

## **ESTUDIO BACTERIOLOGICO DE AGUA DE MAR PARA EL CULTIVO DE MOLUSCOS BIVALVOS EN BAJA CALIFORNIA**

### **BACTERIOLOGICAL STUDY OF SEAWATER FOR THE CULTURE OF BIVALVE MOLLUSCS IN BAJA CALIFORNIA**

María Victoria Orozco-Borbón  
José Antonio Segovia-Zavala  
Francisco Delgadillo-Hinojosa  
Albino Muñoz-Barbosa

Instituto de Investigaciones Oceanológicas  
Universidad Autónoma de Baja California  
Apartado postal 453  
Ensenada, Baja California, México

*Recibido en noviembre de 1993; aceptado en febrero de 1994*

#### **RESUMEN**

Se realizaron muestreos bacteriológicos en cuatro bahías de Baja California, en épocas críticas de contaminación, con el objetivo de determinar la calidad bacteriológica del agua para el cultivo de moluscos bivalvos. Se utilizaron bacterias coliformes totales y fecales como indicadores bacteriológicos de contaminación, determinándolas con el método estándar del número más probable (NMP) con serie de cinco tubos. En general, la calidad bacteriológica del agua para el cultivo de moluscos bivalvos en las cuatro bahías fue aceptable, ya que estuvo por debajo del límite establecido por la legislación, excepto para bahía Willard en verano de 1985, cuando hubo un aporte significativo de material orgánico por embarcaciones, y en las bahías Falsa y de Todos Santos en el invierno de 1992, por aporte de bacterias debido a precipitación pluvial.

#### **ABSTRACT**

During critical seasons of environmental pollution, bacteriological samplings were made in Willard Bay and Los Angeles Bay, Baja California, in 1985-1987, and in Falsa Bay and Todos Santos Bay, B.C., in 1991-1993. The objective of this study was to determine the quality of the water for culturing bivalve molluscs. Bacteriological faecal indicators (total coliforms and faecal coliforms) were determined by MPN technique, according to standard methods. Except for summer 1985 in Willard Bay, when a significant amount of organic material was introduced by fishing boats, and winter 1992 in Falsa Bay and Todos Santos Bay, when there was an important input of bacteria due to rainfall, the bacteriological quality of the water was acceptable for culturing bivalve molluscs in the four locations, since the values were below the limit established by legislation.

#### **INTRODUCCION**

Desde los años setenta se han realizado investigaciones para impulsar la acuicultura en lagunas y cuerpos costeros de Baja California, relacionadas principalmente con aspectos del cuadro ambiental, como las variables fisicoquí-

#### **INTRODUCTION**

Since the 1970's studies have been carried out to promote aquaculture in lagoons and coastal bodies of Baja California, mainly those dealing with environmental factors, such as physicochemical and ecological variables

micas y ecológicas (Chávez-de-Nishikawa y Alvarez-Borrego, 1974; Lara-Lara y Alvarez-Borrego, 1975; Alvarez-Borrego y Alvarez-Borrego, 1982; Muñoz-Barbosa *et al.*, 1991), así como con técnicas de cultivo (Islas-Olivares, 1975; Islas-Olivares *et al.*, 1978; Islas-Olivares, 1982).

La información generada ha sido utilizada por las sociedades cooperativas de bahía Falsa para cultivar ostión *Crassostrea gigas* comercialmente, con un máximo de 624 toneladas por año, y por la empresa Acuacultores Oceánicos en Rincón de Ballenas, bahía de Todos Santos, para cultivar, también con fines comerciales, mejillón *Mytilus galloprovincialis*, con una producción de 11 toneladas por año (Dirección de Pesca del Estado de Baja California, 1993).

A pesar de contar con la información básica necesaria para desarrollar la acuicultura, en las bahías de Los Angeles y Willard, esto no se ha llevado a cabo y ambas permanecen como zonas potenciales.

Además del conocimiento de las variables ambientales y técnicas de cultivo, es necesario determinar la calidad bacteriológica de los cuerpos de agua donde se cultivan moluscos bivalvos, ya que éstos, por ser filtroalimentadores, acumulan y concentran microorganismos patógenos del medio ambiente, que ocasionan enfermedades como fiebre tifoidea, paratifoidea, cólera, hepatitis y padecimientos gastrointestinales (Salas, 1989; Corre *et al.*, 1991; De Mesquita *et al.*, 1991; Jehl-Pietri *et al.*, 1991). Por tanto, el presente trabajo intenta proporcionar un panorama integral de la calidad bacteriológica de cuatro cuerpos costeros de Baja California, a fin de contribuir con los conocimientos básicos para el cultivo de moluscos bivalvos, desde el punto de vista sanitario bacteriológico.

## DESCRIPCION DEL AREA DE ESTUDIO

Las bahías de Los Angeles y Willard se localizan en la parte noroeste del golfo de California (Figs. 1, 2). Son zonas con poco desarrollo poblacional y turístico, y nula actividad industrial, por lo que se puede decir que estas áreas de estudio se encuentran libres de contaminación. El suelo de la región es árido y seco,

(Chávez-de-Nishikawa and Alvarez-Borrego, 1974; Lara-Lara and Alvarez-Borrego, 1975; Alvarez-Borrego and Alvarez-Borrego, 1982; Muñoz-Barbosa *et al.*, 1991), as well as culture techniques (Islas-Olivares, 1975; Islas-Olivares *et al.*, 1978; Islas-Olivares, 1982).

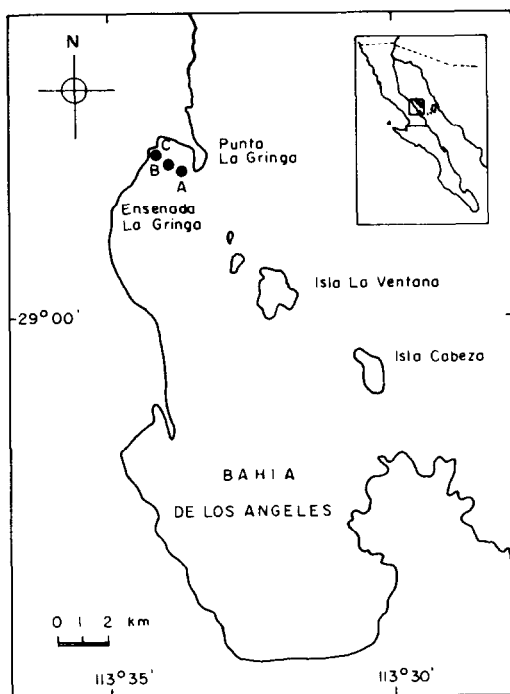
The information generated has been used by the cooperative societies of Falsa Bay for the commercial culture of the oyster *Crassostrea gigas*, with a maximum of 624 tons per year, and by the company *Acuacultores Oceánicos* in Rincón Ballenas, Todos Santos Bay, for the commercial culture of the mussel *Mytilus galloprovincialis*, with a production of 11 tons per year (*Dirección de Pesca del Estado de Baja California*, 1993).

