

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA

ESCUELA DE POSGRADO



UNIDAD DE POSGRADO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS

TESIS:

IMPACTO DE LA CALIDAD BACTERIOLÓGICA DEL AGUA DE RIEGO EN EL CULTIVO DE LECHUGA EN UNA ZONA AGRÍCOLA DEL CASERÍO DE HUACARIZ, CAJAMARCA-2019.

Para optar el Grado Académico de

MAESTRO EN CIENCIAS

MENCIÓN: GESTIÓN AMBIENTAL

Presentada por:

Bachiller: CARMEN ELISABET CHUQUILIN CELIZ

Asesora:

Dra. CLAUDIA CAROLINA RODRÍGUEZ ULLOA

Cajamarca – Perú

2022

COPYRIGHT © 2022 by
CARMEN ELISABET CHUQUILIN CELIZ
Todos los derechos reservados

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA

ESCUELA DE POSGRADO



UNIDAD DE POSGRADO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS

TESIS APROBADA:

**IMPACTO DE LA CALIDAD BACTERIOLÓGICA DEL AGUA DE RIEGO EN EL
CULTIVO DE LECHUGA EN UNA ZONA AGRÍCOLA DEL CASERÍO DE
HUACARIZ, CAJAMARCA-2019.**

Para optar el Grado Académico de

MAESTRO EN CIENCIAS

MENCIÓN: GESTIÓN AMBIENTAL

Presentada por:

Bachiller: CARMEN ELISABET CHUQUILIN CELIZ

JURADO EVALUADOR

Dra. Claudia Carolina Rodríguez Ulloa
Asesora

Dr. Glicerio Eduardo Torres Carranza
Jurado Evaluador

Dr. Marcial Hidelso Mendo Velásquez
Jurado Evaluador

Dr. Valentin Victor Paredes Oliva
Jurado Evaluador

Cajamarca – Perú

2022



Universidad Nacional de Cajamarca
LICENCIADA CON RESOLUCIÓN DE CONSEJO DIRECTIVO N° 080-2018-SUNEDU/CD
Escuela de Posgrado
CAJAMARCA - PERU



PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS

ACTA DE SUSTENTACIÓN VIRTUAL DE TESIS

Siendo las 18:00 horas del día 17 de enero de dos mil veintidos, reunidos a través de Gmeet meet.google.com/xyi-tpsg-pvi, creado por la Unidad de Posgrado de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cajamarca, el Jurado Evaluador presidido por el **Dr. GLICERIO EDUARDO TORRES CARRANZA**, **Dr. MARCIAL HIDELSO MENDO VELASQUEZ**, **Dr. VALENTIN**

VICTOR PAREDES OLIVA, y en calidad de Asesora la **Dra. CLAUDIA CAROLINA RODRÍGUEZULLOA**. Actuando de conformidad con el Reglamento Interno de la Escuela de Posgrado y la Directiva para la Sustentación de Proyectos de Tesis, Seminarios de Tesis, Sustentación de Tesis y Actualización de Marco Teórico de los Programas de Maestría y Doctorado, se dio inicio a la Sustentación de la Tesistitulada: **IMPACTO DE LA CALIDAD BACTERIOLÓGICA DEL AGUA DE RIEGO EN EL CULTIVO DE LECHUGA EN UNA ZONA AGRÍCOLA DEL CASERÍO DE HUACARIZ CAJAMARCA-2019**; presentada por la **Bach. en Ingeniería Ambiental Carmen Elisabet Chuquilin Celiz**.

Realizada la exposición de la Tesis y absueltas las preguntas formuladas por el Jurado Evaluador, y luego de la deliberación, se acordó **APROBAR** con la calificación de **DIECISEIS (16)** la mencionada Tesis; en tal virtud, la **Bach. en Ingeniería Ambiental Carmen Elisabet Chuquilin Celiz**, está apta para recibir en ceremonia especial el Diploma que lo acredita como **MAESTRO EN CIENCIAS**, de la Unidad de Posgrado de la Facultad de Ciencias Agrarias, con Mención en **GESTIÓN AMBIENTAL**.

Siendo las 19:15 horas del mismo día, se dio por concluido el acto.

.....
Dra. Claudia Carolina Rodríguez Ulloa
Asesora

.....
Dr. Ing. Glicerio Eduardo Torres Carranza

.....
Dr. Glicerio Eduardo Torres Carranza
Jurado Evaluador

.....
Dr. Marcial Hidelso Mendo Velásquez
Jurado Evaluador

.....
Dr. Valentin Victor Paredes Oliva
Jurado Evaluador

A:

Dios, por ser el inspirador y darme fuerza para continuar en este proceso de obtener uno de los anhelos más deseados.

A mis padres por mostrarme el camino hacia la superación, a mi hermana Luz por brindarme su tiempo y un hombro para descansar, a mis hijos Dafne, Jack y mi compañero de vida Lucio que son la inspiración de superación.

AGRADECIMIENTO

A la Dra. Claudia Rodríguez Ulloa, por el asesoramiento y apoyo brindado, quien con su experiencia hizo oportunas y acertadas sugerencias que han contribuido a la consecución del presente trabajo de investigación.

Al Dr. Marco Jacinto Rivera por su apoyo incondicional en el laboratorio de microbiología para el desarrollo de la presente investigación.

El agradecimiento especial a toda mi familia quienes han creído en mí siempre, dándome ejemplo de superación, humildad y sacrificio; enseñándome a valorar todo lo que tengo, por su apoyo incondicional, en la realización de mi tesis de maestría.

EPIGRAFE

“El mundo no va a sobrevivir mucho más tiempo
como cautivo de la humanidad.”

DANIEL QUINN

ÍNDICE

DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTO.....	vi
EPÍGRAFE.....	vii
ÍNDICE	viii
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE TABLAS.....	xi
LISTA DE ABREVIATURAS	xiv
RESUMEN	xv
ABSTRACT	xvi
CAPITULO I	1
INTRODUCCIÓN	1
CAPITULO II.....	6
MARCO TEÓRICO.....	6
2.1. Antecedentes de la investigación.....	6
2.2. Bases teóricas... ..	11
2.2.1. Agua.....	11
2.2.1.1. Agua de riego.....	11
2.2.1.2 Contaminación de agua de riego... ..	12
2.2.2. Hortaliza	13
2.2.2.1 Contaminación de hortalizas... ..	13
2.2.3. Suelos agrícolas... ..	14
2.2.3.1. Contaminación de suelos agrícolas... ..	15
2.2.4. Microorganismos indicadores de calidad del agua y patógenos	16
2.2.4.1. Bacterias coliformes totales	16
2.2.4.2. Coliformes termotolerantes... ..	17
2.2.4.3. <i>Escherichia coli</i>	17
2.2.4.4. <i>Salmonella</i>	18
2.2.5. Técnicas de análisis microbiano en aguas.....	18
2.2.5.1. Método de número más probable (NMP).....	18
2.2.6. Marco Legal... ..	19
2.2.7. Definición de términos.....	21

CAPÍTULO III.....	23
MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
3.1. Materiales e instrumentos de campo.....	23
3.2. Materiales y equipos de laboratorio.....	23
3.3. Equipos.....	24
3.4. Metodología de la investigación.....	25
3.4.1. Ubicación y descripción general del área de estudio.....	25
3.4.1.1. Ubicación geográfica.....	25
3.4.2. Métodos de investigación.....	28
3.4.2.1. Diseño de investigación.....	29
3.4.2.2. Trabajo de campo.....	29
3.4.2.3. Toma de muestras.....	30
3.4.2.4. Determinación de coliformes por la técnica NMP.....	31
3.4.2.5. Aislamiento e identificación de <i>E. coli</i> en agua, suelo y lechuga (var.White Boston).....	35
3.4.2.6. Aislamiento e identificación de <i>Salmonella spp.</i> en agua, suelo y lechuga (var.White Boston).....	35
3.5. PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS.....	37
CAPÍTULO IV.....	38
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	38
4.1. Resultados.....	38
4.2. Discusión.....	46
CAPÍTULO V.....	59
CONCLUSIONES.....	59
CAPÍTULO VI.....	60
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	60
CAPÍTULO VII.....	69
APÉNDICES.....	69
ANEXOS.....	78

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. UBICACIÓN DE LA ZONA EXPERIMENTAL EN EL CASERÍO HUACARIZ.....	27
FIGURA 2. CROQUIS DE LA UBICACIÓN DE LAS PARCELAS	28
FIGURA 3. RECUENTO DE COLIFORMES TOTALES EN LAS MUESTRAS DE FUENTES DE AGUA EN EL CASERÍO HUACARIZ, 2019.....	41
FIGURA 4. RECUENTO DE COLIFORMES TERMOTOLERANTES EN LAS MUESTRAS DE FUENTES DE AGUA EN EL CASERÍO HUACARIZ, 2019	41
FIGURA 5 RECUENTO DE E. COLI EN LAS MUESTRAS DE FUENTES DE AGUA EN EL CASERÍO HUACARIZ, 2019.....	42
FIGURA 6. RECUENTO DE <i>E. COLI</i> EN LAS MUESTRAS DE LECHUGAS VARIEDAD WHITE BOSTON REGADAS CON DIFERENTES FUENTES DE AGUA EN EL CASERÍO HUACARIZ, 2019.....	45
FIGURA 7. MUESTREO DE SUELO	70
FIGURA 8. TOMA DE MUESTRAS DE AGUA ENTUBADA	70
FIGURA 9. TOMA DE MUESTRAS DE AGUA DE POZO.....	70
FIGURA 10. TOMANDO LA TEMPERATURA Y pH DE AGUA DE POZO.....	70
FIGURA 11. REGANDO LAS PARCELAS DE LECHUGA	71
FIGURA 12. TOMA DE MUESTRAS EN ZIGZAG AL AZAR DE LECHUGA	71
FIGURA 13. PESADO DE MUESTRAS DE SUELO DE 25 GRAMOS	71
FIGURA 14. DILUCIONES DE AGUA DE CANAL.....	71
FIGURA 15. PREPARACION DE CALDO LAURIL SULFALTO Y CALDO BRILLANTE BILIS	72
FIGURA 16. SIEMBRA DE MUESTRAS DE AGUA ENTUBADA.....	72
FIGURA 17. SIEMBRA DE MUESTRAS DE LECHUGAS.....	72

FIGURA 18. SE INCUBO A 45 °C DURANTE 24 A 48 HORAS EN BAÑO MARÍA, EN TUBOS CON CALDO EC.	72
FIGURA 19. LECTURA DE TUBOS POSITIVOS Y NEGATIVOS	73
FIGURA 20. TUBOS NEGATIVOS EN CALDO LAURIL SULFATO.....	73
FIGURA 21. TUBOS NEGATIVOS Y POSITIVOS CON CALDO LAURIL SULFATO	73
FIGURA 22. PRUEBA DE INDOL TUBOS POSITIVOS Y NEGATIVOS EN MUESTRAS DE LECHUGA ..	73
FIGURA 23. AISLAMIENTO DE E.COLI EN PLACAS DE AGAR EOSINA AZUL DE METILENO (EMB)	74
FIGURA 24. AISLAMIENTO DE SALMONELLA SPP. EN PLACAS DE AGAR SALMONELLA- SHIGELLA (SS).....	74
FIGURA 25 .- PRUEBAS BIOQUÍMICAS DE SUELO	74
FIGURA 26.INFORME DE PARÁMETROS ENSAYO.....	80
FIGURA 27.INFORME DE PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS	81

LISTA DE TABLAS

TABLA 1. DATOS METEOROLÓGICOS REGISTRADOS DURANTE EL PERIODO DE INVESTIGACIÓN (AGOSTO – OCTUBRE 2019).....	26
TABLA 2. PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS DE AGUA DE POZO, AGUA ENTUBADA Y AGUA DE CANAL.	38
TABLA 3. PARÁMETROS BACTERIOLÓGICOS EN LAS DIFERENTES FUENTES DE AGUA EN EL CASERÍO HUACARIZ, 2019.....	40
TABLA 4. PARÁMETROS BACTERIOLÓGICOS EN LOS SUELOS REGADOS CON DIFERENTES FUENTES DE AGUA EN EL CASERÍO HUACARIZ, 2019.....	43
TABLA 5. PARÁMETROS BACTERIOLÓGICOS EN LAS LECHUGAS VARIEDAD WHITE BOSTON REGADAS CON DIFERENTES FUENTES DE AGUA EN EL CASERÍO HUACARIZ, 2019.....	44
TABLA 6. FRECUENCIA DE SALMONELLA SPP. EN LAS DIFERENTES MUESTRAS DE AGUA, LECHUGAS Y SUELOS	46
TABLA 7.PRUEBA ESTADÍSTICA: SHAPIRO WILK	52
TABLA 8.PRUEBA ESTADÍSTICA: KRUSKAL- WALLIS	53
TABLA 9.PRUEBA ESTADÍSTICA: KRUSKAL- WALLIS	53
TABLA 10.PRUEBA ESTADÍSTICA: KRUSKAL- WALLIS.....	54
TABLA 11.PRUEBA ESTADÍSTICA: SHAPIRO WILK.....	55
TABLA 12.PRUEBA ESTADÍSTICA: KRUSKAL- WALLIS.....	56
TABLA 13.PRUEBA ESTADÍSTICA: KRUSKAL- WALLIS.....	57
TABLA 14.PRUEBA ESTADÍSTICA: KRUSKAL- WALLIS.....	58

TABLA 15. TABLA DEL NÚMERO MÁS PROBABLE (NMP) POR GRAMO O MILITRO UTILIZANDO TRES SERIES DE TRES TUBOS CADA UNA CONTENIENDO 10 mL DE MEDIO LÍQUIDO Y SEMBRANDO 1ML DE LA DILUCIÓN 1:10, 1ML DE LA DILUCIÓN 1:100 Y 1 ML DE LA DILUCIÓN 1:1000..	78
TABLA 16. CATEGORÍA 3: RIEGO DE VEGETALES Y BEBIDA DE ANIMALES	79
TABLA 17. NORMA SANITARIA QUE ESTABLECE LOS CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS DE CALIDAD SANITARIA E INOCUIDAD PARA LAS HORTALIZAS FRESCAS.....	79

LISTA DE ABREVIATURAS

CF: Coliformes Fecales

CT: Coliformes Totales

CTT: Coliformes Termotolerantes

DBO: Demanda Bioquímica de Oxígeno

DQO: Demanda Química de Oxígeno

ECA: Estándar de Calidad Ambiental

FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.

FDA: Administración de alimentos y medicamentos.

MINAM: Ministerio del Ambiente

MINAGRI: Ministerio de Agricultura y Riego

MINSA: Ministerio de Salud

NTS: Norma Técnica Sanitaria

mL: Mililitro

OMS: Organización Mundial de la Salud

pH: potencial de hidrógeno

PSI: Programa Subsectorial de Irrigaciones

SENAMHI: Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología

RESUMEN

La presente tesis se desarrolló en el caserío de Huacariz, Cajamarca durante el periodo de agosto a octubre del año 2019, tuvo como objetivo evaluar el impacto de la calidad bacteriológica de las diferentes fuentes de agua utilizadas para riego en el cultivo de lechuga variedad White Boston en una zona agrícola del caserío de Huacariz. La metodología empleada consistió a nivel de campo tomar muestras de suelo y muestras de agua de acequia, agua de pozo y agua entubada antes de realizar la siembra de lechugas en una zona agrícola determinada, la cual se dividió en tres parcelas y cada una de ellas fue regada con una fuente de agua; después de la siembra (al momento de la cosecha) se tomaron nuevamente muestras de suelo, muestras de las diferentes fuentes de agua y muestras de lechuga. Se realizó el análisis de las muestras en el laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional de Cajamarca para la determinación y recuento de coliformes totales, coliformes termotolerantes, *Escherichia coli* y aislamiento e identificación de *Salmonella* spp. Se encontró que el recuento de coliformes totales y coliformes termotolerantes en las muestras de agua de pozo sobrepasaron los límites máximos permisibles establecidos por los ECA para la categoría 3 y por tanto este tipo de fuente de agua no sería apta para el riego de hortalizas; además se encontró un alto recuento de estos indicadores bacteriológicos en las muestras de suelo, el cual se incrementó después de la siembra. Y en relación a las muestras de lechuga, el recuento de los indicadores bacteriológicos estuvo por debajo del límite establecido por la norma sanitaria peruana y por tanto serían aptas para consumo humano. Se identificó la presencia de la bacteria patógena *Salmonella* spp. en muestras de agua de canal y de pozo, además en muestras de suelo, pero no se encontró en las muestras de lechuga. En conclusión, la calidad bacteriológica de las muestras de agua de pozo tendría bajo impacto sobre la contaminación microbiana en las muestras de lechuga variedad White Boston cultivadas en esta zona agrícola.

Palabras Clave: Calidad bacteriológica, coliformes, agua de riego, hortalizas.

ABSTRACT

The objective of this thesis was developed in the village of Huacariz, Cajamarca during the period from August to October 2019, to evaluate the impact of the bacteriological quality of the different sources of water used for irrigation in the cultivation of White Boston variety lettuce. in an agricultural area of the hamlet of Huacariz-Cajamarca, 2019. The methodology used consisted at the field level of taking soil samples and samples of water from the ditch, well and piped water before sowing White Boston variety lettuce in an agricultural area determined, which was divided into three plots and each of them was irrigated with a water source; later, after planting (at harvest time), soil samples, samples from the different water sources and lettuce samples were taken again. The analysis of the samples was carried out in the Microbiology Laboratory of the National University of Cajamarca for the determination and count of total coliforms, thermotolerant coliforms and the isolation and identification of *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. It was found that the count of total coliforms and thermotolerant coliforms in the well water samples, exceeded the maximum permissible limits established by the ECAs for category 3 and therefore this type of water source would not be suitable for the vegetable irrigation; In addition, a high count of these bacteriological indicators was found in the soil samples, which increased after sowing. And as for the lettuce samples, the count of the bacteriological indicators was below the limit established by the Peruvian health standard and therefore would be suitable for human consumption. The presence of the pathogenic bacteria *Salmonella* spp. in canal and well water samples, as well as in soil samples, but it was not found in the lettuce samples. In conclusion, the bacteriological quality in the well water samples in the area would have a low impact on the microbiological contamination in the lettuce samples.

Key Words: Bacteriological quality, coliforms, irrigation water, vegetable

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2017) el agua es un elemento imprescindible en nuestras vidas, necesario para la supervivencia tanto del hombre como del ecosistema, también esencial para la producción agrícola y la seguridad alimentaria. Al tratarse de un recurso natural, el cambio climático y nuestros hábitos de vida están haciendo que las reservas de agua estén disminuyendo a un ritmo alarmante; se debe tener en cuenta que tan sólo el 2,5% del agua presente en la tierra es dulce.

La producción agrícola y el agua siempre han estado relacionados (Corrales et al., 2018). Al ser una fuente natural renovable, los recursos hídricos pueden agotarse por el uso inadecuado y la demanda en la producción agrícola, de hecho, en muchas regiones del planeta la disponibilidad del agua se limita por los cambios climáticos que conlleva a largas temporadas de sequía (Peña, et al., 2018).

También es importante contar con una adecuada calidad de agua para el riego, permite a productores manejar de forma más eficiente este recurso y tomar medidas preventivas que permitan aumentar los rendimientos agrícolas y la conservación de los suelos (García, 2015). De acuerdo al Ministerio del Ambiente (MINAM, 2017) para evaluar la calidad se utiliza con frecuencia un conjunto de normas con las cuales puede evaluarse el cumplimiento; establece los niveles de concentración de los elementos, sustancias, parámetros físicos y químicos y biológicos, presentes en el agua en su condición de cuerpo receptor y componente básico de los ecosistemas acuáticos que no represente riesgo significativo para la salud de las personas ni para el ambiente.

Según la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA, 1998) en el caso de las hortalizas que se consumen crudas, estas deben ser regadas con aguas que cuenten con los criterios de calidad más estrictos, especialmente en lo que respecta a los parámetros microbiológicos, porque son muchas las enfermedades causadas por

virus, bacterias, protozoarios o helmintos que se transmiten a través de esta vía.

El presente trabajo de investigación se realizó en una zona agrícola del caserío de Huacariz, donde muchos de los agricultores utilizan el agua de los canales procedentes del Río Mashcon para el riego de sus productos, principalmente hortalizas como la lechuga, la cual es para consumo propio y además para venta en los diferentes mercados de la ciudad de Cajamarca. Sin embargo, debido a que en ciertas temporadas la disponibilidad del agua del río se ve limitada, los agricultores utilizan otras fuentes para el riego como son el agua subterránea que extraen y obtienen a través de pozos, o con el agua entubada procedente de manantiales.

