

ARTÍCULO

## Calidad sanitaria del agua de mar del Golfo Morrosquillo y del agua de lastre de buques de tráfico internacional

### Sanitary quality of sea water in the Gulf of Morrosquillo and of ballast water from vessels engaged in international shipping

Fecha recepción: 2010-07-27 / Fecha aceptación: 2010-11-03

Diana M. Quintana Saavedra, [diana.quintana@dimar.mil.co](mailto:diana.quintana@dimar.mil.co)  
Mary Luz Cañón Páez, [Maryluz.Canon@dimar.mil.co](mailto:Maryluz.Canon@dimar.mil.co)

Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas, Bosque, Isla de Manzanillo,  
Escuela Naval "Almirante Padilla" Cartagena – Colombia

**CIOH**  
[www.cioh.org.co](http://www.cioh.org.co)

#### RESUMEN

El Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas del Caribe en pro de la protección del medio marino realizó la evaluación de la calidad sanitaria del agua del Golfo de Morrosquillo, así como del agua de lastre de buques de tráfico internacional que arribaron en el Golfo durante el 2009. El objetivo fue establecer el comportamiento estacional de los grupos de Coliformes totales, *Escherichia coli* y *Enterococcus* durante los meses de marzo, julio, septiembre y noviembre. Las muestras fueron colectadas en 10 estaciones distribuidas a lo largo del Golfo a tres profundidades (superficie, medio y fondo). Asimismo se evaluó la posible transferencia de estos grupos de microorganismos que son transportadas a través del agua de lastre. De igual forma se evaluó la asociación entre las características del agua y la presencia de los grupos mencionados en los tanques de lastre contenida en 15 tanques de lastre correspondiente a 7 buques en total. Se evidenció que el agua de lastre de algunos buques, constituye una fuente adicional de contaminación fecal al Golfo. Se determinó que de 15 tanques de buques de tráfico internacional monitoreados en el Golfo de Morrosquillo, el 20% sobrepasan las 100UFC/100mL para *Enterococcus* con una concentración mínima de 120 UFC/100mL y máxima de 1540 UFC/100mL. Asimismo el 20% sobrepasan el límite permitido para *E. coli* con concentraciones sobre lo permitido desde 600 a 800 UFC/100mL (250 UFC/100mL). En cuanto a *Vibrio cholerae*, todos los tanques analizados cumplieron con lo establecido por la OMI, dado que no se registro su presencia en el agua analizada. Se identificó que en el Golfo existen otras fuentes adicionales de contaminación que afectan la calidad sanitaria del Golfo y se encuentran más asociadas con el tipo de agua vertida al Golfo mediante descargas de agua residual doméstica (desde Sociedad Portuaria y Tolú), así como el aporte continental a través de los caudales de los arroyos (Alegría y Cascajo).

**Palabras claves:** Lastre, contaminación, *E. coli* y Golfo de Morrosquillo.

#### ABSTRACT

The Center for Oceanographic Research and Management (CIOH – from its original Spanish language initials - Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas) for the protection of the marine environment conducted an assessment of water sanitary quality of the Gulf of Morrosquillo, as well as ballast water of ships in international traffic that arrived in the Gulf during 2009, in order to establish the seasonal behavior of groups of total coliforms, *Escherichia coli* and *Enterococcus* in March, July, September and November. The samples were collec-

## INTRODUCTION

The different marine environments are exposed on a daily basis to various sources of contamination akin to local maritime shipping or commercial / tourist development – related activities. One of the main sources of marine contamination lies in the ballast transported by ships engaged in international trade. It is well known that ballast reduces the quality and increases the vulnerability of marine ecosystems. [1 and 2].

In Colombia, for about 7 years now, studies have been conducted as to the behavior of the contamination attributed to ballast water from vessels engaged in international shipping and the sanitary quality of the water bodies where the most important ports are located [3, 4, 5, and 6] Said determination of the behavior and presence of microbiological parameters is based on the guidelines established by the International Maritime Organization (IMO) which sets forth provisions for finding three groups: *Escherichia coli*, *Enterococcus* and *Vibrio cholerae*. The Center for Oceanographic Research and Management (CIOH – from its original Spanish language initials - *Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas*) carries on with the technical evaluation of the sanitary quality by monitoring these parameters in the main seaports on the Caribbean coast of Colombia.

Abiding by the guidelines set by the IMO for the correct management of ballast water and those of the Environmental Protection Agency for marine ecosystems, and given their prevalence in aquatic ecosystems, three groups of indicators in seawater need to be measured in the various climatic seasons (total Coliform, *Escherichia coli* and *Enterococcus*). A yearly estimated 4 billion cases of diarrhea are registered worldwide; 2,2 million cases have fatal outcomes, most of whom are children under 5 years old [7 and 8].

The study conducted by the Caribbean Oceanographic and Hydrographical Research Center on the sanitary conditions in the Gulf of Morosquillo, as well as those of the ballast water from international shipping vessels which entered the Gulf in 2009, made it possible to establish the seasonal behavior of the groups: total Coliform, *Escherichia coli* and *Enterococcus* in the dry, rainy and transition seasons (March, July, September and November). It also allowed us to evaluate the possible transference of these groups of microorgan-

isms which are carried in ballast water. The relationship between the physicochemical characteristics of the water and the presence of the aforementioned groups was also determined in 15 ballast tanks which came from 7 vessels in total.

## AREA OF THE STUDY

The Gulf of Morosquillo is located in the north western part of Colombia and extends from Punta San Bernardo (09°42'4.746"N; 75°42'6.146"W) in the Sucre Region to Cispatá Bay (09°24'19.068"N; 75°50'8.982"W) in the Córdoba Region. The Gulf is part of a mosaic of continental, coastal, island and marine ecosystems located in the world's intertropical strip and has a coastline extension of approximately 142 kilometers in Southwest - Northeast direction from Boca de Corea (Sinú River) to Punta San Bernardo. The whole area covers 2429 km<sup>2</sup>, of which an area of 390 km<sup>2</sup> is continental land mass and 2039 km<sup>2</sup> is maritime environment (figure 1).

## MATERIALS AND METHODS

The sanitary quality of the water was tested using a sample grid with 10 stations all over the Gulf (Figure 1). There were four monitoring campaigns covering three different climatic seasons. The first campaign was carried out in March; the second one in July, the third one in September and the last one in November. Both samples of ballast water from some of the vessels that entered the Gulf during the aforementioned months and samples of water from the 10 stations were collected.

Water samples were collected using a 5 liter Niskin bottle which was cast at three depths of the water; 1 meter below the surface, 1 m from the bottom and at middle depth. The water collected in the bottle was divided into two samples; an approximately 400ml sample for microbiological analysis, and a second sample for physicochemical evaluation in three 1 - liter containers and in one of 500 ml. As for the ships, water was sampled through the manholes's opening. The samples collected were stored in refrigerators and preserved as per the guidelines of the American Public Health Association (APHA) standard methodology [10].

ted at 10 stations distributed along the Gulf from three depths (surface, middle and bottom) and the possible transfer of this group microorganism that are transported through ballast water. Likewise, the association between water characteristics and the presence of the groups mentioned in the ballast tanks was evaluated 15 ballast tanks, corresponding to a total of 7 vessels. It was evident that the ballast water of some vessels constitutes additional source of fecal pollution to the Gulf. It was determined that, of the 15 tanks of ships in international traffic monitored in the Gulf of Morrosquillo, a 20% exceeds the 100 UFC/100mL limit for *Enterococcus*, with a minimum concentration of 120 UFC/100mL and maximum of 1540 UFC/100mL. It was also found that a 20% exceeds the limit established for *E. coli*, with concentrations ranging from 600 to 800 UFC/100mL (limit: 250 UFC/100mL). As for *Vibrio cholerae*, all tanks tested met the provisions established by IMO, as no presence thereof was found in the water tested. It was identified that in the Gulf there are additional sources of pollution affecting the health quality of the Gulf, and which are associated to the type of water discharged into the Gulf by domestic wastewater discharge (from Tolú and Port Society) and the continental contribution through the stream flow (Alegría and Cascajo).

**Key words:** Ballast water, contamination, sanity quality.

## INTRODUCCIÓN

Los diferentes ambientes marinos se encuentran expuestos diariamente a varias fuentes de contaminación provenientes de actividades propias del tráfico marítimo o desarrollo comercial y turístico de cada lugar. Una de las principales fuentes de contaminación marina es la transportada en el lastre de buques de tráfico internacional de la cual se sabe que disminuye la calidad y hace más vulnerables los ecosistemas marinos [1 y 2].

En Colombia desde hace cerca de siete años se estudia el comportamiento de la contaminación atribuida al agua de lastre que contienen los buques de tráfico internacional, así como la calidad sanitaria de los cuerpos de agua donde se encuentran los principales puertos [3, 4, 5 y 6]. Dicha determinación del comportamiento y la presencia de los parámetros microbiológicos se basa en los lineamientos establecidos por la Organización Marítima Internacional (OMI), que contempla la determinación de tres grupos *Escherichia coli*, *Enterococcus* y *Vibrio cholerae*. El Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas (CIOH) continúa con la evaluación técnica de la calidad sanitaria mediante el monitoreo de estos parámetros a través de sus principales puertos marítimos en el litoral del Caribe colombiano.

Teniendo en cuenta los lineamientos realizados por la OMI para la gestión adecuada del agua de lastre y de la Agencia para la Protección Ambiental (EPA) para ecosistemas marinos, se requiere la medición de los tres grupos indicadores (Coliformes totales, *Escherichia coli* y *Enterococcus*) en el agua de mar en las diferentes épocas climáticas dada su prevalencia en ecosistemas acuáticos. Dado que se estima que a nivel mundial aproximadamente 4 billones de los casos de diarrea que se registran anualmente, 2.2 millones reportan la muerte de pacientes, cuya población principal son niños menores de 5 años [7 y 8].

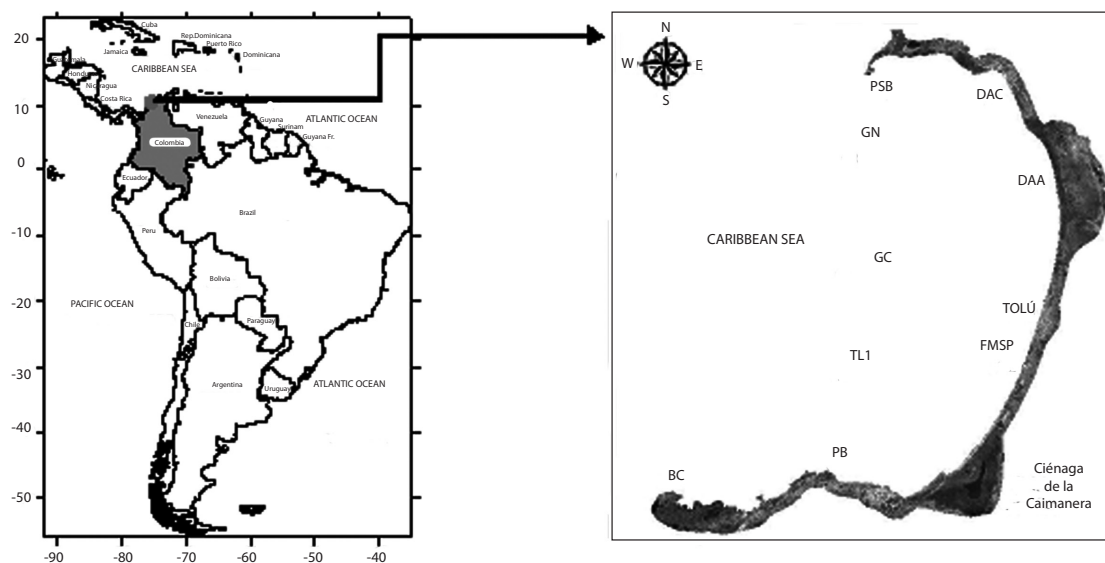
La evaluación de las condiciones sanitarias del Golfo de Morrosquillo determinada por el CIOH, así como del agua de lastre de buques de tráfico internacional que arribaron al Golfo durante el 2009, permitió establecer el comportamiento estacional de los grupos de Coliformes totales, *Escherichia coli* y *Enterococcus* en función de la época seca, húmeda y de transición (marzo, julio, septiembre y noviembre); así como la posible transferencia de estos grupos de microorganismos que son transportadas a través del agua de lastre. De igual forma se determinó la asociación entre las características fisicoquímicas del agua y la presencia de los grupos mencionados, en 15 tanques de lastre correspondiente a 7 buques en total.

## ÁREA DE ESTUDIO

El Golfo de Morrosquillo se encuentra ubicado en la zona noroccidental de Colombia, se extiende desde la punta San Bernardo (09°42'4.746"N; 75°42'6.146"W) en el departamento de Sucre, hasta la Bahía Cispatá (09°24'19.068"N; 75°50'8.982"W) en el departamento de Córdoba. El golfo hace parte de un mosaico de ecosistemas continentales, costeros, insulares y marinos localizados dentro de la franja intertropical del mundo, con una extensión de línea de costa aproximada de 142 km en dirección suroeste-noreste desde la Boca de Corea (río Sinú), hasta Punta San Bernardo. En total el área alcanza los 2429 km<sup>2</sup> de los cuales un área de 390 km<sup>2</sup> aproximadamente corresponde a la parte continental y 2039 km<sup>2</sup> a la parte marítima (figura 1).

## MATERIALES Y MÉTODOS

La determinación de la calidad sanitaria se realizó en el Golfo de Morrosquillo, mediante una grilla de muestreo con 10 estaciones a lo largo de este (figura 1). Se



**Figure 1.** Geographical location and the stations monitored in the Gulf of Morrosquillo PB Punta Bolívar, TL1, GC: Golfo centro; GN:Golfo Norte; SPB: Punta San Bernardo; AC: Arroyo Cascajo; BA: Boca Alegría; SP: Sociedad Portuaria; Tolú: Tolú; CB Cispatá Bay.

The determination of the physicochemical properties was done in accordance with the indications in [10] and [11] whose methodological basis to determine pH is of a potentiometric sort, spectrophotometric for nutrients (ammonia, nitrate, nitrite and orthophosphates), gravimetric for TSS, and using the Winkler method, as well as salinity for conductivity, for dissolved oxygen.

The membrane filtration method was used according to the guidelines set forth by APHA, 2005, in order to determine water quality in terms of concentration (colony-forming units in 100ml). Specifically, an adaptation of Method 9222A was used replacing the culture medium with Agar with a chromogenic substrate (Chromocult) for total coliform and *Escherichia coli*, and Agar with Sodium Azide was used for *Enterococcus*, adapting APHA 2005 Method 9230. All the samples were incubated at  $35\pm 2^{\circ}\text{C}$  during 24 hours (total Coliform and *E. coli*) and for 48 hours (*Enterococcus*), the colonies that needed verification were confirmed biochemically using a battery (Agar Citrate, oxidase, TSI agar and growth in McConkey agar) and morphologically using GRAM coloration. Additionally *vibrio cholerae* was isolated from these same samples.

It was in this manner that the influence of physicochemical factors was evaluated using a multivariate association analysis with the aim of finding whether the presence of these groups has a similarity with any of

these physicochemical factors. Therefore, the data were processed using the BioDiversity Pro software, which registered the formation of two principal groups. The first group comprises the concentration of total Coliform, *Escherichia coli* and *Enterococcus* and is related to variables of turbidity, TSS, OD, pH, Salinity and Temperature, from which it can be inferred that their presence is related to these parameters when there are flaws in water exchange, these being the determining parameters for their duplication rate [6,10] (figure 3).

