



Fitobactorremediación como alternativa de mejoramiento de suelos contaminados con petróleo y su posterior uso como suelos agrícolas

Viviana Matilde Mesa-Cornejo

Centro Universitario de los Lagos | UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

Milton Fajardo, Olga Lucía Sanmiguel

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER

Graciela Chalela-Álvarez

Centro de Investigación en Biotecnología, Bioética y Ambiente | UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BUCARAMANGA

correo-e: gchalela@unab.edu.co

Resumen

Esta investigación se basó en un proceso de innovación biotecnológica con los siguientes componentes: *a)* Aislamiento y caracterización de bacterias edáficas y rizosféricas. *b)* Bioaumentación y adaptación de microorganismos autóctonos y foráneos en medios contaminados con petróleo. *c)* Evaluación de la actividad microbiana. *d)* Selección de plantas tolerantes al hidrocarburo que presentaron un aumento en la cobertura. *e)* Evaluación del comportamiento de las plantas en suelos contaminados. *f)* Determinación de la interrelación planta-bacteria y sus efectos en la biodegradación. Se encontraron valores de bioremediación del 70.5%, para la biodegradación 42.26%, para la fitorremediación y 62% para la fitobactorremediación.

Palabras clave: fitobactorremediación, innovación tecnológica, biorremediación, suelos contaminados.

Introducción

El problema de la contaminación ambiental es una de las principales preocupaciones del hombre del siglo XXI. En particular, el petróleo constituye una de las principales fuentes de contaminación del medio ambiente, ya que la mayor parte de sus componentes son recalcitrantes a la biodegradación. La finalidad de esta investigación fue examinar cual bioproceso (biodegradación natural, fitorremediación, biorremediación y fitobactorremediación) aportó una mayor recuperación ecológica de una manera económica en sistemas terrestres afectados por derrames inducidos de crudo. Se basó en: 1) La determinación de las especies vegetales de mayor resistencia a la contaminación con hidrocarburos, decidiendo cuáles de ellas eran capaces de aportar una mayor cobertura y biomasa para poder ejercer los procesos de fitorremediación. 2) El uso de un «biorreactor» natural rizosférico para aumentar la fitobactorremediación (Arendt *et al.*, 1993; Porta *et al.*, 1994).

Metodología

1. Se indujo la contaminación con crudo pesado al 30% p/p. El suelo se analizó para evitar la fertilización química que podría tener efecto sobre el bioproceso.

2. Se aislaron bacterias nativas del suelo y se conformaron consorcios bacterianos:

Consortio 1. *Bacillus spp.*, *Corynebacterium spp.*, *Novcardia spp.*

Consortio 2. *Edwardsiella spp.*, *Hafnia spp.*, *Enterobacter spp.*, *Micrococcus spp.*, *Pseudomonas spp.*

Consortio 3. *Bacillus spp.*, *Micrococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Enterobacter spp.*, y *Corynebacterium spp.*

Consortio 4. conformado por *Bacillus spp.*, *Corynebacterium spp.*, *Pseudomonas spp.*, resultantes del estudio microbiano realizado al crudo, los cuales se adaptaron al 10% de hidrocarburo para iniciar el proceso de biodegradación por bioaumentación.

3. Las plantas se escogieron teniendo en cuenta su capacidad reproductora y poder de adaptación,

plantas que no fuesen para consumo humano, de amplia distribución en el medio y pertenecientes a las gramíneas, fabáceas, rutáceas y mimosáceas y se seleccionaron de acuerdo al porcentaje de germinación en un medio hidropónico de Jensen con crudo y sin crudo. Si el porcentaje de germinación era igual o superior al 80% se consideraban viables.

4. Para el cultivo de los diferentes consorcios se utilizaron biorreactores de 40 litros con baffles deflectores y un dispersor de pastilla perforada y se alimentaron con aire comprimido. El medio de cultivo estuvo compuesto por sales de cloruro de potasio y sulfato de magnesio. El pH se mantuvo entre valores de 6.5 a 6.8 unidades.

