 2010; Holmes et al., 2012). Como resultado, presentan un entorno habitable para que la biota marina lo colonice. Se han investigado las superficies de los microplásticos de varios océanos del mundo en

busca de organismos marinos adheridos. Bacterias de los filos Bacteroidetes y Proteobacteria (Oberbeckmann et al., 2014), diatomeas como *Cylindrotheca closterium* y *Striatella sp.* (Briand et al., 2012; Carpenter y Smith, 1972; Carson et al., 2013; Eich et al., 2015), dinoflagelados de los géneros *Alexandrium*, *Coolia* y *Ostreopsis* (Masó et al., 2003) y conjuntos de cianobacterias se encontraron en microplásticos recogidos en entornos marinos (Oberbeckmann et al.,) Para el año 2025, se prevé que la cantidad acumulada de contaminación por plástico en los entornos marinos aumente en un orden de magnitud, llegando a niveles de hasta 250 millones de toneladas métricas (Jambeck et al., 2015). Teniendo en cuenta este aumento previsto de la contaminación por microplásticos en las próximas décadas, es crucial entender las comunidades microbianas que están presentes en las superficies de estos microplásticos. El presente estudio pretende determinar la carga microbiana asociada a microplásticos presentes en los sedimentos costeros, utilizando el método granulométrico y siembra en placa para poder dar a conocer si la presencia de bacterias y vibrios es alta o baja dentro de las zonas de estudio.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El plástico es el residuo marino más común y representa un gran problema de contaminación global. Se conoce que los ambientes marinos han sido destruidos por la presencia de plásticos. La existencia de microplásticos en el ambiente marino se conoce desde hace más de cuatro décadas, y en la actualidad es confirmada en muestras de la columna de agua y sedimento costero y marino (Stolte, 2014).

La presencia de bañistas que dejan su basura en las orillas de la playa, lleva consigo que en pleamar estas sean arrastradas hacia el mar y por consiguiente se degraden con la ayuda de diferentes factores. La pesca artesanal presente en las playas se suman a esta problemática, debido a que sus mallas, cabos, botellas y demás implementos a base de diferentes plásticos son dejadas en las orillas y ya sea por desgaste o degradación van dejando pequeñas partículas entre los sedimentos, estos al ser removidos por el movimiento de las olas se van enterrando o son arrastrados hacia el mar.

Los microplásticos que se encuentran en sedimentos costeros son un problema a nivel global, porque estos sin importar su origen, son medio de transporte y colonización de microorganismos, incluyendo patógenos. La formación de biofilm

forman un arrecife microbiano artificial, lo que implica un peligro a la higiene y seguridad del entorno.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar la carga microbiana (bacterias totales y vibrios) adherida a los microplásticos presentes en los sedimentos costeros, mediante granulometría y siembra en placa.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Clasificar por granulometría los microplásticos de 1 a 5 mm que se encuentren en los sedimentos costeros de las estaciones de muestreo seleccionadas para el estudio.
- Cuantificar la carga microbiana (bacterias totales y vibrios) presente en los microplásticos recolectados en las diferentes zonas de muestreo.
- Comparar la carga microbiana (bacterias totales y vibrios) entre las 3 estaciones de muestreo escogidas.
- Comparar la carga microbiana (bacterias totales y vibrios) de las zonas de marea alta y baja (HSL y LSL) de las 3 playas escogidas para el muestreo.

HIPÓTESIS

H: La carga microbiana (bacterias totales y vibrios) asociada a microplásticos en sedimentos es altamente significativa entre las diferentes estaciones de muestreo.

H0: La carga microbiana (bacterias totales y vibrios) asociada a microplásticos en sedimentos no es significativa entre las diferentes estaciones de muestreo.

JUSTIFICACIÓN

Se ha demostrado que los microplásticos son medios de transporte y colonización de bacterias y patógenos. Existen diferentes estudios enfocados a coliformes fecales presente en los microplásticos, pero no existe una línea base en cuanto a la cuantificación de bacterias totales y de vibrios en ellos. Dentro de la provincia de Santa Elena no se posee el conocimiento del nivel de significancia de la carga microbiana presente en los microplásticos de sedimentos costeros. Tomando en cuenta que para la formación de biofilms depende de los factores ambientales y antropogénicos, se seleccionaron zonas con diferentes actividades humanas, tal es el caso del desembarque de pesca artesanal y presencia de bañistas, para así poder realizar una comparación de los datos obtenidos en cada zona con diferente actividad. Se conoce que los Alfa y Gammaproteobacteria son los iniciales formadores de biofilm, dentro de esta clase se encuentra el género *Vibrio*, el cual es la mayoría de veces es un género patógeno llegando a alterar los ecosistemas en donde se encuentre. El objetivo de este trabajo es determinar cuan significativa es la carga bacteriana adherida a los microplásticos de los sedimentos costeros en las 3 estaciones de muestreo. Esto nos dirá que tan enriquecido se encuentra el sustrato dependiendo de la estación que se encuentre, debido a esto también se realiza una comparación entre estaciones tomando en cuenta la actividad antropogénica que presenta cada playa. Junto con ello se compara la zonas de marea alta y baja para saber en cuál de estas la carga bacteriana es más elevada.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 MICROPLÁSTICOS

En los años 30 se fabrica por primera vez el polietileno y luego de eso se comenzaron a producir otros plásticos como el poliestireno y nylon (OCW, 2010). Carpenter y Smith en los años 70 descubren la presencia de residuos plásticos en la superficie del mar de Sargazos convirtiéndose en los primeros investigadores en hablar sobre el tema, es a partir de su estudio que comenzó la preocupación e investigación sobre los plásticos en el medioambiente (Ahrendt, 2017) . La NOAA (National Oceanic and Atmospheric Administration) considera a los microplásticos como aquellas piezas de plástico menores a 5 mm tomando como referencia su dimensión más larga (Pazos, 2021). El ingreso al medio marino es muy diverso porque se puede dar por la fragmentación de piezas más grandes como también por la fabricación de microplásticos para originar otros productos, es por ello que se clasifican en 2 categorías tales como:

MPs primarios: Son aquellos plásticos fabricados en pequeños tamaños, como los exfoliantes, productos de limpieza, entre otros (Cole et al., 2011) o también para son utilizados para la producción de macroplásticos como por ejemplo, los pellets son empleados para el proceso de moldeado, extracción, etc, los cuales mediante fundición adquieren la forma deseada de un plástico. Hay algunos casos que son

utilizados para transferir ciertas propiedades a los fármacos para así brindar resistencia a la digestión gástrica (Chung et al., 2019)

MPs secundarios: Estos son generados por la fragmentación o degradación selectiva de macro plásticos frente a factores externos durante su transporte en los diferentes ecosistemas. Pazos (2021) afirma que fragmentación de los plásticos se da por el pasar de los años, sumado a eso los factores físico-químicos, o también por biodegradación ocasionada por bacterias y hongos.

2.1.1 Microplásticos en ambientes marinos

En el 2018, el INP indica que los microplásticos son el contaminante más grande de los mares. Representando un grave problema para la vida marina de manera silenciosa y al ser inferiores a 5 mm los sistemas de filtración de aguas residuales se les dificulta su eliminación y es así como terminan en ríos y océanos en donde son ingeridos por un sin número de especies marinas. Además, actúan como transportadores de patógenos, toxinas, metales pesados y derivados del petróleo, ingresando indirectamente a la red alimentaria a través de esta vía. Estos a su vez, son divididos en fuentes de contaminación primaria y secundaria, en donde las primarias aquellas en las que los microplásticos se producen intencionalmente

para su uso directo o como precursores de otros productos, y llegan al mar procedentes de las escorrentías de aguas interiores o de aguas procedentes de plantas de tratamiento. Las fuentes secundarias serían aquellos microplásticos que se forman en el medioambiente como consecuencia de la degradación de otros materiales plásticos más grandes. Esto dependerá de las características del polímero, de las condiciones ambientales en las que se encuentre y de su grado de degradación. Los tamaños varían de acuerdo al tipo, PP es uno de los más pequeños, PE es el que le sigue y PS es el último, sugiriendo que los plásticos tienen comportamientos diferentes en cuanto a la forma de partícula y factores de degradación.

Los microplásticos constituyen el 95% de desechos que se extienden y depositan en diferentes matrices del medio marino: fondo del mar, biota columna de agua, agua superficial, costas y sedimentos (Sbarbati, 2020) esto se debe a su alta flotabilidad y una baja densidad, considerándolos así un gran problema global emergente que afecta a todos los organismos tanto marinos como terrestres, incluyendo a la especie humana. Es por esto que existen diferentes estudios que dedican a la cuantificación y clasificación de los mismos en ambientes marinos.

2.1.2 Microplásticos en sedimentos costeros

Los primeros informes sobre microplásticos asociados a los sedimentos se remontan a finales de la década de 1970. Estas primeras observaciones se referían a pellets de resina industrial (de 2 a 5 mm) en playas de Nueva Zelanda, Canadá, Bermudas, Líbano y España (Rojo & Mototo, 2017), demostrando así su distribución a nivel mundial. Gregory en uno de sus informes en 1978 declara concentraciones de pellets que superaban los 1.000 pellets por metro de playa, con abundancias extremas de 20.000 a 100.000 pellets.m⁻¹. Se consideró de gran influencia los grandes puertos y la industria local de plástico y las altas concentraciones se atribuían a los patrones de circulación oceánica. Desde estos primeros estudios, se ha informado de la contaminación de playas por pellets en todo el mundo. En la mayoría de estos estudios, el objetivo principal no era evaluar la presencia y abundancia de estas bolitas, sino la carga de contaminantes presentes en ellas. Se han detectado muchos compuestos hidrofóbicos (incluidos los bifenilos policlorados (PCB), los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), el diclorodifeniltricloroetano (DDT) y los productos de degradación) en pellets recogidos en entornos marinos. Las concentraciones de PCB en bolitas de polipropileno recogidas en Japón eran hasta 106 veces superiores a las del agua de mar circundante (Abayomi et al., 2017). Recientemente, Fotopoulou y Karapanagioti (2012) demostraron que las alteraciones de la superficie de los pellets, resultantes de la erosión ambiental, pueden explicar la mayor afinidad por los contaminantes de los pellets, mientras que los pellets vírgenes tienen superficies

lisas y uniformes, los pellets erosionados mostraban una superficie irregular con una mayor área superficial y polaridad, lo que afectaba a la eficiencia de la sorción.

2.2 BIOFILM BACTERIANO

Se denomina biofilm a un grupo de microorganismos adheridos a una superficie, estos microorganismos adherentes en forma de biofilm brindan protección a los microbios que participan en su desarrollo. El proceso comienza cuando el microorganismo planctónico se encuentra con una superficie donde algunos se adsorben, seguido de la liberación de la superficie hasta la unión final mediante la secreción de exopolisacáridos que actúan como adhesivo para la biopelícula en crecimiento (John, 2020).

2.2.1 Biofilm en los microplásticos

La adhesión bacteriana es importante para el destino y el transporte de plásticos en ambientes acuáticos. No ha habido una investigación sistemática de la adhesión bacteriana a diferentes tipos de plásticos. Se realizó una evaluación limitada de la adhesión a corto y largo plazo para diferentes tipos de bacterias y cuatro tipos de plásticos, polietileno (PE), polipropileno (PP), tereftalato de polietileno (PET) y cloruro de polivinilo (PVC). Se caracterizaron los factores fisicoquímicos objetivo

de carga superficial, hidrofobicidad/hidrofilia, rugosidad y dureza plástica. La dureza de la superficie de los plásticos se identificó como un factor importante que domina la adhesión de las bacterias a las superficies plásticas en contraste con los otros factores. Hubo diferencias significativas en la adhesión celular bacteriana para los tipos de plásticos. Los diferentes tipos de plástico influyeron en la adhesión bacteriana debido a las propiedades intrínsecas de la superficie en estudios a corto y largo plazo. En general, se prevé que la rugosidad de la superficie, la topografía, la energía libre de la superficie, la carga de la superficie, las interacciones electrostáticas y la hidrofobicidad de la superficie sean importantes para el proceso de adhesión del biofilm (John, 2020). Existen estudios que demuestran que los microplásticos que presenten biofilm son de mayor riesgo ambiental y generan ecotoxicidad

2.2.2 Bacterias asociadas al biofilm adherido a los microplásticos

En la actualidad se han realizado varios estudios sobre las biopelículas microbianas que cubren las partículas de microplásticos en el medio marino. Sin embargo, casi cada estudio tiene su propio diseño de investigación y parámetros detectados, y es difícil comparar los datos obtenidos. Los microorganismos presentes en el agua de mar son capaces de adherirse rápidamente en pocas horas a una partícula de microplástico y colonizar su superficie (Urbanek et al., 2018). Se sugirió que el

desarrollo de una comunidad microbiana en los microplásticos progresa en una determinada sucesión que puede dividirse en períodos de colonización temprana, media y tardía. Se observó que los representantes de las Gammaproteobacterias (géneros *Pseudomonas*, *Acinetobacter* y *Alteromonas*) dominaron en la comunidad microbiana durante las 0-9 horas en las muestras de acrílico colocadas en el agua de mar; mientras que los miembros de las Alphaproteobacterias (géneros *Loxotellus*, *Methylobacterium* y *Pelagibacter*), pasaron a predominar durante las 24-36 horas de formación de la biopelícula. Sin embargo, se observó la misma sucesión en las biopelículas desarrolladas sobre vidrio y acero, a pesar de que las comunidades bacterianas eran diferentes en las biopelículas desarrolladas sobre diferentes sustancias. El estudio del desarrollo de biopelículas sobre diferentes sustancias como el policarbonato y el acero inoxidable en agua de estuario mostró que al principio la forma representativa Alphaproteobacteria, principalmente el orden Rhodobacterales, eran miembros abundantes tanto en las biopelículas de acero inoxidable como en las de policarbonato, pero después de una semana de crecimiento se observaron las diferencias (Stabnikova et al., 2021). Los miembros de las Gammaproteobacterias, concretamente del género *Oleibacter*, dominaron hasta un 59,1% entre las comunidades microbianas de las biopelículas durante el primer día de su formación en el litoral marino sobre las muestras de cloruro de polivinilo, pero fueron rápidamente sustituidos por los representantes de las Alphaproteobacterias, representadas principalmente por las Rhodobacteraceae, y las Flavobacterias (Pollet et al., 2018). La composición de las comunidades microbianas de las biopelículas adheridas a microplásticos de polipropileno y

cloruro de polivinilo en agua de mar variaba en función del lugar y el tiempo de exposición, pero dominaban las bacterias de la clase Alphaproteobacteria, principalmente Rhodobacteraceae, seguidas de la clase Gammaproteobacteria. El estudio de la composición de la comunidad bacteriana de las biopelículas desarrolladas en agua de mar sobre el polietileno de baja y alta densidad, y el polipropileno mostró que las diferencias en la composición de la biopelícula eran más fuertes después de una semana de incubación y no eran tan dramáticas en las últimas etapas de la formación de la biopelícula cuando los representantes de familias como Flavobacteriaceae, Rhodobacteraceae, Planctomycetaceae y Phyllobacteriaceae eran abundantes en todas las superficies. El estudio de la composición de la comunidad microbiana en fragmentos de botellas de tereftalato de polietileno en el Mar del Norte (Reino Unido), realizado mediante electroforesis en gel de gradiente desnaturizante y análisis de secuenciación, mostró que estaba compuesta por bacterias pertenecientes a Bacteroidetes, Proteobacterias y Cianobacterias (Oberbeckmann et al., 2016). El análisis de las comunidades microbianas de las biopelículas sobre microplásticos (polietileno, polipropileno y poliestireno), que flotaban en una bahía de la isla de Elba, en el mar Mediterráneo, mostró que la plasticidad de todas las partículas MP estaba formada por representantes de los órdenes Flavobacteriales, Rhodobacterales, Cytophagales, Rickettsiales, Alteromonadales, Chitinophagales y Oceanospirillales (Vacksmas et al., 2021), tomando en cuenta lo narrado anteriormente se puede denotar que bacterias dominantes en las comunidades microbianas de las partículas microplásticas cubiertas por biofilms pertenecen a bacterias Gram negativas

