

# Evaluación microbiológica del alga comestible *Porphyra columbina*, Montagne, de la costa patagónica argentina

Estevao Belchior\*, Silvia; Gallardo, Adriana\*; Risso, Susana\*\*; Fajardo, María A.\*\*

\* Cátedra de Microbiología Clínica.

\*\* Cátedra de Bromatología y Nutrición.

Departamento de Bioquímica, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco. Km 4. (9000) Comodoro Rivadavia. Chubut - Argentina  
Tel/Fax: 0297 - 4550339 int. 26.

**RESUMEN:** Las algas marinas son colonizadas por bacterias del entorno acuático. En este trabajo se estudió la población microbiana asociada a *Porphyra columbina*, una macroalga roja que desarrolla en la costa patagónica de Argentina. Se analizaron 80 muestras de algas frescas cosechadas en Punta Maqueda, Golfo San Jorge, Argentina. Se cuantificaron bacterias aerobias heterótrofas; marinas; de bajos requerimientos nutricionales (B.B.R.N.); coliformes totales y fecales; hongos; levaduras; anaerobias sulfito reductoras y *Vibrio* sp. Posteriormente, se seleccionaron colonias para su identificación. Los promedios de los recuentos bacterianos, expresados en logaritmo base 10 ufc/g, fueron para aerobias heterótrofas 2,47; marinas 4,38; B.B.R.N. 4,36 y *Vibrio* sp. 3,51. No desarrollaron coliformes totales, fecales, hongos, levaduras y anaerobias sulfito reductoras. Entre las cepas seleccionadas, predominaron los bacilos Gram negativos, psicrótrofos marinos, miembros de la familia *Pseudomonaceae* y *Vibrionaceae*. Los resultados de los recuentos indican que el alga *Porphyra columbina* recolectada sería microbiológicamente apta para el consumo humano.

**Palabras claves:** calidad microbiológica, alga comestible, *Porphyra columbina*.

**Summary:** Microbiological evaluation of eatable seaweed *Porphyra columbina*, Montagne, from Argentine patagonian coast. Estevao Belchior, Silvia; Gallardo, Adriana; Risso, Susana and Fajardo, María A.. The occurrence of bacteria associated to *Porphyra columbina*, Montagne, red seaweed from Argentine patagonian coast, were investigated in this study. Fresh seaweeds were collected in Punta Maqueda Gulf of San Jorge of Argentine country. A total of 80 samples were analyzed from their content of aerobic heterotrophic, marine bacteria, low nutritional required bacteria (L.N.R.B.), yeast, moulds, total and fecal coliforms, anaerobic sulfite-reducing, and *Vibrio* sp. Strains were selected and identified. Average of counts bacteriologic, log<sub>10</sub> colony forming units for g (log<sub>10</sub> cfu/g) were aerobic heterotrophic 2,47; marine bacteria 4,38; L.N.R.B. 4,36 and *Vibrio* sp. 3,51. Yeast, moulds, total and fecal coliforms, anaerobic sulfite-reducing bacteria were not isolated from any samples in this study. Gram-negative rods, psychrotrophic marine were the predominant microorganisms. The main genera isolated were *Pseudomonas* and *Vibrio*. Bacterial counts showed that, microbiological quality of *Porphyra columbina* from Argentine patagonian coast, Punta Maqueda, Gulf of San Jorge, is adequate for human consumption.

**Key words:** Microbiological quality, eatable seaweed, *Porphyra columbina*.

## Introducción

*Porphyra columbina* es un alga roja que se desarrolla en abundancia en las costas patagónicas de Argentina. La misma podría ser utilizada en la alimentación humana y como fuente de ficocoloides (carragenanos, furonanos, agar y otros compuestos orgánicos) (1, 2, 3).

Como alimento, la *Porphyra columbina*, es apreciada por su alto contenido en proteínas, vitamina C, minerales y fibra dietaria (2, 3). Es muy conocida en Oriente donde constituye un recurso económico muy

Correspondencia a:

Dra. Silvia Estevao Belchior. Cátedra de Microbiología Clínica, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco. Km. 4, Ruta Prov. N° 1. (9000) Comodoro Rivadavia. Chubut - Argentina. Tel/Fax: 0297 - 4550339 int. 26 - e-mail: sbelchior@unpata.edu.ar

Nota: Este trabajo fue presentado parcialmente en las IV Jornadas Nacionales de Ciencias del Mar, septiembre de 2000, Puerto Madryn, Chubut, Argentina y en IX Congreso Argentino de Microbiología, octubre de 2001, Buenos Aires, Argentina.

