



DE LA BIOESTIMULACION EN LOTE A LA METATRANSCRIPTOMICA: DISEÑO DE ESTRATEGIAS DE BIORREMEDIACIÓN DE UN SITIO CONTAMINADO POR Cr(VI) EN LEÓN GUANAJUATO.

Fanny Flores, Italia Moreno, Paloma Lara, Bianca Flores, Enrique Morett and Katy Juárez.
Instituto de Biotecnología, UNAM, Av. Universidad 2001, Chamilpa, Cuernavaca, Mor. CP 62210.
Palabras clave: Bioestimulación, reducción de cromato, diversidad microbiana.

Introducción. El cromo hexavalente es un agente peligroso oxidante, mutagénico y teratogénico, altamente tóxico tanto para organismos eucariotes como procarotes. Su presencia en suelos y acuíferos es resultado principalmente de actividades humanas. Microorganismos filogenética y metabólicamente diversos han desarrollado mecanismos de resistencia a altas concentraciones de Cr(VI), principalmente a través de bombas de flujo y mediante la reducción a Cr(III) el cual es menos tóxico, menos soluble e impermeable a las membranas celulares (1, 2). Estos microorganismos tienen un papel fundamental en los procesos de atenuación natural y pueden ser utilizados en procesos de biorremediación de ambientes contaminados por Cr(VI) como una herramienta biotecnológica segura y barata en comparación con los métodos fisicoquímicos tradicionales. Sin embargo, para poder desarrollar estrategias de bioremediación es necesario el estudio de aspectos básicos, como son la diversidad microbiana y los mecanismos de resistencia y reducción tanto de microorganismos aislados como de la población total a través de estudios de metatranscriptómica.

Objetivos: Evaluación de la eficiencia de diversos donadores de electrones como acetato y melazas, para promover la reducción de Cr(VI) en ensayos en lote con muestras de un suelo contaminado proveniente de un sitio del Estado de Guanajuato, México. Así como el monitoreo de cambios en la diversidad microbiana durante la reducción de Cr(VI). Aislamiento de microorganismos reductores de Cr(VI) provenientes de un acuífero del sitio contaminado, para posteriores procesos de bioaugmentación.

Metodología. Se realizaron ensayos de bioestimulación en lote bajo condiciones aeróbicas, anaeróbicas y microaerofilia con acetato y melazas como donadores de electrones. Durante los ensayos se realizó el monitoreo de la concentración de Cr(VI) y el consumo del donador de electrones. Adicionalmente se extrajo DNA para el estudio de los cambios en la comunidad microbiana y se realizó el aislamiento y caracterización de microorganismos después de la bioestimulación. Por otra parte se realizaron ensayos piloto *in situ* de bioestimulación con melazas, los cuales fueron muestreados para determinar la eficacia del proceso y

para realizar la extracción de RNA para los análisis metagenómicos.

Resultados. El acetato y melazas mostraron una alta eficiencia como donadores de electrones en la bioestimulación y la reducción microbiana de Cr(VI). Se aisló un microorganismo a partir de las muestras bioestimuladas con acetato, este fue identificado como *Halomonas* sp. y es altamente resistente a Cr(VI), Sin embargo no es reductor de Cr(VI) bajo las condiciones ensayadas. Durante la bioestimulación *in situ* con melazas la concentración de Cr(VI) disminuyó de 7735 mg/Kg de suelo a una concentración de 1114 mg/kg de suelo en un lapso de 15 días. A partir de muestras del ensayo piloto se están estandarizando protocolos de purificación de RNA para estudios metagenómicos. Además se aislaron 15 diferentes microorganismos a partir de una muestra del acuífero contaminado del Phylum Proteobacteria, Firmicutes y Actinobacteria resistentes a 20mM de Cr(VI). Entre ellos destacó uno identificado como *Klebsiella pneumoniae* que presenta una notable capacidad de reducir Cr(VI) bajo condiciones anaeróbicas y sus sistemas de resistencia y reducción están siendo caracterizados.

Conclusiones. Los ensayos piloto, tanto en lote como *in situ*, indican que la bioestimulación con melazas es una estrategia eficaz para llevar a cabo la biorremediación de este sitio. Se lograron aislar microorganismos reductores de Cr(VI) del acuífero, lo cual nos indica que la bioestimulación en este ambiente también podría ser posible.

Agradecimientos. Este Proyecto fue financiado por PAPIIT IN208912.

Referencias.

- Cheung K., Gu J. (2007). Mechanism of hexavalent chromium detoxification by microorganisms and bioremediation application potential: A review. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 59(1): 8-15.
- Myers C., Myers J. (1992). Localization of Cytochromes to the Outer Membrane of anaerobically Grown *Shewanella putrefaciens* MR-1. *J. Bacteriol.* 174(11): 3429-3438.