



AISLAMIENTO Y SELECCIÓN DE MICROORGANISMOS CAPACES DE BIODEGRADAR ATRAZINA

¹Angélica Tafoya Garnica, ²Alberto Macías Flores, ²María Elena Mondragón Parada, ²Patricia Galíndez Nájera, ³Nora Ruiz Ordaz, ⁴Juvencio Galíndez Mayer.

Departamento de Ingeniería Bioquímica, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional. Carpio y Plan de Ayala S/N, México, D.F. CP 11340, 57296000 Ext. 62352, cmayer@encb.ipn.mx

¹Becaria CONACYT; ²Becarios PIFI-IPN; ³Becarios COFAA, EDD y SNI

Introducción. Uno de los problemas prioritarios de nuestro tiempo sólo después del relativo a la disponibilidad de agua potable es el del abastecimiento de alimentos. Por este motivo, la agricultura se ha ubicado como componente dominante de la economía mundial y ha provocado que las prácticas agrícolas en todo el mundo se modifiquen. Con el incremento en la producción agrícola, simultáneamente se incrementó el consumo de pesticidas, según informes de la EPA, en 1999 en el sector agrícola se utilizaron más de 12 300 millones de toneladas en todo el mundo, aproximadamente el 40% de dicha cantidad corresponde a herbicidas. La atrazina es el herbicida más utilizado actualmente en el mundo, es un compuesto orgánico de grupo de los herbicidas triazínicos y representa entre el 12 y 15% de todos los pesticidas empleados. Durante 1999 en Estados Unidos se utilizaron entre 163 000 y 176 000 toneladas de atrazina, en el resto del mundo el consumo de atrazina se estima en 38 millones de kilogramos al año. El uso de atrazina está prohibido en Italia, Alemania, Suecia, Países Bajos, Austria y Hungría y severamente restringido en el Reino Unido, dada su toxicidad para numerosas especies acuáticas y terrestres y por estar asociada a la presencia de diversos tipos de cáncer en humanos. Dadas las características químicas de la atrazina, es factible su biodegradación, ya que puede ser utilizada como fuente de nitrógeno por algunos microorganismos.

Este trabajo tiene como objetivo el aislamiento de microorganismos con capacidad de utilizar atrazina como única fuente de nitrógeno, así como la identificación de los microorganismos aislados.

Metodología. Se preparan medios de cultivo de composición variada, que contienen como única fuente de nitrógeno la atrazina, con y sin fuente de carbono alterna. Se recolectan muestras de suelo agrícola de sitios en los que se practique la aplicación de este herbicida y se siembran en dichos medios, realizando transferencias consecutivas para enriquecimiento del medio y se selecciona el medio que presente mejor crecimiento para la propagación de los microorganismos. Mediante siembra en placa se aíslan los microorganismos obtenidos, se extrae su DNA y se amplifica la región variable del DNA que codifica para el rRNA 16S. Se lleva a cabo la secuenciación de bases de los productos de amplificación y las secuencias se comparan con secuencias conocidas de la base de datos del *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) en el programa BLAST (Basic Local Alignment Search Tool). La eficiencia de remoción de atrazina se evalúa mediante técnicas de HPLC y simultáneamente, se llevan a cabo ensayos enzimáticos para la determinación de glucosa en el medio.

Resultados y discusión. Mediante la siembra de las muestras de suelo agrícola en 6 medios de cultivo de diferente composición, con atrazina como fuente de nitrógeno, se llevó a cabo el aislamiento de los microorganismos. Las concentraciones de atrazina utilizadas en los diferentes medios fueron 22, 50 y 100 ppm, con y sin glucosa como fuente alterna de carbono, presentándose mejor crecimiento en los medios con 100 ppm de atrazina y con glucosa. En los medios de cultivo sin glucosa, no hubo crecimiento apreciable, lo cual indica que la atrazina es utilizada por los microorganismos como fuente de nitrógeno y requieren una fuente de carbono adicional. Los microorganismos del cultivo mixto obtenido se aislaron mediante siembra en placa y se identificaron mediante amplificación y secuenciación de bases. Los microorganismos identificados fueron: *Microbacterium testaceum*, *Ornithinimicrobium* sp., *Xantomonas* sp., *Massilia* sp., *Klebsiella oxytoca* y *Sphingomonas* sp. La eficiencia de remoción de atrazina evaluada por HPLC, es mayor al 99%, por otra parte los ensayos para la determinación de glucosa mostraron que los microorganismos consumen eficientemente la glucosa, ya que esta desaparece del medio.

Conclusiones. Los microorganismos aislados son capaces de utilizar eficientemente a la atrazina como fuente de nitrógeno, pero requieren una fuente de carbono alterna. Concentraciones altas de atrazina permiten un mejor crecimiento de los microorganismos.

Agradecimientos. A CONACyT, CGPI, PIFI y COFAA, por los apoyos económicos brindados para la realización de este trabajo.

Bibliografía.

1. Donaldson, D., Kiely, T., Grube, A. 2002. "Pesticides Industry Sales and Usage. 1998 and 1999 Market Estimates". Biological and Economic Analysis Division Office of Pesticide Programs, Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances. U.S. EPA.
2. De Souza, M., Newcombe, D., Alvey, S., Crowley, D., Hay, A., Sadowsky, M., and Wackett, L. 1998. "Molecular Basis of a Bacterial Consortium: Interspecies Catabolism of Atrazine". *Applied and Environmental Microbiology*. 64(1):178-184.
3. De Souza, M., Seffernick, J., Martínez, B., Sadowsky, M. and Wackett, L. 1998. "The Atrazine Catabolism Genes atzABC are widespread and highly conserved". *Journal of Bacteriology*. 180(7):1951-1954.