



SECUESTRO DE METALES EN MATAS MICROBIANAS POR EFECTO DE LA MAREA (ESTUARIO DE BAHÍA BLANCA)

METAL SEQUESTERING IN MICROBIAL MATS DUE TO TIDAL EFFECTS (BAHÍA BLANCA ESTUARY)

Serra, A.V.^{1,2}; Perillo, V.L.^{1,2,3}; La Colla, N.S.^{1,3}; Botté, S.E.^{1,2,3}; Pan, J.^{3,4,5}; Negrin, V.^{1,2,3}; Cuadrado, D.G.^{1,3,6}

¹Instituto Argentino de Oceanografía (CONICET/UNS), Bahía Blanca, Argentina.

²Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina. ³Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Av. Rivadavia 1917, Buenos Aires (C1033AAJ), Argentina. ⁴Instituto de Geología de Costas y del Cuaternario (IGCyC, UNMdP/CIC), Funes 3350, Nivel 1, Mar del Plata (7600), Buenos Aires, Argentina. ⁵Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras (IIMyC), Rodríguez Peña 4046, Mar del Plata (7600), Buenos Aires, Argentina. ⁶Departamento de Geología, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina.

avserra@iado-conicet.gob.ar

Resumen

Se estudió la respuesta de matas microbianas frente a variaciones de inundación por marea, con el fin de considerar su potencial como biorremediador ambiental. Matas microbianas del estuario de Bahía Blanca (EBB) fueron incubadas en microcosmos, simulando condiciones de exposición/inundación (planicie supramareal) e inundación (planicie submareal superior). Se evaluaron variaciones en: (i) composición cuali/cuantitativa del microfitorobentos; (ii) concentración de clorofila a (Cl a) y (iii) concentración de metales Cd, Cu, Pb, Zn, Ni, Cr, Mn y Fe. Los grupos taxonómicos representativos fueron las cianobacterias filamentosas y las diatomeas, encontrándose diferencias significativas post inundación en el biovolumen de la cianobacteria dominante *Microcoleus chthonoplastes*. Este cambio fue concordante con un aumento significativo en la concentración de Cl a, Ni y Zn. Los resultados indicarían la importancia de relevar las condiciones que favorecen un mejor desempeño de las matas microbianas para posteriores estudios de su potencial de bioacumulación en el ambiente natural.

Palabras clave: Biorremediación, matas microbianas, metales, sedimento, clorofila.

Introducción

Las comunidades microfitorobentónicas son indicadores sensibles del cambio ambiental. Los consorcios microbianos integrados por cianobacterias filamentosas y diatomeas son capaces de excretar grandes cantidades de sustancias poliméricas extracelulares (denominadas EPS) como parte de su actividad metabólica natural, que entre otros beneficios, le otorgan a los microorganismos una protección contra la desecación. El EPS está primariamente compuesto por carbohidratos (Hoagland et al., 1993) y tiene la capacidad de secuestrar compuestos tóxicos, de capturar nutrientes y estabilizar la superficie del sedimento disminuyendo sus intersticios (Fleming, 2016).

La contaminación por metales es un serio problema tanto en el ambiente terrestre como el marino. Los metales pueden quedar inmovilizados en diferentes matrices de las zonas costeras como en las matas microbianas que se forman sobre la planicie sedimentaria (Douglas, 2005). Las matas microbianas constituyen un ecosistema bentónico estratificado que al estar expuesto a este tipo de contaminación generan cambios generalmente detectables, por lo que se las utiliza en programas de monitoreo ambiental a nivel mundial (Licursi y Gómez, 2013). La acumulación de metales en estas estructuras biológicas ha recibido mucha atención en los últimos años debido al potencial uso de los microorganismos para la "limpieza" de metales en aguas contaminadas.

