

**ESTUDIOS BACTERIOLÓGICOS
REALIZADOS EN AGUAS Y SEDIMENTOS
DEL ESTUARIO DE BAHÍA BLANCA**

INFORME FINAL

MICROBIOLOGÍA AMBIENTAL

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

Bahía Blanca, julio 2003

PROLOGO

El presente Informe Final se presenta al Comité Técnico Ejecutivo de la Municipalidad de Bahía Blanca e incluye la información obtenida en las 11 (once) campañas de investigación realizadas durante el período 2002-2003, en el marco del ***Programa de Monitoreo de la Calidad Ambiental de la Zona Interior del Estuario de Bahía Blanca- Factores Microbiológicos***, diseñado a partir del Convenio entre la Municipalidad de Bahía Blanca y la cátedra de Microbiología Ambiental de la Universidad Nacional del Sur.

Personal responsable:

- Dra. Mónica D. Baldini (UNS).
- Dra. María A. Cubitto (UNS).
- Lic. M. Nedda Chiarello.(IADO- CONICET)

INTRODUCCIÓN

Los microorganismos que forman parte de la biota autóctona de aguas y sedimentos, juegan un papel esencial en la mineralización y reciclado de los nutrientes necesarios para el normal crecimiento de plantas y animales. El número y tipo de bacterias presentes en un ecosistema natural, está generalmente en equilibrio en condiciones normales. Cuando cambian las condiciones ambientales se suceden también modificaciones en la comunidad microbiana.

Es así como las poblaciones microbianas presentes en ecosistemas estuarinos y costeros, se constituyen en un excelente sistema de **advertencia**, ya que responden a las modificaciones del medio, mediante cambios cuali y/o cuantitativos, más rápidamente que el resto de la biota (Jannasch, 1972; Colwell, 1978). Por todo lo expuesto se concluye que las bacterias se pueden utilizar como indicadores de los cambios ambientales, por ser las primeras en responder. La elección del indicador queda supeditada al tipo de modificación o de contaminación que se esté llevando a cabo en ese ambiente.

Con el objetivo de evaluar el impacto que las actividades humanas ejercen sobre aguas y sedimentos del Estuario de Bahía Blanca se seleccionaron los siguientes indicadores bacterianos:

- 1- Bacterias heterótrofas de origen terrestre. Como su nombre lo indica provienen del continente, y son aportadas al estuario por efluentes cloacales, desembocaduras de ríos y arroyos, etc. Pueden incrementar su número en respuesta a la cantidad de materia orgánica que llega al sistema.
- 2- Bacterias heterótrofas de origen marino. Al igual que el grupo anterior es un indicador de los niveles de materia orgánica. Debido a su origen requieren condiciones y medios de cultivos especiales.

3- *Escherichia coli*. Este microorganismo es un habitante normal y exclusivo del intestino de los animales homeotermos. Por lo tanto es un buen indicador de contaminación fecal. Su detección en el ambiente alerta sobre la posible presencia de microorganismos patógenos intestinales, con el consiguiente riesgo higiénico-sanitario para la población que utilice las aguas con fines recreacionales.

4- Bacterias degradadoras de hidrocarburos. Este grupo de microorganismos incluye distintos géneros de bacterias, con la capacidad de utilizar hidrocarburos como única fuente de carbono y energía. Si bien forman parte de la microbiota autóctona, su número en un ecosistema no contaminado por hidrocarburos, constituye alrededor del 0,1% de la comunidad microbiana. En un ambiente afectado por ese tipo de contaminación, dicho porcentaje puede ser superado varias veces, dependiendo de la magnitud del aporte y de la duración de la exposición (Atlas, 1981). Por lo tanto el tamaño de la población hidrocarburofítica refleja la exposición del ambiente a los hidrocarburos.