Despite having the basic information necessary for the development of aquaculture in Los Angeles Bay and Willard Bay, this has not been carried out and they remain potential areas.

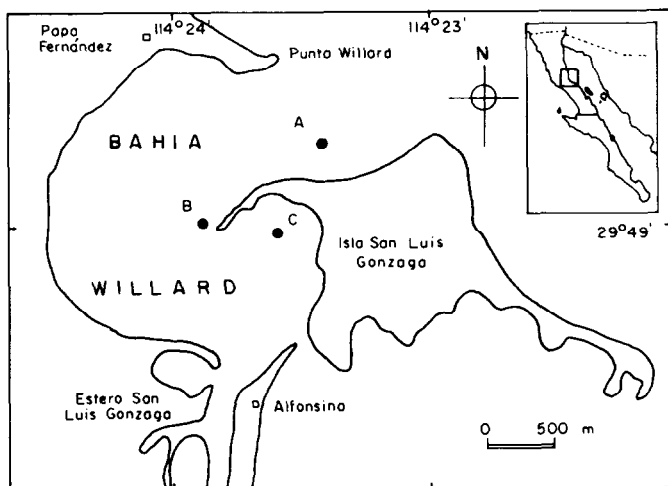
In addition to knowledge of the environmental variables and culture techniques, it is necessary to determine the bacteriological quality of the bodies of water where bivalve molluscs are cultured. Since they are filter-feeders, they accumulate and concentrate pathogenic microorganisms from the environment, which cause illnesses such as typhoid fever, paratyphoid, cholera, hepatitis and gastrointestinal ailments (Salas, 1989; Corre *et al.*, 1991; De Mesquita *et al.*, 1991; Jehl-Pietri *et al.*, 1991). Therefore, the objective of this study is to provide an integral panorama of the bacteriological quality of four coastal bodies of Baja California, in order to contribute to the basic knowledge for the culture of bivalve molluscs, from a bacteriological sanitary point of view.

## DESCRIPTION OF THE STUDY AREA

Los Angeles Bay and Willard Bay are located in the northwestern part of the Gulf of California (Figs. 1, 2). They are thinly populated areas, with little tourism and no industrial activity, and can therefore be considered free of pollution. The region is arid and dry, and the climate is extreme, with high temperatures in summer and low in winter. Rainfall is



**Figura 1.** Localización del área de estudio y estaciones de muestreo en la bahía de Los Angeles, B.C.  
**Figure 1.** Location of the study area and sampling stations in Los Angeles Bay, B.C.



**Figura 2.** Localización del área de estudio y estaciones de muestreo en la bahía Willard, B.C.  
**Figure 2.** Location of the study area and sampling stations in Willard Bay, B.C.

de tipo desértico; el clima es extremo, con temperaturas altas en verano y bajas en invierno. La precipitación es escasa y no se cuenta con arroyos de flujo constante, que existen únicamente cuando se presentan lluvias de consideración.

Bahía Falsa se encuentra en la parte noroccidental de Baja California (Fig. 3), a aproximadamente 300 km de la frontera México-Estados Unidos, y junto al valle agrícola de San Quintín. Debido a la riqueza de sus aguas, producto de eventos de surgencia (Alvarez-Borrego y Chee-Barragán, 1976), así como a su clima, hidrología y orografía, es una de las regiones con mayor potencial para la actividad ostrícola. La zona de estudio carece de arroyos importantes, que surgen únicamente cuando se presentan precipitaciones pluviales.

Bahía de Todos Santos se ubica en la parte noroccidental de Baja California (Fig. 4), a aproximadamente 100 km de la frontera México-Estados Unidos. Posee un alto desarrollo industrial y poblacional, con cerca de 260,000 habitantes, por lo que tiene problemas de contaminación, principalmente orgánica y bacteriológica, la cual ha sido ampliamente estudiada (Sañudo-Wilhelmy *et al.*, 1984; Segovia-Zavala y Galindo-Bect, 1984; Orozco-Borbón y Delgadillo-Hinojosa, 1989). Los arroyos Ensenada y San Carlos son importantes únicamente en invierno, cuando ocurre precipitación pluvial, mientras que el arroyo El Gallo capta las aguas residuales de la Comisión Estatal de Servicios Públicos de Ensenada (CESPE) y desemboca finalmente en el mar.

## MATERIALES Y METODOS

### Método de muestreo

De 1985 a 1987 en las bahías Willard y de Los Angeles, del golfo de California, se recolectaron muestras de agua de mar superficial en tres estaciones de muestreo, que se determinaron con base en las características fisiográficas de cada bahía, patrón de circulación de corrientes y cultivos experimentales de ostión (Figs. 1, 2). Las muestras se tomaron en distintas épocas del año y durante cinco días con-

scarce and there are no streams of constant flow, occurring only when it rains considerably.

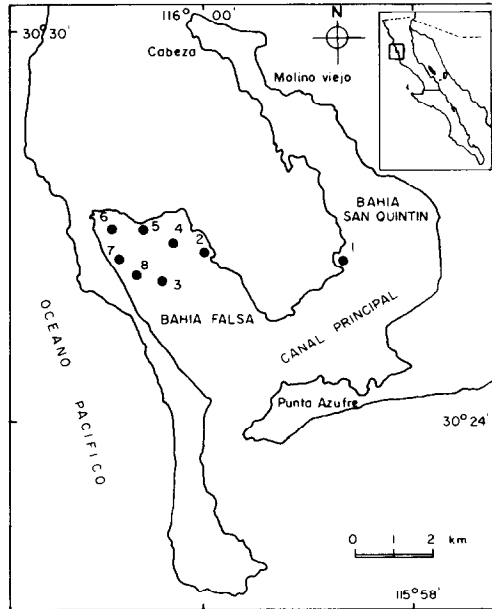
Falsa Bay is located in the northwestern part of Baja California (Fig. 3), approximately 300 km from the US-Mexican border and adjacent to the agricultural valley of San Quintín. Due to the richness of its waters, the result of upwelling events (Alvarez-Borrego and Chee-Barragán, 1976), as well as its climate, hydrology and orography, the region has great potential for oyster culture. There are no important streams in the area, appearing only when rainfall occurs.

