



DEGRADACIÓN BACTERIANA DE HIDROCARBUROS EN SUELOS CONTAMINADOS DE LA ZONA COSTERA MOA-HOLGUÍN MEDIANTE BIOMAGNIFICACIÓN

Autor del trabajo:

MSc. Asel Guilarte Gainza, Director del Centro de Estudios del Medio Ambiente, Universidad de Moa, Máster en Biotecnología Ambiental
email: aguilarte@ismm.edu.cu

1. Abstract

Oil pollution and industrial waste in coastal areas linked to the socioeconomic activities of port companies becomes an environmental problem affecting mangrove ecosystems and associated fauna. In this work soil samples were collected from areas contaminated with hydrocarbons and near storage tanks crude oil for insulating degradative strains. Four morphologically different bacterial strains were isolated (1A, 2B, 3C and 4D) and their ability hydrocarbon degradation was evaluated in microcosm. Using biomagnification technic in trials in microcosm, it was found that the 4D strain growth was better compared whit the other strains, and showed better rates of biodegradation and 3C. It was found that using bioaugmentation with native isolates can be achieved high rates of biodegradation.

2. Introducción

El uso de microorganismos como herramientas biocorrectoras se llevan empleando en la descontaminación de suelos y aguas alterados por compuestos orgánicos naturales y sintéticos (xenobióticos) desde hace varios años con importante éxito. Estas técnicas biológicas pueden ser de tipo aerobio, si se producen en condiciones aerobias, es decir en presencia de un medio oxidante, o bien de tipo anaerobio, en presencia de un medio reductor. Las técnicas de degradación biológica de contaminantes se fundamentan en la determinación de tipos de células, moléculas y rutas metabólicas empleadas por los organismos como estrategia para alcanzar el objetivo deseado; así como en las condiciones físicas, químicas y ambientales, ideales para el correcto funcionamiento de estas máquinas biológicas.

3. Objetivos

Con vista a la solución de estos problemas se propone como objetivo de la investigación:

- 1. Aislar e identificación de microorganismos nativos de la zona de estudio con amplias potencialidades para aplicar técnicas de biorremediación
- 2. Evaluar su capacidad de degradación y crecimiento en suelos contaminados con hidrocarburos en microcosmos.

4. Material y Métodos

Caracterización del área de estudio:



Figura 1. Imagen aérea del área contaminada con hidrocarburos (* fuentes contaminantes en la costa y zona de aislamiento de microorganismos)

Determinación de contenido de hidrocarburos:

% MOE= (P b+m – P bv) × 100

Donde:

P b+m es el peso del balón con materia orgánica luego de la destilación (g)

P bv es el peso del balón vacío (g)

Determinación de crecimiento de población heterótrofa en fuente de hidrocarburo (medio Vela):

A partir de cada una de estas muestras, se tomó 1 g de suelo que fue disuelto, con ayuda de un agitador magnético, en 10 mL de agua destilada estéril durante 15 min. Posteriormente, 1 mL de esta disolución fue añadida a 99 mL de Caldo Triptona Soya (CTS). Se realizaron diluciones seriadas decrecientes (10-1-10-10) en salina fisiológica estéril al 0,85% y las diluciones escogidas se sembraron mediante diseminación en placas petri que contenían Agar Triptona Soya (ATS), con ayuda de una espátula de Drigalsky. Las placas fueron incubadas a 30±5 °C, en posición invertida, durante 16-24h. Transcurrido este tiempo fueron contadas las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) y el resultado se expresó como UFC/mL.

Ensayos de degradación de hidrocarburos por las cepas aisladas utilizando microcosmos:

A partir de los resultados de MOE se escogió el suelo más contaminado para el desarrollo de esta técnica. Se colocaron 400 g del suelo contaminado con hidrocarburos (previamente esterilizado) en bandejas de aluminio de 80 cm x 40 cm y se homogenizaron las muestras y, posteriormente, se procedió a realizar los tratamientos con las cepas seleccionadas.