2.3 GRANULOMETRÍA

Es la medición y graduación utilizada para los granos de una formación sedimentaria con fines de análisis, tanto de su origen, propiedades mecánicas y cálculo de abundancia correspondiente a los tamaños previstos por la escala granulométrica. Estas pruebas son empleadas para determinar y separar por tamaños los diferentes gránulos de suelo y aquello que se encuentre inmersos en el mismo (Lambe & Whitman, 1997).

De acuerdo a las Normas ASTM y Guía de Laboratorio Construcción I, UCA, se entiende por granulometría o análisis granulométrico a todo procedimiento manual o mecánico por el cual se separan partículas constituidas de un agregado de acuerdo a tamaños, para su separación se utilizan mallas de diferentes aberturas, estas proporcionarán el tamaño máximo de la muestra.

2.4 Siembra en placa

Bernaro (2020) dice que sembrar o inocular es colocar una porción de la muestra en un medio adecuado y a temperatura óptima para que los microorganismos puedan crecer. Existiendo así diferentes tipos de siembra tales como:

Siembra en placa en estría:

Sanz (2011) sugiere colocar 15 o 20 ml del medio de cultivo en una placa de Petri estéril y dejar solidificar. Sembrar en forma de estría con un asa que contenga la muestra o dilución. Incubar las placas, en posición invertida, a la temperatura óptima del medio escogido. Observar el tamaño, forma y aspecto de las bacterias (plana, convexa, umbilicada, brillante, seca, etc.).

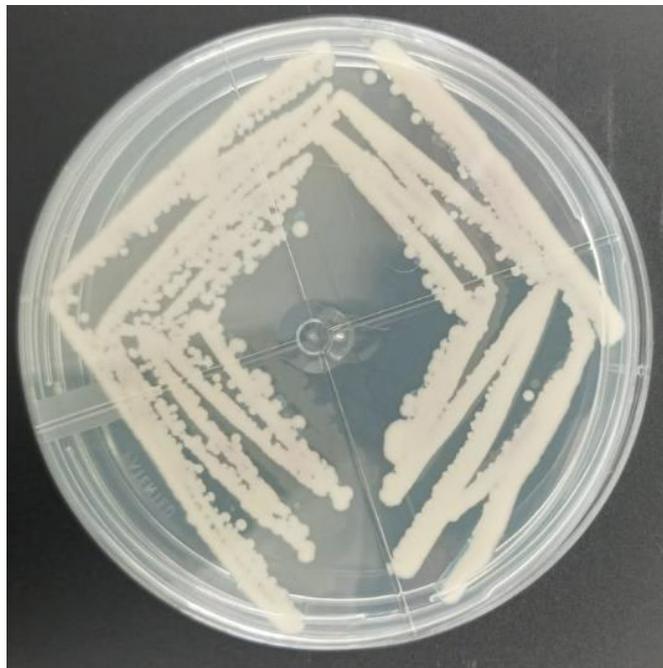


Imagen 1: Siembra en placa por estrías.

Fuente: Autoría

Siembra en placa por profundidad:

Sanz (2011) sugiere colocar 1, 0.5 y 0.1 mL de la dilución o muestra problema en placas de Petri estériles. Añadir 10-15 mL de ágar nutritivo a cada una de las placas. Realizar movimientos circulares para que el inóculo se distribuya uniformemente. Dejar solidificar. Incubar las placas invertidas a la temperatura óptima del medio escogido. Contar las placas que tienen entre 30-300 colonias.

Siembra en placa por superficie:

Sanz (2011) sugiere colocar 15 o 20 ml del medio de cultivo en una placa de Petri estéril y dejar solidificar. Adicionar 0.1 ml de la muestra o de las diluciones y distribuir de forma homogénea por la superficie con ayuda de un asa de siembra estéril. Incubar las placas a la temperatura óptima del medio escogido.

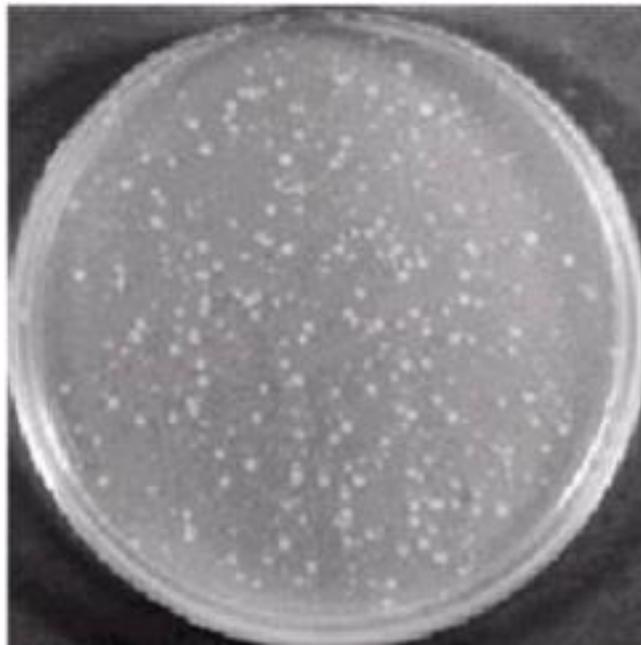


Imagen 2: Siembra en placa por superficie.

Autor: Bernaro (2011)

Agar TCBS

Este es uno de los principales medios de aislamiento selectivo de vibrios. Creado por Kobayashi et al.⁴, quienes modificaron el medio selectivo de Nakanishi.⁵ La combinación de agua de peptona alcalina y agar TCBS utilizado en diferentes procedimientos para el aislamiento de *V. cholerae* y otras especies de vibrios (Thermo Fisher Scientific Inc., 2022).

Agar Marino.

Las preparaciones de agar marino de acuerdo a ZoBell (1941), indican que el contenido mineral de agua de mar es casi el doble, ayudando así a simular el medio de donde pertenecen. La peptona bacteriológica suministra nitrógeno, vitaminas, minerales y aminoácidos esenciales para el crecimiento. El extracto de levadura es una fuente de vitaminas, particularmente del grupo B. El agar bacteriológico es el agente solidificante (Condalab, 2019)

2.4 Conteo de colonias

Existe varios métodos para enumerar microorganismos en muestras de diferentes orígenes y cada uno de ellos tiene sus singularidades al momento de transformar los datos obtenidos en una densidad seleccionada, estos pueden ser Unidades Formadoras de Colonias (UFC), Microorganismos Totales, etc. Entre todos ellos destacada el de UFC por ml o g de la muestra (Arana, I., Orruño M. & Barcina I., 2011)

Sanz (2011) argumenta que al momento de interpretar los resultados en placas por dilución, como se suelen sembrar más de 1 placa por muestra y dilución es mejor

seleccionar aquellas que producen resultados entre 30 y 300 colonias por placas para así poder seleccionar la dilución apropiada.

La fórmula empleada para calcular el número de UFC/ml es la siguiente:

$$\mathbf{UFC/ml} = \frac{\mathbf{N^{\circ} de colonias}}{\mathbf{ml sembrados}} * \mathbf{factor de dilución}$$

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

Localización de la investigación

Esta investigación tuvo como estudio 3 zonas de muestreo: playa La Libertad con coordenadas $2^{\circ}13'14.5''S$ $80^{\circ}54'53.2''W$ (Imagen 3A y B), playa Puerto Lucía con coordenadas $2^{\circ}13'10.4''S$ $80^{\circ}55'24.1''W$ (Imagen 4A y B) y Santa Rosa con coordenadas $2^{\circ}12'37.6''S$ $80^{\circ}56'53.4''W$ (Imagen 5)



Imagen 3A: Playa La Libertad coordenadas $2^{\circ}13'14.5''S$ $80^{\circ}54'53.2''W$

Fuente: Google Maps, 2021



Imagen 3B: Playa La Libertad coordenadas $2^{\circ}13'14.5''S$ $80^{\circ}54'53.2''W$, área de muestreo, donde HSL es el nivel alto de marea y LSL es el nivel bajo de marea
Fuente: Google Maps, 2021

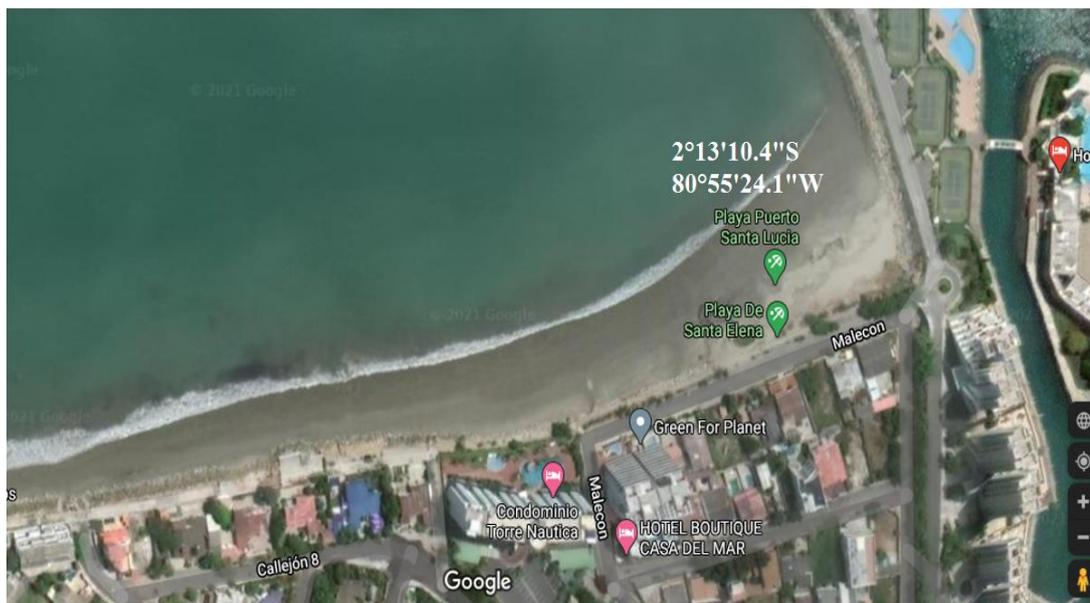


Imagen 4A: Playa Puerto Lucía con coordenadas $2^{\circ}13'10.4''S$ $80^{\circ}55'24.1''W$.
Fuente: Google Maps, 2021



Imagen 4B: Playa Puerto Lucía con coordenadas $2^{\circ}13'10.4''S$ $80^{\circ}55'24.1''W$. Áreas de muestreo, donde HSL es el nivel alto de marea y LSL es el nivel bajo de marea

Fuente: Google Maps, 2021



Imagen 5: Playa Santa Rosa con coordenadas $2^{\circ}12'37.6''S$ $80^{\circ}56'53.4''W$. Áreas de muestreo donde HSL es el nivel alto de marea y LSL es el nivel bajo de marea.

Fuente: Google Maps, 2021

Población de unidades y variables de medición

La población de unidades fueron las 3 playas en las cuales se tomó 6 muestras, 3 del HSL y 3 del LSL. Como variables de medición se tenemos:

Dependientes: los microorganismos (bacterias y vibrios)

Independientes: los microplásticos colectados en los sedimentos costeros de cada playa.

Diseño para la recolección de datos primarios

Se utilizó la metodología de recolección de Curren y Leong (2019, p. 317), en la cual se obtienen las muestras de sedimento en líneas horizontales de 60m en 2 zonas de cada playa, la línea de nivel alto (High-Strand Line HSL) que es la zona alta de la marea y la línea de nivel bajo (Low-Strand Line LSL) que es la zona del borde del agua, estas son paralelas a la costa (Imagen 6) y fueron seleccionadas de acuerdo a el propósito del muestreo. Cada línea de transecto se dividió en tres secciones a intervalos de 15 m. Se recolectaron 500 cm³ de arena de los 5 cm superiores de sedimento de arena, con la ayuda de un tamiz de 900 micras de ojo de malla se separaba por granulometría las muestras obteniendo así los microplásticos de 1 mm en adelante.