importante. En Japón se la cultiva y comercializa en forma de láminas llamadas Hoshi-Nori o Asakusa-Nori, que se cortan en trozos de diversos tamaños y se preparan con salsa de soja, o con varios alimentos como arroz, fideos, pescado crudo, etc. Uno de los platos más reconocidos es el "sushi". Otros países productores y/o consumidores de la *Porphyra* son China, Corea, Gales, Nueva Zelanda y Chile, donde se consumen con el nombre de zicai, kim, laver, karengo y luche, respectivamente. Actualmente, en occidente se ha incorporado en la alimentación formando parte de comidas exóticas y naturistas (2, 3, 4).

En nuestra región es consumida principalmente por una reducida parte de la población y por residentes chilenos de distintas localidades de la Patagonia, que las consumen siguiendo las costumbres de su país de origen.

La composición química de la *Porphyra columbina* que desarrolla en las costas cercanas a Comodoro Rivadavia, fue estudiada previamente y ha sido considerada como un recurso renovable de elevado contenido de proteínas, fibra soluble e insoluble, ácido ascórbico, potasio y magnesio (5). Considerando que no se dispone de información sobre la microbiología de esta alga roja, que se desarrolla en la costa del Golfo San Jorge (Patagonia Argentina), se estudiaron los niveles, la variación mensual y la distribución genérica de los microorganismos autóctonos predominantes en muestras de algas frescas de *Porphyra columbina*. También fueron registrados los parámetros físico-químicos y microbiológicos del agua del ambiente marino en donde se desarrollaron las mismas.

## Materiales y Métodos

### Características de las algas

La *Porphyra columbina* (figura 1), es un macroalga bentónica, talófito, roja de sabor agradable. Muestra un aspecto arropollado en el estado juvenil y luego se asemeja a pañuelos de color pardo, violáceo o dorado. El talo es foliáceo, formado por una lámina plana, de una o dos células cúbicas o elipsoidales, embebida en una matriz gelatinosa resistente. Dicho talo está fijo al sustrato rocoso mediante unos filamentos rizoidales pluricelulares basales (pie fijador) (3).

### Recolección y traslado de las muestras

Se recolectaron al azar y en forma manual muestras de algas frescas de *Porphyra columbina*; en Punta Maqueda, Golfo San Jorge a 46° 01', LS; 67° 34', LO (Provincia de Santa Cruz), a 30 Km. de la ciudad de Comodoro Rivadavia (figura 2). La temperatura del agua en esa zona varía entre 5 y 15°C y la salinidad es normalmente 3,5% (p/v).

Las algas se cosecharon de la restinga del nivel medio del intermareal, durante la bajamar, en el período comprendido entre septiembre de 1999 y septiembre de 2001. En los meses de Noviembre, Diciembre, Enero y Febrero no se realizaron muestras, debido a que el alga es muy pequeña y se dificulta su recolección. Se recogieron en bolsas de polietileno asépticas y fueron trasladadas al laboratorio a 4° C - 8° C.

Simultáneamente, se determinó la temperatura y el pH en el agua de mar y se recolectaron muestras en recipientes estériles para análisis bacteriológico.

Todas las muestras fueron procesadas dentro de las 6 horas de haber sido recolectadas.

### Procesamiento de las muestras

En el laboratorio se procedió a la separación de unidades muestrales de 10g de algas. Cada una de ellas, se colocó en un recipiente de vidrio conteniendo 90 ml de agua de mar estéril suplementado con 0,1% de peptona de carne y se homogeneizó con una trituradora de cuchillas de acero inoxidable. Los homogenatos se mantuvieron en reposo a temperatura ambiente, durante una hora, para decantar el material particulado y recuperar las bacterias injuriadas.

Posteriormente se efectuaron diluciones seriadas en agua de mar estéril para los recuentos bacterianos por diseminación en superficie (6).