El trabajo de investigación consistió a nivel de campo en tomar muestras de suelo y muestras de agua de acequia, de pozo y entubada antes de realizar la siembra de lechugas variedad White Boston en una zona agrícola determinada, la cual se dividió en tres parcelas y cada una de ellas fue regada con una fuente de agua; posteriormente, después de la siembra (al momento de la cosecha) se tomaron nuevamente muestras de suelo, muestras de las diferentes fuentes de agua y muestras de lechuga. Se realizó el análisis de las muestras en el laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional de Cajamarca para la determinación y recuento de coliformes totales, coliformes termotolerantes y aislamiento e identificación de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. Se utilizó un diseño experimental a nivel de campo y laboratorio teniendo los siguientes:

Alcances

- La determinación de parámetros bacteriológicos tales como coliformes totales, termotolerantes y *E. coli* en muestras de lechuga, aguas y suelo se realizó mediante la técnica número más probable (NMP).
- Los parámetros bacteriológicos de las muestras de agua fueron comparados con los ECA agua- categoría 3, mientras que los de las muestras de hortalizas fueron comparados con la NTS 071 grupo 14.1.

Limitaciones

- El estudio se realizó durante la temporada seca.
- Complicado acceso para el traslado de las muestras.

- Los ECA para agua del año 2017 han eliminado el parámetro coliforme totales, por lo que se ha tenido que utilizar los ECA del año 2015 que considera este parámetro únicamente para realizar la comparación respectiva.

En la investigación se planteó el siguiente problema general y problemas específicos:

Problema general:

- ¿Cuál es el impacto de la calidad bacteriológica de las diferentes fuentes de agua utilizadas para riego en el cultivo de lechuga en una zona agrícola del caserío de Huacariz, Cajamarca- 2019?

Problemas específicos

1. ¿Cuál es la concentración de coliformes totales, coliformes termotolerantes, *Escherichia coli* y *Salmonella* spp? en las diferentes fuentes de agua utilizadas para riego de lechuga en una zona agrícola del caserío de Huacariz - 2019?
2. ¿Cuál es la concentración de coliformes totales, coliformes termotolerantes, *Escherichia coli* y *Salmonella* spp? en lechuga regada con diferentes fuentes de agua en una zona agrícola del caserío de Huacariz- 2019?
3. ¿Cuál es la concentración de coliformes totales, coliformes termotolerantes, *Escherichia coli* y *Salmonella* spp? en los suelos regados con diferentes fuentes de agua para el cultivo de lechuga en una zona agrícola del caserío de Huacariz- 2019?

Hipótesis

Hipótesis general

La elevada carga bacteriana en el agua de riego contribuye con la contaminación microbiológica en el cultivo de lechuga en una zona agrícola del caserío de Huacariz, Cajamarca, 2019

Sub hipótesis

- a. La concentración de coliformes totales, coliformes termotolerantes *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. en las diferentes fuentes de agua utilizadas para riego de lechuga en una zona agrícola del caserío de Huacariz – 2019 supera los valores límites máximos permisibles.

- b. La concentración de coliformes totales, coliformes termotolerantes, *E. coli* y *Salmonella* spp. en lechuga regada con diferentes fuentes de agua en una zona agrícola del caserío de Huacariz- 2019 supera los valores límites máximos permisibles
- c. La concentración de coliformes totales, coliformes termotolerantes, *E. coli* y *Salmonella* spp. en los suelos regados con diferentes fuentes de agua para el cultivo de lechuga en una zona agrícola del caserío de Huacariz- 2019, se incrementan.

Objetivo general

Evaluar el impacto de la calidad bacteriológica de las diferentes fuentes de agua utilizadas para riego en el cultivo de lechuga en una zona agrícola del caserío de Huacariz, Cajamarca- 2019.

Objetivos específicos

- a) Determinar la concentración de coliformes totales, coliformes termotolerantes y *Escherichia coli* y presencia de *Salmonella* spp. en las diferentes fuentes de agua utilizadas para riego de lechuga en una zona agrícola del caserío de Huacariz – 2019.
- b) Determinar la concentración de coliformes totales, coliformes termotolerantes y *E. coli* y presencia de *Salmonella* spp. en lechuga regada con diferentes fuentes de agua en una zona agrícola del caserío de Huacariz – 2019.
- c) Determinar la concentración de coliformes totales, coliformes termotolerantes y *E. coli* y presencia de *Salmonella* spp. en los suelos regados con diferentes fuentes de agua para el cultivo de lechuga en una zona agrícola del caserío de Huacariz- 2019.

El trabajo de investigación se justifica porque permitió evaluar la calidad bacteriológica de las diferentes fuentes hídricas (agua de pozo, agua de río y agua de manantial) empleadas para el riego, que pueden ser posibles fuentes de contaminación del cultivo de lechuga, que a su vez pueden constituir un riesgo para la salud de los consumidores. Si bien, en nuestro medio son varios los estudios sobre la calidad bacteriológica del agua empleada para riego y también en las hortalizas, éstos se han realizado de manera aislada, sugiriendo una posible relación entre la

calidad bacteriológica de las fuentes de agua empleadas para riego en actividades agrícolas y la contaminación de los cultivos; sin embargo, resulta un tema poco abordado en la problemática ambiental, pero que permitirá que los agricultores de la zona y autoridades tomen conocimiento de la necesidad de que usen agua procedente de fuentes adecuadas para el riego, sobre todo cuando se usa para productos agrícolas que pueden consumirse crudos.

Asimismo, debido a que los agricultores de la zona emplean diferentes fuentes hídricas para el riego de las hortalizas, desde la siembra hasta la cosecha, resulta difícil realizar la comparación de estas fuentes de agua in situ, de allí que la presente investigación es un estudio experimental a nivel de campo a fin de evaluar por separado la calidad bacteriológica de cada una de las fuentes de agua y determinar su impacto sobre la contaminación de lechuga.

Para una mejor orientación, la presente tesis se organizó de la siguiente manera:

Capítulo I: Introducción, se plantea el problema de investigación, los objetivos e hipótesis de investigación; la justificación y la estrategia metodológica y métodos de desarrollo de la investigación.

Capítulo II: Marco teórico, contiene el estado de conocimiento considerado para la investigación comprendido en antecedentes y las bases teóricas de la contaminación del agua y contaminación del suelo con el soporte de la normativa e institucional vigente y los instrumentos de gestión establecidos.

Capítulo III: Materiales y métodos, se detalla la metodología seguida y los instrumentos usados en el recojo de información durante el desarrollo de la investigación, llegando a describir al Caserío Huacariz como objeto de estudio, sus características y la problemática relacionada al impacto de la calidad bacteriológica del agua de riego en el cultivo de una hortaliza.

Capítulo IV: Resultados y discusión se presentan los resultados encontrados, su análisis e interpretación.

Capítulo V, contiene las conclusiones de la investigación.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la investigación

A nivel internacional

Calidad bacteriológica de fuentes de agua empleadas para riego:

En Colombia, una investigación en el agua de los ríos Manaure y Cascará determinó la presencia de bacterias indicadoras de contaminación fecal (coliformes totales, coliformes termotolerantes y enterococos fecales) y potencialmente patógenas (*Pseudomonas aeruginosa* y *Salmonella*) (Barahona et al., 2016.). Otro estudio realizado en muestras de agua residual y al agua del Río Cesar, determinaron la presencia de coliformes totales en agua de riego ($7,76 \times 10^2$ NMP/mL), agua residual coliformes totales ($43,5 \times 10^2$ NMP/mL), coliformes termotolerantes de riego ($7,61 \times 10^2$ NMP/mL) y en agua residual coliformes termotolerantes ($9,85 \times 10^2$ NMP/mL), encontrados dentro de los límites permisibles para aguas destinadas al uso agrícola (Ibarra, 2021).

En Cuba se evaluó la calidad microbiológica del agua superficial de la subcuenca Mampostón, para su uso en el riego agrícola. Los resultados encontrados de coliformes fecales compromete la calidad del agua en la estación M5 (río Mampostón). El agua del resto de las estaciones de muestreo en la derivadora Pedroso y la presa Mampostón son aptas para su uso en el riego agrícola (Guerrero, et al., 2021).

Un estudio realizado en aguas destinadas a uso doméstico y/o riegos provenientes de 32 pozos profundos del estado Zulia (Venezuela), determinó que todas las muestras de agua subterránea monitoreadas presentaron valores de coliformes totales y fecales por debajo del límite exigido por la normativa para aguas en el Decreto 833/1995 (Gutiérrez et al., 2018).

Calidad bacteriológica de cultivos de lechugas y/o suelos agrícolas:

Un estudio en Ecuador evaluó la calidad bacteriológica de especies vegetales cultivadas en huertos de instituciones educativas urbanas y se determinó la presencia de coliformes totales en lechuga de repollo con 180 UFC/g, pero no de *E. coli* (Quizhpi y Sarango, 2020).

En Venezuela, una investigación analizó la calidad microbiológica y parasitológica de lechugas (*Lactuca sativa*) y culantros (*Coriandrum sativum*). Se analizaron un total de 20 muestras, 10 de culantro y 10 de lechuga; la determinación microbiológica se realizó mediante la técnica del Número Más Probable. Los resultados mostraron la presencia de coliformes totales ($1,1 \times 10^4$ NMP/g) en el 100 % de las muestras. No se evidenció coliformes fecales en ninguna de las muestras (Noguera, et al., 2016).

Una investigación evaluó la calidad bacteriológica de 5 tipos de vegetales, entre ellos lechuga, y su suelo, provenientes de zonas agrícolas en el este de Polonia, se encontró que las muestras de hortalizas y de tierra recogidas bajo hortalizas (rizosfera), fueron negativas a la presencia de *Salmonella* spp (Klapéc et al., 2016).

Un estudio en Venezuela, evaluó algunos parámetros microbiológicos de los suelos en una zona agrícola del estado Aragua, en donde los suelos de parcelas son regados con agua de pozos profundos y presentaron concentraciones de coliformes termotolerantes que oscilaron entre $3,6 \times 10^2$ – $2,9 \times 10^4$ NMP/g, sobrepasando los valores límites de la norma oficial venezolana (Hernández et al., 2011).

En México se evaluó la presencia de coliformes fecales en las hortalizas cultivadas en Xochimilco, que son regadas con agua de los canales, siendo la concentración de coliformes fecales más alta encontrada en lechugas de 2,8 NMP/g, cantidades que superaron el valor permitido para este tipo de alimento (Vega et al., 2005).

Efecto potencial de la calidad microbiológica de las fuentes de agua de riego sobre la contaminación de las hortalizas y otros productos vegetales:

En Colombia, una investigación determinó un alto índice de contaminación confirmado por los recuentos de coliformes fecales presentes tanto en el agua de riego como en las hojas de lechuga cultivadas en una finca, concluyendo que el agua de riego de los cultivos no es apta para actividades agrícolas (Moros, 2018).

Una investigación en Bolivia evaluó la calidad microbiológica de los cultivos de lechuga y cebolla con la irrigación de agua residual hasta la cosecha, se determinó que los coliformes totales y coliformes fecales en el agua de riego, en la época seca presenta valores que sobrepasan los límites permitidos, mientras que en las hortalizas, no hubo la presencia de *E. coli*, ni de *Salmonella* spp. (Limachi, 2018).

Un estudio realizado en fincas que cultivan generalmente lechugas en el sur de Brasil, mostró recuentos de *E. coli* por encima de los límites recomendados en dos fuentes de agua analizadas (estanques y arroyos), con prevalencias de 84.8% y 38.3% para las muestras de agua y para las lechugas, respectivamente; concluyendo que el agua de riego es una fuente importante de contaminación de las lechugas (Tombini, et al., 2017).

En Chile se realizó un estudio en muestras de hortalizas, suelo y aguas obtenidas de zonas rurales de la región metropolitana; se analizaron 1250 muestras de hortalizas, en las cuales no hubo presencia de *Salmonella* spp., en 250 muestras de suelo se logró aislar dos cepas de *Salmonella* correspondiente al serotipo Infantis, también se analizaron 25 muestras de agua y se logró aislar una cepa de *Salmonella* correspondiente al serotipo Muenchen (Jara, 2017).

En México, una investigación realizada para el aprovechamiento de agua residual urbana en la producción hidropónica de plantas de lechuga, luego de analizar los resultados del análisis microbiológico de hojas de lechuga para coliformes fecales mostraron que no hubo presencia de estas bacterias en todos los tratamientos: en agua residual sin tratar, agua residual tratada con ozono y agua residual tratada con rayos UV (Gonzales, 2012).

A nivel Nacional

Calidad bacteriológica de fuentes de agua empleadas para riego:

Un estudio realizado en el agua de riego de la cuenca baja del río Moche, Trujillo, al evaluar la concentración de coliformes totales y termotolerantes patógenas durante los meses julio a diciembre del 2014, se determinó que es apto para el uso agrícola, se encontró en algunas estaciones de muestreo la presencia de *E. coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter* y *Serratia* , concluyendo que estas aguas no deben ser usadas para fines agrícolas por ser portadoras de patógenos para la salud humana (Lezama, 2018).

En la ciudad de Chiclayo, una investigación evaluó la calidad bacteriológica de algunas acequias cuyas aguas son usadas para el riego de vegetales, encontrándose que la concentración de coliformes termotolerantes en el agua de la acequia Yortuque alcanzó los $25,8 \times 10^3$ NMP/100mL y en la acequia Cois hasta 6×10^4 NMP/ 100 mL (Romero, 2017).

Un estudio realizado en Juliaca determinó que las muestras de agua de pozos presentaban concentraciones desde $< 1,8$ hasta $2,4 \times 10^2$ NMP/100 mL para coliformes fecales, es decir que las aguas subterráneas se encuentran contaminadas por materia fecal proveniente de los silos, lugar donde los habitantes depositan sus excretas humanas (Zegarra, 2017).

Otra investigación evaluó la contaminación del agua del Río Itaya (Iquitos) por agentes biológicos patógenos y determinó como contaminantes microbiológicos en alta concentración, a coliformes totales ($30 \times 10 - 90 \times 10^4$ NMP/100 mL), coliformes Termotolerantes ($80 - 80 \times 10^3$ NMP/100 mL) y *E. coli* ($< 2 - 50 \times 10^2$ NMP/100 mL), siendo considerada como agua no apta para ninguna categoría establecida por la Ley General de Agua (Ayllón y Pérez, 2015).

Calidad bacteriológica de cultivos de lechugas y/o suelos agrícolas:

Una investigación determinó la presencia de contaminación en lechuga por el uso de agua de riego procedente del río Huallaga en el caserío de Culcuy, Huánuco,

detectándose recuentos de *E. coli* por encima de la norma peruana y presencia de *Salmonella* en la plántula y en la raíz de lechugas, considerándose no apta para consumo humano (Pardavé, 2018).

Un estudio determinó el efecto contaminante de las aguas servidas sobre el suelo y cultivos agrícolas en la desembocadura del canal de regadío en una zona de Chancay (Lima). En relación a los suelos de cultivos regados con agua de canal de regadío las concentraciones de coliformes termotolerantes llegaron hasta 46×10 NMP/g y de *E. coli* desde < 3 a 21 NMP/g (Huamaní, 2018). En las lechugas, las concentraciones de termotolerantes fue de 23 NMP/g y de *E. coli* 4 NMP/g (Huamaní, 2018).

Se evaluó la calidad microbiológica de lechugas producidas en los distritos de Acobamba y Palca en Tarma, las cuales se recolectaron y se sometió a un grupo de lechugas a un proceso de desinfección casera mientras que otro grupo no fue tratado, posteriormente se procedió a la evaluación microbiológica. Los resultados obtenidos mostraron que el proceso de desinfección logró reducir el recuento de coliformes totales, fecales y *E. coli*, a diferencia de las muestras que no se sometieron a este proceso (Paredes, 2017).

A nivel local

Un estudio determinó la calidad del agua de la quebrada de la comunidad San José de Canay, Cajamarca, determinándose la concentración de coliformes termotolerantes en dos monitoreos, obteniéndose 33 NMP/ 100 mL y 350 NMP/ 100 mL en el punto M7 M8 A02 para el mes de julio y noviembre, respectivamente, valores que no sobrepasaron los Estándares de Calidad Ambiental, para la categoría 3. Riego y Bebida de animales, y se concluye que el agua de la quebrada en la comunidad cumple con las condiciones para riego y bebida de animales, siendo apta su uso en esta categoría sin riesgo de contaminación (Montalvo y Quispe, 2020).

Una investigación realizada en muestras de agua procedentes de los ríos Mashcón y San Lucas, y del efluente de las lagunas de estabilización de la ciudad de Cajamarca, determinó los parámetros microbiológicos como: coliformes totales ($5,64 \times 10^6$ NMP/100 mL) y coliformes fecales ($5,53 \times 10^6$ NMP/100 mL); que no cumplen con lo establecido en el actual Estándar de Calidad Ambiental para Agua categoría 3; por lo que no serían aptas para riego de vegetales y bebida de animales (Escalante, 2018).

2.2.Bases teóricas

2.2.1. Agua

El agua es un recurso natural renovable, indispensable e imprescindible para la supervivencia del ser humano y el desarrollo de todas las formas de vida, vulnerable y estratégico para el desarrollo sostenible, el mantenimiento de los sistemas y ciclos naturales que la sustentan, y la seguridad de la nación (Ortiz y Sánchez, 2018).

Este elemento se encuentra en los tres estados de la materia (sólido, líquido y gaseoso), ocupa las dos terceras partes de la superficie de la tierra. Se ha estimado que el volumen total en la biosfera alcanza $1359 \times 10^{15.5}$. Cerca de 97% es agua marina y 3% restante corresponde a agua dulce distribuida de la siguiente manera: 2.25% es agua congelada de los glaciares y capas de hielo polar, y solo el 0.75% está disponible para los seres vivos en forma de agua dulce de ríos, lagos, depósitos subterráneos, etc. (Burgos, 2019, p.102).

Los principales usos de consumo de agua se incluyen en la producción agropecuaria, doméstico e industrial; de los cuales, el consumo a nivel agrícola representa la gran mayoría, con cerca del 70 al 90% de la demanda total de dicho recurso (Corcoran, 2010).

2.2.1.1. Agua de riego

Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2013) el agua de riego es un insumo indispensable para la agricultura, debido a que las plantas cultivadas la requieren para su crecimiento, desarrollo y proceso fisiológico, con niveles apropiados de calidad, cantidad y aplicación oportuna. Entre las fuentes típicas de agua para la agricultura se encuentran el agua de corrientes superficiales como los ríos, riachuelos, acequias y canales descubiertos, el agua de reserva como los pantanos, estanques y lagos, el agua subterránea procedente de pozos y el agua de suministro municipal ([FDA], 1998, p.13).

Para el caso de los cultivos que se consumen crudos, estos deben ser regados con aguas que satisfagan los criterios más estrictos especialmente en lo que respecta a los parámetros microbiológicos, porque son muchas las enfermedades causadas por virus, bacterias, protozoarios o gusanos que se transmiten a través de esta vía (Ministerio del Ambiente [MINAM], 2017).

La superficie cultivada del mundo se ha incrementado un 12% en los últimos cincuenta años. En el mismo período se ha duplicado la superficie mundial de regadío, lo que supone la mayor parte de la tierra cultivada (FAO, 2012). La agricultura utiliza ya el 11% de la superficie mundial de tierras para la producción agrícola. También hace uso del 70% de toda el agua extraída de acuíferos, corrientes fluviales y lagos (FAO, 2012).

2.2.1.2. Contaminación de agua de riego

La contaminación del agua consiste en la adición de sustancias extrañas que se diluyen o filtran, y producen un cambio que impide su uso (Burgos, 2019, p.169). El agua puede contaminarse de diferentes maneras, incluso desde que se precipita en forma de lluvia ya que se disuelven gases y partículas de la atmósfera (Burgos, 2019, p.169).

Las aguas de riego son contaminadas por descargas domésticas con un alto contenido de parásitos y organismos patógenos, por contaminación de relaves mineros a través de la impureza que arrojan directamente a los ríos como cobre, zinc, fierro y plata, o como consecuencia de los procesos industriales que arrojan sustancias tóxicas que luego son evacuadas en el cauce de los ríos o quebradas (MINAGRI, 2015).

Una medida para satisfacer su demanda para riego en la agricultura es la extracción de agua subterránea mediante pozos profundos. Estas son percibidas como menos vulnerables a la contaminación que el agua superficial, debido a la capacidad de filtración natural del suelo de la subsuperficie de la distancia que los microorganismos tendrían que recorrer para alcanzar la fuente subterránea (Sánchez, et al., 2016).

Sin embargo, los pozos en áreas rurales son susceptibles a la contaminación debido a su poca profundidad, escaso mantenimiento y pueden estar cerca de áreas con cargas de heces humanas o de animales afectando tanto a la producción de cultivos como a la salud humana y animal a través de la contaminación de los alimentos (Saha et al., 2017). El agua puede transmitir muchos microorganismos, como las variedades patógenas de *Escherichia coli*, especies de *Salmonella* y *Shigella*, *Vibrio cholerae*, así como protozoarios *Cryptosporidium parvum*, *Giardia lamblia*, *Cyclospora cayetanensis*, *Toxoplasma gondii* y los virus de *Norwalk* y de la hepatitis A. Incluso pequeñas cantidades de estos microorganismos en los alimentos pueden causar enfermedades (FDA, 1998, p.11).

2.2.2. Hortalizas

La hortaliza se define como la planta herbácea cultivada en las huertas de traspatio para autoconsumo semicomercial y comercial, destinada a la alimentación del hombre (Alcázar, 2010, p.4).