Las bacterias fueron cultivadas en CTS durante toda la noche (overnight) en agitación y a temperatura ambiente. Se ajustó la concentración del inóculo de cada cepa seleccionada a 106 UFC/mL, con ayuda del Patrón 5 de Mc Farland, utilizando salina fisiológica estéril al 0,85 %. Los cultivos fueron dispersados de manera homogénea sobre el suelo contenido en las bandejas, con ayuda de un atomizador.

Durante 8 semanas se tomaron muestras del suelo (1g) semanalmente para determinar la concentración bacteriana (UFC) y la MOE . La determinación de las UFC/mL se realizó según el procedimiento descrito anteriormente. Los ensayos se realizaron por triplicado.

5. Resultados y Discusión

Resultado de la caracterización físico-química de los suelos

	Suelo 1	Suelo 2	Suelo 3
Airea-	Hierro Ferroso	+	+
	Hierro Férrico	+	-
Capacidad de Campo (%)	68	56	61
pH	7.5	8.1	8.6
MOE (%)	59.8	72.4	81.6
Sólidos Totales (%)	62	73	86
Sólidos fijos (%)	31	44	57
Sólidos Volátiles (%)	24	32	42
Contenido de Humedad (%)	38	27	14
Conductividad eléctrica (µS)	152	174	201
Contenido de Nitrato (mg/L)	3.6	4.2	3,1
Contenido de Fosfato (mg/L)	1.3	1.1	0,3

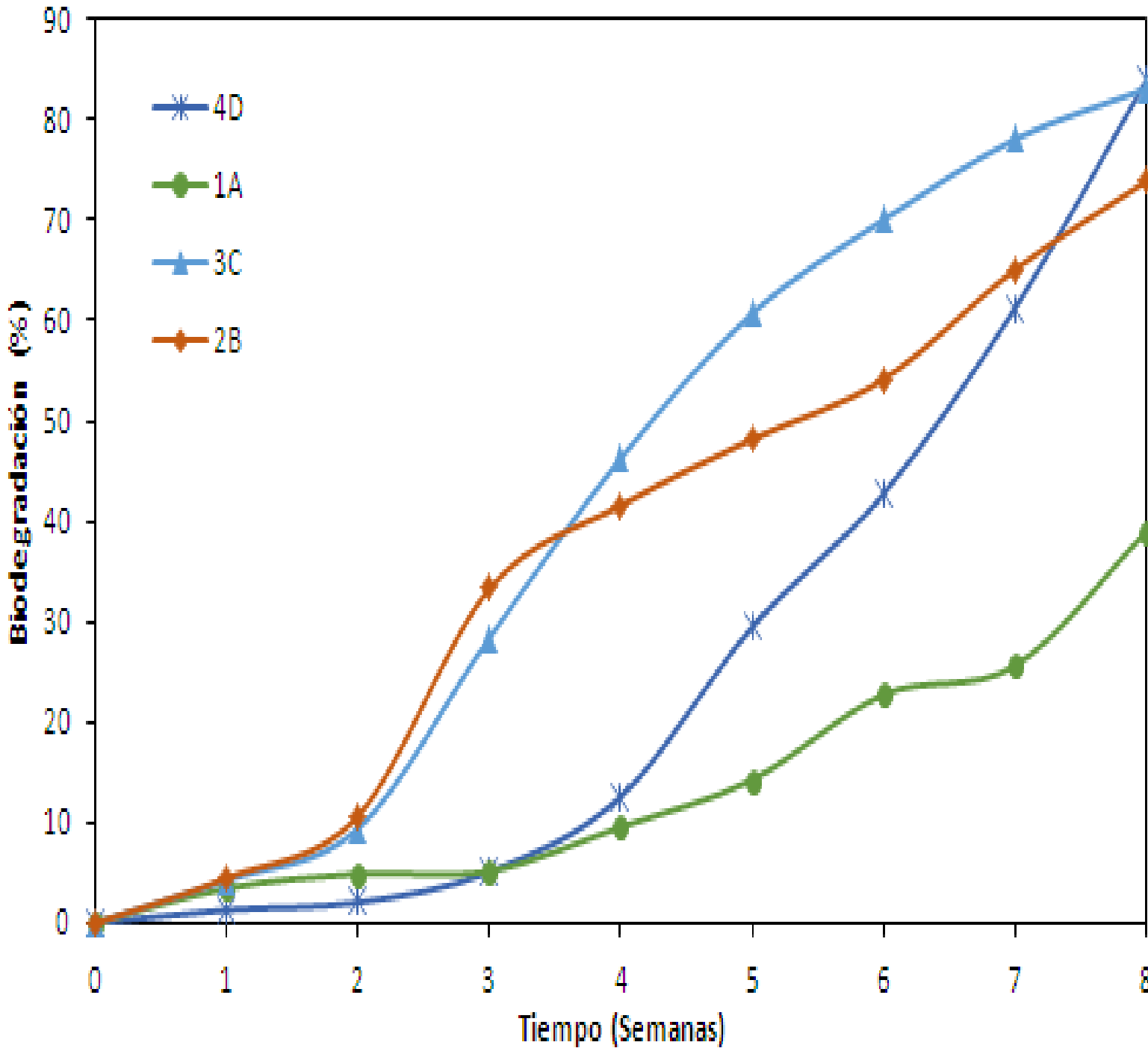
Características morfológicas de las colonias y células de las cepas bacterianas aisladas de los suelos contaminados con Hidrocarburos en la EPM

