



RAPAL 2013

XXIV Reunión de Administradores de
Programas Antárticos Latinoamericanos

Tipo de Documento:	DI
Presentado por:	Ecuador
Tipo de Sesión:	CACAT
Punto de la Agenda	11.1

Biorremediación de hidrocarburos utilizando cepas antárticas.

Biorremediación de hidrocarburos utilizando cepas antárticas.

Miguel Gualoto¹

¹Programa Antártico de la Universidad Técnica del Norte, mijail62veeo@gmail.com

1. Antecedentes.

El proyecto de investigación surge como resultado de un juicio ambiental seguido por la Empresa Municipal de Agua Potable de Quito (EMAAPQ), contra la empresa que realizó la remediación de un derrame del Sistema de Oleoductos de Crudos Pesados (OCP), en la zona alto andina de Papallacta. Los microorganismos empleados en la remediación de dicha zona resultaron ineficientes, debido a las bajas temperaturas imperantes; razón por la que se buscó alternativas de solución, una de las cuales constituye la presente investigación.

2. Tiempo de ejecución.

El proyecto se viene ejecutando desde el año 2010, cuando participamos en la XIV Misión Científica a la Antártida, con el tema “Búsqueda, aislamiento e identificación de Microorganismos antárticos con capacidad para degradar hidrocarburos”

En el 2012, participamos en la XVI Misión Científica con el tema “*Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos en la Estación Científica Pedro Vicente Maldonado, mediante el empleo de cepas microbianas antárticas, en terrarios*”. En esta fase se montaron seis celdas experimentales (y una celda testigo), con suelos contaminados con diesel, gasolina y benceno, a las cuales se inyectaron microorganismos antárticos, sin recurrir a bioestimulación. Las celdas permanecieron durante el invierno austral a la intemperie. Paralelamente en el laboratorio de Maldonado, se hicieron estudio de dinámica de crecimiento microbiano en distintos medios de cultivo y a diferentes temperaturas.

En 2013, participamos en la XVI Misión científica, fuimos a verificar la viabilidad de los microorganismos empleados en la prueba experimental y verificar su capacidad para degradar hidrocarburos. Adicionalmente se amplió la base de bioprospección de microorganismos a otras zonas antes no consideradas, tales como isla de Barrientos, Isla Dee, y la presencia de microorganismos en los excrementos de pingüino.

3. Objetivos específicos

En la Primera Misión nos planteamos el objetivo de aislar e identificar microorganismos con capacidad para degradar hidrocarburos.

En la segunda Misión, montamos un experimento de biorremediación real de hidrocarburos en suelos contaminados en terrarios en la Estación Pedro Vicente Maldonado.

En la tercera, el objetivo fue comprobar la viabilidad de los microorganismos empleados en las pruebas de campo y comprobar su capacidad de degradar hidrocarburos.

4. Logros.

En la primera Misión, con ayuda de pruebas bioquímicas básicas como gram, oxidasas y degradación de gelatina, se pudo hacer una identificación morfológica preliminar de los microorganismos aislados de las siembras en los tres medios de cultivo. Se aislaron un total de 15 géneros bacterianos; siete bacilos, tres cocos, dos vibriones, estreptococos, cocoides y cocobacilos con una y cuatro géneros fúngicos. Para un total de 19 tipos de microorganismos.

Diversidad microbiana por medio. El medio con mayor diversidad microbiana fue Agar sangre con un total de 17 géneros, el medio agar chocolate presento 15 y agar nutritivo un total de 7 géneros.

Diversidad microbiana por muestra. En relación a la diversidad microbiana por muestra testada, se determinó que la muestra M7 de Bellinshausen presentó el mayor número de géneros, 7 bacterianos, dos vibriones y 2 fúngicos, las muestras M1 de Maldonado y M6 de Bellinshausen tienen un total de nueve tipos de microorganismos, en tanto que la una de las muestras con menor diversidad de géneros fue M4 de Punta Ambato, considerada como muestra testigo, con tres especies bacterianas y una especie fúngica.

Similares resultados se obtuvieron en la muestra M5 de Prat con dos géneros bacterianos y una de cocobacilos. En promedio las muestras de Bellinshausen poseen 9,5 tipos de microorganismos, Maldonado 7, Punta Ambato con 4 y Prat con 3.