Todos Santos Bay is located in the northwestern part of Baja California (Fig. 4), approximately 100 km from the US-Mexican border. It is an area with considerable industrial activity and a growing population, approximately 260,000 inhabitants, and therefore has pollution problems, mainly organic and bacteriological, which have been widely studied (Sañudo-Wilhelmy *et al.*, 1984; Segovia-Zavala and Galindo-Bect, 1984; Orozco-Borbón and Delgadillo-Hinojosa, 1989). The streams Ensenada and San Carlos are only important in winter, when rainfall occurs, whereas El Gallo receives the wastewater of the *Comisión Estatal de Servicios Públicos de Ensenada* (CESPE), before flowing into the sea.

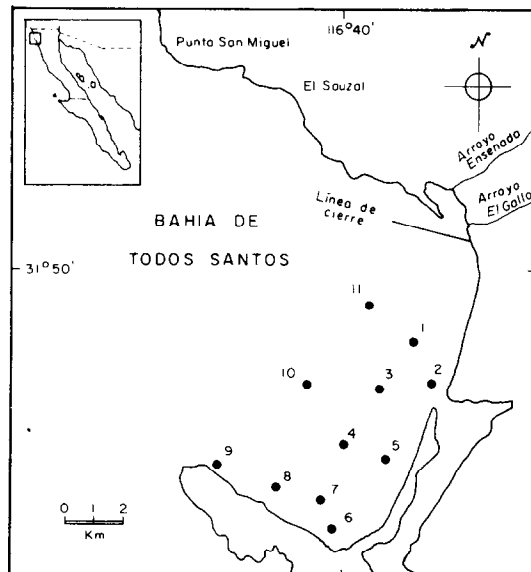
## MATERIALS AND METHODS

### Sampling method

Surface seawater samples were collected from 1985 to 1987 in Los Angeles Bay and Willard Bay, Gulf of California, at three stations which were determined based on the physiographic characteristics of each bay, pattern of current circulation and experimental oyster cultures (Figs. 1, 2). The samples were taken in different seasons and during five consecutive days. On the Pacific coast, from 1991 to 1993 personnel of the Mexican Bivalve Mollusc Sanitation Program collected 106 samples of seawater at six stations in Falsa Bay and 309 samples at eleven stations in Todos Santos Bay (Figs. 3, 4), in critical seasons of pollution.



**Figura 3.** Localización del área de estudio y estaciones de muestreo en la bahía Falsa, B.C.  
**Figure 3.** Location of the study area and sampling stations in Falsa Bay, B.C.



**Figura 4.** Localización del área de estudio y estaciones de muestreo en la bahía Todos Santos, B.C.  
**Figure 4.** Location of the study area and sampling stations in Todos Santos Bay, B.C.

secutivos. Con respecto al océano Pacífico, de 1991 a 1993, personal del Programa Mexicano de Sanidad de Moluscos Bivalvos recogió 106 muestras de agua de mar en seis estaciones de bahía Falsa y 309 en once estaciones de bahía de Todos Santos (Figs. 3, 4), durante épocas críticas de contaminación.

Las estaciones de muestreo se determinaron siguiendo las especificaciones del *Manual de Operaciones del Programa Mexicano de Sanidad de Moluscos Bivalvos* [Secretaría de Salud (SSA), 1989a], que considera los siguientes factores: fuentes de contaminación, líneas de cierre existentes, ubicación de moluscos bivalvos, aspectos hidrográficos y patrón de circulación de las corrientes.

En el caso específico de la bahía de Todos Santos, las estaciones de muestreo se localizaron más allá de la línea de cierre, lo que eliminó la necesidad de muestrear de manera continua las aguas contaminadas.

Las muestras para bacterias coliformes y patógenas se recolectaron en frascos esterilizados de vidrio, de 250 ml y 1,000 ml de capacidad, respectivamente. Se preservaron en hielo a 4°C y se transportaron al laboratorio para su análisis inmediato (antes de 12 horas).

#### Método de análisis de bacterias

Para evaluar la contaminación bacteriológica del agua, se utilizaron bacterias coliformes totales y fecales, que se determinaron con el método del número más probable (NMP) con serie de cinco tubos [American Public Health Association (APHA), 1985]. El análisis consistió en las pruebas presuntiva y confirmativa. Se utilizó caldo lactosado como medio presuntivo, a 35°C, durante 48 horas. La confirmación se realizó con medio verde bilis brillante al 2% a 35°C, durante 48 horas, para coliformes totales, y medio EC a 44.5°C, en baño de agua durante 24 horas, para coliformes fecales.

En el golfo de California, el estudio se complementó con el aislamiento de *Salmonella* sp. y *Shigella* sp. (APHA, 1985). Se filtró un litro de agua de mar usando filtros de membrana de .45 µm de poro y 47 mm de diámetro. Los filtros se introdujeron en tubos de ensaye que

The sampling stations were determined according to the specifications of the Manual of Operations of the Mexican Bivalve Mollusc Sanitation Program [Secretaría de Salud (SSA), 1989a], which considers the following factors: sources of pollution, existing closure lines, location of bivalve molluscs, hydrographic aspects and pattern of current circulation.

In the specific case of Todos Santos Bay, the sampling stations were located past the closure lines, thus eliminating the need to sample the polluted waters continuously.

The samples for coliform and pathogenic bacteria were collected in 250-ml and 1,000-ml sterile glass flasks, respectively. They were preserved on ice at 4°C and transported to the laboratory for immediate analysis (within 12 hours).

#### Method of analysis of bacteria

To evaluate the bacteriological pollution of the water, total coliform and faecal coliform bacteria were used, which were determined by the five-tube most probable number method (MPN) [American Public Health Association (APHA), 1985]. Analysis consisted of presumptive and confirmed tests. Lactose broth was used as presumptive medium, at 35°C for 48 hours. For the confirmed test, 2% brilliant green bile medium was used for total coliforms, at 35°C for 48 hours, and EC medium for faecal coliforms, at 44.5°C in a water bath for 24 hours.

In the Gulf of California, the study was complemented with the isolation of *Salmonella* sp. and *Shigella* sp. (APHA, 1985). One litre of seawater was passed through 47-mm diameter membrane filters of .45-µm pore size. The filters were then placed in test tubes containing enrichment media, Hajna broth for *Shigella* sp. and tetrathionate broth for *Salmonella* sp., at a temperature of 35°C. Samples from these tubes were streaked on Hektoen enteric agar, SS agar, brilliant green agar and bismuth sulfite agar, incubating at 35°C. The suspect colonies were purified in MacConkey agar at 35°C.