## RESULTS AND DISCUSSION

### Vessels engaged in international shipping

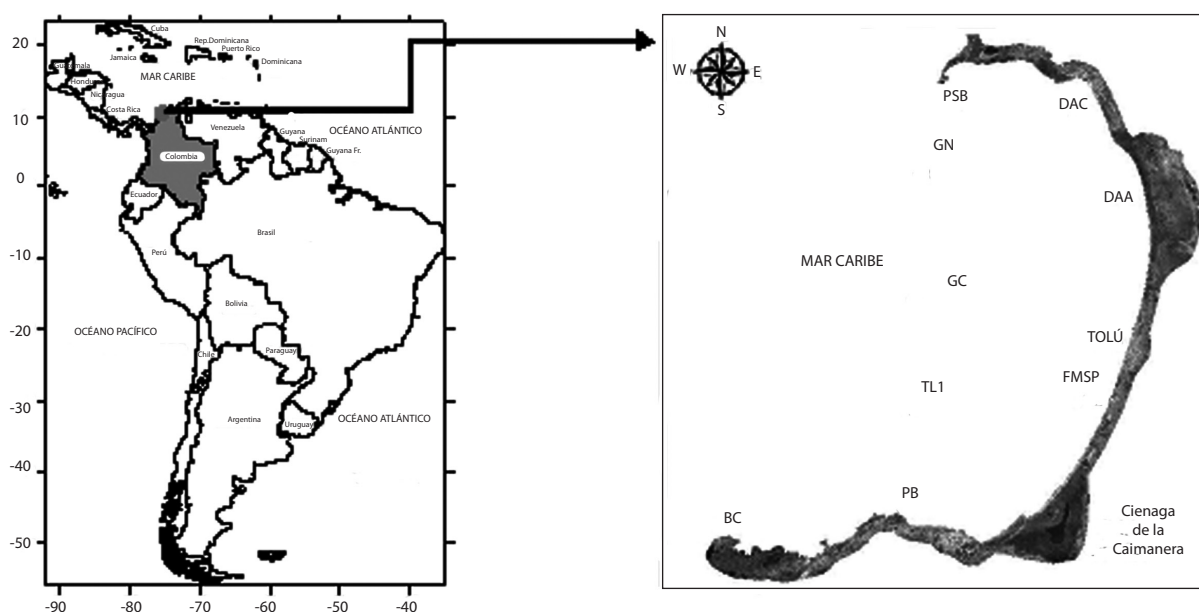
Analysis was conducted during the monitoring campaigns on the water from a total of fifteen ballast tanks from 7 ships which entered the Gulf of Morrosquillo, the aim being to verify whether the ships were properly managing their ballast water. The reason to conduct the aforementioned study lies in the fact that these waters act as a vector for the introduction of non-native species and pathogens worldwide [2].

Four of the tanks examined had a concentration above the limits established by the International Maritime Organization (IMO) for both *Escherichia coli* (250 CFU/100mL), and *Enterococcus* (100CFU/100mL) (figure

realizaron cuatro campañas de monitoreo abarcando tres épocas climáticas diferentes. La primera se realizó en el mes de marzo, la segunda en el mes de julio, la tercera en el mes de septiembre y la última en el mes de noviembre. En cada monitoreo se recolectaron tanto muestras de agua del lastre de algunos de los buques que arribaron al golfo durante los meses señalados como agua de las 10 estaciones.

Las muestras de agua se recolectaron empleando una botella Niskin de 5 L que fue lanzada a tres profun-

tidades de la columna de agua; 1 m debajo de la superficie, 1 m arriba del fondo y a nivel medio. El agua recolectada en la botella se subdividió en dos, una primera muestra de aproximadamente 400ml para análisis microbiológico y una segunda para la evaluación físico-química en tres recipientes de 1 L y de uno de 500 ml. A nivel de buques el agua se recolectó a través de las aperturas de los manholes. Las muestras recolectadas fueron almacenadas en neveras y preservadas bajo lineamientos de metodología estándar de la Asociación Americana de Salud Pública (APHA) [10].



**Figura 1.** Ubicación geográfica y estaciones monitoreadas en el Golfo de Morrosquillo PB: Punta Bolívar, TL1, GC: Golfo Centro, GN: Golfo Norte; PSB: Punta San Bernardo; AC: Arroyo Cascajo; BA: Boca Alegría; SP: Sociedad Portuaria; Tolú: Tolú, BC: Bahía de Cispatá [9].

La determinación de las características físico-químicas se hizo acorde con lo indicado por [10] y [11], cuya base metodológica para pH es potenciométrica, para nutrientes (amonio, nitrato nitrito y ortofosfatos) es espectrofotométrica, para SST es gravimétrica, para oxígeno disuelto se emplea el método de Winkler y salinidad por conductividad.

Para determinar la calidad del agua en términos de concentración (unidades formadoras de colonia en 100ml), se empleó la técnica de filtración por membrana cuyo fundamento se trabajó como lo indica la APHA, 2005. Específicamente para Coliformes totales y *Escherichia coli* se realizó una adaptación del Método 9222A cambiando el medio de cultivo por Agar con sustrato

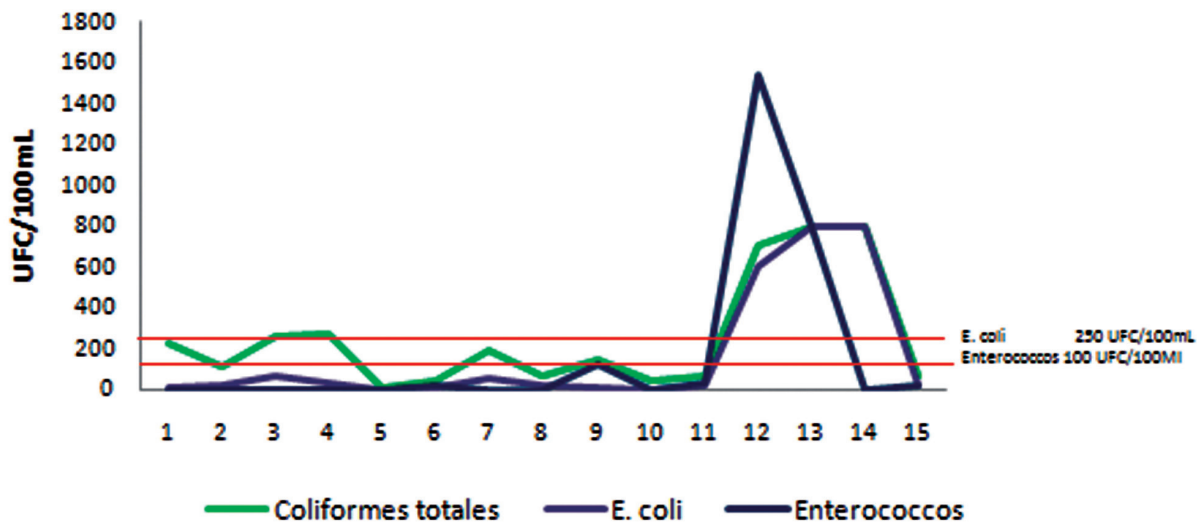
cromogénico (Chromocult®) y para *Enterococcus* se empleó Agar con Azida de Sodio adaptando el método 9230 del APHA, 2005. Todas las muestras fueron incubadas a  $35\pm 2^\circ\text{C}$  durante 24 (Coliformes totales y *E. coli*) y 48 horas (*Enterococcus*), las colonias que requirieron verificación fueron confirmadas bioquímicamente empleando una bacteria (Agar Citrato, oxidasa, Agar TSI y crecimiento en Agar Mc Conkey), y morfológicamente a través de coloración de GRAM. Adicionalmente se realizó el asilamiento de *vibrio cholerae* de las mismas muestras.

La influencia de los factores físico-químicos fue evaluada mediante un análisis multivariado de asociación con el fin de identificar si la presencia de estos grupos

2). The water from eleven of the tanks analyzed met the international parameters required by the international convention for the control and management of ballast water and sediments from ships. No *Vibrio cholerae* (toxigenic variants 01 and 139) was detected in the samples of water analyzed.

These results show that the groups analyzed are cosmopolitan and reflect inadequate ballast management conditions; this was identified by other studies such as [12], wherein *Escherichia coli* was reportedly present in twenty - three out of sixty - eight tanks examined,

including those with coast water exchange or ballast which were analyzed on the coasts of the United States. This study also reported the presence of a concomitant pathogen burden (*Pseudomonas aeruginosa*) in four tanks, *Aeromonas sp* in one and *Mycobacterium sp.* in another tank. The foregoing shows that no matter what route a ship follows, its ballast waters are yet another vector of contamination for receptor aquatic ecosystems and a possible way of transmitting diseases which could have a negative impact on public health in ports where ballast water is unloaded.



**Figure 2.** Concentration of pathogenic microorganisms in the water ballast tanks of vessels entering the Gulf of Morrosquillo, where 1. Alex spirit1 wbp, 2. Alex spirit 4 wbs, 3. NS columbus4nc, 4. NS columbus5nc, 5. Golf loast 4wbt, 6. Golf loast 4swbt, 7. Eric spirit swbp, 8. Eric spirit wbs, 9. Enrica lexle 4wbtp, 10. 3wbp, 11. 2wbs, 12. Kayeema spirit 4sw, 13 Kayeema spirit 3ew, 14 Chentrans lyra 4pw, 15. Chentrans lyra 4 sw. The green line is *Total Coliform*; the blue is *Enterococci*, the purple, *Escherichia coli*.

Various levels of contamination were recorded in the samples analysed from 4 tanks, 9,12, 13, and 14, which allows for the statement that there is inadequate exchange of ballast water. It is well known that water quality is reduced by ballast water and the vulnerability of various ecosystems is increased [1, 2 and 13] In fact, [14] found that these microorganisms are capable of surviving in ballast water for more than 30 days. This could indicate that there is inadequate water exchange at the ocean level, thus increasing the risks that the population coming into contact with this water may contract diseases, as well as the ecosystems where the water is discharged may be damaged [6].

It is important to foster water exchange at sea, given that this makes possible variations in the salinity, a factor which determines the reduction of the pathogen population in these waters [13]. Hence, the presence of pathogen populations in these tanks could be related to the place whence the water ballast was taken aboard. In fact, ballast tanks are a place where various strata of physicochemical conditions are generated with different levels of dissolved oxygen, low turbidity and moderate concentrations of nutrients, and these can maintain different communities of organisms [12].

tiene una similaridad con algún parámetro fisicoquímico de éstos. En tal sentido se procesaron los datos empleando la correlación de Pearson con el método de ligamiento promedio, estandarizando las variables, con el cual se registró la formación de dos grupos principales. Dentro del primero, la concentración de los grupos de Coliformes totales y *Escherichia coli* y *Enterococcus* se asocia con las variables de turbidez, SST, OD, pH, Salinidad y Temperatura con lo cual se puede inferir que su presencia se asocia a estos parámetros cuando existen deficiencias en el recambio del agua, siendo estos parámetros determinantes en su tasa de duplicación [6,10] (figura 3).

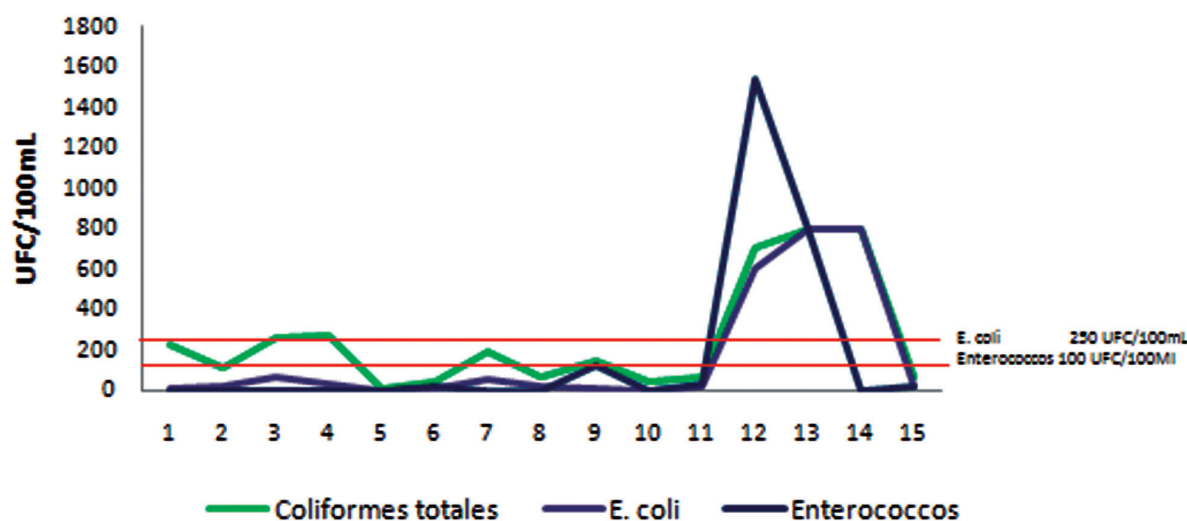
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Buques de tráfico internacional

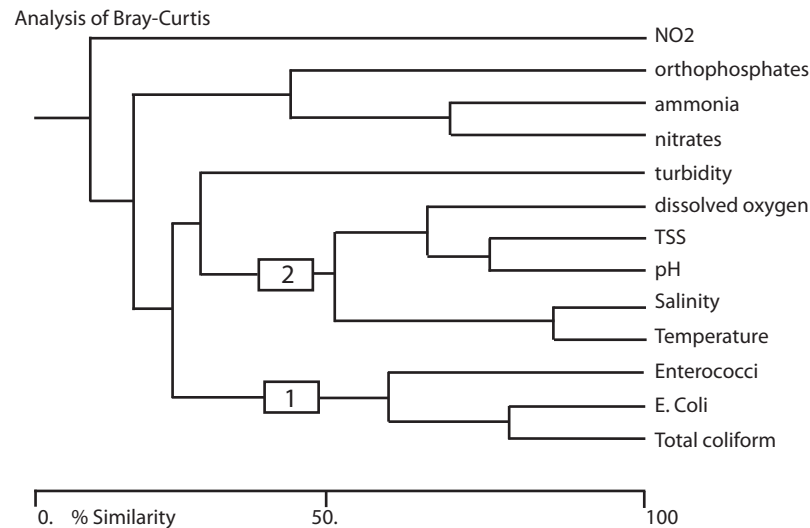
A través de las campañas de monitoreo se analizó el agua en un total de quince tanques de lastre de siete buques que arribaron al Golfo de Morrosquillo, con el objetivo de verificar la adecuada gestión por parte del buque del agua de lastre, debido a que éstas constituyen un vector para la introducción de especies no nativas y patógenas a nivel mundial [2].

Cuatro de los tanques evaluados presentaron una concentración superior a la permitida por la Organización Marítima Internacional (OMI), para *Escherichia coli* (250 UFC/100mL), y *Enterococcus* (100UFC/100mL) (figura 2). El agua analizada de once de los tanques, cumplieron con los parámetros internacionales exigidos por el convenio internacional para el control y la gestión del agua de lastre y los sedimentos de buques. No se detectó la presencia de *Vibrio cholerae* (variantes toxigénicos O1 y 139) en las muestras de agua analizada.

