

## **Conocimiento actual sobre cólera y bacterias asociadas en el Area del Tratado del Río de la Plata y su Frente Marítimo.**

**M. Costagliola, V. Jurquiza, C. Hozbor, S. Peressutti y A.García**  
INIDEP, Mar del Plata, Argentina

### **A- Evaluación y estudio de *Vibrio cholerae* en el Área del Tratado del Río de la Plata y su Frente Marítimo.**

Crecientes evidencias relacionan al medio acuático como reservorio y vehículo de transmisión de *Vibrio cholerae* O1, agente etiológico del cólera. Se ha demostrado que es capaz de sobrevivir por extensos períodos asociado al plancton en áreas marinas y estuariales. En condiciones ambientales desfavorables tiene la capacidad de entrar en un estado de “latencia” conocido como formas viable no cultivable (VNC) que le permite sobrevivir y conservar la información genética que codifica para los factores de virulencia. En América Latina se ha postulado que el resurgimiento de la enfermedad estuvo asociado a la existencia en el Océano Pacífico de formas VNC de *V. cholerae* O1, las cuales revirtieron a “viables cultivables” debido a cambios climáticos importantes como la corriente del Niño. Sobre la base del análisis de la información existente de la presencia de formas VNC de *V. cholerae* en el Río de la Plata y Frente Marítimo y con el objeto de cubrir un área geográfica con vacíos críticos, se planificó un estudio con muestras obtenidas durante la campaña de Prospección Ambiental del Río de la Plata y el Frente Marítimo (noviembre de 2001). Se muestrearon 21 estaciones ubicadas en el Río de la Plata desde la línea Colonia - Buenos Aires en la zona interior del río hasta la línea Piriápolis - Punta Rasa en la zona exterior, y 10 estaciones ubicadas en la región fluvio-marítima del Río de la Plata y Frente Común de Pesca Argentino-Uruguayo. Para el estudio de *Vibrio cholerae* con técnicas de cultivo comúnmente usadas se aislaron un total de 421 cepas con características típicas, 146 cepas provenientes de agua, 132 de fitoplancton y 143 de zooplancton. Hasta el momento se han analizado 334 cepas (81 %) 122 de agua, 100 de fitoplancton y 112 de zooplancton. Sólo el 5% de las cepas analizadas fueron identificadas como *V. cholerae* no O1, las cuales fueron aisladas en aguas del Río de la Plata. Para completar este estudio se necesita realizar el análisis de las cepas restantes y estudiar las características genéticas de las cepas de *Vibrio cholerae* no O1 aisladas para evaluar la presencia de posibles factores de virulencia. Para el estudio de *Vibrio cholerae* VNC se utilizó la técnica de tinción con anticuerpos monoclonales específicos marcados con fluoresceína. Se analizaron en total 31 estaciones, en 10 de las cuales (32,25 %) se detectó la presencia de *Vibrio cholerae* O1 VNC. El 25 % de las detecciones se realizaron en muestras de agua, mientras que solo el 9,6 % en fitoplancton y el 3,2 % en zooplancton. Estos estudios deben ser confirmados por las técnicas de PCR “nested” que detecta la toxina CT y de PCR “multiplex” que permite identificar los genes CT y el antígeno somático O1.

Con el objeto de obtener los productos que se esperan de esta investigación en el Río de la Plata y el Frente Marítimo se continuó con el muestreo de la zona durante diferentes campañas. Se realizaron tres campañas en el Río de la Plata a bordo de la embarcación SPA1 “Keratella” perteneciente a Prefectura Naval y cuatro campañas en el Área del Tratado del Río de la Plata y Frente Marítimo a bordo del los BIP del INIDEP. Como resultado se ha conformado una colección de 372 cepas con características típicas de *V. cholerae* procedentes de muestras de agua, zooplancton y fitoplancton que están siendo

analizadas. También se conservan 117 muestras para ser estudiadas con anticuerpos monoclonales (DFA/ DVC) y técnicas moleculares (PCR).

### **B-Estudio de bacterias degradadoras de hidrocarburos y surfactantes en el Área del Tratado del Río de la Plata**

La biodegradación de contaminantes por poblaciones microbianas se ha estudiado a partir de muestras del Río de la Plata, principalmente en relación con pesticidas y clorofenoles. Se analizó la degradación microbiana de diversos pesticidas en muestras de agua provenientes de zonas costeras del río, y también se evaluó la biodegradación de clorofenoles, utilizando cultivos “batch” y reactores de flujo continuo a partir de muestras de agua del Riachuelo.

Con respecto a la degradación microbiana de hidrocarburos y surfactantes, se han estudiado intensamente diferentes aspectos del tema, principalmente en compuestos hidrocarbonados. Se han investigado los efectos de los parámetros ambientales sobre el proceso de biodegradación, las vías metabólicas y las bases genéticas involucradas en la oxidación biológica de estos compuestos, así como también el efecto de la contaminación sobre las comunidades microbianas. Sin embargo, la respuesta microbiana a la presencia de contaminantes depende de las condiciones ambientales locales. Por esta razón es importante conocer específicamente los procesos involucrados.