Las hortalizas son una parte muy importante de la dieta. Casi todas son ricas en caroteno y vitamina C y contienen importantes cantidades de calcio, hierro y otros minerales. Su contenido de vitaminas B generalmente es pequeño. Una gran proporción de su contenido consiste en residuo no digerible, que agrega volumen o fibra a las heces (Latham, 2002). Es recomendable consumirlas diariamente, aprovechando la gran variedad de verduras que nos ofrece nuestro país; la mejor manera de aprovechar todas sus vitaminas y minerales es consumirlas crudas, solas o en ensalada (Santa Cruz, 2015, p.49).

2.2.2.1. Contaminación de hortalizas

Las hortalizas están expuestas a los microorganismos a partir del proceso de producción, en el entorno agrícola, y luego en la manipulación, siendo más exactos a través del contacto con el suelo, agua de riego contaminado y animales o personas que transporten o manipulen estos alimentos (Codex Alimentario, 2005).

Las frutas y hortalizas con superficies amplias (como las hortalizas con hojas) y aquellas en que, debido a sus características se puedan adherir con facilidad o quedar atrapados en ellas organismos patógenos (superficies rugosas, por ejemplo), corren mayor riesgo de contaminación, especialmente si el contacto tiene lugar cerca de la cosecha o en la manipulación de los alimentos posterior a la misma (FDA, 1998, p.12)

Los animales, desde las formas más sencillas a las más evolucionadas, aportan al suelo y al agua, y a las plantas que crecen en estos medios, sus excretas y, finalmente, su propio organismo. Se ha prestado poca atención a esta forma de contaminación directa de las plantas utilizadas como alimento, excepto por lo que se refiere a las bacterias coliformes y a los enterococos que pudieran incorporar (Frazier& Westhoff, 1993, p.78). Los insectos y los pájaros producen daños físicos en las frutas y hortalizas y aportan microorganismos, iniciando de esta forma el proceso de la alteración microbiana (Frazier& Westhoff, 1993, p.78).

2.2.3. Suelos agrícolas

Son suelos dedicados a la producción de cultivos, forrajes y pastos cultivados. Es también aquel suelo con aptitud para el crecimiento de cultivos y el desarrollo de la ganadería. Esto incluye tierras clasificadas como agrícolas, que mantienen un hábitat para especies permanentes y transitorias, además de flora y fauna nativa, como es el caso de las áreas naturales protegidas (MINAM, 2016). Los suelos son una mezcla compleja de materiales inorgánicos (arcilla, limo y arena entre otros), materia orgánica en descomposición, agua, aire y muchos organismos vivos (Villalobos, 2006, p.34).

El suelo es uno de los componentes principales de la tierra, que cumple funciones principales tanto de sostenimiento de la planta como de fuente de nutrientes para el desarrollo de las mismas. La limitación por el suelo está dada por la deficiencia de alguna de las características mencionadas, lo cual

incide en el crecimiento y desarrollo de la planta, así como en su capacidad productiva. (Decreto Supremo N° 017-2009-AG. Art. 9°). Los suelos deben ser reconocidos y valorados por su capacidad productiva, así como por su contribución a la seguridad alimentaria y al mantenimiento de servicios ecosistémicos clave. (FAO, 2018).

2.2.3.1. Contaminación de suelos agrícolas

El suelo contiene la mayor variedad de microorganismos procedentes de todas las fuentes de contaminación (Frazier & Westhoff, 1993, p.79). El suelo es una importante fuente de bacterias esporógenas termorresistentes. Casi todos los microorganismos importantes pueden proceder del suelo (Frazier & Westhoff, 1993, p.79).

La contaminación del suelo es la presencia de un químico o una sustancia fuera de sitio y/o presente en una concentración más alta de lo normal que tiene efectos adversos sobre cualquier organismo al que no está destinado (FAO, 2015).

Las fuentes de agua utilizadas para el riego también pueden causar contaminación del suelo si consisten en aguas residuales agrícolas, industriales o urbanas. El exceso de nitrógeno y los metales pesados no sólo son una fuente de contaminación del suelo, sino que además suponen una amenaza para la seguridad alimentaria, la calidad del agua y la salud humana cuando entran en la cadena alimentaria (FAO 2015). La ganadería también puede ser una fuente de contaminación, especialmente si los desechos no son manejados ni eliminados adecuadamente: la orina y las heces pueden contener parásitos y sustancias médicas que pueden persistir y acumularse en el suelo (Zhan et al., 2015).

La vía de absorción de los contaminantes orgánicos hasta llegar a la cadena alimentaria depende de las propiedades del contaminante orgánico en cuestión es principalmente su volatilidad, hidrofobicidad y solubilidad en agua. Los contaminantes orgánicos hidrofílicos con baja volatilidad (como las PFAS) ingresan a la cadena alimentaria sobre todo mediante

absorción por la raíz y transporte a las partes comestibles (Navarro, et al., 2017).

2.2.4. Microorganismos indicadores de calidad del agua y patógenos

Son agentes biológicos, los cuales conllevan a una modificación no deseable de la composición natural del agua, hortalizas y suelos (Peña, 2005, p.51). Los indicadores de contaminación fecal más utilizados son los coliformes totales y termotolerantes y *E. coli* (Peña, 2005, p.51).

El grupo de microorganismos coliformes es adecuado como indicador de contaminación bacteriana debido a que son contaminantes comunes del tracto gastrointestinal tanto del hombre como de los animales de sangre caliente, están presentes en el tracto gastrointestinal en grandes cantidades, permanecen por más tiempo en el agua que las bacterias patógenas y se comportan de igual manera que los patógenos en los sistemas de desinfección (Gonzales y Martin, 2003).

2.2.4.1. Bacterias coliformes totales

Son miembros de la familia *Enterobacteriaceae*, son gérmenes de forma bacilar, gramnegativos, aerobios y anaerobios facultativos, no esporulados, móviles o inmóviles, que fermentan la glucosa, reducen nitratos a nitritos, son citocromooxidasa negativos y crecen en medios que contienen sales biliares. De los integrantes de esta familia, unos fermentan la lactosa y otros no (Pascual y Calderón, 2000, p.33). Habitan el tracto intestinal de mamíferos y aves, y se caracterizan por su capacidad de fermentar lactosa a 35°C (Apella y Araujo, 2011, p.48). (Pascual y Calderón, 2000, p.33).

La presencia de coliformes totales debe interpretarse de acuerdo con el tipo de aguas: deben estar ausentes en 85% de las muestras de aguas potables tratadas. En caso de estar presentes, su número no puede ser superior a 2-3 coliformes. En aguas tratadas, los coliformes totales funcionan como una alerta de que ocurrió contaminación, sin identificar

el origen. Indican que hubo fallas en el tratamiento, en la distribución o en las propias fuentes domiciliarias. Su presencia acciona los mecanismos de control de calidad y de procesamiento dentro de la planta de tratamiento de agua, e intensifica la vigilancia en la red de distribución (Gonzales y Martin, 2003).

2.2.4.2. Coliformes termotolerantes

Son un subgrupo de los coliformes totales que se caracterizan por su capacidad para fermentar la lactosa con producción de ácido y gas, más o menos rápidamente, en un periodo de 48 horas y con una temperatura de incubación aproximadamente de 45 ° C (Pascual & Calderón, 2000, p.17).

Son bacilos aerobios o anaerobios facultativos, Gram negativos, no esporulados (Castañeda, 2015, p.111). Se encuentran en el intestino del hombre y de los animales, pero también en otros ambientes: suelo, plantas, cáscara de huevo, etc. (Pascual & Calderón, 2000, p.17).

Las principales características de los coliformes termotolerantes son: aptitud para desarrollarse entre 43,5-45,5 °C, capacidad para crecer en presencia de sales biliares y facultad para producir indol en agua de peptona (Pascual y Calderón, 2000, p.17).

2.2.4.3. *Escherichia coli*

Pertenece a la familia Enterobacteriaceae. Es un bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo, que forma parte del microbiota normal del intestino del ser humano y de los animales de sangre caliente, siendo la más abundante de las bacterias anaerobias facultativas intestinales (Pascual y Calderón, 2000, p.21).

Tiene el inconveniente de vivir poco tiempo en el ambiente extraentérico, por lo que su presencia en los alimentos indica contaminación reciente (Pascual y Calderón, 2000, p.21). Su presencia es tan abundante y constante, que se emplea como indicador sanitario de

aguas y alimentos; por consiguiente, si a partir de estos medios se aísla *E. coli*, se infiere su contaminación con materia fecal humana y se establece que son inadecuados para el consumo humano (Burgos, 2019, p.322).

2.2.4.4. *Salmonella*

Salmonella es un género perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae* integrado por bacterias de forma bacilar, no esporulados, habitualmente móviles mediante flagelos peritricos. Fermentan la glucosa con producción de gas, no fermentan la lactosa. Reducen nitratos a nitritos. Son citocromo- oxidasa negativos. Forman colonias típicas sobre medios de cultivo sólidos y poseen características bioquímicas y serológicas definidas (Pascual y Calderón, 2000, p.41).

Las colonias crecen al cabo de 16-24 horas y su temperatura óptima de crecimiento es de unos 32-37 °C, pero es capaz de desarrollarse dentro de un amplio rango de 6-46 °C. A temperaturas inferiores a 10 °C el crecimiento sufre un retraso considerable y a temperaturas inferiores a 7 °C se podrían evitar el crecimiento de la mayoría de salmonelas. Es por eso que los alimentos perecederos deben mantenerse por debajo de la temperatura mínima de crecimiento del microorganismo. *Salmonella* está presente en el medio ambiente, procede del tracto intestinal animal, ya sea doméstico o salvaje, donde puede encontrarse sin causar ningún tipo de enfermedad aparente (Odumeru y León, 2012).

2.2.5. Técnicas de análisis microbiano en aguas

2.2.5.1. Método de número más probable (NMP)

La determinación de microorganismos coliformes totales por el método NMP, se fundamenta en la capacidad de este grupo microbiano de fermentar la lactosa con producción de ácido y gas al incubarlos a 35 °C \pm 1 °C durante 48 horas, utilizando un medio de cultivo que contenga sales biliares. Esta determinación consta de dos fases, la fase presuntiva y la fase confirmativa (Camacho, et al., 2009).

En la fase presuntiva para coliformes totales, el medio de cultivo que se utiliza es el caldo lauril sulfato de sodio el cual permite la recuperación de los microorganismos que se encuentren presentes en la muestra y que sean capaces de utilizar a la lactosa como fuente de carbono. Durante la fase confirmativa para coliformes totales se emplea como medio de cultivo caldo lactosado bilis verde brillante el cual es selectivo y sólo permite el desarrollo de aquellos microorganismos capaces de tolerar tanto las sales biliares como el verde brillante. La determinación de la presencia de coliformes termotolerantes se realiza a partir de los tubos positivos de la prueba presuntiva y se fundamenta en la capacidad de las bacterias para fermentar la lactosa y producir gas cuando son incubados a una temperatura de 44.5 ± 0.1 °C por un periodo de 24 a 48 horas. La búsqueda de *Escherichia coli* se realiza a partir de los tubos positivos de caldo EC, los cuales se siembran por agotamiento en medios selectivos y diferenciales (Agar Mac Conkey, Agar eosina azul de metileno) y posteriormente realizando las pruebas bioquímicas básicas (IMViC) a las colonias típicas (Camacho, et al., 2009).

NMP es el cálculo de la densidad probable de bacterias coliformes basadas en la combinación de resultados positivos y negativos obtenidos en cada dilución. La precisión de cada prueba depende del número de tubos utilizados. Tres diluciones son necesarias para la obtención del código del NMP. Las tablas de NMP se basan en la hipótesis de una distribución de Poisson (dispersión aleatoria). Según el Ministerio de Salud la densidad bacteriana se obtiene a través de tablas en las que se presenta el límite de confianza de 95% para cada valor determinado y se expresa como NMP de coliformes/100 mL. (MINSA, 2010).

2.2.6. Marco Legal

Constitución Política del Perú.

Ley General del Ambiente, Ley N° 28611.

Ley de Recursos Hídricos, Ley N° 29338, modificada por Decreto Legislativo N° 1285. - Reglamento de la Ley de Recursos Hídricos, aprobado por Decreto Supremo N° 001-2010-AG y modificatorias.

Estándares Nacionales de Calidad Ambiental (ECA) para Agua, y establecen disposiciones complementarias Decreto Supremo N° 004-2017-MINAM.

El artículo 31 de la Ley N° 28611, define al Estándar de Calidad Ambiental (ECA) como la medida que establece el nivel de concentración o del grado de elementos, sustancias o parámetros físicos, químicos y biológicos, presentes en el aire, agua o suelo, en su condición de cuerpo receptor, que no representa riesgo significativo para la salud de las personas ni al ambiente; asimismo, el numeral 31.2 del artículo 31 de la Ley establece que el ECA es obligatorio en el diseño de las normas legales y las políticas públicas, así como un referente obligatorio en el diseño y aplicación de todos los instrumentos de gestión ambiental.

Decreto Supremo N° 004-2017-MINAM

Artículo 3.- Categorías de los Estándares de Calidad Ambiental para Agua

Categoría 3: Riego de vegetales y bebida de animales

a) Subcategoría D1: Riego de vegetales

Entiéndase como aquellas aguas utilizadas para el riego de los cultivos vegetales, las cuales, dependiendo de factores como el tipo de riego empleado en los cultivos, la clase de consumo utilizado (crudo o cocido) y los posibles procesos industriales o de transformación a los que puedan ser sometidos los productos agrícolas:

- **Agua para riego no restringido**

Entiéndase como aquellas aguas cuya calidad permite su utilización en el riego de: cultivos alimenticios que se consumen crudos (Ej.: hortalizas, plantas frutales de tallo bajo o similares); cultivos de árboles o arbustos frutales con sistema de riego por aspersión, donde el fruto o partes comestibles entran en contacto directo con el agua de riego, aun cuando estos sean de tallo alto; parques públicos, campos deportivos, áreas verdes y plantas ornamentales; o cualquier otro tipo de cultivo.

- **Agua para riego restringido**

Entiéndase como aquellas aguas cuya calidad permite su utilización en el riego de: cultivos alimenticios que se consumen cocidos (Ej.: habas); cultivos de tallo alto en los que el agua de riego no entra en contacto con el fruto (Ej.: árboles frutales); cultivos a ser procesados, envasados y/o industrializados (Ej.: trigo, arroz, avena y quinua); cultivos industriales no comestibles (Ej.: algodón), y; cultivos forestales, forrajes, pastos o similares (Ej.: maíz forrajero y alfalfa).

Norma Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano

Artículo 1°. – Aprobar la NTS N° 071- MINSA/DIGESA-V.01. Norma Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano que forma parte integrante de la presente resolución (MINSA, 2008).

2.2.7. Definición de términos

- **Contaminación:** Es la introducción de agentes biológicos, químicos o físicos a un medio al que no pertenecen, los cuales conllevan a una modificación no deseable de la composición natural de este medio (MINAM, 2016).
- **Agua de riego:** Consiste en aportar agua a los cultivos por medio del suelo para satisfacer sus necesidades hídricas que no fueron cubiertos mediante la precipitación. Es el uso eficiente y racional del agua, ya que define la tecnología de riego a usar en cada situación (combinación específica de suelo, cultivo y clima) (Silva, 2010).
- **Coliformes:** Enterobacterias que indican contaminación proveniente de residuos humanos, animales o erosión del suelo separadamente, o de una combinación de las tres fuentes (Fundación Nacional de Salud, 2013).
- **Estándar de calidad ambiental:** Medida que establece el nivel de concentración o del grado de elementos, sustancias o parámetros físicos, químicos y biológicos, presentes en el aire, agua o suelo, que no representa riesgo significativo para la salud de las personas ni al ambiente (MINAM, 2017).

- **Límites máximos permisibles:** Medida de la concentración o del grado de elementos, sustancias o parámetros físicos, químicos y biológicos, que caracterizan a un efluente o una emisión, que al ser excedida causa o puede causar daños a la salud, al bienestar humano y al ambiente (MINAM, 2017).

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Materiales e instrumentos de campo

3.1.1. Materiales

- Ficha de registro de campo
- Frascos de vidrio tapa rosca
- Etiquetas
- Guantes de látex estériles descartables
- Ice pack
- Cordel
- Guantes de látex descartables

- Bolsas de polietileno
- Cooler

3.1.2. Instrumentos

- PHmetro marca Hanna
- Termómetro de mercurio
- GPS
- Cooler
- Cámara fotográfica

3.1.3. Herramientas

- Pico
- Rastrillo
- Regadera

3.1.4. Insumos

- Semillas de lechugas variedad White Boston

3.2. Materiales y equipos de laboratorio

3.2.1. Materiales

- Mechero
- Pipetas de 10 mL estériles con tapón de algodón
- Asa bacteriológica

- Placas petri
- Fichas de registro.
- Frascos de vidrio transparente de 500 mL
- Guantes de látex descartables
- Mascarillas
- Bolsas de polietileno
- Gradillas
- Tubos de ensayo 19 x 15mm
- Cooler

3.2.2. Medios de cultivo y reactivos

- Peptona
- Caldo Lauril Triptosa
- Caldo Bilis Lactosa Verde Brillante
- Caldo EC
- Caldo selenito de cistina
- Agar eosina azul de metileno
- Agar Salmonella- Shigella
- Agar Sulfito de Bismuto
- Agar TSI
- Agar LIA
- Agar citrato de Simmons

3.3. Equipos

- Balanza analítica
- Baño María a 45 °C
- Incubadora a 37 °C
- Horno para esterilizar material de vidrio a 160-180 °C
- Autoclave
- Cocina eléctrica

3.4. Metodología de la investigación

3.4.1. Ubicación y descripción general del área de estudio

3.4.1.1. Ubicación geográfica

El presente trabajo de investigación se ubica en el caserío de Huacariz en la Región de Cajamarca, Provincia de Cajamarca y Distrito de Cajamarca (Figura 1), con una latitud $7^{\circ}10'00''$ Sur, longitud $78^{\circ}31'00''$ Oeste y una altitud 2750 msnm. Limita por el norte con la ciudad de Cajamarca, por el sur con el caserío La Victoria, por el oeste con el centro poblado La Paccha y por este con el caserío Huayrapongo. Se encuentra dentro del valle interandino y se caracteriza por encontrarse atravesado por una inmensa llanura inundable que vienen a ser el lecho de los ríos, siendo Mashcon y Chonta.

a) Vegetación

Presenta una vegetación variada: sauces, cipreses, eucaliptos, pinos, entre otros. La población de esta zona se dedica principalmente a la agricultura, siembra de hortalizas, cereales, pastos, entre otros.

b) Clima

Su clima es templado, seco y soleado en el día y frío en la noche. Las precipitaciones son de diciembre a marzo y se presentan con el fenómeno del Niño en forma cíclica. Su temperatura media anual es de $15,8^{\circ}\text{C}$. Por la cercanía al Ecuador y por ser una ciudad ubicada en piso térmico bajo, tiene un invierno suave y un verano.

Tabla 1.

Datos meteorológicos registrados durante el periodo de investigación (Agosto – octubre 2019).

Factores Meteorológicos	Meses (2019)		
	Agosto	Septiembre	Octubre
Precipitación (mm)	0	0.6	4.4
Humedad relativa (%)	73.6	75.5	80.1
Temperatura mínima (°C)	3.4	6.6	8.3
temperatura máxima (°C)	19.6	19.6	19.1

Fuente: SENAMHI ,2019

c) Geología

Presenta una formación geológica INCA (Ki – in), consta de la intercalación de areniscas calcáreas, lutitas ferruginosas dando en superficie un matiz amarillento. En los alrededores de Cajamarca es de coloración rojiza. Su grosor aproximado es de 100 m (Cruzado, 2011).

d) Ganadería

Se dedican la población a la crianza de ganado vacuno como la raza Holstein, criolla y Brown Swiss, ovinos y porcino.

