

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA DE INGENIERÍA FORESTAL Y MEDIO
AMBIENTE



Calidad microbiológica del agua de estuario del Santuario Nacional
Los Manglares de Tumbes y sensibilidad antibiótica de bacterias
patógenas aisladas, 2022

TESIS

para optar el título profesional de Ingeniero Forestal y Medio Ambiente

Autor:

Giorgio Jair Edmundo, Gonzales Gómez

Tumbes, 2025

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA DE INGENIERÍA FORESTAL Y MEDIO
AMBIENTE



Calidad microbiológica del agua de estuario del Santuario Nacional
Los Manglares de Tumbes y sensibilidad antibiótica de bacterias
patógenas aisladas, 2022

Tesis aprobada en forma y estilo por

Dr. Jorge Oswaldo Echevarría Flores (Presidente)

Dr. Eber Leopoldo Herrera Palacios (Secretario)

Mg. José Antonio Silva Chavez (Vocal)

Tumbes, 2025

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA DE INGENIERÍA FORESTAL Y MEDIO
AMBIENTE



Calidad microbiológica del agua de estuario del Santuario Nacional
Los Manglares de Tumbes, y sensibilidad antibiótica de bacterias
aisladas, 2022

Los suscritos declaramos que la tesis es original en su contenido y
forma

Los suscritos declaramos que la tesis es original en su contenido y
forma

Br. Giorgio Jair Edmundo Gonzales Gómez



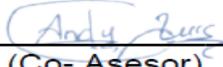
(Autor)

Dra. Rosa Liliana Solís Castro



(Asesor)

Ing. Andy Luis García Peña



(Co-Asesor)

Tumbes, 2025



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
EX FUNDO FISCAL LA CRUZ-CAMPUS UNIVERSITARIO
SECRETARIA ACADÉMICA**



.....
ANEXO VIII

"Año de la recuperación y consolidación de la economía peruana"

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PRESENCIAL

En Tumbes, a los cuatro días del mes de marzo de dos mil veinticinco, siendo las 12... horas, con 10... minutos (12:10), de la TARDE..., de forma presencial, se reunieron el Jurado Calificador, designado por Resolución N° 106-2022/UNTUMBES-VRACAD-FCA-D., **Dr. Jorge Oswaldo Echevarria Flores** (Presidente), **Dr. Eber Leopoldo Herrera Palacios** (Secretario), **Mg. Jose Antonio Silva Chavez** (Vocal), reconociendo en la misma resolución además, a la **Dra. Rosa Liliana Solis Castro**, como **Asesora**, se procedió a evaluar, calificar y deliberar la sustentación de la tesis, "**Calidad microbiológica del agua de estuario del Santuario Nacional Los Manglares de Tumbes y sensibilidad antibiótica de bacterias patógenas aisladas, 2022**", para optar el Título Profesional de Ingeniero Forestal y Medio Ambiente, presentado por el **Bach. Gonzales Gómez Giorgio Jair Edmundo**, Concluida la sustentación y absueltas las preguntas, por parte del sustentante y después de la deliberación, el jurado según el artículo N° 75 del Reglamento de Tesis para Pregrado y Posgrado de la Universidad Nacional de Tumbes, declara a el: **Bach. GONZALES GOMEZ GIORGIO JAIR EDMUNDO; APROBADO**, por UNANIMIDAD..., con el calificativo MUY BUENO.....

Se hace conocer a el sustentante, que deberá levantar las observaciones finales hechas al informe final de tesis, que el jurado le indica.

En consecuencia, queda A.P.T.O..... para continuar con los trámites correspondientes a la obtención del título profesional de Ingeniero Forestal y Medio Ambiente, de conformidad con lo estipulado en la Ley Universitaria N° 30220, el Estatuto, Reglamento General, Reglamento General de Grados y Títulos y Reglamento de Tesis de la Universidad Nacional de Tumbes.

Siendo las 13..... horas y 10..... minutos del mismo día, se dio por concluida la ceremonia académica, procediendo a firmar el acta en presencia del público asistente.

Tumbes, 04 DE MARZO DE 2025.....

Dr. Jorge Oswaldo Echevarria Flores DNI N.º 02645807 CODIGO ORCID 0000-0002-8387-6168 Presidente	Dr. Eber Leopoldo Herrera Palacios DNI N.º 42450218 CODIGO ORCID Secretario: 0000-0002-7255-9087
Mg. José Antonio Silva Chavez DNI N.º 41013171 CODIGO ORCID: 0000-0001-5763-407 Vocal 1:	Dra. Rosa Liliana Solis Castro DNI: N° 17628592 CODIGO ORCID: 0000-0002- 1813-8644 Vocal 2

C.C. - JURADOS (03) -ASESOR Y(CO)-INTERESADO-ARCHIVO (Decanato)
S.acad.

Informe de turnitin

Calidad microbiológica del agua de estuario del Santuario Nacional Los Manglares de Tumbes y sensibilidad antibiótica de bacterias patógenas aisladas, 2022

por Giorgio Jair Edmundo Gonzales Gómez

Fecha de entrega: 05-mar-2025 11:30p.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 2604780161

Nombre del archivo: TESIS_-_Gonzales_Gomez_Giorgio-Final.docx (8.87M)

Total de palabras: 10056

Total de caracteres: 58211


Dra. Rosa Liliانا Solis Castro
Asesora del Proyecto de Tesis
Orcid 0000-0002-1813-8644

Calidad microbiológica del agua de estuario del Santuario Nacional Los Manglares de Tumbes y sensibilidad antibiótica de bacterias patógenas aisladas, 2022

INFORME DE ORIGINALIDAD

14%	13%	7%	%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.undac.edu.pe Fuente de Internet	 Dra. Rosa Lilliana Solís Castro Asesora del Proyecto de Tesis Código 0000-0002-1813-0044	2%
2	repositorio.untumbes.edu.pe Fuente de Internet		1%
3	repositorio.uach.mx Fuente de Internet		1%
4	repositorio.unsm.edu.pe Fuente de Internet		1%
5	hdl.handle.net Fuente de Internet		1%
6	ri.ues.edu.sv Fuente de Internet		1%
7	docplayer.es Fuente de Internet		1%
8	ciencialatina.org Fuente de Internet		1%
9	Diego Miguel Dasí Camaró. "Estudio del agua como fuente de entrada y dispersión de determinantes de resistencia a antibióticos al medio ambiente en el área metropolitana de Valencia y alrededores", Universitat Politecnica de Valencia, 2024 Publicación		1%

tesis.pucp.edu.pe

10	Fuente de Internet	1 %
11	Leung, J.W.. "Bacteriologic analyses of bile and brown pigment stones in patients with acute cholangitis", <i>Gastrointestinal Endoscopy</i> , 200109 Publicación	<1 %
12	biblioteca.utb.edu.co Fuente de Internet	<1 %
	 Dra. Rosa Liliana Solis Castro Asesora del Proyecto de Tesis Orcid 0000-0002-1813-8644	
13	saludybelleza.net Fuente de Internet	<1 %
14	repositorio.ucv.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
15	hmong.es Fuente de Internet	<1 %
16	JCI INGENIERIA & SERVICIOS AMBIENTALES S.A.C.. "Modificación de la DIA del Proyecto MishkiCosta que Consiste en el Procesamiento Industrial de Cristales y Polvo de Stevia a Partir de las Hojas de Stevia Rebaudiana-IGA0017804", R.D. N° 368-2017-PRODUCE/DVMYPE-I/DGAAMI, 2022 Publicación	<1 %
17	www.veteranshealthlibrary.va.gov Fuente de Internet	<1 %
18	SISTEMAS AMBIENTALES ARPSON PERU SOCIEDAD COMERCIAL DE RESPONSABILIDAD LIMITADA. "EIA-SD para Desarrollar la Actividad de Acuicultura del Recurso Langostino en un área de 39 ha de Espejo de Agua en el Distrito de Zarumilla, Tumbes-IGA0006207", R.D. N° 281-2016-PRODUCE/DGCHD, 2020 Publicación	<1 %

19 pesquisa.bvsalud.org <1 %
Fuente de Internet

20 doczz.es <1 %
Fuente de Internet

21 Chaoshuai Wei, Yinghui Wang, Ruijie Zhang, Fang Liu, Zheng-En Zhang, Jingzhen Wang, Kefu Yu. "Spatiotemporal distribution and potential risks of antibiotics in coastal water of Beibu Gulf, South China Sea: livestock and poultry emissions play essential effect", *Journal of Hazardous Materials*, 2024 <1 %
Publicación


Dra. Rosa Liliana Solis Castro
Asesora del Proyecto de Tesis
Orcid 0000-0002-1813-8644

22 María Jesica Montero-Martínez, María del Refugio Castañeda-Chávez, Fabiola Lango-Reynoso, Gabycarmen Navarrete-Rodríguez et al. "Removal of Pathogenic Bacteria in a Horizontally Fed Subsurface Constructed Wetland Hybrid System", *J*, 2023 <1 %
Publicación

23 revistas.upch.edu.pe <1 %
Fuente de Internet

24 kipdf.com <1 %
Fuente de Internet

25 www.cuc.udg.mx <1 %
Fuente de Internet

26 cybertesis.unmsm.edu.pe <1 %
Fuente de Internet

27 www.clubensayos.com <1 %
Fuente de Internet

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 15 words

Exclur bibliografia Activo

Dedicatoria

A mis padres, por ser mi fortaleza y motivación en cada paso de este camino, por su apoyo incondicional y por creer en mí.

Agradecimiento

- Expreso mi más sincero agradecimiento a todas las personas que me apoyaron en esta investigación, en especial a mi asesora la Dra. Rosa Liliana Solís Castro por su paciencia y apoyo.
- Al Laboratorio de Biología Molecular y a su personal por el apoyo técnico durante la realización de la investigación.

Índice de contenido

Resumen.....	xvi
Abstract.....	xvii
I. Introducción	18
II. Revisión de literatura	21
III. Materiales y métodos.....	24
3.1. Hipótesis.....	24
3.2. Tipo de estudio.....	24
3.3. Zona de estudio.....	24
3.4. Esquema metodológico.....	24
3.5. Muestreo	25
3.5.1. Puntos de muestreo.....	25
3.5.2. Recolección de muestras.....	25
3.5.3. Toma de muestras.....	26
3.5.4. Identificación de las muestras de agua.....	26
3.6. Análisis microbiológico de las muestras.....	26
3.6.1. Coliformes Termotolerantes.....	27
3.7. Aislamiento y purificación de bacterias.....	29
3.8. Prueba de susceptibilidad a los antibióticos	30
3.9. Análisis de resultados.....	30
IV. Resultados y discusión	31
V. Conclusiones	43
VI. Recomendaciones	44
VII. Referencias bibliográficas	45
Anexos	51

Índice de tablas

Tabla 1. Puntos de muestreo	25
Tabla 2. Valores para la selección del código	29
Tabla 3. Determinación de la calidad microbiológica del agua del SNLMT	32
Tabla 4. Determinación de la calidad microbiológica del agua del SNLMT en el punto de muestreo 1	33
Tabla 5. Determinación de la calidad microbiológica del agua del SNLMT en el punto de muestreo 2	34
Tabla 6. Determinación de la calidad microbiológica del agua del SNLMT en el punto de muestreo 3	35
Tabla 7. Determinación de la calidad microbiológica del agua del SNLMT en el punto de muestreo 4	36
Tabla 8. Determinación de la calidad microbiológica del agua del SNLMT en el punto de muestreo 5	36
Tabla 9. Determinación de la calidad microbiológica del agua del SNLMT en el punto de muestreo 6	37
Tabla 10. Identificación de bacterias aisladas del SNLMT	38
Tabla 11. Resistencia de especies bacterianas a diversos antibióticos de la industria langostinera en el SNLMT	39

Índice de figuras

Figura 1. Esquema metodológico de la investigación.....	24
Figura 2. Distancia de los puntos a muestreo a desagües de las empresas langostineras.	31
Figura 3. Microfotografías de Bacterias: Morfología Gram.	37
Figura 4. Diferencias de coloración entre colonias.	38

Índice de anexos

Anexo 1. Distribución de los puntos de muestreo.....	51
Anexo 2. Sensibilidad y Resistencia de bacterias a los antibióticos.	52
Anexo 3. Tubos positivos de la prueba de determinación del número más probable	53
Anexo 4. Tinción gram de las cepas.....	54
Anexo 5. Interpretación del agar cromogénico	55
Anexo 6. Identificación de cepas mediante el agar cromogénico.	56

Resumen

En el Perú, la región de Tumbes posee el área de mayor extensión del ecosistema manglar protegido por el Santuario Nacional Los Manglares de Tumbes, sin embargo, este viene siendo impactado por la actividad langostinera, afectando así la calidad microbiológica del ecosistema. Se evaluó la calidad microbiológica del agua del estuario del SNLMT y la sensibilidad antibiótica de las bacterias aisladas. Se muestrearon seis puntos cercanos a la actividad langostinera. Se realizó la metodología estándar para el análisis de la calidad microbiológica del agua (DIRESA). Se evaluaron los coliformes termotolerantes mediante la Determinación del Número Más Probable (NMP). Se utilizó agar cromogénico para identificar bacilos gram negativos fermentadores y no fermentadores. La sensibilidad antibiótica se evaluó por la técnica de Kirby Bauer con discos de tetraciclina, oxitetraciclina, enrofloxacin y florfenicol. El punto de muestreo 1, más cercano a las langostineras, presentó 79 NMP/100 ml de coliformes termotolerantes en comparación los otros puntos mas alejados, no superando los ECAs. De las 41 cepas bacterianas, 22 fueron *E. coli*, 7 fueron *Klebsiella/Enterobacter*, 3 cepas de *Pseudomonas sp.* y 9 cepas de bacilos gram negativos no fueron identificadas. Se encontró que 6 cepas mostraron resistencia a oxitetraciclina, 5 cepas a trimetropin-sulfametoxazol, 4 cepas a florfenicol y 2 cepas a enrofloxacin. De las 41 cepas, 3 cepas mostraron resistencia simultánea a 3 de los antibioticos evaluados. Los datos encontrados de coliformes fecales no sobrepasan el estándar de calidad ambiental para zonas intangibles, por lo que la calidad microbiológica en el Santuario Nacional Los Manglares de Tumbes es buena.

Palabras claves: Actividad langostinera, calidad microbiológica, coliformes termotolerantes, ecosistema manglar, resistencia antibiótica

Abstract

In Peru, the Tumbes region has the largest area of mangrove ecosystem protected by the Los Manglares de Tumbes National Sanctuary, however, this has been impacted by shrimp activity, thus affecting the microbiological quality of the ecosystem. The microbiological quality of the water in the SNLMT estuary and the antibiotic sensitivity of the isolated bacteria were evaluated. Six points close to the shrimp activity were sampled. The standard methodology for the analysis of the microbiological quality of water (DIRESA) was used. Thermotolerant coliforms were evaluated by the Determination of the Most Probable Number (MPN). Chromogenic agar was used to identify large negative fermenting and non-fermenting bacilli. Antibiotic sensitivity was evaluated by the Kirby Bauer technique with tetracycline, oxytetracycline, enrofloxacin and florfenicol discs. Sampling point 1, closest to the shrimp farms, had 79 MPN/100 ml of thermotolerant coliforms compared to the other more distant points, not exceeding the ECA. Of the 41 bacterial strains, 22 were *E. coli*, 7 were *Klebsiella/Enterobacter*, 3 were *Pseudomonas sp.* and 9 strains of gram-negative bacilli were not identified. It was found that 6 strains showed resistance to oxytetracycline, 5 strains to trimethoprim-sulfamethoxazole, 4 strains to florfenicol and 2 strains to enrofloxacin. Of the 41 strains, 3 strains showed simultaneous resistance to 3 of the antibiotics evaluated. The data found for fecal coliforms do not exceed the environmental quality standard for intangible zones, so the microbiological quality in the Los Manglares de Tumbes National Sanctuary is good.

Keywords: Antibiotic resistance, mangrove ecosystem, microbiological quality, shrimp farming activity, thermotolerant coliforms.

I. Introducción

Los manglares son un ecosistema en el cual convergen diversos elementos: el clima de las zonas tropicales, las descargas de agua de los afluentes y sus sedimentos acarreados por sus corrientes, la irrupción de las mareas en el relieve plano (Servicio Nacional de Áreas Naturales Protegidas por el Estado (SINANPE), 2021). Este tipo de ecosistemas son denominados estratégicos porque brindan una gran cantidad de beneficios ambientales, cumpliendo una función de vital importancia en el ciclo del carbón como sumideros de CO₂ (Duke et al., 2007). Los manglares son un ecosistema que albergan una gran cantidad de animales, vertebrados, moluscos, insectos y microorganismos (Robles et al., 2019). Asimismo, estos ecosistemas son denominados como irremplazables por sus características singulares y sus sistemas de adaptación (Ariza-Montobbio y Cuvi, 2020)

Este ecosistema se da inicio en las costas del Pacífico de América se extienden hasta el Mar de Cortez en el noroeste de las zonas costeras mexicanas, cruzando América central y el Golfo de Panamá, llegando al sur de América por las costas colombianas de Esmeralda en el Pacífico, siguiendo su curso hasta llegar a Manabí al Golfo de Guayaquil. Culminando en el norte de la costa peruana (Olson et al., 2001).

En el Perú la región de Tumbes posee el área de mayor extensión de este ecosistema, este se ubica en las desembocaduras de los afluentes Tumbes y Zarumilla, siendo esta región donde se encuentra el único espacio protegido formalmente (Angulo, 2014), a esta área natural protegida se le dio el nombre de Santuario Nacional Los Manglares de Tumbes (SNLMT) con una extensión territorial de 2972 ha (Instituto Nacional de Recursos Naturales (INRENA), 2007). Esta zona fue creada para proteger la biodiversidad de la flora y fauna terrestre y acuática que habitan en este ecosistema, en especial a *Rhizophora mangle*, *Avicenia germinans*, *Laguncularia racemosa*, *Conocarpus erectus*, los cuales funcionan como hábitat para una gran variedad de invertebrados acuáticos que

cumplen un rol económico fundamental para las poblaciones aledañas que hacen aprovechamiento de estos recursos (INRENA, poblaciones 2007).

En el plan maestro 2017 - 2021 elaborado por Servicio Nacional de Áreas Naturales Protegidas por el Estado (SERNANP) se sospecha que la contaminación del agua es una de las principales causas que afectan directamente la mortandad de la biodiversidad del manglar (SERNANP, 2017).

Las aguas residuales de las actividades humanas que son descargadas en el manglar contienen una variedad de contaminantes, de los diferentes tipos de estos, se pueden encontrar residuos de antibióticos, y estos pueden ingresar al ecosistema a través de los efluentes de las plantas langostineras (Zapién, 2021), en su mayoría estos productos no logran ser metabolizados dando como resultado un alto porcentaje de la dosis suministrada (30-90%) es excretada por sus consumidores, llegando al manglar por las aguas residuales (Hidalgo, 2008).

La acuicultura es un tema que atrae la atención ya sea por su potencial en el desarrollo económico de las comunidades y/o por los efectos negativos que pueden tener sobre el ecosistema (Calle, 2009), y algunos de estos efectos más notorios sobre el ecosistema manglar es la pérdida del territorio de aproximadamente de 1500 ha (Hidalgo, 2008). La contaminación es otro de los efectos negativos de esta actividad por su liberación desmedida de nutrientes y materia orgánica que da como resultado un exceso de desechos orgánicos en el estuario (Calle, 2009).

Además, la contaminación microbiológica, que se da por la acumulación de productos químicos (píldoras de proteína y complementos de alimentos artificiales), sedimentación excesiva y el uso de antibióticos, plaguicidas y detergentes para evitar enfermedades, la llegada de estos contaminantes al ecosistema manglar produce en el bombeo de cambio de agua (descarga del agua de las pozas de cultivo a los canales del manglar) la cual contiene residuos de todos estos productos químico – tóxicos (Calle, 2009).

La actividad agropecuaria con la práctica de la agricultura y ganadería de tierras bajas es la contamina el ecosistema manglar con el uso de agroquímicos en suelos y ríos (Moreno et al., 2002). A estos se suma los altos niveles de contaminación microbiológica, alteran la calidad de agua del ecosistema manglar, esto debido a

que recibe de manera indirecta las de los centros urbanos cercanos (Moreno et al., 2002).

Debido a esto se plantean las siguientes preguntas de investigación, ¿Cuál es la calidad microbiológica del agua del estuario del SNLMT? y ¿Cuál es la sensibilidad antibiótica de las bacterias aisladas del estuario del SNLMT?

Para dar respuesta a las interrogantes, se plantea el objetivo general de evaluar la calidad microbiológica del agua de estuario y la sensibilidad antibiótica de bacterias aisladas en el SNLMT. Además, se plantearon los objetivos específicos de, determinar la calidad microbiológica del agua del santuario usando como parámetros los Estándares de Calidad Ambiental; aislar e identificar las bacterias patógenas de las aguas de los estuarios del SNLMT; y evaluar la susceptibilidad de las bacterias patógenas aisladas del agua del estuario de SNLMT a los antibióticos usados en la actividad langostinera.

En respuesta a la situación sobre este ecosistema natural, en el presente estudio se tomaron puntos de muestreo en toda el área de éste, que nos permitieron identificar la realidad actual de la calidad microbiológica de las aguas de esta área natural protegida, tomando como referencia los estándares de calidad ambiental (ECA) para zonas intangibles.

La investigación se enfocó en el estudio de la calidad microbiológica del agua en el SNLMT, por lo tanto, conocer el estado de calidad del agua es uno de los soportes para establecer la gobernanza ambiental para definir estrategias de conservación, que es el primer paso para planear y ejecutar la meta 1 del plan nacional de acción (Ministerio del Ambiente (MINAM), 2011), garantizando su preservación y aprovechamiento sostenible de sus recursos.

Este proyecto fue factible ya que contó con los medios y equipos necesarios en el Laboratorio de Biología Molecular de la Facultad de Ciencias de la Salud. Asimismo, se cuenta con la experticia para la realización e interpretación de los análisis microbiológicos de calidad del agua.

II. Revisión de literatura

El ecosistema manglar es un tipo de humedal que se estima como uno de los más productivos, con un alto valor y que cumplen una gran variedad de roles y funciones (World Wildlife Fund (WWF), 2011) ecológicas, socioeconómicas y físicas todos estos elementos son vitales para la estabilidad de la biodiversidad, de las franjas costeras y las poblaciones aledañas a estos ecosistemas (Rambok, 2010), estos bosques de mangle también sirven como barreras naturales para prevenir o reducir las inundaciones de marea y agua salada (Gandaseca, 2011).

Los bosques de mangle se caracterizan por tener raíces respiratorias y raíces sobre el suelo que le dan la capacidad de vivir sobre el lodo, a condiciones anaeróbicas y el agua salda del mar, estas son características y adaptaciones únicas y especiales (Gandaseca, 2011). Estos también actúan como constructores de suelo y estabilizadores de la costa (Ali et al., 2009).

Este ecosistema se extiende por todo el mundo con una extensión aproximadamente de 150,000 km² que solo cubren el 0,12% de la superficie terrestre total (Yessoufou y Stoffberg, 2016), de los cuales dos tercios se encuentran repartidos solo en 19 países: Indonesia, Brasil, Australia, México, Nigeria, Malasia, Myanmar, Bangladesh, Cuba, India, Papúa, Nueva Guinea, Colombia y principalmente Perú (Barbier, 2016). En el Perú el ecosistema manglar se encuentra en el norte de su costa con una extensión aproximada de 10 550 ha, este espacio se encuentra repartido entre las desembocaduras de los ríos Zarumilla, Tumbes, Chira y Piura (SINANPE, 2021).

En la región de Tumbes, se ubica la más grande extensión de manglares, sobre las desembocaduras de los ríos Tumbes y Zarumilla, en la parte norte de este complejo de manglar está ubicada la única área protegida formal (Angulo, 2014). El 2 de marzo de 1988 se dio la creación del Santuario Nacional de Tumbes (SNLMT), para salvaguardar la única muestra representativa de los bosques de mangle en el país, que cumple con el objetivo principal de cuidar y proteger este espacio natural y toda

su biomasa existente (SERNANP, 2017), para garantizar la conservación del SNLMT se instauró la zona de amortiguamiento (ZA) con una extensión de 6181 ha (IGP, 2014).

La importancia del SNLMT no solo es ecosistémica porque en él también se llevan a cabo actividades económicas que incluyen la extracción de recursos hidrobiológicos y de servicios turísticos, así como también se desarrollan actividades langostineras y agrícola en la zona de Amortiguamiento, donde además existe la presencia poblaciones urbanas (IGP, 2013). Aun teniendo en cuenta la importancia económica, social y ecología es una realidad que la creciente presión sobre los bosques de manglar debido a la urbanización, la industrialización de la acuicultura y la agricultura intensiva representa una amenaza para este ecosistema (Tripathy et al., 2005).

Las actividades antropogénicas descritas anteriormente han provocado cambios evidentes en el ecosistema, como la pérdida de extensión de manglar y afectación directa en flora y fauna (Zapién, 2021), donde también se han observado cambios en las comunidades microbianas que en conjunto afectan la funcionalidad del ecosistema (López y Ezcurra, 2002). La contaminación microbiológica es en extremo peligroso para todo ser vivo y cuando entran en contacto con el agua y el suelo, suelen producir una degradación y contaminación (Hidalgo, 2008). En la actividad acuícola a medida que el agua es liberada de los estanques, fluye hacia los cuerpos de agua generando así contaminación microbiológica producida por la carga orgánica de los desechos, desechos fecales y antibióticos (Zapién, 2021).

Asimismo, es una realidad que en las industrias como la acuicultura, donde son utilizadas grandes cantidades de antibióticos con la finalidad de mantener un producto inocuo, lo cual provoca un aumento en la cantidad de microorganismos resistentes a antibióticos, debido a la alta exposición a estas sustancias antimicrobianas (Zapién, 2021). Además, estos genes de resistencia a antibióticos son transmitidos a bacterias patógenas que se encuentran en los mismos estanques, y este tipo de contaminación se debe a que una gran parte de los antibióticos usados en la actividad acuícola son desechados en ambientes acuáticos (Nogales et al., 2011).

Dentro de los principales antibióticos usados en la acuicultura tenemos los siguientes:

La oxitetraciclina (OT), es un antibiótico de la familia de las tetraciclinas. Se utiliza principalmente en el tratamiento de infecciones bacterianas en animales, particularmente en agricultura y veterinaria. Actúa inhibiendo la síntesis de proteínas en las bacterias, lo que impide su crecimiento y replicación (Mog et al., 2020).

La enrofloxacin (ENR), es un antibiótico de amplio espectro de la familia de las fluoroquinolonas. Se utiliza en el tratamiento de infecciones bacterianas en animales, especialmente en perros y gatos. Actúa inhibiendo la enzima ADN girasa, lo que interfiere con la replicación del ADN bacteriano y lleva a la muerte de las bacterias (Liu et al., 2020).

El Florfenicol (FFC), es un antibiótico de amplio espectro relacionado con la clase de los fenicoles. Se utiliza en el tratamiento de infecciones bacterianas en animales, incluidos cerdos, aves de corral y peces. Actúa inhibiendo la síntesis de proteínas bacterianas al unirse a la subunidad 50S del ribosoma (Jara et al., 2021).

El Sulfametoxazol (SXT), es un antibiótico de la familia de las sulfonamidas. A menudo se combina con trimetoprim en una proporción fija para formar la cotrimoxazol (TMP-SMX), que es un agente antimicrobiano de amplio espectro. Se utiliza para tratar una variedad de infecciones bacterianas en humanos y animales. Actúa interfiriendo con la síntesis de ácido fólico en las bacterias, lo que es esencial para su crecimiento y replicación (Wang et al., 2024).

III. Materiales y métodos

3.1. Tipo de estudio

De acuerdo con el fin de la presente investigación, esta corresponde a una investigación básica descriptiva, ya que no habrá manipulación de variables.

3.2. Hipótesis

La calidad microbiológica del estuario del Santuario Nacional Los Manglares de Tumbes (SNLMT) cumple con los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) en los parámetros microbiológicos para zonas intangibles. Las bacterias aisladas del estuario del SNLMT tienen susceptibilidad a los antibióticos usados en la actividad langostinera.

3.3. Zona de estudio

La zona de estudio fue en el ANP (Área Nacional Protegida) “Santuario Nacional Los Manglares de Tumbes”, que cuenta con una superficie de 2972 ha y está ubicada en el litoral de costa noroeste de Perú, teniendo como coordenadas geográficas 3°25'37'' - 3°26'57'' de latitud sur y 80°13'26'' - 80°18'56'' de longitud este. (INRENA, 2007).

3.4. Esquema metodológico

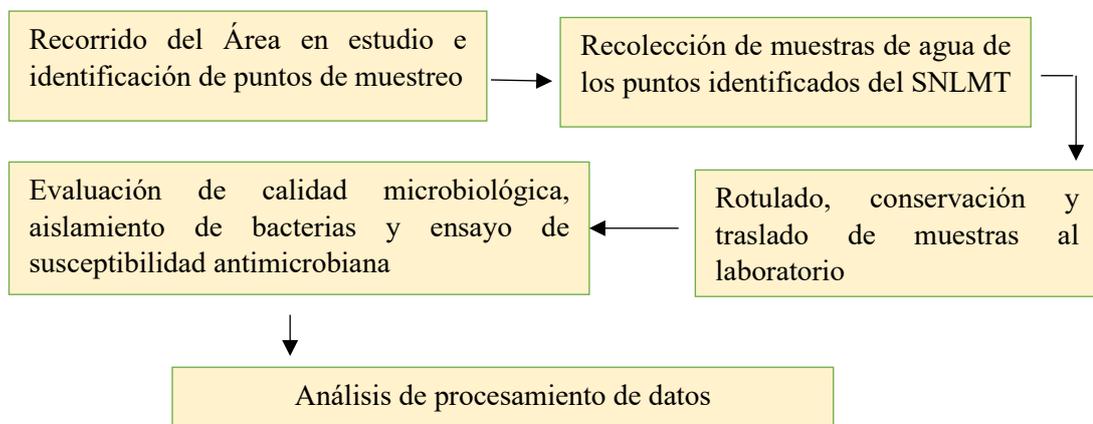


Figura 1.

Esquema metodológico de la investigación.

3.5. Muestreo

3.5.1. Puntos de muestreo

Los puntos de muestreos se seleccionaron usando imágenes satelitales. Para evaluar la calidad del agua del SNLMT se ha realizado un recorrido con imágenes satelitales, donde se seleccionaron seis (6) puntos estratégicos para la toma de muestra.

Estos puntos fueron seleccionados debido a su accesibilidad y su cercanía con las empresas langostineras, para evaluar el impacto inmediato de los efluentes en el agua del estuario, así como los medicamentos usados en estas empresas, y sobre las bacterias. La distribución de estos puntos se aprecia en el anexo 1.

Tabla 1.

Puntos de muestreo

Puntos	Este	Norte
1	580466	9619420
2	576314	9622007
3	582738	9619286
4	577937	9622264
5	576692	9623448
6	578103	9621288

3.5.2. Recolección de muestras

La recolección y acondicionamiento de las muestras de agua se realizaron teniendo en cuenta el Protocolo Nacional para el Monitoreo de la Calidad de agua para estuarios de DIRESA (Huapaya, 2008):

a. Consideraciones generales

- Los frascos usados fueron de polietileno o vidrio de boca ancha con tapa y contra tapa, los cuales estuvieron limpios y estériles para evitar contaminación.
- Las muestras fueron almacenadas a temperaturas bajas (4 – 8 °C) para conservar su integridad al momento de ser transportadas.

- Las cajas térmicas que se emplearon para el transporte y almacenamiento de las diversas muestras, estas fueron adecuadas con hielo, así mismo se llenaron los registros de cada muestra recolectada (ficha de muestreo) y se identificó cada frasco (etiquetado).

3.5.3. Toma de muestras

Se realizó directamente en los puntos de muestreo del bloque de agua. Cada muestra tuvo un volumen de 99 ml, con un espacio aproximado del 1% de la capacidad del envase (100 ml) (espacio de cabeza), para la expansión de la muestra. Adicionalmente, se midieron parámetros ambientales como la temperatura ambiental, temperatura del agua del estuario y pH.

3.5.4. Identificación de las muestras de agua

Antes de la toma de muestra, los envases fueron codificados con letra clara y tangible, considerando la siguiente información:

- Número de Muestra.
- Código de identificación (punto de muestreo).
- Origen de la fuente.
- Fecha y hora de la toma de la muestra.
- Preservación realizada
- Tipo de análisis requerido.
- Nombre del responsable del muestreo

3.6. Análisis microbiológico de las muestras

El aislamiento de bacterias y pruebas de resistencia a antibióticos de las muestras se realizaron en el Laboratorio de Biología Molecular de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de Tumbes.

Todos los análisis se realizaron siguiendo los procedimientos del manual de Métodos estándar para el análisis de la calidad de agua de DIRESA (Huapaya, 2008).

3.6.1. Coliformes Termotolerantes

Fueron determinados por el método de Determinación del Número Más Probable (es el cálculo de la densidad de bacterias coliformes basadas en la combinación de resultados positivos y negativos obtenidos en cada disolución) (Huapaya, 2008).

a. Disolución de la muestra

Una vez con las muestras en el laboratorio, se procedió a preparar las disoluciones respectivas. Agitar vigorosamente aproximadamente 25 veces, para asegurar para una buena homogenización, transferir con una pipeta estéril un volumen de 10 ml, de la muestra a un frasco con 90 ± 2 ml de agua de disolución (10^{-1}). Homogenizar el frasco que contiene la disolución (10^{-1}), con una pipeta estéril transferir 10 ml a un nuevo frasco de disolución teniendo así la segunda disolución (10^{-2}). Continuar con este proceso hasta realizar todas las disoluciones del caso, dependiendo del grado de contaminación de la muestra. Ordenar los frascos conteniendo las disoluciones, en secuencia decreciente de concentración (Huapaya, 2008).

b. Prueba presuntiva

Se preparó una batería con series de cinco tubos conteniendo 10 ml de Caldo Lauril Triptosa (CLT) de concentración doble, y series de cinco tubos con 10 ml de CLT de concentración simple, esta serie dependió del número de disoluciones que se hayan realizado de la muestra. Se colocó los tubos en gradillas y codificarlos anotando el número asignado a la muestra y dilución a inocular.

Se agitó vigorosamente 25 veces el frasco con la última disolución efectuada y con una pipeta estéril se transfiere 1 ml de la dilución en cada uno del tubo con CLT de concentración simple correspondiente a dicha disolución, se transferirá 1 ml de la muestra más diluida a la más concentrada con una pipeta estéril, luego 1 ml de la muestra original a cinco tubos con CLT de

concentración simple y 10 ml en cinco tubos con CLT de doble concentración.

Se incubaron los tubos a 35 ± 0.5 °C después de 24 ± 2 horas se examinaron y separaron los tubos con CLT positivos aquellos que presentan formación de gas en el tubo Durham (fermentación) y turbiedad. Anotar los resultados. Los tubos positivos fueron resembrados en caldo EC-MUG para la prueba de confirmación.

c. Confirmación

Los tubos positivos fueron sembrados en caldo EC-MUG e incubados a 44.5 ± 0.2 °C por 24 horas. Pasado ese tiempo, los tubos fueron expuestos a una lámpara de luz UV de 365 nm. La presencia de una fluorescencia azul se considera como una reacción positiva (se deben usar controles positivos, negativos y un médium de cultivo sin inocular, para una mejor interpretación y evitar confusiones). Con los resultados obtenidos se calculó el NMP.

d. Determinación del número más probable

El cálculo de la densidad probable de bacterias Coliformes se basó en la combinación de los resultados positivos y negativos obtenidos en cada disolución. La densidad de Coliformes se expresa como NMP de coliformes por 100 ml y se obtiene a través de tablas en las que se presenta el límite de confianza de 95% para cada valor de NMP determinado.

Fórmula para cálculo del NMP

- $NMP/100 \text{ ml} = (\text{valor NMP}/100 \text{ ml tabla}) \times 10/v$ (*)

(*) volumen de nuestra inoculada en la primera dilución seleccionada.

Tabla 2.*Valores para la selección del código*

Pruebas	Tubos positivos/ml y volumen de muestra					Código
	10	1	0,1	0,01	0,001	
1	<u>5</u>	<u>2</u>	<u>0</u>	0	0	5_2_0
2	<u>5</u>	<u>5</u>	<u>2</u>	<u>1</u>	0	5_2_1
3	<u>0</u>	<u>3</u>	<u>1</u>	<u>0</u>	0	3_1_0
4	5	<u>5</u>	<u>3</u>	<u>1</u>	<u>1</u>	5_3_2
5	4	<u>5</u>	<u>4</u>	<u>0</u>	0	5_4_0
6		<u>5</u>	<u>5</u>	<u>5</u>	<u>5</u>	5_5_5
7		<u>0</u>	<u>0</u>	<u>0</u>		0_0_0
8		<u>4</u>	<u>0</u>	<u>1</u>		4_0_1
9		<u>0</u>	<u>1</u>	<u>0</u>		0_1_0

3.7. Aislamiento y purificación de bacterias

Se tomó una muestra de agua, luego se prepararon 4 diluciones (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} y 10^{-4}), luego se cultivaron 100 μ l por el método de extensión en superficie en medio TSA (agar de soya tripticasa) suplementado con 0, 1.5 y 3% p/v de NaCl, TCBS (agar de tiosulfato-citrato-sales biliares-sacarosa) para vibrios, EMB (agar azul de metileno de eosina) para *E. coli* y otros bacilos fermentadores y no fermentadores, y agar manitol salado para estafilococos. Una vez sembrados, se incubaron durante 48 horas a 36 ± 0.2 °C. Posteriormente, se seleccionaron aquellas cepas que presentaron características diferentes en su morfología colonial y se aislarán en medio TSA respetando la concentración de salinidad del medio en el que se presentó el crecimiento. Las cepas aisladas fueron inoculadas en medios en placa hasta obtener cepas puras. Posteriormente se procedió a conservar las UFC purificadas en el medio de cultivo TSA respetando la salinidad del medio donde se realizó el crecimiento, y finalmente se almacenaron en el congelador hasta realizar las pruebas de resistencia a antibióticos usados en la actividad langostinera (Zapién, 2021).

Para la identificación de las cepas aisladas se usó el agar cromogénico, evaluando el crecimiento y coloración de cada cepa para su identificación.

3.8. Prueba de susceptibilidad a los antibióticos

Se utilizó una suspensión bacteriana con concentración equivalente al tubo 0,5 del nefelómetro de McFarland. Se sembraron mediante hisopado en toda la superficie de una placa con agar Müller Hinton. Se secaron por 5 minutos, y luego se colocaron los discos de antibiótico. Las placas se incubaron durante 18 – 24 horas a 37°C (Carvalho et al., 2016).

Para la lectura e interpretación, las zonas de inhibición de crecimiento de cada antibiótico se interpretaron de acuerdo con las Directrices M100-S22 de los Estándares de Laboratorio Clínico. Los antibióticos probados fueron Tetraciclina y oxitetraciclina, enrofloxacina y florfenicol. Los halos de inhibición se midieron con la ayuda de una regla milimétrica en tres direcciones.

3.9. Análisis de resultados

Los ensayos se realizaron por triplicado para posteriormente obtener promedio aritmético. Los datos de la sensibilidad antibiótica fueron procesados y mostrados en tablas, procesadas en el software Microsoft Excel.

IV. Resultados y discusión

Durante el mes de agosto del 2023, se recolectó una muestra de agua de cada uno de 6 puntos diferentes del estuario del santuario (Tabla 3), con el objetivo de evaluar la calidad microbiológica del agua de estuario del Santuario Nacional Los Manglares de Tumbes, así como la sensibilidad antibiótica de las bacterias aisladas de dichas muestras.



Figura 2.

Distancia de los puntos a muestreo a desagües de las empresas langostineras.