5. Los bioprocesos descritos de fito-, bacto-, fitobactorremediación y de intemperismo (biodegradación natural), *in situ*, se realizaron por duplicado, preparándose siete semilleros en cuatro hileras para un total de 28 semilleros, utilizando un control sin crudo.

6. Se utilizaron *Swinglea glutinosa* y *Brachiaria decumbens* que fueron las sobrevivientes a las cuales se sembraron 7 días después de la contaminación del suelo con el crudo. Para determinar el efecto del hidrocarburo sobre el crecimiento se analizaron la altura (flexómetro), el diámetro del tallo (calibrador) y la cobertura de la planta (cuadrante imaginario). Se determinaron el índice de tolerancia, la biomasa de la raíz y de la planta, se hizo un análisis nutricional foliar de las especies vegetales utilizadas y se delimitó la presencia de metales pesados (Bolton & Gorby, 1995; Cornish *et al.*, 1995; Cunningham *et al.*, 1996; Cunningham *et al.*, 1995a; Cunningham *et al.*, 1995b; Gruiz, 1995; Porta *et al.*, 1994; Cunningham & Ow, 1996).

Resultados y discusión

El recuento de microorganismos del suelo con crudo fue de 65×10^4 UFC/mL mientras que para el suelo sin crudo fue de 44×10^5 UFC/mL, lo cual demuestra una disminución en el proceso de adaptación de los

microorganismos. Se determinó igualmente la volatilidad del crudo y la penetrabilidad, determinándose que el crudo utilizado es de baja viscosidad y por consiguiente de alta penetrabilidad. En el crudo se encontraron bacterias de los géneros *Bacillus spp.*, *Corynebacterium spp.*, y *Pseudomonas spp.*, que conformaron el consorcio 4.

Las plantas escogidas por su adaptabilidad a las condiciones contaminantes fueron *Swinglea glutinosa* y *Brachiaria decumbens* de entre 15 especies sembradas. Con porcentajes de mortalidad inferiores al 8% para *Brachiaria decumbens*, con 90% de cobertura y para *Swinglea glutinosa* de 10% de mortalidad y cobertura entre el 62 y el 83%. Los consorcios microbianos se caracterizaron mediante pruebas bioquímicas y observación micro- y macroscópica.

Se determinaron *Bacillus polymyxa*, *Bacillus subtilis*, *Corynebacterium glutamicum*, *Nocardia minutissima*, *Corynebacterium difficile* y *Pseudomonas putida*. Se observaron diferencias en el tipo de crecimiento con un corto periodo de adaptación, tres días, con curvas de tipo diaúxico. Las variaciones del pH fueron 7.98 hacia el día 30 del experimento comparado con el día 1 que fue de pH 7.6. El máximo crecimiento celular fue de 940×10^6 UFC/mL conseguido hacia el día 32 y un mínimo de 83×10^5 conseguido al día 17, ello demuestra la adaptación de los microorganismos.

El porcentaje de biodegradación para *Brachiaria decumbens* sin inóculo microbiano fue de 47.3%; con los consorcios 1, 2 y 3 fue de 67.57% y con el consorcio 4 fue de 64.49%. Para *Swinglea glutinosa* sin inóculo fue de 41.22%, con los consorcios 1, 2 y 3 fue de 64.49% y con el consorcio 4 fue de 59.46% de remoción.

Con respecto a la biorremediación los porcentajes más altos de remoción fueron del 78% con los consorcios 1, 2 y 3, y de 76% con el consorcio 4. Los porcentajes de remoción por fitorremoción fueron del 41.22% para *Swinglea glutinosa* y de 47.3% para *Brachiaria decumbens* frente al control de 41.15%.

En cuanto el porcentaje de fitobactorremediación con los consorcios 1, 2 y 3 fue de 65.57% de remoción para *Brachiaria decumbens* y de 59.46 % con

el consorcio 4; para *Swinglea glutinosa* de 57-77% con los consorcios 1, 2 y 3 y de 64.49% con el consorcio 4. Se pudo determinar igualmente una tendencia a desarrollar en las plantas utilizadas biomasa aérea o vicio de crecimiento.