En cuanto a los microorganismos con capacidad para degradar hidrocarburos, las pruebas de laboratorio generaron los siguientes resultados: La muestra Bellinshausen M7, produjo dos géneros con capacidad para degradar hidrocarburos: *Pseudomona* sp, *Penicillium Chrysogenum*, la muestra Bellinshausen M6, *Rhodococcus* sp, y *Micrococcus antarcticus*, la muestra Prat M5, *Bacillus* sp y *Sphingomonas* sp, la muestra Maldonado M2; *Pseudomona putida*, la muestra Maldonado M1; *Clostridium perfringens* y la muestra Punta Ambato M4; *Aspergillum niger*.(Gualoto 2010)

Seguidamente se efectuó un estudio de eficiencia de degradación de hidrocarburos con cada cepa identificada en terrarios, a 4°C en el territorio ecuatoriano.

Con los resultados obtenidos en $\ln Co/C$, fue factible estimar la eficiencia de las cepas empleadas en el tratamiento de HAPs y TPHs. Para TPHs la cepa de mayor eficiencia resultó *Pseudomona putida* con 62% y la de menor *Aspergillum niger*, con el 15,40%.

Para HAPs, la eficiencia cambió de cepa, *Rhodococcus* alcanzó un 90,80% de eficiencia; en tanto que la cepa *Bacillus* sp, obtuvo la menos eficiencia con el 5,76%. (Gualoto. 2011)

En la segunda misión, a más de montar las celdas de tratamiento se hicieron estudios de dinámica de crecimiento microbiano, donde se demostró que los microorganismos antárticos pueden crecer a temperaturas superiores a 5°C, así lo muestran los resultados, donde el crecimiento microbianos a 15°C es superior al obtenido a 5°C.

En las siembras mediante diluciones, a temperatura ambiente 5°C y a 15°C, la muestra de Maldonado M3, fue la de mayor población, confirmando parcialmente la influencia de la permanente afluencia de materia orgánica (micro derrames de hidrocarburos), que los mantiene activas.

El medio que presentó mayor abundancia de colonias fue TS, para siembras por diluciones a 15°C, en tanto que para siembras directas fue PDA.

El medio de mayor abundancia para siembras a temperatura ambiente en siembras por diluciones fue TS, en tanto que para siembras directas AN.

Se aislaron seis colonias morfológicamente distintas por su pigmentación: Crema. Blanca, amarilla, anaranjado, violeta, verde. Para la Antártida la pigmentación constituye un mecanismo protector contra la radiación UV (Gualoto 2012, Informe de campo).

En la tercera misión, para evaluar la presencia (viabilidad) o ausencia de microorganismos en las celdas experimentales que invernaron, se tomaron sendas muestras a partir de las cuales se realizaron siembras directas, en placa, en tres medios nutritivos: Agar nutritivo AN, Agar de papa y dextrosa PDA y agar triple azúcar y hierro TSI. Los microorganismos surgieron al tercer día de haber sido sembrados. En todas las celdas se obtuvo crecimiento de colonias. En cuatro de las celdas se evidenció la presencia de hongos que no fueron inyectados en las celdas de tratamiento, su presencia posiblemente se debe a la germinación de esporas que se depositaron sobre las celdas procedentes del aire. En cuanto a la degradación de hidrocarburos, se han enviado las muestras experimentales a un laboratorio certificado para su análisis correspondiente, estamos en espera de los resultados (Gualoto, 2013. Informe de campo)

5. Estado actual de la investigación

Se han efectuado los estudios de líneas base de la zona alta andina cercana a Quito, donde se ejecutarán las pruebas de campo con los microorganismos antárticos, se han elaborado los manuales operativos, de seguridad industrial y ocupacional, así como los de Bioseguridad para campo y laboratorio. Hemos ajustado los protocolos de prueba y las metodologías de análisis. Estamos tramitando los permisos del Ministerio del Ambiente para ejecutar las pruebas experimentales. El personal ha recibido capacitación en el Instituto de Microbiología y Virología de la Academia Nacional de Ciencias de Ucrania, con amplia experiencia en trabajos antárticos. Las pruebas de campo serán de biorremediación de hidrocarburos mediante compostaje con microorganismos antárticos, a 4.020 m., de altura en la zona de Papallacta, dentro de la Reserva Ecológica Cayambe Coca.