### Recuentos bacterianos

En muestras de algas, se realizaron recuentos que incluyeron los siguientes grupos de microorganismos, medios de cultivo y condiciones de incubación: bacterias aerobias heterótrofas que pueden desarrollar sin NaCl, 72 hs a 22°C en agar para recuento en placa (g/100ml: 0,5 peptona de caseína; 0,25 extracto de levadura; 0,1 glucosa, 1,4 agar-agar; pH 7; esterilizado en autoclave a 121°, 15'); bacterias marinas, 72 horas a 22°C en agar ZoBell

(g/100ml: 0,5 peptona de carne; 0,1 extracto de levadura; 1,5 agar-agar; 75 ml agua de mar y 25 ml agua destilada; pH 7; esterilizado en autoclave a 121°, 15'); bacterias de bajos requerimientos nutricionales (B.B.R.N.), 7 días a 22°C en agar R2A adicionado con 2% de NaCl (g/100ml: 0,05 extracto de levadura; 0,05 peptona proteasa; 0,05 casamino ácido; 2 NaCl; 0,05 almidón; 0,03 piruvato de sodio; 0,5 FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O; 0,05 glucosa; 1,4 agar-agar; pH 7, esterilizado en autoclave) (7); vibrios, 48 horas a 22°C en agar comercial Tiosulfato, Citrato, Bilis, Sacarosa (TCBS), coliformes totales y fecales, en caldo Mc. Conkey a 37 y 44,5°C respectivamente, por la técnica de número más probable (NMP) (6); *Pseudomonas aeruginosa*, 72 horas en agar comercial Cetrimide a 37°C (6), hongos y levaduras en agar Sabouraud 7 días a 30°C (6). Para bacterias sulfito reductoras se realizaron recuentos en medio diferencial para clostridios (DRCM) con agregado de 0,3% de agar y distribuido en tubos con 9 ml y esterilizados. Una vez sembrados los medios con 1 ml del homogeneizado de la muestra y de diluciones sucesivas, se colocaron durante 30 minutos a 70°C y posteriormente se incubaron durante 7 días a 35°C. Las colonias negras que desarrollaron fueron contadas.

Los resultados se expresaron en unidades formadoras de colonias por gramo (ufc/g) y en número más probable por gramo de alga (NMP/g).

Para el análisis, los datos se transformaron a logaritmo en base 10 (log<sub>10</sub> ufc/g). Los mismos fueron expresados como promedio ± desviación estándar. Las diferencias entre los promedios se calcularon por análisis de varianza (ANOVA). La probabilidad ≤ 0,05 se consideró significativa. Para las variables no paramétricas se aplicó ANOVA de Kruskal-Wallis y el de comparaciones múltiples de Dunn's y para las variables paramétricas ANOVA simple y en los test que revelaron diferencias significativas (p ≤ 0,05), se aplicó el método de Tukey-Kramer para determinar las variables que introdujeron dichas diferencias (8).

En el análisis bacteriológico de agua de mar se efectuaron los siguientes recuentos (7): coliformes totales y fecales, NMP en caldo Mc.Conkey, a 37°C y 44,5°C, respectivamente por 48hs; *Pseudomonas aeruginosa*, en agar Cetrimide a 37°C por 72 horas, *Enterococcus* sp., NMP en caldo dextrosa azida, a 37°C por 24hs. y confirmación en agar bilis esculina.

### Caracterización fenotípica de cepas autóctonas

Se aislaron y purificaron colonias con morfologías diferentes de distintos medios. De cada cepa se estudiaron los siguientes aspectos:

### Características morfológicas

La morfología bacteriana fue analizada mediante la coloración de Gram.

### Características de crecimiento

Se determinaron las características fisiológicas de cada cepa bacteriana seleccionada, según su crecimiento, bajo las siguientes condiciones:

**TOLERANCIA A DISTINTAS TEMPERATURAS:** Se determinó el rango de temperaturas de desarrollo en agar ZoBell a 0, 4, 22, 30, 37, 42, 50 °C.

• **TOLERANCIA A LAS CONCENTRACIONES DE CLORURO DE SODIO:** Se inocularon cultivos puros de las cepas en caldo ZoBell con: 0; 1,5; 2; 3,5; 5; 7; 9; 12 y 15% de NaCl.

• **TOLERANCIA A DISTINTOS pH:** Se inocularon cultivos puros de cada cepa en caldo ZoBell a pH 5, 6, 7, 8, 9, 10.

• **TOLERANCIA AL OXÍGENO:** Se observó desarrollo bacteriano en aerobiosis, microaerofilia y anaerobiosis, utilizando para ello caldo tioglicolato con 2% de NaCl.

• **OBTENCIÓN DE ENERGÍA:** Se inocularon por punción medios OF (según Hugh y Leiffson) para determinar si los microorganismos oxidan o fermentan la glucosa.

### Características metabólicas

Las cepas fueron analizadas con el fin de determinar sus características metabólicas y lograr una identificación presuntiva al nivel de género.

**DESCRIPCIÓN DE LAS REACCIONES:** Se efectuaron las pruebas de: producción de pigmento; reducción de nitratos a nitritos o a gas nitrógeno; movilidad; producción de citocromo oxidasa y catalasa; b-galactosidasa (O.N.P.G.) y ureasa; hidrólisis de esculina (β glucosidasa); hidrólisis de gelatina (proteasa); producción de sulfhídrico a partir de tiosulfato sódico, producción de indol a partir de triptofano. Otras características estudiadas fueron: sensibilidad al agente vibriostático O/129 (2-4 di NH<sub>2</sub>, 6-7- di isopropil pteridina - 150 μg), a polimixina B (50 U) y penicilina (10 U); además se determinó la

producción de agarasa (g/100 ml: 0,25 hidrolizado de caseína; 0,05 extracto de levadura; 3 NaCl; 0,5 peptona de carne; 0,06 NaHPO<sub>4</sub>; 0,5 MgSO<sub>4</sub>; 0,002 SO<sub>4</sub>Fe.7H<sub>2</sub>O; 0,01 CaCl<sub>2</sub> y 1,5 de agar-agar ajustado a pH 7) (9), producción de ADNasa; producción de lecitinasa; hidrólisis de Twen 80; hemólisis y desarrollo en agar tiosulfato, citrato, bilis, sacarosa (T.C.B.S.).

Los medios de cultivo se prepararon siguiendo las metodologías estándar (10), siendo modificados por la adición de NaCl en una concentración del 2% (p/v).

Las pruebas de identificación se incubaron a temperatura ambiente por 48 horas.

#### Identificación presuntiva de géneros

Las cepas se clasificaron presuntivamente al nivel de género considerando el esquema propuesto por Oliver (11), para identificación de bacterias marinas que separa los siguientes géneros: *Pseudomonas*, *Lucibacterium*, *Xanthomonas*, *Alteromonas*, *Aeromonas*, *Vibrios*, *Spirillum*, *Photobacterium*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Cytophaga*, *Moraxella*, *Flexibacter*, *Chromobacterium*, *Alcaligenes*, *Agrobacterium*, *Caulobacter* y familia Enterobacteriaceae. Además, se utilizaron criterios de diferenciación bioquímica entre géneros propuestos en Bergey's manual of systematic bacteriology (12).

## Resultados y Discusión

#### Análisis bacteriológicos en muestras de algas frescas

Se procesaron 80 muestras de algas frescas, los promedios de los recuentos microbiológicos, expresados en log<sub>10</sub> ufc/g, se detallan en la tabla 1.

La ausencia de coliformes totales, fecales, hongos, levaduras y anaerobias sulfito reductoras se evidenció en todas las muestras.

Los valores promedios de los recuentos bacterianos resultaron ser semejantes para las bacterias marinas y las BBRN (que desarrollaron en R2A con NaCl) (p > 0,05). Sin embargo, se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas (p ≤ 0,05) entre las medias de los recuentos de bacterias heterótrofas (que desarrollaron en agar para recuen-

to en placa sin NaCl) y las marinas (de agar ZoBell). Estos resultados indicarían que los microorganismos autóctonos que se encuentran asociados con el alga fresca *Porphyra columbina*, podrían desarrollar en condiciones fluctuantes de nutrientes, influyendo significativamente la incorporación de NaCl en la formulación del medio. Estas características son propias de las bacterias adaptadas para sobrevivir y desarrollar en ambientes marinos (13, 14).

Por otro lado, cuando se compararon los promedios de los recuentos de bacterias marinas, BBRN y *Vibrio* sp, se observó que el valor correspondiente al promedio del último grupo fue significativamente menor (p ≤ 0,05) a los otros dos.

La tabla 2 presenta la distribución mensual de los valores promedios de los recuentos para los tres grupos de bacteria que desarrollaron en presencia de NaCl. Al analizar estadísticamente estos resultados se establecieron diferencias significativas (p ≤ 0,05) entre los valores promedios obtenidos mensualmente. En la figura 3 se puede observar que durante los meses de marzo, abril y junio se registraron los valores de recuentos bacterianos más elevados, coincidiendo con el período estacional en que el alga se encuentra en su estadio juvenil, en pleno desarrollo y con un franco aumento de nutrientes (3). Además, otros factores ambientales, que no fueron controlados en esta experiencia, podrían haber influido para que se establecieran estas diferencias. Entre ellos, diversas condiciones ambientales en los meses de primavera; como por ejemplo, el aumento de la temperatura; la mayor frecuencia de fuertes vientos y/o la incidencia más directa de la luz solar; podrían favorecer la desecación de este ecosistema, durante las horas de bajamar, provocando situaciones de stress bacteriano.

#### Características del agua de mar

En el período en que se llevó a cabo este estudio se registraron temperaturas del agua de mar entre 9 a 15 °C y valores de pH en el rango de 7,4 a 8,4.

No se obtuvo desarrollo de coliformes totales, fecales, *Pseudomonas aeruginosa* ni enterococos. Este resultado se encuentra relacionado con la ausencia de actividad antrópica en la zona elegida para el muestreo (Punta Maqueda).

### **Caracterización fenotípica de cepas autóctonas asociadas a la *Porphyra columbina***

En general las colonias desarrolladas presentaron las siguientes características: aspecto cremoso, circulares con bordes homogéneos y elevadas con un tamaño de 2-3 mm.

De las colonias que se seleccionaron en los distintos medios de cultivo el 33% se destacó por poseer pigmentos, que variaron entre colores naranja, amarillo, marrón y violeta. En las bacterias marinas, los pigmentos actúan en forma protectora frente a la acción fotodinámica de la luz del sol a la cual suelen estar expuestas, principalmente aquellas que permanecen en las superficies (15).

Entre las 60 cepas seleccionadas, se destacó la dominancia de bacilos Gram negativos (92,5%), que es una constante en ecosistemas marinos fríos, de acuerdo a comunicaciones de otros autores (13, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21). El resto de los microorganismos correspondió a cocos Gram positivos, que se consideran competidores pobres por los nutrientes en estos ambientes. En cambio las bacterias Gram negativas, mantienen ligadas a su pared celular y/o excretan numerosas enzimas hidrolíticas capaces de digerir sustratos exógenos rápidamente (15).

Según el rango de temperaturas de crecimiento, el 100% de las cepas crecieron en el rango entre 4°C y 22°C (tabla 3). Por lo tanto, se clasificarían como psicrótrofas y podrían adaptarse a las variaciones de temperaturas del agua de mar en el Golfo San Jorge que oscilan anualmente entre 5°C a 15°C con una media de 8°-9°C. Las bacterias psicrótrofas, de acuerdo a la definición de Morita (22), muestran un desarrollo óptimo a 18 y 22 °C y pueden crecer de 0 a 25 °C o más. Un bajo porcentaje de las cepas (12%) creció también a 37°C. Normalmente, los microorganismos psicrótrofos adaptados a ambientes fríos, tienen una tolerancia limitada a las altas temperaturas. Esta sensibilidad está asociada a la pérdida de actividad de enzimas y de sistemas enzimáticos respiratorios, uso acelerado del pool de aminoácidos, incremento en la saturación de lípidos de la membrana celular, pérdida de permeabilidad de la membrana celular, pérdida de componentes intracelulares (proteínas, DNA, RNA, aminoácidos libres, fosfolípidos) (22). No se obtuvo desarrollo de ninguna de las cepas seleccionadas a temperaturas mayores a 37°C.

El 58% de las cepas se clasificaron como bacterias marinas (tabla 4), según el criterio de Stanier y cols. (23), dado que mostraron requerimientos fisiológicos obligados de NaCl y adaptación a la salinidad de los océanos. Los microorganismos marinos, se lisan en ausencia de NaCl (22).

El 37% de las bacterias se consideraron como halófilas moderadas y el resto de las cepas (5%) se las podría incluir en la categoría de bacterias del tipo terrestres (23). Ninguna de las cepas desarrolló a concentraciones superiores al 12%.

Las pruebas de identificación indicaron que la mayoría de las cepas presentaron metabolismo respiratorio y un alto porcentaje se mostró inerte frente a la glucosa (70%). Produjeron enzimas hidrolíticas como proteasas (70%), lipasas (62%), lecitinasas (70%), hemolisinas (60%) y otras enzimas capaces de degradar macromoléculas como agar (8%), polisacáridos de reserva (almidones) (62%) y DNA (64%). En un menor porcentaje se determinaron cepas con capacidad de hidrolizar urea (19%) y esculina (19%). Otros autores reportaron características similares de bacterias marinas aisladas del Mar Argentino (24, 25).