La presencia de contaminantes en sedimentos del Río de la Plata podría afectar la supervivencia de diversos recursos pesqueros. Con el objetivo de realizar un relevamiento de la abundancia de bacterias degradadoras de hidrocarburos como indicadores de contaminación se extrajeron muestras de sedimentos superficiales en 13 estaciones durante la Campaña de Prospección Ambiental del Río de la Plata. Se cuantificaron bacterias degradadoras de hidrocarburos mediante el método de recuento en placa. Los recuentos obtenidos variaron entre 102 y 105 UFC por g de sedimento. Mediante el análisis de la varianza (ANOVA) se evidenciaron diferencias significativas ( $p < 0,01$ ) en la distribución espacial de estas bacterias. La mayoría de las cepas analizadas fueron Gram negativas y presentaron capacidad de utilizar gasoil como única fuente de carbono.

Por otra parte, a partir de cultivos de enriquecimiento fueron seleccionadas 3 bacterias capaces de degradar surfactantes. Se evaluó la potencialidad metabólica de las mismas al ser cultivadas con dodecibenceno sulfonato como substrato de crecimiento, determinando densidad óptica, recuentos bacterianos y producción de dióxido de carbono. Los resultados indican que las cepas estudiadas mostraron similares velocidades de desarrollo y capacidad de mineralización del compuesto. A su vez, se registró una degradación máxima del 14,34 % del substrato analizado y actualmente se están evaluando consorcios bacterianos que podrían incrementar los niveles de degradación.

Los resultados obtenidos destacan el rol fundamental de estos microorganismos en el saneamiento de ambientes expuestos a la presencia de contaminantes, al contribuir en la eliminación de compuestos que pueden producir una acción tóxica sobre diferentes especies.

### **C-Abundancia, distribución espacial y papel en las cadenas tróficas del bacterioplancton heterotrófico en ambientes costeros y su relación con el área de desove de especies costeras.**

Los estudios realizados hasta el presente sobre la comunidad planctónica del Río de la Plata son relativamente escasos, y han tendido a caracterizar la calidad del agua en función de la densidad, diversidad y características ecológicas de las especies fito y zooplanctónicas. A

pesar de reconocerse la necesidad de optimizar el manejo de estos sistemas costeros, son pocos los estudios ecológicos sobre los principales factores que controlan los cambios a corto plazo en la población bacteriana. La abundancia total de bacterias como de biomasa bacteriana es importante para comprender el papel ecológico de las bacterias en los ambientes estuariales y otras áreas costeras. Con el objetivo de conocer la abundancia y distribución espacial del bacterioplancton heterotrófico en el ambiente estuarial y marino en relación con factores bióticos y abióticos, se analizaron 36 muestras de una estación costera (38° 28' S, 57° 41' W) tomadas a 4 niveles de penetración de la luz y 78 muestras de la región estuarial del Río de la Plata y área del Rincón (Provincia de Buenos Aires). La abundancia total de bacterias se estimó utilizando un microscopio invertido equipado con epifluorescencia. Para tal efecto, se fijó parte de la muestra con formol estéril y 5 ml de ella se tiñó con 50 µl de 4,6-diamino-2 fenil-indol, DAPI (5µg\*ml<sup>-1</sup>). Los recuentos de bacterias heterotrofas viables se realizaron utilizando la técnica de diseminación en superficie en agar ZoBell y agar para recuento en placas, incubando a 20° C durante 5 días. Los resultados obtenidos hasta el momento muestran que un 38 % de la variación de la abundancia bacteriana en la estación marina es debida a la temperatura. En general, los valores estimados en los recuentos aumentan junto con la temperatura gradualmente de septiembre a noviembre (2000) y disminuyen de mayo a agosto (2002). Por otra parte no hay diferencia entre los distintos niveles muestreados, en concordancia con la estabilidad de la columna de agua. En la región del Río de la Plata, los valores medios de los recuentos de las bacterias heterótrofas viables oscilaron entre 2,7 x 10<sup>3</sup> UFC\*ml<sup>-1</sup> a 1,5 x 10<sup>3</sup> UFC\*ml<sup>-1</sup> a 0 m de profundidad y de 1 x 10<sup>4</sup> a 8,7 x 10<sup>2</sup> UFC\*ml<sup>-1</sup> a 5 m. En la zona de mezcla, en tanto, se encontraron los valores más altos (5 x 10<sup>3</sup> UFC\*ml<sup>-1</sup>). Actualmente se están analizando las concentraciones y dimensiones celulares obtenidas de las imágenes digitales para estimar la biomasa y se está estudiando la relación del bacterioplancton con otras comunidades bióticas.