El objetivo de este trabajo fue estudiar en un modelo experimental la respuesta de matas microbianas ante dos condiciones: (1) exposición aérea con posterior inundación (característico



de una planicie sedimentaria supramareal); y (2) la inundación permanente (característica de la planicie sedimentaria submareal). Debido a que evaluar las comunidades en su entorno natural dificulta identificar las relaciones causa-efecto, en este estudio se utilizaron microcosmos, por considerarlos la mejor forma de realizar este tipo de estudios en condiciones controladas (Falasco et al., 2009). Se efectuaron ensayos en cámara de cultivo con matas microbianas colectadas en el EBB, las cuales fueron (1) expuestas al aire y posterior inundación (i.e. ensayo supramareal) y (2) se encontraron bajo continua inundación (i.e. ensayo submareal). Se evaluaron las variaciones que se producen en: (i) la composición cuali/cuantitativa de la comunidad microfítobentónica dominante; (ii) la concentración de clorofila *a* (Cl *a*); y (iii) la concentración de metales Cd, Cu, Pb, Zn, Ni, Cr, Mn y Fe. La información obtenida forma parte de estudios preliminares en biorremediación natural de metales de origen antrópico.

Materiales y Métodos

Las matas microbianas fueron extraídas durante la bajamar de una zona supramareal interna del EBB (Almirante Brown; 38° 44'S; 62° 19'E) en el invierno de 2017. En este sector, las matas se inundan con agua de mar sólo durante las mareas de sicigia o en tormentas (Cuadrado et al., 2013). Las muestras fueron trasladadas inmediatamente al laboratorio para ser colocadas en cápsulas de Petri plásticas. Se procedió a incubar matas microbianas de ~1 cm de espesor en cámara de cultivo bajo condiciones controladas, simulando las condiciones bajo las cuales se encuentran habitualmente en la planicie de marea en invierno en cuanto a la temperatura (18°C), y el ciclo de fotoperíodo de luz:oscuridad (16:8 h; intensidad de la luz de 300 mol s⁻¹m⁻²). Se simularon dos situaciones: exposición al aire y posterior ingreso de la marea (ensayo SUPRAMAREAL) e inundación permanente (ensayo SUBMAREAL). Durante el experimento se realizaron mediciones en el día 1 (luego de la aclimatación) y día 3 (luego de la condición de marea). Las muestras de agua usadas durante el ensayo y pertenecientes al sitio de estudio (EBB) se filtraron con filtros de acetato de celulosa de 0,45 µm de poro; luego, se incubaron con carbón activado (remoción de metales y materia orgánica mediante mecanismo de adsorción) durante 24 hs y se filtraron nuevamente con filtros de membrana de 0,2 µm de poro.

Se determinaron metales traza (Cd, Cu, Zn, Ni, Cr y Pb) y mayoritarios (Fe y Mn) en la mata microbiana, siguiendo la metodología de Botté et al. (2010). Todo el material utilizado para la toma de muestra y determinaciones de metales fue acondicionado previamente según protocolos internacionales (APHA, 1998). Los metales se determinaron utilizando un espectrómetro de emisión óptica por plasma de acoplamiento inductivo ICP-OES. Se cuantificó el microfítobentos (cuali y cuantitativamente) y la clorofila *a* (Cl *a*) a partir de las muestras de mata microbiana tomadas con un corer cilíndrico (polipropileno, diámetro interno= 6 mm). La comunidad microbiana se analizó con un microscopio Nikon Eclipse a 200 × y se realizaron estimaciones del biovolumen correspondiente a los distintos grupos dominantes (Pan et al., 2017). Los taxos fueron clasificados en los siguientes grupos taxonómicos: cianobacterias filamentosas y diatomeas (céntricas y pennadas). La Cl *a* se midió siguiendo el método de Stal et al. (1984).