Estos resultados revelan que los grupos evaluados son cosmopolitas y reflejan condiciones inadecuadas de gestión de lastre. Esta condición ha sido identificada por otros estudios como [12], quienes reportaron la presencia de *Escherichia coli* en veintitrés tanques de sesenta y ocho evaluados, incluyendo aquellos con recambio o con lastre de aguas costeras, que fueron evaluados en las costas de Estados Unidos. En dicho estudio también se reportó la presencia de carga acompañante patógena (*Pseudomonas aeruginosa*) en cuatro tanques, *Aeromonas sp* en uno y *Mycobacterium sp.*, en un tanque. Lo anterior demuestra que a pesar de la trayectoria que lleve un buque, sus aguas de lastre representan un vector más de contaminación de ecosistemas acuáticos receptores y de posible transmisión de enfermedades que puede comprometer la salud pública en aquellos puertos en donde son deslastrados.



**Figura 2.** Concentración de microorganismos patógenos en tanques de lastre de buques que arribaron al Golfo de Morrosquillo, donde: 1. Alex spirit 1wbp, 2. Alex spirit 4wbs 3. NS columbus4nc 4.NS columbus5nc, 5 Golf loast 4wbt, 6. Golf loast 4swbt, 7. Eric spirit swbp, 8.Eric spirit wbs, 9. Enrica lexle 4wbtp, 10. 3wbp, 11. 2wbs, 12. Kayeema spirit 4sw, 13. Kayeema spirit 3ew, 14 Chentrans lyra 4pw 15. Chentrans lyra 4sw. La línea verde es *Coliformes Totales*; la azul *E.coli*, la morada, *Enterococcus*.



**Figure 3.** Associated microbiological and physicochemical variables in the ballast tank of international shipping vessels in the Gulf of Morrosquillo.

With the analysis carried out previously, a one way ANVOA was used to establish, with 95% confidence, that there are no significant statistical differences in the variability of the concentrations of total coliform, *Escherichia coli* and *Enterococcus* in one tank. In other words, that the presence of one group or of another indicates the same level of risk of contracting gastrointestinal diseases for the exposed population and that their presence is not associated with any specific physicochemical factor given that they are abundant in the medium. In fact, [12] they found that bacterial abundance can reach very high levels, without being associated with any particular factor, concentrations of up to  $10^{11}$  cells per  $m^3$ . Similarly [15] recorded bacterial abundance of up to  $10^6$  cells per  $m^3$  in ballast tanks from ships with different operational histories.

The presence of pathogenic microorganisms in ships' ballast has been widely studied [2, 12 and 13] (table 1). These studies have made it possible to determine that the viability and pathogenic capacity of these pathogenic microorganisms manage to survive long sea voyages. Therefore these ships are the predominant vector for biological invasions via the discharge of ballast water [16].

Being that the normal development of commercial and tourist activities that take place in the Gulf means accepting ballast water from the vessels which enter the Gulf, the operation of these ships and other vessels, whereby 84% of the boats moving through the Gulf are oil tankers, means a total volume of approximately  $144229 m^3$  of ballast water discharged annually. Therefore a proper study of the sanitary quality and also a port baseline survey are two of the strategies which make it possible to prevent and mitigate possible damage to an aquatic ecosystem [13, 17].

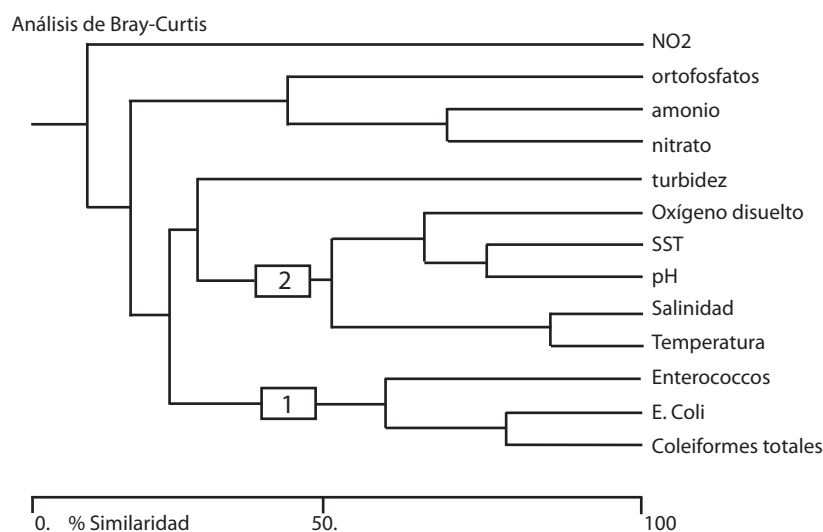
### The Gulf of Morrosquillo

According to the environmental diagnosis of the Gulf of Morrosquillo, done by [18], the potentially contaminating activities in this marine ecosystem are: continental outflows (rivers and streams); operation of wharfs (oil and cement) operation of ships and other vessels. The various human settlements in the coastal zone were not planned and therefore there are problems with basic sanitation which oblige them to dump their untreated sewage into the Gulf. Other factors such as the contamination of soils and water by the incorrect disposal of solid waste, atmospheric emissions, and the



Se registraron diferentes niveles de contaminación en las muestras analizadas de cuatro tanques 9,12,13 y 14 lo cual permite inferir que existen deficiencias en el recambio del agua lastre. Es bien sabido que a través del agua de lastre se disminuye la calidad y se hacen más vulnerables los diferentes ecosistemas [1, 2 y 13]. De hecho [14], encontraron que estos microorganismos son capaces de sobrevivir en el agua de lastre por más de treinta días. Lo cual podría estar indicando deficiencias en el intercambio del lastre a nivel oceánico, potencializando los riesgos de contraer enfermedades de tipo gastrointestinal para la población que entre en contacto con él/los ecosistemas donde sean deslastradas [6].

Es importante fortalecer actividades de recambio oceánico, dado que este permite variaciones en la salinidad, factor que determinaría la disminución de población patógena en dichas aguas [13], por tanto su presencia en estos tanques podría estar asociada al lugar donde tomaron su lastre. De hecho, los tanques de lastre constituyen un lugar en el cual se generan diferentes estratos de condiciones fisicoquímicas que logran mantener diferentes comunidades de organismos. Con diferentes niveles de oxígeno disuelto, baja turbidez y concentraciones moderadas de nutrientes [12].



**Figura 3.** Asociación variables microbiológicas y fisicoquímicas en el tanque de lastre de buques de tráfico internacional en el Golfo de Morrosquillo.

Con el análisis realizado previamente se estableció a través de un ANOVA a una vía, con un 95% de confianza que no existen diferencias estadísticas significativas en la variabilidad en las concentraciones que contiene un tanque en cuanto a coliformes totales, *Escherichia coli* y *Enterococcus*. Es decir que la presencia de uno u otro grupo indican el mismo riesgo para la población expuesta a contraer enfermedades gastrointestinales y no están asociadas con algún factor fisicoquímico específico dada su abundancia en el medio. De hecho, [12], encontraron que la abundancia bacteriana puede llegar a ser considerablemente alta, sin estar asociada con algún factor específico, registrando concentraciones de hasta  $10^{11}$  células por  $m^3$ . Así mismo [15], registró abundancias bacterianas de hasta  $10^6$  células por  $m^3$  en tanques de lastre de buques con diferentes historiales operacionales.

La presencia de microorganismos patógenos en el lastre de embarcaciones ha sido ampliamente estudiada [2, 12 y 13] (tabla 1), dichos estudios han permitido determinar que su viabilidad y su capacidad patogénica, logra mantenerse en largos trayectos de navegación. Por tanto las embarcaciones son el vector predominante de invasiones biológicas a través de la descarga de agua de lastre [16].

Teniendo en cuenta que el normal desarrollo de las actividades comerciales y turísticas que se desarrollan en el Golfo, implica la recepción de agua de lastre proveniente de los buques que arriban al Golfo, la operación de estos buques y otras embarcaciones, donde el 84% de la movilización de buques en el Golfo son petroleros, representan un volumen total de descarga de agua de lastre anual aproximado de

**Table 1.** PCR tests to detect potentially pathogenic microorganisms. Adapted from: [12].

TARGET SPECIES	GEN	LIMIT OF DETECTION	REFERENCE
<i>Aeromonas spp</i>	16S	Not detectable	Figueras et al 2000
<i>Escherichia coli</i>	16S	Not detectable	Sabat et al 2000
<i>Leptospira spp</i>	16S	Not detectable	Smythe et al 2002
<i>Listeria monocytogenes</i>		Not detectable	Rodríguez-Lazáron et al 2004
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	23S	74fg $\mu\text{l}^{-1}$	Ludwig et al, 1994
<i>Salmonella sp</i>	<i>himA</i>	60 fg $\mu\text{l}^{-177}$	Bej et al 1994
<i>Shigella sp</i>	<i>lpaH</i>	<45 fg $\mu\text{l}^{-1}$	Kong et al 2002
<i>Vibrio cholerae</i>	<i>ctxA</i>	2 fg $\mu\text{l}^{-1}$	Nandi et al 2000

expansion of the agricultural frontier are some of the Gulf's environmental problems, which are reflected in the quality of its ecosystems.

According to the Network of Marine Environment Quality (RedCAM) [19] it has been established that the contribution of fecal coliform spilt into the Gulf by the Sinú River is 16.77% of the total discharges into the Caribbean Sea, and this can be attributed to the discharge of domestic sewage all along the coast line. As for the quality of the water in all of the Gulf, CARSUCRE (RedCAM) determined that the most critical sanitary quality in the Gulf waters is found in the stations at Playa Francés, Playa Tolú, Playa Mar Hotel, Playa Tolú, Montecarlo Hotel in Coveñas, Puerto Viejo in Coveñas, Punta Piedras in Coveñas, Coquerita Isla Palma (San Bernardo), Punta Rincón and Playa Berrugas. The results of this study show concentrations for total Coliform, using the membrane filtration technique, which oscillate between 5500 and 50 registered in marine and estuarine stations along the Gulf.

Many factors have been taken into account when evaluating the survival rates of fecal bacteria in aquatic environments. It is known that sunlight is the most important factor contributing to the cell death of bacteria in sea water [20] Other factors are salinity, the presence of toxic agents, interactions of predation and parasitism and a low concentration of nutrients. Nevertheless, bacteria indicating fecal contamination survive these conditions as they can remain viable at the sedimentary level and all through the water column [21]. This is a determining factor when it comes to defining the sanitary quality of a body of water.

### Total Coliform Behavior

In light of the fact that the microorganisms that are the bio-indicators of fecal contamination stick to sediments and that the net accumulation of sedimentation in the Sinú River is  $158.9 \times 10^6 \text{ m}^3$  [22], this transportation of material all over the Gulf is reflected in the samples taken at the bottom of the column. This condition explains that the group of total coliform and of bacteria in general is absorbed by sediment particles which act as protection from various factors such as UV light, high salinity or an attack by bacteriophages [21]. In addition, fecal bacteria can find associated nutrients in these sediment particles which allow them to increase their biomass [23].

The foregoing is corroborated by the behavior found for total Coliform, *E. coli* and *Enterococcus* in the months of the sampling (March, July, September and November) in the Gulf of Morrosquillo. In the dry season (March) the stations that recorded the highest level of contamination for total Coliform at CFU/100mL were: Punta Bolívar Bottom (570), Cispatá Bay at its Surface (630), Cispatá Bay at Medium depth (510), Cispatá Bay at its Bottom (480), Arroyo Cascajo at its Surface (580), Arroyo Cascajo at Medium depth (440), Arroyo Cascajo at its Bottom (800), Boca Alegría at Medium depth (920), Boca Alegría Bottom (520), TOLU S (690), TOLU M (970), TOLU B (580) (figure 3). It can be inferred that the inflow of microorganisms indicating fecal contamination throughout the year is proportional to the estimated rate of sedimentation in the Sinú River which is  $1.78 \times 10^6 \text{ m}^3 \text{ year}$  [22]. This explains the presence of said microorganisms at the bottom level, as shown in figure 4.

143229 m<sup>3</sup> [5]. En tal sentido el adecuado estudio de la calidad sanitaria, así como el levantamiento de la línea base portuaria constituyen unas de las estrategias que permiten prevenir y mitigar el posible daño a un ecosistema acuático [13 y 17].

### Golfo de Morrosquillo

Según el diagnóstico ambiental del Golfo de Morrosquillo, realizado por [18], las actividades potencialmente contaminantes en este ecosistemas a nivel marino son: descargas continentales (ríos y arroyos); operación

de muelles (petroleros y cementero), operación de buques y otras embarcaciones. Los diferentes asentamientos humanos desarrollados en la zona costera no están planificados por tanto existen deficiencias en el saneamiento básico, que obligan a verter inadecuadamente sus aguas residuales al Golfo. Otros factores como la contaminación de suelos y aguas por la mala disposición de residuos sólidos, emisiones atmosféricas y la expansión de la frontera agrícola, son algunos de los problemas ambientales del Golfo, los cuales se reflejan en la calidad de sus ecosistemas.

**Tabla 1.** Ensayos en PCR para detectar microorganismos potencialmente patógenos. Adaptado de: [12].

ESPECIE BLANCO	GEN	LÍMITE DE DETECCIÓN	REFERENCIA
<i>Aeromonas spp</i>	16S	No detectable	Figueras et al 2000
<i>Escherichia coli</i>	16S	No detectable	Sabat et al 2000
<i>Leptospira spp</i>	16S	No detectable	Smythe et al 2002
<i>Listeria monocytogenes</i>		No detectable	Rodriguez-Lazáron et al 2004
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	23S	74fg µl <sup>-1</sup>	Ludwig et al, 1994
<i>Salmonella sp</i>	<i>himA</i>	60 fg µl <sup>-177</sup>	Bej et al 1994
<i>Shigella sp</i>	<i>lpaH</i>	<45 fg µl <sup>-1</sup>	Kong et al 2002
<i>Vibrio cholerae</i>	<i>ctxA</i>	2 fg µl <sup>-1</sup>	Nandi et al 2000

Según la Red de Calidad Ambiental Marina (RedCAM) [19], se ha establecido que la contribución de coliformes fecales aportadas al Golfo por el río Sinú, se encuentran en un 16.77% respectivamente del total de la descarga al Mar Caribe, lo cual se atribuye a las descargas de aguas residuales domésticas a lo largo de la línea de costa. En cuanto a la calidad del agua de todo el Golfo CARSUCRE, (RedCAM) determinó que la calidad sanitaria más crítica en aguas del Golfo se encuentran en las estaciones Playa Francés, Playa Tolu, hotel Playa Mar, Playa en Tolu, hotel Montecarlo en Coveñas, Puerto Viejo en Coveñas, Punta Piedras en Coveñas, Coquerita Isla Palma (San Bernando), Punta Rincón y Playa Berrugas. Los resultados de dichas determinaciones exhiben concentraciones para Coliformes totales bajo la técnica de filtración por membrana que oscilan entre 5500 y 50, estas concentraciones fueron registradas para estaciones marinas y estuarinas a lo largo del Golfo.

Múltiples factores se han considerado al evaluar las tasas de supervivencia de bacterias fecales en ambientes acuáticos. Se sabe que la luz solar es el factor más importante que contribuye a la muerte celular de bacterias en el agua de mar [20]. Otros factores como la salinidad, la presencia de agentes tóxicos, interacciones de predación y parasitismo y baja concentración de nutrientes, sin embargo, las bacterias indicadoras de contaminación fecal sobreviven a estas condiciones dado que pueden mantenerse viables a nivel de sedimentos y a lo largo de la columna de agua [21]. Constituyéndose esto en un factor determinante al momento de definir la calidad sanitaria de un cuerpo de agua.