En la Figura 2, se aprecia que el punto más cerca de los desagües de las empresas langostineras es el punto 1 y se ubica a 800 metros, además los puntos 2, 4 y 3 se encuentran a 1000 m, 1300m y 1500m respectivamente. Los puntos más alejados son los puntos 6 y 5 los cuales se encuentran a 3300 m y 3500 m respectivamente.

Para responder al primer objetivo específico, de evaluar la calidad del agua SNLMT, se determinaron los parámetros microbiológicos (coliformes termo tolerantes). Se tuvieron en cuenta los Estándares de Calidad Ambiental para Aguas intangibles aprobados en el 2017 (MINAM, 2017), referido a coliformes termotolerantes en una concentración máxima de 1000 NMP/100.

Tabla 3.

Determinación de la calidad microbiológica del agua del SNLMT

Punto	Coordenada		NMP/100ML	ECA
	Este	Norte		
1	580466	9619420	79	
2	576314	9622007	4,5	
3	582738	9619286	5,6	1000
4	577937	9622264	4,5	NMP/100
5	576692	9623448	2	
6	578103	9621288	2	

En la Tabla 3, se observa que los resultados de la muestra de agua en el punto 1 arrojó un valor de 79 NMP/100 ml, en los puntos 2 y 4 se obtuvo un valor de 4,5 NMP/100 ml, en el punto 3 el valor fue de 5,6 NMP/100 ml, mientras que en los puntos 5 y 6 se obtuvieron valores de 2 NMP/100ml, todos los valores obtenidos estuvieron por debajo de lo establecido por el MINAN en los Estándares de Calidad Ambiental para Aguas intangibles aprobados en el 2017 (1000 NMP/100) (MINAM, 2017). Aunque se cumple con los ECA, se aprecia el punto 1 mostró la mayor concentración de coliformes termotolerantes, en relación con el resultado de los 5 puntos restantes, lo cual puede deberse a la cercanía que tiene el punto 1 a la langostinera (800 m), la que vierte sus aguas residuales en uno de los canales del santuario. Para los puntos 2, 3 y 4 la menor concentración podría deberse al estar una distancia mayor (1000, 1500 y 1300 m respectivamente). Mientras que, los puntos 5 y 6 muestran una menor concentración ya que son los más alejados a las langostineras y más cercanos a línea de frontera entre SNLMT y el mar.

Los bioindicadores pertenecientes al grupo coliformes en los ecosistemas marino-costeros tiene gran relevancia porque permite estimar su calidad microbiológica

(Malaver et al., 2014). Los coliformes termotolerantes, pueden provenir de aguas orgánicamente enriquecidas, como efluentes industriales o de materias vegetales y suelos en descomposición (Gianoli et al., 2019), lo cual es evidenciable por la presencia de lagostineras que vierten sus efluentes a las aguas del estuario. Este hallazgo está relacionado a lo encontrado por Gianoli et al., (2019) en muestras extraídas de los puntos San Pedro y Chulliyachi en Sechura (Piura – Perú) cercanos a los manglares de esa zona donde existe presencia de actividades agrícolas, y la carga de coliformes termotolerantes excedía los ECA.

La causa principal de la presencia y aumento de los coliformes termotolerantes se debe a la presencia de factores externos de contaminación tales como la industria acuícola y la agricultura (Jayo, 2022). Se ha podido apreciar que estos dos factores también están presentes en el Santuario Nacional Los Manglares de Tumbes.

Las siguientes tablas muestran ciertas características de las 83 cepas de bacterias aisladas de los 6 puntos de muestreo. Estos microorganismos muestran una diversidad tanto en morfología, así como de respuesta a los diferentes medios de cultivo donde desarrollaron.

En la Tabla 4 se observa que en el punto de muestreo 1 predominó la presencia de bacilos y cocobacilos gramnegativos, los cuales desarrollaron en el agar MacConkey con 1,5% de NaCl, lo que sugiere una prevalencia de enterobacterias u otros microorganismos gramnegativos. En medios como el agar nutritivo y el agar tiosulfato-citrato-sales biliares-sacarosa, se observa una mayor diversidad de formas, incluyendo bacilos grampositivos, bacilos filamentosos grampositivos, bacilos esporulados grampositivos, bacilos gramnegativos, lo que indica una variedad de especies bacterianas adaptadas a distintas condiciones de cultivo.

Tabla 4.

Características de las bacterias aisladas del agua del SNLMT en el punto de muestreo 1

Código	Medio de cultivo de aislamiento	Morfología/Gram
G1	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Bacilos gramnegativos
G2	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Bacilos gramnegativos
G3	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Bacilos gramnegativos
G4	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Bacilos gramnegativos
G5	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Bacilos gramnegativos

G6	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Bacilos gramnegativos
G9	Agar Nutritivo 1,5% NaCl	Bacilos grampositivos
G11	Agar Nutritivo 1,5% NaCl	Bacilos filamentosos grampositivos
G12	Agar Nutritivo 1,5% NaCl	Bacilos delgados grampositivos
G13	Agar Nutritivo 1,5% NaCl	Bacilos esporulados grampositivos
G14	Agar Nutritivo	Bacilos esporulados grampositivos
G16	Agar Tiosulfato-citrato-sales biliares-sacarosa	Cocobacilos gramnegativos
G17	Agar Tiosulfato-citrato-sales biliares-sacarosa	Bacilos grampositivos
G18	Agar Tiosulfato-citrato-sales biliares-sacarosa	Bacilos esporulados grampositivos
G21	Manitol	Bacilos grampositivos
G22	Manitol	Bacilos filamentosos grampositivos
10	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Cocobacilos gramnegativos
11	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Cocobacilos gramnegativos
12	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Cocobacilos gramnegativos
13	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Cocobacilos gramnegativos
14	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Cocobacilos gramnegativos
15	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Cocobacilos gramnegativos
16	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Cocobacilos gramnegativos
17	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Cocobacilos gramnegativos
18	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Cocobacilos gramnegativos
28	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Cocobacilos gramnegativos
29	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Cocobacilos gramnegativos
Gp1	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Cocobacilos gramnegativos
Gp8	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Cocobacilos gramnegativos
Gp9	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Cocobacilos gramnegativos
Gp12	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Cocobacilos gramnegativos
Gp14	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Cocobacilos gramnegativos
Gp15	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Cocobacilos gramnegativos

En la Tabla 5 se observa que, las bacterias aisladas en el punto de muestreo 2 hay una mezcla de bacilos gramnegativos y grampositivos, con la adición de cocobacilos en agar MacConkey y agar tiosulfato-citrato-sales biliares-sacarosa. Esto muestra que diferentes tipos de bacterias están presentes, algunas de las cuales pueden tener características morfológicas intermedias.

Tabla 5.

Características de las bacterias aisladas del agua del SNLMT en el punto de muestreo 2

Código	Medio de cultivo de aislamiento	Morfología/Gram
G23	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Cocobacilos gramnegativos
G25	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Cocobacilos gramnegativos
G26	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Bacilos cortos grampositivos
G34	Agar Manitol salado	Bacilos gramnegativos
G35	Agar Manitol salado	Bacilos grampositivos

G36	Agar Nutritivo 1,5% NaCl	Bacilos cortos grampositivos
G41	Agar Tiosulfato-citrato-sales biliares-sacarosa	Cocobacilos gramnegativos
G42	Agar Tiosulfato-citrato-sales biliares-sacarosa	Cocobacilos gramnegativos

En la Tabla 6 se puede apreciar que, entre las bacterias aisladas en el punto 3 se destaca la presencia de cocobacilos gramnegativos en el agar MacConkey, y bacilos grampositivos en el agar TCBS.

Tabla 6.

Características de las bacterias aisladas del agua del SNLMT en el punto de muestreo 3

Código	Medio de cultivo de aislamiento	Morfología/Gram
G130	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Cocobacilos gramnegativos
G131	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Cocobacilos gramnegativos
G132	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Cocobacilos gramnegativos
G55	Agar TCBS	Bacilos esporulados grampositivos
1	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Bacilos gramnegativos
4	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Bacilos gramnegativos
5	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Bacilos gramnegativos
6	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Bacilos gramnegativos
7	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Bacilos gramnegativos
9	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Bacilos gramnegativos
20	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Bacilos gramnegativos
21	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Bacilos gramnegativos
22	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Bacilos gramnegativos
23	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Bacilos gramnegativos
25	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Bacilos gramnegativos
30	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Bacilos gramnegativos
31	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Bacilos gramnegativos
32	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Bacilos gramnegativos
33	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Bacilos gramnegativos
34	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Bacilos gramnegativos
Gp2	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Bacilos gramnegativos
Gp10	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Bacilos gramnegativos

En el punto 4 se aislaron solo 4 cepas bacterianas las cuales desarrollaron en agar nutritivo, de las cuales tres fueron cocobacilos gramnegativos y una cepa correspondió a bacilos grampositivas (Tabla 7).

Tabla 7.

Características de las bacterias aisladas del agua del SNLMT en el punto de muestreo 4

Código	Medio de cultivo de aislamiento	Morfología/Gram
G72	Agar Nutritivo	Cocobacilos gramnegativos
G73	Agar Nutritivo	Cocobacilos gramnegativos
G78	Agar Nutritivo	Bacilos grampositivos
G79	Agar Nutritivo	Cocobacilos gramnegativos

En el punto 5 se aislaron 9 cepas, de las que tres cepas fueron bacilos gramnegativos que desarrollaron en agar MacConkey, mientras que en otros medios utilizados se encontraron cepas de morfología de bacilos con esporas y bacilos cortos grampositivos (Tabla 8).

Tabla 8.

Características de las bacterias aisladas del agua del SNLMT en el punto de muestreo 5

Código	Medio de cultivo de aislamiento	Morfología/Gram
G90	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Bacilos gramnegativos
G91	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Bacilos gramnegativos
G92	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Bacilos gramnegativos
G100	Agar Nutritivo 1,5% NaCl	Bacilos esporulados grampositivos
G105	Agar Nutritivo	Bacilos grampositivos
G106	Agar Nutritivo	Bacilos cortos grampositivos
G108	Agar TCBS	Bacilos cortos grampositivos
G111	Manitol	Bacilos grampositivos
G112	Manitol	Bacilos grampositivos

Esta diversidad indica que el ambiente del manglar puede sostener tanto bacterias esporuladas, que sobreviven en condiciones adversas, así como bacterias de no esporuladas grampositivas como gramnegativas.

En la Tabla 9 observamos que las bacterias aisladas de la muestra del punto 6 tuvieron característica tintorial y morfológica de bacilos grampositivos y formas filamentosas en el agar tiosulfato-citrato-sales biliares-sacarosa, mientras que los bacilos grampositivos y esporulados grampositivos desarrollaron en el agar nutritivo.

Tabla 9.

Características de las bacterias aisladas del agua del SNLMT en el punto de muestreo 6

Código	Medio de cultivo de aislamiento	Morfología/Gram
G113	Agar Macconkey 1,5% NaCl	Bacilos gramnegativos
G116	Agar Nutritivo 1,5% NaCl	Bacilos grampositivos
G120	Agar Nutritivo 1,5% NaCl	Bacilos esporulados grampositivos
G126	Agar TCBS	Bacilos grampositivos
G127	Agar TCBS	Bacilos filamentosos grampositivos
G128	Agar TCBS	Bacilos gramnegativos
G129	Agar TCBS	Bacilos filamentosos grampositivos

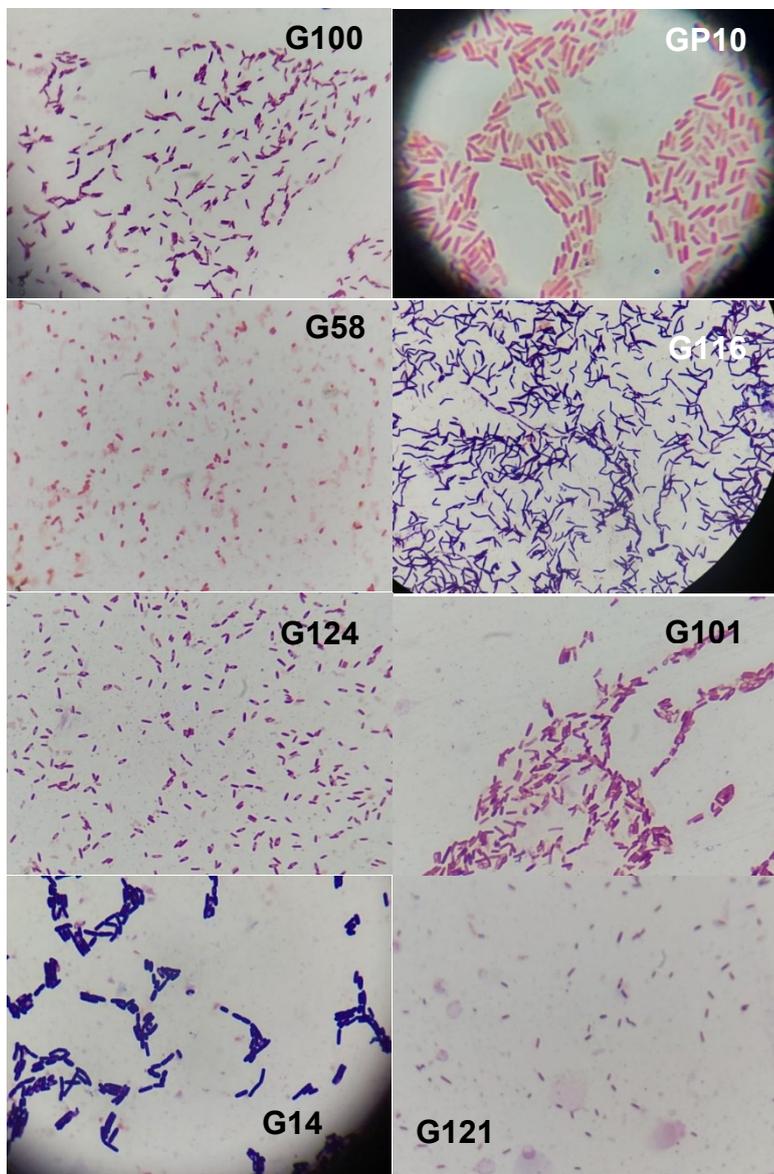


Figura 3.
Microfotografías de Bacterias: Morfología Gram.

