

03/05/2024

“Caracterización de microorganismos presentes en suelos contaminados con Petróleo, mediante secuenciación del gen 16S ARN ribosomal”

Cristopher Jhoel Bedoya Navarrete

UNIVERSIDAD REGIONAL AMAZÓNICA IKIAM

FO-GDC-138-V.1.0

Página 0 de 8

Contenido

1	Antecedentes (max. 1000 palabras)	2
2	Planteamiento del problema a investigar (máx. 350 palabras)	2
3	Justificación de la investigación (máx. 350 palabras)	2
4	Preguntas de investigación	2
5	Hipótesis	2
6	Objetivos de la investigación	2
6.1	General	2
6.2	Específicos	2
7	Métodos (máx. 1000 palabras)	2
8	Cronograma de actividades (basado en el marco lógico)	2
9	Presupuesto referencial	3
10	Referencias bibliográficas (Formato APA).	3

1 Antecedentes

Los problemas de contaminación en el ámbito local, nacional e internacional son parte de nuestra vida cotidiana; por tanto es preocupante la manera en cómo se han ido degradando los ecosistemas de nuestro planeta, y la capa superficial de la corteza terrestre no es la excepción (1). La actividad petrolera en sus diferentes etapas ocasiona contaminación y cambios en el uso del suelo (2). La fuente más importante de la economía del Ecuador es la exportación de crudo y derivados que en los últimos 10 años ha oscilado entre un 43 y 66% del total de exportaciones del país y entre un 43 y 59% del presupuesto general del Estado (3). Durante estos últimos 25 años se ha registrado al menos 1.983 derrames de petróleo en la región Amazónica, siendo este último registrado en el sector Piedra Fina de la provincia de Napo. El petróleo es un líquido espeso, inflamable, de color amarillo a negro, que contiene una mezcla de productos químicos orgánicos, la mayoría de los cuales son hidrocarburos (compuestos orgánicos constituidos, solamente, por hidrógeno y carbón). Puesto que el petróleo es un material natural, puede ser diluido o descompuesto por bacterias y otros agentes naturales. Sin embargo, los productos refinados del petróleo (gasolina, kerosén, asfalto, aceite combustible, y otros productos petroquímicos) no son naturales. Debido a esto, existen pocos agentes naturales, como bacterias, capaces de descomponerlos (4).

Los derrames de petróleo ocasionan efectos importantes sobre las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo, cambios que a su vez ejercen un efecto directo sobre las poblaciones de microorganismos existentes en el mismo. El impacto puede ser mayor al alterar el equilibrio de las condiciones ecológicas originales (5). Estos efectos obedecen a las características propias de los diferentes hidrocarburos que constituyen el petróleo, tales como su:

- 1) Toxicidad: Los hidrocarburos aromáticos de bajo punto de ebullición son letales para casi todos los organismos terrestres y marinos. Algunos de los hidrocarburos parafínicos son menos tóxicos y hasta no tóxicos para los seres vivos.
- 2) Solubilidad: Los hidrocarburos de alto peso molecular son insolubles en agua; por lo tanto, cuando hay derrames causan problemas porque se adhieren a los organismos y les causan asfixia. En cambio, los derivados del benceno y los naftalenos pueden solubilizarse en agua. Dicha solubilidad influirá en su toxicidad en el ecosistema.
- 3) Biodegradación: está en función de las características y peso molecular de sus componentes. En aquellos de peso molecular alto, su tiempo de descomposición es muy largo.
- 4) Volatilidad, densidad y actividad superficial: definen cómo cada componente del petróleo se evaporará, hundirá o dispersará.

5) Carcinogenicidad. No todos los hidrocarburos son peligrosos, si comparamos los alifáticos contra los aromáticos, de acuerdo con la IARC, 2015 (Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer), se ha clasificado a los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) en grupos, de acuerdo con su potencial cancerígeno para los humanos (6).

Lo anterior provoca la disminución de poblaciones microbianas importantes para la asimilación y reciclado de nutrientes dentro de los ciclos biogeoquímicos, como es el caso de las bacterias fijadoras de nitrógeno de vida libre. El nitrógeno es uno de los principales nutrimentos para los organismos vivos y en su ausencia limita la producción de alimentos. La mayoría de las transformaciones del nitrógeno en el suelo ocurren a través de microorganismos, cuyos mecanismos dependen de la influencia de factores abióticos, como la concentración de oxígeno, de nitrógeno inorgánico y el pH (5). Una herramienta para solucionar este problema ambiental es el uso de microorganismos naturales para degradar o descomponer sustancias que son contaminantes y convertirlas en otras menos tóxicas o inocuas para el medio ambiente. Esta herramienta biotecnológica se llama biorremediación y es una tecnología emergente que utiliza organismos vivos (plantas, algas, hongos y bacterias) para absorber, degradar o transformar los contaminantes y retirarlos, inactivarlos o atenuar su efecto en el suelo, el agua y el aire. La técnica puede ser empleada para atacar contaminantes específicos del suelo, por ejemplo, en la degradación bacteriana de compuestos organoclorados o de hidrocarburos (7).