ÁREA DE TRABAJO

Se establecieron las siguientes estaciones para muestreo de aguas y sedimentos :

- Estación 1: Proximidad de Boya 24.
- Estación 3': Proximidad de la desembocadura de la cloaca de Bahía Blanca.
- Estación 4: Proximidad del Puerto de Ingeniero White.
- Estación 5: Puerto Galván , posta de inflamables.
- Estación 6: Canal de descarga del Polo Petroquímico.

A ellas se accedió con una periodicidad mensual con la lancha del Instituto Argentino de Oceanografía (IADO). Si bien las campañas se realizaron conjuntamente con el grupo de Química Marina de dicho Instituto, las de Microbiología se iniciaron recién en mayo de 2002 y se extendieron hasta marzo del 2003. Las estaciones y su numeración son coincidentes con las de Química, excepto el sitio 3 que a partir de la campaña del 13 de junio se acercó unos 1000 m a la desembocadura de la cloaca, para las muestras de bacteriología. Esto se realizó para evaluar el impacto que sufren las aguas y sedimentos de la zona por la descarga cloacal.

METODOLOGÍA

Las muestras de agua se extrajeron mensualmente de nivel subsuperficial (30 cm de la superficie). Se recolectaron manualmente en botellas estériles color caramelo de 800 mL de capacidad. Las muestras de sedimentos fueron bimensuales y se extrajeron con una rastra. Del contenido de la misma se submuestreó una porción de aproximadamente 250 g, de la zona más interna, a fin de evitar la contaminación por parte del equipo y se recibió en bolsas estériles. Las muestras se conservaron a 4 ± 1 °C hasta la llegada al laboratorio. Las muestras de aguas se analizaron el mismo día del muestreo, las muestras de sedimentos se guardaron a 4 °C y fueron procesadas dentro de las 36 h.

Con el objeto de conocer el impacto de origen antrópico sobre el ambiente estuarino se seleccionaron los siguiente indicadores bacterianos

Sobre cada una de las muestras se realizaron los siguientes estudios bacteriológicos:

Determinaciones bacteriológicas en aguas

- Recuento de bacterias quimioheterótrofas, aerobias, anaerobias facultativas, mesófilas, de origen marino por la técnica de recuento en placa, en medio de cultivo Marine 2216 (Difco). Los resultados se expresaron como unidades formadoras de colonias por mL (UFC/mL).
- Recuento de bacterias quimioheterótrofas, aerobias, mesófilas, de origen terrestre mediante la técnica de recuento en placa en medio de cultivo Agar Plate Count (Merck). Los resultados se expresaron como UFC/mL
- Búsqueda y cuantificación de la bacteria *Escherichia coli*. Por tratarse de un microorganismo de origen entérico, que se halla en condiciones ambientales desfavorables, se utilizaron técnicas de revivificación antes de la siembra en los medios de cultivo selectivos (Baldini y Cabezalí, 1988).

En las muestras provenientes de zonas que se sabían muy afectadas por la contaminación fecal, se hicieron recuentos en placa previa dilución de la muestra. En las menos contaminadas se realizó la técnica de Filtro de Membrana a fin de evaluar un mayor volumen de agua. En todos los casos se utilizó el agar ENDO (Merck) como medio selectivo luego de transcurrido el tiempo de revivificación, y se incubó a la temperatura disgenésica de 44,5°C. Las colonias aisladas se confirmaron con aislamientos en medio de cultivo Brolacín (Merck) y posterior tipificación bioquímica. Los resultados se expresaron como UFC/ 100 mL.

Determinaciones bacteriológicas en sedimentos

El tratamiento de las muestras de sedimentos consistió en pesar 3 g de sedimentos y resuspenderlos en el diluyente apropiado para el grupo fisiológico que se deseaba cuantificar. Luego se agitó vigorosamente (450 rpm, 5 minutos) a fin de disgregar los cúmulos. Transcurrido un minuto de reposo se procedió a la realización de diluciones decimales y la siembra en los medios adecuados. Para determinar el peso seco de cada muestra, los sedimentos se secaron a 105 °C hasta peso constante.