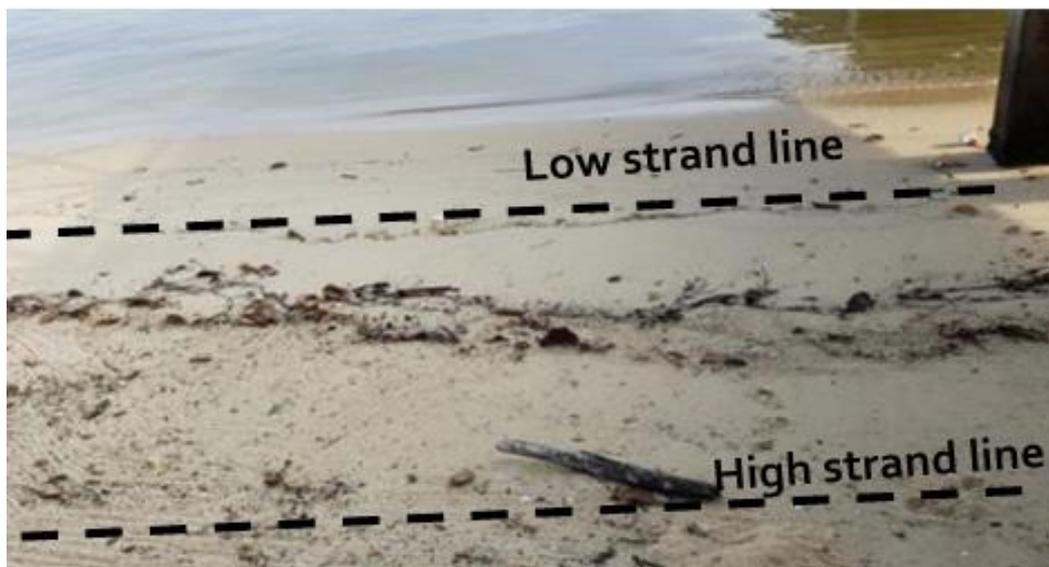


Imagen 6: Referencia del Low strand line (Zona baja de marea) y High strand line (Zona alta de marea).
Tomada de Profiles of bacterial assemblages from microplastics of tropical coastal environments (Curren & Leong, 2019, p. 317).

Recolección de muestras.

Se recolectaron 90 muestras de sedimento con microplásticos en las playas de La Libertad, Puerto Lucía y Santa Rosa entre Noviembre y Diciembre de 2021.

Se empleó de la tabla de mareas del INOCAR para recolectar las muestras en BM de menor altura, para así trazar bien el HSL y LSL. También se tomó como relación las actividades humanas presentes en cada zona, tales como: bañistas y desembarque de botes de pesca artesanal (Playa La Libertad), club náutico y bañistas (Puerto Lucía) y puerto de pesca artesanal Santa Rosa.

Para la recolección de muestras en cada transecto se utilizó un tubo PVC de 4" de 500 cm³ y con la ayuda de una cuchara se extrajo los 5 cm superiores de sedimento (imagen 7). El agua de mar utilizada para separar las densidades se tamizó con una malla de 100 micras para asegurar de que no existan partículas microplásticas de tamaños de 1 a 5 mm antes de ser agregada a la arena. Con la ayuda de una malla de 900 micras de ojo de luz se logró separar los microplásticos superiores a 1 mm de la arena, estos fueron clasificados al ojo con una pinza de acuerdo a las características debido a la presencia de entre los restos de crustáceos en la muestra ya tamizada y luego se procedió a guardarlos en los frascos de vidrio previamente esterilizados (Curren & Leong, 2019, p. 317).



Imagen 7: Recolección y extracción de las muestras.

A) Colocación del tubo PVC en la zona de recolección de la muestra. B) Extracción para su posterior tamizado. C) Separación de los microplásticos de los restos de crustáceos.

Fuente: Autoría

Procesamiento de las muestras.

El agua de mar que se empleó pasó por un proceso de filtración mediante la utilización de filtros de membrana de celulosa de 0,22 μm y 47 mm de diámetro.

Todas las partículas de microplástico se lavaron minuciosamente con agua de mar filtrada para eliminar cualquier residuo adherido y se transfirieron a otros los frascos de vidrio previamente esterilizados. El agua de mar recogida de los distintos puntos de muestreo se añadió a los microplásticos en los frascos de vidrio esterilizados antes de transferirse a tubos Eppendorf estériles.

Se utilizó la técnica de Fernández (2016), para la separación de las células de la superficie del microplástico, aplicando vórtex durante 10 minutos. Una vez extraídas las células, se procedió a emplear el método de siembra en placa con asa de Digraskly para luego de 24 horas de incubación a una temperatura de 30 °C realizar el conteo de colonias. Para la cuantificación de bacterias totales se utilizó agar marino (Zobell). Con el fin de conocer la presencia de *Vibrio* se cuantificó en el medio selectivo TCBS (BD Difco) seleccionados por Fernández, 2016 en su investigación.

Para el TCBS se realizó siembra directa agregando 0.1 ml de la muestra de microplásticos con agua marina pasados por vortex. En el agar marino se empleó diluciones 1/10 de la muestra, con siembras en 10^{-1} y 10^{-2} .

Modelos de análisis e interpretación.

Los análisis estadísticos de este estudio se calcularon utilizando el programa de software Statgraphics Centurion XIX. Se empleó el análisis de varianza unidireccional (ANOVA) (Hinton, 2014) y la prueba HSD de Tukey (Jaccard et al., 1984) para la comprobación de diferencias significativas entre abundancia de microorganismos y los sitios.

CAPÍTULO IV

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Después de 24 horas de incubación de cada muestra a 30 °C se procedía a realizar el conteo de cada placa, registrando las UFC en una tabla Excel, identificando colonias amarillas y verdes en TCBS y Bacterias totales en Agar Marino con diluciones de 10^{-1} y 10^{-2} . En la tabla 3, 4 y 5 se muestran los resultados de la primera semana para la playa La Libertad, Puerto Lucía y Santa Rosa, respectivamente.

ZONAS	Muestra directa			Dilución (-1)	Dilución (-2)
	TCBS				
	<i>C. Amarillo</i>	<i>C. verde</i>	Vibrios Totales	A. Marino	A. Marino
HSL1	8,02E+03	2,80E+02	8,30E+03	7,38E+04	3,07E+05
HSL2	2,03E+03	9,00E+01	2,12E+03	3,80E+04	8,30E+04
HSL3	1,02E+04	2,20E+02	1,05E+04	1,98E+04	1,42E+05
LSL1	1,70E+02	6,00E+01	2,30E+02	5,76E+04	1,09E+05
LSL2	2,02E+03	1,40E+02	2,16E+03	7,52E+04	7,70E+04
LSL3	2,14E+03	0,00E+00	2,14E+03	3,43E+04	1,52E+05

Tabla 1: UFC de cada zona muestreada en la playa La Libertad.

Fuente: Autoría

ZONAS	Muestra directa			Dilución (-1)	Dilución (-2)
	TCBS				
	<i>C. Amarillo</i>	<i>C. verde</i>	Vibrios Totales	A. Marino	A. Marino
HSL1	4,00E+01	1,00E+01	5,00E+01	2,30E+04	7,20E+04
HSL2	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	1,39E+04	3,30E+04
HSL3	6,00E+01	3,00E+01	9,00E+01	1,06E+04	2,70E+04
LSL1	2,97E+03	4,30E+02	3,40E+03	3,42E+04	5,50E+04
LSL2	5,00E+01	4,00E+01	9,00E+01	2,14E+04	2,30E+04
LSL3	2,00E+01	3,00E+01	5,00E+01	1,89E+04	1,68E+05

Tabla 2: UFC de cada zona muestreada en la playa Puerto Lucía.

Fuente: Autoría

ZONAS	Muestra directa			Dilución (-1)	Dilución (-2)
	TCBS				
	<i>C. Amarillo</i>	<i>C. verde</i>	Vibriosis Totales	A. Marino	A. Marino
HSL1	0,00E+00	2,00E+01	2,00E+01	1,12E+04	8,00E+03
HSL2	1,80E+02	1,10E+02	2,90E+02	1,33E+04	2,80E+04
HSL3	1,70E+02	2,00E+01	1,90E+02	1,00E+04	3,60E+04
LSL1	1,40E+02	1,70E+02	3,10E+02	8,80E+03	1,80E+04
LSL2	6,60E+02	5,60E+02	1,22E+03	1,02E+04	2,70E+04
LSL3	3,60E+02	9,80E+02	1,34E+03	1,20E+04	3,10E+04

Tabla 3: UFC de cada zona muestreada en la playa Santa Rosa.

Fuente: Autoría

En la semana 4 del muestro en la playa La Libertad, se observó en 3 placas el crecimiento de colonias negras en TCBS, el cuál fue registrado y fotografiado tal como se indica en la imagen 8 y tabla 4

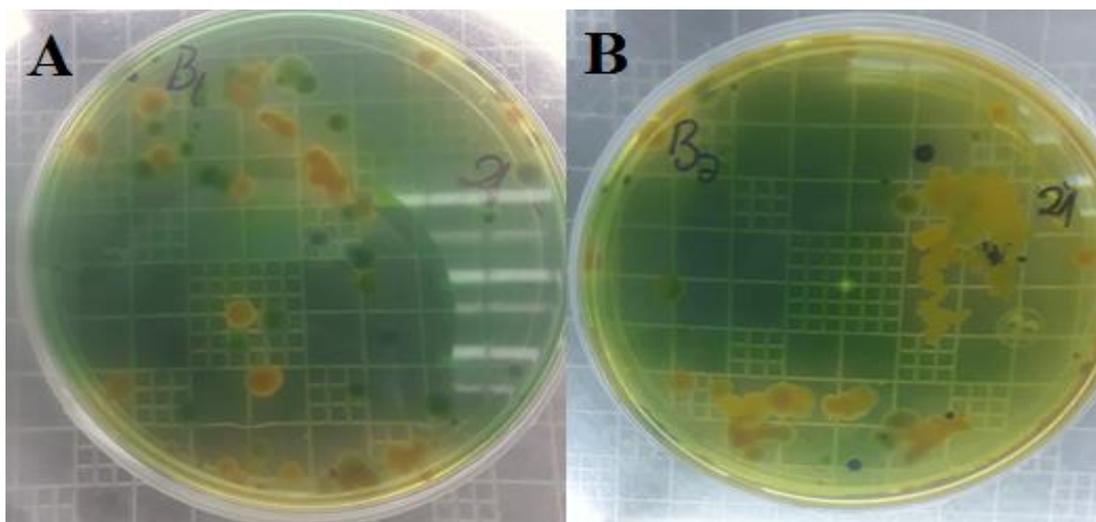


Imagen 8: Placas de la zona LSL1 Y LSL3 de la playa La Libertad con presencia de colonias negras. (A) Placa de la zona LSL1 con 5 colonias negras. (B) Placa de la zona LSL3 con 19 colonias negras.

Fuente: Autoría

ZONAS	Muestra directa				Dilución (-1)	Dilución (-2)
	TCBS					
	<i>C. Amarillo</i>	<i>C. Verdes</i>	<i>C. negras</i>	Vibriosis Totales	A. Marino	A. Marino
HSL1	6,00E+02	1,00E+01	0,00E+00	6,10E+02	2,40E+03	1,70E+04
HSL2	1,00E+02	6,70E+02	3,00E+01	8,00E+02	2,00E+02	6,00E+03
HSL3	1,16E+03	5,40E+02	0,00E+00	1,70E+03	3,10E+03	1,70E+04
LSL1	4,60E+02	4,00E+02	5,00E+01	9,10E+02	7,80E+03	3,10E+04
LSL2	1,51E+03	1,90E+02	0,00E+00	1,70E+03	5,70E+03	4,60E+04
LSL3	1,10E+03	1,80E+02	1,90E+02	1,47E+03	9,10E+03	1,10E+05

Tabla 4: UFC de cada zona muestreada en la playa La Libertad en la semana 4 con presencia de colonias negras en TCBS de las zonas HSL2, LSL1, LSL3.

Fuente: Autoría

Análisis estadísticos

Para los análisis estadísticos se realizó una base de datos en la cual no se incluyeron las colonias negras que se presentaron en la semana 4, y se tomaron en cuenta los UFC presentados en la dilución de 10^{-2} para una mejor representación de los datos, esta tabla se encuentra en anexos.

Mediana de las Bacterias Totales presentes en cada playa

<i>Muestra</i>	<i>Tamaño de Muestra</i>	<i>n<=</i>	<i>n></i>	<i>Mediana</i>	<i>LC inferior 95,0%</i>
BT L	30	6	24	133000,	83129,1
BT PL	30	19	11	27500,0	12516,5
BT SR	30	20	10	26500,0	12129,1

Estadístico = 16,2667 Valor-P = 0,000293588

Tabla 5: Prueba de medianas para Bacterias Totales en las 3 zonas de muestreo

BT L representa a las bacterias totales en la playa La Libertad, BT PL representa a las bacterias totales en la playa Puerto Lucía Y BT SR representa a las bacterias totales en la playa Santa Rosa.

Fuente: Autoría

Mediana de las colonias amarillas presentes en cada playa

<i>Muestra</i>	<i>Tamaño de Muestra</i>	<i>n<=</i>	<i>n></i>	<i>Mediana</i>	<i>LC inferior 95,0%</i>
C. amarillas L	30	6	24	2025,0	735,165
C. Amarillas PL	30	17	13	180,0	40,0
C. Amarillas SR	30	22	8	175,0	41,2912

Estadístico = 17,8667 Valor-P = 0,000131918

Tabla 6: Prueba de medianas para colonias amarillas en las 3 zonas de muestreo

C. amarillas L representa a las colonias amarillas en la playa La Libertad, C. amarillas PL representa a las colonias amarillas en la playa Puerto Lucía y C. amarillas SR representa a las bacterias totales en la playa Santa Rosa.

Fuente: Autoría

Mediana de las colonias verdes presentes en cada playa

<i>Muestra</i>	<i>Tamaño de Muestra</i>	<i>n<=</i>	<i>n></i>	<i>Mediana</i>	<i>LC inferior 95,0%</i>
C. verdes L	30	11	19	185,0	60,0
C. verdes PL	30	18	12	65,0	10,0
C. Verdes SR	30	16	14	85,0	20,0

Estadístico = 3,46667 Valor-P = 0,176694

Tabla 7: Prueba de medianas para colonias verdes en las 3 zonas de muestreo.

C. verdes L representa a las colonias verdes en la playa La Libertad, C. verdes PL representa a las colonias verdes en la playa Puerto Lucía y C. verdes SR representa a las colonias verdes en la playa Santa Rosa.

Fuente: Autoría

Mediante esta prueba podemos comprobar que la carga bacteriana total y de vibrios (colonias amarillas y verdes) en las 3 playas no son iguales, puesto que el valor-P para cada prueba es menor que 0,05, las medianas de las muestras son significativamente diferentes con un nivel de confianza del 95,0%.

ANOVA para Bacterias Totales entre cada zona

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	1,98075E12	2	9,90376E11	6,55	0,0022
Intra grupos	1,31504E13	87	1,51154E11		
Total (Corr.)	1,51312E13	89			

Tabla 8: Tabla ANOVA simple de las UFC de Bacterias Totales en las 3 zonas de muestreo.