La importancia de los microorganismos en ambientes naturales deriva de su cantidad, diversidad y, sobre todo, de su gran espectro de actividades que, en la mayoría de los casos, repercuten en los seres superiores con los cuales comparte un determinado hábitat. Concretamente en el suelo, los microorganismos desarrollan una amplia gama de acciones que inciden en el desarrollo y nutrición vegetal (8). Los métodos de identificación en la microbiología tradicional basados en la caracterización fenotípica y bioquímica, han contribuido de forma significativa a diversos campos como la medicina moderna y a la bioprospección biotecnológica (9). La diversidad microbiana de los metagenomas se ha analizado mediante el uso del gen 16S rRNA, que codifica para el ARN ribosómico que conforma la subunidad pequeña de los ribosomas. Este gen comprende regiones conservadas y variables en bacterias y arqueas. El gen 16S rRNA se ha utilizado como marcador molecular, ya que permite clasificar a las bacterias y arqueas en grupos taxonómicos de acuerdo con las familias o géneros (10).

En la presente investigación se evaluará y se caracterizará a partir de estudios filogenéticos (gen 16S rRNA), microorganismos presentes en suelos ya contaminados con petróleo, además se planteará camino a futuras investigaciones las cuales busquen emplear estos microorganismos para estudios de biorremediación. Dado que los

microorganismos habitan en todo tipo de hábitat, se cree que estos se adaptaron en estos suelos contaminados y así mismo se alimentan del residuo de petróleo presente.

2 Planteamiento del problema a investigar

La contaminación de suelos por hidrocarburos, se ha incrementado, debido a actividades de explotación, producción y comercialización de sus derivados. Afectando nocivamente la salud humana y ecosistemas del suelo, asociando toxicidad, mutagenicidad y carcinogenicidad.

3 Justificación de la investigación

Según las investigaciones los hidrocarburos son microcontaminantes peligrosos y altamente resistentes a la degradación. Entre las técnicas empleadas para la remediación de suelos contaminados con hidrocarburos está el uso de tecnologías biológicas que hoy en día ya está cobrando un gran interés. Con base a esta investigación se puede plantear estrategias para la remediación de los sitios contaminados anteriormente, llevando a cabo iniciativas de soluciones ambientales, que promueven el desarrollo y difusión de tecnologías amigables al medio ambiente.

4 Preguntas de investigación

- ¿Qué microorganismos se encuentran presentes en suelos contaminados por Petróleo?
- ¿Qué concentración de microorganismos es óptima para biodegradar Petróleo presentes en suelos contaminados?

5 Hipótesis

La adición de microorganismos aumenta la tasa de biodegradación y biotransformación en suelos contaminados por Petróleo, obteniendo menores concentraciones de contaminantes al final del proceso de biorremediación y haciendo posible el futuro uso de dichos suelos.

6 Objetivos de la investigación

6.1 General

- Caracterizar los microorganismos existentes en suelos contaminados por Petróleo.

6.2 Específicos

- Analizar el potencial de biodegradación de microorganismos presentes en suelos contaminados por Petróleo.
- Analizar proporcionalmente la cantidad de microorganismos presentes en una cierta cantidad de suelo contaminado por Petróleo.
- Seleccionar la densidad microbiana adecuada para acelerar el proceso de biodegradación de Petróleo.

7 Métodos (máx. 1000 palabras)

8 Cronograma de actividades (basado en el marco lógico)

9 Presupuesto referencial

10 Referencias bibliográficas

1. Martínez-Prado, A., Pérez-López, M. A., Pinto-Espinoza, J., Gurrola-Nevárez, B. A., & Osorio-Rodríguez, A. L. (2011). Biorremediación de suelo contaminado con hidrocarburos empleando lodos residuales como fuente alterna de nutrientes. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 27(3), 241-252.
2. Suarez Beltrán, R. M. (2013). Guía de métodos de biorremediación para la recuperación de suelos contaminados por hidrocarburos.
3. Pazmiño Valencia, Y. M. (2017). *La proporcionalidad de las penas y la actividad petrolera en el Ecuador* (Bachelor's thesis).
4. Hidalgo, J. C. (2009). Efectos de los derrames de petróleo sobre los hábitats marinos. *Ciencia Ahora*, 24.
5. Vázquez-Luna, M., Montiel-Flores, A., Vázquez-Luna, D., & Herrera-Tenorio, M. F. (2011). Impacto del petróleo crudo en suelo sobre la microbiota de vida libre fijadora de nitrógeno. *Tropical and subtropical agroecosystems*, 13(3), 511-523.