Cuando las bacterias se cultivaron en agar cromogénico para enterobacterias, tras el crecimiento, según la tabla de interpretación del fabricante, menciona que las especies de *E. coli* se colorearan de rosa oscuro a rojizo, mientras que las especies de *Klebsiella* se colorearan de verde metálico, tal como se aprecia en la Figura 4, las cepas de los códigos 25,30, GP9 y GP10 son considerado *E coli*, mientras que los códigos 29, GP1 y GP12 son consideradas especies dentro del género *Klebsiella/Enterobacter*.

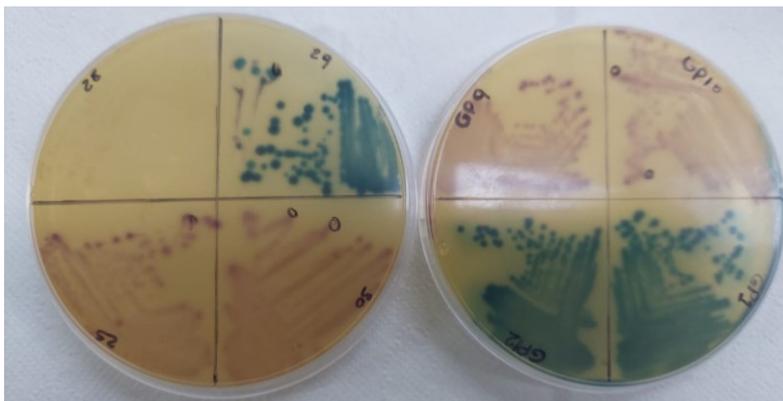


Figura 4.
Cultivo de bacterias gramnegativas en agar cromogénico.

Se aislaron 58 cepas de bacilos gramnegativos, sin embargo, solo 41 cepas resultaron viables. En la Tabla 10 observamos que tras el cultivo en agar cromogénico para bacilos gramnegativos, así como otras características como pigmento (para las que no resultaron ser enterobacterias), 22 cepas fueron identificadas como *Escherichia coli*, 7 cepas como *Klebsiella/Enterobacter* y 3 cepas pigmentadas como *Pseudomonas sp.*

Tabla 10.
Identificación de bacterias aisladas del agua SNLMT.

Especie	Gram	Cantidad
<i>Escherichia coli</i>	(-)	22
<i>Klebsiella/Enterobacter</i>	(-)	07
<i>Pseudomonas sp.</i>	(-)	03
Bacilos sin identificar	(-)	09
Total		41

La prevalencia de *E. coli* es aprecia en múltiples investigaciones realizadas en manglares, tal es el caso de, Oliveira et al. (2020) que encontraron 1×10^4 células de *E. coli* en ostras del manglar de Santo Antônio de Urindeua. Asimismo, Sivan et al. (2023) llegaron a aislar 119 cepas de *E. coli*, además, según el análisis filogenético de los aislados de *E. coli*, los filotipos predominantes en las muestras de agua fueron el grupo no patógeno A y el grupo patógeno D, con un 29,4% y un 23,5% respectivamente.

La especie *E. coli* es abundante y genéticamente diversa en los estuarios de los manglares (Ghaderpour et al., 2015). Además, la alta prevalencia de las especies en los aislamientos evidencia la contaminación por aguas residuales, tal como lo menciona Poharkar et al., (2014). De igual forma, la presencia de *Klebsiella* también es indicador de contaminación en el agua y suelos de humedales (Chantarasiri, 2020).

En la Tabla 11, se aprecian las pruebas sometidas a pruebas de susceptibilidad de Oxitetraciclina (ot) 30 µg, Enrofloxacin (enr) 5 µg, Florfenicol (ffc) 30 µg y Trimetropin-Sulfametoxazol (sxt) 25 µg. Cada cepa fue expuesta a varios antibióticos, y se registró si las bacterias eran susceptibles o resistentes a cada uno. Se encontró que dos cepas de *E.coli* presentan resistencia a 3 antibioticos (cepa 17: enr, ffc y sxt; cepa 33: ot, ffc y sxt), también la cepa G88 mostró un comportamiento similar (resistencia a ot, enr y sxt). Tres cepas de *E. coli* y una cepa de *Klebsiella/Enterobacter sp.* mostraron resistencia a ot, solo una cepa de *Pseudomonas sp.* presentó resistencia a ffc, mientras que de bacilos no identificados fueron resistentes a stx y ffc, respectivamente. Esto indica un nivel preocupante de resistencia múltiple.

Respecto a *E. coli*, se encontraron que 5 cepas presentaron resistencia a los medicamentos, esta resistencia de *E. coli* se observa también en la investigación de Martínez-Orgániz et al. (2020). Ante eso, Jimenez y Rodríguez (2023), menciona que la resistencia de *E. coli* frente a diversos antibióticos en medio acuático, es porque a menudo estos ecosistemas reciben antibióticos a través de desechos de la acuicultura, lo que puede promover la resistencia al crear un ambiente donde las bacterias resistentes tienen una ventaja para sobrevivir y multiplicarse.

Tabla 11.

Perfil de susceptibilidad *antibiótica de las especies bacterianas aisladas del agua SNLMT*

Código	Especie	Oxitetraciclina 30 ug (1)	Enrofloxacina 5 ug (2)	Florfenicol 30 ug (3)	Trim-sulfametox. 25 ug (4)
1	<i>E. coli</i>	S	S	S	S
4	<i>E. coli</i>	S	S	S	S
5	<i>E. coli</i>	S	S	S	S
6	<i>Bacilo gram (-)</i>	S	S	S	R
7	<i>E. coli</i>	S	S	S	S
9	<i>E. coli</i>	S	S	S	S
10	<i>Klebsiella/Enterobacter</i>	S	I	S	S
12	<i>Bacilo gram (-)</i>	S	S	S	S
13	<i>E. coli</i>	S	S	S	S
14	<i>Pseudomonas sp.</i>	S	S	S	S
15	<i>Klebsiella/Enterobacter</i>	S	S	S	S
16	<i>E. coli</i>	S	S	S	S
17	<i>E. coli</i>	S	R	R	R
18	<i>E. coli</i>	S	S	S	S
20	<i>E. coli</i>	S	S	S	S
21	<i>Klebsiella/Enterobacter</i>	S	S	S	S
22	<i>E. coli</i>	S	S	S	S
23	<i>E. coli</i>	S	S	S	S
25	<i>E. coli</i>	S	S	S	S
28	<i>Pseudomonas sp.</i>	S	S	R	I
29	<i>Klebsiella/Enterobacter</i>	S	S	S	S
30**	<i>E. coli</i>	S	S	S	S
32	<i>E. coli</i>	S	S	S	S
33	<i>E. coli</i>	R	I	R	R
34	<i>E. coli</i>	S	S	S	S
88	<i>Bacilo gram (-)</i>	S	S	S	S
Gp1	<i>Klebsiella/Enterobacter</i>	R	S	S	S
Gp2	<i>Klebsiella/Enterobacter</i>	S	S	S	S
Gp9	<i>E. coli</i>	R	S	S	I
Gp10	<i>E. coli</i>	R	S	S	S
Gp12	<i>Klebsiella/Enterobacter</i>	S	S	S	S
Gp14	<i>E. coli</i>	S	S	S	S
Gp15	<i>E. coli</i>	S	S	S	S
G4	<i>E. coli</i>	R	I	S	I
G46	<i>Bacilo gram (-)</i>	S	S	S	S
G73	<i>Bacilo gram (-)</i>	S	I	S	S
G75	<i>Bacilo gram (-)</i>	I	S	R	I
G79	<i>Pseudomonas sp.</i>	S	S	S	S
G85	<i>Bacilo gram (-)</i>	R	S	S	R
G88	<i>Bacilo gram (-)</i>	R	R	S	R
G113	<i>Bacilo gram (-)</i>	S	S	S	S

Leyenda: R: resistente; S: susceptible, I: intermedio.

El SNLMT es diariamente impactado por la actividad acuícola, tal como se describe en la investigación de Vargas (2023), donde la mayor parte de la zona de amortiguamiento que debería de proteger el SNLMT se encuentra ocupado por empresas acuícolas que constantemente vierten sus aguas en los esteros que alimentan el SNLMT, además menciona que para este tipo de actividad no se cuenta con límites máximos permisibles para sus vertimientos, lo que vulnera aún más la fragilidad de este ecosistema.

La resistencia de *E. coli* encontrada en el SNLMT es de gran importancia porque estos ecosistemas costeros albergan una biodiversidad única y proveen servicios vitales como protección costera y conservación de la fauna marina (SERNANP, 2017). Además, estos ambientes al estar cubiertos de agua son más vulnerables a la transferencia de genes de resistencia entre bacterias (Jimenez y Rodríguez, 2023), lo que afectaría la interacción entre microorganismos en el ecosistema (Robles et al., 2019), además de la propagación de estas bacterias resistentes desde el manglar al entorno humano mediante el consumo de su fauna marina (Palacios et al., 2021a).

Uno de los principales mecanismos de resistencia es la adquisición de genes de resistencia a través de plásmidos, que son fragmentos de ADN extracromosómico que pueden transferirse entre bacterias. Estos plásmidos a menudo contienen múltiples genes de resistencia, permitiendo que *E. coli* resista varios antibióticos al mismo tiempo (Oliveira et al., 2020). Además, elementos genéticos móviles como los transposones y los integrones pueden capturar y movilizar estos genes de resistencia, facilitando su integración en el genoma bacteriano o en otros plásmidos, y promoviendo su diseminación (Palacios et al., 2021b).

Otra vía importante es la aparición de mutaciones en el cromosoma bacteriano. Estas mutaciones pueden ocurrir en genes que codifican las proteínas blanco de los antibióticos (Feliatra et al., 2021). Por ejemplo, mutaciones en genes de las topoisomerasas pueden disminuir la afinidad de la enrofloxacin por su objetivo, reduciendo así la eficacia del antibiótico (Grabowski et al., 2022).

E. coli también puede desarrollar resistencia a través de la modificación de las proteínas blanco de los antibióticos. Por ejemplo, las alteraciones en los ribosomas pueden impedir que la oxitetraciclina se una eficazmente (Wood et al., 2023),

mientras que cambios en las enzimas involucradas en la síntesis de ácido fólico pueden conferir resistencia al sulfametoxazol (de los Santos et al., 2021).

Otra estrategia es la inactivación enzimática de los antibióticos. *E. coli* puede producir enzimas que modifican o destruyen los antibióticos antes de que puedan actuar (Schaenzer y Wright, 2020). Por ejemplo, las tetraciclinasas pueden inactivar la oxitetraciclina, neutralizando su efecto (Sepúlveda-Correa et al., 2021).

El uso excesivo e inadecuado de antibióticos crea una presión selectiva que favorece la supervivencia y proliferación de bacterias resistentes (Shen, 2020). En el contexto de las actividades langostineras, el uso constante de estos antibióticos puede crear reservorios de genes de resistencia en el ecosistema. Estas condiciones facilitan la adquisición de resistencia por parte de *E. coli* y otras bacterias presentes en el medio ambiente (Sang et al., 2023).

La resistencia bacteriana en un ecosistema como el manglar puede tener repercusiones significativas en la conservación del medio ambiente y la salud de los ecosistemas acuáticos. La presencia de bacterias resistentes puede perturbar los procesos ecológicos naturales del manglar y afectar la diversidad de microorganismos, lo que desequilibra el ecosistema (Jiang et al., 2021).

En el transcurso del proyecto de investigación sobre la resistencia bacteriana en el ecosistema del manglar, se han identificado ciertas limitaciones en la metodología que podrían afectar la integridad y la amplitud de los hallazgos. Una de estas limitaciones radica en el tamaño y la representatividad de las muestras tomadas del manglar. Para abordar esta cuestión, sería beneficioso aumentar el número de muestras y diversificar las ubicaciones de muestreo dentro del manglar, lo que proporcionaría una imagen más completa de la resistencia bacteriana en este ecosistema.

Además, se podrían aplicar técnicas moleculares avanzadas, como la secuenciación del ADN o el análisis de metagenómica, para profundizar en la diversidad genética y los mecanismos de resistencia bacteriana presentes en el manglar. Es crucial mejorar la precisión de las pruebas de sensibilidad a los antibióticos. Esto podría lograrse utilizando diferentes concentraciones de antibióticos y realizando pruebas fenotípicas y genotípicas para detectar diversos mecanismos de resistencia.

V. Conclusiones

La calidad microbiológica del agua del estuario del SNLMT cumple con los ECAs establecidos, sin embargo se encontraron bacterias resistentes a los antibióticos utilizados en la actividad langostinera.