Las plantas marinas, constituyen una fuente potencial de biomasa que puede ser degradada por microorganismos marinos autóctonos que se encuentran asociados a las mismas. Estos ocupan un rol importante en la cadena trófica, pues son responsables de la digestión de distintos compuestos orgánicos presentes en las algas (carragenanos, agar, alginatos, proteínas, polisacáridos de reserva y lípidos), proporcionando materia orgánica en pequeñas partículas que luego puede ser filtrada y empleada en la alimentación de otros organismos marinos (9, 15).

### **Identificación bacteriana**

La caracterización, en géneros y especies, de las cepas seleccionadas fue dificultosa. Las pruebas bioquímicas y fisiológicas deberían complementarse con la información que proveen los métodos moleculares que se utilizan en el análisis filogenético de las poblaciones (26, 27).

De acuerdo a los sistemas de identificación utilizados (11, 12), las cepas Gram negativas se identificaron presuntivamente por las características

morfológicas y pruebas metabólicas como miembros del género *Pseudomonas* (35%), *Vibrios* (25%), otras cepas fueron comparables con los géneros *Flexibacter* (8%), *Moraxella* (6%), *Aeromonas* (4%), *Alteromonas* (4%), *Flavobacterium* (4%), *Acinetobacter* (2%), *Agrobacterium* (2%), *Cytophaga* (2%). Los cocos Gram positivos aislados fueron identificados como *Staphylococcus* (6%) y *Streptococcus* (2%).

De estos resultados surge que los géneros predominantes fueron; *Pseudomonas* y *Vibrios*. La do-

minancia del género *Pseudomonas* estaría atribuida a su buena habilidad de adaptación a diferentes ambientes y a la capacidad de multiplicarse a bajas temperaturas, con tiempos de generación menores a los de otros microorganismos (13, 14, 25).

Los resultados de la identificación presuntiva fueron comparable con los informados en trabajos previos de otros autores, cuyos objetivos planteaban la identificación de bacterias marinas en diversos ambientes, como hielo, agua de mar Ártico y Atlántico o peces (13, 20, 24, 27, 28).

**Tabla 1:** Promedios de recuentos, desviación estándar (D.E.) y valores mínimos y máximos.

Recuentos bacteriológicos	Promedio (n:80) (*)	D.E.	Mínimo	Máximo
aeróbias heterótrofas	2,47	±0,84	1,00	3,59
marinas	4,38	±0,64	3,15	5,78
B.B.R.N.	4,36	±0,64	2,60	5,60
<i>Vibrio sp.</i>	3,51	±0,79	1,00	5,60

Referencias: (\*) Los resultados expresados en  $\log_{10}$  ufc/g, corresponden a valores promedios de recuentos realizados a 80 unidades muestrales de algas frescas.

**Tabla 2:** Distribución mensual de los recuentos bacteriológicos de *Porphyra columbina*.

Recuentos (n:80) (*)	marinas	B.B.R.N.	<i>Vibrio sp</i>
Marzo	4,44±0,35 <sup>(a)</sup>	4,16±0,31 <sup>(a)</sup>	3,56±0,25 <sup>(a)</sup>
Abril	5,12±0,32 <sup>(b)</sup>	5,15±0,27 <sup>(b)</sup>	4,23±0,83 <sup>(a,b)</sup>
Junio	4,68±0,43 <sup>(a,b)</sup>	4,52±0,41 <sup>(a,c)</sup>	3,87±0,62 <sup>(a,b,c)</sup>
Julio	3,89±0,42 <sup>(a,c,d)</sup>	3,87±0,52 <sup>(a,d)</sup>	2,77±0,77 <sup>(a,d)</sup>
Septiembre	4,1±0,58 <sup>(a,c,d)</sup>	4,15±0,62 <sup>(a,c,d)</sup>	3,33±0,32 <sup>(a,c,d,e)</sup>
Octubre	3,85±0,50 <sup>(a,c,d)</sup>	3,85±0,35 <sup>(a,d)</sup>	2,8±0,34 <sup>(a,d,e)</sup>

Referencias: (\*) Los resultados expresados en  $\log_{10}$  ufc/g, corresponden a valores promedios de recuentos realizados a 80 unidades muestrales de algas frescas.

<sup>(†)</sup> Letras iguales en la misma columna indican que no existen diferencias significativas entre los recuentos.