Fuente: Autoría

La razón-F, que en este caso es igual a 6,55208 y es el cociente entre el estimado “Entre grupos” y el estimado “Intra grupos”. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de bacterias totales entre un nivel de Zona y otro, con un nivel del 5% de significación.

Esto comparado con los resultados de Pazos (2021) en donde después de 35 días de ensayo, para observar el nivel de adherencia, determinó las bacterias totales no mostraban diferencias significativas en cuanto a las otras especies en estudio, puesto que el valor-P a razón-F era mayor a 0.05.

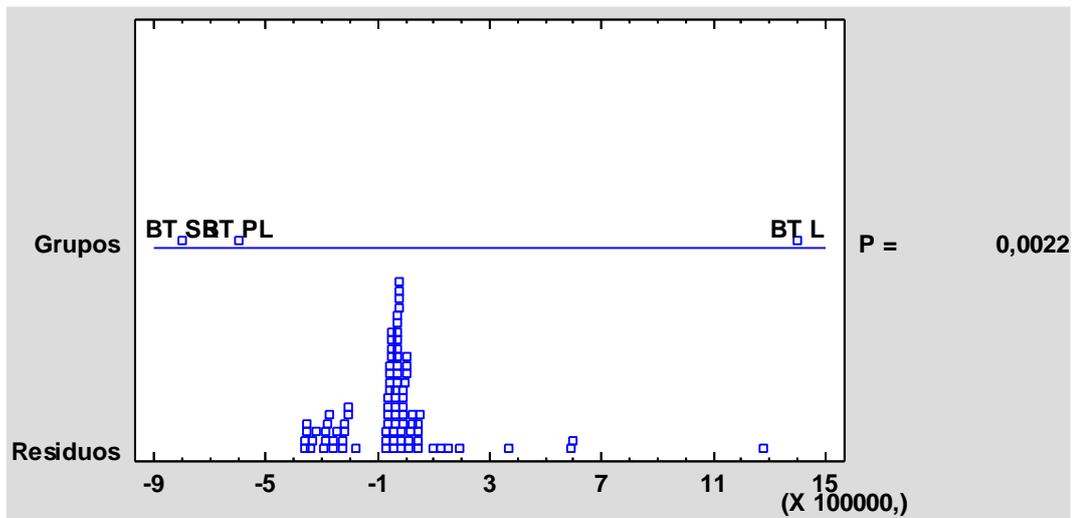


Imagen 9: Gráfico de dispersión ANOVA para Bacterias Totales.
 BT L representa la playa La Libertad, BT PL Puerto Lucía y BT SR Santa Rosa.
Fuente: Autoría

Prueba de Múltiples Rangos HSD de Tukey para Bacterias Totales entre zona

Zona	Casos	Media	Grupos Homogéneos
3	30	40533,3	X
2	30	70935,3	X
1	30	369333,	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 – 2	*	298398,	239371,
1 – 3	*	328800,	239371,
2 – 3		30401,9	239371,

* indica una diferencia significativa.

Tabla 9: Prueba HSD de Tukey de las 3 estaciones de muestreo.

Fuente: Autoría

La tabla inferior muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 2 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95,0% de confianza. En la tabla superior, se han identificado 2 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's.

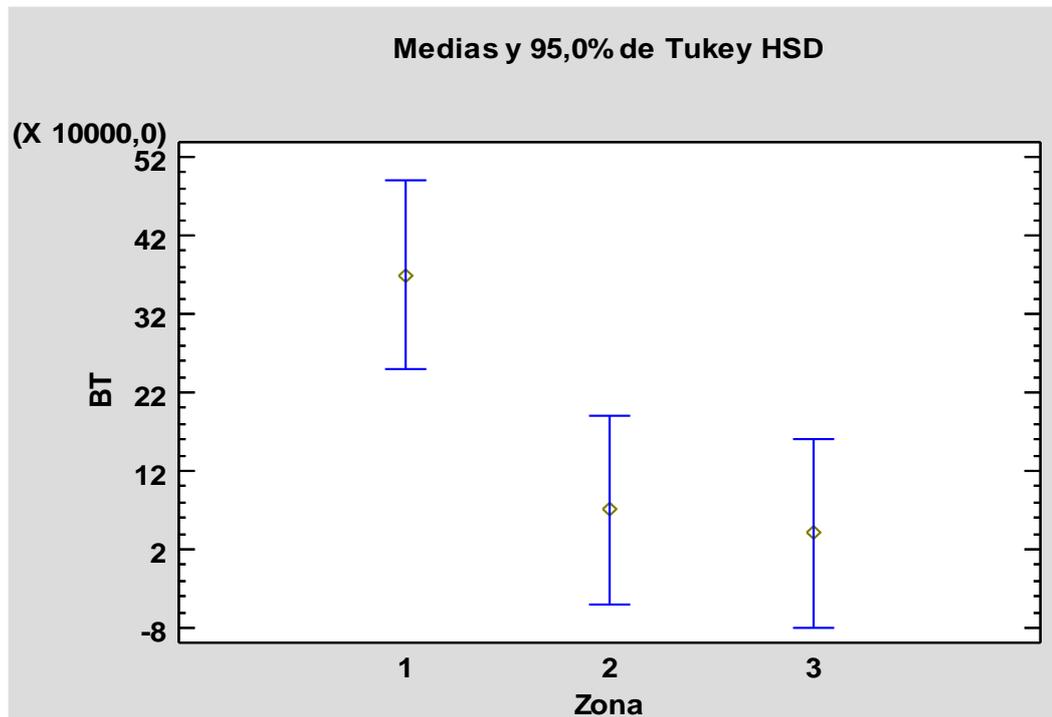


Imagen 10: Gráfico de medias y prueba de HSD de Tukey para bacterias totales. 1 representa la playa La Libertad, 2 Puerto Lucía y 3 Santa Rosa.

Fuente: Autoría

Mediante este gráfico se representan las diferencias entre zonas, en donde denotamos que las zonas 2 y 3 correspondientes a las playas La Libertad y Santa Rosa, no cuentan con una diferencia estadística entre sí.

ANOVA para colonias amarillas entre cada zona

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	3,17901E8	2	1,58951E8	14,64	0,0000
Intra grupos	9,44449E8	87	1,08557E7		
Total (Corr.)	1,26235E9	89			

Tabla 10: Tabla ANOVA simple de las UFC de colonias amarillas en las 3 zonas de muestreo.

Fuente: Autoría

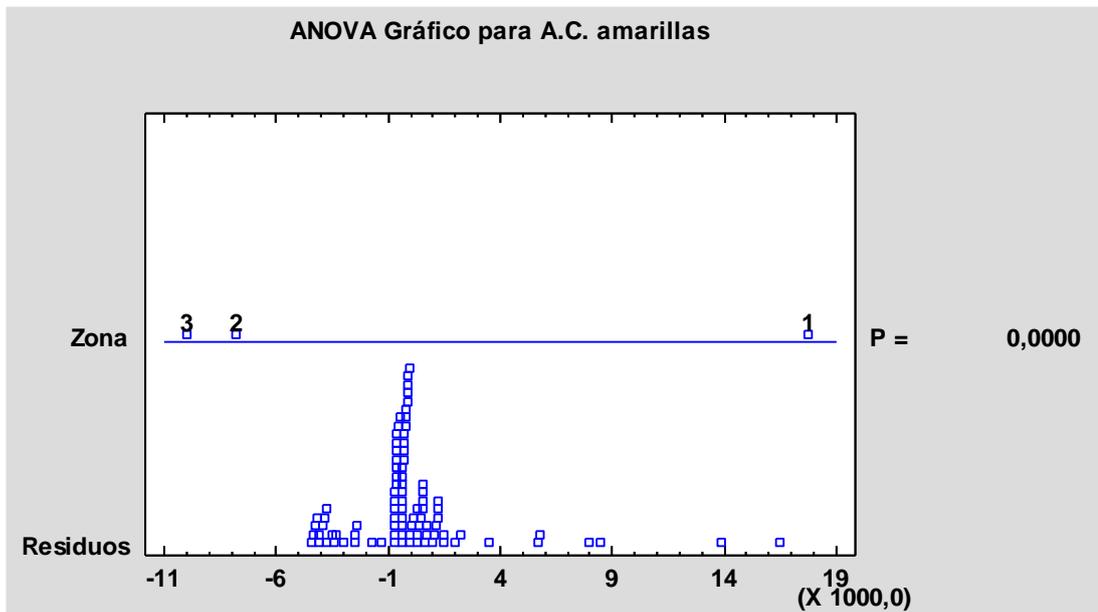


Imagen 11: Gráfico de dispersión ANOVA para colonias amarillas.

1 representa la playa La Libertad, 2 Puerto Lucía y 3 Santa Rosa.

Fuente: Autoría

Tras la realización del ANOVA se comprobó el nivel de significancia de las muestras es estadísticamente relevante debido a que el valor P en razón F es menor 0.05.

Prueba de Múltiples Rangos HSD de Tukey para colonias amarillas entre zona

Zona	Casos	Media	Grupos Homogéneos
3	30	387,0	X
2	30	718,667	X
1	30	4529,33	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 – 2	*	3810,67	2028,57
1 – 3	*	4142,33	2028,57
2 – 3		331,667	2028,57

* indica una diferencia significativa.

Tabla 11: Prueba de HSD de Tukey para colonias amarillas entre las 3 zonas de muestreo.

Fuente: Autoría

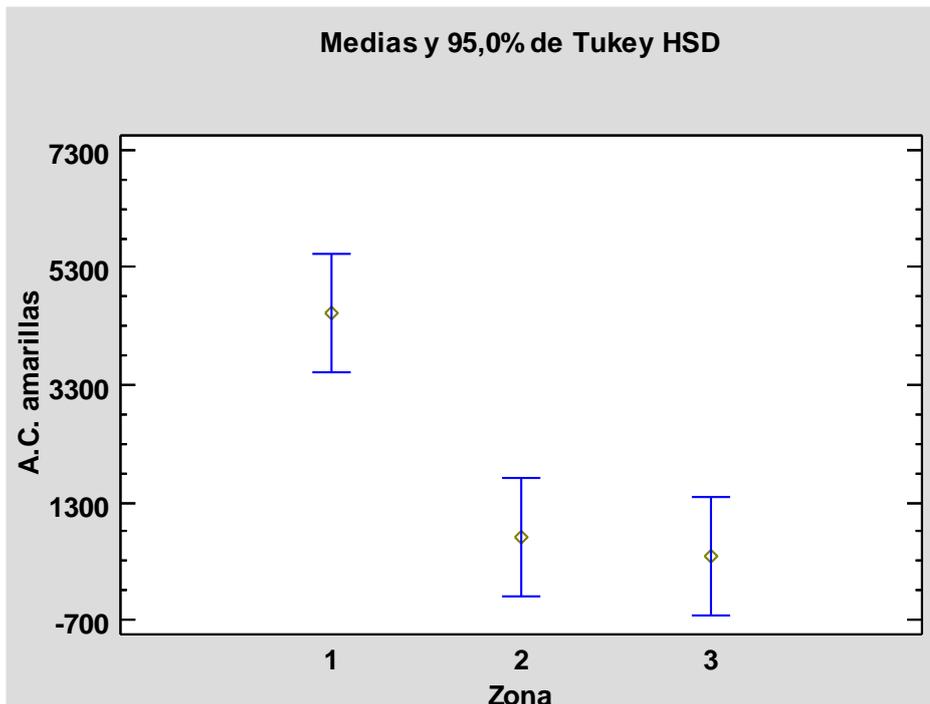


Imagen 12: Gráfico de medias y prueba de HSD de Tukey para bacterias totales
1 representa la playa La Libertad, 2 Puerto Lucía y 3 Santa Rosa.

Fuente: Autoría

ANOVA para colonias verdes entre cada zona

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	3,6941E8	2	1,84705E8	5,90	0,0039
Intra grupos	2,72286E9	87	3,12972E7		
Total (Corr.)	3,09227E9	89			

Tabla 12: Tabla ANOVA simple de las UFC de colonias verdes en las 3 zonas de muestreo.

Fuente: Autoría

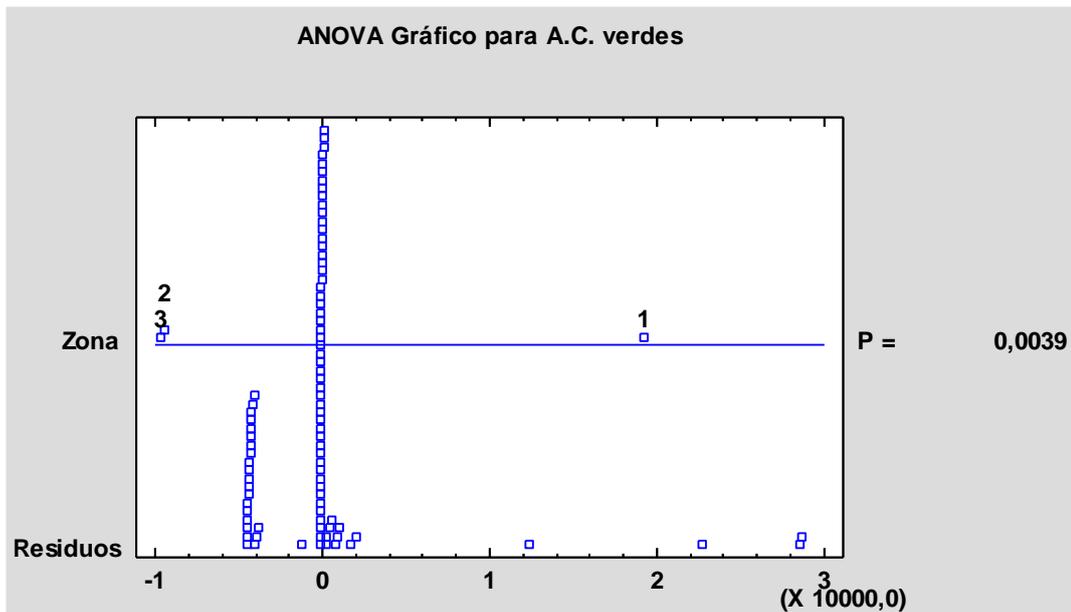


Imagen 13: Gráfico de dispersión ANOVA para colonias verdes
1 representa la playa La Libertad, 2 Puerto Lucía y 3 Santa Rosa.
Fuente: Autoría

Prueba de Múltiples Rangos HSD de Tukey para colonias verdes entre zona

Zona	Casos	Media	Grupos Homogéneos
3	30	147,333	X
2	30	174,667	X
1	30	4458,67	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2	*	4284,0	3444,4
1 - 3	*	4311,33	3444,4
2 - 3		27,3333	3444,4

* indica una diferencia significativa.

