

“AISLAMIENTO, IDENTIFICACIÓN Y EVALUACIÓN DE MICROORGANISMOS CAPACES DE DEGRADAR SIMACINA EN UN SISTEMA CONTINUO HETEROGÉNEO”

Mondragón Parada María Elena, Oswaldo Ramos Monroy; Francisco Romano Baez; Cleotilde Juárez Ramírez, Nora Ruiz Ordaz, Juvencio Galíndez Mayer. ENCB-IPN. Prol. Carpio y plan de Ayala. D. F. 11340. Fax: 53963503. cmayer@encb.ipn.mx. Palabras clave: simacina, biodegradación, cultivo.

Introducción. La simacina es uno de los herbicidas más ampliamente utilizados en todo el mundo, se estima que sólo en los E. U., se emplean anualmente siete millones de libras de ingrediente activo [1]. Este herbicida es uno de los principales contaminantes de las aguas superficiales y subterráneas en los E. U. y en los países en desarrollo como es el caso de México [2]. La USEPA ha documentado que la simacina es tóxica para numerosas especies acuáticas, en niveles desde 0.5 µg/L.

Con la finalidad de disminuir el problema de la contaminación de los cuerpos de agua, se propuso el aislamiento, identificación y evaluación de una población microbiana, capaz de degradar simacina en un bioreactor de lecho empacado.

Metodología. Para el aislamiento de microorganismos capaces de degradar simacina, muestras de sedimento lacustre y suelo agrícola, fueron sembradas en medio mínimo mineral con 0.05 g/L de simacina como única fuente de carbono y nitrógeno. Para enriquecer la población degradadora de simacina se utilizó la técnica convencional de transferencias sucesivas. La población microbiana aislada mediante la técnica de enriquecimiento fue inoculada en un quimiostato, para la selección de los microorganismos más capaces de degradar simacina. Los microorganismos seleccionados fueron inmovilizados en piedra volcánica (tezontle), para evaluar la remoción de simacina en un reactor de lecho fijo de varias etapas. La concentración de simacina, en el medio de cultivo y en las muestras obtenidas durante los cultivos, fue evaluada por el espectro de absorción UV y por HPLC. La biomasa fue evaluada por UFC/mL. Para evaluar la diversidad poblacional en el cultivo continuo se extrajo el DNA de la población, se amplificó un fragmento del 16S rDNA mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y se llevó a cabo una electroforesis con gradiente de temperatura (TGGE).

Resultados y discusión. En el proceso de selección de los microorganismos más capaces de degradar simacina se llegó a la estabilidad a los 20 días de cultivo con una eficiencia de remoción de simacina del 94%.

Al evaluar la diversidad poblacional del cultivo continuo, mediante TGGE se separaron fragmentos de DNA con la misma longitud, pero con secuencias de bases distintas, generando un patrón único de identificación donde cada banda representa a cada microorganismo que conforma el cultivo. En la TGGE se obtuvieron ocho bandas lo que sugiere que la población degradadora de simacina está conformada por ocho microorganismos. Por lo anterior se procedió a la separación de las cepas por aislamiento en placas de agar nutritivo y se encontraron ocho morfologías coloniales diferentes. Para la identificación de los microorganismos aislados se procedió a la amplificación y secuenciación del 16S rDNA, identificándose ocho cepas correspondientes a los géneros *Mycobacterium*, *Cellulomonas*, *Arthrobacter*, *Microbacterium*, *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Ochrobactrum* y *Pseudonocardia*. Al

identificar la banda que corresponde a cada cepa por TGGE y el análisis del DNA de la población a diferente tiempo de cultivo por la misma técnica, permitió observar la variación de la diversidad de la población durante el cultivo. Figura 1.

C1 C2 C3 1 2 3 4 5 6 7 8

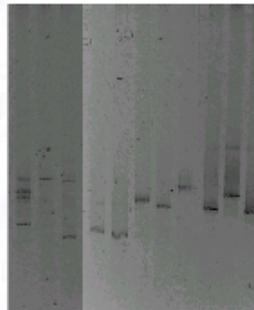


Figura 1. Electroforesis con gradiente de temperatura de las muestras del cultivo continuo tomadas a diferentes tiempos y la banda correspondiente para cada una de las cepas identificadas. C1: 1 mes; C2: 2 meses; C3: 3 meses; 1. *Mycobacterium*; 2. *Cellulomonas*; 3. *Arthrobacter*; 4. *Microbacterium*; 5. *Rhizobium*; 6. *Ochrobactrum*; 7. *Pseudomonas*; 8. *Pseudonocardia*.

La remoción de la simacina en el reactor de lecho fijo, empacado con piedra volcánica como soporte, fue del 100% a las diferentes velocidades de dilución probadas. Figura 2.

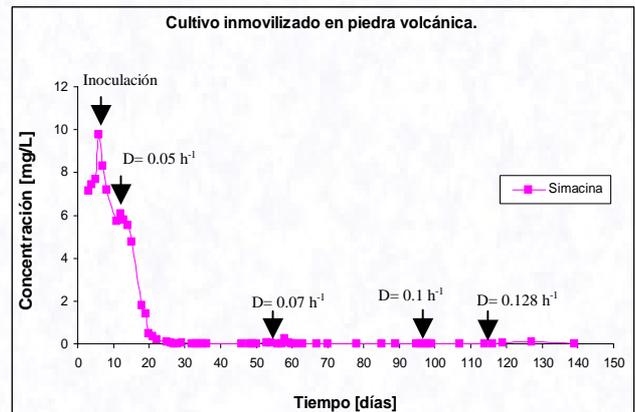


Figura 2. Evaluación de la concentración de simacina por HPLC, en el cultivo inmovilizado en piedra volcánica.

Conclusiones.

- La población microbiana aislada es capaz de degradar simacina como fuente de carbono y nitrógeno, con una eficiencia de remoción mayor al 90 %, en el cultivo continuo con células en suspensión.
- Se identificaron ocho cepas bacterianas integrantes de la población capaz de degradar simacina. Éstas corresponden a los géneros *Pseudomonas*, *Ochrobactrum*, *Rhizobium*, *Microbacterium*, *Mycobacterium*, *Cellulomonas*, *Arthrobacter* y *Pseudonocardia*.
- La remoción de la simacina en el reactor de lecho fijo de varias etapas fue del 100% a las velocidades de dilución probadas.

Agradecimientos. A SIP, PIFI Y COFAA del IPN.

Bibliografía.

- [1] Donaldson, D. K. & A. Grube. 2004. Pesticidas Industry Sales and Usage.
- [2] U. S. Environmental Protection Agency (EPA). 2004. Factsheet on: Simazine.