Se realizaron las siguientes determinaciones:

- Cuantificación de bacterias hidrocarburohíticas. El estudio de este grupo se llevó a cabo en sedimentos por que es el destino final de los hidrocarburos en este tipo de sistema. El recuento se realizó por la técnica de Número Más Probable (NMP) adaptada para tal fin (Mills *et al.* , 1978; Cabezalí y Cubitto, 1990), en medio mineral con el agregado de petróleo como única fuente de carbono y energía. Los resultados se expresaron como NMP de bacterias degradadoras de hidrocarburos por gramo de sedimento seco.
- Búsqueda y cuantificación de *Escherichia coli* (se tuvieron las mismas consideraciones que se expresan en el punto de aguas). Los resultados se expresaron como UFC/g sedimento seco.

RESULTADOS

- Los resultados obtenidos a partir del análisis de las muestras de aguas se presentan en las figuras 1, 2 y 3, y los de sedimentos en las figuras 4 y 5.

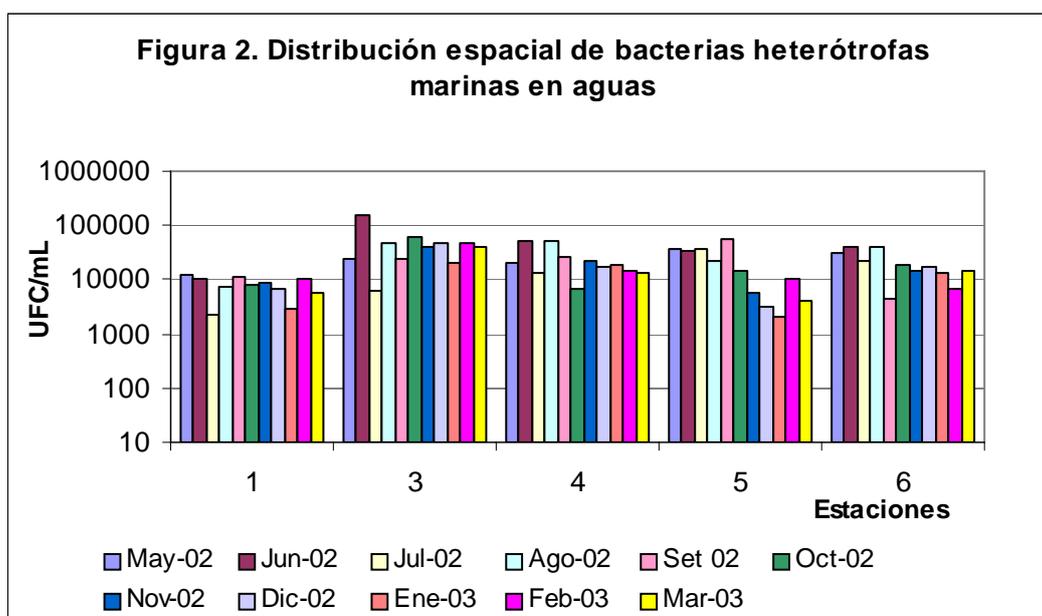
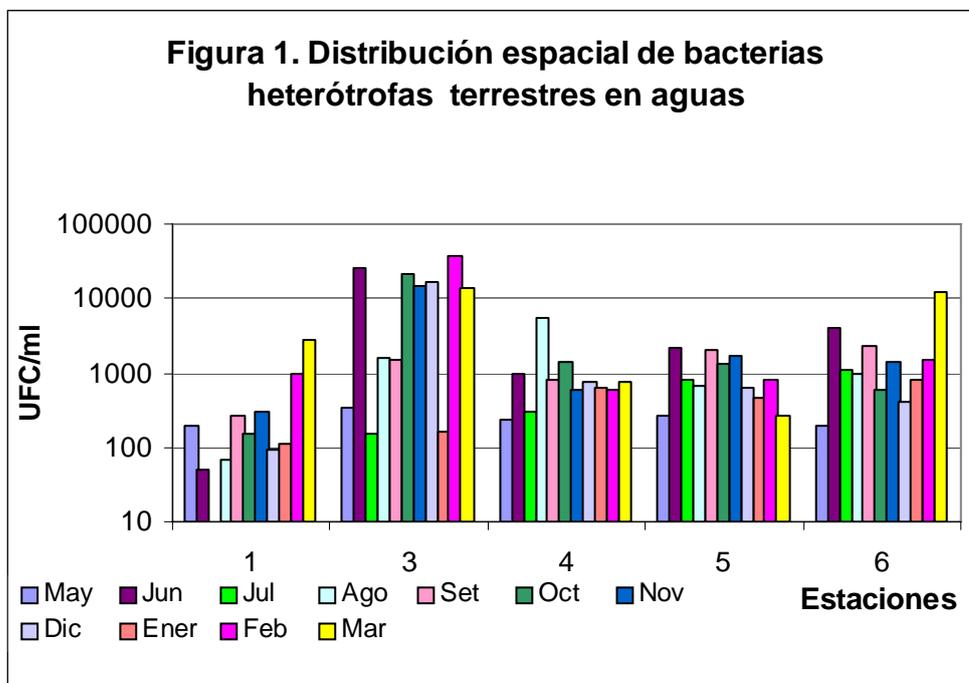