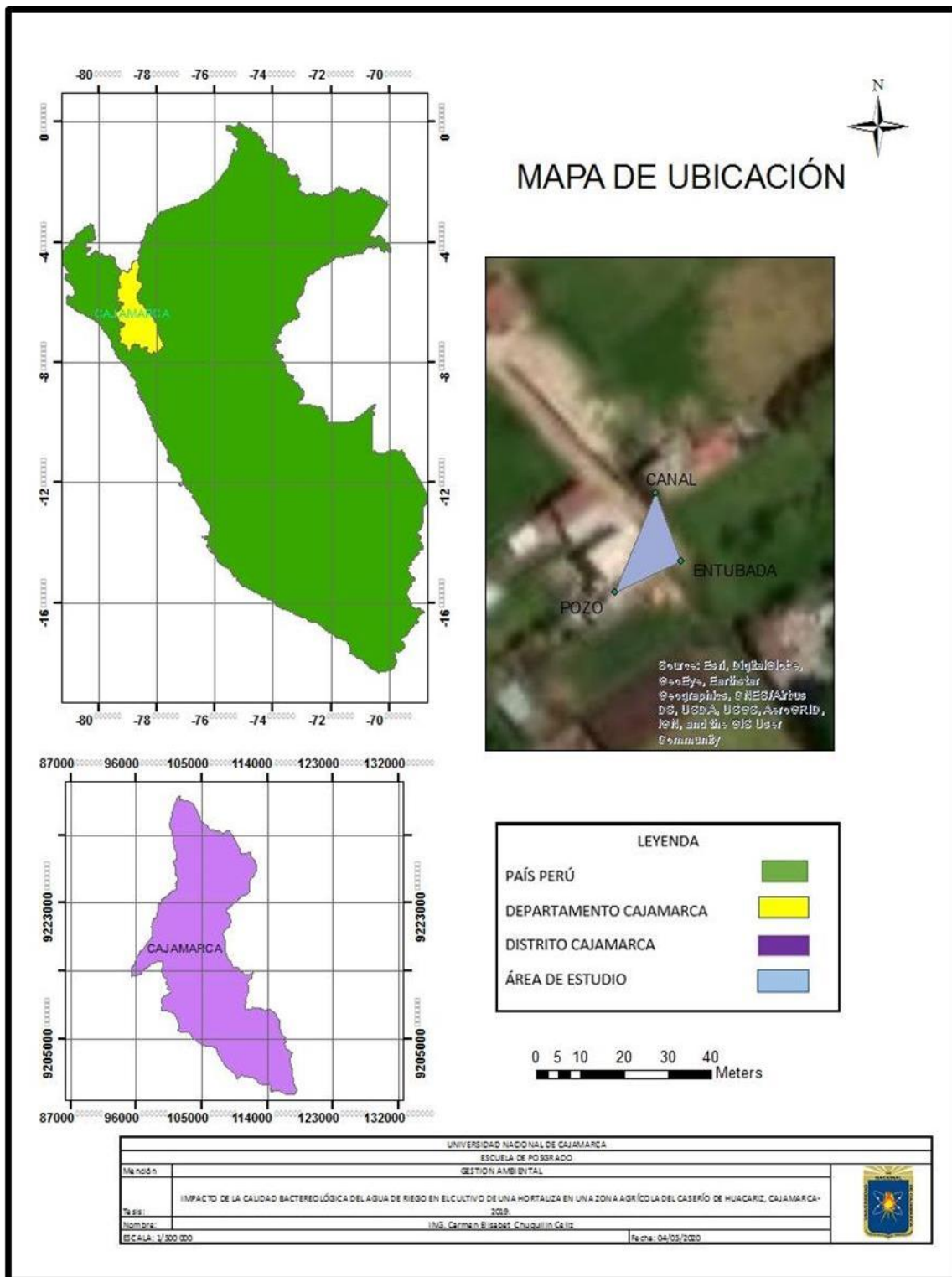
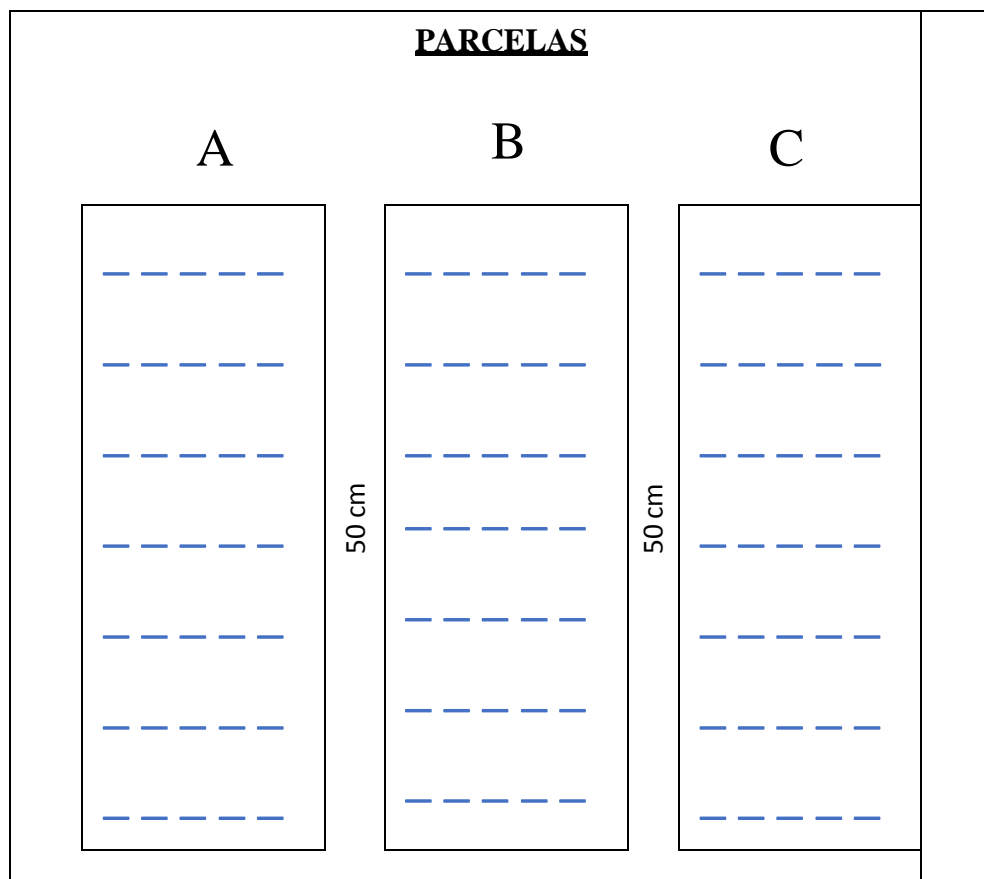


Figura 1.- Ubicación de la zona experimental en el caserío Huacariz

3.4.2. Métodos de investigación

El sitio experimental se ubicó en una zona agrícola del caserío Huacariz, se trabajó con 3 parcelas experimentales (A, B y C) que medían 2.5 m x 2 m cada una con pasadizos de 50 cm entre ellas. Cada parcela se dividió en siete surcos, con cinco lechugas de la variedad White Boston por surco. Cada una de las parcelas fue sometida a una determinada fuente de regadío (A: agua de pozo, B: agua de canal, C: agua entubada). El riego se realizó con una regadera para cada fuente de agua, con el mismo volumen y a chorro continuo cada tres días, durante dos meses por ser hortalizas de tallo corto. Alrededor del sitio experimental se colocó un cerco de metal para proteger del ingreso de animales.



A: agua de pozo, B: agua de canal, C: agua entubada

Figura 2.- Croquis de la ubicación de las parcelas.

3.4.2.1. Diseño de investigación

El diseño de investigación es experimental a nivel de campo y laboratorio a fin de evaluar por separado la calidad bacteriológica de cada una de las fuentes de agua y determinar su impacto sobre la contaminación de la lechuga de la variedad White Boston.

3.4.2.2. Trabajo de campo

3.4.2.2.1. Medición de los parámetros fisicoquímicos de las tres fuentes de agua en campo.

Los equipos portátiles se calibraron al inicio del monitoreo para asegurar la exactitud y la precisión de las mediciones realizadas. Para la calibración se emplearon las soluciones buffer, las muestras fueron colectadas en frascos estériles y botellas de primer uso.

- **Temperatura:** La temperatura del agua de las muestras obtenidas se realizó de manera directa, se utilizó un termistor que se sostuvo por la parte superior, se sumergió en el agua, dejándolo estabilizarse durante 1 minuto como mínimo y después se realizó la lectura y luego se anotó la temperatura, sin retirarlo del agua de canal y de igual manera se procedió para el agua de pozo. Para la medición de la temperatura de agua entubada, se realizó en un recipiente, el termistor o la sonda se colocó en el recipiente inmediatamente, antes de que cambie la temperatura, y se procedió a leer y anotar la temperatura.
- **pH:** Se midió directamente en la corriente de agua de canal y en la profundidad de agua de pozo, se dejó que la sonda de pH se equilibre durante por lo menos un minuto antes de registrar el pH con aproximación al 0.1 más cercano de la unidad estándar. Para la medición del pH del agua entubada, se utilizó un recipiente con las mismas que las especificadas anteriormente.

Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO), Demanda Química de Oxígeno (DQO) y Oxígeno disuelto

Estas pruebas fueron realizadas por el personal del Laboratorio Regional de Agua Cajamarca para cada una de las fuentes de agua (canal, pozo y entubada).

3.4.2.3. Toma de muestras

La toma de muestras se realizó durante dos meses, que abarcó el período de siembra, crecimiento y cosecha de las lechugas. Se tomó tres muestras de agua de canal, pozo y entubada antes de la siembra y al momento de la cosecha. Para el suelo se muestreó al azar, tomándose tres muestras de cada parcela antes de la siembra y al momento de la cosecha. Para las lechugas se recolectó cinco muestras de cada parcela al azar un día después del último riego durante la cosecha. Todas las muestras fueron debidamente etiquetadas, registradas (Apéndice 1) y conservadas bajo cadena de frío para su traslado al laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional de Cajamarca.

a. Agua

Para la toma de las muestras de agua se utilizó frascos de vidrio con tapa rosca, boca ancha, con capacidad de 500 mL y debidamente estériles (Dirección General de Salud Ambiental [DIGESA], 2007).

a.1. Agua de canal: Se recolectaron muestras de agua de un canal de regadío procedente del río Cajamarquino, que es empleado por los pobladores para regar sus cultivos. Se tomó el frasco por la parte inferior y se sumergió hasta una profundidad de aproximadamente 20 centímetros.

a.2. Agua de pozo: Se recolectaron muestras de agua de un pozo con una profundidad de 3 metros, que se empleó para el riego de lechugas y estaba cerca al sitio experimental. Se amarró un frasco de muestreo con un cordón de una longitud adecuada a la profundidad del pozo de 1.5 metros. Se ubicó el frasco en un punto alejado de las paredes del pozo, se dejó descender lentamente dentro del mismo y una vez lleno el frasco, se enrolló la cuerda para subirlo.

a.3. Agua entubada: Se tomó muestras de agua entubada procedente de un manantial que la población del caserío emplea principalmente para consumo humano. Se abrió el grifo de la vivienda hasta que alcanzó su flujo máximo, se dejó correr el agua durante dos minutos, luego se llenó el frasco y se tapó.

- b. Suelo:** El muestreo de suelos se realizó en cada parcela, al azar, a una profundidad de 10 cm. La cantidad de muestra varió de 0,5 - 1,0 kg y fueron recolectadas en bolsas de polietileno de primer uso.
- c. Hortaliza:** Las muestras de lechuga se seleccionaron al azar en zigzag de cada parcela a muestrear. Las muestras se recolectaron en bolsas de polietileno de primer uso y se sellaron.

3.4.2.4. Determinación de coliformes por la técnica NMP

I. Agua

a. Determinación de coliformes totales

- **Prueba presuntiva**

Se agitó la muestra, se realizó diluciones hasta 10^{-3} y se transfirió volúmenes de la muestra a cada uno de los tubos con caldo lauril sulfato de sodio. Se agitó los tubos para homogeneizar la muestra. Se incubaron los tubos a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, se

examinaron a las 24 horas y se observó si había formación de gas; en caso contrario, se incubó 24 horas más.

- **Prueba confirmativa**

Se transfirió 2 a 3 asadas de cada tubo positivo obtenido durante la prueba presuntiva, a otros tubos que contenían caldo bilis verde brillante (BRILA), con campana de Durham. Se agitaron los tubos para su homogeneización y se incubó por 24 a 48 horas a 37 °C.

Se registró como positivos aquellos tubos en donde se observó turbidez (crecimiento) y producción de gas después de un período de incubación de 24 a 48 horas.

Se consultó la tabla de NMP para conocer el número más probable de organismos coliformes totales/100 mL (Anexo 1).

- b. Determinación de coliformes termotolerantes**

Para la confirmación de coliformes termotolerantes se inoculó 2 a 3 asadas de los tubos positivos caldo lauril sulfato en tubos con caldo EC, luego se los incubó a 45 °C durante 24 a 48 horas en baño maría; al cabo de este tiempo se examinó los tubos de las series, constituyendo las presencias de gas como positivo. Posteriormente, a partir de los tubos que resultaron positivos, se procedió con la ayuda de la tabla del NMP a determinar el número más probable de coliformes termotolerantes /100 mL (Anexo 1).

II. Suelo

1. Determinación de coliformes totales

- **Prueba presuntiva**

Se pesaron 25 gramos representativos de la muestra de suelo y se homogenizó con 225 mL de solución diluyente, se agitó y se realizó diluciones hasta 10^{-6} .

Se añadió 1 mL de la dilución 10^{-4} a cada uno de 3 tubos con 10 mL de caldo lauril sulfato de sodio, 1.0 mL de las diluciones 10^{-5} y 10^{-6} a dos series de 3 tubos cada una con caldo lauril sulfato de sodio.

Se incubó a 37 °C durante 24-48 horas, se examinó los tubos a las 24 horas y se observó si había formación de gas (desplazamiento del medio en la campana de Durham); si no se observó producción de gas, se dejó incubar 24 horas más.

- **Prueba confirmativa**

Se transfirió 2 a 3 asadas de cada tubo positivo obtenido durante la prueba presuntiva a otros tubos que contenían caldo BRILA, con campana de Durham, se agitó los tubos para su homogeneización. Se incubó a 37°C durante 24 a 48 horas. Se registró como positivos aquellos tubos en los cuales se observó turbidez (crecimiento) y producción de gas y se consultó la tabla de NMP para conocer el número más probable de coliformes totales/ g. de muestra (Anexo 1).

2. Determinación de coliformes termotolerantes

Para la confirmación de coliformes termotolerantes, se inoculó 2 a 3 asadas de los tubos positivos en caldo lauril sulfato de sodio a otros tubos que contenían 10 mL de caldo EC, luego se incubó a 45 °C durante 24 a 48 horas en baño maría; al cabo de este tiempo se examinó los tubos de las series, constituyendo la presencia de gas como positivo. Posteriormente, a partir de los tubos que resultaron positivos,

se procedió con la ayuda de la tabla del NMP a determinar el número de coliformes termotolerantes/ g y luego se procedió a multiplicar este valor por el factor de dilución apropiado que fue 1000 (Anexo 1).

III. Hortaliza

1) Determinación de coliformes totales

- **Prueba presuntiva**

Se pesaron 10 g de lechuga y se homogeneizó con 90 mL de agua peptonada al 0.1% (A. P), obteniéndose la dilución 10^{-1} . De ésta última, se extrajo 1 mL y se transfirió a un tubo que contenía 9 mL de A. P, obteniéndose la dilución 10^{-2} , de la misma manera se obtuvo la dilución 10^{-3} . Se utilizó 3 tubos de caldo BRILA por cada dilución.

Se incubaron los tubos a 37°C durante 24-48 horas, se examinaron a las 24 horas y se observó si había formación de gas (desplazamiento del medio en la campana de Durham); si no se observaba producción de gas se incubaron 24 horas más.

- **Prueba confirmativa**

Se transfirió 2 a 3 asadas de cada tubo positivo obtenido durante la prueba presuntiva, a otros tubos de que contenían caldo BRILA, con campana de Durham. Se agitaron los tubos para su homogeneización y se incubaron a 37°C durante 24 a 48 horas. Se registró como positivos aquellos tubos en donde se observó turbidez (crecimiento) y producción de gas y se consultó la tabla de NMP para conocer el número más probable de organismos coliformes totales/g de muestra (Anexo 1).

2) Determinación de coliformes termotolerantes

Para la confirmación de coliformes termotolerantes, se inoculó 2 a 3 asadas de los tubos positivos caldo BRILA, en tubos con caldos EC, luego se incubaron a 45 °C durante 24 a 48 horas en baño maría; al cabo de este tiempo se examinó los tubos de las series, constituyendo la presencia de gas como positivo.

Posteriormente, a partir de los tubos que resultarán con gas, se procedió a determinar con la ayuda de la tabla del NMP el número de coliformes termotolerantes/g de muestra (Anexo1).

3.4.2.5 Aislamiento e identificación de *E. coli* en agua, suelo y lechuga

Para confirmar la presencia de *E. coli* de cada tubo con caldo EC positivo, se transfirió una asada a una placa de agar eosina azul de metileno (EMB) que se incubó por 18 a 24 horas a 37 °C. Las colonias bacterianas sospechosas se confirmaron por coloración Gram (bacilos cortos o cocobacilos Gramnegativos) y pruebas bioquímicas (TSI A/A, LIA K/K, Indol +, Citrato -) (Pascual & Calderón, 2000)

3.4.2.6 Aislamiento e identificación de *Salmonella* spp. en agua, suelo y lechuga

Para el aislamiento e identificación de *Salmonella* spp. Se tomó en condiciones asépticas una cantidad determinada de muestra (10 mL de la muestra de agua de pozo, canal y entubada, 10g de la muestra de suelo, 25 g de muestra de lechuga. Cada una de las muestras se homogeneizaron, fueron sometidas a preenriquecimiento con agua peptonada 0.1 % e incubadas a 37 °C por 24 horas ((Pascual & Calderón, 2000),

En la etapa de enriquecimiento selectivo, se estimuló y favoreció el crecimiento de *Salmonella*, por ello se sembró, con pipetas estériles

1 mL de cultivo sobre 10 mL de caldo selenito-cistina incubando a 42 °C en baño maría durante 24 horas (Pascual & Calderón, 2000).

Para el aislamiento selectivo se sembró de los tubos positivos con un asa estéril en placas de Agar Salmonella- Shigella. Se dejaron incubar las placas a 37 °C durante 24 horas (Pascual & Calderón, 2000).

Las colonias positivas típicas que crecieron en por lo menos uno de los medios de Agar Salmonella-Shiguella se consideraron como sospechosas y se confirmaron por coloración Gram (bacilos cortos o cocobacilos Gram-negativos) y se realizaron las pruebas bioquímicas (TSI K/A, LIA K/K o K/A, SIM, Citrato +) (Pascual & Calderón, 2000).

3.4.2.7 Comparación de parámetros con normas peruanas

Los parámetros físicos, químicos y bacteriológicos obtenidos de las muestras de agua fueron comparados con los límites máximos permitidos (LMP) de los Estándares de Calidad Ambiental (ECA de la categoría 3 (Aguas destinadas para riego de vegetales) determinado por Decreto Supremo (N° 015-2015 (MINAM, 2015) y Decreto Supremo N° 004-2017- MINAM) (MINAM, 2017). Los parámetros bacteriológicos para las muestras de lechugas fueron comparados con los límites máximos permitidos (LMP) de la norma técnica sanitaria 071 grupo XIV.1 (frutas y hortalizas frescas) (MINSAL, 2008).

3.5. PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS

Los datos fueron ingresados y procesados en una base de datos del programa estadístico IBM SPSS Statistics versión 23. Para el recuento de coliformes se realizó el cálculo de medidas de tendencia central (media aritmética, media geométrica) y de dispersión (desviación estándar, rango); además, se constató la normalidad de los datos usando el Test de Shapiro-Wilk. Se realizó las comparaciones de los recuentos de los indicadores bacteriológicos entre las tres fuentes de agua empleando la prueba de Kruskal Wallis. Se consideró $p \leq 0,05$ como significativo.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Resultados

4.1.1 Parámetros físico químicos en fuentes de agua

En la tabla 2 se observa los principales parámetros físicos como temperatura y pH, además de los parámetros químicos como demanda bioquímica de oxígeno (DBO), demanda química de oxígeno (DQO) y oxígeno disuelto evaluados en las tres fuentes de agua empleadas para el riego de lechugas. Los parámetros DBO, DQO y OD en las muestras de agua de pozo y agua de canal sobrepasaron los límites permitidos establecidos en los ECA para las aguas de Categoría 3 para riego de vegetales.

Tabla 2

Parámetros fisicoquímicos de agua de pozo, agua entubada y agua de canal

PARÁMETROS	UNIDAD	LMP	AGUA DE POZO	AGUA ENTUBADA	AGUA DE CANAL
pH a 25 °C	PH	6,5 -8,5	8.24	7.35	8.27
Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO)	mgO ₂ /L	15	18.4	<LMP	17.5
Demanda Química de Oxígeno (DQO)	mgO ₂ /L	40	60.5	<LMP	59.5
Oxígeno Disuelto	mgO ₂ /L	≥ 4	3.7	6.10	3.5
Temperatura en Laboratorio	°C	-	18.8	19.3	19.1

LMP: Límite máximo permisible según ECA (2017).

Fuente: Laboratorio Regional del Agua Cajamarca

4.1.2 Parámetros bacteriológicos en fuentes de agua

En la tabla 3 se observa las principales medidas descriptivas de las concentraciones de los parámetros bacteriológicos evaluados en las tres fuentes de agua empleadas para el riego de lechugas. Las muestras de agua de pozo presentaron las mayores concentraciones de coliformes totales ($7,4 \times 10^2$ NMP/ 100 mL), coliformes termotolerantes ($5,2 \times 10^2$ NMP/ 100 mL) y de *E. coli* ($1,2 \times 10^2$ NMP/ 100 mL); estos dos últimos indicadores resultaron ser significativamente mayores que las otras fuentes de agua ($p \leq 0,05$).