**Tabla 3:** Distribución del número de cepas que desarrollaron en función de distintos rangos de temperatura (°C).

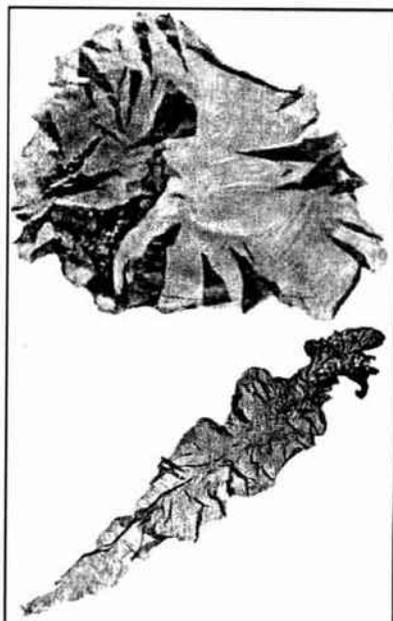
Rangos de temperatura (°C)	Cepas que desarrollaron	
	n <sup>(*)</sup>	%
0°C-30°C	5	8
0°C-37°C	4	7
4°C-22°C	60	100
4°C-30°C	40	67
4°C-37°C	3	5

(\*) El número total de cepas estudiadas corresponde a 60.

**Tabla 4:** Clasificación de las cepas de acuerdo al crecimiento en distintos rangos de concentraciones salinas.

Concentraciones de NaCl (% p/v)	Cepas que desarrollaron		Clasificación (**)
	n <sup>(*)</sup>	%	
0 - 3,5	3	5	Terrestres
0 - 12	22	37	Halófilas moderadas
1 - 5	35	58	Marinas

(\*) El número total de cepas estudiadas corresponde a 60. (\*\*) Clasificación según Stanier y cols. (23).

**Figura 1:** Alga roja *Porphyra columbina*, Montagne.



## Conclusiones

En los análisis bacteriológicos del agua de mar y de las algas frescas no se detectaron microorganismos indicadores de contaminación fecal. Este resultado se relaciona con la ausencia de actividad antrópica en Punta Maqueda, considerándose un entorno favorable para el desarrollo del alga. Por ello, el alga *Porphyra columbina* recolectada sería microbiológicamente apta para el consumo humano. La población bacteriana asociada a *Porphyra columbina* estaría compuesta principalmente por bacilos Gram negativos que se caracterizaron por ser psicrófilos marinos.

Los géneros dominantes de este ecosistema fueron compatibles con *Pseudomonas sp.* y *Vibrio sp.*

Por la capacidad hidrolítica que expresaron, las bacterias estudiadas serían productoras potenciales de materia orgánica y contribuirían así a la economía de este ecosistema marino.

## Agradecimientos

Los autores agradecen a la Bioq. Marisa Alvarado por su colaboración en este trabajo. A la Dra. Alicia Borasso de Saixo, por su asesoramiento en la caracterización del alga en estudio.