### Comportamiento de Coliformes totales

Considerando que los microorganismos bioindicadores de contaminación fecal se adhieren a los sedimentos y que la acumulación neta de sedimentación

In the transition season (July) the stations with the highest concentrations were TOLU S (2800), TL1 S (1110), PBS (770), DAC S (730), TOLU M (650), PSB S (620), DAC B (610), TOLU B (600), DAC M (520), PSB B (480), TL1 M (460), DAA S (450), DAA M (20), PBM (400), BC S (360), BC M (360), GCS (320), FSP S (320) and GC M (310) CFU/100ml. These results reflect the inflow of domestic sewage from the city of Tolú (Fig. 3) and that this affects the sanitary quality of the waters in the Gulf of Morrosquillo. The contamination in the Gulf is maintained at the bottom of the water column in the sectors from Boca Alegría, Sociedad Portuaria up to the town of Tolú which is the station that concentrates the highest levels of contamination at all depths of the column. This is explained by the affinity of these groups for sediments and by the continual discharge of domestic sewage [8, 21 and 24].

It is important to consider that the behavior of the microbiological parameters discovered during 2009 was influenced by the "El Niño" climatic phenomenon which, according to [25], began in the month of March and went on through July thus accentuating the dry half of the year, especially in the Caribbean region which reported values lower than those registered during the 1997 "El Niño".

In the rainy season (September and November) an increase in coliform concentration was recorded at the surface layer and at medium and bottom depths of the water column. As can be seen in figure 4, there is a continual influence of contamination which possibly results from the inflow of sewage from the cities that adjacent to Gulf, such as Tolú and Coveñas and from the Sinú River. The stations that registered the highest concentration in September were Punta Bolívar at its Bottom (610), Desembocadura Arroyo Alegría at its Bottom (520), TOLU at Medium depth (550), Frente Sociedad Portuaria M (520) and Frente Sociedad Portuaria (510) CFU/100mL. As for the latter station (Frente Sociedad Portuaria), the results indicate that the vessels that enter the Sociedad Portuaria might be possible vectors for feces – originated contamination.

In the month of November, the stations that showed the highest levels of contamination as per the WHO guidelines were: BC S (730), PSB M (540), DAC M (790), TOLU S (800), TOLU M (800), TOLU (800), FSP S (800) CFU/100mL. In Figure 4, major inflow can be seen which takes place at the mouths of the Cascajo and Alegría

streams. This behavior has an influence on the sanitary quality of the water in this zone. However, an increase in the volume of flow in the streams or of the Sinú River periodically affects the water quality in nearby stations. It is common knowledge that the greatest volumes of flow (between 300 and 600 m<sup>3</sup> s<sup>-1</sup>) occur between May and November, whereas December and April are transition months and the period with the lowest waters is between January and March (between 100 and 200 m<sup>3</sup> s<sup>-1</sup>) [15].

At that time of year the changes in concentration were favored by a greater availability of nutrients in the medium brought in mostly by the Sinú River's plume caused by the rains which increase the river's flow volumes which on average are greater in the upper reaches than in the middle (by 30mm month<sup>-1</sup>) and than in the lower reaches (by 100 mm month<sup>-1</sup>) [15].

In the maps shown in figure 4 one can see an influence plume from a continental inflow of untreated sewage around the city of Tolú. This is reflected in the quality of water in the Gulf. Moreover, contribution of the various tributaries in the Gulf can be observed, depending on the time of year, there being a greater concentration of inflow up until September as a result of the changes in the flow volumes, and it must be pointed out that because there is no monitoring station near the city of Coveñas, it is not possible to determine its possible influence in the Gulf. Fecal contamination in the Gulf zone remains constant as a result of the inflow of sediments from the Sinú River which influence the entire water column. The response to the fluvial inflows will depend on the climatology and oceanography of the region, with lower values in the dry season, when the Trade winds are stronger and high in the wet season when the Trade winds are weak and the Caribbean counter current is more developed at the surface level [26].

#### ***Escherichia coli* Behavior**

The members of this genus live in the intestinal tract of human beings and warm blooded animals. It is facultative anaerobic, gram-negative and ferments lactose at 44°C. It does not have any specific nutritional requirements and can grow from a large variety of sources of carbon and energy. It has the ability to adapt to marine environments and to survive at the sediment level given the high level of organic matter that sediments contain [27].

en el río Sinú es de  $158.9 \times 10^6 \text{ m}^3$  [22], este transporte de material a lo largo del golfo, se ve reflejado en las muestras provenientes del fondo de la columna. Dicha condición explica que el grupo de coliformes totales y de bacterias en general sean adsorbidos por partículas de sedimentos que actúan como protección de diferentes factores como la luz UV, alta salinidad o el ataque de bacteriófagos [21]. Adicionalmente las bacterias fecales pueden encontrar en ellos nutrientes asociados que permiten incrementar su biomasa [23].

Lo anterior se corroboró con el comportamiento encontrado para Coliformes totales, *E. coli* y *Enterococcus* en los meses de muestreo (marzo, julio, septiembre y noviembre) en el Golfo de Morrosquillo. Para la época seca (marzo), se registró que las estaciones que presentan contaminación más alta para Coliformes totales en UFC/100mL fueron Punta Bolívar Fondo (570), Bahía de Cispatá Superficie (630), Bahía Cispatá Medio (510), Bahía Cispatá Fondo (480), Arroyo Cascajo Superficie (580), Arroyo Cascajo Medio (440), Arroyo Cascajo Fondo (800), Boca Alegría Medio (920), Boca Alegría Fondo (520), TOLU S (690), TOLU M (970), TOLU F (580) (figura 3). Se puede inferir que durante todo el año el aporte de microorganismos indicadores de contaminación fecal es proporcional a la velocidad estimada de sedimentación del río Sinú es de  $1.78 \times 10^6 \text{ m}^3 \text{ año}^{-1}$  [22], lo cual explicaría su presencia a nivel fondo como se muestra en la figura 4.

Para la época de transición (julio), las estaciones con concentraciones más altas fueron TOLU S (2800), TL1 S (1110), PBS (770), DAC S (730), TOLU M (650), PSB S (620), DAC F (610), TOLU F (600), DAC M (520), PSB F (480), TL1 M (460), DAA S (450), DAA M (20), PBM (400), BC S (360), BC M (360), GCS (320), FSP S (320) y GC M (310) UFC/100ml, estos resultados reflejan el aporte de aguas domésticas provenientes de la ciudad de Tolú (figura 3), afecta la calidad sanitaria de las aguas del Golfo de Morrosquillo. Esta contaminación en el golfo se mantiene a nivel de fondo de la columna de agua, en los sectores desde Boca Alegría, Sociedad Portuaria hasta la población de Tolú siendo esta última la estación que concentra a lo largo de toda la columna la mayor contaminación explicada en la afinidad de estos grupos a sedimentos y a los continuos vertimientos de agua residual doméstica [8, 21 y 24].

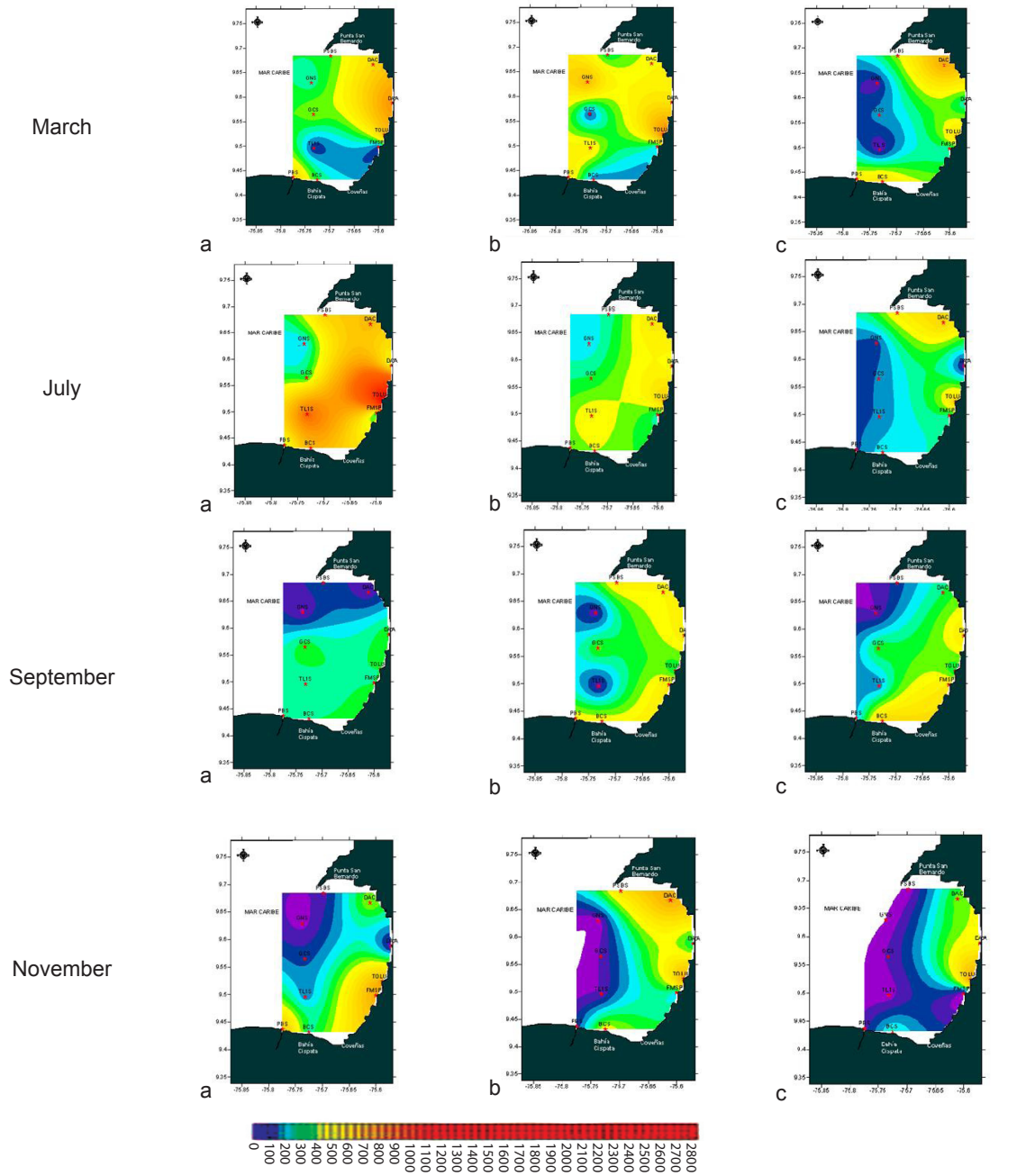
Es importante considerar que el comportamiento encontrado para los parámetros microbiológicos durante el 2009 estuvo influenciado por el fenómeno climático "El Niño", el cual según [25], comenzó desde el mes de julio hasta inicios de septiembre, acentuando así, la temporada seca de mitad de año, especialmente en la región Caribe reportando los valores más bajos que los registrados durante el fenómeno de "El Niño" en el año 1997.

Para la época de lluvias (septiembre y noviembre) se registró un incremento en la concentración de coliformes a nivel de la capa superficial, medio y fondo de la columna de agua. Como se observa en la figura 4, existe una continua influencia de contaminación que posiblemente proviene del aporte de aguas residuales proveniente de las ciudades aledañas al golfo como Tolú y Coveñas y del río Sinú. Las estaciones que registraron mayores concentraciones para septiembre fueron Punta Bolívar Fondo (610), Desembocadura Arroyo Alegría Fondo (520), TOLU Medio (550), Frente Sociedad Portuaria M (520) y Frente Sociedad Portuaria (510) UFC/100mL. En lo que respecta a esta última estación (Frente Sociedad Portuaria) estos resultados indican que los buques que arriban a la sociedad portuaria podrían ser potenciales vectores de contaminación de origen fecal.

En el mes de noviembre las estaciones que presentaron mayor contaminación respecto a los lineamientos de la OMS son: BC S (730), PSB M (540), DAC M (790), TOLU S (800), TOLU M (800), TOLU (800), FSP S (800) UFC UFC/100mL. En la Figura 4 se observa un importante aporte que ocurre en la desembocadura de los arroyos Cascajo y Alegría. Este comportamiento influye en la calidad sanitaria del agua de esta zona. Sin embargo el incremento en los caudales de los arroyos o del río Sinú influye puntualmente en la calidad de agua de las estaciones cercanas a estos. Se sabe que los mayores caudales (entre 300 y 600  $\text{m}^3 \text{ s}^{-1}$ ) se presentan entre mayo y noviembre, mientras que diciembre y abril son meses de transición, y de enero a marzo ocurre un período de aguas bajas (entre 100 y 200  $\text{m}^3 \text{ s}^{-1}$ ) [15].

En esta época del año los cambios de concentración se vieron favorecidos por una mayor disponibilidad de nutrientes en el medio aportada principalmente por la pluma del río Sinú generada por las precipitaciones que incrementan el caudal del río, las cuales en promedio son mayores en la parte alta que en la media (en 30 mm  $\text{mes}^{-1}$ ) y que en la baja (en 100 mm  $\text{mes}^{-1}$ ) [15].