En las figuras 3, 4 y 5 se observan los recuentos de los coliformes totales, coliformes termotolerantes y *E. coli* respectivamente en las muestras de las diferentes fuentes de agua y se comparan con los límites máximos permisibles establecidos en los ECA para las aguas de Categoría 3 para riego de vegetales.

Tabla 3

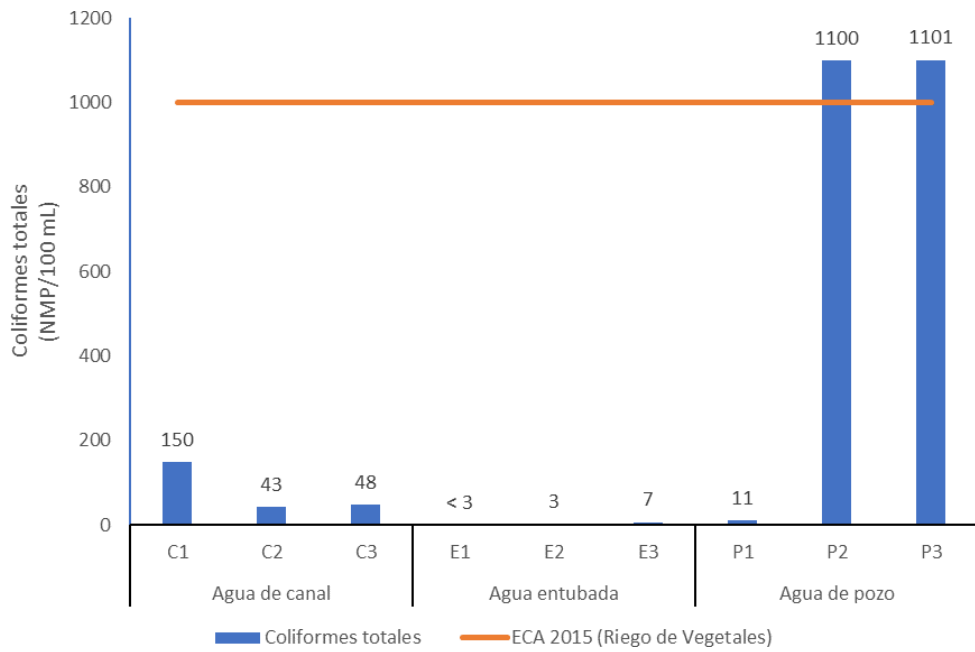
Parámetros bacteriológicos en las diferentes fuentes de agua en el caserío Huacariz, 2019

PARÁMETROS BACTERIOLÓGICOS	TIPO DE AGUA	PROMEDIO	MEDIANA	MÍNIMO	MÁXIMO
Coliformes totales * (NMP/100 mL)	Canal	8,0 x 10	5,0 x 10	4,3 x 10	1,5x 10 ²
	Pozo	7,4 x 10 ²	1,1 x 10 ³	1,1 x 10	1,1 x 10 ³
	Entubada	0,4 x 10	0,3 x 10	< 0,3 x 10	0,7 x 10
Coliformes termotolerantes ** (NMP/100 mL)	Canal	0,7 x 10	0,3 x 10	< 0,3 x 10	1,5 x 10
	Pozo	5,2 x 10 ²	4,6 x 10 ²	4,0 x10	1,1x10 ³
	Entubada	< 0,3 x 10	< 0,3 x 10	< 0,3 x 10	< 0,3 x 10
<i>E. coli</i> ** (NMP/100 mL)	Canal	0,4 x 10	0,3 x 10	< 0,3 x 10	0,7 x 10
	Pozo	1,2 x 10 ²	1,5 x 10 ²	0,4 x 10	2,1 x 10 ²
	Entubada	< 0,3 x 10	< 0,3 x 10	< 0,3 x 10	< 0,3 x 10

* Prueba de Kruskal Wallis ($P > 0,05$)

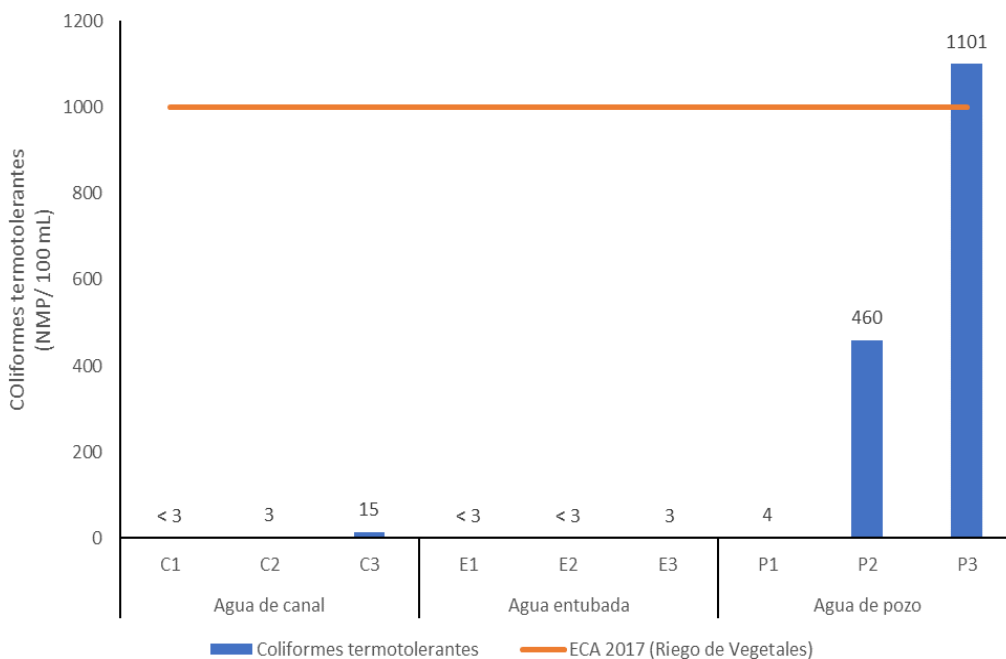
** Prueba de Kruskal Wallis ($P \leq 0,05$)

Fuente: Laboratorio de la Universidad Nacional de Cajamarca, 2019.



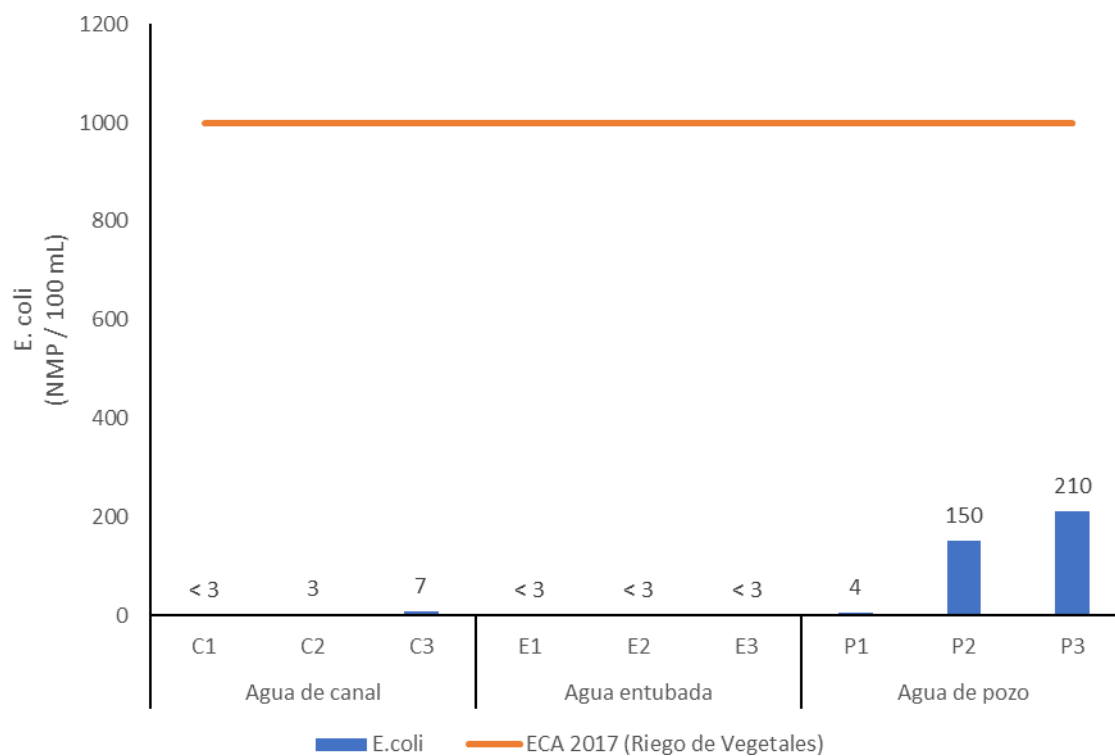
C: muestra de agua de canal, E: muestra de agua entubada, P: muestra de agua de pozo

Figura 3. Recuento de coliformes totales en las muestras de fuentes de agua en el caserío Huacariz, 2019.



C: muestra de agua de canal, E: muestra de agua entubada, P: muestra de agua de pozo

Figura 4. Recuento de coliformes termotolerantes en las muestras de fuentes de agua en el caserío Huacariz, 2019.



C: muestra de agua de canal, E: muestra de agua entubada, P: muestra de agua de pozo

Figura 5. Recuento de *E. coli* en las muestras de fuentes de agua en el caserío Huacariz, 2019.

4.1.3 Parámetros bacteriológicos en suelos

En la tabla 4 se muestra los resultados de las concentraciones de los parámetros bacteriológicos en los suelos antes de la siembra y después de la siembra (después de ser regado continuamente con su respectiva fuente de agua). Se puede observar que los recuentos de todos los parámetros en los suelos regados con las diferentes fuentes de agua fueron mayores después de la siembra, siendo el suelo regado con agua de pozo el que presentó las mayores concentraciones de los tres parámetros.

Tabla 4

Parámetros bacteriológicos en los suelos regados con diferentes fuentes de agua en el caserío Huacariz, 2019

PARÁMETROS BACTERIOLÓGICOS	SUELOS REGADOS CON AGUA DE	RECUENTO ANTES DE LA SIEMBRA	RECUENTO DESPUÉS DE LA SIEMBRA
Coliformes totales (NMP/g)	Canal	9,0 x 10 ³	1,5 x 10 ⁴
	Pozo	2,3 x 10 ⁴	9,3 x 10 ⁴
	Entubada	1,4 x 10 ⁴	2,0 x 10 ⁴
Coliformes termotolerantes (NMP/g)	Canal	3,0 x 10 ³	9,0 x 10 ³
	Pozo	4,0 x 10 ³	4,3 x 10 ⁴
	Entubada	3,0 x 10 ³	4,0 x 10 ³
<i>E. coli</i> (NMP/g)	Canal	3,0 x 10 ³	9,0 x 10 ³
	Pozo	4,0 x 10 ³	1,5 x 10 ⁴
	Entubada	3,0 x 10 ³	4,0 x 10 ³

Fuente: Laboratorio de la Universidad Nacional de Cajamarca, 2019.

4.1.4 Parámetros bacteriológicos en lechugas

En la tabla 5 se observa las principales medidas descriptivas de las concentraciones de los parámetros bacteriológicos evaluados en las lechugas regadas con diferentes fuentes de agua.

En la figura 6 se observa los recuentos de *E. coli* en las lechugas regadas con diferentes fuentes de agua y se comparan con los límites establecidos en norma técnica sanitaria 071 grupo XIV.1 para frutas y hortalizas frescas.

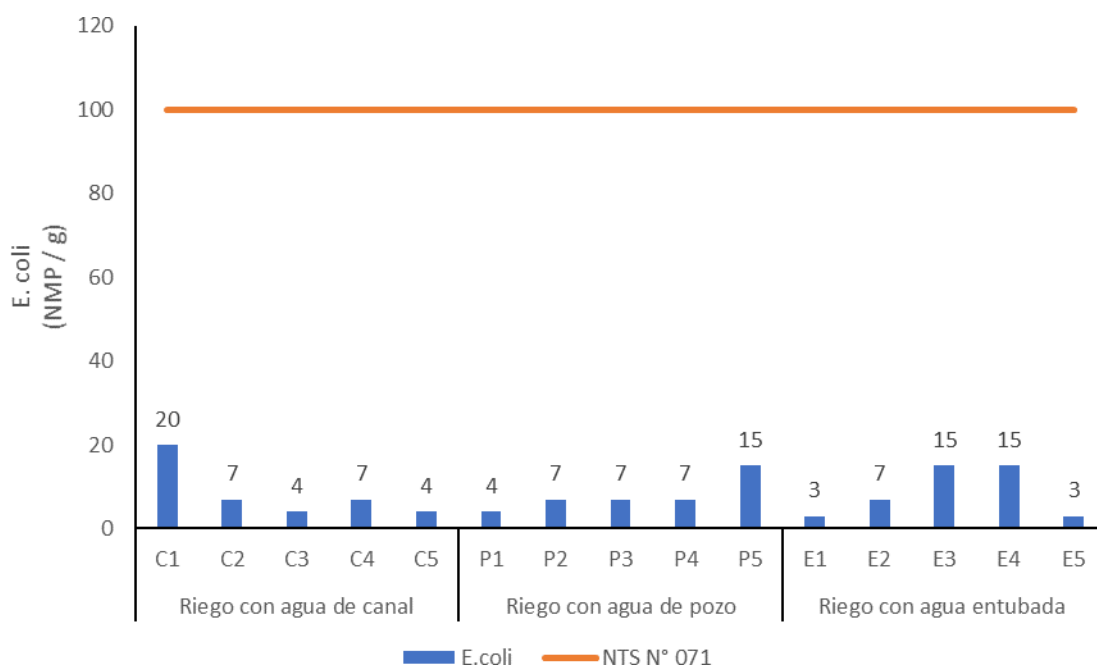
Tabla 5

Parámetros bacteriológicos en las lechugas variedad White Boston regadas con diferentes fuentes de agua en el caserío Huacariz, 2019

PARÁMETROS BACTERIOLÓGICOS	LECHUGAS REGADAS CON AGUA DE	PROMEDIO	MEDIANA	MÍNIMO	MÁXIMO
Coliformes totales * (NMP/g)	Canal	2,0 x 10	1,5 x 10	1,5 x 10	2,8 x 10
	Pozo	4,2 x 10	2,8 x 10	1,5 x 10	1,2 x 10 ²
	Entubada	1,6 x 10	1,5 x 10	0,7 x 10	2,8 x 10
Coliformes termotolerantes * (NMP/g)	Canal	1,9 x 10	1,5 x 10	0,9 x 10	2,8 x 10
	Pozo	1,9 x 10	1,5 x 10	1,1 x 10	2,8 x 10
	Entubada	1,6 x 10	1,5 x 10	0,7 x 10	2,8 x 10
<i>E. coli</i> * (NMP/g)	Canal	0,6 x 10	0,3 x 10	0,3 x 10	1,5 x 10
	Pozo	0,8 x 10	0,7 x 10	0,4 x 10	1,5 x 10
	Entubada	0,8 x 10	0,7 x 10	0,4 x 10	2,0 x 10

* Prueba Kruskal Wallis (P > 0,05)

Fuente: Laboratorio de la Universidad Nacional de Cajamarca, 2019.



C: muestra de lechuga regada con agua de canal, E: muestra de lechuga regada con agua entubada,
 P: muestra de lechuga regada con agua de pozo

Figura 6. Recuento de *E. coli* en las muestras de lechugas variedad White Boston regadas con diferentes fuentes de agua en el caserío Huacariz, 2019.

4.1.6 Presencia de *Salmonella* spp en muestras de agua, lechugas y suelos.

Luego de evaluar la presencia de la bacteria patógena *Salmonella* spp. en las diferentes muestras de agua, lechugas y suelos, se determinó su presencia en una muestra de agua de canal y dos muestras de agua de pozo. En las muestras de suelos sólo se evidenció su presencia en aquel que fue regado con agua entubada y no se observó en ninguna de las lechugas muestreadas (Tabla 6).

Tabla 6

Frecuencia de Salmonella spp. en las diferentes muestras de agua, lechugas y suelos.

Muestra	Canal	Pozo	Entubada
Agua	1 (33.3%)	2 (66,7%)	0 (0%)
Lechugas regadas	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Suelos regados	0 (0%)	0 (0%)	1 (33,3%)

Fuente: Laboratorio de la Universidad Nacional de Cajamarca, 2019.

4.2. Discusión

En el valle de Cajamarca se cultivan hortalizas como la lechuga, la cual es consumida con frecuencia y generalmente cruda lo que podría ocasionar enfermedades gastrointestinales, de allí la importancia de determinar su calidad bacteriológica, así como de las diferentes fuentes de agua utilizadas para el riego y del suelo empleado para su cultivo que podrían influir en la carga bacteriana.

Generalmente, la presencia de bacterias en el agua está influenciada por factores abióticos y bióticos. La DBO, DQO y oxígeno disuelto son los parámetros químicos más importantes en la caracterización de la contaminación del agua. En las muestras de agua de pozo y agua de canal, los valores de estos tres parámetros sobrepasaron los límites permitidos establecidos en los ECA para las aguas de Categoría 3 para riego de vegetales (tabla 2), de allí que indicaría que estas fuentes de agua estarían contaminadas.

En relación a los parámetros bacteriológicos, de las tres fuentes de agua analizadas se determinó que el agua de pozo presentó las mayores concentraciones de coliformes termotolerantes y de *E. coli* (tabla 3); dichas concentraciones resultaron ser similares al estudio realizado por Zegarra (2017) en muestras de agua de pozos en una zona de Juliaca, cuyos recuentos alcanzaron $1,6 \times 10^3$ para coliformes totales y $2,4 \times 10^2$ para coliformes fecales indicadores de contaminación fecal. A diferencia del estudio realizado por Gutiérrez et al. (2018) en agua de pozos con fines agropecuarios en el estado Zulia (Venezuela), en las cuales todas las muestras de agua subterránea monitoreadas

presentaron valores de estos parámetros por debajo del límite exigido por la normativa venezolana.

En relación al agua de canal que se emplea para el riego de hortalizas en Huacariz, las concentraciones de coliformes termotolerantes halladas (Tabla 3) son menores a lo reportado en otras investigaciones realizadas también en Cajamarca como la de Montalvo y Quispe (2020) quienes encontraron que la contaminación fecal alcanzó los $3,5 \times 10^2$ NMP/ 100 mL para el mes noviembre; Chávez (2014) quien investigó algunos canales de riego en el caserío La Victoria encontró valores de coliformes termotolerantes en el Canal Yanamarca de $1,3 \times 10^5$ NMP/100mL y en el Canal la Victoria $9,2 \times 10^6$ NMP/100mL, afectando a las aguas de riego, bebida de animales y a las plantas especialmente de tallo corto; asimismo Escalante (2018) encontró que el agua procedente de los ríos Mashcón y San Lucas tenía una alta concentración de termotolerantes ($1,9 \times 10^4$ NMP/100 mL – $1,6 \times 10^7$ NMP/100 mL).

Estudios en otras zonas del país también reportaron mayores concentraciones en agua de canal. Lezama (2018) encontró en la cuenca baja del río Moche en Trujillo que la concentración de coliformes termotolerantes entre noviembre y diciembre alcanzó $4,8 \times 10^2$ NMP/100mL y $4,7 \times 10^2$ NMP/100mL respectivamente, Romero (2019) en su estudio en la ciudad de Chiclayo encontró que la concentración de coliformes termotolerantes en el agua de la acequia Yortuque alcanzó $25,8 \times 10^3$ NMP/100mL y en la acequia Cois hasta 6×10^4 NMP/ 100 mL.

Todas las muestras de agua de canal y agua entubada analizadas en el presente estudio (Tabla 3, figuras 3, 4, 5) presentaron, de acuerdo a la norma peruana, calidad bacteriológica aceptable (MINAM,2017) y pueden ser empleadas para el riego de vegetales. En relación al agua de pozo, se encontró que aproximadamente el 66 % de las muestras presentaron concentraciones de coliformes totales por encima del límite considerado por los ECA para la categoría 3 (coliformes totales: 1000 NMP/100 mL) (MINAM, 2015); asimismo, el 32% de estas muestras tuvieron concentraciones de termotolerantes que sobrepasaron los límites de la norma peruana actual (coliformes termotolerantes: 1000 NMP/100 mL) (MINAM,2017), este último parámetro es el que refleja la calidad bacteriológica inaceptable del agua de pozo.