Cepas aisladas	Características de las colonias (Anexo XI)	Características de las células (Anexo XII)
1A	Forma circular y punteada con elevación plana y bordes liso.	Cocos Gram +
2B	Forma filamentosa con elevación convexa y de bordes ondulados.	Bacilos Gram+, algunos unidos formando largos filamentos
3C	Forma filamentosa con elevación convexa y de bordes también filamentosos.	Bacilos Gram+, esporulados (endospora central)
4D	Forma filamentosa con elevación convexa y de bordes ondulados.	Bacilos Gram+, algunos unidos formando largos filamentos

Crecimiento microbiano de las cepas 1A, 2B, 3C y 4D en las 8 semanas de tratamiento en microcosmos.

UFC/mL									
Ce- pas	Sem. 0	Sem.1	Sem.2	Sem.3	Sem.4	Sem.5	Sem.6	Sem.7	Sem.8
1A	20E+07	17E+08	23E+09	34E+10	34E+11	31E+12	20E+13	49E+15	39E+17
2B	24E+07	15E+08	13E+09	38E+10	36E+11	10E+12	11E+13	32E+15	17E+17
3C	26E+06	19E+08	74E+09	84E+10	62E+11	84E+12	88E+13	30E+16	45E+17
4D	24E+06	16E+08	54E+09	47E+10	77E+11	65E+12	33E+14	84E+16	65E+19

Porcentaje de biodegradación de hidrocarburos de las cepas 1A, 2B, 3C y 4D en las 8 semanas de tratamiento.



6. Conclusión

- 1. Los valores mostrados en la caracterización químico - física de los suelos de la Empresa Puerto Moa mostraron para algunos parámetros como nitrato y fosfato valores de calidad de suelo muy deprimidos (3.1 y 0.3 mg/L) respectivamente. El alto contenido de materia orgánica extraíble sumado a los porcentajes elevados de sólidos volátiles que se presentaron manifestó el nivel de contaminación por hidrocarburo que presentaban los suelos estudiados, caso particular el suelo 3 que resultó ser el más contaminado.
- 2. Se aislaron y seleccionaron 4 cepas bacterianas (1A, 2B, 3C, 4D) a las cuales la técnica de Tinción de Gram mostró microorganismos en su mayoría, bacilos Gram +, algunos con endosporas centrales y otros pudieron ser presuntivamente Actinomyces valorando su morfología. Solo la cepa 1A resulto ser un coco Gram +.
- 3. Se comprobó la capacidad biodegradadora de las cepas seleccionadas, pues al someterlas a los ensayos en microcosmos a razón de 8 semanas se obtuvieron porcentajes óptimos de consumo de hidrocarburo, en especial para la cepa 4D que consiguió un 84 %. Pero de forma integral la cepa que mejor degradó fue 3C que alcanzó un 83% como valor final, pero mostrando a las 5 semana el porcentaje de biodegradación más elevado en contraste a las demás cepas.