Figura 3. Distribución espacial de *Escherichia coli* en aguas

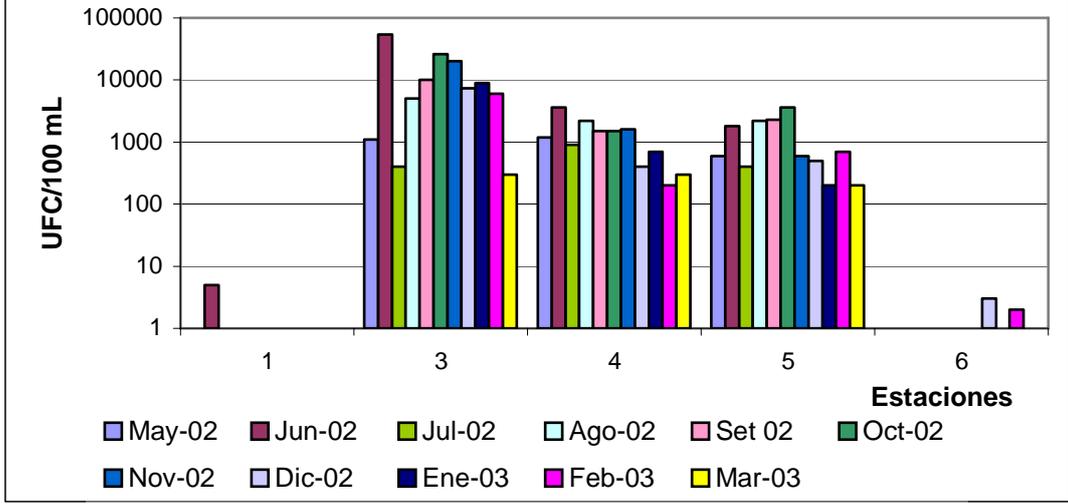


Figura 4. NMP de bacterias degradadoras de hidrocarburos por gramo de sedimento seco

