



DINAMICA DE LA COMUNIDAD MICROBIANA NATIVA y ACTIVIDAD DESHIDROGENASA DE UN SUELO RECIEN CONTAMINADO E INTEMPERIZADO CON HIDROCARBUROS.

Jorge Ortiz Maya, Ildelfonso J. Díaz-Ramírez, Erika Escalante Espinosa, Hugo Ramírez-Saad. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. División Académica de Ciencias Biológicas.

Lab. de Bioprocesos. Edif. H. Villahermosa, Tabasco, México. C.P. 86039. E-mail: maya368@gmail.com.

Palabras clave: DGGE, Biorremediación, Secuenciación.

Introducción. La biorremediación se ha establecido como una de las alternativas de tratamiento para derrames de hidrocarburos más económica y versátil, pero para aplicarla de forma eficiente es necesario conocer las características físico-químicas y microbiológicas (actividad biológica y enzimática, riqueza y dinámica de las poblaciones predominantes) del sitio impactado (Neto *et al*, 2007). En el presente trabajo se determinó la composición de la comunidad de bacterias nativas, la actividad deshidrogenasa, así como la cinética poblacional a través del marcador molecular V6-V8 del gen 16S ribosomal (Díaz-Ramírez *et al*, 2008; Ding *et al*, 2011), bajo condiciones de bioestimulación e intemperización en un suelo artificialmente contaminado con hidrocarburos totales de petróleo.

Metodología. Se preparó una unidad experimental de suelo contaminado artificialmente con 30,000 mg Kg⁻¹ hidrocarburos totales de petróleo (HTP) con cuatro tratamientos: Suelo Recién Contaminado (SRC), Suelo Recién Contaminado y Bioestimulado (SRC-BE), Suelo Contaminado Esterilizado (SCE, tratado con NaN₃ 0.5%) y Suelo No Contaminado (SNC) como suelo control, más dos tratamientos intemperizados: SIC y SIC-BE. Los tratamientos fueron monitoreados durante 30 días y se determinó la enzima deshidrogenasa como indicador de la actividad biológica aerobia total, la cuantificación de microorganismos heterótrofos totales por cuenta en placa y la determinación de la estructura de la comunidad microbiana por análisis moleculares basados en la extracción de ADN metagenómico microbiano y DGGE del marcador molecular 16S rDNA V6-V8 y secuenciación de bandas predominante para identificación de poblaciones persistentes durante el proceso de biorremediación.

Resultados. Se observó un incremento inmediato de la actividad deshidrogenasa en el tratamiento SRC-BE, alcanzando su pico máximo en el día 28 (3,146.85 ug INF g⁻¹), mientras que el tratamiento sin bioestimar (SRC) incrementó su actividad hasta el día 21 del ensayo (1,160.19 ug INF g⁻¹). En los tratamientos intemperizados, la actividad biológica decayó en el suelo bioestimulado (1,896.96 µg INF g⁻¹, T=56 d), aunque continuó incrementándose en el tratamiento SIC. Se observó una relación positiva de la actividad deshidrogenasa con el número de UFC de microorganismos a lo largo del tiempo del ensayo, presentando la misma cinética de crecimiento (figura 1).

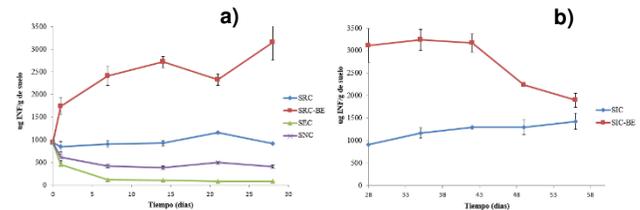


Fig. 1. Cinética de actividad deshidrogenasa en ensayo de degradación de HTP. a) Tiempo de monitoreo 1-28 días. ♦ SRC: Suelo Recientemente Contaminado, ■ SRC-BE: Suelo Recientemente Contaminado y Bioestimulado, ▲ SEC: Suelo Estéril Contaminado, x SNC: Suelo No Contaminado; b) tiempo de monitoreo 28-56 días. ♦ SIC: Suelo Intemperizado Contaminado, ■ SIC-BE: Suelo Intemperizado Contaminado y Bioestimulado.

En el análisis de huellas genómicas en los tratamientos SRC y SRC-BE, se pudo observar la presencia de una comunidad estable de microorganismos en el suelo recién contaminado, al presentarse 16 bandas diferentes, 11 de las cuales se encuentran en el suelo no contaminado. Entre las bandas aisladas y secuenciadas presentes en ambos tratamientos se han identificado poblaciones de *Pseudomonas sp.*, *Actinomyces sp.*, *Pusillimonas sp.*, *Nocardioides luteus* y *Bacillus cereus*, las cuales se han reportado en suelos contaminados con petróleo.

Conclusión. La medición de la actividad deshidrogenasa permitió observar las diferencias en la actividad biológica global bajo diferentes condiciones de tratamiento, lo cual constituye una valiosa herramienta de monitoreo en el proceso de biorremediación. El análisis de la comunidad microbiana por herramientas moleculares demostró que existe potencial de recuperación natural en suelos tabasqueños al presentarse más del 50% de la comunidad nativa en los tratamientos contaminados, muchas de las poblaciones participando activamente en la degradación de hidrocarburos.

Agradecimientos. Al CONACYT por la financiación del proyecto de Investigación Científica Básica "Evaluación de la actividad microbiana y composición de la comunidad nativa en función de la presencia de diferentes tipos de hidrocarburos en suelos tropicales", No de solicitud: 181371.

Bibliografía.

- (1) Neto, M., Ohannessian, A., Delolme, C., Bedell, J. (2007) *J. Soils Sediments*. 7 (2) 101 – 110.
- (2) Díaz-Ramírez, I., Escalante-Espinoza, E., Favela-Torres, E., Gutierrez-Rojas, M., Ramirez-Saad, H. (2008). *Int. Biodet. Biodeg.* (62) 21-30.
- (3) Ding, L., Zhou, Q., Wang, L., Zhang, Q. (2011). *Afr. J. Biotechnol.* 10 (4) 589-600.