Si bien el uso de los pozos en los últimos años se debe a que el agua superficial se ha degradado tanto en calidad y cantidad principalmente en la época seca en el valle de Cajamarca (Hernández, 2019); sin embargo, la presencia de coliformes termotolerantes en las muestras de agua de pozo indican contaminación con material fecal, que podría tener origen animal debido a que en los alrededores del pozo suele pastar el ganado vacuno, además de origen humano por el hecho de que los pobladores al no contar con el servicio básico de desagüe entonces utilizan letrinas o pozos sépticos que son instaladas de manera precaria, es así que estos desechos son liberados al suelo y luego filtran al acuífero ya que las aguas subterráneas provienen de la infiltración directa en el terreno (pozo) (Chávez, 2014) (OMS, 2019). Se debe precisar que el pozo investigado al igual que los pozos aledaños, han sido excavados manualmente, algunos tienen un revestimiento de concreto, otros cuentan con el recubrimiento de limo y arcilla; algunos pozos funcionan con bomba, otros no cuentan con bomba por lo que el agua lo extraen con baldes u otros objetos, como es el caso del pozo de estudio que no cuenta con válvulas preventivas de reflujo, tampoco con barreras de protección, además la limpieza del pozo es cada tres meses o cuatro meses, pero no se desinfecta el agua, de allí que el agua de este pozo en las condiciones actuales no sería considerado como apto para el riego de hortalizas.

El suelo regado con agua de pozo presentó las mayores concentraciones de los indicadores bacteriológicos (tabla 4). Estos resultados fueron similares al ser comparados con la investigación realizada por Hernández et al. (2011), en la cual los suelos de parcelas regados con agua de pozos profundos en una zona agrícola venezolana presentaron concentraciones de coliformes termotolerantes que oscilaron entre $3,6 \times 10^2$ – $2,9 \times 10^4$ NMP/g, sobrepasando los valores límites de la norma oficial venezolana. Por el contrario, el estudio realizado por Huamaní (2018) en suelos de cultivos regados con agua de canal de regadío en una zona de Chancay (Lima) las concentraciones de coliformes termotolerantes llegaron hasta 46×10 NMP/g y de *E. coli* desde < 3 a 21 NMP/g, estos resultados fueron más bajos a los del presente estudio. Se debe precisar que hasta ahora no hay una norma en nuestro país que considere los límites máximos permisibles sobre parámetros microbiológicos en el suelo.

La calidad bacteriológica del agua puede afectar la contaminación del suelo, de hecho al inicio del estudio, antes de la siembra de lechugas, se realizó un análisis del recuento

microbiano del suelo, al momento de la cosecha también se realizó este análisis y se observó un mayor incremento del recuento microbiano en todos los suelos regados con las diferentes fuentes de agua, pero se evidenció el mayor recuento de coliformes termotolerantes y *E. coli* en suelos regados con agua de pozo (Tabla 4), esto se debe a que sus aguas están contaminadas con elevada carga bacteriana por la presencia de heces de animales y humanos que se filtran en ellos por escorrentía de agua de lluvia o riego de pastos (Iberdrola, 2021), la infiltración de agua a través del suelo atrapa los contaminantes microbiológicos e impide que estos se filtren en el agua freática. Además, el suelo captura y almacena agua, poniéndola a disposición de los cultivos para su absorción; de este modo, reduce al mínimo la superficie de evaporación y maximiza la eficacia y productividad en el uso del agua en el suelo y su posible contaminación (FAO,2015).

En las lechugas regadas con las diferentes fuentes de agua, los recuentos de coliformes totales, termotolerantes y *E. coli* de las lechugas no presentaron diferencias estadísticamente significativas (tabla 5), por tanto los recuentos de estos parámetros bacteriológicos en las lechugas regadas por cualquier fuente de agua serían similares; a diferencia del análisis realizado a nivel de agua, en el cual el agua de pozo evidenció significativamente las mayores concentraciones de coliformes termotolerantes y de *E. coli* (tabla 3). Asimismo se debe precisar que todas las muestras de lechugas regadas con diferentes fuentes de agua presentaron aceptable calidad bacteriológica (figura 6) según la NTS 071 (MINSA, 2008); aunque esta norma no establece el límite máximo permisible de coliformes presentes en hortalizas frescas, sólo de *E. coli* cuyas concentraciones se encontraron por debajo del límite microbiológico establecido (100 NMP/g) (figura 6) , por tanto serían consideradas como productos aceptables para el consumo humano (MINSA, 2008).

De manera similar algunos estudios coinciden con estos resultados, es así que Noguera et al. (2016) analizaron muestras del cultivo de lechuga en una finca venezolana, los resultados mostraron la presencia de coliformes totales en el 100 % de las muestras, pero no se evidenció coliformes fecales en ninguna de las muestras. Así mismo, Huamani (2018) en Perú demostró en todas las muestras de lechugas procedentes de un área agrícola la presencia de coliformes totales con valores de 41 NMP/g, coliformes fecales con 23 NMP/g y de *E. coli* con 4 NMP/g, estos niveles estuvieron muy por debajo según lo establecido por el MINSA. Por el contrario, los resultados difieren de Pardave (2018)

cuyos recuentos de *E. coli* en lechugas procedentes de un caserío de Huánuco estuvieron entre 140 a 900 NMP/ g, siendo consideradas como no aceptables de acuerdo a la normativa peruana; de igual manera en México, Vega et al. (2005) determinaron la presencia de coliformes fecales en lechugas regadas con agua residual sin tratar, siendo la concentración más alta de 2,8 NMP/g, cantidades que superaron el valor permitido para este tipo de alimento.

Si bien, la contaminación bacteriológica de las hortalizas se puede transmitir por el agua y el suelo, siendo vehículos de contaminación de microorganismos, las lechugas presentaron aceptable calidad bacteriológica según la norma sanitaria peruana (MINSA, 2008). El hecho de que los microorganismos no crecieron, no se desarrollaron en estas hortalizas en altas concentraciones, podría deberse a factores ambientales como la temperatura, las características de la tierra y las prácticas agrarias podrían impedir el crecimiento y multiplicación de las bacterias (Organización Panamericana de la Salud [OPS], 2015).

La presencia de la bacteria patógena *Salmonella* spp. en muestras de agua de canal y de pozo (tabla 6) representa un riesgo grave, ya que esta bacteria puede ocasionar enfermedades intestinales en humanos (FDA, 1998). Se debe indicar que antes de realizar la siembra en las muestras de suelo que iban a estar en contacto con las fuentes de agua se evidenció la presencia de *Salmonella* spp. y al momento de la cosecha sólo se determinó su presencia en las muestras de suelo regadas con agua entubada.

Asimismo, cuando se analizó las lechugas regadas con los diferentes tipos de agua, en ningún caso se demostró la presencia de este patógeno (tabla 6). De manera similar, una investigación encontró que las muestras de hortalizas y de tierra recogidas bajo hortalizas (rizosfera) procedentes de zonas agrícolas de Polonia fueron negativas a la presencia de *Salmonella* spp. (Klapéc et al., 2016); de igual manera, un estudio realizado en muestras de hortalizas, suelo y aguas obtenidas de zonas rurales de la región metropolitana en Santiago Chile, reportó presencia de cepas de *Salmonella* spp. en muestras de agua y de suelo, pero no en muestras de hortalizas, lo que sugiere que estos alimentos no serían un vehículo importante de transmisión de este patógeno (Jara, 2017). Si bien Pardavé (2018) en su investigación evaluó la contaminación en agua de riego procedente del río Huallaga, suelo agrícola y lechugas, determinando la presencia de *Salmonella* en la plántula y en la raíz de lechugas, pero desafortunadamente no se evaluó su determinación en las muestras

de agua, ni en las muestras de suelo, por lo que no se conoce si el agua o el suelo pudieron ser vehículos de esta bacteria patógena para este tipo de hortaliza.

Es importante señalar el impacto del agua de riego en el suelo, la carga bacteriológica de un suelo es el principal componente que contribuye significativamente a mantener la capacidad productiva de los cultivos que son regados con aguas residuales de canales, y de pozos subterráneos que contienen nutrientes orgánicos, tienden a influir de manera favorable sobre la fertilidad física del suelo, juegan un papel muy importante en la contaminación del suelo, sobre su estructura, aireación, porosidad, estabilidad de agregados, infiltración, conductividad hidráulica y sobre la capacidad de retención de agua (Rodríguez et al., 2019). El agua de riego puede transmitir la contaminación microbiológica a los vegetales, pero cuando la energía solar incide sobre los vegetales que contiene carga bacteriana con suficiente intensidad sobre el organismo vivo puede causar daño celular y muerte, el mayor daño a las bacterias lo ejercen las radiaciones y mejoran el efecto desinfectante sobre los microorganismos y estos no se desarrollan en los cultivos (Reed, 1997; Palacios, et al., 1999), es así como las muestras de lechuga analizadas en el presente estudio presentaron una calidad bacteriana aceptable, a pesar de ser regadas con agua de pozo y agua de acequia.

4.2.1. CONTRASTACIÓN PRUEBA DE HIPÓTESIS

1. AGUA:

PRUEBA DE NORMALIDAD

Hipótesis estadísticas:

Ho: Los datos de recuentos de los parámetros bacteriológicos en agua siguen distribución normal

Ha: Los datos de recuentos de los parámetros bacteriológicos en agua no siguen distribución normal.

Nivel de significación: $p \leq 0,05$

Tabla 7

Prueba estadística Shapiro Wilk para normalidad de recuentos de parámetros bacteriológicos en fuentes de agua

	AGUA DE:	Estadístico	Sig.
Coliformes totales	CANAL	0,673	0,003
	POZO	0,644	0,001
	ENTUBADA	0,691	0,005
Coliformes termotolerantes	CANAL	0,788	0,046
	POZO	0,690	0,005
	ENTUBADA	.	.
<i>E. coli</i>	CANAL	0,770	0,031
	POZO	0,707	0,007
	ENTUBADA	.	.

Decisión:

$p > 0,05 \rightarrow$ No se rechaza la hipótesis nula.

$p \leq 0,05 \rightarrow$ Se rechaza la hipótesis nula

Conclusión:

Los datos de recuentos de los parámetros bacteriológicos en agua no siguen distribución normal.

PRUEBA NO PARAMÉTRICA

COLIFORMES TOTALES

Hipótesis estadísticas:

Ho: No existen diferencias entre los recuentos de coliformes totales en las fuentes de agua.

Ha: Existen diferencias entre los recuentos de coliformes totales en las fuentes de agua.

Nivel de significación: $p \leq 0,05$

Tabla 8

Prueba estadística Kruskal- Wallis para recuentos de coliformes totales en fuentes de agua

Agua de:	Rango promedio
Canal	6
Pozo	7
Entubada	2
Estadístico	5,600
Sig.	0,061

Decisión:

$p > 0,05 \rightarrow$ No se rechaza la hipótesis nula.

$p \leq 0,05 \rightarrow$ Se rechaza la hipótesis nula

Conclusión:

No existen diferencias entre los recuentos de coliformes totales en las fuentes de agua.

COLIFORMES TERMOTOLERANTES

Hipótesis estadísticas:

Ho: No existen diferencias entre los recuentos de coliformes termotolerantes en las fuentes de agua.

Ha: Existen diferencias entre los recuentos de coliformes termotolerantes en las fuentes de agua.

Nivel de significación: $p \leq 0,05$

Tabla 9

Prueba estadística Kruskal- Wallis para recuentos de coliformes termotolerantes en fuentes de agua

Agua de:	Rango promedio
Canal	4,80
Pozo	7,70
Entubada	2,50
Estadístico	5,840
Sig.	0,049

Decisión:

$p > 0,05 \rightarrow$ No se rechaza la hipótesis nula.

$p \leq 0,05 \rightarrow$ Se rechaza la hipótesis nula

Conclusión:

Existen diferencias entre los recuentos de coliformes termotolerantes en las fuentes de agua.

E. coli**Hipótesis estadísticas:**

H_0 : No existen diferencias entre los recuentos de *E. coli* en las fuentes de agua.

H_a : Existen diferencias entre los recuentos de *E. coli* en las fuentes de agua.

Nivel de significación: $p \leq 0,05$

Tabla 10

Prueba estadística Kruskal- Wallis para recuentos de E. coli en fuentes de agua

Agua de:	Rango promedio
Canal	4,83
Pozo	7,67
Entubada	2,50
Estadístico	5,842
Sig.	0,049

Decisión:

$p > 0,05 \rightarrow$ No se rechaza la hipótesis nula.

$p \leq 0,05 \rightarrow$ Se rechaza la hipótesis nula

Conclusión:

Existen diferencias entre los recuentos de *E. coli* en las fuentes de agua.

2. LECHUGA VARIEDAD WHITE BOSTON:

PRUEBA DE NORMALIDAD

Hipótesis estadísticas:

Ho: Los datos de recuentos en lechugas siguen distribución normal

Ha: Los datos de recuentos en lechugas no siguen distribución normal.

Nivel de significación: $p \leq 0,05$

Tabla 11

Prueba estadística Shapiro Wilk para normalidad de recuentos de parámetros bacteriológicos en lechugas regadas con diferentes fuentes de agua

	LECHUGA VARIEDAD WHITE BOSTON REGADA CON AGUA DE:	Estadístico	Sig.
Coliformes totales	CANAL	0,684	0,006
	POZO	0,668	0,004
	ENTUBADA	0,854	0,209
Coliformes termotolerantes	CANAL	0,845	0,181
	POZO	0,777	0,050
	ENTUBADA	0,854	0,209
<i>E. coli</i>	CANAL	0,735	0,021
	POZO	0,786	0,062
	ENTUBADA	0,728	0,018

Decisión:

$p > 0,05 \rightarrow$ No se rechaza la hipótesis nula.

$p \leq 0,05 \rightarrow$ Se rechaza la hipótesis nula

Conclusión:

Los datos de recuentos en lechugas no siguen distribución normal.

PRUEBA NO PARAMÉTRICA

COLIFORMES TOTALES

Hipótesis estadísticas:

Ho: No existen diferencias entre los recuentos de coliformes totales en las lechugas regadas con diferentes fuentes de agua.

Ha: Existen diferencias entre los recuentos de coliformes totales en las lechugas variedad White Boston regadas con diferentes fuentes de agua.

Nivel de significación: $p \leq 0,05$

Tabla 12

Prueba estadística Kruskal- Wallis para recuentos de coliformes totales en lechugas regadas con diferentes fuentes de agua

Lechugas regadas con agua de:	Rango promedio
Canal	7,80
Pozo	10,60
Entubada	5,60
Estadístico	3,633
Sig.	0,163

Decisión:

$p > 0,05 \rightarrow$ No se rechaza la hipótesis nula.

$p \leq 0,05 \rightarrow$ Se rechaza la hipótesis nula.

Conclusión:

No existen diferencias entre los recuentos de coliformes totales en las lechugas regadas con diferentes fuentes de agua.

COLIFORMES TERMOTOLERANTES

Hipótesis estadísticas:

Ho: No existen diferencias entre los recuentos de coliformes termotolerantes en las lechugas regadas con diferentes fuentes de agua.

Ha: Existen diferencias entre los recuentos de coliformes termotolerantes en las lechugas regadas con diferentes fuentes de agua.

Nivel de significación:

$p \leq 0,$

Tabla 13

Prueba estadística Kruskal- Wallis para recuentos de coliformes termotolerantes en lechugas regadas con diferentes fuentes de agua

Lechugas regadas con agua de:	Rango promedio
Canal	8,60
Pozo	8,10
Entubada	7,30
Estadístico	0,239
Sig.	0,887

Decisión:

$p > 0,05 \rightarrow$ No se rechaza la hipótesis nula.

$p \leq 0,05 \rightarrow$ Se rechaza la hipótesis nula

Conclusión:

No existen diferencias entre los recuentos de coliformes termotolerantes en las lechugas regadas con diferentes fuentes de agua.

E. coli

Hipótesis estadísticas:

Ho: No existen diferencias entre los recuentos de *E. coli* en las lechugas regadas con diferentes fuentes de agua.

Ha: Existen diferencias entre los recuentos de *E. coli* en las lechugas regadas con diferentes fuentes de agua.

Nivel de significación:

$p \leq 0,05$

Tabla 14

Prueba estadística Kruskal- Wallis para recuentos de E. coli en lechugas regadas con diferentes fuentes de agua

Lechugas regadas con agua de:	Rango promedio
Canal	5,80
Pozo	9,40
Entubada	8,80
Estadístico	2,019
Sig.	0,364

Decisión:

$p > 0,05 \rightarrow$ No se rechaza la hipótesis nula.

$p \leq 0,05 \rightarrow$ Se rechaza la hipótesis nula

Conclusión:

No existen diferencias entre los recuentos de *E. coli* en las lechugas regadas con diferentes fuentes de agua.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en la presente investigación se concluye que:

- La calidad bacteriológica de las muestras de agua de pozo tendría bajo impacto sobre la contaminación microbiológica en las muestras de lechuga variedad White Boston cultivadas en una zona agrícola del caserío de Huacariz, Cajamarca.
- En las muestras de agua de pozo, la concentración de coliformes totales, coliformes termotolerantes ($5,2 \times 10^2$ NMP/ 100 mL) y de *E. coli* ($1,2 \times 10^2$ NMP/ 100 mL) resultaron ser significativamente mayores, a diferencia de las otras fuentes de agua, sobrepasando los límites máximos permisibles establecidos por los ECA para la categoría 3 (coliformes termotolerantes: 1000 NMP/100 mL, *E. coli*: 1000 NMP/100 mL) y por tanto este tipo de fuente de agua no sería apta para el riego de hortalizas.
- La concentración de coliformes totales en suelos regados con agua de pozo ($9,3 \times 10^4$ NMP/g), coliformes termotolerantes en suelos regados con agua de canal ($9,0 \times 10^3$ NMP/g) y *E. coli* en suelos regados con agua de pozo ($9,0 \times 10^3$ NMP/g) se incrementó después de la siembra.
- En las muestras de lechuga, la concentración de coliformes totales ($2,8 \times 10$ NMP/g), coliformes termotolerantes ($2,8 \times 10$ NMP/g) y principalmente *E. coli* ($2,0 \times 10$ NMP/g) están por debajo del límite establecido por la norma sanitaria (*E. coli*: 100 NMP/g) y por tanto serían aptas para consumo humano.
- Se determinó la presencia de la bacteria patógena *Salmonella* spp. en una muestra de agua de canal y dos de agua de pozo, además en una muestra de suelo, pero no se encontró en las muestras de lechuga, por tanto, no serían vehículos de transmisión de dicha bacteria para este tipo de hortalizas.

CAPÍTULO VI

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Administración de Alimentos y Medicamentos (1998). *Guía para reducir al mínimo el riesgo microbiano en los alimentos, en el caso de frutas y vegetales frescos*. US Department of Agriculture.1- 67.
- Ayllon, Z y Pérez M. (2015). “*Contaminación del Agua del Río Itaya por Agentes Biológicos Patógenos y su Impacto en la Salud Humana* (Tesis de maestría). Iquitos – Perú.
- Alcazar, J. (2010). *Manual Básico” Producción de Hortalizas”*. recuperado de: <http://www.librosagronicos.blogspot.com>
- Apella, M y Araujo, P. (2011). *Microbiología del agua*. Recuperado de https://www.psa.es/es/projects/solarsafewater/documents/curso/dia_14/4.%20M.%20Cristina%20Apella.pdf
- Barahona, Y. M., Luna, J. A., Romero, I. M. (2016). Calidad bacteriológica del agua de los ríos Manaure y Casacará, departamento del Cesar, Colombia. *Revista Luna Azul*, 45, 82-101. Recuperado de: <http://200.21.104.25/lunazul/index.php/component/content/article?id=275>.
- Burgos, G. (2019). *Ecología y Salud*. Ciudad de México, México: El Manual Moderno SA de CV.
- Carmona, E. (2016). *Riego con Efluentes Residuales y Calidad Bacteriológica de Rábano (Raphanus Sativus L.) var. Champion en Invernadero* (Tesis pregrado).Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, México.
- Camacho, A., M.Giles, A.Ortegón, M.Palao, B.Serrano y O.Velázquez. (2009). *Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos*. Ciudad de México, México: Facultad de Química.
- Castañeda, M. (2015). *Microbiología aplicada: Manual de laboratorio*. Ciudad de México, México: casa al México.