En los mapas expuestos en la figura 4, se observa una pluma de influencia de aporte continental de aguas domésticas no tratadas sectorizadas en la ciudad de Tolú, lo cual se refleja en la calidad del agua del golfo. Además, se observa la contribución de los diferentes tributarios en el golfo acorde con la época del año, concentrándose un mayor aporte hacia el mes de septiembre producto de cambios en los caudales, cabe señalar que al no existir un punto de muestreo cercano a la ciudad de Coveñas no se puede determinar su posible influencia dentro del golfo. La contaminación fecal en la zona del golfo, se mantiene constante como producto del aporte de sedimentos que provienen del río Sinú, los cuales influyen en toda la columna de agua. La respues-

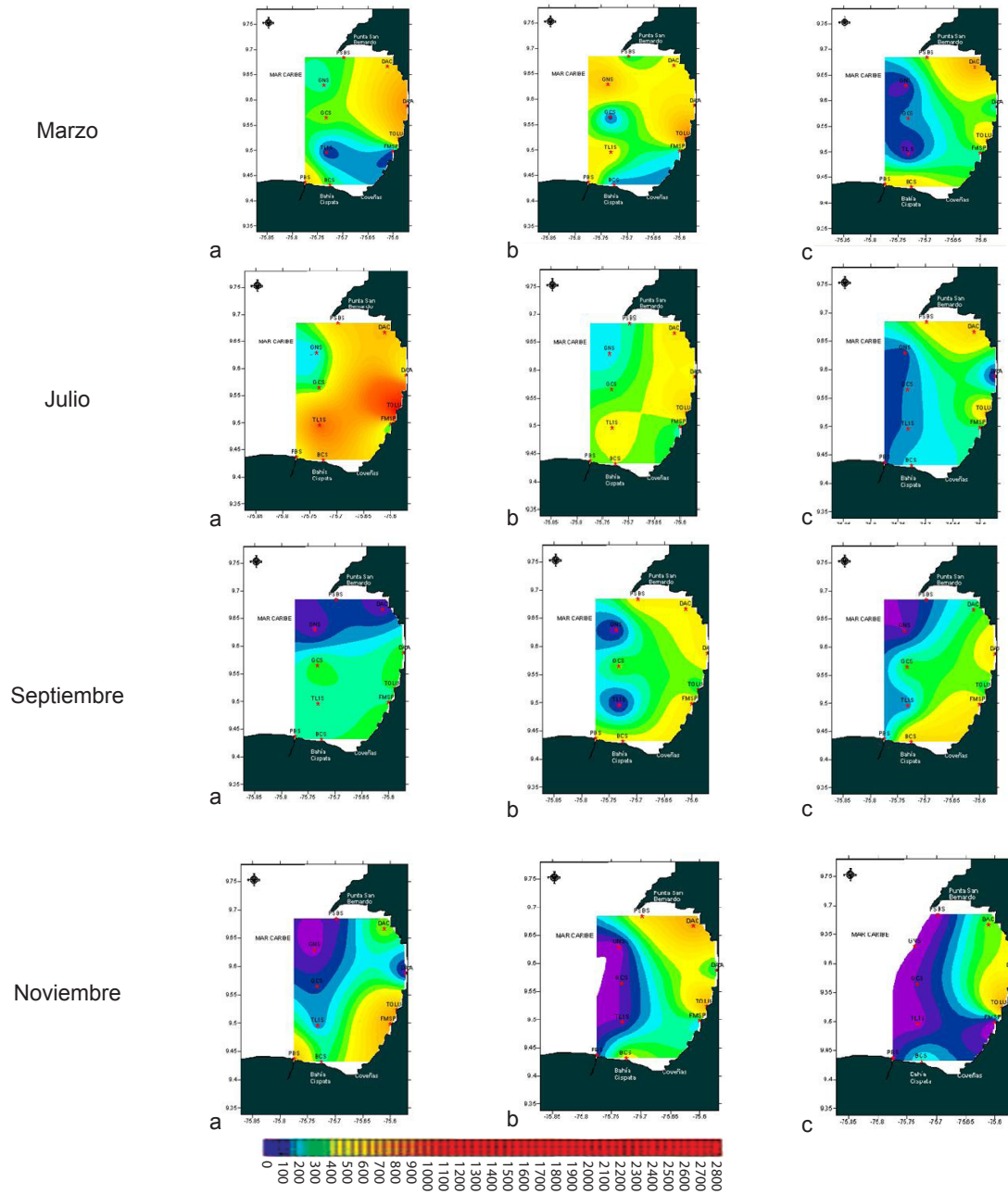


**Figure 4.** Behavior of total Coliform in the Gulf de Morrosquillo in the months of March, July, September and November (a. Surface, b. Medium depth and c. Bottom).

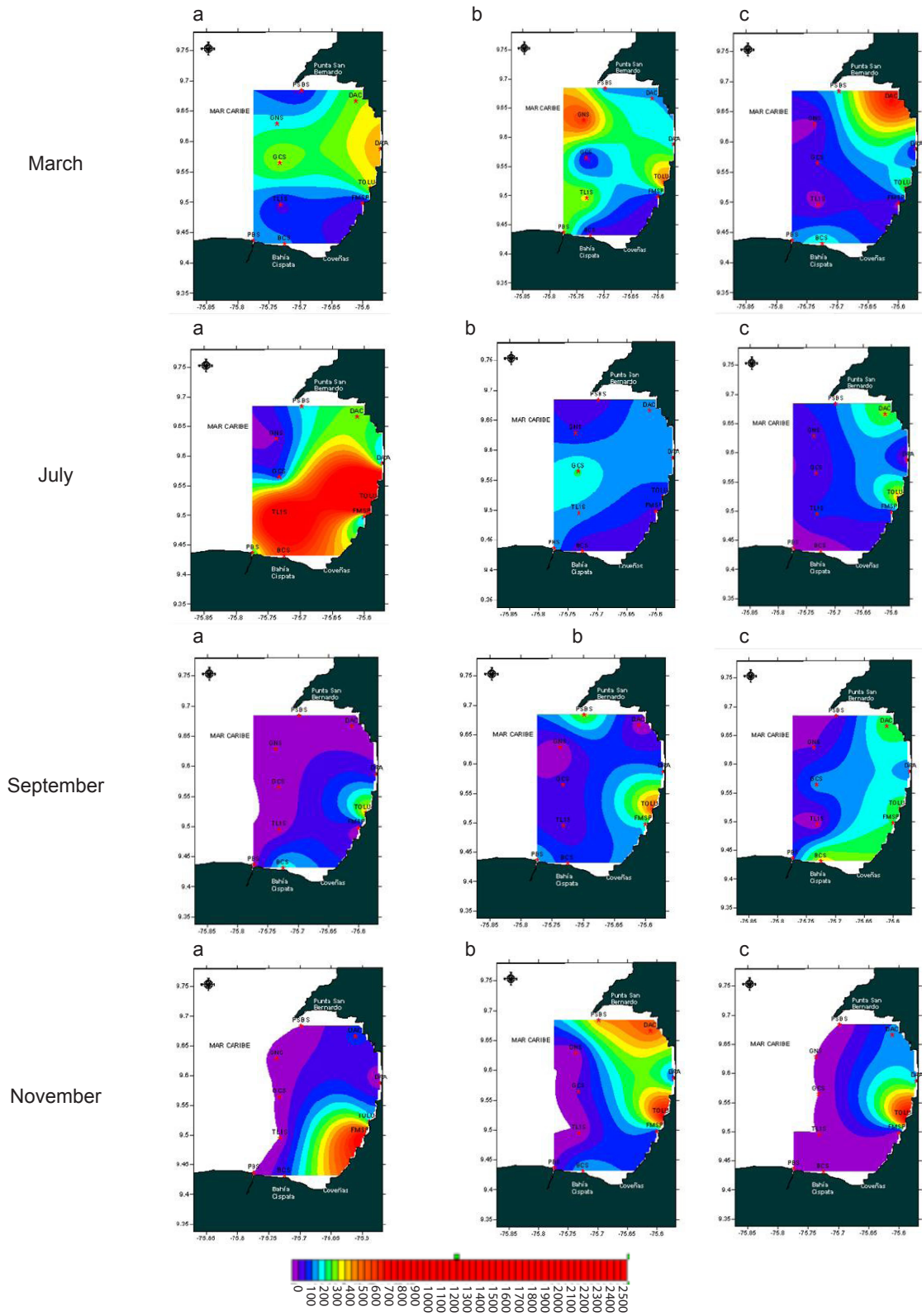
ta a los aportes fluviales dependerá de la climatología y la oceanografía de la región, con valores bajos en época seca, cuando los vientos Alisios son más fuertes, y altos en época húmeda, con vientos Alisios débiles y mayor desarrollo de la Contracorriente del Caribe en el nivel superficial [26].

Los miembros de este género, son habitantes de las vías intestinales de los humanos y los animales de sangre caliente. Es aerobio facultativo, gramnegativo y fermenta la lactosa a 44°C. No tienen requerimientos nutricionales específicos y pueden crecer a partir de una gran variedad de fuentes de carbono y energía. Posee capacidad de adaptación a ambientes marinos y de sobrevivir a nivel de sedimentos dado el alto contenido de materia orgánica presente en estos [27].

**Comportamiento de *Escherichia coli***

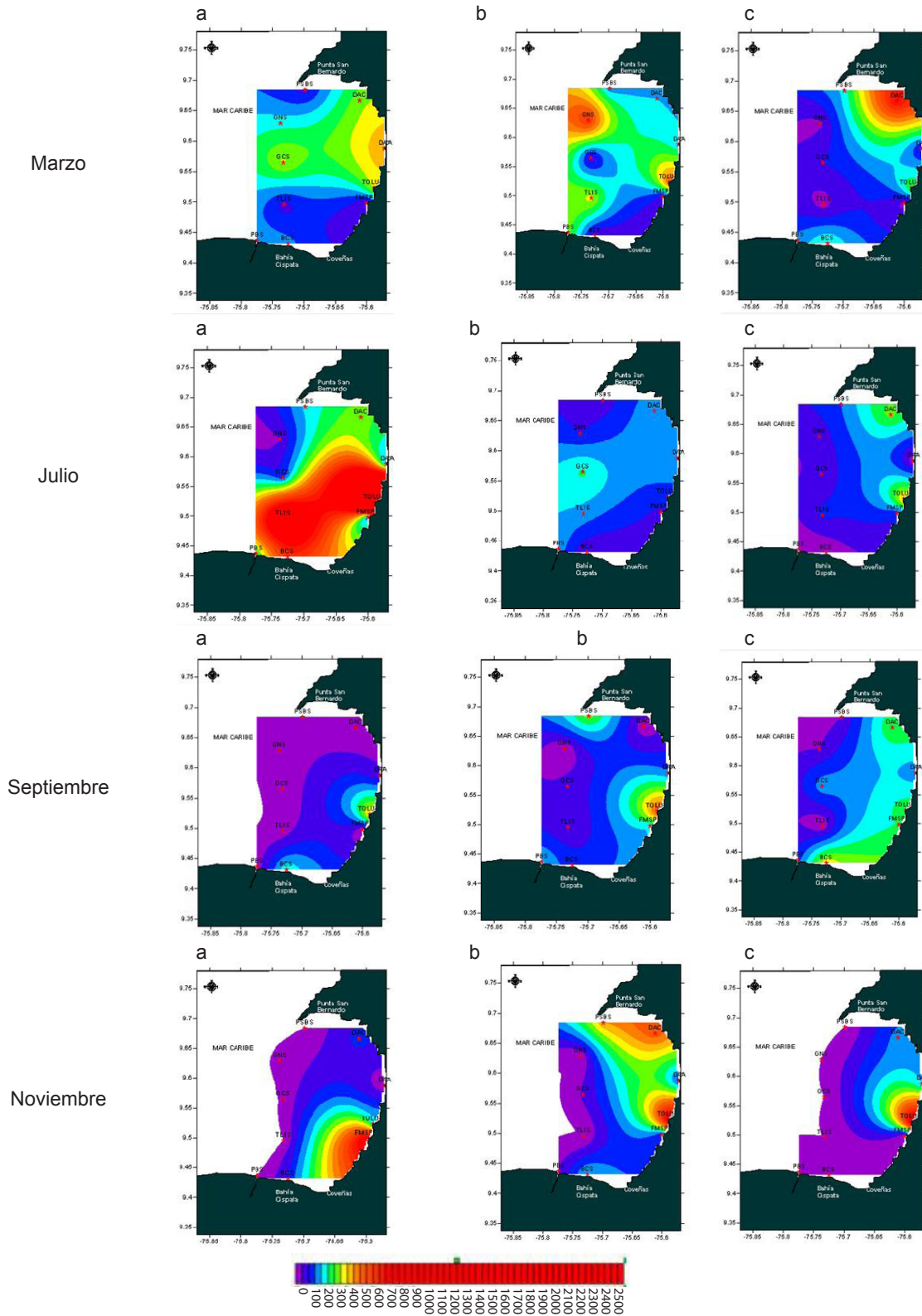


**Figura 4.** Comportamiento Coliformes totales en el Golfo de Morrosquillo meses de marzo, julio, septiembre y noviembre (a. Superficie, b. Medio y c. Fondo).



**Figure 5.** Behavior of *Escherichia coli* in the Gulf of Morrosquillo in March, July, September and November. (a. Surface, b. Medium depth, and c. Bottom).





**Figura 5.** Comportamiento *Escherichia coli* en el Golfo de Morrosquillo meses de marzo, julio, septiembre y noviembre (a. Superficie, b. Medio y c. Fondo).

*Escherichia coli* behavior and its highest concentrations were recorded in March in the stations at TOLU M 970, DAA S 920, DAC B 800, GN M 730, TOLU S 690, BC S 630, DAC S 580, TOLU B 580, PBS B 570, DAA M 520, BC M 510, TL1 M 500, BC F 480 and DAC M 440 (CFU/100mL). Its behavior was similar to that found in total Coliform, given that this genus is one of the members of the latter group and the environmental condition to which *e coli* is exposed are the same and these determine its distribution in the Gulf (UV Light, salinity, pH and others) [28].

If we look at the contamination maps created for this parameter (figure 5) we see that sources of costal contamination (Tolú Station) affect distant stations like the one at *Golfo Centro* as the plume shows at medium depth (figure 5 March b) and this represents a potential danger if these waters are taken on as ballast by the vessels that are anchored in the central part of the Gulf. Their presence in stations so distant from the coastal zone leads us to think that the dilution effect that sewage has in sea water can overcome long distances and manages to transport all kinds of pollutants related to an organic matter content [29].

In July the highest concentrations were found in the stations at TOLU S (2500) TL1 S (1040), PBS (620), TOLU B (420), DAC S (340), DAC B (320), BC S (270) and GC M (260) CFU/100mL. The distribution of this genus all through the water column is focalized in the mid section, where sea water exchange is likely to have caused by the existence of constant strong winds from a northerly and north easterly direction affect the circulation of the water and consequently the distribution of the contaminants (figure 5) [27].

In September, the stations which recorded the highest concentrations were PSB M 330 TOLU M 300 PB B390 CFU/100ml. The distribution of this genus in the Gulf in this month is related to the internal circulation in the Gulf caused by the flow of the Panama counter current [14 and 17], the increase in the rains and the inflow of domestic sewage which comes down the rivers and streams which flow into the Gulf as has been shown in the area around the Sinú River, arroyo cascajo and arroyo alegría towards the northern part of the Gulf (figure 5).

In November (figure 5) the stations which registered the greatest contamination of *E. coli* were: PB S (100), PB M (210) PSB M (450), DAC S (120) DAC M (540) DAC B (170) DAA M (130), DAA B (200), TOLU S (240), TOLU M (810), TOLU B (820), FSP S (800), FSP M (110) CFU/100ml. Keeping the meteorological conditions of the time of

year in mind, when the wind speed decreases and precipitation increases, we see that the main inflow of waters with fecal contamination is connected to continental inflows.

### ***Enterococcus sp. Behavior***

The *Enterococcus sp.* group is the indicator par excellence of fecal contamination in water samples [8] since they adapt easily to environmental conditions; cause gastrointestinal illnesses, are capable of tolerating high concentrations of salts and acids, are associated sanitary problems in marine waters, are not as ubiquitous as the total coliform group, are always present in the feces of warm - blooded animals, multiply in the residual sewage sludge and manage to live longer than other organisms [30].

In March the stations with the highest concentrations were those at: GN S 150, GN M 140, TOLU S 140, PB S 130, BC M 120 and TOLU M 100 CFU/ 100mL. These stations recorded higher levels than the limits allowed by the WHO. In this month when there is little rain we can see that the Sinú River plume affects the water quality at the surface level where most of the population is distributed and similarly their presence is recorded in the coastal zone and the zone TL1 (figure 6).

In July the stations that had the highest concentrations of *Enterococcus* were: PBS 480, DAA M 270, DAC S and 100 GC S 70 CFU/100mL (figure 6). Nevertheless, these concentrations are not as high as those reported in March although their distribution pattern is maintained all through the length of the water column; in other words, its concentration at the surface level is greater as it gets closer to the Sinú River's area of influence, at medium depth its distribution is higher as it gets closer to the coastal area, whereas for the bottom level, it is highest at the *Golfo Centro* station. It should be pointed out that the *Enterococcus* genus is characterized by its ability to tolerate marine environment conditions which allow it to remain viable in one area for a longer period of time.

In September (figure 6) the stations which registered the greatest concentrations were: TOLU S and TOLU B with 40 CFU/100ml. Concentration in the Gulf is connected to the internal circulation in the gulf of periodic discharges of domestic sewage as is shown in the area around the Tolú station. It is important to draw attention to the absence of a station in Coveñas which would enable the determination of its influence on the study area.