The Minitek method for rapid biochemical identification was used to identify group II enterobacteria, which is based on the differen-

contenían medios de enriquecimiento, caldo Hajna para *Shigella* sp., y tetrionato para *Salmonella* sp., a una temperatura de 35°C. De estos tubos de ensaye, se hizo rayado en placa en los medios selectivos agar entérico Hektoen, agar SS, agar verde brillante y agar bismuto sulfito, y se incubó a 35°C. Las colonias sospechosas se purificaron en agar de MacConkey, a 35°C.

Se utilizó el método rápido de identificación bioquímica Minitek, para enterobacterias del grupo II, el cual se basa en la diferenciación de microorganismos, de acuerdo con su metabolismo, en los substratos siguientes: arginina, ácido sulfídrico, ornitina, urea, lisina, dextrosa sin nitrato, adonitol, sorbitol, inositol, rafinosa, malonato, sacarosa, lactosa, fenilalanina, ramosa, ONPG, citrato, Voges Proskauer y arabinosa, a 35°C de incubación.

Paralelamente a los análisis bacteriológicos, se determinaron las variables fisicoquímicas: temperatura (termómetro de cubeta), potencial de hidrógeno (potenciómetro Photo Volt 126A) y salinidad (salinómetro de inducción Beckman).

En la bahía Willard, se determinaron, además, los parámetros indicativos de presencia de materia orgánica: demanda química de oxígeno (DQO) y seston, mediante la técnica de APHA (1985) y el método gravimétrico (Banse *et al.*, 1963), respectivamente. La fracción orgánica de seston se midió con la técnica de Peterson (1977).

## RESULTADOS Y DISCUSION

### Golfo de California

La distribución espacial promedio de bacterias coliformes totales y fecales se muestra en la tabla 1. Las concentraciones mayores se encontraron en bahía Willard, en las estaciones B y C, con 143 CT 100 ml<sup>-1</sup> y 23 CF 100 ml<sup>-1</sup>, respectivamente, porque es un cuerpo de agua pequeño (2.95 km<sup>2</sup>), con profundidad promedio de 4 m, lo que influye para que haya mayor concentración de bacterias coliformes que en bahía de Los Angeles. Esta presentó valores bajos porque es más grande (640 km<sup>2</sup>) y una de

tiation of microorganisms according to their metabolism, using the following substrates: arginine, hydrogen sulfide, ornithine, urea, lysine, dextrose without nitrate, adonitol, sorbitol, inositol, raffinose, malonate, sucrose, lactose, phenylalanine, ramosa, ONPG, citrate, Voges Proskauer and arabinose, and incubating at 35°C.

At the same time as the bacteriological analyses, the following physicochemical variables were determined: temperature (bucket thermometer), hydrogen potential (Photo Volt 126A potentiometer) and salinity (Beckman induction salinometer).

At Willard Bay, indicative parameters of the presence of organic matter were also determined: chemical oxygen demand (COD), according to the technique of APHA (1985), and seston, following the gravimetric method (Banse *et al.*, 1963). The organic fraction of seston was measured with Peterson's (1977) technique.

## RESULTS AND DISCUSSION

### Gulf of California

The average spatial distribution of total coliform and faecal coliform bacteria is shown in table 1. The highest concentrations were recorded in Willard Bay, at stations B and C, with 143 TC 100 ml<sup>-1</sup> and 23 FC 100 ml<sup>-1</sup>, respectively. This is because it is a small body of water (2.95 km<sup>2</sup>), with an average depth of 4 m, which favours the occurrence of greater concentrations of coliform bacteria than in Los Angeles Bay. The latter presented low values, because it is larger (640 km<sup>2</sup>) and one of the deepest bays on the west coast of the Gulf of California (Muñoz-Barbosa *et al.*, 1991).

The temporal distribution of coliform bacteria is shown in table 2. The highest concentrations occurred in Willard Bay in summer (259 TC 100 ml<sup>-1</sup> and 23 FC 100 ml<sup>-1</sup>) and are mainly due to the input of organic matter.

The high concentrations of coliform bacteria found in Willard Bay in summer are not representative, since fishing boats dumped fish

**Tabla 1.** Distribución promedio de bacterias coliformes ( $100 \text{ ml}^{-1}$ ) en agua de mar del golfo de California.

**Table 1.** Average distribution of coliform bacteria ( $100 \text{ ml}^{-1}$ ) in seawater of the Gulf of California.

Est.	Bahía Willard				Bahía de Los Angeles			
	Coliformes totales		Coliformes fecales		Coliformes totales		Coliformes fecales	
	Promedio	I.V.*	Promedio	I.V.*	Promedio	I.V.*	Promedio	I.V.*
A	100	<2 - 1600	9	<2 - 150	3	<2 - 23	2	<2 - 8
B	143	<2 - 1600	5	<2 - 22	3	<2 - 23	2	<2 - 13
C	44	<2 - 810	23	<2 - 467	2	<2 - 23	<2	<2 - 2

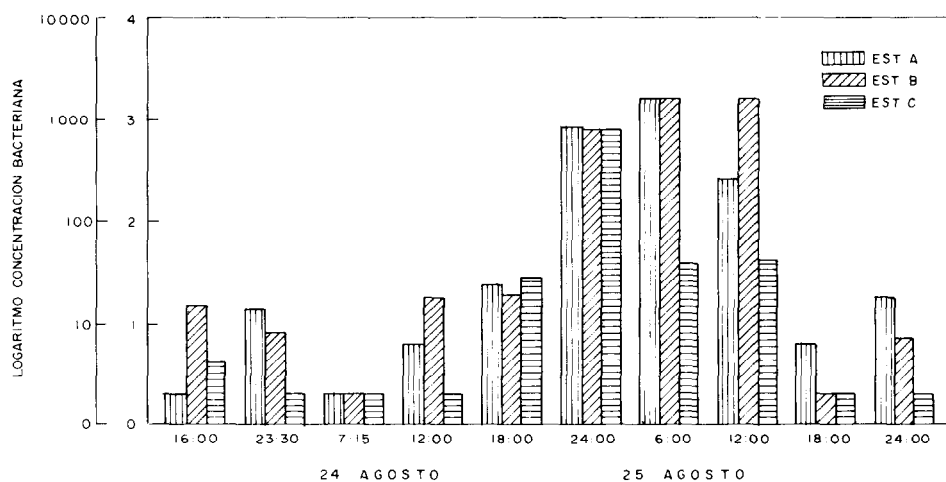
\* Intervalo de variación

**Tabla 2.** Concentración promedio de bacterias coliformes ( $100 \text{ ml}^{-1}$ ) en agua de mar del golfo de California.

