

# **Evaluación de la tasa de aclaración de la almeja dulceacuícola *Anodontites tortolis* en un medio con coliformes *Escherichia coli***

## **Clearance rate of faecal coliforms by netropical freshwater clam**

*Juan René Mallama Leyton, y Angela Inés Guzmán Alvis*

Facultad de Ingeniería y Administración, Universidad Nacional de Colombia. AA 237. Palmira, Valle del Cauca, Colombia.

Autor para correspondencia: jrmallamal@palmira.unal.edu.co, iguzmana@palmira.unal.edu.co

Recibido: 09-02-2009 Aceptado: 18-03-2011

### **Resumen**

En condiciones de laboratorio se evaluó la eficiencia de la almeja de agua dulce (*Anodontites tortolis*) para disminuir la carga de coliformes fecales (*Escherichia coli*) determinada mediante filtración en membrana por 8 horas. El experimento se diseñó con dos tratamientos (densidades de seis (T1) y ocho almejas (T2) más un control) con tres repeticiones. Se encontraron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) en las tasas de aclaración entre tratamientos. Los mayores niveles de remoción de *E. coli* se presentan en el tratamiento con mayor cantidad de individuos y la tasa de aclaración varió entre 0,47 y 3,80 l/h por individuo. La almeja mostró tasas de aclaración dentro de los rangos registrados en la literatura, lo que hace a este organismo importante como potencial recurso biológico para el tratamiento de aguas terciarias con coliformes fecales.

**Palabras clave:** Almeja, *Anodontites tortolis*, biofiltros, bivalvos, coliformes, *Escherichia coli*, tasa de aclaración.

### **Abstract**

Under laboratory conditions the efficiency of the freshwater clam *Anodontites tortolis* to diminish the quantity of faecal coliforms, determined by the membrane filtration method during eight hours was evaluated. The experiment was design with two treatments (two densities of six (T1) and eight clams (T2) and a control) and three replications. Statistical

significant differences ( $P < 0.05$ ) according to the Kruskal-Wallis test for the clearance rates were found. The highest levels of removal of *E. coli* belonged to the treatment in which there was the highest number of individuals. The clearance rate of the clams varied between 0.47 and 3.80 l.h<sup>-1</sup>.ind<sup>-1</sup> which is reported in the literature. Removal levels showing *A. tortolis* suggest that this clam can be used as a biological resource for the treatment of the tertiary waters contaminated with faecal coliform bacteria.

**Key-words:** *Anodontites tortolis*, biofilter, bivalves, clams, clearance rate, coliforms, *Escherichia coli*.

## Introducción

Los bivalvos filtran el fitoplancton, bacterias y materia orgánica de la columna de agua (Hebert *et al.*, 1991; Vaughn y Hakenkamp, 2001), a la vez que bombean (Kryger y Riisgård, 1988) y bioacumulan elementos metálicos (Lacma *et al.*, 2007; Neuberger-Cywiak *et al.*, 2007; Marie *et al.*, 2006); son excelentes para la realización de tratamientos biológicos y para la remoción de los contaminantes presentes en diferentes cuerpos de agua (Jacomini *et al.*, 2006; Järnegren y Altin, 2006). Su papel depurador en aguas marinas contaminadas con bacterias se conoce desde 1920, sólo ahora se ha comenzado a estudiar su efectividad en las regiones tropicales (Loayza-Muro y Elías-Letts, 2007).

*Anodonta piscianalis* en aguas negras reduce los niveles de partículas orgánicas y minerales (Govorin, 2000). *Diplodon chilensis* disminuye la turbidez del agua y el número de coliformes fecales y totales en un período de 6 h; además, ambas especies son capaces de digerirlas (Lara *et al.*, 2002). El género *Anodontites* se distribuye desde Argentina hasta México (Sifuentes y Torres, 2002). Estudios en Colombia, sobre el crecimiento de *Anodontites* sp., mostraron incrementos diarios en longitud de 0.008

cm, en ancho de 0.007 cm, en altura de 0.002 cm y en peso de 0.213 g (Castro-Rojas y Rodríguez-Pulido, 2003), su biología y ecología hacen de ella un recurso potencial para la alimentación (Castro-Sarmiento, 1982). *Anodontites tortolis*, identificada en 1982 en los sistemas lénticos del valle geográfico del río Cauca, puede contribuir en un tiempo relativamente corto a retirar del agua partículas en suspensión (Castro-Sarmiento, 1982); es posible utilizarla como biofiltro para retirar coliformes fecales que no son permitidas en aguas para uso potable y doméstico (Decreto 475 de 1998) o para reducir las poblaciones a 200 microorganismos por 100 ml en aguas para fines recreativos mediante contacto primario (Decreto 1594 de 1984).