Tabla 13: Prueba de HSD de Tukey para Colonias verdes en las 3 zonas de muestreo.
Fuente: Autoría

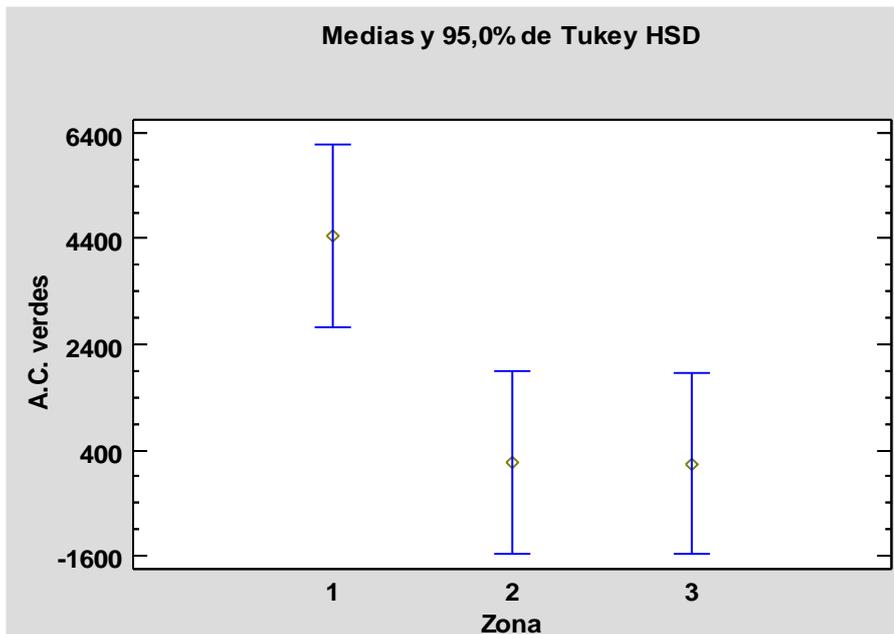


Imagen 14: Gráfico de medias y prueba de HSD de Tukey para colonias verdes
1 representa la playa La Libertad, 2 Puerto Lucía y 3 Santa Rosa.

Fuente: Autoría

Mediante el análisis de varianza y la comprobación por la prueba HSD de Tukey se pudo determinar que las zonas 1 – 2 y 1 -3 son las que presentan una diferencia estadística para colonias amarillas y verdes, apreciando mejor estos datos en la imagen 12 y 14, en el gráfico de medias

COMPARACIÓN DE LA CARGA MICROBIANA (Bacterias Totales y Vibrios) PRESENTES EN LA ZONA DE MAREA ALTA Y MAREA BAJA DE LA PLAYA LA LIBERTAD

ANOVA para Bacterias Totales en las 2 zonas de la playa La Libertad

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1,74803E11	1	1,74803E11	0,40	0,5342
Intra grupos	1,23587E13	28	4,41381E11		
Total (Corr.)	1,25335E13	29			

Tabla 14: Tabla ANOVA de las Bacterias Totales presentes en la zona de marea alta y marea baja en la playa La Libertad.

Fuente: Autoría

Prueba de Múltiples Rangos HSD de Tukey para Bacterias Totales entre las 2 zonas de la playa La Libertad

	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
BT 1	15	293000,	X
BT 2	15	445667,	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
BT 1 - BT 2		-152667,	496928,

* indica una diferencia significativa.

Tabla 15: Prueba HSD de Tukey

BT1 representa las bacterias totales en las zonas de marea alta y BT2 en las zonas de marea baja.

Fuente: Autoría

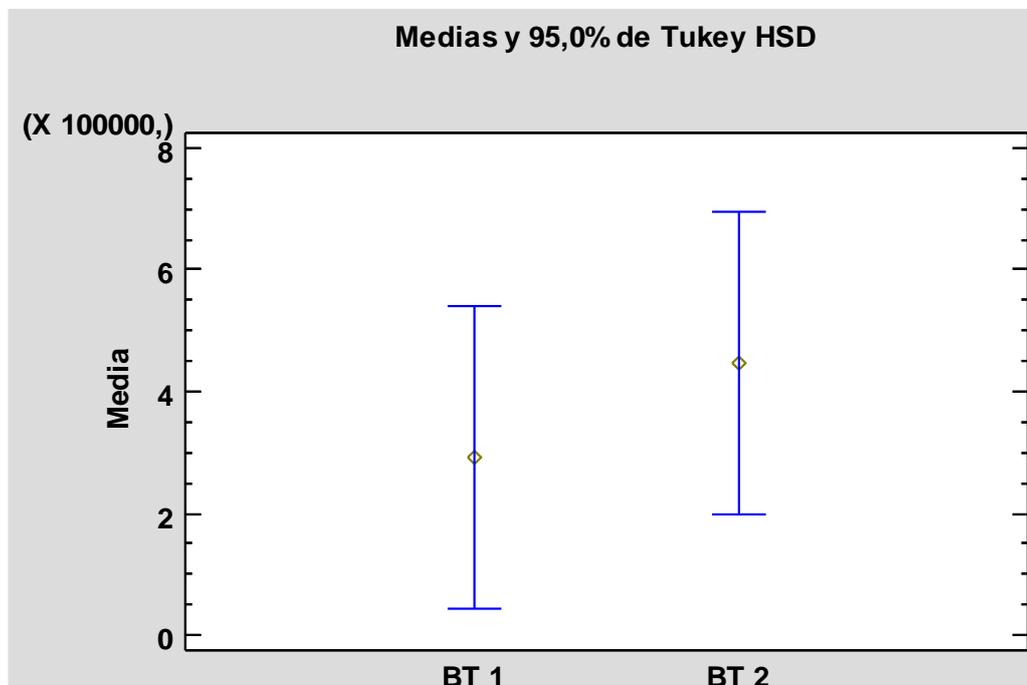


Imagen 15: Gráfico de medias y prueba de HSD de Tukey para Bacterias totales

BT1 representa la zona alta de marea y BT2 la zona baja de marea de la playa La Libertad.

Fuente: Autoría

La carga de bacterias totales en las zonas de marea alta y baja no son estadísticamente significativas, puesto a que sus medias son casi homogéneas, pudiendo visualizar de una mejor manera estos resultados en la imagen 15

ANOVA para colonias amarillas en las 2 zonas de la playa La Libertad

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	2,34081E6	1	2,34081E6	0,07	0,7905
Intra grupos	9,10985E8	28	3,25352E7		
Total (Corr.)	9,13326E8	29			

Tabla 16: Tabla ANOVA de las colonias amarillas presentes en la zona de marea alta y marea baja en la playa La Libertad.

Fuente: Autoría

Prueba de Múltiples Rangos HSD de Tukey para colonias amarillas entre las 2 zonas de la playa La Libertad

	Casos	Media	Grupos Homogéneos
C. Amarillas 1	15	4250,0	X
C. Amarillas2	15	4808,67	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
C. Amarillas 1 - C. Amarillas2		-558,667	4266,42

* indica una diferencia significativa.

Tabla 17: Prueba HSD de Tukey para colonias Amarillas en la playa La Libertad.

C. Amarillas 1 representan la zona de marea alta y C. Amarillas 2 las de marea baja.

Fuente: Autoría

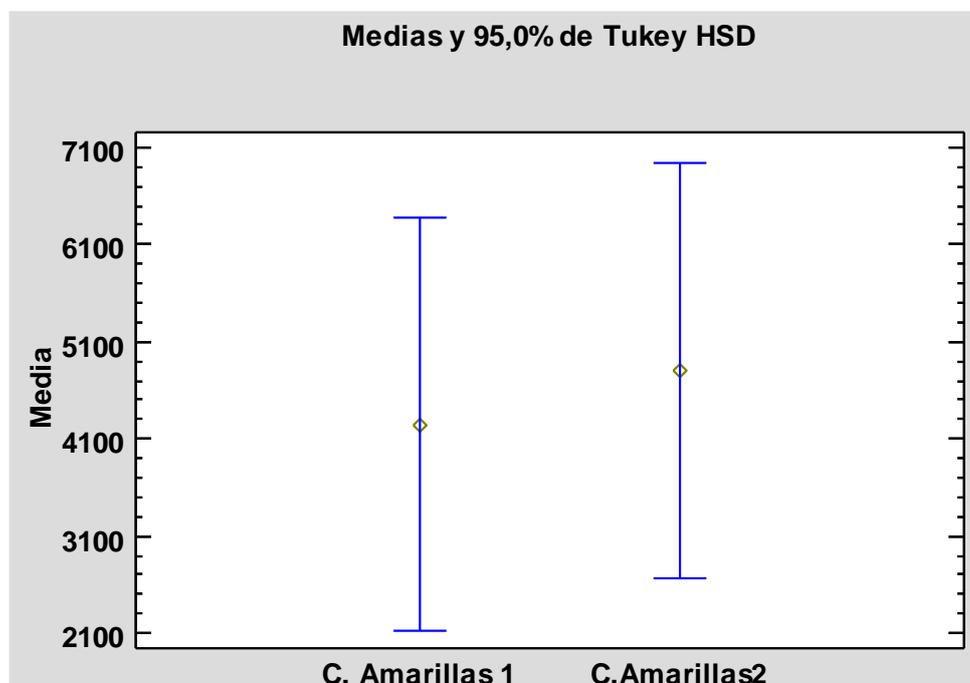


Imagen 16: Gráfico de medias y prueba de HSD de Tukey para colonias amarillas

C. Amarillas1 representa la zona alta de marea y C. Amarillas2 la zona baja de marea de la playa La Libertad.

Fuente: Autoría

ANOVA para colonias verdes en las 2 zonas de la playa La Libertad

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	4,05538E7	1	4,05538E7	0,42	0,5201
Intra grupos	2,6764E9	28	9,55857E7		
Total (Corr.)	2,71695E9	29			

Tabla 18: Tabla ANOVA de las colonias verdes presentes en la zona de marea alta y marea baja en la playa La Libertad.

Fuente: Autoría

Prueba de Múltiples Rangos HSD de Tukey para colonias verdes entre las 2 zonas de la playa La Libertad

	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
C. Verdes1	15	3296,0	X
C. Verdes2	15	5621,33	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
C. Verdes1 - C. Verdes2		-2325,33	7312,79

* indica una diferencia significativa.

Tabla 19: Prueba HSD de Tukey para colonias verdes en las 2 zonas de la playa La Libertad.

Fuente: Autoría

La carga bacteriana de vibrios (colonias amarillas y verdes) no difiere entre cada zona (marea alta y baja) puesto que el valor P es menor a 0.05 y sus medias tienen datos casi homogéneos.

COMPARACIÓN DE LA CARGA MICROBIANA (Bacterias Totales y Vibrios) PRESENTES EN LA ZONA DE MAREA ALTA Y MAREA BAJA DE LA PLAYA PUERTO LUCÍA

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	1,09039E10	1	1,09039E10	0,56	0,4613
Intra grupos	5,4716E11	28	1,95414E10		
Total (Corr.)	5,58064E11	29			

Tabla 20: Tabla ANOVA de las bacterias totales presentes en la zona de marea alta y marea baja en la playa Puerto Lucía.

Fuente: Autoría

Prueba de Múltiples Rangos HSD de Tukey para Bacterias Totales entre las 2 zonas de la playa Puerto Lucía

	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
BT 1	15	51870,5	X
BT 2	15	90000,0	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
BT 1 - BT 2		-38129,5	104560,

* indica una diferencia significativa.

Tabla 21: Prueba de HSD de Tukey para bacterias totales entre las 2 zonas de la playa Puerto Lucía.

Fuente: Autoría

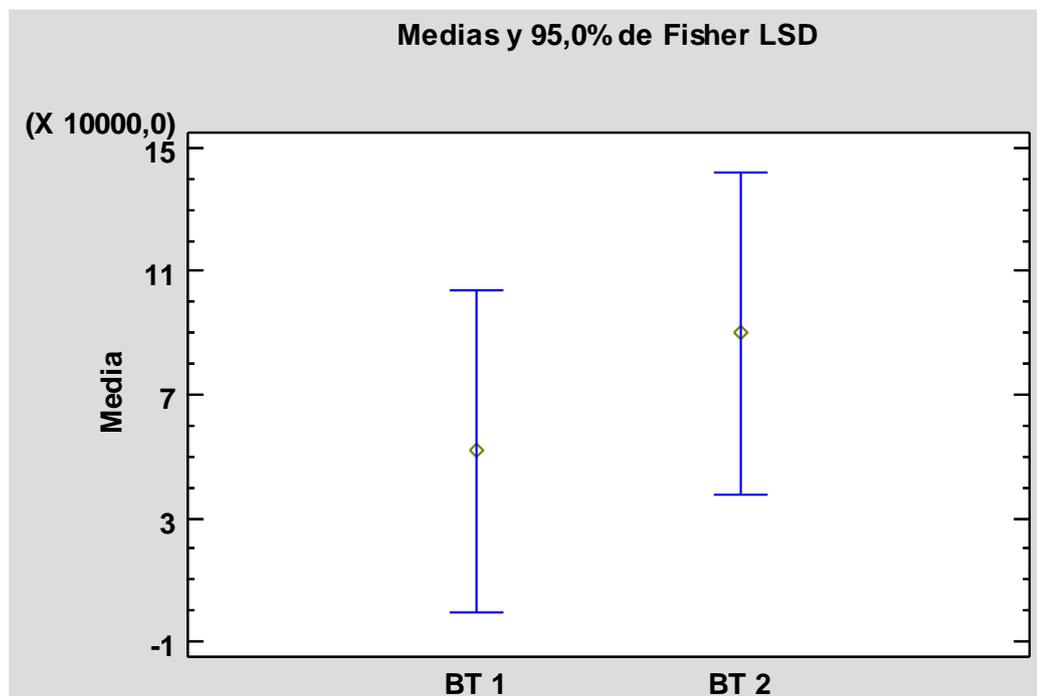


Imagen 17: Gráfico de medias y prueba de HSD de Tukey para bacterias totales.

BT 1 representa la zona de marea alta y BT 2 la zona de marea baja de la playa Puerto Lucía.