- Corrales, L., Sánchez, L., y Quimbayo, M. (1 de octubre de 2018). Microorganismos potencialmente fitopatógenos en aguas de riego proveniente de la cuenca media del río Bogotá. *NOVA*. 16 (29), 71- 89.
- Codex Alimentario. (2005). Por la Organización Mundial de la Salud y la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Recuperado de: http://www.codex.gob.pe/media/MenuRecursivo/publicaciones_digitales
- Corcoran, E. (2010). Sick water: the central role of wastewater management in sustainable development: a rapid response assessment. UNEP/Earth print. Recuperado de: https://gridarendal-website-live.s3.amazonaws.com/production/documents/:s_document/208/original/SickWater_screen.pdf?1486721310
- Constitución Política del Perú de 1993. Diario Oficial El Peruano, Lima, Perú, 29 de diciembre de 1993.
- Cruzado, G. (2011). Gobierno Regional de Cajamarca. http://geoservidorperu.minam.gob.pe/geoservidor/Archivos/Mapa/Cajamarca/Memoria_Descriptiva_Geologia.pdf.
- Chávez, G. (2014). “*Probables Efectos de las Aguas Residuales de la Ciudad de Cajamarca en el Sistema Agua- Suelo-Planta de los Caseríos de la Victoria, Yanamarca y la Colpa*” (Tesis doctoral). Universidad Nacional de Cajamarca. Cajamarca Perú
- Decreto Supremo N° 004-2017-MINAM, Estándares de Calidad Ambiental para Agua (ECA) y establecen Disposiciones Complementarias. Diario Oficial El Peruano, Lima, Perú, 7 junio del 2017.
- Decreto Supremo N° 017-2009-AG. Clasificación de tierras por su capacidad de uso mayor. Diario Oficial El Peruano, Lima, Perú, 2 de Septiembre del 2009.
- Dirección General de Salud Ambiental. (2007). *Protocolo de Monitoreo de la Calidad Sanitaria de los Recursos Hídricos Superficiales Dirección de Ecología y Protección del Ambiente Área de Protección de los recursos hídricos*. Recuperado de [http://www.digesa.minsa.gob.pe/depa/informes_tecnicos/PROTOCOLO-MONITOREO-CALIDAD-RECURSOS-HIDRICOS-SUPERFICIALES-\(CONTINENTALES\).pdf](http://www.digesa.minsa.gob.pe/depa/informes_tecnicos/PROTOCOLO-MONITOREO-CALIDAD-RECURSOS-HIDRICOS-SUPERFICIALES-(CONTINENTALES).pdf)

- Escalante, J.C. (2018). “*Caracterización de las aguas del Río Mashcón y San Lucas, y del efluente de las lagunas de estabilización de la ciudad de Cajamarca con fines de evaluación ambiental, marzo– agosto del 2007*” (Tesis de maestría). Universidad Nacional de Cajamarca. Cajamarca, Perú.
- Ercumen, A., Pickering, A.J., Kwong, L.H., Arnold, B.F., Parvez, S.M., Alam, M., Sen, D., Islam, S., Kullmann, C., Chase, C., Ahmed, R., Unicomb, L., Luby, S.P. & Colford, J.M. 2017. Animal Feces Contribute to Domestic Fecal Contamination: Evidence from E. coli Measured in Water, Hands, Food, Flies, and Soil in Bangladesh. *Environmental Science & Technology*, 51(15): 8725–8734. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b01710>
- Fundación Nacional de Salud. (2013). *Manual práctico de análisis de agua/Fundación Nacional de Salud*. Brasil: Funasa, 2(4) 1-10.
- Frazier, W & Westhoff, D. (1993). *Microbiología de los Alimentos*. New York, USA:MC Graw-Hill Book Company.
- García, Y. (2015). Calidad del agua con fines de riego. *Revista digital de Medio Ambiente “Ojeando la agenda”*, 1(35),1-12.
- Guerrero, L., Mesa, M., Hernández, D., Diaz, O., y Sánchez, J. (2021). Aptitud para el riego agrícola del agua superficial de la subcuenca Mampostón, Mayabeque, Cuba. *Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA)*,42(3),1-21
- Gutiérrez, J., Marin,J., y Paris, M.(2018). CALIDAD DE AGUA SUBTERRÁNEA EN EL SECTOR CENTRO OCCIDENTAL DEL MUNICIPIO MIRANDA (ESTADO ZULIA, VENEZUELA). *Aqua-LAC*,10(2), 38 - 45.
- González, R. (2012). *Aprovechamiento del Agua Residual Urbana en la Producción Hidropónica de Plantas de Lechuga (Lactu Sativa L.)* (Tesis de pregrado). Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila, México.
- Gonzales, A y Martin, A. (2003). Agua Potable para comunidades rurales, reusó y tratamientos avanzados de aguas residuales domésticas. Recuperado de https://sswm.info/sites/default/files/reference_attachments/GONZ%C3%81LEZ%20y%20MART%C3%8DN%202003.%20Agua%20potable%20para%20comunidades%20rurales.pdf.

- Huamaní, C. (2018). Determinación del efecto de las aguas servidas sobre el suelo y cultivos en la desembocadura del canal de regadío de las salinas bajo – Chancay – Lima (tesis de pregrado). Universidad Católica Sedes Sapientiae. Huacho, Perú.
- Hernández, D. (2019). *Estimación del Potencial Hídrico Subterráneo del Valle de Cajamarca – Cajamarca* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional de Cajamarca, Perú.
- Hernández, J., Espinoza, Y., Malpica, L., y De Jesús, M. (2011). Calidad del agua de riego y parámetros microbiológicos y químicos del suelo de la zona agrícola de Barbacoas, estado Aragua. *Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIA-CENIAP)*. Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela. *Rev. Fac. Agron. (UCV)*, 37(1),1-10.
- Ibarra, A., Fragoso, P., Villero, F., y Rodríguez, D. (2021). Efecto del uso de aguas residuales urbanas sobre el rendimiento y la calidad microbiológica del pimentón (*Capsicum annun L.*) cultivado en hidroponía. *Información Tecnológica*,36(6),81-87.
- Iberdrola. (2021). *La contaminación del agua: cómo no poner en peligro nuestra fuente de vida*. Recuperado de <https://www.iberdrola.com/sostenibilidad/contaminacion-del-agua#:~:text=Los%20principales%20contaminantes%20del%20agua,resulte%20invisible%20en%20muchas%20ocasiones>.
- Jara, C. (2017). *Detección y Caracterización de Salmonella spp en muestras de Hortalizas, Suelo y Agua Obtenidas desde Zonas Rurales de la Región Metropolitana* (Tesis de pregrado). Universidad de Chile, Santiago-chile.
- Klapéc, T., Wojcik-Fatlal, A., Cholewa, A., Cholewa, G., Dutkiewicz, J. (2016). Microbiological characterization of vegetables and their rhizosphere soil in Eastern Poland. *Anales de Medicina Agrícola y Ambiental* 2016, 23(4):559-565.
- Laboratorio Regional del Agua. (2017). Método SMEWW-APHA-AWWA-WEF- Part 4500-H + B,23 rd Ed.2017. Cajamarca, Peru.
- Latham, M. (2002). *Nutrición humana en el mundo en el desarrollo*. Italia, Roma: FAO.
- Ley N° 28611, Ley General del Ambiente?. Diario Oficial El Peruano, Lima, Perú, 13 de octubre de 2005.

- Limachi, V. (2018). *EVALUACIÓN DE COSTOS DE PRODUCCION DE LECHUGA (Lactuca sativa L.) Y CEBOLLA (Allium cepa L.) REGADAS CON AGUA RESIDUAL DEL RIO JILLUSAYA EN EL CENTRO EXPERIMENTAL COTA COTA* (Tesis de pregrado). Universidad Mayor de San Andrés. La Paz, Bolivia.
- Lezama, M. (2018). *Evaluación de coliformes y enterobacterias patógenas como potencial de riesgo de contaminación del agua de riego en la cuenca baja del río Moche* (Tesis de doctorado). Universidad privada Antenor Orrego. Trujillo, Perú.
- Ministerio del Ambiente (2016). *Glosario de términos para la gestión ambiental peruana*. Dirección general de políticas, normas e instrumentos de gestión ambiental. Viceministerio de gestión ambiental. Lima – Perú.
- Ministerio del Ambiente. (7 de junio de 2017). Decreto Supremo N° 004-2017-MINAM. *Aprueban Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para agua y establecen disposiciones complementarias*. Lima, Perú.
- Ministerio de Agricultura y Riego. (2015). *Problemática*. Recuperado de <https://www.minagri.gob.pe/portal/54-sector-agrario/cuencas-e-hidrografia/374-problematica>.
- Ministerio de Salud. (2010). *Guía Técnica Procedimientos de Toma de Muestras del Agua del Mar en Playas de Baño y Recreación*. Recuperado de http://www.digesa.minsa.gob.pe/publicaciones/descargas/Gu%C3%ADa%20Tecnica%20Proced_Tom_Muestras_Playas.pdf.
- Ministerio de Salud. (2008). Resolución Ministerial N°591-2008. Norma Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano. Recuperado de https://www.saludarequipa.gob.pe/desa/archivos/Normas_Legales/alimentos/RM591MINSANORMA.pdf.
- Montalvo, J., y Quispe, M. (2020). *“ESTUDIO DE LA CALIDAD DEL AGUA EN LA QUEBRADA DE LA COMUNIDAD SAN JOSÉ DE CANAY, CAJAMARCA EN EL AÑO 2019”* (tesis de pregrado). Universidad Privada del Norte, Cajamarca.
- Moros, D.C. (2018). *Presencia de bacterias mesófilas y coliformes del agua de riego en los cultivos de lechuga (Lactuca sativa) en la finca El Rubí de la vereda San José*

(*Municipio Mosquera*) (Tesis de pregrado). Pontificia Universidad Javeriana Facultad de Estudios Ambientales y Rurales Carrera de Ecología. Bogotá, Colombia.

Navarro, I., de la Torre, A., Sanz, P., Porcel, M.Á., Pro, J., Carbonell, G. y Martínez, M. de L.Á. (2017). Uptake of perfluoroalkyl substances and halogenated flame retardants by crop plants grown in biosolids-amended soils. *Environmental Research*. Doi: 10.1016/j.envres.2016.10.018.

Noguera, N., Ojedal, Mejía, R., Martínez F., González, D., y Requena, D. (2016). Calidad microbiológica y parasitológica de lechuga (*Lactuca sativa*) y cilantro (*Coriandrum sativum*) expendidos en la Parroquia Santa Rita, Aragua, Venezuela. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 7 (1): 052-064, 052-064.

Odumeru, J.A & León-Velarde, C.G. (2012). *Salmonella* Detection Methods for Food and Food Ingredients. Doi:10.5772/29526.

Ortiz, D. W., y Sánchez, J. R. (2018). Caracterización geomorfológica y biofísica de las cuencas de aporte de las captaciones de los sistemas de agua potable de los cantones que conforman la Mancomunidad Cañari (Tesis de pregrado). Universidad de Cuenca, Ecuador.

Organización mundial de la salud. (2019). GUÍAS PARA EL SANEAMIENTO Y LA SALUD. Recuperado de <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/330097/9789243514703-spa.pdf>

Organización Panamericana de la Salud. (2015). Peligros biológicos. Recuperado de https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10838:2015-peligros-biologicos&Itemid=41432&lang=es

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (8 de junio de 2015). World Soil Charter. Recuperado de <http://www.fao.org/documents/card/es/c/e60df30b-0269-4247-a15f-db564161fee0/>.

- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (27 de agosto de 2015). Los suelos en el ciclo del agua. Recuperado de <http://www.fao.org/soils-2015/news/news-detail/es/c/326296/>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (13 de junio de 2017). El problema del agua en la agricultura. Orizont. Recuperado de <https://www.orizont.es/el-problema-del-agua-en-la-agricultura/>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2013). Reutilización del agua en la agricultura: ¿Beneficios para todos? Recuperado de <https://www.fao.org/3/i1629s/i1629s.pdf>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2 de mayo de 2018). La contaminación de los suelos está contaminando nuestro futuro. Recuperado de <http://www.fao.org/fao-stories/article/es/c/1126977/>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2012). Riego y drenaje. Recuperado de <http://www.fao.org/aquastat/es/overview/methodology/irrig-drainage/>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2012). Estado de los Recursos de Tierras y Aguas del Mundo para la Alimentación y la Agricultura. Italia, Roma: FAO.
- Palacios, M.P., Lupiola, P., Del Nero, E., Pardo, A., Rodríguez, F., Pita, M.L y Tejedor, M.T. (1999). *Primeros resultados del estudio de la persistencia de Salmonella en la zona no saturada del suelo agrícola*. Recuperado de https://abe.ufl.edu/faculty/carpaena/files/pdf/zona_no_saturada/estudios_de_la_zona_v4/iii-05.pdf.
- Pardavé, T. (2018). Presencia de contaminantes en la hortaliza *Lactuca sativa* (lechuga) por el uso de agua de riego procedente del río Huallaga en el caserío Culcuy, distrito Santa María del valle, provincia y departamento Huánuco 01 de octubre al 03 de diciembre – 2017 (Tesis de pregrado). Universidad de Huánuco, Perú.
- Paredes, J. (2017). Evaluación microbiológica de lechuga (*Lactuca sativa*) y espinaca (*Spinacea oleracea*) producidas en los distritos de Acobamba, Palca y su

- higienización (Tesis de pregrado). Universidad Nacional del Centro del Perú. Tarma, Perú.
- Pascual, M y Calderón, V. (2000). Microbiología Alimentaria. Madrid, España: Diaz de Santos S.A.
- Peña, H., Solanes, M., y Jouravlev, A. (2018). Proceso Regional de Las Américas Foro Mundial del Agua (2018): el agua como motor de desarrollo. Recuperado de https://publications.iadb.org/publications/spanish/document/Proceso_Regional_de_Las_Am%C3%A9ricas_Foro_Mundial_del_Agua_2018_El_agua_como_motor_de_desarrollo.pdf
- Peña E. (2005). Algas como indicadoras de contaminación. Cali, Colombia: Universidad del Valle.
- Quizhpi, M., y Sarango, T. (2020). *Determinación de plomo, bacterias patógenas (E. Coli y Coliformes) y captura de carbono en la agricultura urbana (hortalizas y ornamentales) emplazadas en cinco instituciones educativas ubicados en el Distrito Norte de la ciudad de Cuenca fomentando la educación ambiental bajo los principios IAR- FAO* (Tesis de pregrado). Universidad Politécnica Salesiana, Cuenca, Ecuador.
- Reed, R. (1997). "Solar inactivation of faecal bacteria in water: the critical role of oxygen. Recuperado de <https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1046/j.1472-765X.1997.00130.x>
- Romero, B. (2017). *Impactos Ambientales Significativos Generados por las Acequias Cois, Pulen y Yortuque de la Ciudad de Chiclayo y Propuesta de un Plan de Mitigación* (Tesis de doctorado). Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque-Perú.
- Rodríguez, N., McLaughlin, M., & Pennock, D. (2019). *La contaminación del suelo: una realidad oculta* (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). Recuperado de <https://www.fao.org/3/I9183ES/i9183es.pdf>
- Saha, J.K., Selladurai, R., Coumar, M.V., Dotaniya, M.L., Kundu, S. & Patra, A.K. (2017). Soil Pollution - An Emerging Threat to Agriculture. Environmental Chemistry for

- a Sustainable World. Singapore, Springer Singapore. Recuperado de <http://link.springer.com/10.1007/978-981-10-4274-4>)
- Sánchez, J. A., Álvarez, T., Pacheco, J., Carrillo, L., y Gonzales, R. (2016). Calidad del Agua Subterránea: Acuífero Sur de Quintana Roo, México. *ISSN: 2007-2422, Tecnología y Ciencias del Agua*, 7(4), 76-94
- Santa Cruz, J. (26 al 28 de agosto del 2015). Mega Evento de Carácter Mundial. Agroenfoco: Revista para el Desarrollo Agropecuario, Agroindustrial y Exportador. Volumen (200), 1-87.
- Servicio Nacional de Meteorología y Hidrología. (2019). Datos meteorológicos. Recuperado de <https://www.senamhi.gob.pe/?&p=estacione>.
- Silva. (2010). Sistema de Riego y Drenajes. Cajamarca, Perú: universidad Nacional de Cajamarca.
- Tombini, L., Sopeña, L., Titze, C., Fosch, A.C., Allende, A y Tondo, E. (2017). Microbial quality of irrigation water used in leafy green production in Southern Brazil and its relationship with produce safety. *Food Microbiology*. 65 (2017) 105-113
- Vega, M., Jiménez, M., Salgado, M., y Pineda, G. (2005). Determinación de bacterias de origen fecal en hortalizas cultivadas en Xochimilco de octubre de 2003 a marzo de 2004. *Revista Investigación Universitaria Multidisciplinaria*, 4(4), 1-5.
- Villalobos, L. (2016). Ecología y medioambiente. Recuperado de <https://repositorio.una.edu.ni/2441/1/nt01v714.pdf>.
- Zegarra, A. (2017). *DISPERSIÓN DE CONTAMINANTES BIOLÓGICOS EN LAS AGUAS SUBTERRÁNEAS DE LA ZONA SUR DE LA CIUDAD DE JULIACA – 2017* (Tesis de posgrado). Universidad Andina Néstor Cáceres Velásquez, Juliaca, Perú.
- Zhang, H., Luo, Y., Wu, L., Huang, Y. & Christie, P. (2015.) Residues and potential ecological risks of veterinary antibiotics in manures and composts associated with protected vegetable farming. *Environmental Science and Pollution Research*. Doi:10.1007/s11356-014-3731-9.

CAPÍTULO VII

APÉNDICES

Apéndice 1: Ficha de registro de muestras

AGUA

FECHA DE RECOLECCIÓN	HORA DE RECOLECCIÓN	NÚMERO DE MUESTRA	NOMBRE DE LA FUENTE

HORTALIZAS

FECHA DE RECOLECCIÓN	HORA DE RECOLECCIÓN	NÚMERO DE MUESTRA	NOMBRE DE LA HORTALIZA	NOMBRE DE LA FUENTE

SUELO.

FECHA DE RECOLECCIÓN	HORA DE RECOLECCIÓN	CODIGO	FUENTE DE AGUA CON QUE SE REGABA

Apéndice 2.- Fotografías de campo



Figura 7. Muestreo de Suelo



Figura 8. Toma de muestras de agua entubada.



Figura 9. Toma de muestras de agua de pozo



Figura 10. Tomando la temperatura y pH de agua de pozo



Figura 11. Regando las parcelas de lechuga variedad White Boston.

Figura 12. Toma de muestras en zigzag al azar de lechuga variedad white Boston.

Apéndice 3 .-Fotografías de laboratorio



Figura 13. Pesado de muestras de suelo de 25 gramos.



Figura 14. Diluciones de agua de canal.



Figura 15. Preparación de caldo lauril sulfato y caldo brillante bilis



Figura 16. Siembra de muestras de agua entubada.



Figura 17. Siembra de muestras de lechugas variedad White Boston



Figura 18. Se incubó a 45 °c durante 24 a 48 horas en baño María, en tubos con caldo EC.



Figura 19. Lectura de tubos positivos y negativos

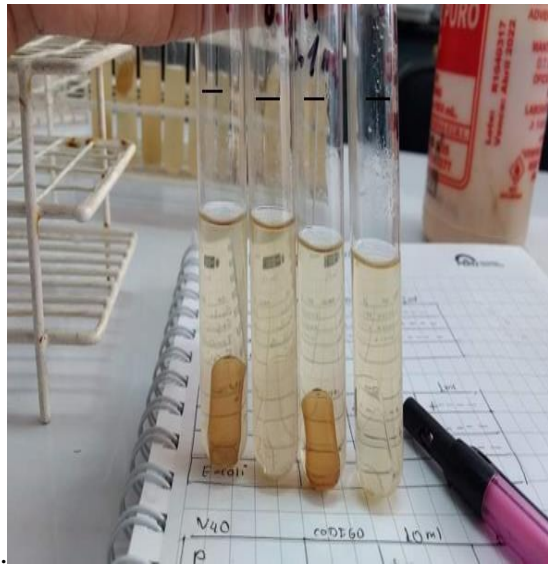


Figura 20. Tubos negativos en caldo Lauril Sulfato



Figura 21. Tubos negativos y positivos con caldo Lauril Sulfato

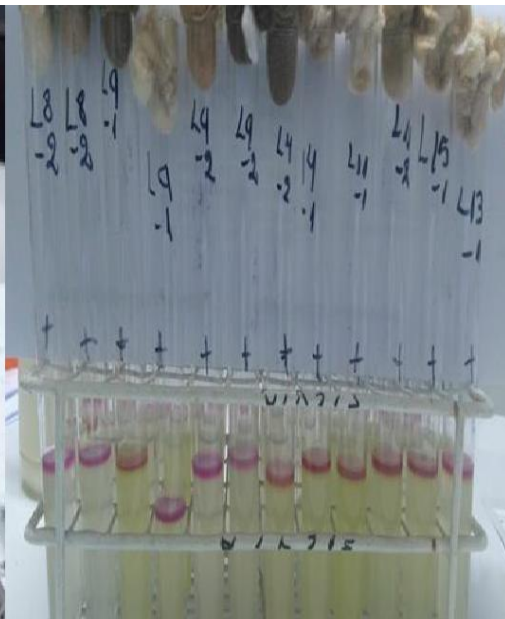


Figura 22. Prueba de indol tubos positivos y negativos en muestras de lechuga variedad White Boston.