## Bibliografía

- Campos, C.; Guerrero, S.; Gerschenson, L.N. y Alzamora, S.M., 1999. Desarrollo de una tecnología de preservación de algas argentinas. Estudio de las variables que afectan su color. En Libro (C.D.)Proceeding del VIII Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos., Area 14, Los alimentos del Futuro. (Santa Fé, Argentina), 156.
- Jiménez Escrig, A. y Goñi Cambrodón, I., 1999. Evaluación nutricional y efectos fisiológicos de macroalgas comestibles. Arch. Latinoamer. Nutr., 49:114-120.
- Fajardo, M.A. y Portela, M. L., 2001. Un alimento a tener en cuenta. Enfoque Alimentación, 5:56-65.
- McHugh, D. J.(ed.) 1987. Production and utilization of products from commercial seaweeds. FAO Fish. Tech. Pap. (Rome), 288, 148-158.
- Fajardo, M.A., 1999. Composición de las algas patagónicas y su aprovechamiento para la alimentación humana. Tesis. Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco.
- International Commission on Microbiological Specifications for Foods (I.C.M.S.F.), 1980. "Microorganismos de los alimentos: Técnicas de análisis microbiológicos", Acribia, ( Zaragoza, España), I, 113-280.
- APHA, AWWA, WEF., 1994. "Standard Methods for the examination of water and wastewater". Franson M.A. (ed), American Public Health Assoc., (Washington, D.C.), 9.53-9.132.
- Dawson-Saunders, B. y Trapp, R., 1994. "Bioestadística médica. El manual moderno", (México).
- Sugano, Y.; Terada, I.; Masotochi, A.; Masaua, N. and Matsumoto, T., 1993. Purification and characterization of a new agarase from a marine bacterium, *Vibrio sp.* strain JT 0107. Appl. Environ. Microbiol. 59: 1549-1554.
- Smibert, R.M. and Krieg, N.R., 1981. General characterization. In: "Manual of methods for general bacteriology". Edited by Gerhardt P., R.G.E. Murray, R.N. Costilow, E.W. Nester, W.A. Wood, N.R. Krieg and G.B. Phillips. American Society for Microbiology. (Washington D.C.), 409-443.
- Oliver, J., 1982. Taxonomic scheme for the identification of marine bacteria, Deep-sea Res., 29:795-798.
- Palleroni, N.J., 1984. Family I. Pseudomonadaceae. In: "Bergey's manual of systematic bacteriology", N.R. Krieg and J.G. Holt (eds), Williams and Wilkins Co., (Baltimore), I; 140-218.
- Bowman, J.P. McCammon, S.; Brown, M.; Nichols, D. and McMeekin, T., 1997. Diversity and association of psychrophilic bacteria in Antarctic sea ice. Appl. Environ. Microbiol., 63:3068-3078.
- Wiebe, W.J.; Sheldon, J.R. and Pomeroy, L.R., 1992. Bacterial growth in the cold: evidence for an enhanced substrate requirement. Appl. Environ. Microbiol., 58:359-364.
- Dawes, C.J., 1981. Marine Bacteria. In "Marine Botany". Edited by Wiley J. & sons, Inc. (New York, U.S.A.), 587-607.
- Baumann, L.; Baumann, P.; Mandel, M. and Allen, R.D., 1972. Taxonomy of aerobic marine eubacteria. J. Bacteriol., 110:402-429.
- Horsley, R.W., 1977. A review of the bacterial flora of teleosts and elasmobranchs, including methods for its analysis. J. of Fish Biology., 10:529-553.
- Monticelli, L. y Costagliola, M., 1989. Estudio bacteriológico de la merluza (*Merluccius hubbsi*) capturada en la zona común de pesca Argentino-Uruguaya y de su ambiente. Publ. Com. Téc. Mix. Fr. Mar., 5:87-94.
- Oliver, J. and Smith, E., 1982. Intestinal microflora of deep-sea animals: a taxonomic study, Deep-sea Res., 29:785-794.

20. Vasquez, S.C.; Rios Merino, L.N.; MacCormack, W.P. and Fraile, E.R., 1995. Protease-producing psychrotrophic bacteria isolated from Antarctica. *Polar Biol.*, **15**:131-135.
21. Vasquez, S.C.; Mac Cormack, W.P. and Fraile, E.R., 1998. Protease-producing psychrotrophic antarctic bacteria. *The Potter Cove Ecosystem – Synopsis*, 204-211.
22. Morita, R., 1975. Psychrophilic Bacteria. *Bacteriol. Rev.*, **39**:144-167.
23. Stainer, R.Y.; Ingraham, J.L.; Wheelis, M.L. and Painter, P.R., 1988. In: "Microbiología". Reverté S.A., (Barcelona, España), 218-219.
24. Caria, M. A. y Casellas, J.M., 1971. Bacterias marinas heterótrofas aerobias aisladas del Mar Argentino. I. Distribución y grupos fisiológicos. *Asociación Argentina de Microbiología*, **3**:36-45.
25. Caria, M. A. y Casellas, J.M., 1971. Bacterias marinas heterótrofas aerobias aisladas del Mar Argentino. II. Taxonomía y nutrición. *Asociación Argentina de Microbiología*. **3**:46-57.
26. Feller, G.; Narinx, E.; Arpigny, J.L.; Aittaleb, M.; Baise, E.; Genicot, S. and Gerday, Ch., 1996. Enzymes from psychrophilic organisms. *FEMS Microbiol. Rev.*, **18**:189-202.
27. Llobet-Brossa, E.; Rosselló-Mora, R. and Amann, R., 1998. Microbial community composition of wadden sea sediments as revealed by fluorescence in situ hybridization. *Appl. Environ. Microbiol.*, **64**:2691-2696.
28. Elena, B. y Monticelli, L., 1998. Estudio taxonómico y ecológico de las bacterias marinas de la Antártida. *Publ. Com. Téc. Mix. Fr. Mar.*, **17**:97-106.