

# Remoción biológica de microcistina-LR por microorganismos del Río de La Plata (Ensenada, Buenos Aires)

Crettaz-Minaglia, M.C.(1) Andrinolo, D.(1), Aranda, O. (1), Rosso, L.(1), Sedan, D. (1) y Giannuzzi, L. (1,2)  
(1)Laboratorio de Toxicología General, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP.  
(2) Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecología de Alimentos, UNLP-CONICET  
Contacto: melinacrettaz@hotmail.com

## INTRODUCCIÓN

La creciente eutrofización de los ambientes lóticos tiene como consecuencia el desarrollo de cianobacterias potencialmente tóxicas, siendo de frecuente aparición las del género *Microcystis*, muchas de ellas productoras de microcistinas (MCs) conocidas por ser potentes hepatotóxicos. Se conocen más de 80 variedades siendo la MC-LR la más común. Las MCs pueden alcanzar las plantas de potabilización de agua resultando un riesgo para la población y asimismo, la presencia de MCs representa mayores costos y encarecimiento de los procesos de tratamiento de agua ya que estas resisten los procesos tradicionales empleados en las plantas de tratamiento de aguas (Lahiti y Hiisverta, 1989) y es detectada frecuentemente luego de los tratamientos convencionales. Los métodos biológicos se plantean como una alternativa de tratamiento para la eliminación de MCs en plantas potabilizadoras de agua. Hay un gran número de bacterias aisladas de cursos de agua superficiales, principalmente embalses, de sedimentos y de filtros de arena de plantas de tratamiento. La familia de bacterias más estudiada es la Sphingomonadaceae (Bourne *et al.*, 1996, 2001; Park *et al.*, 2001; Amé *et al.* 2006; Okano *et al.*, 2009). El objetivo de este trabajo fue aislar microorganismos del Río de La Plata que presenten potencial acción para remover MC-LR en agua.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Para la obtención de microorganismos potencialmente degradadores de microcistina, se tomó una muestra de agua en el río de la Plata, en la toma de agua de Ensenada (Buenos Aires) (34° 49' 58,7'' S – 57° 56' 54,1'' O) durante un florecimiento de *Microcystis* sp. en enero del 2014. El florecimiento fue caracterizado y se midieron parámetros *in situ*.

Para la aclimatación y aislamiento de los microorganismos se siguió a Amé *et al.* (2006). Los microorganismos fueron aclimatados en un medio mínimo de sales (MSM) suplementado con [D-Leu1] MC-LR a una concentración de 200 ppb como fuente de carbono y nitrógeno, a 32°C, en oscuridad y repicados cada 10 días. La toxina proviene de la cepa de *Microcystis aeruginosa* CAAT2005 – 3 caracterizada por Rosso *et al.* (2014). La MC-LR fue cuantificada periódicamente por el método de inhibición de la proteína fosfatasa (Heresztyn y Nicholson, 2001). Posteriormente, los microorganismos fueron aislados en agar triptona-soja suplementado con MC, caracterizados y ensayados en un cultivo con MC. Se realizó un ensayo de degradación para identificar la/s bacteria/s con capacidad de degradar MC. Cada bacteria aislada fue crecida en caldo nutritivo durante 12 horas (*over night*) para obtener un cultivo en fase exponencial a una concentración aproximada de 10<sup>9</sup> UFC/ml. El ensayo de degradación se realizó en tubos de ensayo estériles con 9 ml de MSM y 1 ml del cultivo de bacteria de modo tal de obtener una concentración de 10<sup>6</sup> UFC/ml. Se adicionó MC a una concentración final de 200pp. Además, se realizó un control sin la adición de bacteria. Se tomaron muestras para determinar la concentración de MC los días 0, 7 y 14 del ensayo.



Figura 1. Área de colecta de muestras

## RESULTADOS

El florecimiento cianobacteriano tuvo como género dominante a *Microcystis* sp. Otra cianobacteria presente fue *Pseudoanabaena mucicola* que es conocida por estar asociada al mucílago de *Microcystis*. Además, se observó la presencia de *Scenedesmus* sp. (clorofita), *Cyclotella* sp. (diatomea) y una diatomea pennal.

El período de aclimatación se llevó a cabo durante 63 días, en donde a partir de la muestra ambiental se realizaron 4 repiques sucesivos. En relación a la concentración de MC, se observó una disminución de hasta el 90%. luego de 10 días (Figura 2). A partir del último subcultivo del período de aclimatación, se realizó el aislamiento de los microorganismos presentes. Se aislaron 16 microorganismos. A través de la tinción de Gram, se pudo determinar la presencia de 15 bacterias siendo bacilos Gram negativos y positivo, y cocos Gram negativos y una levadura.