El comportamiento y las concentraciones de *Escherichia coli* más altas se registraron en el mes de marzo en las estaciones de TOLU M 970, DAA S 920, DAC F 800, GN M 730, TOLU S 690, BC S 630, DAC S 580, TOLU F 580, PBS F 570, DAA M 520, BC M 510, TL1 M 500, BC F 480 y DAC M 440 (UFC/100mL). Su comportamiento fue similar al encontrado para Coliformes totales, dado que este género es uno de sus integrantes y las condiciones ambientales a las que se encuentra expuesto son las mismas que definen su distribución en el golfo (Luz UV, salinidad, pH, entre otras) [28].

Teniendo en cuenta los mapas de contaminación generados para este parámetro (figura 5), se observó que fuentes de contaminación costera (Estación Tolú), afectan estaciones alejadas como la del *golfo centro*, como lo indica la pluma a nivel de capa media (figura 5 marzo b), lo cual representa un potencial riesgo, si sus aguas son tomadas como lastre por parte de buques que se encuentran fondeados en la parte central del golfo. Su presencia en estaciones tan alejadas de la zona costera conduce a pensar que el efecto de dilución que tienen las aguas residuales en el agua de mar, supera grandes distancias y alcanza a transportar todo tipo de contaminante relacionado con un contenido de materia orgánica [29].

Durante el mes de julio las concentraciones más altas se concentraron en las estaciones de TOLU S (2500) TL1 S (1040), PBS (620), TOLU F (420), DAC S (340), DAC F (320), BC S (270) y GC M (260) UFC/100mL. La distribución de este género a lo largo de la columna de agua se puntualiza en la sección media, donde posiblemente el recambio del agua sea generado por la presencia de vientos uniformes y fuertes de dirección Norte y Noreste que afectan la circulación de sus aguas y por ende la distribución de contaminantes (figura 5) [27].

Para el mes de septiembre las estaciones que registraron mayor concentración fueron PSB M 330 TOLU M 300 PB F390 UFC/100ml. su distribución en el golfo para este mes se encuentran asociadas a la circulación interna del golfo producto del paso de la contracorriente de Panamá [14 y 27], el incremento de las lluvias y el aporte aguas residuales domésticas que acompañan los ríos y arroyos que desembocan en el golfo tal como se muestra hacia la zona del río Sinú, arroyo cascajo y arroyo alegría hacia el norte del golfo (figura 5).

Para el mes de noviembre (figura 5) las estaciones que registran mayor contaminación entorno a *E. coli* son: PBS (100), PB M (210) PSB M (450), DAC S (120) DAC M (540) DAC F (170) DAA M (130), DAA F(200), TOLU S (240), TOLU M (810), TOLU F (820), FSP S (800), FSP M (110) UFC/100ml.

Teniendo en cuenta las condiciones meteorológicas de la época, en la cual la velocidad de los vientos disminuye y las precipitaciones se incrementa, se observó que el aporte principal de aguas con contaminación fecal está asociada con los aportes continentales.

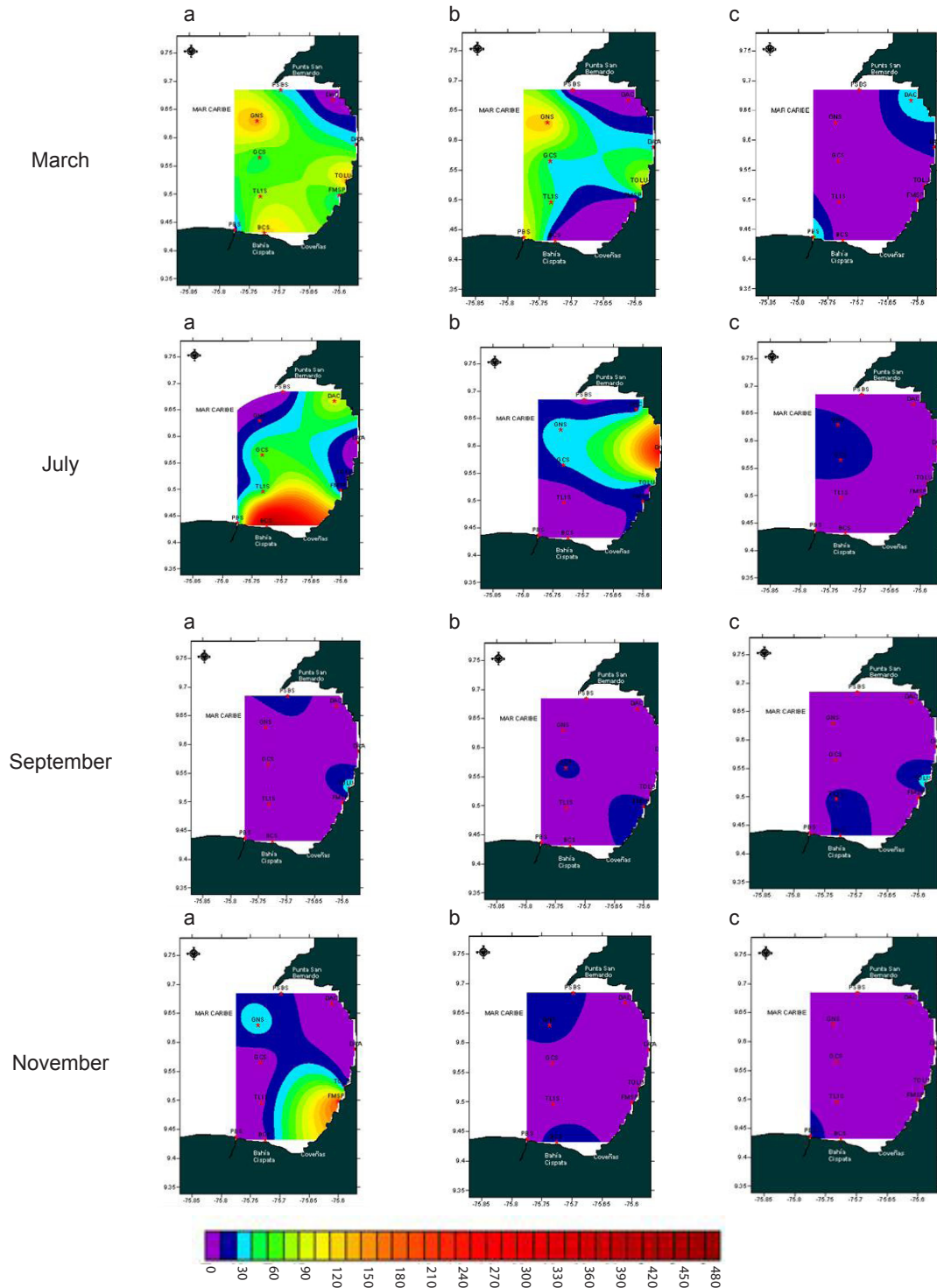
#### **Comportamiento de *Enterococcus sp.***

El grupo *Enterococcus* es indicador por excelencia de la contaminación fecal en muestras de agua [8] Ya que se adaptan fácilmente a las condiciones ambientales. Generan enfermedades gastrointestinales, son capaces de tolerar altas concentraciones de sales y ácidos, está asociado con problemas sanitarios en aguas marinas, no son tan ubicuos como el grupo coliformes totales, siempre están presentes en heces de animales de sangre caliente, se multiplican en el lodo residual de aguas domésticas, logran vivir por un tiempo mayor que otros organismos [30].

En el mes de marzo las estaciones con concentraciones más altas fueron de GN S 150, GN M 140, TOLU S 140, PBS 130, BC M 120 y TOLU M 100 UFC/ 100mL. Ya que estas estaciones sobrepasan los límites permisibles de la OMS. En este mes en el cual las precipitaciones son escasas se observa que la pluma del río Sinú influye en la calidad del agua a nivel superficial donde se encuentra la mayoría de la población distribuida, de igual manera se registra su presencia en la zona costera y en la zona las TL1 (figura 6).

En el mes de julio las estaciones con concentraciones más altas para *Enterococcus* fueron PBS 480, DAA M 270, DAC S y 100 GC S 70 UFC/100mL (figura 6). Sin embargo estas concentraciones no son tan altas como las reportadas para el mes de marzo, aunque el patrón en su distribución se mantiene a lo largo de la columna, es decir, su concentración a nivel de superficie es mayor hacia el área de influencia del río Sinú, a nivel medio de la columna su distribución se ve favorecida hacia el área costera, mientras que a nivel de fondo, en la estación golfo centro. Cabe resaltar que el género *Enterococcus* se caracteriza por tolerar condiciones ambientales marinas que le permiten mantenerse viable por un periodo de tiempo mayor en una misma área.

Para el mes de septiembre (figura 6), las estaciones que registraron mayor concentración fueron TOLU S y TOLU F con 40UFC/100ml. su distribución en el golfo y se encuentran asociadas a la circulación interna del golfo de aguas residuales domésticas puntuales tal como se muestra hacia la estación de Tolú. Es importante señalar la falta de una estación en la ciudad de Coveñas que permita definir su influencia en el área de estudio.

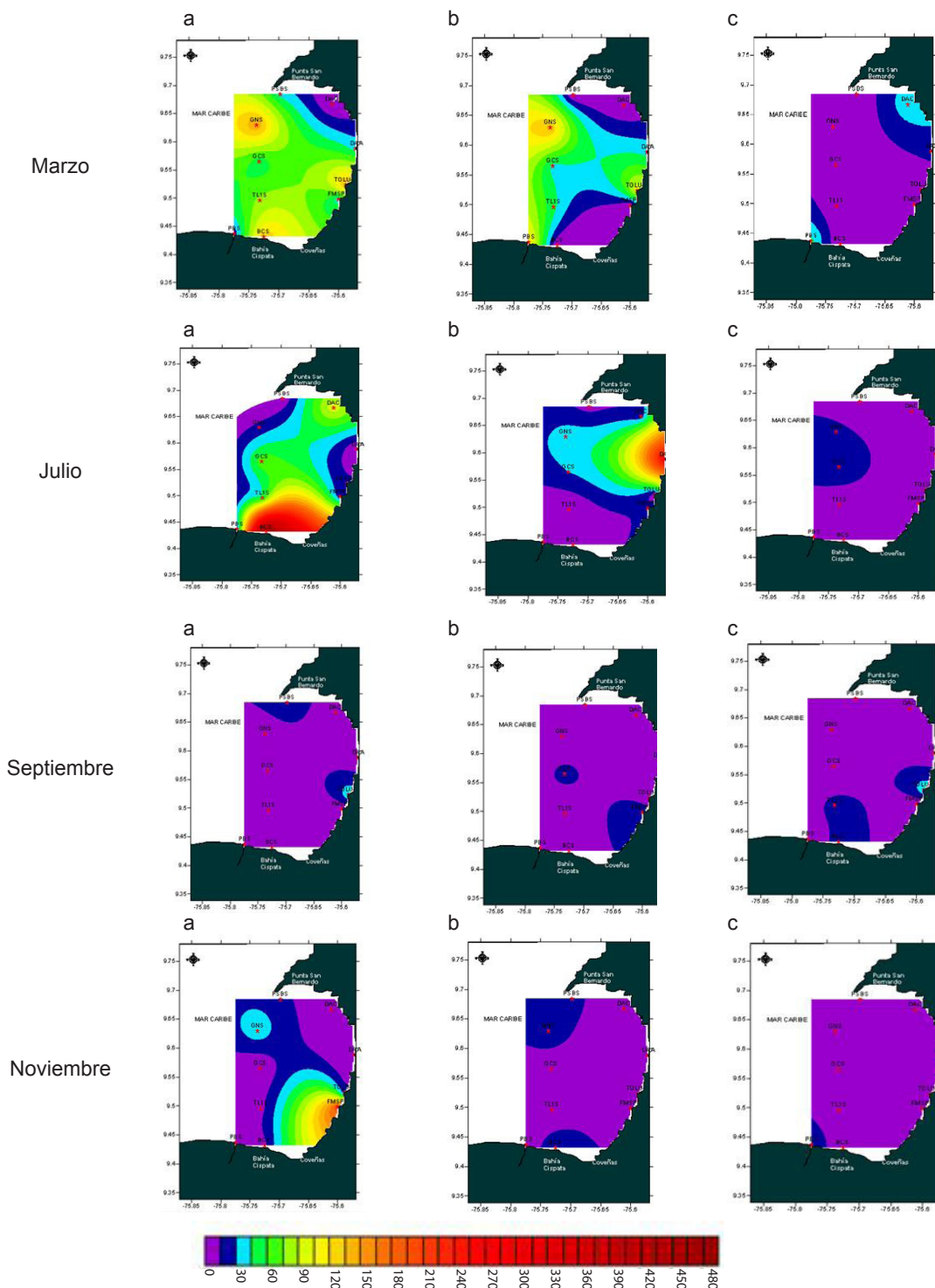


**Figure 6.** *Enterococcus* behavior in the Gulf of Morrosquillo in March, July, September and November (a. Surface, b. Medium depth y c. Bottom).

***Vibrio cholerae* behavior**

As for the *Vibrio cholerae* parameter in the study area, no presence thereof was found and therefore there is no danger of the population suffering from cholera.

It is recommended that the surrounding population take preventive measures when consuming filtering mollusks in order to avoid possible food intoxications by other species of the genus *Vibrio sp.*



**Figura 6.** Comportamiento *Enterococcus* en el Golfo de Morrosquillo meses de marzo, julio, septiembre y noviembre (a. Superficie, b. Medio y c. Fondo).

**Comportamiento para *Vibrio cholerae***

En cuanto al parámetro *Vibrio cholerae* en el área de estudio, no se encontró su presencia por tanto no existe riesgo de sufrir enfermedad de cólera en la población.

Se recomienda, que la población circundante tome medidas preventivas en el consumo de moluscos filtradores, para evitar posibles intoxicaciones alimentarias por otras especies del género *Vibrio* sp.

**Association of the microbiological component to the physicochemical component**

Well aware of the importance of studying the ecosystem as something that cannot be separated from the biological part of physical chemistry, a relationship was established between the data registered about the concentration of the microbial groups versus the physicochemical parameters evaluated all throughout the Gulf and four main groups of locations with different specific sources of fecal contamination defined according to their physicochemical characteristics were grouped together in: South Coast (sector from Punto Bolívar to the Bay of Cispatá); Centro Golfo (TL 1, Golfo centro and Golfo Norte); North coast (Punto San Bernardo, Arroyos Alegría and casajo); Central coast (sector from Sociedad Portuaria to the city of Tolú). The possible sources of contamination come from the transportation of Sinú River sediments, discharged ballast, the inflow from specific streams and domestic sewage (figure 7).