**Table 2.** Average concentration of coliform bacteria ( $100 \text{ ml}^{-1}$ ) in seawater of the Gulf of California.

	Bahía Willard				Bahía de Los Angeles				
	Coliformes totales		Coliformes fecales		Coliformes totales		Coliformes fecales		
	Prom.	I.V.*	Prom.	I.V.*	Prom.	I.V.*	Prom.	I.V.*	
1985									
Verano	259	<2 - 1600	23	<2 - 467	Verano	4	<2 - 23	2	<2 - 13
Otoño	3	<2 - 15	2	<2 - 8	-	-	-	-	-
Invierno	25	<2 - 220	11	<2 - 150	Invierno	<2	<2 - 7	<2	<2 - 7

\* Intervalo de variación



**Figura 5.** Concentración de bacterias coliformes totales (NMP  $100 \text{ ml}^{-1}$ ), en el verano de 1985, en la bahía Willard, B.C.

**Figure 5.** Concentration of total coliform bacteria (MPN  $100 \text{ ml}^{-1}$ ) in summer 1985, in Willard Bay, B.C.



**Tabla 3.** Concentración promedio de parámetros químicos en la bahía Willard, B.C.

**Table 3.** Average concentration of chemical parameters in Willard Bay, B.C.

1985	Demanda química de oxígeno (mg l <sup>-1</sup> )		Seston orgánico (mg l <sup>-1</sup> )		Seston total (mg l <sup>-1</sup> )		Temperatura (°C)		pH		Salinidad (‰)	
	Prom.	I.V.*	Prom.	I.V.*	Prom.	I.V.*	Prom.	I.V.*	Prom.	I.V.*	Prom.	I.V.*
Verano	5.65	0.705 - 12.150	4.27	0.967 - 10.090	6.36	1.86 - 12.83	31.76	31.00 - 34.00	8.24	7.8 - 8.5	35.82	35.50 - 36.05
Otoño	1.07	0.582 - 1.760	1.78	0.285 - 4.570	3.43	0.84 - 6.96	20.24	17.00 - 23.00	7.59	7.0 - 7.9	35.87	35.48 - 36.69
Invierno	0.56	0.266 - 0.999	2.00	0.772 - 4.290	3.85	1.54 - 6.27	18.21	17.00 - 19.60	7.95	7.7 - 8.4	35.51	35.09 - 36.19

\* Intervalo de variación

las bahías más profundas de la costa oeste del golfo de California (Muñoz-Barbosa *et al.*, 1991).

La distribución temporal de bacterias coliformes se observa en la tabla 2. Las concentraciones mayores se encontraron en verano en bahía Willard, 259 CT 100 ml<sup>-1</sup> y 23 CF 100 ml<sup>-1</sup>, y se deben principalmente a la introducción de materia orgánica.

Las concentraciones altas de bacterias coliformes encontradas en bahía Willard en verano no son representativas, ya que el 24 de agosto embarcaciones pesqueras vertieron desechos de pescado al mar, los que se descomposieron rápidamente por efecto de la alta temperatura promedio del agua de mar, 31.76°C (tabla 3). Además, como éstos son ricos en proteínas, grasas, carbohidratos, material orgánico disuelto y suspendido (Champ *et al.*, 1981) funcionan como un caldo nutritivo para la supervivencia de bacterias, por lo que se encontró un mayor número de bacterias coliformes totales para las mareas 6, 7 y 8, correspondientes a las 24:00, 6:00 y 12:00 horas, respectivamente, de los días 24 y 25 de agosto (Fig. 5). Esto concuerda con el cálculo de tiempo de residencia del agua de mar para la zona, que en mareas muertas es de 28 horas.

En concordancia con las altas concentraciones de bacterias coliformes, los valores más altos de demanda química de oxígeno y seston orgánico se detectaron en agosto, por efecto del pescado en descomposición, 5.65 mg l<sup>-1</sup> y 4.27 mg l<sup>-1</sup>, respectivamente (tabla 3).

Además, el muestreo de verano se caracterizó por presentar mareas muertas, lo que pudo haber influido para que se encontrara una mayor concentración de bacterias coliformes, debido a menores dilución y dispersión. Otro factor que pudo haber causado el incremento de bacterias coliformes en verano fue la presencia de aves acuáticas. Tanto el Programa Mexicano de Sanidad de Moluscos Bivalvos (SSA, 1989b) como el *National Shellfish Sanitation Program* [U.S. Public Health Service (USPHS), 1986], consideran que las zonas de refugio de aves presentan contaminación fecal y que existe una relación directa entre la presencia de ellas y las bacterias coliformes. Por otra parte, Bera y

wastes into the sea on 24 August, which decomposed rapidly because of the high average water temperature, 31.76°C (table 3). Moreover, as they are rich in protein, fat, carbohydrates, dissolved and suspended organic matter (Champ *et al.*, 1981), they serve as a nutrient broth for the survival of bacteria. Hence, a greater number of total coliform bacteria was found for tides 6, 7 and 8, corresponding to 24:00, 6:00 and 12:00 hours, respectively, of 24 and 25 August (Fig. 5). This concurs with the water residence time calculated for the area, which during neap tide is 28 hours.

In agreement with the high concentrations of coliform bacteria, the highest values of COD and organic seston were recorded in August, 5.65 mg l<sup>-1</sup> and 4.27 mg l<sup>-1</sup>, respectively, as a result of the decomposing fish (table 3).

The summer sampling was characterized by presenting neap tides, which could have contributed to the occurrence of greater concentrations of coliform bacteria, due to lower dilution and dispersion. Another factor that may have influenced the increase in coliform bacteria in summer was the presence of aquatic birds. Both the Mexican Bivalve Mollusc Sanitation Program (SSA, 1989b) and the National Shellfish Sanitation Program [U.S. Public Health Service (USPHS), 1986] consider that the refuge areas of birds present faecal contamination and that there is a direct relation between their presence and that of coliform bacteria. On the other hand, Bera and Anderson (1972) indicate that sea birds may contribute pathogenic bacteria such as *Salmonella* sp. and *Edwardsiella tarda* to the receptor body, and are therefore a danger for the health of bivalve mollusc culture areas.

Although many sea birds were found in Willard Bay and Los Angeles Bay, the presence of *Salmonella* sp. and *Shigella* sp. was not detected.

Anderson and Mendoza (1976) indicate that the Gulf of California has one of the largest and richest groups of subtropical birds of North America and mention, among others, *Endomychura craveri*, *Sula leucogaster*, *Larus occidentalis*, *Larus heermani* and *Thalasseus elegans*.

Anderson (1972) señalan que las aves marinas pueden aportar bacterias patógenas como *Salmonella* sp. y *Edwardsiella tarda* al cuerpo receptor, por lo que son un peligro para la salud de las zonas de cultivo de moluscos bivalvos.