En el ensayo de degradación realizado con cada microorganismo aislado y el consorcio, se obtuvo que al día 14 el consorcio había disminuido la concentración de MC en un 64% respecto al día 0. Además, se identificó un bacilo Gram negativo no perteneciente a la familia Enterobacteriaceae con un porcentaje de reducción del 56%. Este resultado obtenido por el ensayo de inhibición de la proteína fosfatasa, fue corroborado por espectrometría de masa, detectándose una disminución del 33%.

Temperatura (°C)	28,3
pH	7,27
CE (mS/cm)	0,318
O.D. (mgO <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup> )	7,7

Tabla 1. Parámetros *in situ*

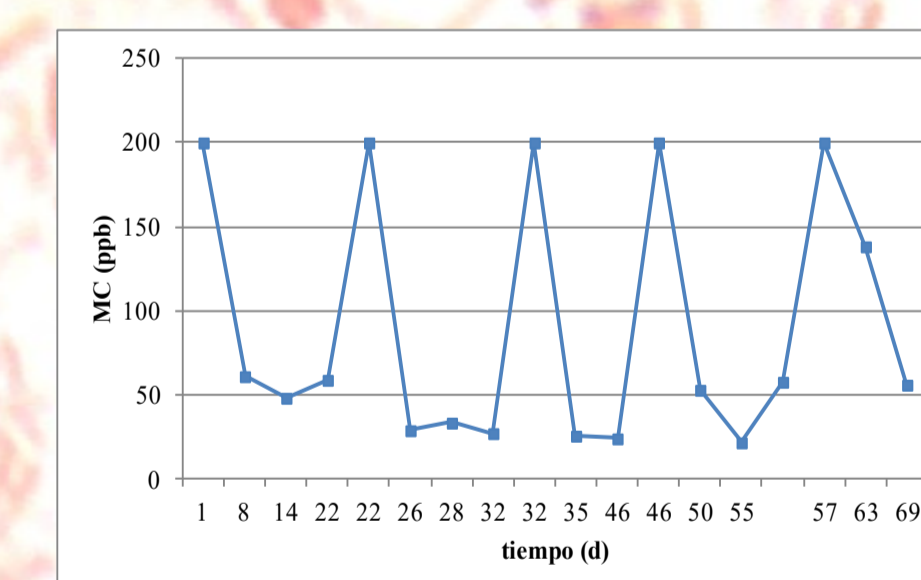


Figura 2. Concentración de MC en el período de aclimatación.

## CONCLUSIONES

El aislamiento y la identificación de bacterias capaces de degradar MCs provenientes de ambientes hipertróficos es altamente importante para nuestra región debido a la ocurrencia cíclica estacional registrada en repetidas ocasiones desde su primera observación por nuestro grupo de trabajo en el año 2004 en el río de La Plata. Si bien aún falta caracterizar esta bacteria y alcanzar mejores tasas de remoción, es posible que esta bacteria pueda ser usada para futuras aplicaciones tecnológicas como alternativa frente a las desventajas de los tratamientos físico-químicos.

## REFERENCIAS

- Amé, V., Ricardo EJ, Stephan P, Alberto WD. 2006. Degradation of Microcystin-RR by Sphingomonas sp. CBA4 isolated from San Roque reservoir (Cordoba—Argentina). *Biodegradation*, 17:447–455.
- Bourne D.G., Jones G., Blakeley R., Jones A., Negri A. and Riddles P (1996) Enzymatic pathway for the bacterial degradation of cyanobacterial cyclic peptide toxin MC-LR. *Appl. Environ. Microbiol.* 62: 4086–4094.
- Bourne, D.G., Riddles, P., Jones, G.J., Smith, W. and Blakeley, R.L. (2001). Characterisation of a Gene Cluster Involved in Bacterial Degradation of the Cyanobacterial Toxin MC-LR. *Environ Toxicol.* 16: 523-534.
- Heresztyn, T y Nicholson, B.C. 2001. Determination of Cyanobacterial Hepatotoxins Directly in Water using a Protein Phosphatase Inhibition Assay. *Wat. Res.* Vol. 35, No. 13, pp. 3049–3056.
- Lahiti K y Hiisverta L. 1989. Removal of cyanobacterial toxins in water treatment processes—review of studies conducted in Finland. *Water Supply*, 7:149–154.
- Okano K., Shimizu K., Kawauchi Y., Maseda H., Utsumi M., Zhang Z., Neilan B. and Sugiura N. 2009. Characteristics of a Microcystin-Degrading Bacterium under Alkaline Environmental Conditions. *Journal of Toxicology*, Article ID 954291, doi:10.1155/2009/954291
- Rosso, L., Sedan, D., Kolman, M., Caixach, J., Flores, C., Oteiza, J.M., Salerno, G, Echenique, R., Giannuzzi, L. and Andrinolo, D. 2014. *Microcystis aeruginosa* strain [D-Leu1] Mcyst-LR producer, from Buenos Aires Province, Argentina. *Journal of Coastal Life Medicine*, 2(4): 287-296.