El objetivo de la presente investigación fue determinar la eficiencia en condiciones de laboratorio de la almeja *A. tortolis* en la disminución de *E. coli* en el agua, como paso inicial en un programa de manejo integrado de calidad de los ambientes acuáticos, además, contribuir a valorar otra especie de la biodiversidad hidrológica continental y al desarrollo de alternativas limpias y sostenibles en la búsqueda de soluciones a problemas de contaminación ambiental, económicos y de mejoramiento de la calidad de vida.

## Materiales y métodos

Se colectaron almejas entre 13-14 cm de estanques de piscicultura en el Centro Agropecuario del Sena situado en Buga (3°54'08" N y 76°18'10" O; a 967 msnm y 23°C), Valle del Cauca, Colombia; se dejaron durante 48 días en un tanque de 2000 l, con temperaturas entre 20-22 °C. Se mantuvieron con aireación constante, recambio semanal de agua y aplicación de 80 g de un fertilizante 15-15-15 dos veces durante todo el experimento para mantener el fitoplancton del tanque.

Después de ese tiempo y con el objeto de depurarlas, se pasaron por 36 h a acuarios de 30 l aireados y sin presencia de cloro.

El inóculo puro de *E. coli* se obtuvo del zanjón La María, el cual es un sistema de recolección de aguas residuales que presenta concentraciones de la bacteria entre 2000 y 3000 UFC por 100 ml. Se utilizó un diseño experimental con tres tratamientos y tres repeticiones (T1 = seis individuos por acuario, T2 = ocho individuos por acuario y T3 (TC) = control sin almejas). En cada acuario se agregaron 30 ml de un cultivo puro de *E. coli* con una concentración de bacterias estimada (2300 UFC.100 ml<sup>-1</sup>) cada 2 horas hasta 8 horas de observación, utilizando el método de filtración por membrana. De cada repetición se tomaron 100 ml que se filtraron en una membrana de 0.45 µm x 47 mm, luego fueron colocadas en una caja petri que contenía 3 ml de Colisstant Chromogenic Agar y se incubaron durante 24 h a 35 ± 2 °C (Grant y Long, 1989). El conteo de unidades formadoras de colonias (UFC) de *E. coli* se hizo 24 h después de cada muestreo utilizando un esteromicroscopio.

Los residuos de la concentración de

bacterias y la tasa de aclaración no siguió la distribución normal de acuerdo con la prueba Shapiro-Wilks y sus varianzas no fueron homogéneas según la prueba F, por tanto, la comparación de la concentración de bacterias en el agua entre tratamientos se hizo con un análisis de varianza no-paramétrico usando la prueba de Kruskal-Wallis (P<0.05), utilizando el programa InfoStat, 2008.

La tasa de aclaración que se define como el volumen de agua aclarado de partículas en suspensión por unidad de tiempo (Riisgård, 2001) se determinó utilizando la fórmula de Coughlan (1969):  $TC = (V/nt) \ln(C_0/C_t)$ , donde TC es la tasa de aclaración (ml/h por individuo), V es el volumen promedio de prueba, n es el número de almejas por tratamiento, t es el intervalo de tiempo, C<sub>0</sub> es la concentración inicial de bacterias, y C<sub>t</sub> es la concentración bacteriana en cada tiempo.

Para evaluar las diferencias en las concentraciones de la bacteria en los diferentes tiempos de control se utilizó la prueba de Wilcoxon (Mann-Whitney U) (InfoStat, 2008).