Fuente: Autoría

Las bacterias totales presentes en las zonas de marea alta y baja no son estadísticamente representativas, en la imagen 17 se representa las medias de cada zona.

ANOVA para colonias amarillas en las 2 zonas de la playa Puerto Lucía

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	2,05932E6	1	2,05932E6	2,76	0,1077
Intra grupos	2,08804E7	28	745730,		
Total (Corr.)	2,29397E7	29			

Tabla 22: Tabla ANOVA de las colonias amarillas presentes en la zona de marea alta y marea baja en la playa Puerto Lucía.

Fuente: Autoría

Prueba de Múltiples Rangos HSD de Tukey para colonias amarillas entre las 2 zonas de la playa Puerto Lucía

	Casos	Media	Grupos Homogéneos
C. Amarillas 1	15	456,667	X
C. Amarillas 2	15	980,667	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
C. Amarillas 1 - C. Amarillas 2		-524,0	645,918

* indica una diferencia significativa.

Tabla 23: Prueba HSD de Tukey para colonias amarillas presentes en las 2 zonas de la playa Puerto Lucía.

Fuente: Autoría

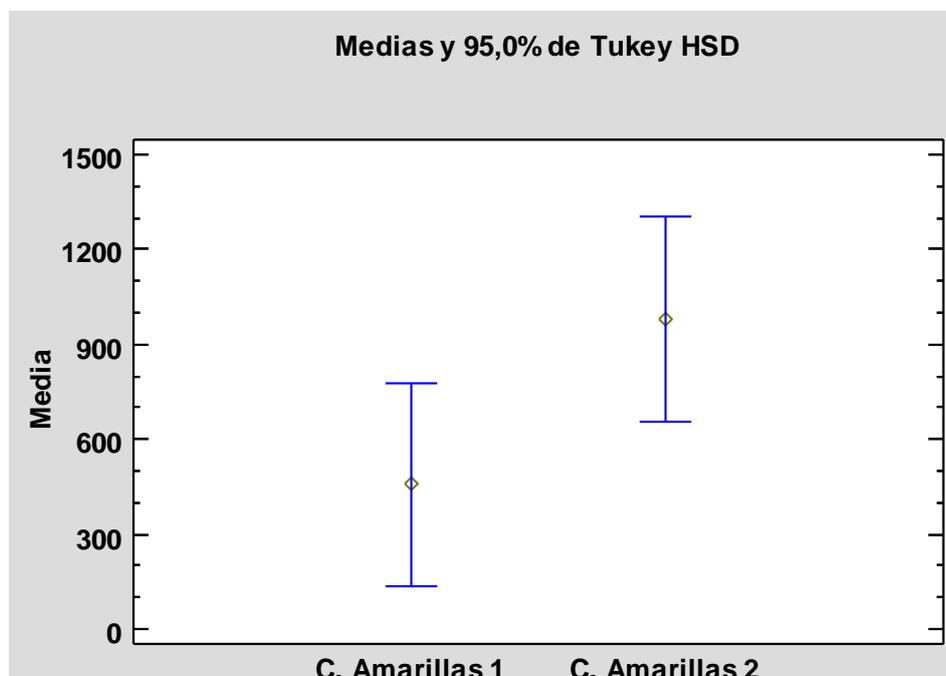


Imagen 18: Gráfico de medias y prueba de HSD de Tukey para colonias amarillas.

C. Amarillas1 representa la zona alta de marea y C. Amarillas2 la zona baja de marea de la playa La Libertad.

Fuente: Autoría

ANOVA para colonias verdes en las 2 zonas de la playa Puerto Lucía

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	253920,	1	253920,	1,69	0,2037
Intra grupos	4,19643E6	28	149872,		
Total (Corr.)	4,45035E6	29			

Tabla 24: Tabla ANOVA de las colonias verdes presentes en la zona de marea alta y marea baja en la playa Puerto Lucía.

Fuente: Autoría

Prueba de Múltiples Rangos HSD de Tukey para colonias verdes entre las 2 zonas de la playa Puerto Lucía

	Casos	Media	Grupos Homogéneos
C. Verdes 1	15	82,6667	X
C. Verdes 2	15	266,667	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
C. Verdes 1 - C. Verdes 2		-184,0	289,566

* indica una diferencia significativa.

Tabla 25: Prueba HSD de Tukey para colonias verdes presentes en las 2 zonas de la playa Puerto Lucía.

Fuente: Autoría

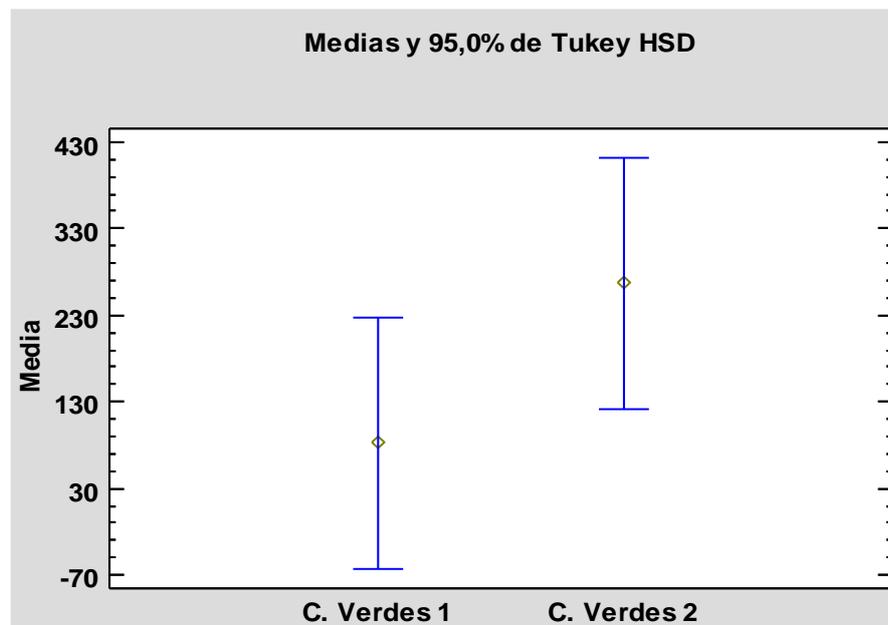


Imagen 19: Gráfico de medias y prueba de HSD de Tukey para colonias verdes.

C. Amarillas1 representa la zona alta de marea y C. Amarillas2 la zona baja de marea de la playa La Libertad.

Fuente: Autoría

La carga microbiana de vibrios (colonias amarillas y verdes) no se ve afectada o no consta con una diferencia estadísticamente representativa en relación a las zonas de marea alta y baja, pudiendo observar sus medias en la imagen 18 y 19, respectivamente para cada colonia.

COMPARACIÓN DE LA CARGA MICROBIANA (Bacterias Totales y Vibrios) PRESENTES EN LA ZONA DE MAREA ALTA Y MAREA BAJA DE LA PLAYA SANTA ROSA

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	8,53333E8	1	8,53333E8	0,41	0,5263
Intra grupos	5,80341E10	28	2,07265E9		
Total (Corr.)	5,88875E10	29			

Tabla 26: Tabla ANOVA de las bacterias totales presentes en la zona de marea alta y marea baja en la playa Santa Rosa.

Fuente: Autoría

Prueba de Múltiples Rangos HSD de Tukey para Bacterias Totales entre las 2 zonas de la playa Santa Rosa

	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
BT 1	15	35200,0	X
BT 2	15	45866,7	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
BT 1 - BT 2		-10666,7	34052,5

* indica una diferencia significativa.

Tabla 27: Prueba HSD de Tukey para bacterias totales presentes en las 2 zonas de la playa Santa Rosa.

Fuente: Autoría

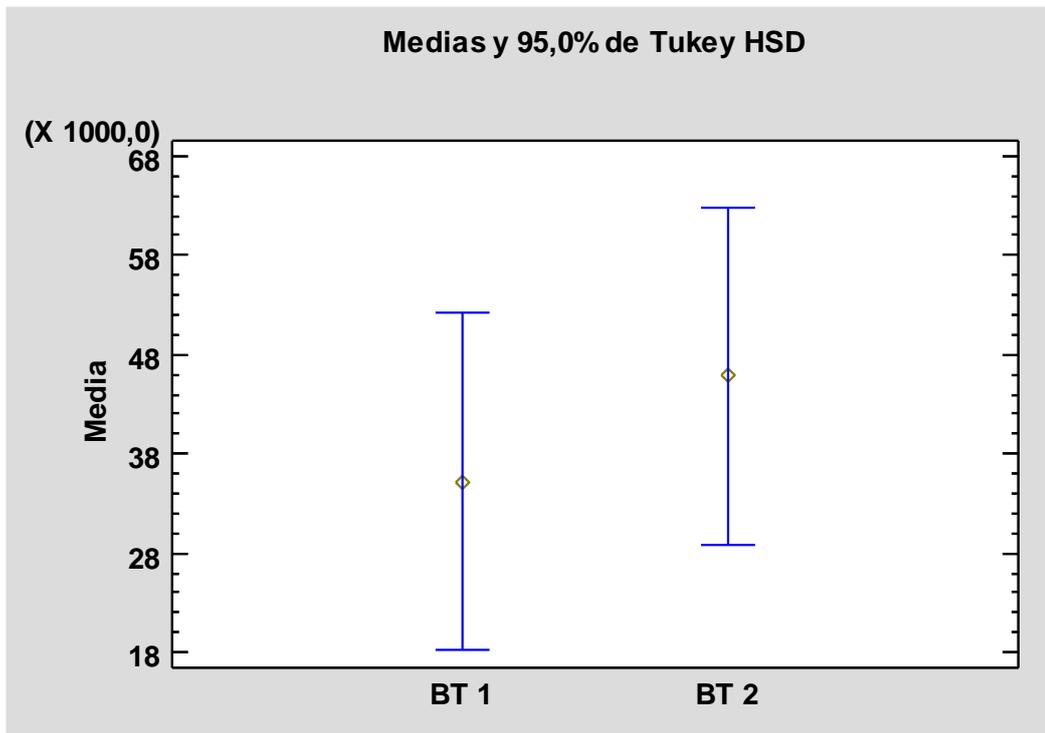


Imagen 20: Gráfico de medias y prueba de HSD de Tukey para bacterias totales presentes en las 2 zonas de la playa Santa Rosa.

C. Amarillas1 representa la zona alta de marea y C. Amarillas2 la zona baja de marea de la playa Santa Rosa.

Fuente: Autoría

La carga de bacterias totales para las zonas de marea alta y baja de la playa Santa Rosa no cuenta con una media casi homogénea, haciendo que la carga presente no cuente con una diferencia estadísticamente significativa

ANOVA para colonias amarillas en las 2 zonas de la playa Santa Rosa

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	2803,33	1	2803,33	0,01	0,9227
Intra grupos	8,18063E6	28	292165,		
Total (Corr.)	8,18343E6	29			

Tabla 28: Tabla ANOVA de las colonias amarillas presentes en la zona de marea alta y marea baja en la playa Santa Rosa.

Fuente: Autoría

Prueba de Múltiples Rangos HSD de Tukey para colonias amarillas entre las 2 zonas de la playa Santa Rosa

	Casos	Media	Grupos Homogéneos
C. Amarillas 2	15	377,333	X
C. Amarillas 1	15	396,667	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
C. Amarillas 1 - C. Amarillas 2		19,3333	404,297

* indica una diferencia significativa.

Tabla 29: Prueba HSD de Tukey para colonias amarillas presentes en las 2 zonas de la playa Santa Rosa.

Fuente: Autoría

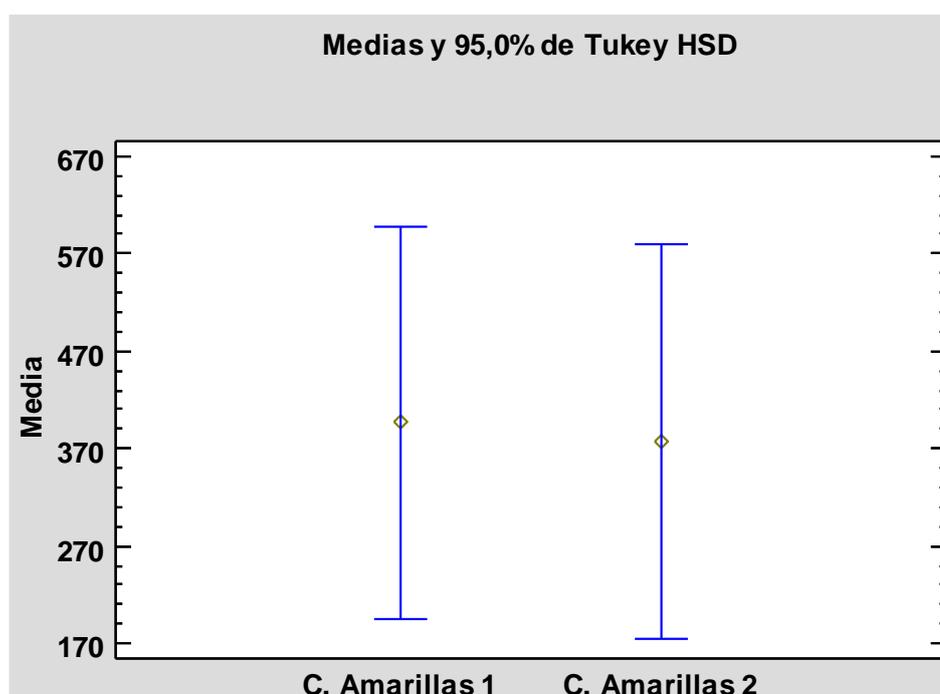


Imagen 21: Gráfico de medias y prueba de HSD de Tukey para colonias amarillas. C. Amarillas1 representa la zona alta de marea y C. Amarillas2 la zona baja de marea de la playa La Libertad.

Fuente: Autoría

ANOVA para colonias verdes en las 2 zonas de la playa Santa Rosa

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	152653,	1	152653,	3,29	0,0805
Intra grupos	1,29973E6	28	46419,0		
Total (Corr.)	1,45239E6	29			

Tabla 30: Tabla ANOVA de las colonias verdes presentes en la zona de marea alta y marea baja en la playa Santa Rosa.

Fuente: Autoría

Prueba de Múltiples Rangos HSD de Tukey para colonias verdes entre las 2 zonas de la playa Santa Rosa

	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
C. Verdes 1	15	76,0	X
C. Verdes 2	15	218,667	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
C. Verdes 1 - C. Verdes 2		-142,667	161,152

* indica una diferencia significativa.