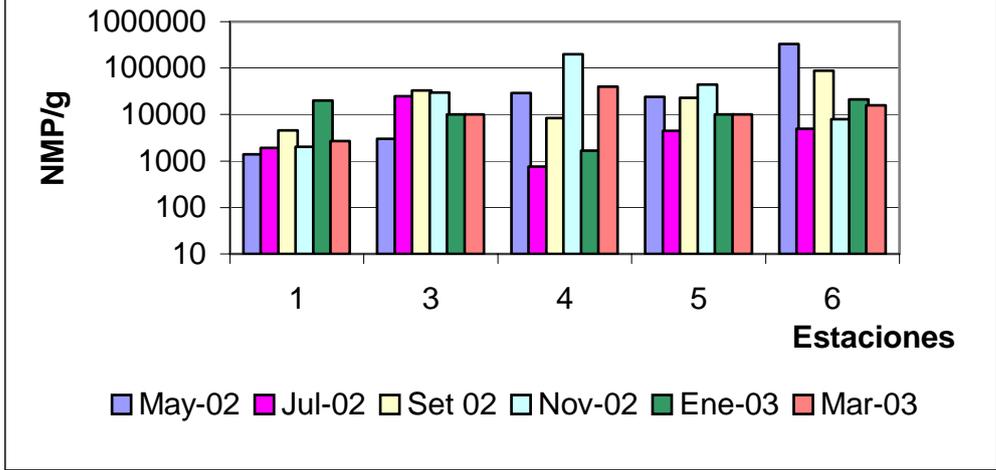
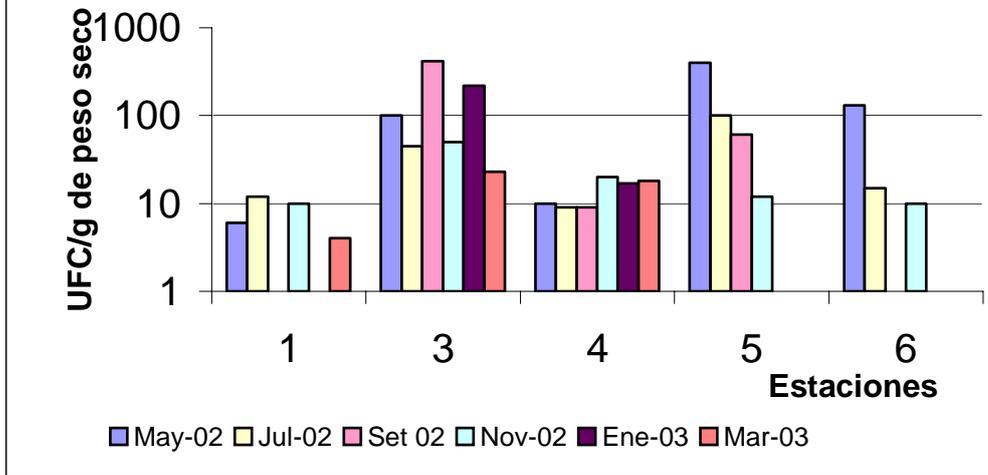


Figura 5. Distribución de *Escherichia coli* en sedimentos



CONCLUSIONES

Los recuentos de bacterias heterótrofas terrestres muestran variabilidad dentro de cada estación, esto podría deberse a que son bacterias exógenas que llegan al medio estuarino transportadas por escurrimiento, cursos de agua dulce que desembocan en la zona, cloacas etc. Asimismo están más sujetas a la variación de distintos factores abióticos que las poblaciones de bacterias marinas. Los picos en los recuentos de bacterias heterótrofas terrestres se registran en las zonas más influenciadas por la actividad antrópica. Indudablemente el aporte de materia orgánica y bacterias de mayor magnitud y continuidad de la zona, se hace en la estación que corresponde a la cloaca (estación 3).

Las bacterias marinas, por el contrario presentan mayor estabilidad en sus recuentos, a lo largo del estuario y en cada estación. Esto indicaría una mayor independencia de comportamiento de este grupo fisiológico con respecto a las influencias continentales.

A partir de la comparación de los resultados actuales con los obtenidos en estudios anteriores (1984-86) no se percibe un incremento sustancial de los grupos de bacterias heterótrofas terrestres y marinas, en el tiempo. Por lo cual se infiere que el tipo de aporte que ellas detectan (materia orgánica de distintos orígenes) tampoco ha sufrido variaciones importantes.