## Resultados y discusión

Las variaciones en la concentración de bacterias *E. coli* en el tratamiento control dentro de las primeras 2 h y en las restantes no fueron significativas (P>0.3, según el estadístico W (Wilcoxon): 14; P>0.99, W: 11). Estos microorganismos necesitan un sustrato en agua para sobrevivir y multiplicarse (Lara *et al.*, 2002), la falta de diferencias importantes en las concentraciones posiblemente fue

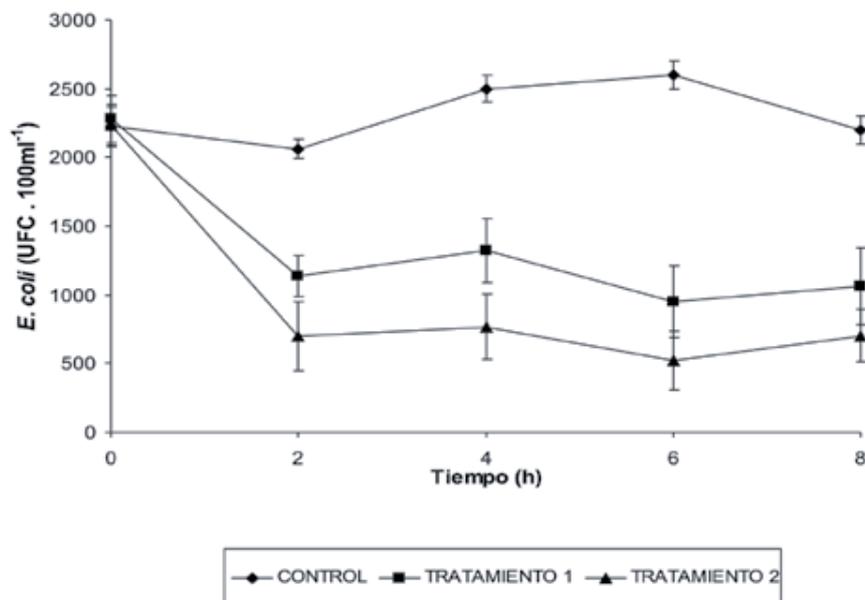
debida a la ausencia de sustrato, ya que se encontraban solo en agua.

En los tratamientos T1 y T2 la remoción de bacterias varió entre 45% y 80%, durante las dos horas iniciales se presentó una remoción de 45% para el T1 y de 66% para el T2, siendo de 51% y 68% a las ocho horas, respectivamente (Figura 1). La capacidad de filtración de los bivalvos es alta y variable entre especies (Gorovin, 2000). En algunos bivalvos la mayor eficiencia se presenta en las dos primeras horas con valores de remoción hasta de 90% (Govorin, 2000). En especies como *Venus verrucosa* la tasa de aclaración es más alta y puede remover 52.7% de la concentración inicial de *E. coli* durante las cuatro primeras horas y 95% hasta las 20 horas (Charles *et al.*, 1992). Para el mejillón mediterráneo *Mytilus galloprovincialis*, la eficiencia de la remoción

en cuatro horas alcanza 96.6% (Charles *et al.*, 1992).

En los tratamientos T1 y T2, la concentración de bacterias se mantuvo hasta las cuatro horas. En la almeja de agua dulce *Diplodon chilensis* aproximadamente el total de las coliformes fecales se bioacumula durante las primeras seis horas, concentrándose en la masa visceral (Lara *et al.*, 2002).

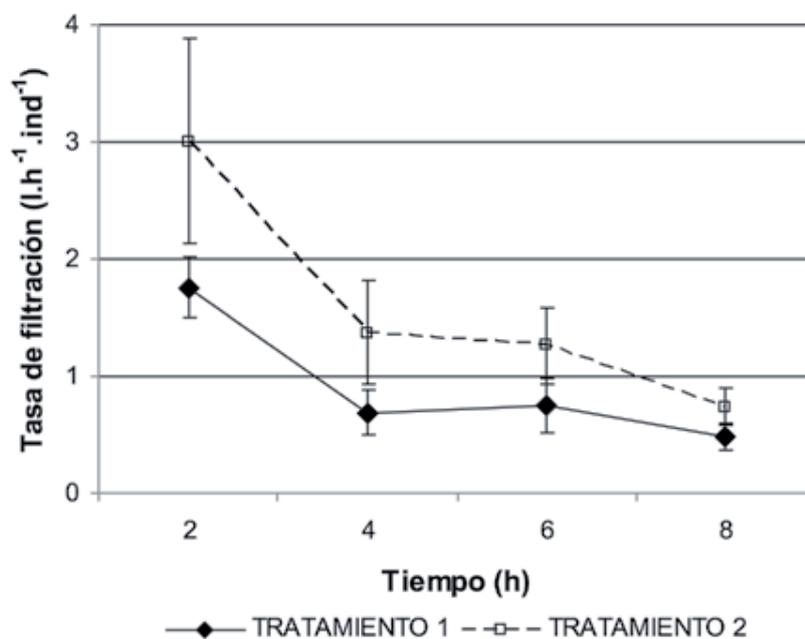
Algunos autores citados en Govorin (2000) encontraron que los bivalvos pueden capturar partículas entre 1 y 3  $\mu\text{m}$  y aún más pequeñas, que se ajustan a los tamaños de *E. coli*; en el presente estudio se presentan diferencias significativas en la remoción de las bacterias entre los tratamientos y el control ( $P < 0.0001$ ,  $gl = 2$ ; estadístico  $H = 22.9$ ) y entre los tratamientos T1 y T2 ( $P < 0.0128$ ,  $gl = 1$ , estadístico  $H = 6.19$ ).