Tabla 31: Prueba HSD de Tukey para colonias verdes presentes en las 2 zonas de la playa Santa Rosa.

Fuente: Autoría

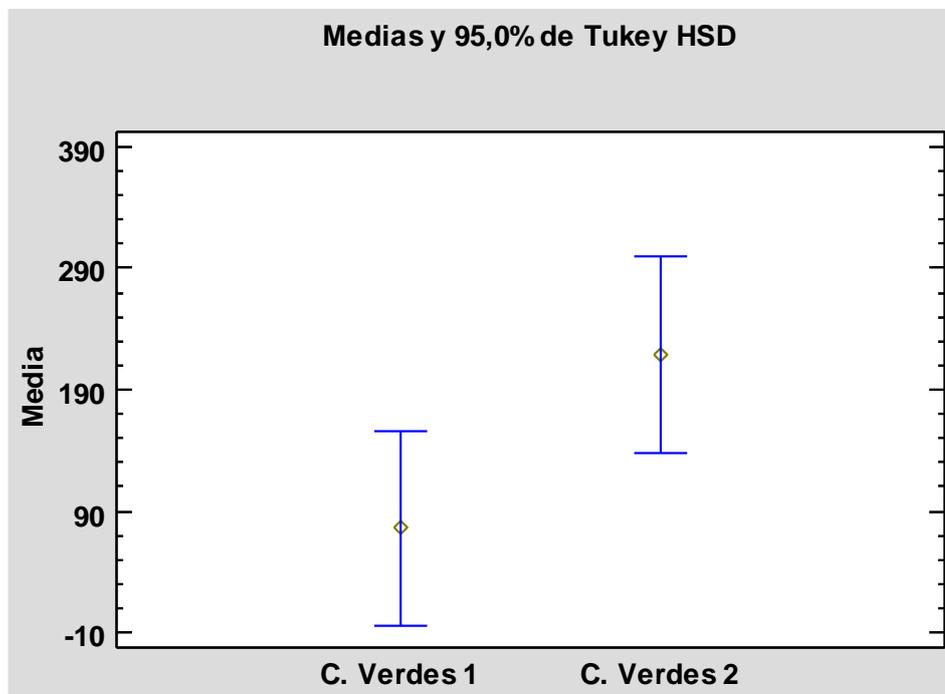


Imagen 22: Gráfico de medias y prueba de HSD de Tukey para colonias verdes.

C. Verdes1 representa la zona alta de marea y C. Verdes2 la zona baja de marea de la playa La Libertad.

Fuente: Autoría.

Se pudo determinar estadísticamente que no existe diferencia en la carga microbiana de vibrios (colonias amarillas y verdes) de las zonas de marea alta y baja de la playa Santa Rosa, debido a que sus medias son casi homogéneas y se las indica en la imagen 21 y 22.

CAPÍTULO V

DISCUSIONES, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

DISCUSIONES

La presencia antropogénica juega un papel importante en el crecimiento del biofilm bacteriano en los microplásticos, esto se denota en los resultados obtenidos, debido a que la playa La Libertad cuenta con una mayor carga bacteriana producto de que en la estación de muestreo se realiza el arribo de los botes de pesca artesanal y en el mismo lugar comercializan el producto, junto con ello bañistas en los alrededores. La playa Puerto Lucía por su lado tiene presencia de bañistas y junto a la zona de muestreo tenemos un club náutico y aunque la presencia de microplásticos fue escasa los resultados microbiológicos fueron notables. La playa Santa Rosa a pesar de contar con una alta presencia visualmente de macro y microplásticos (Imagen 23) obtuvo resultados microbiológicos bajos en comparación a las otras 2 estaciones, el sector escogido para el muestreo es un puerto de pesca artesanal en donde también se realizan reparaciones de las embarcaciones, este puede ser un factor importante en cuanto a la proliferación y adherencia bacteriana ya que para reparar las embarcaciones se necesitan químicos que pueden afectar al crecimiento bacteriano y sobre todo a la vida marina presente.

En esta investigación se estudiaron organismos heterotrófos, pero Pazos (2021) mediante un ensayo realizado por 35 días entre la adherencia a microplásticos de organismos heterotrófos, autótrofos y bacterias totales determinó que durante la

fecha inicial y final de dicha investigación, solo los componentes autotrófos obtuvieron diferencias significativas en cuanto a su crecimiento y adherencia, algo que en este estudio difiere, debido a que sí se mostró un el crecimiento de estos organismos, inclusive se determinó una diferencia significativa entre cada estación de muestreo, esto se demostró mediante la prueba de HSD de Tukey, en donde en valor de P a razón F es menor a 0,05. La prueba de medianas también aseveran estos resultados, debido a que para cada prueba de chi-cuadrado se obtuvo un valor menor a 0,05

Tal como lo dice Cangelosi et al., (2004) los vibrios son ejemplos de patógenos ambientales, es decir, microorganismos que normalmente pasan una parte sustancial de su ciclo vital fuera de los huéspedes humanos pero que, cuando infectan a los seres humanos, causan enfermedades con una frecuencia mensurable.

En el estudio de Curren y Leong (2019), la playa con mayor actividad humana presentó una menor cantidad de comunidades bacterianas, a diferencia de esta investigación la playa La Libertad presentó una carga elevada de colonias verdes y amarillas, en comparación con las otras 2 playas con menor actividad a la zona ya mencionada.

Aunque la bibliografía dice que las colonias amarillas se dan por la presencia positiva de sacarosa tales como *V. cholerae* y *V. alginolyticus* y los verdes por sacarosa negativo como *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus*, también se asevera que algunos de estos últimos vibrios pueden producir colonias amarillas al fermentar su sacarosa, lo que sí se puede decir es que si se cuenta con una presencia significativa dentro de la zona, afirmando así la hipótesis inicial.

En el mismo estudio de Curren y Leong (2019) también se realiza una comparación entre organismos presentes en la zona alta y baja de marea en donde no se encontraron diferencias significativas entre zona. En esta investigación se aseveran estos resultados, debido a que tampoco se observó una diferencia estadística entre las 2 zonas.

Se obtuvo una media de 10^3 UFC/ml de vibrios (colonias amarillas y verdes) dentro de las 3 zonas de estudio, Takemura et al., (2014) determinó que la abundancia de de vibrios en la columna de agua está alrededor de 10^3 y 10^4 células/ml, añadiendo que es una biomasa muy alta la que se presenta. Con esto se puede determinar que los microplásticos son un sustrato muy enriquecido para el crecimiento de vibrios, inclusive se asimila a que se presenta en la columna de agua de mar.

CONCLUSIONES

Mediante la siguiente investigación se pudo determinar que:

- La separación por granulometría facilita la visualización de los microplásticos presentes entre el sedimento costero y restos de crustáceos.

- La playa La Libertad cuenta con una mayor carga de bacterias totales, como se presenta en la tabla 5, donde nos dice que tiene $1,33E+05$ UFC/ml y le sigue la playa Puerto Lucía con $2,75E+04$ UFC/ml. De igual forma con las colonias amarillas, la playa La Libertad tiene una mayor carga bacteriana ($2,75E+04$ UFC/ml) y le sigue la playa Puerto Lucía ($1,80E+02$ UFC/ml), pero en cuanto a las colonias verdes, la playa Santa Rosa ocupa el segundo lugar con $8,50E+01$ UFC/ml lo que nos puede sugerir una mayor presencia de *V. parahaemolyticus* o *V. vulnificus* del que presenta la playa Puerto Lucía ($6,50E+01$ UFC/ml).

- Entre la playa Puerto Lucía y Santa Rosa se comprobó mediante la prueba Tukey HSD que no cuentan con diferencia significativa para bacterias totales y vibrios, esto debido a que sus datos son casi homogéneos.

- Las bacterias totales y vibrios presentes en zonas de marea alta y baja, de las playas La Libertad, Puerto Lucía y Santa Rosa no presentan una diferencia estadísticamente significativa, los datos obtenidos nos dan unas medias casi homogéneas.

RECOMENDACIONES

- Realizar estudios de correlación entre corrientes y condiciones ambientales para conocer las fluctuaciones bacterianas y su impacto en la diversidad

- ✓ Se sugiere realizar un estudio de extracción de ADN con el fin de conocer taxonómicamente el tipo de bacterias y vibrios presentes en el biofilm de los microplásticos en el sedimento de las zonas ya estudiadas, en particular de la playa La Libertad.

- ✓ Determinar estrategias de reducción de plásticos de uso diario para contribuir a la no alteración de ecosistemas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abayomi, O. A., Range, P., Al-Ghouti, M. A., Obbard, J. P., Almeer, S. H., & Ben-Hamadou, R. (2017). Microplastics in coastal environments of the Arabian Gulf. *Marine Pollution Bulletin*, 124(1), 181–188.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.07.011>
- Arana, I., Orruño M. & Barcina I. (2011). COMO ABORDAR Y RESOLVER ASPECTOS PRÁCTICOS DE MICROBIOLOGÍA. Departamento Inmunología, Microbiología y Parasitología Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea.
- Arthur C, Bamford H, Baker J. Proceedings of the International Research Workshop on the Occurrence, Effects and Fate of Microplastic Marine Debris. NOAA Technical Memorandum NOS-OR&R-30. 2008; Sept 9-11.
- Bernaro (2020). Siembra y aislamiento de microorganismos. https://www.fbioyf.unr.edu.ar/evirtual/pluginfile.php/202403/mod_resource/content/1/2020%20TP2%20BIOQ%20Y%20LCTA.pdf
- Carpenter EJ, Smith K. Plastics on the Sargasso Sea surface. *Science*. 1972; 175, 1240-1
- Carson, H. S., Nerheim, M. S., Carroll, K. A. and Eriksen, M. (2013). The plastic-associated microorganisms of the North Pacific Gyre. *Marine Pollution Bulletin*, 75 (1-2): 126-132
- Chung, B.Y., Choi, S.M., Roh, T.H., Lim, D.S., Ahn, M.Y., Kim, Y.J., Kim, H.S., Lee, B.M. 2019, Risk assessment of phthalates in pharmaceuticals, *Journal of Toxicology Environmental Health, Part A*, 82(5), 351-360.
- Cole M, Lindeque P, Halsband C, Galloway TS. Microplastics as contaminants in the marine environment: a review. *Mar Pollut Bull*. 2011; 62:2588–97.

- Curren, E., & Leong, S. C. Y. (2019). Profiles of bacterial assemblages from microplastics of tropical coastal environments. *Science of The Total Environment*, 655, 313–320. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.11.250>
- De Tender, C. A., Devriese, L. I., Haegeman, A., Maes, S., Ruttink, T., and Dawyndt, P. (2015). Bacterial community profiling of plastic litter in the belgian part of the north sea. *Environmental Science and Technology*, 49 (16): 9629-9638.
- Endo, S., Takizawa, R., Okuda, K., Takada, H., Chiba, K., Kanehiro, H., Ogi, H., Yamashita, R., Date, T., 2005. Concentration of polychlorinated biphenyls (PCBs) in beached resin pellets: Variability among individual particles and regional differences. *Marine Pollution Bulletin* 50, 1103-1114. doi: 10.1016/j.marpolbul.2005.04.030.
- European Food Safety Authority. Presence of microplastics and nanoplastics in food, with particular focus on seafood. *EFSA J.* 2016;14(6): 4501.
- Fotopoulou, K.N., Karapoanagioti, H.K., 2012. Surface properties of beached plastic pellets. *Marine Environmental Research* 81, 70-77. doi: 10.1016/j.marenvres.2012.08.010
- John A. Glaser (September 14th 2020). The Importance of Biofilms to the Fate and Effects of Microplastics, Bacterial Biofilms, Sadik Dincer, Melis Sümengen Özdenefe and Afet Arkut, IntechOpen, DOI: 10.5772/intechopen.92816. Available from: <https://www.intechopen.com/chapters/72911>
- Gregory, M.R., 1977. Plastic pellets on New Zealand beaches. *Marine Pollution Bulletin* 8, 82-84. doi: 10.1016/0025-326X(77)90193-X.
- Gregory, M.R., 1978. Accumulation and distribution of virgin plastic granules on New Zealand beaches. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 12, 399-414. doi: 10.1080/00288330.1978.9515768.

- Gregory, M.R., 1983. Virgin plastic granules on some beaches of Eastern Canada and Bermuda. *Marine Environmental Research* 10, 73-92. doi: 10.1016/0141-1136(83)90011-9.
- Hinton, P.R., 2014. *Statistics Explained*. Routledge.
- Jaccard, J., Becker, M.A., Wood, G., 1984. Pairwise multiple comparison procedures: a re-view. *Psychol. Bull.* 96 (3), 589.
- Jolliffe, I., 2011. Principal component analysis. *International Encyclopedia of Statistical Science*. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 1094–1096.
- Napper, I.E., Bakir, A., Rowland, S.J., Thompson, R.C., 2015. Characterisation, quantity and sorptive properties of microplastics extracted from cosmetics. *Mar. Pollut. Bull.* 99(1–2), 178–185.
- Oberbeckmann, S.; Osborn, A.M.; Duhaime, M.B. Microbes on a bottle: Substrate, season and geography influence community composition of microbes colonizing marine plastic debris. *PLoS ONE* 2016, 11, e0159289. [CrossRef]
- OCW, Universidad de Salamanca. Los plásticos [Internet]. OCW; 2010. Available from: <http://ocw.usal.es/eduCommons/en-senanzas-tecnicas/materiales-ii/contenidos/PLASTICOS.pdf>
- Pazos, R. (2021). Estudio de microplásticos en la columna de agua, sedimento intermareal y biota residente en la costa del estuario del Río de la Plata (Franja Costera Sur). *Edu.ar*. http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/116621/Documento_completo.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Pollet, T.; Berdjeb, L.; Garnier, C.; Durrieu, G.; Le Poupon, C.; Misson, B.; Briand, J.F. Prokaryotic community successions and interactions in marine biofilms: The key role of Flavobacteria. *FEMS Microbiol. Ecol.* 2018, 94, fiy083. [CrossRef] [PubMed]

- Reisser, J., Shaw, J., Hallegraeff, G., Proietti, M., Barnes, D. K. A., Thums, M., Wilcox, C., Hardesty, B. D. and Pattiaratchi, C. (2014). Millimeter-Sized Marine Plastics: A New Pelagic Habitat for Microorganisms and Invertebrates. *PLoS ONE*, 9 (6): e100289.
- Rillig, M.C., 2012. Microplastic in terrestrial ecosystems and the soil? *Environ. Sci. Technol.* 46 (12), 6453–6454.
- Rojo, E., & Montoto, T. (2017). Basuras marinas, plásticos y microplásticos: orígenes, impactos y consecuencias de una amenaza global. *Autoras Ecologistas en acción*. <https://www.ecologistasenaccion.org/wp-content/uploads/adjuntos-spip/pdf/informe-basuras-marinas.pdf>
- Rosenberg, E. et al. (eds.) (2014). The prokaryotes: Gammaproteobacteria. The Family Vibrionaceae. Springer-Verlag Berlin Heidelberg (1-768 pp).
- Sanz, S. A. (2011). *Prácticas de Microbiología*. Universidad de La Rioja, Servicio de Publicaciones, 2011.
- Sbarbati, N. (2020). Residuos plásticos en Argentina. Su impacto ambiental y en el desafío de la economía circular. *Org.ar*. <https://cairplas.org.ar/2016/wp-content/uploads/2020/12/Residuos-plasticos-final-1.pdf>
- Shiber, J.G., 1979. Plastic pellets on the coast of Lebanon. *Marine Pollution Bulletin* 10, 28-30. doi: 10.1016/0025-326X(79)90321-7.
- Shiber, J.G., 1982. Plastic pellets on Spain's 'Costa del Sol' beaches. *Marine Pollution Bulletin* 13, 409-412. doi: 10.1016/0025-326X(82)90014-5.
- Stabnikova, O.; Stabnikov, V.; Marinin, A.; Klavins, M.; Klavins, L.; Vaseashta, A. Microbial Life on the Surface of Microplastics in Natural Waters. *Appl. Sci.* 2021, 11, 11692. <https://doi.org/10.3390/app112411692>
- Stolte A., Schubert H. y Forster S. (2014). The detection of microplastics in beach sediments: Extraction methods, biases, and results from samples along the German Baltic coast. (Tesis doctoral) Universität Rostock, Alemania.