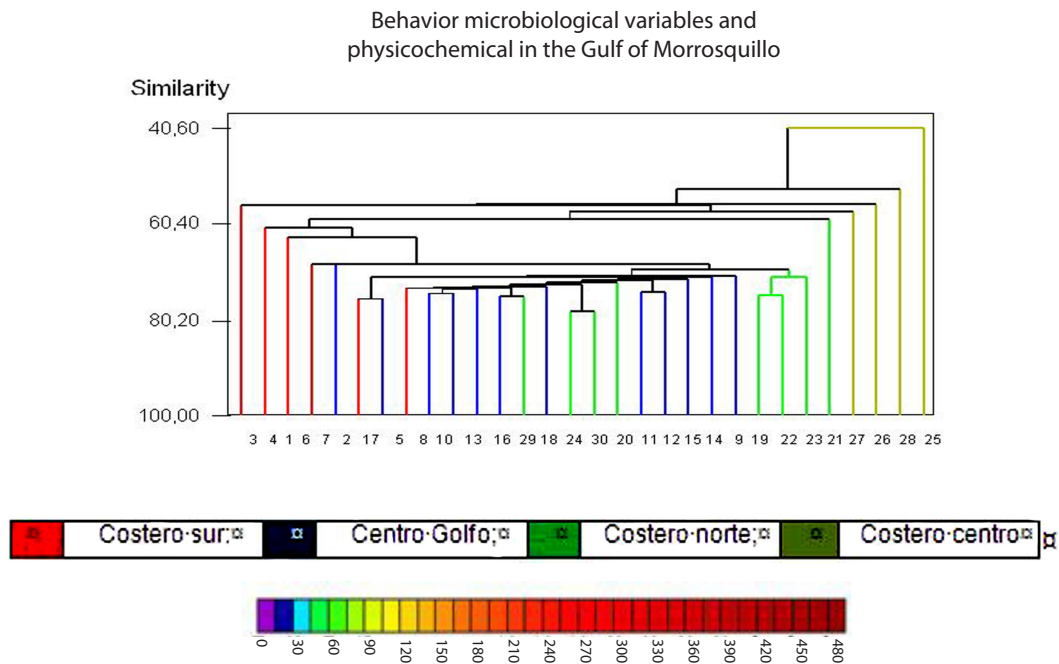
The physicochemical conditions in the months of March, July, September and November in the 10 sta-

tions and at three depths in each of these are listed in table 2, which shows the average of the maximum and minimum data found in the Gulf during the study. It shows thus that, in general, the Gulf has characteristics that are predominantly marine and less estuarine although this behavior is less so in the rainy season [5]. Similarly, values over the allowable limits for ammonia and nitrate were recorded which could be because of the nature of the inflows into the Gulf.

**Table 2.** Maximum and minimum date found in the Gulf of Morrosquillo [5].

	Mínimum	Maximun
Salinity	15.6	35.4
pH	8.08	8.58.
Ortophosphates	0.001 mg/L	0.43 mg/L
Nitrates	0.006 mg/L	1.22 mg/L
Ammonia	0.0005 mg/L	0.2148 mg/L
Dissolved Oxygen	4.7 mg/L	10.5 mg/L
TTS*	0.5	78.5

TTS Total Suspended Solids



**Figure 7.** Grouping of physicochemical and microbiological variables in the Gulf of Morrosquillo 3 PBB; 4 BCS; 1PBS; 6 BCB; 7 TL1S; 2 PBM; 17 PSBM; 5 BCM; 8 TL1M; 10 GCS; 13 GNS; 16 PSBS; 29 FMSPM; 18 PSBB; 24 BAB; 30 FMSPF; 20 ACM; 11 GCM; 12 GCB; 15 GNB; 14 GNM; 9 TL1B; 19 ACS-DAC; 22 BAS-DAA; 23 BAM; 21 ACB; 27 TOLU-B; 26 TOLU-M; 28 FMSPS; 25 TOLU-S.

### Asociación del componente microbiológico con el fisicoquímico

Teniendo en cuenta la importancia de estudiar el ecosistema como un componente que no puede desligar la parte biológica de la fisicoquímica, se estableció la asociación de los datos registrados en cuanto a concentración de los grupos microbianos versus los parámetros fisicoquímicos evaluados a lo largo del Golfo, se agrupan en cuatro grupos principales de lugares con distintas fuentes específicas de contaminación fecal definidas conforme sus características fisicoquímicas en: Costero sur (sector desde Punta Bolívar a Bahía de Cispatá); Centro Golfo (TL1, Golfo centro y Golfo norte); Costero norte (Punta San Bernardo, Arroyos Alegría y cascajo); Costero centro (Sector desde sociedad Portuaria y la ciudad de Tolu). Las posibles fuentes contaminación provienen del transporte de sedimentos Río Sinú, Descargas de lastre, Desembocadura de arroyos puntuales y aguas residuales domésticas (figura 7).

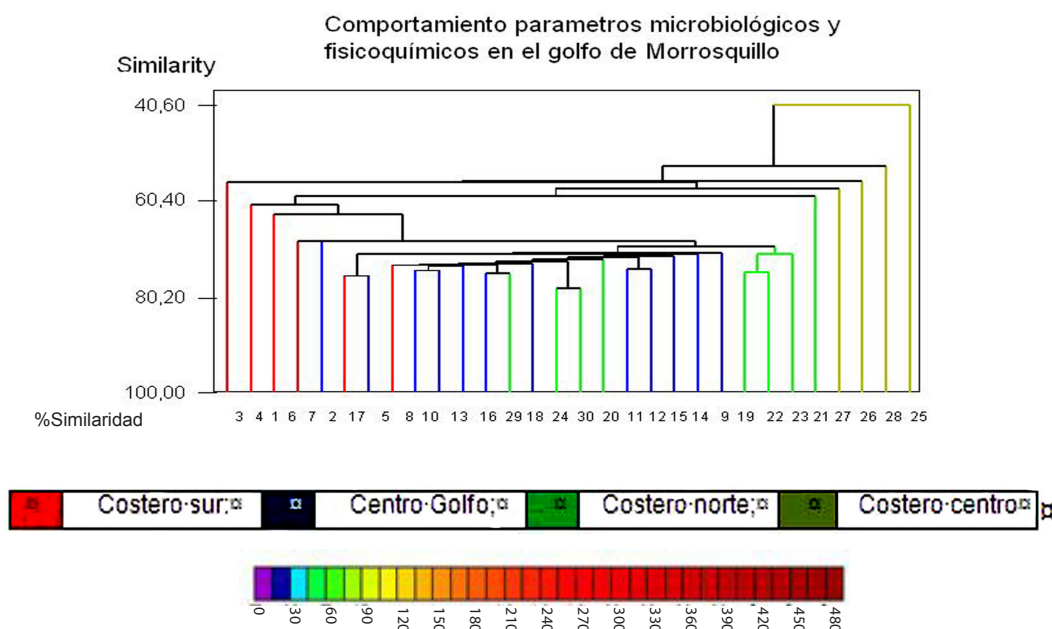
Las condiciones fisicoquímicas correspondientes a los meses de marzo, julio, septiembre y noviembre para las 10 estaciones a tres profundidades en cada una, se

describen en la tabla 2 en la cual se presenta el promedio de los datos máximos y mínimos encontrados en el Golfo durante el estudio realizado. Mostrando así en general que el Golfo tiene características predominantemente marinas y menos estuarinas, aunque este comportamiento se reduce con la época de lluvias [5]. Asimismo registran valores sobre los límites permisibles para amonio y nitrato, lo cual puede asociarse con la naturaleza de los aportes recibidos en el Golfo.

**Tabla 2.** Datos máximos y mínimos encontrados en el Golfo de Morrosquillo [5].

	Mínimo	Máximo
Salinidad	15.6	35.4
pH	8.08	8.58.
Ortofosfatos	0.001 mg/L	0.43 mg/L
Nitratos	0.006 mg/L	1.22 mg/L
Amonio	0.0005 mg/L	0.2148 mg/L
Oxígeno Disuelto	4.7 mg/L	10.5 mg/L
SST*	0.5	78.5

\*SST: Sólidos Suspendidos Totales



**Figura 7.** Agrupación de variables fisicoquímicas y microbiológicas en el Golfo de Morrosquillo. 3 PBF; 4 BCS; 1PBS; 6 BCF; 7 TL1S; 2 PBM; 17 PSBM; 5 BCM; 8 TL1M; 10 GCS; 13 GNS; 16 PSBS; 29 FMSPM; 18 PSBF; 24 BAF; 30 FMSPF; 20 ACM; 11 GCM; 12 GCF; 15 GNf; 14 GNM; 9 TL1F; 19 ACS-DAC; 22 BAS-DAA; 23 BAM; 21 ACF; 27 TOLU-F; 26 TOLU-M; 28 FMSPS; 25 TOLU-S.

The studies conducted by the Center for Oceanographic Research and Management (CIOH – from its original Spanish language initials - *Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas*) regarding the assessment of the sanitary quality of three of the most important Caribbean ports allows us to classify them according to their degree of contamination, from more to less contaminated, thus: Cartagena Bay [3] Portete Bay [4] and Gulf of Morrosquillo [5]. This classification is related to the concentrations of the bioindicators of fecal contamination, total Coliform, *Escherichia coli* and *Enterococcus* found, which reflect the influence of various inflows into the bodies of water either domestic sewage, continental waters of ballast water.

## CONCLUSIONS

In the Gulf of Morrosquillo, there were higher levels of fecal contamination recorded in the months of September and November. This is because of the increase in precipitation which increases the volume flow in the Sinú River and in the set of streams which flow into the Gulf. This is something that should be considered because of the potential risk to the surrounding population of contracting gastrointestinal illnesses. In fact, the concentrations of total Coliform, *Escherichia coli* and *Enterococcus* fluctuate between 400 and 2800 CFU/100mL, values which were reported from the stations at Punta de San Bernardo, Boca alegría, Punta Bolívar, TL1, Golfo Centro and Tolú. The tendency was continuous throughout the year and is higher than the norms established by the World Health Organization.

It is important to draw attention to the fact that the station "*Frente Sociedad Portuaria*" is a potential point of fecal contamination when its waters are taken as ballast by the vessels that come into the port, since it is close to coastal sources of fecal contamination.

It was determined that 20% of 15 tanks from ships engaged in international shipping monitored in the Gulf of Morrosquillo exceeded 100CFU/100mL of *Enterococcus* with a minimum concentration of 120 CFU/100mL and a maximum of 1540 CFU/100mL. Similarly, 20% of the stations exceeded the limit allowed for *E coli* with concentrations over the limit from 600 to 800 CFU/100mL (250 CFU/100mL). As for *Vibrio cholerae*, all of the tanks analysed met the guidelines set by the WHO given that none was found in the water analyzed.

In the monitoring campaigns undertaken between

March and November, concentrations of total Coliform were obtained which oscillated between 300 and 2800 (CFU/100mL) and the stations with the highest levels were TOLU at the surface, medium and bottom depths in the months of July and November. The values obtained for *Escherichia coli* fluctuated between 110 and 970 (CFU/100mL), the stations with the highest concentrations being TOLU and Frente a Sociedad Portuaria where similar concentrations were found for the three seasons evaluated. The concentration of *Enterococcus* fluctuated between 70 and 480 (CFU/100mL) where the highest concentrations were found in Frente Sociedad Portuaria, TOLU, Punta Bolívar (480CFU/100mL) and Desembocadura Arroyo Alegría (270 CFU/100mL) the highest levels being recorded in July.

It can be seen from the contamination maps that the sources which have a highest impact on the sanitary quality of the Gulf are most related to the type of waters pouring into the Gulf from discharges of domestic sewage (from Sociedad Portuaria and Tolú) and also, depending on the time of year, that pouring in from the volume flow of the streams (Alegría and Cascajo).

As for the *Vibrio cholerae* parameter in the study area, no presence thereof was found and therefore there is no danger of the population suffering from cholera. It is recommended that the surrounding population take preventive measures when consuming filtering mollusks in order to avoid possible food intoxications by other species of the genus *Vibrio* sp.

Differences in the concentration of the microbial groups studied were observed throughout the Gulf, these concentrations were related to the location of the stations and the influence of the various sources of contamination. Regarding this, four main groups of locations with various specific sources of fecal contamination were identified: Costero sur (the sector from Punta Bolívar to the Bay of Cispatá; Centro Golfo (TL1, Golfo Centro and Golfo Norte); North coast (Punto San Bernardo, Arroyos Alegría and cascajo); Central coast (the sector from sociedad Portuaria and the city of Tolú).

## BIBLIOGRAPHICS REFERENCES

- [1] Organización Internacional Marítima (2004). Conferencia Internacional sobre la gestión del agua de lastre para buques. En: Convenio internacional para el control y la gestión del agua de lastre y los sedimentos de los buques. BWM/CONF/36 16 febrero 2004.



Los estudios que ha realizado el CIOH en los que se ha evaluado la calidad sanitaria de tres de los principales puertos del mar Caribe, permite ubicar de acuerdo con su grado de contaminación de mayor a menor a la Bahía de Cartagena [3], Bahía Portete [4] y Golfo de Morrosquillo [5]. Esta clasificación está asociada a las concentraciones encontradas para los bioindicadores de contaminación fecal, Coliformes totales, *Escherichia coli* y *Enterococcus*, las cuales reflejan la influencia de diferentes aportes estos cuerpos de agua bien sea aguas residuales domésticas, aguas continentales o agua de lastre.

## CONCLUSIONES

En el Golfo de Morrosquillo, en los meses de septiembre y noviembre se registraron mayores niveles de contaminación fecal, producto del incremento de precipitaciones que aumentan los caudales del río Sinú y el diferente conjunto de arroyos que desembocan en el golfo. Aspecto a considerar debido al riesgo potencial para la población circundante de contraer enfermedades gastrointestinales. De hecho, las concentraciones para Coliformes totales, *Escherichia coli* y *Enterococcus*, fluctúan entre los 400 y 2800 UFC/100mL, valores que se reportan en las estaciones de Punta de San Bernardo, Boca alegría, Punta Bolívar, TL1, Golfo Centro y Tolú. La tendencia durante el año fue continua y superan las establecidas por la Organización Mundial de la Salud.

Es importante resaltar que la estación "Frente Sociedad Portuaria" es potencial punto de contaminación de origen fecal al ser tomada como lastre por las embarcaciones que arriban al puerto, dado que se encuentra cercana a fuentes costeras de contaminación fecal.

Se determinó que de 15 tanques de buques de tráfico internacional monitoreados en el Golfo de Morrosquillo, el 20% sobrepasan las 100UFC/100mL para *Enterococcus* con una concentración mínima de 120 UFC/100mL y máxima de 1540 UFC/100mL. Asimismo el 20% de las estaciones sobrepasan el límite permitido para *E. coli* con concentraciones sobre lo permitido desde 600 a 800 UFC/100mL (250 UFC/100mL). En cuanto a *Vibrio cholerae*, todos los tanques analizados cumplieron con lo establecido por la OMI, dado que no se registró su presencia en el agua analizada.

Durante las campañas de monitoreo realizadas entre marzo y noviembre, se obtuvieron concentraciones para Coliformes totales que oscilaron entre 300 y 2800

(UFC/100mL), siendo la estación con mas altos niveles la de TOLU en superficie medio y fondo en los meses de Julio y Noviembre. En cuanto a *Escherichia coli*, los valores hallados fluctuaron entre 110 y 970 (UFC/100mL) siendo las estaciones con mayor concentraciones TOLU y Frente a Sociedad Portuaria, en las cuales se registraron concentraciones similares para las tres épocas evaluadas. Para *Enterococcus*, las concentraciones fluctuaron entre 70 y 480 (UFC/100mL) donde las concentraciones mayores se hallaron para Frente Sociedad Portuaria, TOLU, Punta Bolívar (480 UFC/100mL) y Desembocadura Arroyo Alegría (270 UFC/100mL), registrando los niveles más altos para el mes de julio.

Se identificó a través de mapas de contaminación que las fuentes que más afectan la calidad sanitaria del Golfo se encuentran más asociadas con el tipo de agua vertida al Golfo mediante descargas de agua residual doméstica (desde Sociedad Portuaria y Tolú), así como a la vertida acorde con la época climática en los caudales de los arroyos (Alegría y Cascajo).