**Figura 1.** Efecto de la densidad de *A. tortolis* en la disminución de la concentración de *E. coli* en el agua durante ocho horas. Tratamiento 1 (cuadrados), seis almejas; tratamiento 2 (triángulos), ocho almejas; tratamiento control (rombos): sin almejas. Las barras corresponden a la desviación estándar.

Las tasas de aclaración encontradas para T1 variaron entre 0.47 y 1.91 l/h por individuo y para el tratamiento T2 entre 0.57-3.80 l/h por individuo (Figura 2). Las tasas de aclaración encontradas en la literatura y las registradas en este estudio muestran una gran variabilidad debido, entre otros factores, a las relaciones alométricas de la tasa de aclaración con la talla y el peso (Filgueira *et al.*, 2008), por ejemplo, las tallas utilizadas en este trabajo fueron de 13-14 cm, mientras que las registradas en la literatura en Argentina, Chile, Paraguay y Brasil, no pasan de 10 cm de longitud, así, en *A. trapesialis* individuos con tallas de 9-10 cm presentaron una tasa entre 0.7 y 1.0 l/h por individuo. Estudios realizados con

*M. galloprovincialis* mostraron que tamaños ligeramente mayores pueden aumentar la eficiencia de la remoción de las bacterias de 50% a 60% (Charles *et al.*, 1992). Además, se debe tener en cuenta que los bivalvos no se alimentan a tasas máximas (Widdows, 2001) y entre las razones para que no lo hagan se citan: (1) ocurren respuestas regulatorias que cambian con la cantidad y la calidad de las partículas suspendidas, (2) las condiciones de temperatura pueden ser mayores que la óptima para una completa aclimatación, y (3) los contaminantes en el agua y su acumulación en el cuerpo inducen e inhiben efectos sobre las tasas de filtración (Jørgensen, 1996; Widdows, 2001).



**Figura 2.** Tasa de aclaración de *A. tortolis* para la remoción de *E. coli* en un período de ocho horas. Tratamiento 1 (rombos), seis almejas; Tratamiento 2 (cuadrados), ocho almejas. Las barras corresponden a la desviación estándar.

Al final de las ocho horas, la tasa de filtración continúa disminuyendo para ambos tratamientos, removiendo 68.2% de las bacterias presentes en el agua (Figura 2). Durante las ocho horas de experimentación los bivalvos mantuvieron las valvas abiertas y los bordes del manto fuera de la concha, este comportamiento refleja que las condiciones ambientales del experimento no fueron adversas para ellos y que las filtraciones no cesaron (Jørgensen, 1996; Filgueira *et al.*, 2009).

El tiempo de experimentación y la densidad de individuos ejercen un efecto significativo sobre el comportamiento de la tasa de aclaración (Filgueira *et al.*, 2009; Gorovin, 2000; Love *et al.*, 2010; Puente *et al.*, 2002). En varios estudios se demostró que la filtración es un proceso regulado fisiológicamente, lo que implica una gran flexibilidad en la respuesta de la tasa de aclaración en los bivalvos para compensar los cambios cuantitativos y cualitativos del alimento disponible con el propósito de maximizar la asimilación energética (Filgueira *et al.*, 2009; Pascoe *et al.*, 2009). La exposición a condiciones adversas como alimento de mala calidad, concentraciones bajas de alimento o muy altas, pueden inducir una respuesta extrema en los bivalvos, específicamente el cese de la filtración debido a la reducción de la apertura natural de las valvas y la retracción de los bordes del manto (Jørgensen, 1996).