Los análisis microbiológicos del agua en los diferentes puntos de muestreo, mostraron que los valores de coliformes termotolerantes en el agua del estuario estuvieron por debajo del límite establecido por los Estándares de Calidad Ambiental (1000 NMP/100 ml). Sin embargo, la concentración de coliformes termotolerantes aumenta de acuerdo a la zona de cercanía a las empresas langostineras, lo que indica que las actividades acuícolas cercanas tienen un impacto directo sobre la calidad del agua, especialmente en las zonas cercanas a los vertidos industriales.

Se aislaron un total de 41 cepas bacterianas de los puntos de muestreo, siendo predominantes las especies de bacilos gramnegativos *Escherichia coli*, *Klebsiella/Enterobacter sp.* y *Pseudomonas sp.* Estos microorganismos son indicadores de contaminación fecal y de aguas residuales, lo que sugiere la presencia de microorganismos potencialmente patógenos en el ecosistema acuático.

Se evaluó la resistencia antibiótica de las bacterias aisladas, encontrándose que cepas de *E. coli*, *Klebsiella/Enterobacter sp.* y *Pseudomonas sp.* mostraron resistencia a antibióticos usados en la industria langostinera, como oxitetraciclina, enrofloxacina, florfenicol y sulfametoxazol. Esta resistencia puede estar vinculada al uso extendido de estos antibióticos en las prácticas de acuicultura.

VI. Recomendaciones

Establecer un monitoreo continuo de la calidad microbiológica del agua del SNLMT, especialmente en las zonas cercanas a los vertidos industriales de las langostineras. Esto permitirá detectar posibles variaciones en la concentración de coliformes y bacterias patógenas a tiempo y tomar medidas correctivas inmediatas, asegurando así la protección del ecosistema y la salud pública.

Mejorar la gestión de los efluentes de las langostineras mediante la implementación de sistemas de tratamiento de aguas residuales. Esto disminuirá la carga de contaminación microbiológica en las aguas del estuario y reducirá el impacto de las actividades acuícolas en la calidad del agua.

Implementar programas de educación y sensibilización para los actores involucrados en las actividades industriales y agrícolas cercanas al SNLMT, sobre el impacto ambiental de sus prácticas.

Realizar investigaciones referentes a los genes de resistencia presente en el SNLMT:

- a) Realizar un análisis exhaustivo del perfil de resistencia genética de las cepas bacterianas aisladas. Esto implicaría secuenciar el genoma de las bacterias resistentes para identificar los genes específicos responsables de la resistencia a los antibióticos.
- b) Investigar cómo los factores ambientales, como la temperatura, la humedad y la disponibilidad de nutrientes, pueden influir en la expresión y la propagación de los genes de resistencia en las bacterias del SNLMT.
- c) Estudiar la persistencia de los genes de resistencia en el medio ambiente, incluidos suelo y agua, para comprender mejor su ciclo de vida y su capacidad para persistir y propagarse en el entorno natural.

VII. Referencias bibliográficas

- Ali, A., Alfarhan, A., Robinson, E., & Altesan, W. (2009). Soil Quality of Die off and Die Back Mangrove Grown at Al-Jubail Area (Saudi Arabia) of the Arabian Gulf. *American Journal of Applied Sciences*, 6(3), 498-506. <https://doi.org/10.3844/ajas.2009.498.506>
- Angulo Pradolongo, F. (2014). Los manglares del Perú. *Xilema*, 27, 5-9. https://www.academia.edu/38142949/Angulo_F_Xilema_27_Los_Manglares_pdf
- Ariza-Montobbio, P., & Cuvi, N. (2020). Ecosystem-based Adaptation in Ecuador: Good Practices for Adaptive Co-Management. *Ambiente & Sociedade*, 23. <https://doi.org/10.1590/1809-4422asoc20180315r2vu2020l4ao>
- Barbier, E. B. (2016). The protective service of mangrove ecosystems: A review of valuation methods. *Marine Pollution Bulletin*, 109(2), 676-681. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.01.033>
- Calle, W. (2009). *Diagnostico de la Situación Actual del Ecosistema Manglar en el Ecuador*. [Tesis de pregrado, Escuela Superior Politécnica del Litoral]. <http://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/6193>
- Carvalho, M. C. N., Jayme, M. M., Arenazio, G. S., Araújo, F. V., Leite, S. G. F., & Del Aguila, E. M. (2016). Microbiological Quality Assessment by PCR and Its Antibiotic Susceptibility in Mangrove Crabs (*Ucides cordatus*) from Guanabara Bay, Rio de Janeiro, Brazil. *International Journal of Microbiology*, 2016, 1-9. <https://doi.org/10.1155/2016/7825031>
- Chantarasiri, A. (2020). Klebsiella and Enterobacter Isolated from Mangrove Wetland Soils in Thailand and Their Application in Biological Decolorization of Textile Reactive Dyes. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(20), 7531. <https://doi.org/10.3390/ijerph17207531>
- de los Santos, E., Laviña, M., & Poey, M. E. (2021). Strict relationship between class 1 integrons and resistance to sulfamethoxazole in Escherichia coli. *Microbial Pathogenesis*, 161, 105206. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.105206>
- Duke, N., Meynecke, J., Dittmann, S., Ellison, A., Anger, K., Berger, U., Cannicci, S., Diele, K., Ewel, K., Field, C., Koedam, N., Lee, S., Marchand, C., Nordhaus, I., & Dahdouh- Guebas, F. (2007, enero 1). *¿Un mundo sin manglares?* Environmental Law Alliance Worldwide . <https://elaw.org/es/resource/a-world-without-mangroves>
- Feliatra, F., Mardalisa, M., Effendi, I., Adelina, A., & Feliatra, V. A. (2021). Biodiversity of Escherichia coli bacterial resistance to multidrug isolated on the Dumai coast of Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 23(1). <https://doi.org/10.13057/biodiv/d230102>

- Gandaseca. (2011). Status of Water Quality Based on the Physico-Chemical Assessment on River Water at Wildlife Sanctuary Sibuti Mangrove Forest, Miri Sarawak. *American Journal of Environmental Sciences*, 7(3), 269-275. <https://doi.org/10.3844/ajessp.2011.269.275>
- Ghaderpour, A., Ho, W. S., Chew, L.-L., Bong, C. W., Chong, V. C., Thong, K.-L., & Chai, L. C. (2015). Diverse and abundant multi-drug resistant E. coli in Matang mangrove estuaries, Malaysia. *Frontiers in Microbiology*, 6. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00977>
- Gianoli, A., Hung, A., & Shiva, C. (2019). Relación entre coliformes totales y termotolerantes con factores fisicoquímicos del agua en seis playas de la bahía de Sechura-Piura 2016-2017. *Salud y Tecnología Veterinaria*, 6(2), 62. <https://doi.org/10.20453/stv.v6i2.3460>
- Grabowski, Ł., Gaffke, L., Pierzynowska, K., Cyske, Z., Choszcz, M., Węgrzyn, G., & Węgrzyn, A. (2022). Enrofloxacin—The Ruthless Killer of Eukaryotic Cells or the Last Hope in the Fight against Bacterial Infections? *International Journal of Molecular Sciences*, 23(7), 3648. <https://doi.org/10.3390/ijms23073648>
- Hidalgo Mogollón, A. (2008). Impacto ambiental de la actividad langostinera, extractiva y agrícola sobre el ecosistema de manglar en el litoral de la región Tumbes [Tesis doctoral, Universidad Nacional de Trujillo]. En *Universidad Nacional de Trujillo*. <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/1735>
- Huapaya, P. (2008). *Procedimiento De Analisis De Coliformes Totales, Fecales, Termotolerantes Y E.coli para aguas de estuario*.
- INRENA. (2007). *Plan Maestro 2007 - 2011. Santuario Nacional Los Manglares de Tumbes*. Instituto Nacional de Recursos Naturales. <https://sinia.minam.gob.pe/documentos/plan-maestro-2007-2011-santuario-nacional-manglares-tumbes>
- Instituto Geofísico del Perú. (2013). *Identificación de servicios ecosistémicos en el Santuario Nacional Los Manglares De Tumbes* [Informe técnico]. Instituto Geofísico del Perú.
- Instituto Geofísico del Perú (IGP). (2014). *Gestión sostenible de recursos naturales en el ecosistema de manglares de Tumbes: análisis del territorio y diagnóstico socioeconómico* [Informe técnico, Instituto Geofísico del Perú]. <http://hdl.handle.net/20.500.12816/476>
- Jara, B., Tucca, F., Srain, B. M., Méjanelle, L., Aranda, M., Fernández, C., & Pantoja-Gutiérrez, S. (2021). Antibiotics florfenicol and flumequine in the water column and sediments of Puyuhuapi Fjord, Chilean Patagonia. *Chemosphere*, 275, 130029. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130029>
- Jayo Cuellar, Z. (2022). *Evaluación de la contaminación del Rio Muyurina empleando el Método de los Índices de Contaminación (ICO), Ayacucho 2018 - 2019* [Tesis de maestría, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga]. <http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/5780>

- Jiang, C., Diao, X., Wang, H., & Ma, S. (2021). Diverse and abundant antibiotic resistance genes in mangrove area and their relationship with bacterial communities - A study in Hainan Island, China. *Environmental Pollution*, 276, 116704. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116704>
- Jimenez Quiceno, J. N., & Rodríguez, E. A. (2023). Resistencia bacteriana en ambientes acuáticos: origen e implicaciones para la salud pública. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública*, 41(3), e351453. <https://doi.org/10.17533/udea.rfnsp.e351453>
- Liu, T., Lun, J., Zheng, P., Feng, J., Meng, S., Peng, T., & Hu, Z. (2020). Diversity and distribution of antibiotics and antibiotic resistance genes in seven national mangrove nature reserves, South China. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 153, 105000. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2020.105000>
- López Portillo, J., & Ezcurra, E. (2002). Los manglares de México: una revisión. *Madera y Bosque*, 27-51. <http://www1.inecol.edu.mx/publicaciones/resumeness/no.%20esp.1/lopez%20portillo%20y%20ezcurra%202002r.pdf#:~:text=RESUMEN%20En%20este%20trabajo%20se%20revis%C3%B3%20la%20informaci%C3%B3n,pa%C3%ADs%20as%C3%AD%20como%20los%20l%C3%ADmites%20de%20su%20distribuci%C3%B3n>
- Malaver, N., Rodríguez, M., & Aguilar, V. H. (2014). Un diagnóstico de la calidad microbiológica del agua de la laguna de Tacarigua, Estado Miranda, Venezuela. *Acta Biologica Venezuelica*, 34(2), 203-226. https://www.researchgate.net/publication/303327479_UN_DIAGNOSTICO_DE_LA_CALIDAD_MICROBIOLOGICA_DEL_AGUA_DE_LA_LAGUNA_DE_TACARIGUA_ESTADO_MIRANDA_VENEZUELA
- Martínez-Orgániz, A., Garza-Ramos, U., Sampedro-Rosas, M. L., González-González, J., Nava-Faustino, G., & Toribio Jiménez, J. (2020). Patotipos y resistencia a antibióticos de *Escherichia coli* en agua residual. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. <https://doi.org/10.20937/RICA.53711>
- Ministerio del Ambiente (MINAM). (2011). *Plan Nacional de Acción Ambiental - PLANAA 2011-2021*. <https://sinia.minam.gob.pe/documentos/plan-nacional-accion-ambiental-planaa-peru-2011-2021#:~:text=Describe%20el%20camino%20hacia%20el%20Bicentenario%20de%20la,ser%20humano%20en%20permanente%20armon%C3%ADa%20con%20su%20entorno>
- Ministerio del Ambiente (MINAM). (2017). *Estandar de Calidad Ambiental*.
- Mog, M., Ngasotter, S., Tesia, S., Waikhom, D., Panda, P., Sharma, S., & Varshney, S. (2020). Problems of antibiotic resistance associated with oxytetracycline use in aquaculture: A review. *J. Entomol. Zool. Stud*, 8, 1075-1082.
- Moreno Casasola, P., Rojas Galaviz, J. L., Zárate Lomelí, D., Ortiz Pérez, M. A., Lara Domínguez, A. L., & Saavedra Vázquez, T. (2002). Diagnóstico de los

manglares de Veracruz: distribución, vínculo con los recursos pesqueros y su problemática. *Madera y Bosques*, 61-88. <https://www.redalyc.org/comocitar.oa?id=61709804>

