

Evaluación de la contaminación bacteriana del Río Alto Ubaté sobre la cepa transgénica TJ356 de *Caenorhabditis elegans* como bioindicador ecotoxicológico

Autoras:

María Susana Pinzón Prada,
Ruth Mélida Sánchez Mora,
Johanna Lizeth González Devia.

1. Introducción

La contaminación del agua representa una crisis global que compromete la salud humana, animal y ambiental [1]. En Colombia, la Comisión de Regulación de Agua Potable y Saneamiento [2], estimó que más de 13 millones de personas no tienen acceso a agua apta para consumo humano. El Río Alto Ubaté en Cundinamarca es una fuente vital de agua para varias comunidades y está gravemente afectado por actividades agrícolas, ganaderas, mineras e industriales que lo contaminan [3]. Un informe de la Corporación Autónoma Regional de Cundinamarca (CAR) reveló que entre 2010 y 2019 los niveles de coliformes totales en el río solo cumplieron los estándares en un 49.3 % de las mediciones, indicando un riesgo considerable para la salud pública [3].

Dada la complejidad y los altos costos de los métodos convencionales de monitoreo de la calidad del agua, el nemátoide *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) ha emergido como un bioindicador ecotoxicológico ideal [4]; específicamente, la cepa transgénica TJ356 es altamente sensible a los contaminantes y permite estudiar la activación de genes relacionados con el estrés celular, así como cambios fenotípicos [5].

C. elegans es un nemátoide de vida libre con un ciclo de vida rápido, fácil cultivo, genoma completamente secuenciado, y es un modelo crucial para estudios ecotoxicológicos y de interacciones hospedero-microbio, dada la similitud de muchas de sus proteínas con las humanas [6]. La cepa TJ356 es fundamental ya que fusiona la proteína verde fluorescente (GFP)

con DAF-16 (DAF-16::GFP), un factor de transcripción que regula la respuesta al estrés celular y la longevidad. Esta fusión permite visualizar la localización de DAF-16 en respuesta al estrés. De este modo, el presente estudio tiene como objetivo determinar el efecto de las bacterias contaminantes presentes en el Río Alto Ubaté sobre la cepa transgénica TJ356 de *C. elegans*, un organismo ampliamente utilizado como bioindicador de toxicidad.

2. Metodología

Se aplicaron protocolos del Semillero de Biotecnología y Genética de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca (UCMC), junto con literatura científica. Se tomaron dos muestras compuestas de agua en sector "El Guacal" del Río Alto Ubaté según directrices del Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales (IDEAM) [7] y de la Corporación Autónoma Regional de las cuencas de los ríos Negro y Nare (CORNARE) [8]. El análisis fisicoquímico del agua superficial incluyó parámetros como turbidez, pH, cloruros, alcalinidad, fosfatos, nitritos y nitratos, mediante técnicas instrumentales y colorimétricas. El análisis bacteriológico se realizó mediante siembra de la muestra de agua superficial en medios selectivos, posteriormente se aislaron bacterias predominantes y se realizó la identificación mediante tinción de Gram y con el sistema automatizado de MicroScan.

Para los ensayos fisiológicos y citotóxicos, las cepas de *C. elegans* N2 (silvestre) y TJ356 (transgénica) se cultivaron en medio Nematode Growth Medium (NGM) y se sincronizaron. Se realizaron ensayos de longevidad, reproducción y localización de DAF-16 en TJ356 con microscopía de fluorescencia. Las bacterias se ajustaron a concentraciones estándar. La producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) se midió con H₂DCFDA en placas de 96 pozos y lector Varioskan LUX. Los análisis estadísticos incluyeron ANOVA, pruebas post hoc (Dunnett, Tukey) y Kaplan-Meier con Log-rank en GraphPad Prism 8.0.2.

3. Resultados

Las muestras tomadas en "El Guacal" revelaron valores aceptables de pH (7,5), cloruros (11,52 mg/L) y

alcalinidad (18 mg/L). Sin embargo, la turbiedad (90,83 NTU) superó el límite permitido (10 NTU), y se detectó la presencia de nitritos y fosfatos, compuestos no permitidos en agua para potabilización de acuerdo con los decretos 1594 de 1984 del Ministerio de Agricultura, que regula los usos del agua y los residuos líquidos, y 2105 de julio 26 de 1983 del Ministerio de Salud, referente a la potabilización del agua para consumo humano [9,10].