- Urbanek, A.K.; Rymowicz, W.; Mironczuk, A.M. Degradation of plastics and plastic-degrading bacteria in cold marine habitats. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2018, 102, 7669–7678. [CrossRef] [PubMed]
- Vaksmaa, A.; Knittel, K.; Asbun, A.A.; Goudriaan, M.; Ellrott, A.; Witte, H.J.; Vollmer, I.; Meirer, F.; Lott, C.; Weber, M.; et al. Microbial communities on plastic polymers in the Mediterranean sea. *Front. Microbiol.* 2021, 12, 673553. [CrossRef]
- Yu, Q., Hu, X., Yang, B., Zhang, G., Wang, J., Ling, W. 2020, Distribution, abundance and risks of microplastic in the environment, *Chemosphere*, 249, 126059.
- Zettler, E. R., Mincer, T. J., and Amaral-Zettler, L. A. (2013). Life in the "plastisphere": Microbial communities on plastic marine debris. *Environmental Science and Technology*, 47 (13): 7137-7146.
- Zhang, K., Gong, W., Lv, J., Xiong, X., Wu, C., 2015a. Accumulation of floating microplastics behind the Three Gorges Dam. *Environ. Pollut.* 204, 117–1230. Zhang, W., Ma, X., Zhang, Z., Wang, Y., Wang, J., Wang, J., Ma, D., 2015b. Persistent organic pollutants carried on plastic resin pellets from two beaches in China. *Mar. Pollut. Bull.* 99 (1–2), 28–34.

ANEXOS

Fecha	Zona	Subzona	C. Amarillas	C. Verdes	BT
30/11/2021	La Libertad	HSL1	5,27E+03	5,49E+03	8,00E+03
		HSL2	5,76E+03	3,31E+04	9,68E+05
		HSL3	4,91E+03	5,21E+03	1,65E+06
		LSL1	5,04E+03	1,68E+04	1,62E+05
		LSL2	1,84E+04	3,30E+04	3,60E+05
		LSL3	2,76E+03	2,72E+04	2,91E+06
07/12/2021		HSL1	1,25E+04	0,00E+00	1,89E+05
		HSL2	7,70E+02	3,17E+03	1,24E+05
		HSL3	1,03E+04	0,00E+00	8,70E+04
		LSL1	2,10E+04	0,00E+00	1,88E+06
		LSL2	1,30E+04	0,00E+00	1,64E+05
		LSL3	3,20E+03	6,16E+03	4,12E+05
14/12/2021		HSL1	4,60E+02	6,00E+01	1,44E+05
		HSL2	6,90E+02	4,50E+02	9,30E+04
		HSL3	9,80E+02	1,50E+02	5,60E+05
		LSL1	3,80E+02	6,00E+01	1,52E+05
		LSL2	2,20E+02	1,30E+02	8,40E+04
		LSL3	7,30E+02	0,00E+00	3,60E+04
21/12/2021		HSL1	6,00E+02	1,00E+01	1,70E+04
		HSL2	1,00E+02	6,70E+02	6,00E+03
		HSL3	1,16E+03	5,40E+02	1,70E+04
		LSL1	4,60E+02	4,00E+02	3,10E+04
		LSL2	1,51E+03	1,90E+02	4,60E+04
		LSL3	1,10E+03	1,80E+02	1,10E+05
28/12/2021	HSL1	8,02E+03	2,80E+02	3,07E+05	
	HSL2	2,03E+03	9,00E+01	8,30E+04	
	HSL3	1,02E+04	2,20E+02	1,42E+05	
	LSL1	1,70E+02	6,00E+01	1,09E+05	
	LSL2	2,02E+03	1,40E+02	7,70E+04	
	LSL3	2,14E+03	0,00E+00	1,52E+05	
01/12/2021	Puerto Lucía	HSL1	4,00E+01	1,00E+01	7,20E+04
		HSL2	0,00E+00	0,00E+00	3,30E+04
		HSL3	6,00E+01	3,00E+01	2,70E+04
		LSL1	2,97E+03	4,30E+02	5,50E+04
		LSL2	5,00E+01	4,00E+01	2,30E+04
		LSL3	2,00E+01	3,00E+01	1,68E+05

08/12/2021	HSL1	0,00E+00	0,00E+00	1,00E+04
	HSL2	5,50E+02	0,00E+00	2,80E+04
	HSL3	2,30E+02	4,20E+02	1,80E+04
	LSL1	1,96E+03	8,00E+01	3,80E+04
	LSL2	0,00E+00	2,14E+03	4,30E+04
	LSL3	2,67E+03	1,30E+02	2,90E+04
15/12/2021	HSL1	3,70E+02	7,00E+01	2,10E+04
	HSL2	4,00E+01	1,00E+01	1,20E+04
	HSL3	2,00E+01	0,00E+00	2,10E+04
	LSL1	1,30E+02	6,00E+01	4,80E+04
	LSL2	9,00E+01	1,20E+02	9,00E+03
	LSL3	4,00E+01	0,00E+00	9,00E+03
22/12/2021	HSL1	0,00E+00	1,00E+01	2,00E+03
	HSL2	1,24E+03	2,90E+02	7,00E+03
	HSL3	6,00E+02	1,10E+02	1,00E+03
	LSL1	1,43E+03	2,60E+02	4,20E+04
	LSL2	1,77E+03	0,00E+00	1,10E+04
	LSL3	1,28E+03	3,10E+02	1,60E+04
29/12/2021	HSL1	1,94E+03	1,50E+02	4,36E+05
	HSL2	1,71E+03	1,00E+02	5,80E+01
	HSL3	5,00E+01	4,00E+01	9,00E+04
	LSL1	1,33E+03	2,20E+02	7,40E+04
	LSL2	0,00E+00	0,00E+00	1,21E+05
	LSL3	9,70E+02	1,80E+02	6,64E+05
02/12/2021	HSL1	0,00E+00	2,00E+01	8,00E+03
	HSL2	1,80E+02	1,10E+02	2,80E+04
	HSL3	1,70E+02	2,00E+01	3,60E+04
	LSL1	1,40E+02	1,70E+02	1,80E+04
	LSL2	6,60E+02	5,60E+02	2,70E+04
	LSL3	3,60E+02	9,80E+02	3,10E+04
09/12/2021	HSL1	2,20E+02	3,00E+01	4,90E+04
	HSL2	0,00E+00	2,60E+02	6,60E+04
	HSL3	4,10E+02	1,50E+02	6,20E+04
	LSL1	2,40E+02	1,30E+02	3,10E+04
	LSL2	7,00E+01	2,50E+02	1,30E+04
	LSL3	7,10E+02	7,00E+02	1,90E+04
16/12/2021	HSL1	3,40E+02	9,00E+01	1,62E+05
	HSL2	3,00E+02	1,80E+02	4,60E+04
	HSL3	4,00E+01	1,80E+02	1,60E+04
	LSL1	8,00E+01	1,30E+02	5,00E+04

23/12/2021	LSL2	2,00E+01	1,10E+02	1,95E+05
	LSL3	1,00E+01	2,00E+01	8,40E+04
	HSL1	1,88E+03	0,00E+00	8,00E+03
	HSL2	8,30E+02	0,00E+00	2,50E+04
	HSL3	1,52E+03	8,00E+01	3,00E+03
	LSL1	1,83E+03	0,00E+00	1,20E+04
	LSL2	9,60E+02	1,10E+02	8,40E+04
	LSL3	4,70E+02	0,00E+00	8,30E+04
	30/12/2021	HSL1	0,00E+00	0,00E+00
HSL2		6,00E+01	2,00E+01	4,00E+03
HSL3		0,00E+00	0,00E+00	5,00E+03
LSL1		2,00E+01	2,00E+01	2,60E+04
LSL2		4,00E+01	7,00E+01	1,00E+04
LSL3		5,00E+01	3,00E+01	5,00E+03

Tabla 32: Base de datos de las UFC/ml que se presentaron por cada muestreo.

Fuente: Autoría.



Imagen 23: Presencia de macro y microplásticos en la playa Santa Rosa.

Fuente: Autoría



Imagen 24: Recolección de muestras en la playa La Libertad.
Fuente: Autoría



Imagen 25: Aplicación de vortex las muestras.
Fuente: Autoría

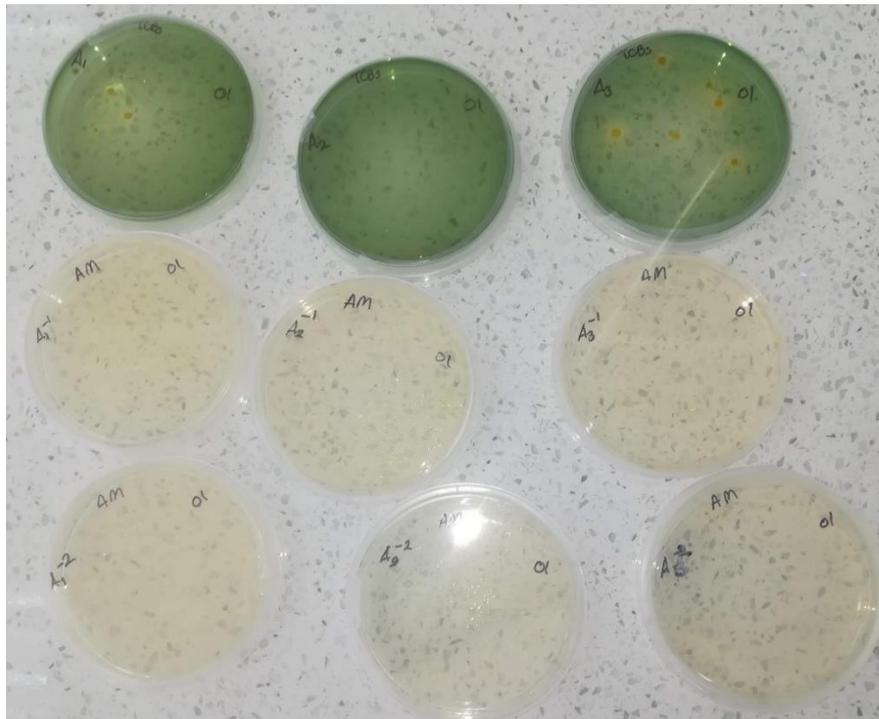


Imagen 26: Placas sembradas con muestras de la playa Puerto Lucía, zona de marea alta.
Fuente: Autoría

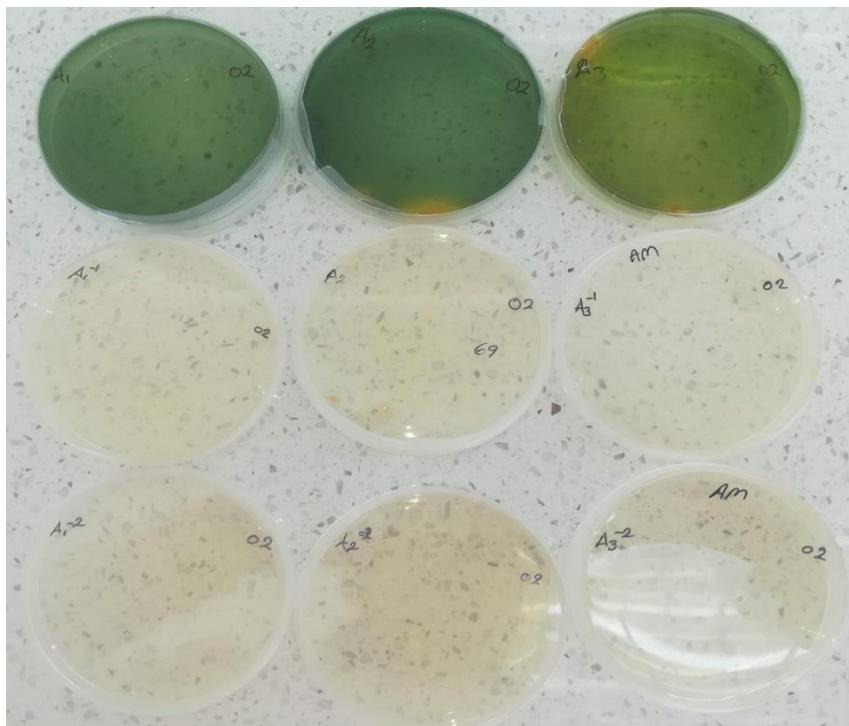


Imagen 27: Placas sembradas con muestras de la playa Santa Rosa, zona de marea alta.
Fuente: Autoría