Las bacterias en *A. tortolis* se encuentran dentro de su dieta y les suministran energía y un elevado contenido de proteína (Castro-Sarmiento, 1982). El cultivo de esta especie de almeja como recurso alimenticio en el valle geográfico del río Cauca tiene un gran potencial, ya que puede crecer en

estanques junto con peces como tilapia y cachama (Castro-Rojas y Rodríguez-Pulido, 2003). Debido a su capacidad de filtración se considera que las almejas renuevan el agua de los estanques donde se cultivan y mejoran las condiciones para los peces (Castro-Rojas y Rodríguez-Pulido, 2003).

Los resultados encontrados en el presente estudio sugieren que las almejas pueden ser utilizadas como biofiltro en aguas en tratamientos terciarios y que necesitan concentraciones de oxígeno por encima de los 5 mg/l para vivir.

Estas almejas son un recurso disponible que ofrece una tecnología de bajo costo para contribuir a la disminución de coliformes fecales en los cuerpos de aguas lénticas y disminuir los problemas de salud pública, gracias a características como buena capacidad de filtración, abundancia, ciclo de vida largo, plasticidad para vivir en ambientes variados y fácil manipulación.

## Conclusiones

La almeja de agua dulce *A. tortolis* puede ser utilizada como tratamiento biológico de coliformes fecales y disminuir su concentración en aguas en tratamientos terciarios.

Las densidades, tallas y tiempo de experimentación con *A. tortolis* en este estudio fueron suficientes para remover 68% de las bacterias en el agua, en un período de ocho horas.

## Agradecimientos

Al Departamento de Investigación de la Universidad Nacional de Colombia sede

Palmira (DIPAL) por financiar el Trabajo de Grado de Juan Rene Mallama. Al profesor Jair Marmolejo del Centro Agropecuario del Sena de Buga y al Profesor Jose Ader Peñaranda de la Universidad Nacional de Colombia. A Pablo Iván Gallo del Laboratorio de Microbiología. A la Granja Mario González Aranda de la Universidad Nacional de Colombia. A los evaluadores por sus sugerencias las que ayudaron a mejorar este manuscrito.

### Referencias

- Castro-Sarmiento, G. 1982. Aspectos morfológicos y de hábitat de dos especies de bivalvos dulceacuícolas y sus posibilidades como recurso alimenticio. Trabajo de grado de Zootecnia. Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira. Palmira, Valle, Colombia. 187 p.
- Castro-Rojas, G. V.; y Rodríguez-Pulido, J. A. 2003. Estudio bioecológico de la almeja de agua dulce (*Anodontites* sp.). *Orinoquia* 7: 16-27.
- Charles, F.; Gremare, A.; Amouroux, J. -M.; y Cachet, G. 1992. Filtration of the enteric bacteria *Escherichia coli* by two filter-feeding bivalves, *Venus verrucosa* and *Mytilus galloprovincialis*. I. Experimental study. *Mar. Biol.* 113 (1): 117-124.
- Coughlan, J. 1969. The estimation of filtering rate from the clearance of suspensions. *Mar. Biol.* 2: 356-358.
- Filgueira, R.; Labarta, U.; y Fernández-Reiriz, M. -J. 2008. Effect of condition index on allometric relationships of clearance rate in *Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819. *Rev. Biol. Mar. Oceanogr.* 43 (2): 391-398.
- Filgueira, R.; Fernández-Reiriz, M. -J.; y Labarta, U. 2009. Clearance rate of the mussel *Mytilus galloprovincialis*. I. Response to extreme chlorophyll ranges. *Ciencias Marinas*: 35 (4): 405-417.
- Govorin, I. A. 2000. Role of bivalves in the depuration of seawaters contaminated by bacteria. *Russ. J. Mar. Biol.* 26 (2): 81-88.
- Grant, W. D.; y Long, P. E. 1989. Microbiología ambiental. Acribia. Zaragoza, España. 222 p.
- Hebert, P. T.; Wilson, C.; Murdoch, M. H.; y Lazar, R. 1991. Demography and ecological impacts of the invading mollusk, *Dreissena polymorpha*. *Can. J. Zool.* 69: 405-409.
- InfoStat. 2008. InfoStat, versión 2008. Manual del Usuario. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba. Primera Edición, Editorial Brujas Argentina.
- Jacomini, A. E.; Avelar, W. E. P.; Martínez, A. S.; y Bonato, P. S. 2006. Bioaccumulation of atrazine in freshwater bivalves *Anodontites trapessialis* (Lamarck, 1819) and *Corbicula fluminea* (Müller, 1774). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 51: 387-391.
- Järnegren, J.; y Altin, D. 2006. Filtration and respiration of the deep living bivalve *Acesta excavata* (J.C. Fabricius, 1779) (Bivalvia; Limidae). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 334: 122-129.
- Jørgensen, C. B. 1996. Bivalve filter feeding revisited. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 142: 287-302.
- Kryger, J.; y Riisgård, H. U. 1988. Filtration rate capacities in 6 species of European freshwater bivalves. *Oecologia* 77: 34-