Se aislaron las colonias con crecimiento predominante en los medios de cultivo y se identificaron como *E. coli*, *A. caviae*, *A. lwoffii*, *P. fluorescens*, *K. oxytoca*, *Staphylococcus*, *Micrococcus* y *Bacillus*. Por revisión bibliográfica no se tuvo en cuenta la alimentación de las bacterias Gram positivas en el nematodo. Se realizó un primer ensayo de longevidad con la cepa N2 alimentada con las cinco bacterias Gram negativas aisladas, de las cuales solo *E. coli* y *A. lwoffii* lograron reducir significativamente la longevidad media del nematodo a 15 días, en comparación con el control (*E. coli* OP50) que tuvo una vida media de 21 días ($P < 0,001$). Por esta razón, se seleccionaron las dos bacterias *E. coli* y *A. lwoffii* como alimento para los ensayos en la cepa TJ356, demostrando que ambas bacterias redujeron significativamente la longevidad y el número de progenie ($P < 0,0001$) en la cepa transgénica en comparación con el grupo control. Por otro lado, *A. lwoffii* indujo translocación nuclear de DAF-16 en el 80 % de los nematodos TJ356; en cambio, la alimentación con *E. coli* mantuvo DAF-16 en el citoplasma en el 87 % de ellos. La producción de ROS en ambos casos fue baja, indicando ausencia de estrés oxidativo. Estos datos confirman el uso de *C. elegans* como bioindicador ecotoxicológico eficaz.

4. Conclusiones

La presencia de bacterias Gram negativas como *E. coli*, *P. fluorescens*, *A. lwoffii*, *A. caviae* y *K. oxytoca* en el Río Alto Ubaté evidencia contaminación por descargas humanas y agroindustriales, lo que implica riesgos para la salud pública y ambiental.

La exposición de *C. elegans* TJ356 a *E. coli* y *A. lwoffii* redujo significativamente la longevidad y reproducción sin aumentar ROS, lo que apunta a mecanismos de toxicidad distintos al estrés oxidativo. La activación

diferencial de DAF-16 evidencia rutas de respuesta específica frente a cada bacteria.

El uso de *C. elegans* TJ356 demostró ser una herramienta sensible y complementaria en el monitoreo en tiempo real del efecto de la contaminación bacteriana en cuerpos hídricos; su disponibilidad, fácil manejo y bajo costo hacen al nematodo una buena alternativa en estudios de ecotoxicología acuática en comparación con otros modelos biológicos.

Finalmente, la implementación de su uso en el monitoreo y evaluación de la calidad del agua es una estrategia que puede apoyar decisiones en gestión del recurso hídrico y planes de saneamiento.

Referencias

1. Organización Mundial de la Salud [Internet]. Agua para consumo humano. OMS, 13 de septiembre de 2023. Centro de prensa/Notas descriptivas/ Detalle. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/drinking-water>
2. Comisión de Regulación de Agua Potable y Saneamiento Básico [Internet]. Más de 13 millones de usuarios sin acceso a agua. Girardot: CRA, 2 de agosto de 2024. Noticias. Disponible en: <https://www.cra.gov.co/prensa/noticias/mas-13-millones-usuarios-sin-acceso-agua>
3. Sanabria L, Villamil R, Ortiz H, Galindo O, Cortés J, Vargas C, et al. Estado del Recurso Hídrico en la Cuenca del Río alto Suárez Jurisdicción CAR Cundinamarca. CAR. 2023.
4. Ríos-Tobón S, Agudelo-Cadavid RM, Gutiérrez-Builes LA. Patógenos e indicadores microbiológicos de calidad del agua para consumo humano. Rev. Fac. Nac. Salud Pública. 2017;35(2):236-247. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/318842980_Patogenos_e_indicadores_microbiologicos_de_calidad_del_agua_para_consumo_humano
5. Clavijo A, Kronberg MF, Rossen A, Moya A, Calvo D, Salatino SE, Pagano EA, Morábito JA, Munarriz ER. The nematode *Caenorhabditis elegans* as an integrated toxicological tool to assess water quality

and pollution. *Sci Total Environ.* 2016 Nov 1;569-570:252-261. Doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.06.057.

5. Kurz CL, Tan M. Regulation of aging and innate immunity in *C. elegans*. *Aging Cell* [Internet]. 9 de julio de 2004;3(4):185-193. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1474-9728.2004.00108.x>

6. Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales [Internet]. Instructivo de Toma y Preservación de Muestras Sedimentos y Agua Superficial para la Red de Monitoreo de Calidad del IDEAM. 2020. Disponible en: https://ideam.gov.co/sites/default/files/mapa-de-procesos/m-s-lc-i004_instructivo_de_toma_y_preservacion_de_muestras_sedimentos_y_agua_superficial_para_la_red_de_monitoreo_de_calidad_del_ideam_v3.pdf

7. Corporación Autónoma Regional de las Cuencas de los Ríos Negro y Nare -CORNARE [Internet].

Instructivo Recolección Muestras de Agua. 2014. Disponible en: https://www.cornare.gov.co/laboratorio/I-MA-01_Recolección_Muestras_de_Agua_V.05.pdf

8. Ministerio de Agricultura. Decreto 1594 de 1984: Por el cual se reglamenta parcialmente el Título I de la Ley 9 de 1979, así como el Capítulo II del Título VI – Parte III – Libro II y el Título III de la Parte III Libro I del Decreto 2811 de 1974 en cuanto a usos del agua y residuos líquidos. Bogotá: D. O. 36700. 23 de julio de 1984.

9. Ministerio de Salud. Decreto 2105 de 1983: Por el cual se reglamenta parcialmente el Título II de la Ley 9 de 1979 en cuanto a potabilización del agua. Bogotá: D. O. 36320. 23 de agosto de 1983.