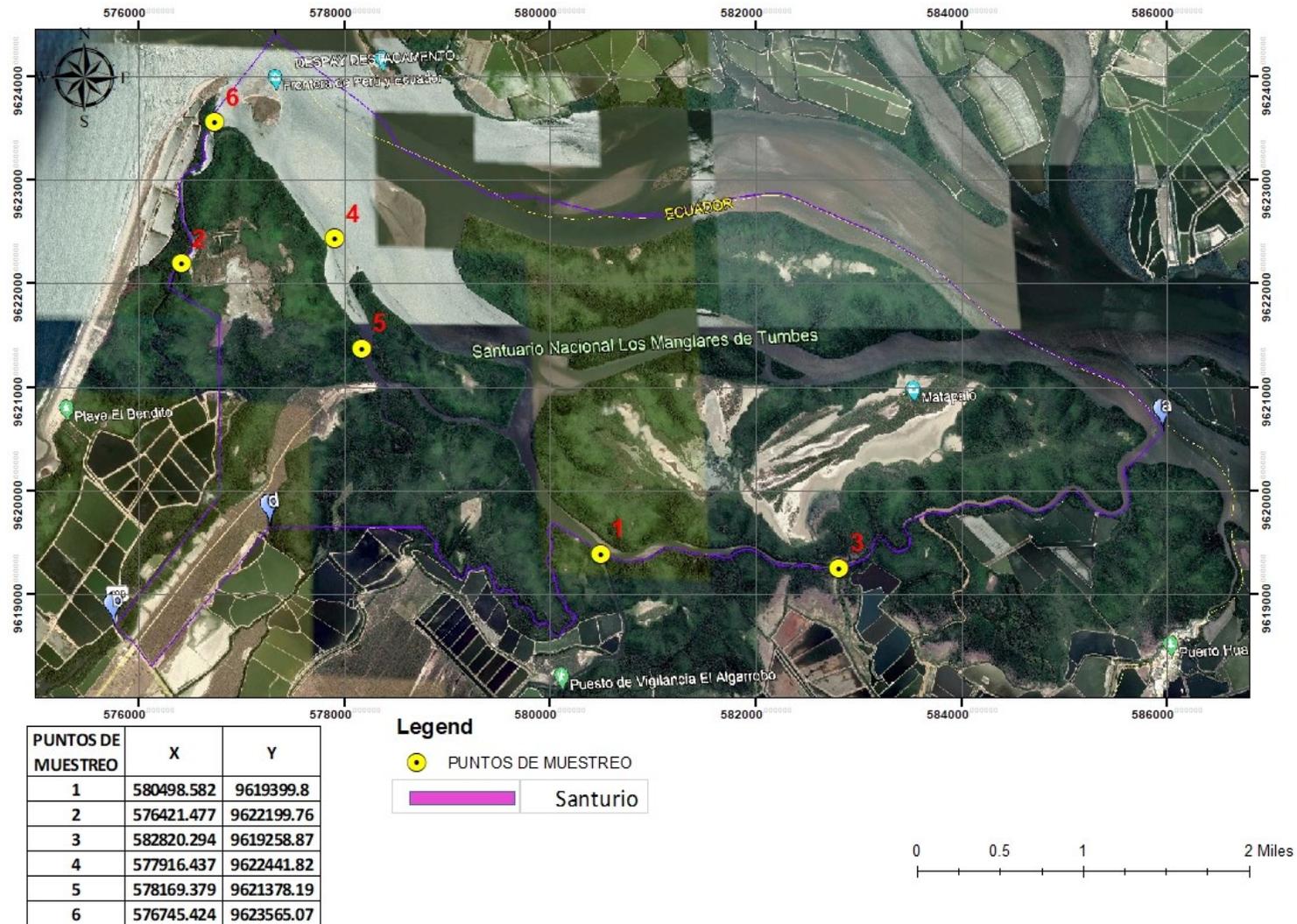
- Nogales, B., Lanfranconi, M. P., Piña-Villalonga, J. M., & Bosch, R. (2011). Anthropogenic perturbations in marine microbial communities. *FEMS Microbiology Reviews*, 35(2), 275-298. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2010.00248.x>
- Oliveira, A. M. S., Baraúna, R. A., Marcon, D. J., Lago, L. A. B., Silva, A., Lusio, J., Tavares, R. D. S., Tacão, M., Henriques, I., & Schneider, M. P. C. (2020). Occurrence, antibiotic-resistance and virulence of *E. coli* strains isolated from mangrove oysters (*Crassostrea gasar*) farmed in estuaries of Amazonia. *Marine Pollution Bulletin*, 157, 111302. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111302>
- Olson, D. M., Dinerstein, E., Wikramanayake, E. D., Burgess, N. D., Powell, G. V. N., Underwood, E. C., D'amico, J. A., Itoua, I., Strand, H. E., & Morrison, J. C. (2001). Terrestrial Ecoregions of the World: A New Map of Life on Earth: A new global map of terrestrial ecoregions provides an innovative tool for conserving biodiversity. *BioScience*, 51(11), 933-938. [https://doi.org/https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2001\)051\[0933:TEOTWA\]2.0.CO;2](https://doi.org/https://doi.org/10.1641/0006-3568(2001)051[0933:TEOTWA]2.0.CO;2)
- Palacios, O. A., Adame-Gallegos, J. R., Rivera-Chavira, B. E., & Nevarez-Moorillon, G. V. (2021a). Antibiotics, Multidrug-Resistant Bacteria, and Antibiotic Resistance Genes: Indicators of Contamination in Mangroves? *Antibiotics*, 10(9), 1103. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10091103>
- Palacios, O. A., Adame-Gallegos, J. R., Rivera-Chavira, B. E., & Nevarez-Moorillon, G. V. (2021b). Antibiotics, Multidrug-Resistant Bacteria, and Antibiotic Resistance Genes: Indicators of Contamination in Mangroves? *Antibiotics*, 10(9), 1103. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10091103>
- Poharkar, K. V., Kerkar, S., Doijad, S. P., & Barbuddhe, S. B. (2014). Prevalence and genetic profiles of *Escherichia coli* from mangroves and mangrove associated foods off Goa, India. *Marine Pollution Bulletin*, 85(1), 86-91. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.06.018>
- Rambok. (2010). Comparison of Selected Soil Chemical Properties of Two Different Mangrove Forests in Sarawak. *American Journal of Environmental Sciences*, 6(5), 438-441. <https://doi.org/10.3844/ajessp.2010.438.441>
- Robles López, K., Ortiz Reyes, A., Urrego Giraldo, L. E., & Romero Tabarez, M. (2019). Diversidad e interacciones biológicas en el ecosistema de manglar. *Revista de Ciencias*, 22(2). <https://doi.org/10.25100/rc.v22i2.7925>
- Sang, Y., Mo, S., Zeng, S., Wu, X., Kashif, M., Song, J., Yu, D., Bai, L., & Jiang, C. (2023). Model of shrimp pond-mediated spatiotemporal dynamic distribution of antibiotic resistance genes in the mangrove habitat of a subtropical gulf.

- Science of The Total Environment*, 905, 167199. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.167199>
- Schaenzer, A. J., & Wright, G. D. (2020). Antibiotic Resistance by Enzymatic Modification of Antibiotic Targets. *Trends in Molecular Medicine*, 26(8), 768-782. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2020.05.001>
- Sepúlveda-Correa, A., Daza-Giraldo, L. V., Polanía, J., Arenas, N. E., Muñoz-García, A., Sandoval-Figueroa, A. V., & Vanegas, J. (2021). Genes associated with antibiotic tolerance and synthesis of antimicrobial compounds in a mangrove with contrasting salinities. *Marine Pollution Bulletin*, 171, 112740. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112740>
- SERNANP. (2017). *Plan Maestro: Santuario Nacional Los Manglares de Tumbes 2017 - 2021*.
- Servicio Nacional de Áreas Naturales Protegidas por el Estado (SINANPE). (2021). *Análisis del estado de conservación de los ecosistemas dentro de las ANP mediante la evaluación de los efectos generados por las actividades antrópicas* [Reporte Técnico N° 004- 2021-SERNANP-DDE, Servicio Nacional de Áreas Naturales Protegidas por el Estado]. <https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/2203823/Reporte%20T%C3%A9cnico%20I%20Trimestre%202021.pdf.pdf>
- Shen, S. (2020). *Antibiotic resistant bacteria, antibiotic resistance genes and potential drivers in the aquatic environments* [Tesis doctoral, The University of Southern Mississippi]. <https://aquila.usm.edu/dissertations/1746>
- Sivan, G., Sukumaran, D. P., Ezhuthanikkunnel, A. P., & Ammanamveetil Abdulla, M. H. (2023). Prevalence of Extended-Spectrum Beta-Lactamase Resistance and CTX-M-Group 1 Gene in *Escherichia coli* from the Water and Sediment of Urbanized Mangrove Ecosystems of Kerala. *Microbial Drug Resistance*, 29(12), 582-588. <https://doi.org/10.1089/mdr.2023.0089>
- Tripathy, S. C., Ray, A. K., Patra, S., & Sarma, V. V. (2005). Water quality assessment of Gautami — Godavari mangrove estuarine ecosystem of Andhra Pradesh, India during September 2001. *Journal of Earth System Science*, 114(2), 185-190. <https://doi.org/10.1007/BF02702020>
- Vargas Collantes, R. G. (2023). *La Contaminación de Ambientes Frágiles: El Caso de la Industria Langostinera en la Zona de Amortiguamiento del Área Natural Protegida Santuario Nacional Los Manglares de Tumbes, Perú* [Tesis de maestría, Pontificia Universidad Católica del Perú]. <http://hdl.handle.net/20.500.12404/26561>
- Wang, T.-T., Shao, S., Fan, S.-D., Tang, W.-Q., Miao, J.-W., Wang, S., Cao, X.-C., Liu, C., Ying, G.-G., Chen, Z.-B., Zhou, H.-L., Diao, X.-P., & Mo, L. (2024). Occurrence, distribution, and risk assessment of antibiotics in a typical aquaculture area around the Dongzhai Harbor mangrove forest on Hainan Island. *Science of The Total Environment*, 920, 170558. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.170558>

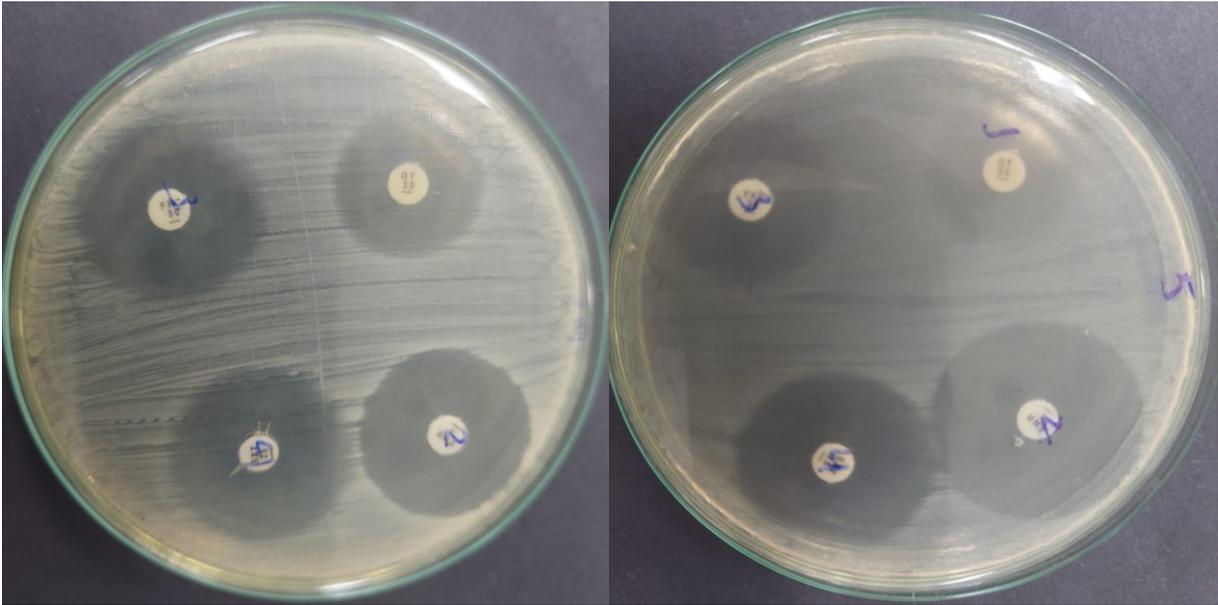
- Wood, E., Schulenburg, H., Rosenstiel, P., Bergmiller, T., Ankrett, D., Gudelj, I., & Beardmore, R. (2023). Ribosome-binding antibiotics increase bacterial longevity and growth efficiency. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 120(40). <https://doi.org/10.1073/pnas.2221507120>
- World Wildlife Fund (WWF). (2011). *Mangrove Forest*. World Wildlife Fund. <https://www.wwfca.org/en/species/mangroves/>
- Yessoufou, K., & Stoffberg, G. H. (2016). Biogeography, threats and phylogenetic structure of mangrove forest globally and in South Africa: A review. *South African Journal of Botany*, 107, 114-120. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2015.11.002>
- Zapién Chavarría, K. A. (2021). *Aislamiento e Identificación de Cepas Resistentes a Antibióticos en Manglares Árido-Tropicales*. [Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Chihuahua]. <http://repositorio.uach.mx/id/eprint/425>

Anexos

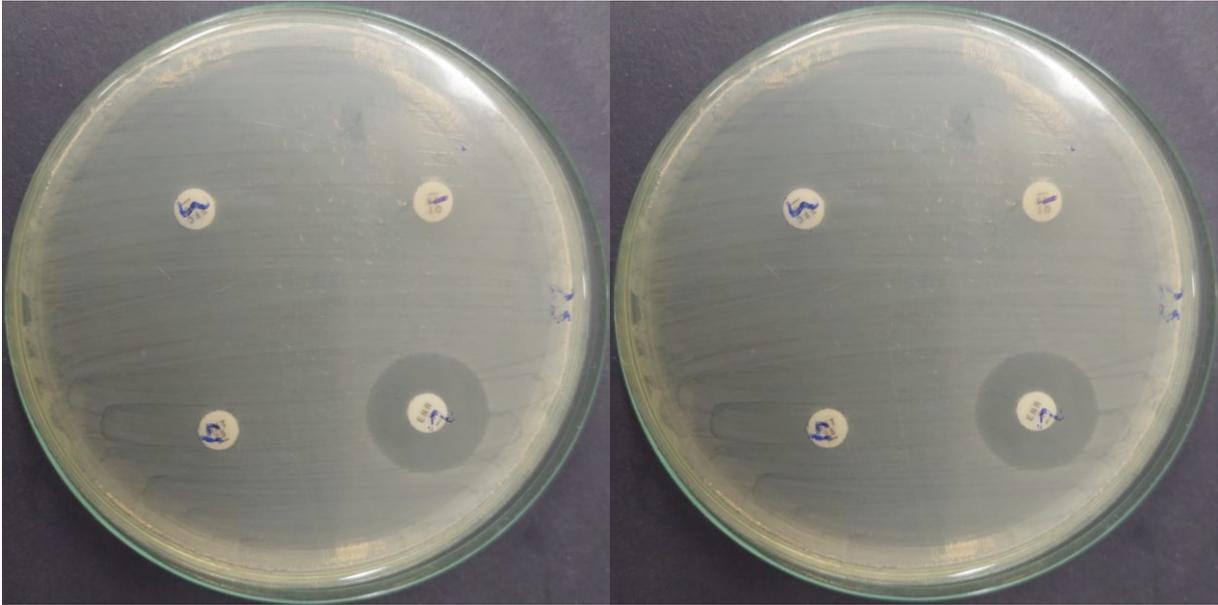
Anexo 1. Distribución de los puntos de muestreo.