- 38.
- Lacma, J.; Iannacone, J.; y Vera, G. 2007. Toxicidad del cromo en sedimento usando *Donax obesulus* Reeve 1854 (Pelecypoda: Donacidae). *Ecol. Apl.* 6: 93-99.
- Lara, G.; Contreras, A.; y Encina, F. 2002. The freshwater mussel *Diplodon chilensis* (Bivalvia: Hyriidae) potential biofilter to diminish coliform levels of water wells. Laboratory experiment. *Gayana* 6: 113-118.
- Loayza-Muro, R.; y Elías-Letts, R. 2007. Responses of the mussel *Anodontites trapesialis* (Unionidae) to environmental stressors: Effect of pH, temperature and metals on filtration rate. *Environ. Pollut.* 149 (2): 209-215.
- Love, D. C.; Lovelace, G. L.; y Sobsey, M. D. 2010. Removal of *Escherichia coli*, *Enterococcus fecalis*, coliphage MS2, poliovirus, and hepatitis A virus from oysters (*Crassostrea virginica*) and hard shell clams (*Mercinaria mercinaria*) by depuration. *Int. J. Food Microbiol.* 143 (3): 211-217.
- Marie, V.; Gonzalez, P.; Baudrimont, M.; Bourdineaud, J. P.; y Boudou, A. 2006. Metallothionein response to cadmium and zinc exposures compared in two freshwater bivalves, *Dreissena polymorpha* and *Corbicula fluminea*. *Biomaterials* 19: 399-407.
- Neuberger-Cywiak, L.; Achituv, Y.; y Garcia, E. M. 2007. Effects of sublethal Zn<sup>++</sup> and Cd<sup>++</sup> concentrations on filtration rate, absorption efficiency and scope for growth in *Donax trunculus* (Bivalvia; Donacidae). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 79 (6): 622-627.
- Pascoe P. L.; Parry H. E.; y Hawkins, A. J. S. 2009. Observations on the measurement and interpretation of clearance rate variations in suspension-feeding bivalve shellfish. *Aquat. Biol.* 6: 181-190.
- Puente, A.; Juanes, J. A.; Revilla, J. A.; Álvarez, C.; Gómez, J.; y García, A. 2002. Desarrollo de un criterio aplicable a la vigilancia de la calidad bacteriológica de las aguas en las zonas de producción de moluscos de la bahía de Santander. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.* 18 (1-4): 67-73.
- Riisgård, H. U. 2001. On measurement of filtration rates in bivalves – the stony road to reliable data: review and interpretation. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 211: 275-291.
- Sifuentes, E.; y Torres, J. 2002. Enlatado de *Anodontites trapesialis* “Tumbacuchara”. *Rev. Amaz. Inv. Alim.* 2 (1): 69-77.
- Vaughn, C. C.; y Hakenkamp, C. C. 2001. The functional role of burrowing bivalves in freshwater ecosystems. *Freshw. Biol.* 46 (11): 1431-1446.
- Widdows, J. 2001. Bivalve clearance rates: inaccurate measurements or inaccurate reviews and misrepresentation? *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 221: 303-305.