



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



ESTUDIO DE LA DIVERSIDAD MICROBIANA DE UN SUELO CONTAMINADO CON DDT

Sylvie Le Borgne e Irmene Ortíz.

Departamento de Procesos y Tecnología. Universidad Autónoma Metropolitana-Cuajimalpa, México DF. México, 01120. e-mail: irmene@correo.cua.uam.mx

Palabras clave: DDT, bioestimulación, cosubstratos.

Introducción. El DDT [1,1,1-tricloro-2,2-bis(4-clorofenil)etano] es un pesticida organoclorado que actualmente se encuentra prohibido en muchos países y en otros, como México, su uso está restringido al combate de enfermedades como la malaria (1). Sin embargo, debido a su alta persistencia en el ambiente (>10 años) y su uso indiscriminado durante décadas, es posible encontrar todavía sitios impactados por este compuesto (2). Una de las técnicas para remediar estos sitios contaminados es la bioestimulación, mediante la adición de cosubstratos para favorecer la actividad de las poblaciones microbianas nativas.

En este trabajo se bioestimuló la población nativa de un suelo contaminado con DDT, mediante la adición de pequeñas cantidades de tolueno como cosubstrato y se estudió el efecto sobre la biodegradación del DDT, su mineralización y la diversidad de las poblaciones microbianas presentes en el suelo.

Metodología. La biodegradación del DDT fue estudiada en sistemas de microcosmos (125 ml) por triplicado. Se usaron 5 g de suelo contaminado con DDT (7.46 ± 0.66 mg/kg_{suelo seco}) y 10 ml de medio mineral (Triple 17 %, 0.6 g/l) y se adicionó tolueno como cosubstrato. Se corrieron controles sin la adición de cosubstrato. El DNA total fue extraído por triplicado en 250 mg de suelo usando un kit de aislamiento de DNA (MoBio Laboratories). Se amplificó la región V3-V5 del gene 16S rRNA bacteriano por PCR anidado para la evaluación de la diversidad de las poblaciones microbianas por electroforesis en gel por gradiente de desnaturalización (DGGE). La extracción y cuantificación de los pesticidas se llevaron a cabo mediante sonicación (método EPA 3350C) y por GC-ECD (método EPA 8081A), respectivamente (3-4). Mientras que la cuantificación de CO₂ y tolueno se realizó por cromatografía de gases con detector de conductividad térmica y de ionización de flama, respectivamente.

Resultados. La degradación de DDT después de 7 semanas de tratamiento con la adición semanal de tolueno (total adicionado 1.46 ± 0.25 mg_{carbono}/g_{suelo seco}) fue del 68% mientras que en el control (sin cosubstrato) fue de 23%. Se siguió la producción de CO₂ como una medida de la actividad microbiana, encontrando que se produjeron 13.9 ± 0.5 g/kg_{suelo seco} durante el experimento. Esta cantidad es superior a la teórica, considerando la respiración endógena y la mineralización completa del

cosubstrato. Lo cual sugiere la mineralización del DDT y no solo su biotransformación en metabolitos.

La estructura de las poblaciones microbianas fue evaluada por DGGE del suelo nativo (S), suelo con medio mineral como control (C) y el suelo tratado durante 7 semanas con tolueno (T).

La Figura 1 muestra los perfiles obtenidos. Todas las muestras generaron un patrón con 4-5 bandas prominentes. Las bandas A, B y C estuvieron presentes en todas las muestras. La intensidad de las bandas B y C sugieren que los microorganismos correspondientes son los dominantes mientras que la banda G aparece en el suelo tratado con tolueno.

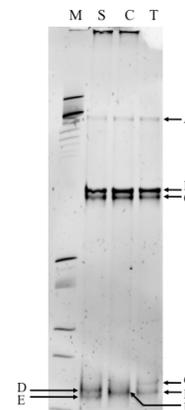


Fig. 1. Análisis de las poblaciones microbianas por DGGE. (M) marcador de 100 pb; (S) suelos nativo; (C) control; (T) suelo tratado con tolueno como cosubstrato. Bandas cortadas: A, B, C, D, E, F, F', G.

Conclusiones. En las poblaciones nativas del suelo sin tratar y del suelo control (sin cosubstrato) se observó una estructura de comunidad bacteriana única y dominante. Este patrón en las bandas se conservó y se observó la aparición de una banda en el suelo tratado con tolueno. Esta población puede asociarse a la mayor degradación de DDT cuantificada en la presencia del tolueno.

Agradecimiento. Este proyecto fue financiado por el proyecto SEP-PROMEP UAM-PTC-067.

Bibliografía.

1. Diario oficial de la Federación (DOF). Catálogo oficial de Plaguicidas. 19/agosto/1991.
2. Díaz-Barriga F., Borja-Aburto V., Waliszewski S, Yáñez L. (2003) DDT in Mexico. En: Fiedler H (Ed.) *The Handbook of Environmental Chemistry*. Springer-Verlag, Germany. 271-388.
3. US-EPA METHOD 3350C. February 2007. Ultrasonic extraction.
4. US-EPA METHOD 8081B. December 2007. Organochlorine pesticides by gas chromatography.