Resultados

La comunidad microfítobentónica de las matas microbianas analizadas consistió en dos grupos taxonómicos representativos: cianobacterias filamentosas (Oscillatoriales) y diatomeas epipélicas. Las diatomeas pennadas incluyeron los géneros *Nitzschia*, *Navicula*, *Diploneis*, *Surirella* y *Achnanthes*, y también especies representantes de mayor tamaño como *Gyrosigma spencerii* y *Cylindrotheca closterium*. Las diatomeas céntricas estuvieron representadas por los géneros *Paralia*, *Podosira*, *Melosira*, *Thalassiosira* y *Coscinodiscus*. Todas las cianobacterias observadas fueron no heterocísticas, con *Microcoleus chthonoplastes* como especie dominante, y presencia de los géneros *Oscillatoria* y *Arthrospira*.

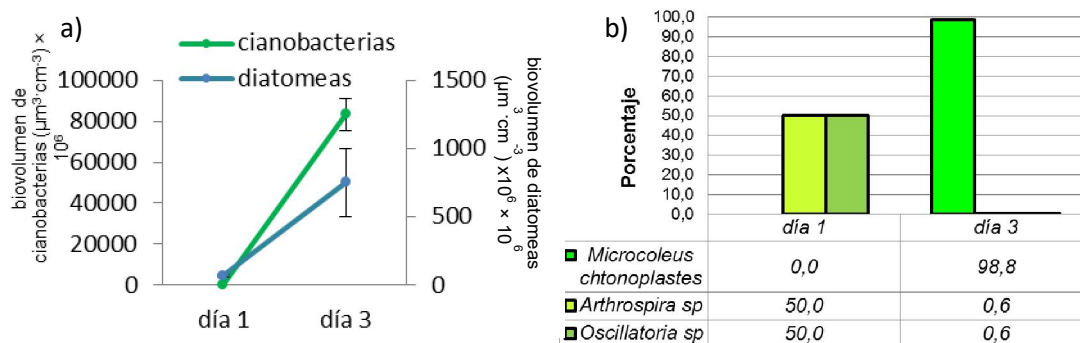


Fig 2 (a). Ensayo supramareal. Variación en el biovolumen de microfitorbentos. Los valores informados son las medias \pm ES (n = 2) para cada taxón. (b) Porcentaje de representación de especies de cianofíceas en los dos momentos (día 1 y día 3) evaluados (n=2).

En el análisis cuantitativo de la comunidad microfitorbentónica, se encontraron diferencias significativas en la biomasa (expresada como biovolumen) de cianobacterias en el ensayo supramareal ($p < 0,05$). (Fig. 2a). Las diferencias cuali/cuantitativa entre ambos días estuvo representada por *Microcoleus chthonoplastes*, con presencia nula en el día 1 (exposición aérea) y un 97% de presencia en el día 3 (posterior a la inundación por marea; Fig. 2b). Esto estuvo acompañado con un aumento en la concentración de Cl a (día 1: $2,48 \pm 0,61$; día 3: $9,41 \pm 2,87$). Las diatomeas no evidenciaron cambios significativos. Asimismo, no se observaron diferencias significativas en la concentración de Cl a entre ambos días para el ensayo submareal. Por otro lado, la concentración de metales evidenció diferencias estadísticamente significativas entre ambos momentos (días 1 y 3) para el ensayo supramareal, tanto para el Ni ($p < 0,006$) como para el Zn ($p < 0,06$), observándose en ambos casos una mayor concentración en el día 3 (Fig. 3). No se encontraron diferencias en la concentración de metales para ambos tiempos en el ensayo submareal.

Conclusiones

Estos resultados indican que la inundación por mareas luego de una exposición aérea es relevante ya que simulando el ingreso del agua, se constata la presencia de *Microcoleus chthonoplastes* en elevada densidad (biomasa), y simultáneamente un incremento de Ni y Zn en el sedimento.

La especie *M. chthonoplastes* se caracteriza por poseer una vaina mucilaginosa que envuelve a varios filamentos densamente empaquetados. Fleming (2016) reportó que el EPS que forma este mucílago podría acumular Zn con el fin de proteger las células de la toxicidad que este metal produce. Esto podría ocurrir con el Ni, además que ambos metales son cofactores de importantes vías metabólicas

Estos resultados preliminares indican un secuestro de metales de Ni y Zn por parte de las matas microbianas luego de una exposición aérea, mientras que las que se encontraron en permanente inundación carecen de esa propiedad. Estas condiciones se deberían tener en cuenta en el momento de diseñar un prototipo de remediación de aguas que contienen Ni y Zn.