En las bahías Willard y de Los Angeles, aunque se encontró una gran cantidad de aves marinas, no se detectó la presencia de *Salmonella* sp. ni *Shigella* sp.

Anderson y Mendoza (1976) señalan que el golfo de California contiene uno de los grupos más extensos y ricos de aves subtropicales de Norteamérica, entre las que mencionan, *Endomychura craveri*, *Sula leucogaster*, *Larus occidentalis*, *Larus heermanni* y *Thalasseus elegans*.

En el presente trabajo, con base en los criterios de la SSA (1989a) y la USFDA (1986), los cuales establecen que para que un área sea aprobada para el cultivo de moluscos bivalvos la mediana o promedio geométrico de una serie de muestras no debe exceder de 70 TC 100 ml<sup>-1</sup>, ni más del 10% de las muestras exceder de 230 TC 100 ml<sup>-1</sup>, se encontró que las bahías Willard y de Los Angeles gozan, en general, de buena calidad bacteriológica (tabla 4), ya que estuvieron por debajo del límite establecido. Para bahía Willard en verano hubo un aporte significativo de materia orgánica por embarcaciones, por lo que el 23% de las muestras excedió 230 TC 100 ml<sup>-1</sup>; sin embargo, aun con la influencia de este hecho fortuito, los resultados muestran que bahía Willard no estuvo expuesta a una contaminación aguda y constante, sino a una natural y por periodos cortos.

### Océano Pacífico

Las concentraciones promedio de bacterias coliformes en la bahía de Todos Santos se presentan en la tabla 5. En general, los valores son bajos, con excepción del invierno de 1992, cuando se presentaron las mayores concentraciones (221 CT 100 ml<sup>-1</sup> y 40 CF 100 ml<sup>-1</sup>), relacionadas con las altas precipitaciones pluviales, que en el mes de enero de 1993 fueron de 217.5 mm (Comisión Nacional del Agua, 1993). Las intensas lluvias ocasionaron un incremento en el flujo de los arroyos San Carlos y Enseña-

The SSA (1989a) and USPHS (1986) have established that, for an area to be approved for the culture of bivalve molluscs, the median or geometric mean of a series of samples must not exceed 70 TC 100 ml<sup>-1</sup> and that not more than 10% of the samples should exceed 230 TC 100 ml<sup>-1</sup>. In the present study, in general, and based on the above criteria, the bacteriological quality of Willard Bay and Los Angeles Bay was found to be good (table 4), since the values were below the limit established. As a significant amount of organic material was introduced into Willard Bay by fishing boats in summer, 23% of the samples exceeded 230 TC 100 ml<sup>-1</sup>. However, even with the influence of this fortuitous event, the results show that Willard Bay is not exposed to acute and constant contamination, but rather to a natural one and for short periods.

### Pacific Ocean

The average concentrations of coliform bacteria in Todos Santos Bay are shown in table 5. In general, the values are low, except in winter, when the highest concentrations occurred (221 TC 100 ml<sup>-1</sup> and 40 FC 100 ml<sup>-1</sup>) as a result of intense rainfall, which in January 1993 was 217.5 mm (Comisión Nacional del Agua, 1993). This rainfall increased the flow of the San Carlos and Ensenada streams, and at station 2, located near the mouth of Estero Punta Banda and San Carlos stream, there was a decrease in salinity of up to 21‰ and an increase in the concentration of bacteria, due to runoff, to 2,800 TC ml<sup>-1</sup> and 350 FC 100 ml<sup>-1</sup> (table 5).

Bitton and Harvey (1992) mention that most of the problems of bacteriological pollution are caused by rainfall, and the Mexican Bivalve Mollusc Sanitation Program (SSA, 1989b) indicates that rains carry terrigenous material with pollutants to the bivalve mollusc culture areas. Therefore, it is important to take into account the intensity, variation and frequency of rainfall in sanitary studies.

The results obtained at Todos Santos Bay indicate that the closure line established by the Mexican Bivalve Mollusc Sanitation Program

**Tabla 4.** Porcentajes de muestras que excedieron los máximos permisibles de coliformes totales para cultivo de moluscos bivalvos, en el golfo de California.

**Table 4.** Percentage of samples that exceeded the permissible maxima of total coliforms for the culture of bivalve molluscs, in the Gulf of California.

Bahía Willard				Bahía de Los Angeles			
1985	Porcentaje > 230	Mediana	Promedio geométrico	1986	Porcentaje > 230	Mediana	Promedio geométrico
Verano	23	20	22.30	Verano	0	2	2.69
Otoño	0	2	2.67	-	-	-	-
Invierno	0	2	5.60	Invierno	0	2	2.28

**Tabla 6.** Porcentajes de muestras que excedieron los máximos permisibles de coliformes totales para el cultivo de moluscos bivalvos, en la bahía de Todos Santos, B.C.

**Table 6.** Percentage of samples that exceeded the permissible maxima of total coliforms for the culture of bivalve molluscs, in Todos Santos Bay, B.C.

Periodo	Porcentaje > 230	Mediana	Promedio geométrico
Invierno 1991	0	2	2.14
Primavera 1992	0	2	2.00
Verano 1992	0	2	3.87
Otoño 1992	3	2	3.83
Invierno 1992	17.58	49	39.69
Primavera 1993	0	2	3.24

**Tabla 8.** Porcentaje de muestras que excedieron los máximos permisibles de coliformes totales para el cultivo de moluscos bivalvos, en la bahía Falsa, B.C.

**Table 8.** Percentage of samples that exceeded the permissible maxima of total coliforms for the culture of bivalve molluscs, in Falsa Bay, B.C.

Periodo	Porcentaje > 230	Mediana	Promedio geométrico
Otoño 1991	0	5	5.83
Verano 1992	0	2	3.17
Otoño 1992	0	5	4.47
Invierno 1992	26	110	107.25

**Tabla 5.** Concentración promedio de bacterias coliformes y parámetros fisicoquímicos en agua de mar de la bahía de Todos Santos, B.C.

**Table 5.** Average concentration of coliform bacteria and physicochemical parameters in seawater of Todos Santos Bay, B.C.