Anexo 2. Sensibilidad y Resistencia de bacterias a los antibióticos.

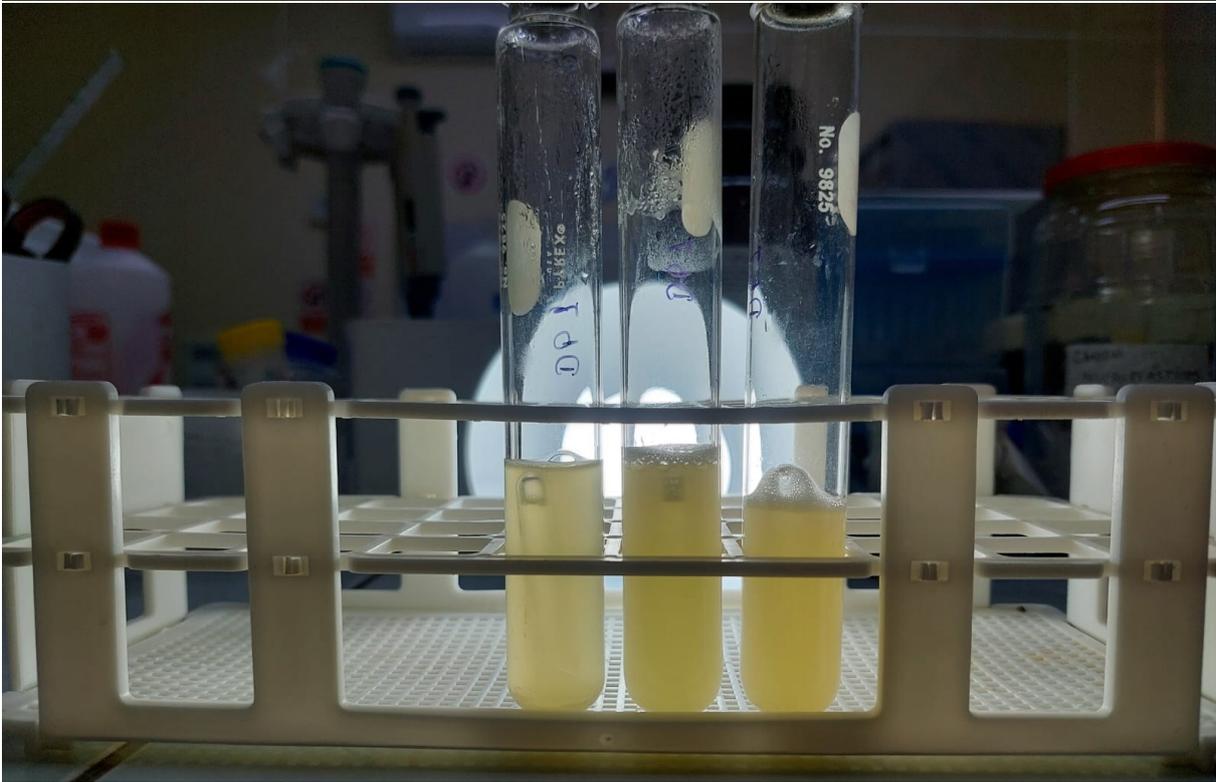
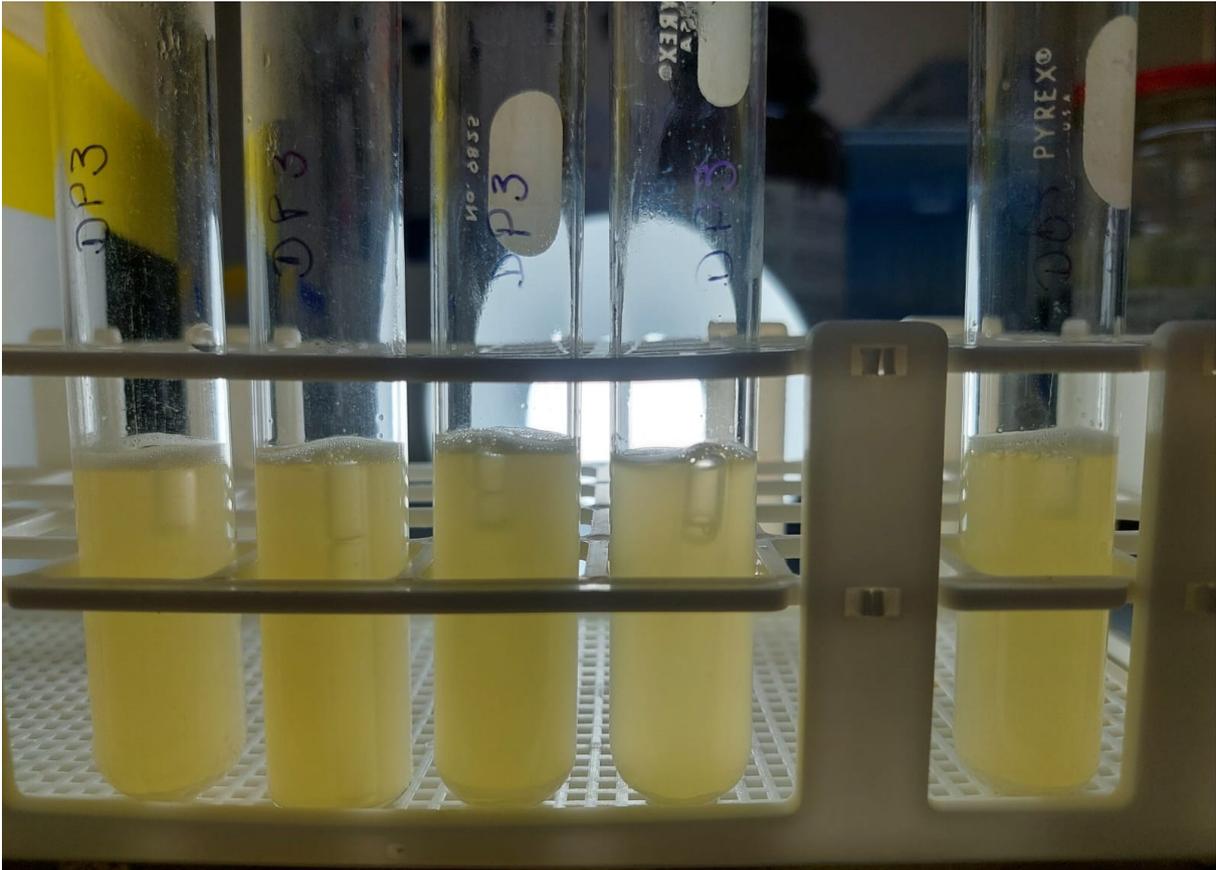


Sensibilidad

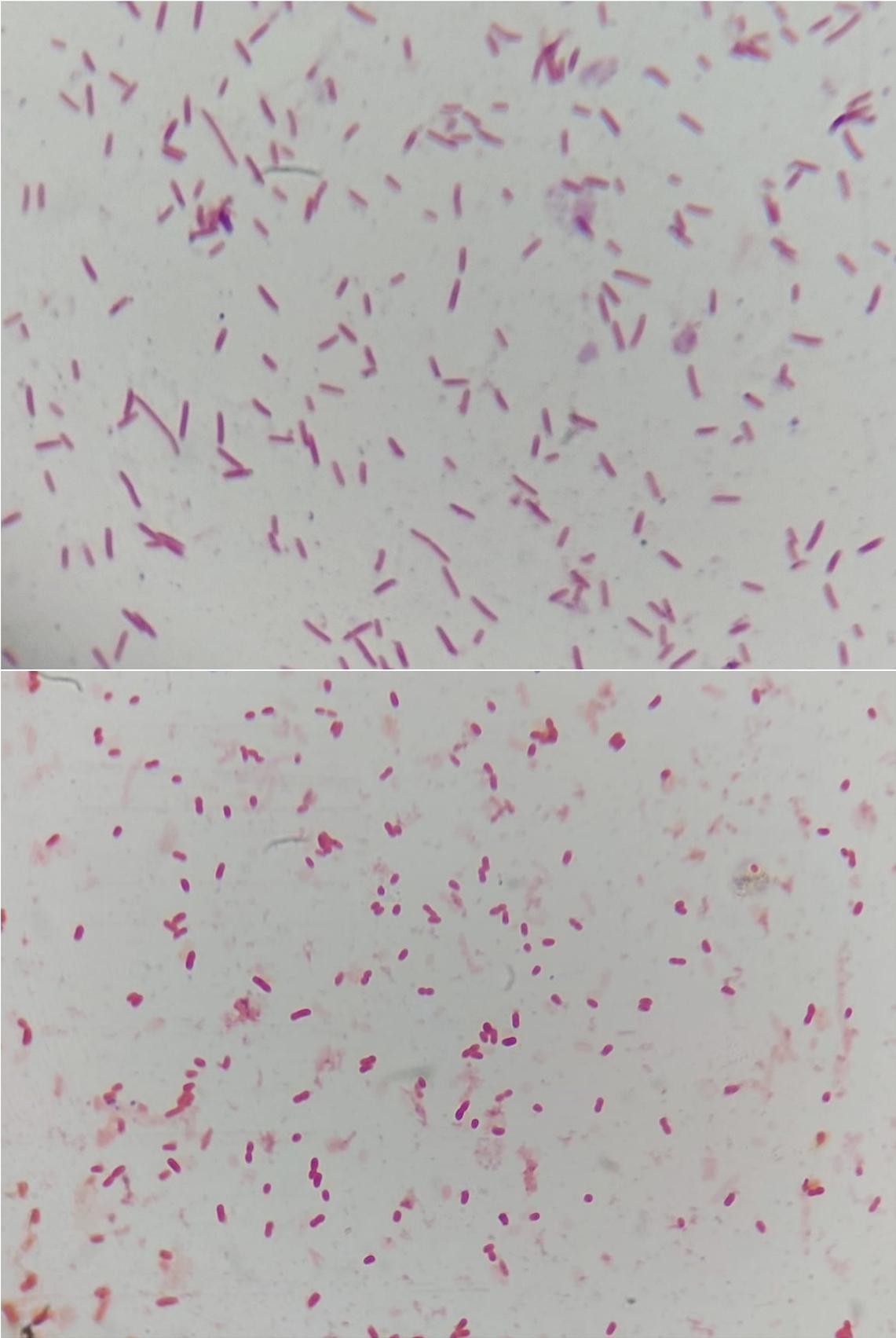


Resistencia

Anexo 3. Tubos positivos de la prueba de determinación del número más probable



Anexo 4. Tincion gram de las cepas.

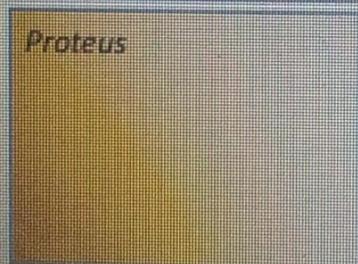
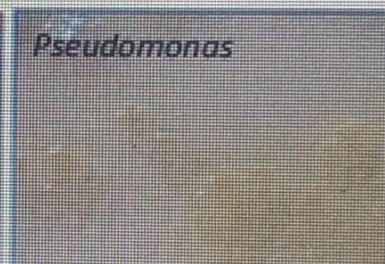
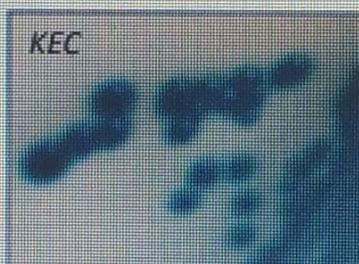
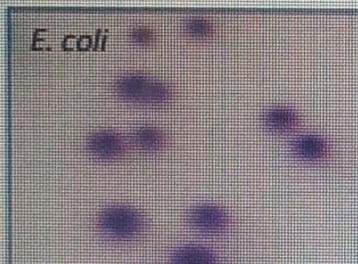


Anexo 5. Interpretación del agar cromogénico

INTERPRETATION

Microorganism	Typical colony appearance
<i>E. coli</i>	→ dark pink to reddish
<i>Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter</i>	→ metallic blue (+/- reddish halo)
<i>Proteus, Morganella, Providencia</i>	→ brown halo
<i>Pseudomonas</i>	→ translucent (+/- natural pigmentation cream to green)
<i>Candida albicans</i>	→ cream, pinpoint colonies
Gram positive bacteria	→ inhibited

Typical colony appearance



The pictures shown are not contractual.

Anexo 6. Identificación de cepas mediante el agar cromogénico.