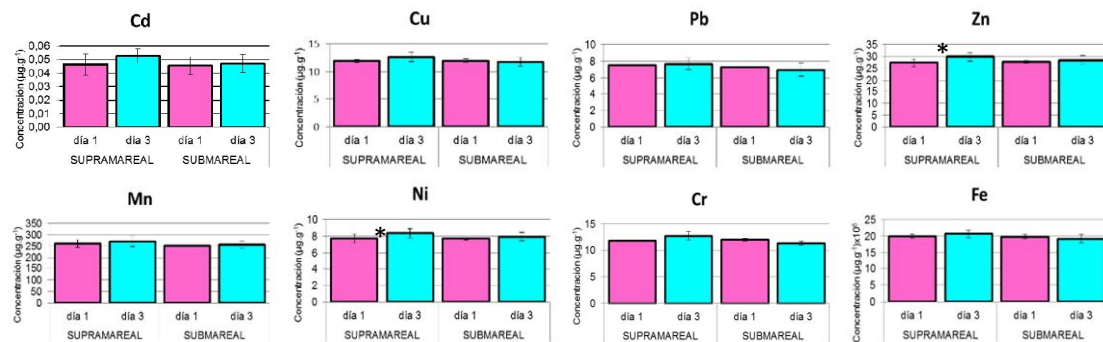


Fig. 3. Concentración de metales ($\mu\text{g g}^{-1}$) en los días 1 y 3 de los ensayos supra y submareal ($n=2$). Los valores informados son las medias \pm ES ($n = 2$).

Referencias

- APHA.** 1998. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Clesceri, L. S.; Greenberg, A. E.; Eaton, A. D. (Eds.), 20th Edition, American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environmental Federation, Washington.
- Botté, S.E, Freije, R.H, Marcovecchio, J.E.** 2010. Distribution of several heavy metals in tidal flats sediments within Bahía Blanca Estuary (Argentina). *Water Air Soil Pollut.* (210):371–388.
- Cuadrado, D.G., Bournod, C.N., Pan J, Carmona, N.B.** 2013. Microbially induced sedimentary structures (MISS) as record of storm action in supratidal modern estuarine setting. *Sediment Geol* (296):1–8.
- Douglas, S.** 2005. Mineralogical footprints of microbial life. *American Journal of Science*, 305: 503-525.
- Falasco, E., Bona, F., Badino, G., Hoffmann, L. y Ector, L.** 2009. Diatom teratological forms and environmental alterations: a review. *Hydrobiologia* 623 (1): 1–35.
- Flemming, H.C., Wingender, J., Szewzyk, U., Steinberg, P., Rice, S.A., Kjelleberg, S.** 2016. Biofilms: an emergent form of bacterial life. *Nat. Rev. Microbiol.* (14): 563-575.
- Hoagland, K.D., Rosowski, J.R., Gretz, M.R. y Roemer, S.C.** 1993. Diatom extracellular polymeric substances: function, fine structure, chemistry and physiology. *Journal of Phycology.* (29): 537-566.
- Licursi, M. y Gomez, N.** 2013. Short-term toxicity of hexavalent-chromium to epipsammic diatoms of a microtidal estuary (Río de la Plata): Responses from the individual cell to the community structure. *Aquatic Toxicology.* (134– 135): 82– 91.
- Pan, J., Bournod, C.N., Cuadrado, D.G.** 2017. Diatom-driven recolonization of microbial mat-dominated siliciclastic tidal flat sediments. *FEMS Microbiology Ecology*, 93, fix111.
- Stal, L.J., Van Gernerden, H y Krumbein, W.E.** 1984. The simultaneous assay of chlorophyll and bacteriochlorophyll in natural microbial communities. *J. Microbiol. Methods* 2(6): 295-306.