Periodo	Coliformes totales (100 ml <sup>-1</sup> )		Coliformes fecales (100 ml <sup>-1</sup> )		Temperatura (°C)		pH		Salinidad (‰)	
	Prom.	I.V.*	Prom.	I.V.*	Prom.	I.V.*	Prom.	I.V.*	Prom.	I.V.*
Invierno 1991	2	< 2 - 5	2	< 2 - 4	15.47	15.0 - 16.5	8.39	7.98 - 8.80	33.115	30.000 - 35.000
Primavera 1992	2	< 2 - 2	2	< 2 - 2	18.56	16.5 - 21.0	8.00	7.70 - 8.80	32.530	29.000 - 35.000
Verano 1992	6	< 2 - 22	2	< 2 - 2	21.62	20.5 - 22.5	7.17	6.79 - 7.58	34.923	34.000 - 35.000
Otoño 1992	34	< 2 - 2400	6	< 2 - 240	16.87	15.0 - 18.4	-	-	34.110	32.000 - 35.000
Invierno 1992	221	< 2 - 2800	40	< 2 - 350	15.34	14.5 - 16.0	-	-	32.910	21.000 - 35.000
Primavera 1993	8	< 2 - 140	2	< 2 - 9	17.44	16.20 - 20.00	-	-	33.380	29.000 - 35.000

\* Intervalo de variación

**Tabla 7.** Concentración promedio de bacterias coliformes y parámetros fisicoquímicos en agua de mar de bahía Falsa, B.C.

**Table 7.** Average concentration of coliform bacteria and physicochemical parameters in seawater of Falsa Bay, B.C.

Periodo	Coliformes totales (100 ml <sup>-1</sup> )		Coliformes fecales (100 ml <sup>-1</sup> )		Temperatura (°C)		pH		Salinidad (‰)	
	Prom.	I.V.*	Prom.	I.V.*	Prom.	I.V.*	Prom.	I.V.*	Prom.	I.V.*
Otoño 1991	12	< 2 - 79	10	< 2 - 79	17.64	17.0 - 19.0	8.64	8.5 - 8.8	33.220	32.000 - 35.000
Verano 1992	5	< 2 - 23	3	< 2 - 7	22.3	21.0 - 24.0	6.88	6.26 - 7.4	31.700	30.000 - 33.000
Otoño 1992	5	< 2 - 13	4	< 2 - 9	19.69	18.0 - 21.0	6.63	6.0 - 7.3	31.914	30.000 - 33.000
Invierno 1992	264	< 2 - 2400	29	< 2 - 140	16.4	16.5 - 18.3	-	-	23.700	6.000 - 35.000

\* Intervalo de variación

da, por lo que en la estación 2, ubicada cerca de la boca del estero de Punta Banda y arroyo San Carlos, hubo una disminución en la salinidad de hasta 21‰ y un incremento en la concentración de bacterias, por efecto del arrastre por lluvias, a 2,800 CT 100 ml<sup>-1</sup> y 350 CF 100 ml<sup>-1</sup> (tabla 5).

Bitton y Harvey (1992) mencionan que la mayoría de los problemas de contaminación bacteriológica son causados por lluvia, mientras que el Programa Mexicano de Sanidad de Moluscos Bivalvos (SSA, 1989b) indica que la lluvia arrastra material terrígeno con contaminantes a las áreas productoras de moluscos bivalvos; por tanto, es importante tomar en cuenta la intensidad, variación y frecuencia de la precipitación pluvial en los estudios sanitarios.

Los resultados obtenidos en la bahía de Todos Santos indican que la línea de cierre establecida por el Programa Mexicano de Sanidad de Moluscos Bivalvos es operativa y funcional y que se pueden delimitar zonas con influencia de contaminación (estación 2) y zonas limpias (resto de estaciones).

En general, con base en los criterios de la SSA (1989a) y la USPHS (1986), se encontró que esta bahía tuvo buena calidad bacteriológica para el cultivo de moluscos bivalvos (tabla 6), ya que estuvo por debajo del límite establecido, excepto en el invierno de 1992, cuando existió un aporte significativo de bacterias coliformes por arrastres de lluvia y acarreo de los arroyos Ensenada y San Carlos.

Las concentraciones promedio de bacterias coliformes en bahía Falsa se listan en la tabla 7. Al igual que en bahía Todos Santos, se presentaron valores bajos, con excepción del invierno de 1992, que tuvo las mayores concentraciones promedio (264 CT 100 ml<sup>-1</sup> y 29 CF 100 ml<sup>-1</sup>), por efecto de la alta precipitación pluvial, que en enero 1993 fue de 376 mm, una de las más grandes registradas desde 1953 (Comisión Nacional del Agua, 1993). Tal precipitación ocasionó mayor flujo de los pequeños arroyos que drenan en la bahía, por lo que en la estación 1 hubo una disminución de la salinidad hasta 6‰ y un incremento en la concentración de bacterias coliformes hasta 2,400 CT 100 ml<sup>-1</sup> y 140 CF 100 ml<sup>-1</sup>.

is operative and functional, and that it is possible to delimit polluted areas (station 2) and clean areas (rest of the stations).

In general, and based on the criteria of the SSA (1989a) and USPHS (1986), the bacteriological quality of Todos Santos Bay was found to be good for the culture of bivalve molluscs (table 6), since the values were below the limit established, except in winter 1992, when there was a significant input of coliform bacteria due to rainfall and runoff from the Ensenada and San Carlos streams.

The average concentrations of coliform bacteria in Falsa Bay are shown in table 7. As in Todos Santos Bay, low values were found, except in winter 1992, when the highest average concentrations occurred (264 TC 100 ml<sup>-1</sup> and 29 FC 100 ml<sup>-1</sup>) as a result of intense rainfall, which in January 1993 amounted to 376 mm, one of the heaviest recorded since 1953 (Comisión Nacional del Agua, 1993). This rainfall increased the flow of the small streams that drain into the bay. Therefore, at station 1, there was a decrease in salinity of up to 6‰ and an increase in the concentration of coliform bacteria to 2,400 TC 100 ml<sup>-1</sup> and 140 FC 100 ml<sup>-1</sup>.

Based on the criteria established by SSA (1989a) and USPHS (1986), the bacteriological quality of Falsa Bay was found to be good for the culture of bivalve molluscs (table 8), except in winter 1992, when intense rainfall occurred. Since 26% of the samples from Falsa Bay exceeded the limit of 230 TC 100 ml<sup>-1</sup>, the State Committee of the Mexican Bivalve Mollusc Sanitation Program closed the culture area for the extraction and consumption of bivalve molluscs.

In conclusion, the studies carried out in the Gulf of California and Pacific Ocean indicate that it is important to determine the individual and combined effects of the hydrology and meteorology, and to identify the sources of pollution. Moreover, the samplings should be programmed in such a way that they be representative of the conditions of extreme pollution, in order to produce a complete report that will allow the classification of the culture area according to the criteria established.

