



# XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



## EFFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE HIDROCARBUROS E INOCULACIÓN DE MICROORGANISMOS DEGRADADORES SOBRE LA ACTIVIDAD LIPASA Y DESHIDROGENASA DURANTE LA BIODEGRADACION EN SUELO

Ildefonso J. Díaz-Ramírez, Samantha Priego-Rangel, Reina L. Focil-Monterrubio, Erika Escalante-Espinosa. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, División Académica de Ciencias Biológicas. Carr. Villahermosa-Cárdenas Km 0.5, Villahermosa, Tabasco, México. C.P. 86039. e-mail: ildefonso.diaz@dacbiol.ujat.mx  
Palabras clave: hidrocarburos, bioaumentación, actividad microbiana.

**Introducción.** Muchas de las alternativas tecnológicas dedicadas a la restauración de los suelos contaminados con hidrocarburos, se basan en incrementar el potencial de biodegradación (1). Entre los parámetros útiles para valorar el potencial de biodegradación destacan: la determinación del número de microorganismos, la biodegradación (2); así como la detección de actividades enzimáticas (3). Los ensayos enzimáticos (deshidrogenasa, lipasa o de la fosfatasa), reflejan la actividad metabólica de la comunidad microbiana. En el presente trabajo se evaluó el efecto de diferentes concentraciones de hidrocarburos y bioaumentación sobre la actividad de la lipasa y deshidrogenasa, como indicadores de la biodegradación.

**Metodología. Inóculo utilizado.** Se preparó un co-cultivo (CC) estandarizado compuesto por cepas bacterianas degradadoras de hidrocarburos y dos cepas fúngicas aisladas previamente de la rizósfera de una planta nativa de un sitio altamente contaminado (4).

**Ensayos de biodegradación.** Se realizaron con suelo (400 g) contaminado artificialmente con petróleo crudo Olmeca (10, 20, 30 g HTP/Kg de suelo). Se probaron los siguientes tratamientos: a) suelo inoculado (SI), b) suelo no inoculado (SNI), c) suelo estéril inoculado (SE-bioaumentado). Se adicionó bagazo de caña como acondicionador orgánico (2%) y nutrientes (bioestimulación, C/N=7.5; %H a 60% de CC).

**Análisis.** Se determinó el número de degradadores de hidrocarburos (NMP); así como la biodegradación (%). En cuanto a la actividad microbiana, se determinaron las actividades enzimáticas: a) deshidrogenasa y b) lipasa (3).

**Resultados.** Después de 40 días de cultivo, se observaron diferencias significativas en la actividad enzimática, tanto para la lipasa (Fig.1), como para la deshidrogenasa. Para la primera, en el suelo bioaumentado los valores de actividad fueron 1.3 veces mayores con 30 g de HTP/Kg de suelo, respecto a los valores obtenidos con el suelo no inoculado. Esto significa un incremento respecto a la concentración de los hidrocarburos, y una mejora en relación a la presencia del co-cultivo. Estos datos son comparables a los reportados en (3), donde la actividad lipasa máxima se observó a la mayor concentración (diesel, 20 g/Kg de suelo). El mismo comportamiento se observó para el caso de la enzima deshidrogenasa (datos no mostrados). Durante los experimentos, el NMP de microorganismos

degradadores se mantuvo entre  $10^6$ - $10^7$  cel/ g de suelo, en el SI.

En un experimento independiente realizado con suelo esterilizado (SE) y no esterilizado (SNE); la biodegradación fue mayor en presencia del inóculo (entre 56% a 58%), respecto al suelo no bioaumentado (37% a 48%) después de 90 días de cultivo.

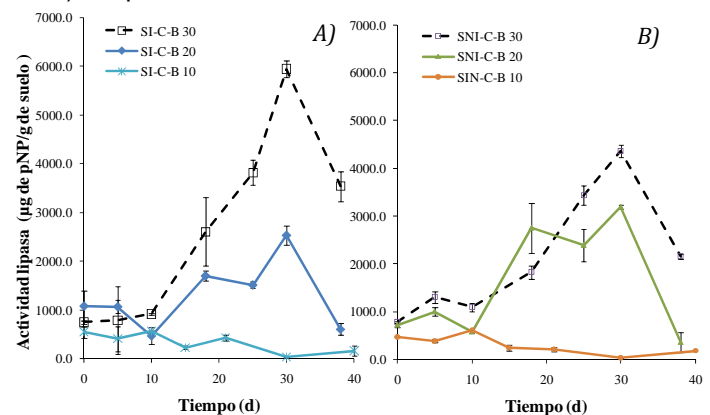


Fig. 1. Actividad lipasa durante el tratamiento de suelo contaminado con diferentes concentraciones de petróleo crudo Olmeca (10, 20, 30 g de HTP/Kg de suelo seco). A) Suelo inoculado, B) Suelo no inoculado.

**Conclusiones.** Se registró un aumento en la actividad de las enzimas lipasa y deshidrogenasa en relación al incremento en la concentración de los hidrocarburos, registrando valores elevados de biodegradación en presencia del co-cultivo. Los ensayos probados pueden usarse como indicadores, tanto en la detección del potencial de bioaumentación con inóculos estandarizados, como de la atenuación natural.

**Agradecimientos.** Este proyecto fue financiado por el Programa de Fomento a la Investigación y Consolidación de los Cuerpos Académicos (PFICA) de la UJAT (Proy. No. 20100819).

### Bibliografía.

- Gutiérrez-Rojas M. 2000. Increasing Bioavailability of recalcitrant Molecules in Contaminated Soils. En: Environmental Biotechnology and Cleaner Bioprocesses. Sánchez, G. Hernandez E. and Olguin E. J. (Eds). Ed. Taylor and Francis, London.
- Singh, A. y Ward, O. P. 2004. Biotechnology and Bioremediation – An Overview. En: Biodegradation and Bioremediation. Eds. Singh, A. y Ward. Ed. Springer. Germany. pp, 1-15.
- Margesin, R. 2005. Determination of Enzyme Activities in Contaminated Soil. En: Margesin, R. & Schinner, F. (Eds). Manual for Soil Analysis – Monitoring and Assessing Soil Bioremediation. Soil Biology, Vol 5. Springer, Germany. pp. 309-313, 316-319.
- Díaz-Ramírez, I. J., Gutiérrez-Rojas, M., Ramírez-Saad, H., y Favela-Torres, E., 2003. Biodegradation of Maya crude oil fractions by bacterial strains and a defined mixed culture isolated from *Cyperus laxus* rhizosphere soil in a contaminated site. Can. J. Microbiol. 49: 755-761.