6. Barois, I., S.M. Contreras-Ramos, B. Hernández-Castellanos, M. de los Santos, F. Martínez y D. R. García. 2018. El suelo y el petróleo: Estudio de caso de biorremediación en pasivo ambiental de Papantla, México. Instituto de Ecología A.C. 30pp.
7. Rodríguez-Gonzales, A., Zárate-Villarroe, S. G., & Bastida-Codina, A. (2022). Biodiversidad bacteriana presente en suelos contaminados con hidrocarburos para realizar biorremediación. *Revista de Ciencias Ambientales*, 56(1), 178-208.
8. Acuña, O., Peña, W., Serrano, E., Pocasangre, L., Rosales, F., Delgado, E., ... & Segura, A. (2006). La Importancia de Los Microorganismos en la Calidad y Salud de Suelos Importance of Microorganisms For Soils Quality And Health. *Laboratorio de Bioquímica, Centro de Investigaciones Agronómicas, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica*.
9. Gregorio, M. J. METAGENÓMICA DE RNA RIBOSOMAL 16S (16S rRNA) COMO HERRAMIENTA DIAGNÓSTICA EN MICROBIOLOGÍA: MÉTODOS Y APLICACIONES BASADOS EN NEXT-GENERATION SEQUENCING.
10. Cortés-López, N. G., Ordóñez-Baquera, P. L., & Domínguez-Viveros, J. (2020). Herramientas moleculares utilizadas para el análisis metagenómico. Revisión. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 11(4), 1150-1173.
11. de Almeida, F. F., Freitas, D., Motteran, F., Fernandes, B. S., & Gavazza, S. (2021). Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons in contaminated mangroves: Understanding the historical and key parameter profiles. *Marine Pollution Bulletin*, 169, 112553.
12. Sun, S., Wang, Y., Zang, T., Wei, J., Wu, H., Wei, C., ... & Li, F. (2019). A biosurfactant-producing *Pseudomonas aeruginosa* S5 isolated from coking wastewater and its application for bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Bioresource technology*, 281, 421-428.
13. Fernández-Luqueño, F., López-Valdez, F., Sarabia-Castillo, C. R., García-Mayagoitia, S., & Pérez-Ríos, S. R. (2017). Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons polluted soils at laboratory and field scale: a review of the literature on plants and microorganisms. *Enhancing Cleanup of Environmental Pollutants: Volume 1: Biological Approaches*, 43-64.
14. Aydin, S., Karaçay, H. A., Shahi, A., Gökçe, S., Ince, B., & Ince, O. (2017). Aerobic and anaerobic fungal metabolism and Omics insights for increasing polycyclic aromatic hydrocarbons biodegradation. *Fungal Biology Reviews*, 31(2), 61-72.
15. Biswas, B., Sarkar, B., Rusmin, R., & Naidu, R. (2017). Mild acid and alkali treated clay minerals enhance bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons in long-term contaminated soil: A ¹⁴C-tracer study. *Environmental Pollution*, 223, 255-265.

16. Shukla, S. K., Mangwani, N., Rao, T. S., & Das, S. (2014). Biofilm-mediated bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons. In *Microbial biodegradation and bioremediation* (pp. 203-232). Elsevier.
17. Volkoff, S. J., Rodriguez, D. L., Singleton, D. R., McCumber, A. W., Aitken, M. D., Stewart, J. R., & Gunsch, C. K. (2022). Identifying bioaugmentation candidates for bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons in contaminated estuarine sediment of the Elizabeth River, VA, USA. *Applied microbiology and biotechnology*, 106(4), 1715-1727.
18. Sakshi, Singh, S. K., & Haritash, A. K. (2019). Polycyclic aromatic hydrocarbons: soil pollution and remediation. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 16, 6489-6512.
19. Yang, S., Gou, Y., Song, Y., & Li, P. (2018). Enhanced anoxic biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in a highly contaminated aged soil using nitrate and soil microbes. *Environmental Earth Sciences*, 77, 1-11.