Utilizando los mismos criterios de la SSA (1989a) y USPHS (1986), se encontró que bahía Falsa contó con buena calidad bacteriológica para el cultivo de moluscos bivalvos (tabla 8), excepto en invierno de 1992 cuando ocurrió alta precipitación pluvial. Debido a que el 26% de las muestras en bahía Falsa excedieron el límite de 230 CT 100 ml<sup>-1</sup>, el Comité Estatal del Programa Mexicano de Sanidad de Moluscos Bivalvos cerró el área de cultivo para la extracción y consumo de moluscos bivalvos.

En resumen, los estudios realizados en el golfo de California y océano Pacífico evidencian la necesidad de conocer los efectos individuales y combinados de hidrología y meteorología e identificar las fuentes de contaminación. Se requiere además que los muestreos se programen de tal manera que representen las condiciones extremas de contaminación para integrar un informe completo que permita realizar una clasificación del área de cultivo conforme a los criterios establecidos.

## REFERENCIAS

- Alvarez-Borrego, S. y Chee-Barragán, A. (1976). Distribución superficial de fosfatos y silicatos en Bahía San Quintín, Baja California. **Ciencias Marinas**, 3(1): 51-61
- Alvarez-Borrego, J. and Alvarez-Borrego, S. (1982). Temporal and spatial variability of temperature in two coastal lagoons. **CALCOFI Rep.**, XXIII: 188-197.
- American Public Health Association (1985). **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, 16th edition. American Public Health Association, Washington, D.C.
- Anderson, A.W. and Mendoza, E.J. (1976). Seabirds in the Gulf of California. **Natural Resources Journal. Symposium on the Gulf of California**, 16: 483-513.
- Bansic, K., Falls, C.P. and Hobson, L.A. (1963). A gravimetric method for determining suspended matter in seawater using millipore filters. **Deep-Sea Res.**, 10: 635-642.
- Bera, R.W. and Anderson, A.W. (1972). *Salmonellae* and *Edwardsiella tarda* in gull feces: a source of contamination in fish processing plants. **Appl. Microbiol.**, 24: 501-503.
- Bitton, G. and Harvey, R. (1992). Transport of pathogens through soils and aquifers. In: **Environmental Microbiology**. Wiley-Liss (eds.), New York, pp. 103-124.
- Comisión Nacional del Agua (1993). Gerencia Estatal de Baja California, Subgerencia de Administración del Agua, Unidad de Ingeniería de Ríos y Aguas Superficiales, Zona Ensenada, B.C.
- Corre, S., Plusquellec, J.E., Beucher, M. and Pricur, D. (1991). Fecal coliform accumulation and depuration in the oyster *Crassostrea gigas*. **Proceedings of the 4th European Marine Microbiology Symposium**, Kiel, Ostseebad Damp, Germany, October 8-12, 1990.
- Champ, M.A., O'Connor, T.P. and Killo-Park, P. (1981). Ocean dumping of seafood wastes in the United States. **Mar. Poll. Bull.**, 12: 247
- Chávez-de-Nishikawa, A.G. y Alvarez-Borrego, S. (1974). Hidrología de la Bahía de San Quintín, Baja California, en invierno y primavera. **Ciencias Marinas**, 1(2): 31-62.
- De Mesquita, M.M.F., Evison, L.M. and West, P.A. (1991). Removal of faecal indicator bacteria and bacteriophages from the common mussel (*Mytilus edulis*) under artificial depuration conditions. **J. Appl. Bacteriol.**, 70: 495-501.
- Dirección de Pesca del Estado de Baja California. (1993). **Carta Estatal de Información Pesquera**.
- Islas-Olivares, R. (1975). El ostión japonés (*Crassostrea gigas*) en Baja California. **Ciencias Marinas**, 2(1): 58-59.
- Islas-Olivares, R. (1982). Análisis económico en el cultivo del ostión japonés (*Crassostrea gigas*) en Puerto Don Juan, Bahía de los Angeles, B.C. **Ciencias Marinas**, 8(2): 55-68.
- Islas-Olivares, R., Gendrop-Funes, V. y Miranda-Aguilar, M. (1978). Infraestructura básica para la obtención de larvas (semillas) de ostión japonés (*Crassostrea gigas*) y ostión europeo (*Ostrea edulis*) en Baja California. **Ciencias Marinas**, 5(2): 73-86.

English translation by Christine Harris.

- Jehl-Pietri, C., Dupont, J. and Munro, J. (1991). Viral and bacterial contamination of shellfish harvested in the natural environment. **Proceedings of the 4th European Marine Microbiology Symposium**, Kiel, Ostseebad Damp, Germany, October 8-12, 1990.
- Lara-Lara, J.R. y Alvarez-Borrego, S. (1975). Ciclo anual de clorofilas y producción orgánica primaria en Bahía San Quintín, Baja California. **Ciencias Marinas**, 2(1): 77-97.
- Muñoz-Barbosa, A., Gaxiola-Castro, G. y Segovia-Zavala, J.A. (1991). Variabilidad temporal de productividad primaria, clorofila y seston en la Bahía de los Angeles. Golfo de California. **Ciencias Marinas**, 17(4): 47-68.
- Orozco-Borbón, M.V y Delgadillo-Hinojosa, F. (1989). Contaminación fecal en sedimentos superficiales de la Bahía de Todos Santos, Baja California. **Ciencias Marinas**, 15(1): 47-62.
- Peterson, R.E. (1977). A study of suspended particulate matter. Arctic Ocean and northern Oregon continental shelf. Doctoral thesis, **Oregon State University**, 122 pp.
- Secretaría de Salud (1989a). **Curso sobre Control Sanitario de Moluscos Bivalvos**. SSA, Dirección General de Salud Ambiental, Ocupacional y Saneamiento Básico. Vol. II.
- Secretaría de Salud (1989b). **Curso sobre Control Sanitario de Moluscos Bivalvos**. SSA, Dirección General de Salud Ambiental, Ocupacional y Saneamiento Básico. Vol. I.
- Salas, H.J. (1989). Calidad del agua en el medio marino. Historia y aplicación de normas microbiológicas. **Bol. Of. Sant. Panam.**, 107: 226-239.
- Sañudo-Wilhelmy, S.A., Morales-Yáñez, A. y Vargas-Flores, J.A. (1984). Contaminación fecal en la Bahía de Ensenada, B.C., México. **Ciencias Marinas**, 10(1): 7-17.
- Segovia-Zavala, J.A y Galindo-Bect, S. (1984). Fuentes de contaminación por materia orgánica en la Bahía de Todos Santos, Baja California. **Ciencias Marinas**, 10(1): 19-32.
- U.S. Public Health Service (1986). National Shellfish Sanitation Program. **Manual of Operations**, Parts I and II. Pub. No. 33, USPHS, Washington, D.C.