Figura 23. Aislamiento de *E.coli* en placas de agar Eosina Azul de Metileno (EMB)

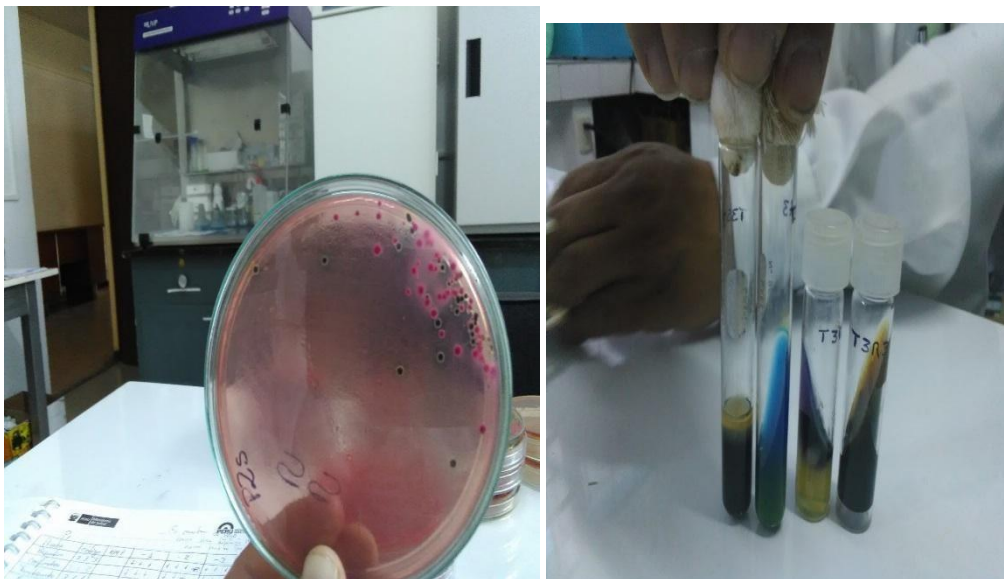
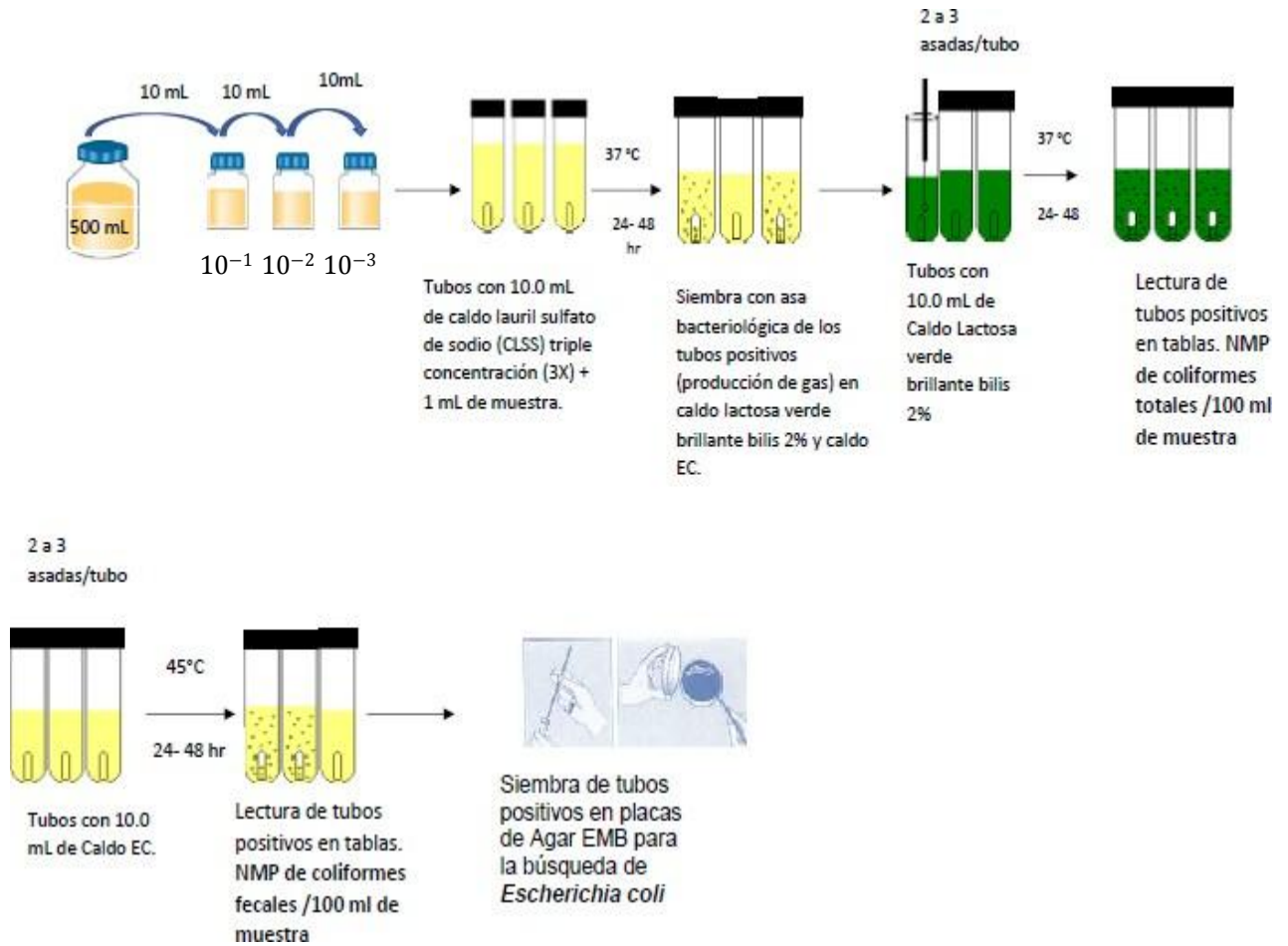


Figura 24. Aislamiento de *Salmonella* spp. en placas de agar *Salmonella-Shigella* (SS)

Figura 25. Pruebas bioquímicas de suelo

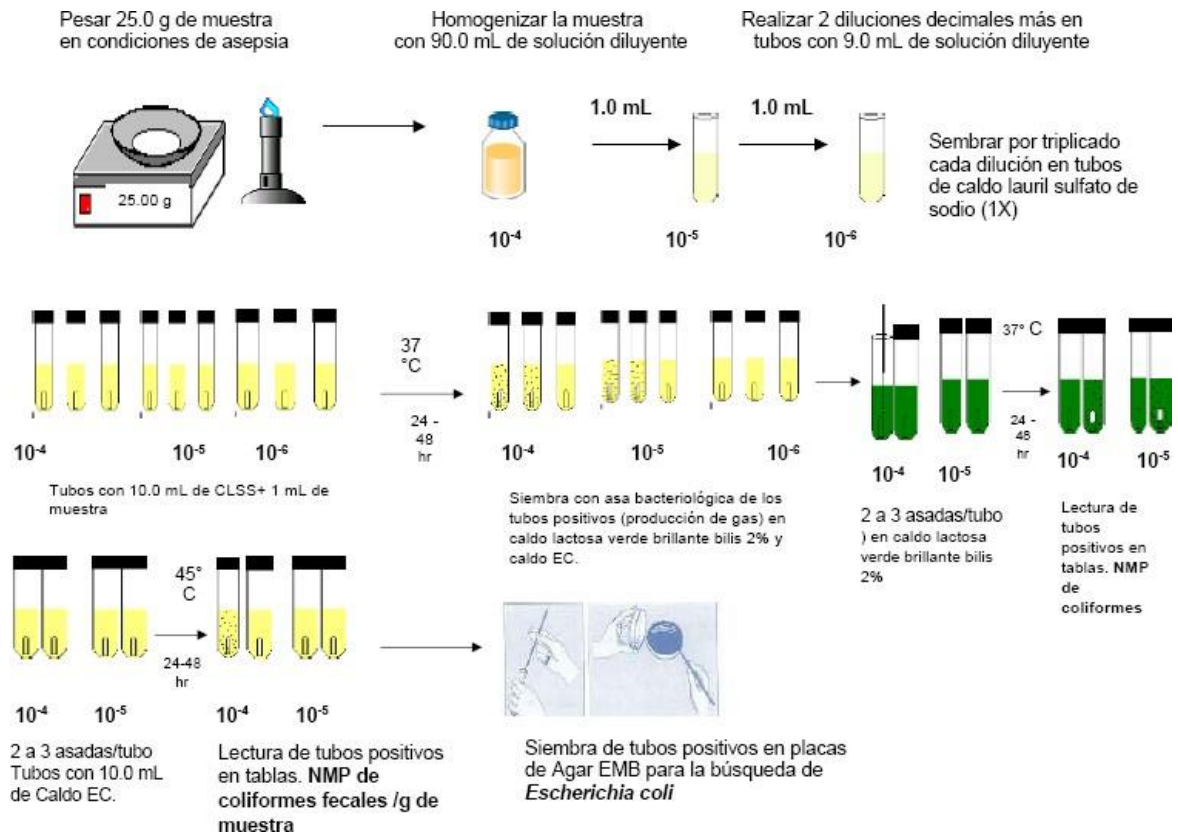
Apéndice 4.- NMP de coliformes en muestras de agua.

DETERMINACIÓN DEL NMP DE COLIFORMES EN MUESTRAS DE AGUA



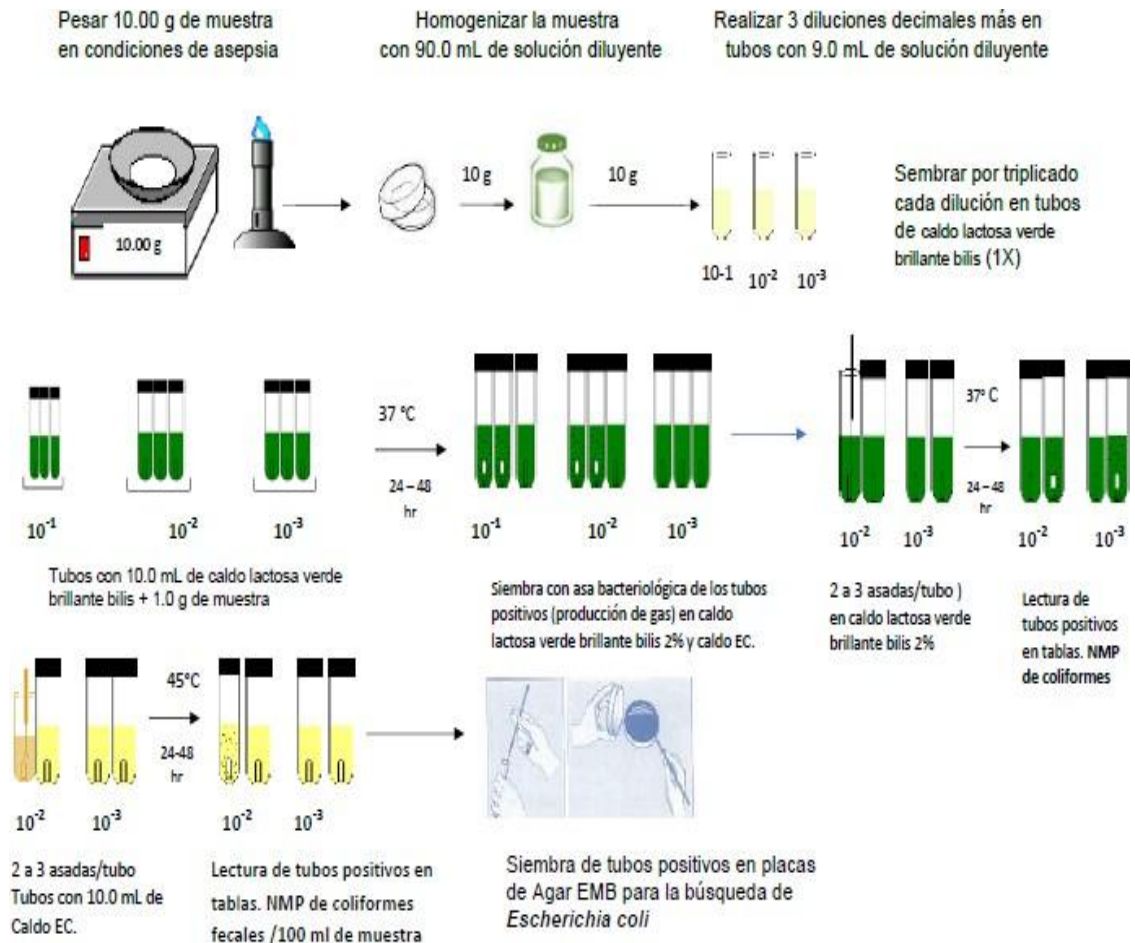
Apéndice 5.- NMP de coliformes en muestras de suelo

DETERMINACIÓN DEL NMP DE COLIFORMES EN MUESTRAS DE SUELO



Apéndice 6.- NMP de coliformes en muestras de lechuga variedad White Boston

DETERMINACIÓN DEL NMP DE COLIFORMES EN MUESTRAS DE LECHUGA VARIEDAD WHITE BOSTON



ANEXOS

Anexo I: Tabla del Número más probable (NMP)

Tabla 15

Tabla del Número más probable (NMP) por gramo o mililitro utilizando tres series de tres tubos cada una conteniendo 10 mL de medio líquido y sembrando 1mL de la dilución 1:10, 1mL de la dilución 1:100 y 1 mL de la dilución 1:1000.

Tres tubos 1 mL 1:10	Tres tubos 1 mL 1:100	Tres tubos 1 mL 1:1000	NMP / 100 mL o g
0	0	0	<3
0	0	1	3
0	1	0	3
1	0	0	4
1	0	1	7
1	1	0	7
1	1	1	11
1	2	0	11
2	0	0	9
2	0	1	14
2	1	0	15
2	1	1	20
2	2	0	21
2	2	1	28
3	0	0	23
3	0	1	39
3	0	2	64
3	1	0	43
3	1	1	75
3	1	2	120
3	2	0	93
3	2	1	150
3	2	2	210
3	3	0	240
3	3	1	480
3	3	2	1100
3	3	3	>2400

Fuente: Pascual y Calderón, 2000.

Anexo II: Estándares de calidad ambiental (ECA)

Tabla 16

Categoría 3: Riego de vegetales y bebida de animales

Parámetros	Unidad de medida	D1: Riego de vegetales		D2: Bebida de animales
		Agua para riego no restringido (c)	Agua para riego restringido	Bebida de animales
MICROBIOLÓGICOS Y PARASITOLÓGICO				
Coliformes Termotolerantes	NMP/100 mL	1000	2000	1 000
<i>Escherichia coli</i>	NMP/100 mL	1000	**	**
Huevos de Helmintos	Huevo/L	1	1	**

Fuente: Ministerio del Ambiente. Decreto Supremo N° 004-2017-MINAM

Anexo III: Límites máximos permisible (LMP) del ítem XIV.1 (frutas y hortalizas frescas)

Tabla 17

Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para las hortalizas frescas.

XIV. FRUTAS, HORTALIZAS, FRUTOS SECOS Y OTROS VEGETALES						
XIV.1 Frutas y hortalizas frescas (sin ningún tratamiento).						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
<i>Escherichia coli</i>	5	3	5	2	10 ²	10 ³
<i>Salmonella</i> spp.	10	2	5	0	Ausencia/25g	-----

n: Número de unidades de muestra seleccionadas al azar de un lote, que se analizan para satisfacer los requerimientos de un determinado plan de muestreo.

c: Número máximo permitido de unidades de muestra rechazables en un plan de muestreo de 2 clases o número máximo de unidades de muestra que puede contener un número de microorganismos.

Fuente: Ministerio de Salud. RM N.º 591-2008/MINSA.

Anexo IV: Informe de parámetros fisicoquímicos

 <p>LABORATORIO REGIONAL AGUA</p>	<p>LABORATORIO REGIONAL DEL AGUA GOBIERNO REGIONAL CAJAMARCA LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN INACAL- DA CON REGISTRO N° LE-084</p>	 <p>INACAL DA - Perú Laboratorio de Ensayo Acreditado Registro N° LE - 084</p>	
<p>INFORME DE ENSAYO N° IE 0720251</p>			
<p>DATOS DEL CLIENTE</p>			
Razon Social/Nombre	CARMEN CHUQUILIN CELIS		
Dirección	Cajamarca		
Persona de contacto	-	Correo electrónico	dafnecar2@gmail.com
<p>DATOS DE LA MUESTRA</p>			
Fecha del Muestreo	16.07.20	Hora de Muestreo	06:20 a 07:30
Responsable de la toma de muestra	Cliente	Plan de muestreo N°	-
Procedimiento de Muestreo	-		
Tipo de Muestreo	Puntual		
Número de puntos de muestreo	03		
Ensayos solicitados	Fisicoquímicos		
Breve descripción del estado de la muestra	Las muestras cumplen con los requisitos de volumen, preservacion y conservación		
Referencia de la Muestra:	HUACARIZ - CAJAMARCA		
<p>DATOS DE CONTROL DEL LABORATORIO</p>			
N° Contrato	SC - 392	Cadena de Custodia	CC - 251 - 20
Fecha y Hora de Recepción	16.07.20	09:00	Inicio de Ensayo 16.07.20 09:15
Reporte Resultado	27.07.20	09:00	
 Edder Neyra Jaico Responsable de Laboratorio CIP: 147028		 Freddy López León Especialista de Química CIP: 198264	
<p>LABORATORIO REGIONAL DEL AGUA</p>			
<p>Cajamarca, 27 de Julio de 2020.</p>			
<p>Página: 1 de 2</p>			
<p><small>*LABORATORIO REGIONAL DEL AGUA - GOBIERNO REGIONAL CAJAMARCA ASEGURA LA CONFIABILIDAD DE LOS RESULTADOS PRESENTADOS EN ESTE INFORME DE ENSAYO*</small> JR. LUIS ALBERTO SÁNCHEZ S/N. URB. EL BOSQUE, CAJAMARCA - PERÚ e-mail: laboratoriodelagua@regioncajamarca.gob.pe FONC: 599000 anexo 1140</p>			

Figura 26. Informe de parámetros ensayo.



LABORATORIO REGIONAL DEL AGUA
 GOBIERNO REGIONAL CAJAMARCA
 LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
 ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN INACAL- DA
 CON REGISTRO N° LE-084



INFORME DE ENSAYO N° IE 0720251

ENSAYOS			FÍSICO - QUÍMICOS					
Código de la Muestra	Agua de pozo		Agua entubada	Agua de canal	-	-	-	
Código Laboratorio	0720251-01		0720251-02	0720251-03	-	-	-	
Matriz	NATURAL		NATURAL	RESIDUAL	-	-	-	
Descripción	Subterránea		Subterránea	Superficial	-	-	-	
Localización de la Muestra	Huacariz		Huacariz	Huacariz	-	-	-	
Parámetro	Unidad	LCM	Resultados					
pH a 25°C	pH	NA	8.24	7.35	8.27	-	-	
Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO5)	mg O ₂ /L	2.6	18.4	<LCM	17.5	-	-	
Demanda Química de Oxígeno (DQO)	mg O ₂ /L	8.3	60.5	<LCM	59.5	-	-	
(*) Oxígeno Disuelto	mg O ₂ /L	0.5	3.7	6.10	3.5	-	-	
(*) Temperatura en Laboratorio	°C	N.A.	18.8	19.3	19.1	-	-	

Leyenda: LCM: Límite de Cuantificación del Método, valor <LCM significa que la concentración del analito es mínima (trazas)

Ensayo	Unidad	Método de Ensayo Utilizados
Potencial de Hidrógeno (pH) a 25°C	pH	SMEWW-APHA-AWWA-WEF, Part 4500-H+ B, 23rd Ed. 2017. pH Value: Electrometric Method.
Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO ₅)	mg O ₂ /L	SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 5210 B, 23rd Ed. 2017: Biochemical Oxygen Demand (BOD). 5-Day BOD Test
Demanda Química de Oxígeno (DQO)	mg O ₂ /L	SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 5220 D, 23rd Ed. 2017: Chemical Oxygen Demand (COD). Closed Reflux, Colorimetric Method
Oxígeno Disuelto (OD)	mg O ₂ /L	SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 4500-O C, 23rd Ed. 2017: Oxygen (Dissolved). Azide Modification.
Temperatura	°C	SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 2550 B, 23rd Ed. 2017: Temperature . Laboratory and Field Methods

NOTAS FINALES

- (*) Los resultados obtenidos corresponden a métodos y/o matriz que no han sido acreditados por el INACAL - DA.
- (*) Los Resultados son referenciales, no cumplen los requisitos de volumen, tiempo, preservación o conservación estipulado por el método, por lo tanto no se encuentra dentro del alcance de acreditación.
- ✓ Los resultados indicados en este informe concierne única y exclusivamente a las muestras recibidas y sometidas a ensayo o realizadas en campo por el Laboratorio Regional del Agua . Cuando la toma de muestra lo realiza el cliente los resultados aplican a las muestras como son recibidas.
- ✓ La reproducción parcial de este informe no está permitida sin la autorización por escrito del Laboratorio Regional del Agua. Este informe no será válido si presenta tachaduras o enmiendas.
- ✓ Las muestras sobre los que se realicen los ensayos se conservaran en Laboratorio Regional del Agua de acuerdo al tiempo de percibibilidad que indica el método de ensayo y por un tiempo máximo de 10 días luego de la emisión de la informe de ensayo; luego serán eliminadas salvo pedido expreso del cliente.
- ✓ Este documento al ser emitido sin el símbolo de acreditación, no se encuentra dentro del marco de la acreditacion otorgada por INACAL-DA.
- ✓ Se prohíbe el uso del símbolo de acreditación o la declaración de condición de acreditado emitida en este informe, por parte del cliente.

"Fin del documento"

Código del Formato: P-23-F01 Rev:N°02 Fecha : 03/07/2020

Cajamarca, 27 de Julio de 2020.

Figura 27. Informe de parámetros físico-químicos.