Como era de esperar, debido a que se trata de un indicador de contaminación fecal, las mayores densidades de la bacteria *Escherichia coli*, en aguas y sedimentos, coinciden con la desembocadura de la cloaca de Bahía Blanca. Los sitios de muestreo 4 y 5 muestran el efecto de la actividad portuaria que allí se desarrolla y el vuelco de los efluentes cloacales crudos de la población de Ing. White Cabe mencionar que en las estaciones 1 y 6 no se detectó la bacteria indicadora en la mayoría de las muestras, si bien se filtraron 150 mL de agua. Esto indicaría un menor impacto de la contaminación fecal

en la zona, como así también la sedimentación y/o el efecto de dilución de la carga aportada por las cloacas.

No se han detectado variaciones importantes en cuanto a la densidad promedio de la bacteria *E.coli* en aguas, con respecto a estudios anteriores.

Los recuentos de bacterias hidrocarburohílicas muestran el aporte histórico de hidrocarburos que ha sufrido el canal Principal, lo cual ha permitido un enriquecimiento de este grupo fisiológico en la microbiota, por la acumulación de estos compuestos en los sedimentos. Si bien la estación 1 estaría menos impactada ya que exhibe, en promedio, recuentos menores, cabe destacar el incremento observado en el muestreo de enero del 2003, probablemente ocasionado por un vuelco de combustible ocurrido cerca de la usina termoeléctrica, varios días antes de la campaña. Parte del combustible volcado podría haber derivado hacia este sector.

El resto de los sitios de muestreo evidencian el impacto ocasionado por vuelcos debido a la actividades que allí se realizan o a los efluentes que reciben las aguas.

En estudios anteriores el sitio 6 presentaba valores mayores en el recuento de este grupo fisiológico. La disminución observada en esta oportunidad, puede deberse al cierre de la refinería de la empresa ESSO en el año 2000, la cual volcaba sus efluentes en este sector. No obstante los valores obtenidos alertan sobre la llegada de hidrocarburos a este sitio y su acumulación en los sedimentos, probablemente favorecida por la menor dinámica de este canal.

Los hidrocarburos volcados a las aguas se adsorben a las partículas de sedimentos en suspensión con las cuales se depositan donde la dinámica del sistema lo determina (Voundrias y Smith, 1986). Debido a la alta proporción de sedimentos en suspensión presentes en el estuario, en estudios previos, se

observó la deriva de petróleo crudo hacia sectores alejados del sitio del vuelco y su acumulación en zonas de menor dinámica (Cabezalí y Cubitto, 1990). Por lo tanto debería considerarse la posibilidad de que los aportes de hidrocarburos producidos en el canal Principal afecten otros sectores que no se han tenido en cuenta en el presente estudio.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Atlas R. M. 1981. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: An environmental perspective. *Microbiol. Rev.* 45: 180-209.
- Baldini M.D. y Cabezalí C.B. 1988. Distribución de *Escherichia coli* en aguas del estuario de Bahía Blanca. Argentina. *Rev. Lat.-amer. Microbiol.* 30:229-334.
- Cabezali C. B. y Cubitto M. A. 1990. Detección bacteriológica de contaminación por petróleo en el estuario de Bahía Blanca. *Revista Argentina de Microbiología* 22: 167-174.
- Colwell R.R. 1978. Bacteria y viruses-Indicators of environmental changes occurring in estuaries. *Environ. Int.* 1:223-231.
- Jannasch H.W. New approaches to assessment of microbial activity in polluted waters. En: *Water pollution microbiology Vol.I*, pp.291-303. Ed. Mitchell R. Wiley y Sons, Inc. New York. 1972.
- Mills A. L., Breuil C. And Collwell R. R. 1978. Enumeration of petroleum degrading marine and estuarine microorganisms by the most probably number. *Canadian Journal of Microbiology* 24: 552-557.
- Voundrias E. A., Smith C. L. 1986. Hydrocarbons pollution from marinas in estuarine sediments. *Coastal and Shelf Science*.