En cuanto al parámetro *Vibrio cholerae* en el área de estudio, no se reportó su presencia por tanto no existe riesgo de sufrir enfermedad de cólera en la población. Se recomienda, que la población circundante tome medidas preventivas en el consumo de moluscos filtradores, para evitar posibles intoxicaciones alimentarias por otras especies del genero *Vibrio*.

Se observaron diferencias en la concentración de los grupos microbianos evaluados a lo largo del Golfo, las cuales están relacionadas con la ubicación de las estaciones e influencia de diferentes fuentes de contaminación. En este sentido, se identificaron cuatro grupos principales de lugares con distintas fuentes específicas de contaminación fecal Costero sur (sector desde Punta Bolívar a Bahía de Cispatá); Centro Golfo (TL1, Golfo centro y Golfo norte); Costero norte (Punta San Bernardo, Arroyos Alegría y cascajo); Costero centro (Sector desde sociedad Portuaria y la ciudad de Tolú).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Organización Internacional Marítima (2004). Conferencia Internacional sobre la gestión del agua de lastre para buques. En: Convenio internacional para el control y la gestión del agua de lastre y los sedimentos de los buques. BWM/CONF/36 16 febrero 2004.
- [2] Joachimsthal, E.L. Ivanov V., Tay, J.-H. y Tay S.T. L (2004). Bacteriological examination of ballast water in Singapore

- [2] Joachimsthal, E.L. Ivanov V., Tay, J.-H. y Tay S.T. L (2004). Bacteriological examination of ballast water in Singapore Harbour by flow cytometry with FISH. En: *Marine Pollution Bulletin*. 49: 334–343.
- [3] CIOH, Cañón M., Tous G., Olivares M., Llamas J., López K., Palmera K, López O R., Orozco, F y Suarez V, (2006). Presencia de organismos exógenos y patógenos en aguas de lastre de buques de tráfico internacional. En: Informe Final. Fase IV/V. Pág. 98.
- [4] CIOH, Cañón M., Tous G., Quintana-Saavedra D.M y Llamas J., (2007) Presencia de organismos exógenos y patógenos en aguas de lastre de buques de tráfico internacional. En: Informe Final. Fase V/V. Pág. 98.
- [5] CIOH, Cañón, M., Tous, G., Quintana, D., López y Llamas, H, (2009). Informe final del proyecto "levantamiento de línea base portuaria y caracterización del agua de lastre de buques de tráfico internacional en el puerto de Coveñas, Costa colombiana. En: Informe Final Pág. 79.
- [6] Quintana-Saavedra, D., Cañón, M y Castro I. (2008). Evaluación de la calidad microbiológica del agua de lastre de buques de tráfico internacional en bahía Portete y Puerto Bolívar, Guajira. En: *Boletín Científico- CIOH*. No. 26. Pp143.
- [7] WHO, (1999). Management of childhood illness in developing countries: Rational for an integrated strategy. IMCI information WHO/CHS/CAH/98.1A, Rev 1.
- [8] Noble R.T., Mooreb D.F, Leecasterc M.K., McGeed, C.D y Weisberge S.B (2003). Comparison of total coliform, fecal coliform, and enterococcus bacterial indicator response for ocean recreational water quality testing. En: Informe Final. *Water Research* 37:1637–1643 .
- [9] Cañón Páez M, Quintana-Saavedra D. López, R, Tous, G y Llamas H. 2009. Caracterización fisicoquímica del Golfo de Morrosquillo y tanques de lastre de buques de tráfico internacional. En: Sometido *Boletín Científico- CIOH*.
- [10] American Public Health Association (2005). Standard Methods for Examination of water and wastewater. 21th edition.
- [11] Parsons, T.R., Maita C.M. y Lalli CM, (1989). *Manual of Chemical and Biological Methods for Seawater Analysis*. Primera Edición 1984, reimpreso 1985, 1989. Gran Bretaña. Pp 22 – 25.
- [12] Burkholder J. Hallegraef G, Melia G., Cohen, A., Bowers H., Oldach, D., Parrowh M., Sullivan., M , Zimba P., Allen E., Kinder, C y Mallin M (2007). Phytoplankton and bacterial assemblages in ballast water of U.S. military ships as a function of port of origin, voyage time, and ocean exchange practices. En: *Harmful Algae* 6: 486–518.
- [13] Aguirre-Macedo, M, Vidal-Martínez, V., Herrera-Silveira, J., Valdés-Lozano, D., Herrera-Rodríguez, M y Olvera-Novoa, M (2008). Ballast water as a vector of coral pathogens in the Gulf of Mexico: The case of the Cayo Arcas coral reef. En: *Marine Pollution Bulletin*. 56:1570-1577.
- [14] Drake, L.A., Ruiz, G.M, Galil, B.S., Mullady, T.L y Friedman, D.O., (2002). Microbial ecology of ballast water during transoceanic voyage and the effects of Open Ocean exchange. En: *Marine Ecology Progress Series*. 233, 13-20.
- [15] Ruiz Ochoa M, Bernal G y Polanía J, (2008). Influencia del río Sinú y el Mar Caribe en el Sistema Lagunar de Cispatá. En: *Boletín Invemar* 1:29-49.
- [16] McGee S., Piorkowski R. y Ruiz G (2006). Analysis of recent vessel arrivals and ballast water discharge in Alaska: Toward assessing ship-mediated invasion risk. *Marine Pollution Bulletin* 52:1634–1645.
- [17] Weil, E., (2004). Coral reef diseases in the wider Caribbean: En: Rosemberg, E., Loya, Y (Eds), *Coral Health and diseases*. Springer-Verlag, Berlin, pp 35-68.
- [18] Barreto M, Barrera. R, Benavides J; Cardozo, E, Hernández H, Marín, L.; Posada. B, Salvatierra, C, Sierra, P y Villa A (1999). Diagnóstico ambiental del Golfo de Morrosquillo (Punta Rada-Tolú). Una aplicación de sensores remotos y SIG como contribución al manejo integrado de zonas costeras. Curso AGS-6.
- [19] RedCAM (2008). INVEMAR. Informe del Estado de los Ambientes Marinos y Costeros en Colombia; 359p.
- [20] Garrido-Pérez. M.C, Anfuso, E, A, Acevedo y Perales-Vargas-Machuca , J.A. (2008). Microbial Indicators of fecal contamination in waters and sediments of beach bathing zones. En: *International Journal of Hygiene and environmental health*. 211: 510-517.
- [21] Davies C., Long J., Donald, M., y Ashbolt N. (1995). Survival of Fecal microorganisms in Marine and Freshwater Sediments. En: *Applied And Environmental Microbiology*, 61 (5): 1888–1896.
- [22] Suárez, B 2004. The Sinu river delta on the northwestern Caribbean coast of Colombia: Bay infilling associated with delta development, En: *Journal of South American Earth Sciences*, 16 (7):623-631.
- [23] Marino R. P y Gannon J (1991). Survival of fecal coliforms and fecal streptococci in storm drain sediment. *Water Research*. 25 (9): 1089-1098.
- [24] OMS, 2003. Validación de lineamientos para formular políticas sobre gestión del agua residual doméstica en América Latina.
- [25] IDEAM, 2009. En: <http://institucional.ideam.gov.co/jsp/index.jsf>.
- [26] Bernal, G., Poveda, G., Roldán, P y Andrade C (2006). Patrones de variabilidad de las temperaturas superficiales del mar en la costa Caribe colombiana. En: *Revista. Academia. Colombiana de la Ciencia.*, 30 (115): 195-208.
- [27] Gerba C.P. y McLeod, J.S (1976). Effect of sediments on the survival of *Escherichia coli* in marine waters, *Applied Environmental Microbiology*. 32.: 114–120.
- [28] LaBelle RL, Gerba CP, Goyal SM, Melnick JL, Cech I y Bogdan GF (1980). Relationships between environmental factors, bacterial indicators, and the occurrence of enteric viruses in estuarine sediments. En: *Applied Environmental Microbiology*. Mar; 39(3):588-96.
- [29] Darakas E., Koumoulidou, T y Lazaridou D (2009). "Fecal indicator bacteria decline via a dilution of wastewater in seawater". En: *Desalination*. 248:1008-1015.
- [30] Kimiran-Erdem A, Ozlem Arslan E, Ozlem Sanli N, Zuhail Zeybek Y, Dogruoz N y Cotuk A (2007). Isolation and Identification of Enterococci from seawater Samples: Assessment of Their Resistance to Antibiotics and Heavy Metals. En: *Environmental Monitoring Assessment* 125:219–228.

- Harbour by flow cytometry with FISH. En: *Marine Pollution Bulletin*. 49: 334–343.
- [3] CIOH, Cañón M., Tous G., Olivares M., Llamas J., López K., Palmera K, López O R., Orozco, F y Suarez V, (2006). Presencia de organismos exógenos y patógenos en aguas de lastre de buques de tráfico internacional. En: Informe Final. Fase IV/V. Pág. 98.
- [4] CIOH, Cañón M., Tous G., Quintana-Saavedra D.M y Llamas J., (2007) Presencia de organismos exógenos y patógenos en aguas de lastre de buques de tráfico internacional. En: Informe Final. Fase V/V. Pág. 98.
- [5] CIOH, Cañón, M., Tous, G., Quintana, D., López y Llamas, H, (2009). Informe final del proyecto "levantamiento de línea base portuaria y caracterización del agua de lastre de buques de tráfico internacional en el puerto de Coveñas, Costa colombiana. En: Informe Final Pág. 79.
- [6] Quintana-Saavedra, D., Cañón, M y Castro I. (2008). Evaluación de la calidad microbiológica del agua de lastre de buques de tráfico internacional en bahía Portete y Puerto Bolívar, Guajira. En: *Boletín Científico- CIOH*. No. 26. Pp143.
- [7] WHO, (1999). Management of childhood illness in developing countries: Rational for an integrated strategy. IMCI information WHO/CHS/CAH/98.1A, Rev 1.
- [8] Noble R.T., Mooreb D.F, Leecasterc M.K., McGeed, C.D y Weisberge S.B (2003). Comparison of total coliform, fecal coliform, and enterococcus bacterial indicator response for ocean recreational water quality testing. En: Informe Final. *Water Research* 37:1637–1643 .
- [9] Cañón Páez M, Quintana-Saavedra D. López, R, Tous, G y Llamas H. 2009. Caracterización fisicoquímica del Golfo de Morrosquillo y tanques de lastre de buques de tráfico internacional. En: *Sometido Boletín Científico- CIOH*.
- [10] American Public Health Association (2005). Standard Methods for Examination of water and wastewater. 21th edition.
- [11] Parsons, T.R., Maita C.M. y Lalli CM, (1989). *Manual of Chemical and Biological Methods for Seawater Analysis*. Primera Edición 1984, reimpreso 1985, 1989. Gran Bretaña. Pp 22 – 25.
- [12] Burkholder J. Hallegraef G, Melia G., Cohen, A., Bowers H., Oldach, D., Parrowh M., Sullivan., M , Zimba P., Allen E., Kinder, C y Mallin M (2007). Phytoplankton and bacterial assemblages in ballast water of U.S. military ships as a function of port of origin, voyage time, and ocean exchange practices. En: *Harmful Algae* 6: 486–518.
- [13] Aguirre-Macedo, M, Vidal-Martínez, V., Herrera-Silveira, J., Valdés-Lozano, D., Herrera-Rodríguez, M y Olvera-Novoa, M (2008). Ballast water as a vector of coral pathogens in the Gulf of Mexico: The case of the Cayo Arcas coral reef. En: *Marine Pollution Bulletin*. 56:1570-1577.
- [14] Drake, L.A., Ruiz, G.M, Galil, B.S., Mullady, T.L y Friedman, D.O., (2002). Microbial ecology of ballast water during transoceanic voyage and the effects of Open Ocean exchange. En: *Marine Ecology Progress Series*. 233, 13-20.
- [15] Ruiz Ochoa M, Bernal G y Polanía J, (2008). Influencia del río Sinú y el Mar Caribe en el Sistema Lagunar de Cispotá. En: *Boletín . invemar* 1:29-49.
- [16] McGee S., Piorkowski R. y Ruiz G (2006). Analysis of recent vessel arrivals and ballast water discharge in Alaska: Toward assessing ship-mediated invasion risk. *Marine Pollution Bulletin* 52:1634–1645.
- [17] Weil, E., (2004). Coral reef diseases in the wider Caribbean: En: Rosemberg, E., Loya, Y (Eds), *Coral Health and diseases*. Springer-Verlag, Berlin, pp 35-68.
- [18] Barreto M, Barrera. R, Benavides J; Cardozo, E, Hernández H, Marín, L.; Posada. B, Salvatierra, C, Sierra, P y Villa A (1999). Diagnóstico ambiental del Golfo de Morrosquillo (Punta Rada-Tolú). Una aplicación de sensores remotos y SIG como contribución al manejo integrado de zonas costeras. Curso AGS-6.
- [19] RedCAM (2008). INVEMAR. Informe del Estado de los Ambientes Marinos y Costeros en Colombia; 359p.
- [20] Garrido-Pérez. M.C, Anfuso, E, A, Acevedo y Perales-Vargas-Machuca , J.A. (2008). Microbial Indicators of fecal contamination in waters and sediments of beach bathing zones. En: *International Journal of Hygiene and environmental health*. 211: 510-517.
- [21] Davies C., Long J., Donald, M., y Ashbolt N. (1995). Survival of Fecal microorganisms in Marine and Freshwater Sediments. En: *Applied And Environmental Microbiology*, 61 (5): 1888–1896.
- [22] Suárez, B 2004. The Sinu river delta on the northwestern Caribbean coast of Colombia: Bay infilling associated with delta development, En: *Journal of South American Earth Sciences*, 16 (7):623-631.
- [23] Marino R. P y Gannon J (1991). Survival of fecal coliforms and fecal streptococci in storm drain sediment. *Water Research*. 25 (9): 1089-1098.
- [24] OMS, 2003. Validación de lineamientos para formular políticas sobre gestión del agua residual doméstica en América Latina.
- [25] IDEAM, 2009. En: <http://institucional.ideam.gov.co/jsp/index.jsf>.
- [26] Bernal, G., Poveda, G., Roldán, P y Andrade C (2006). Patrones de variabilidad de las temperaturas superficiales del mar en la costa Caribe colombiana. En: *Revista. Academia. Colombiana de la Ciencia.*, 30 (115): 195-208.
- [27] Gerba C.P. y McLeod, J.S (1976). Effect of sediments on the survival of *Escherichia coli* in marine waters, *Applied Environmental Microbiology*. 32.: 114–120.
- [28] LaBelle RL, Gerba CP, Goyal SM, Melnick JL, Cech I y Bogdan GF (1980). Relationships between environmental factors, bacterial indicators, and the occurrence of enteric viruses in estuarine sediments. En: *Applied Environmental Microbiology*. Mar; 39(3):588-96.
- [29] Darakas E., Koumoulidou, T y Lazaridou D (2009). "Fecal indicator bacteria decline via a dilution of wastewater in seawater". En: *Desalination*. 248:1008-1015.
- [30] Kimiran-Erdem A, Ozlem Arslan E, Ozlem Sanli N, Zuhail Zeybek Y, Dogruoz N y Cotuk A (2007). Isolation and Identification of Enterococci from seawater Samples: Assessment of Their Resistance to Antibiotics and Heavy Metals. En: *Environmental Monitoring Assesment* 125:219–228.