Brachiaria decumbens inoculada con los consorcios 1, 2, 3 y 4 mostró la mayor longitud de la raíz con 36.56 cm frente al control de 34.25 cm; con una biomasa de 9.3 g frente al control de 6.24 g; la longitud del tallo 65.85 cm, frente al control 52.9 cm y la biomasa de la planta de 78.5 g y una cobertura de 70% frente al control de 81.79 g de biomasa y 60.5% de cobertura. Los niveles de Ni analizados a toda la planta fueron de 0.06 ppm.

Conclusiones

a) En medios de cultivo con sales y crudo al 10% el crecimiento bacteriano fue de 860×10^6 UFC/mL, mientras que sin crudo fue de 72×10^6 UFC/mL.

b) El valor del pH durante el proceso de biodegradación fue de 7.28 en el laboratorio, de 7.87 en los biorreactores y de 6.54 en los semilleros.

c) El crecimiento poblacional de adaptación para la fitobactorremediación fue de 294×10^5 UFC/mL en los biorreactores.

d) Para los 10 primeros días del bioproceso de degradación y con los consorcios 1, 2, 3 y 4 la remoción fue del 68%.

e) Para la biorremediación el porcentaje de biorremoción fue 78.04%, el porcentaje de eficiencia 66.5%.

f) Para la fitorremediación con *Swinglea glutinosa* fue de 41.23% de biorremoción y 30% de eficiencia. Con *Brachiaria decumbens* de 47.3% de biorremoción y 35.8% de eficiencia.

g) Para la fitobactorremediación con los consorcios 1, 2, 3 y 4 con *Swinglea glutinosa* fue de 64.49% de biorremoción y 52% de eficiencia y para *Brachiaria decumbens* 67.57% de biorremoción y 56% de eficiencia.

Referencias

- Bolton, H., Gorby, Y.A. (1995). An Overview of the Bioremediation of Inorganic Contaminants (pp. 1-15). In Hinchee, E., Means, J.L., Burris, D. (Eds.), *Bioremediation of Inorganics*. Columbus, OH: Battelle Press.
- Cornish, J.E., Goldberg, W.C., Levine, R.S., Benemann, J.R. (1995). Phytoremediation of Soils Contaminated with Toxic Elements and Radionuclides (pp. 55-64). In Hinchee, E., Means, J.L., Burris, D. (Eds.), *Bioremediation of Inorganics*. Columbus, OH: Battelle Press.
- Cunningham, S.D., Anderson, T.A., Schwab, A.P., Hsu, F.C. (1996). Phytoremediation of Soils Contaminated with Organic Pollutants. *Advances in Agronomy*, 56:55-114.
- Cunningham, S.D., Berti, W.R., Huang, J.W. (1995a). Phytoremediation of contaminated soils. *Trends in Biotechnology*, 13(9):393-397.
- Cunningham, S.D., Berti, W.R., Huang, J.W. (1995b). Remediation of Contaminated Soils and Sludges by Green Plants (pp. 33-54). In Hinchee, E., Means, J.L., Burris, D. (Eds.), *Bioremediation of Inorganics*. Columbus: Battelle Press.
- Cunningham, S.D., Ow, D.W. (1996). Promises and prospects of phytoremediation. *Plant Physiology*, 110:715-719.
- Gruiz, K., Kriston, E. (1995). *In Situ* bioremediation of Hydrocarbon in soil. *Journal of Soil Contamination*, 4(2):1-11.
- Porta, C.J., López, A.C., Roquero, C. (1994). *Edafología para la agricultura y el medio ambiente*. Madrid: Mundi-Prensa.
- Rulkens, W.H., Grotenhuis, J.T., Soczó, E.R. (1993). Remediation of contaminated soil; state of the art and desirable future developments (pp. 1007-1018). In Arendt, F., Annokke, G.J., Bosman, R., Van Den Brink, W.J. (Eds.), *Contaminated Soil*. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers.