

EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE RESISTENCIA A METALES PESADO POR BACTERIAS ENDÓFITAS AISLADAS DE MACRÓFITAS ACUÁTICAS DE CIÉNAGAS DE LOS DEPARTAMENTOS DE SUCRE Y CÓRDOBA, COLOMBIA

EVALUATION OF THE RESISTANCE CAPACITY TO HEAVY METALS FOR ENDOPHYTAL BACTERIA ISOLATED FROM AQUATIC MACROPHYTES OF SWAMPS OF THE DEPARTMENT OF SUCRE AND CÓRDOBA, COLOMBIA.

María Paulina Torres Pérez¹
Deimer Vitola Romero²
Alexander Pérez Cordero³

¹Facultad de Educación y Ciencias. Universidad de Sucre.
mria-paulina17@hotmail.com

²Facultad de Educación y Ciencias. Universidad de Sucre.
fitoquimicapn@gmail.com

³Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad de Sucre.
alexander.perez@unisucra.edu.co

Resumen

El agua es un recurso indispensable para la vida agrícola, ganadera e industrial, sin embargo debido a las actividades antrópicas como la minería; este recurso se ha visto afectado por problemas de contaminación. Dentro de estos contaminantes se encuentran los metales pesados, cuyo interés principal es debido a su alta toxicidad en bajas concentraciones para el medioambiente y la salud. Ante esta situación, surge la necesidad de implementar nuevas alternativas, con las cuales se puedan obtener resultados rápidos, a bajo costos, y que contribuyan a la protección del ambiente. Una de estas técnicas es la biorremediación que implica el uso de organismos vivos; las bacterias endófitas, que habitan dentro de los tejidos de las plantas sin causar ningún daño, tienen la capacidad de resistir concentraciones de metales pesados. Se realizó muestreo de diferentes macrófitas presentes en la ciénaga de Ayapel en Córdoba, para cada macrófita se realizó separación de cada tejido y se sometieron a proceso de desinfección superficial, realizó el aislamiento de las endófitas, obtenidas de raíz, tallo y hoja de las diferentes macrófitas. Así mismo, se determinó densidad poblacional por tejido, seguidamente se purificaron y se utilizaron para evaluación in vitro la actividad de resistencia a Ni y Hg, con diferentes concentraciones de los dos metales. Las bacterias que presentaron resistencia a los metales se les evaluó la actividad promotoras de crecimiento. Dentro de los aportes de esta investigación se encuentra el uso de bacterias endófitas aisladas de macrófitas acuáticas como alternativa biológica para remediar mercurio y

níquel.

Palabras claves: bacterias endófitas, biorremediación, metales pesados.

Abstract

The water is an essential resource for agricultural, livestock and industrial life, however due to anthropic activities such as mining; this resource has been affected by pollution problems. Within these pollutants are heavy metals, whose main interest is due to its high toxicity at low concentrations for the environment and health. Given this situation, the need to implement new alternatives arises, with which fast results can be obtained, at low costs, and that contribute to the environment's protection. One of these techniques is bioremediation that involves the use of living organisms; Endophytic bacteria, which inhabit inside plants tissues without causing any damage, have the ability to resist heavy metal concentrations. Sampling of different macrophytes present in the Ayapel swamp in Córdoba was carried out, for each macrophyte, separation of each tissue was made and subjected to superficial disinfection process, and isolation of endophytes was made, obtained from roots, stems and leaves of the different macrophytes. Likewise, population density was determined by tissue, then got purified and used for the in vitro evaluation the activity of resistance to Ni and Hg, with different concentrations of the two metals. Bacteria that presented resistance to metals were evaluated for growth promoter activity. Among the contributions

of this research is the use of endophytic bacteria isolated from aquatic macrophytes as a biological alternative to remedy mercury and nickel.

Keywords: bioremediation, endophytic bacteria, heavy metals.

1. Introducción

El agua, es uno de los recursos más importantes sobre la tierra, indispensable para la sobrevivencia de cualquier ser vivo; gracias a la posición continental que posee Colombia, cuenta con un amplio acceso a este recurso hídrico [1]. Como recurso económico, el agua es necesaria en muchas actividades de la agricultura y la industria [2]. Dentro de los principales contaminantes ambientales que presentan efectos negativos en la salud se encuentran los metales pesados, los cuales son considerados altamente tóxicos y están presentes en el suelo, aire y agua [3]. Los problemas de contaminación de las aguas, generados por metales pesados procedentes de medios naturales o antrópicos, se encuentran afectando la seguridad alimentaria y la salud pública [4]. En estudios recientes se reporta la presencia de metales pesados como el mercurio y el níquel en hortalizas, posiblemente debido al riego de estos cultivos con aguas contaminadas [5] y específicamente se han detectado niveles de metilmercurio en peces a causa de la bioacumulación de este metal [6] procedente de la minería e industria. La problemática del mercurio radica principalmente en el consumo de peces y de aguas contaminadas con este metal [7]. El uso de técnicas biotecnológicas para la remoción de contaminantes tipo Mercurio [8] y Níquel [3] aprovechando las propiedades de las bacterias endófitas aisladas de tejidos vegetales han sido demostrada en diversos estudios.

Debido a los impactos negativos causados por los metales pesados en el agua, suelo y el aire, obliga a la comunidad científica a participar en dicha problemática de contaminación con mercurio y níquel mediante el desarrollar nuevas metodologías alternativas con las cuales se puedan obtener resultados a corto plazo, a un bajo costo y que favorezcan la protección ecológica y representen ventajas positivas con respecto a los métodos tradicionales.

Por lo anterior esta investigación propone evaluar ¿Qué tan eficiente resultan las bacterias endófitas aisladas de macrófita acuática en la bioadsorción de iones de Mercurio y Níquel?

2. Metodología y resultados.

2.1 Identificación zona contaminada:

Para la identificación, se hizo un levantamiento de la información bibliográfica que reporta ambientes contaminados con mercurio en el departamento de Córdoba. Según la información reportada con

contaminación con Mercurio y Níquel, se seleccionó el cuerpo de agua ubicado en Ayapel Córdoba.

El municipio de Ayapel se encuentra ubicado en la parte más oriente del departamento de Córdoba, forma parte de la subregión del San Jorge en Córdoba La ciénaga está localizada en el noroccidente de Colombia bajo las coordenadas 8° 17'- 8° 24' N y 75° 4'-75° 9' W.

2.1.1 aislamiento de bacterias endófitas y evaluación de la resistencia a metales pesados:

De cada tejido (Raíz, Tallo y Hojas) se tomó por triplicado un 1g que fueron colocados individualmente lavados con agua destilada, posterior a esto se sometieron a agitación por 15 min en solución tampón de fosfato de potasio 0,05 mol L⁻¹, pH 7,0; inmersión por 1 min en alcohol 70%; agitación por 5 min en solución de hipoclorito de sodio 5% y Tween 80%; inmersión por 1 min en alcohol 70%; agitación por 15 min en solución tampón fosfato de potasio 0,05 mol L⁻¹, pH 7,0 y, finalmente, lavados por cuatro veces en agua destilada esterilizada, repitiendo el proceso, después de lo cual, los tejidos se maceraron y se transfirieron a caldo peptona e incubado a 30±2°C por 24 horas y luego de esto se realizaron diluciones serias hasta 10⁻⁸ y se tomaran 100µL de cada dilución para realizar plagueo en agar R2A e incubarlos a 30±2°C por 72 horas; la densidad poblacional de bacterias por tejido (UFC/g de tejido), se estimó por conteo directo de colinas en placas, durante el conteo se observaron y seleccionaron las colonias que se distinguían en cuanto a forma, aspecto de la superficie, color y tamaño, luego, los morfotipos seleccionados fueron purificados y mantenidos en agar [9]; los aislados bacterianos fueron sembrados en Agar R2A suplementado con HgCl₂ y NiCl₂ a concentraciones de 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm y 200 ppm, posteriormente se incubaron a 32°C durante 8 días [10].

2.1.2. Tablas y figuras:

El Anova indica que no existen diferencias estadísticas significativas entre los diferentes tejidos de macrofitas evaluados con un p-valor>0.05. (Ver tabla 1)

El Anova indica que existen diferencia estadísticas significativas entre los tipos de metales pesados, las concentraciones evaluadas y entre las bacterias en estudio. La prueba de Tukey arrojó una media alta para níquel, lo que muestra que mayores bacterias toleraron este metal pesado, caso contrario ocurrió con mercurio donde su promedio fue bajo, es decir, pocas bacterias toleraron las concentraciones de este tóxico metal. Además, la bacteria 19(PT2) mostró diferencias estadísticas significativas con respecto al resto de bacterias evaluadas, puesto que resistió hasta 200 ppm de cloruro de níquel y cloruro de mercurio. (Ver tabla 2)

La mayoría de las bacterias endófitas aisladas

Fuente	Suma de cuadrado	GL	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Tipo de Tejido	9283.88	8	1160.49	1.72	0.1002
B:Concetracion	589790	4	147448	218.58	0.00
RESIDUOS	82296.6	122	674.562		
TOTAL	681371	134			

Tabla 1. Análisis de Varianza para Densidad Poblacional.

Fuente	Suma de cuadrado	GL	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Metal pesado	82.1778	1	82.1778	2549.47	0.00
B:Concetracion	39.9111	3	13.3037	412.73	0.00
C:Baterías	60.6222	44	1.37778	42.74	0.00
Interacciones					
AB	0.933333	3	0.311111	9.65	0.00
AC	73.8222	44	1.67778	52.05	0.00
BC	52.0889	132	0.394613	12.24	0.00
Residuos	39.0667	1212	0.03223		
total (recogido)	348.622	1439			

Tabla 2. Análisis de Varianza para Resistencia a Metales.

de tejidos de macrófitas acuáticas de la ciénaga de Ayapel mostraron resistencia a elevadas concentraciones de cloruro de níquel, caso contrario ocurrió con mercurio puesto que solo 17

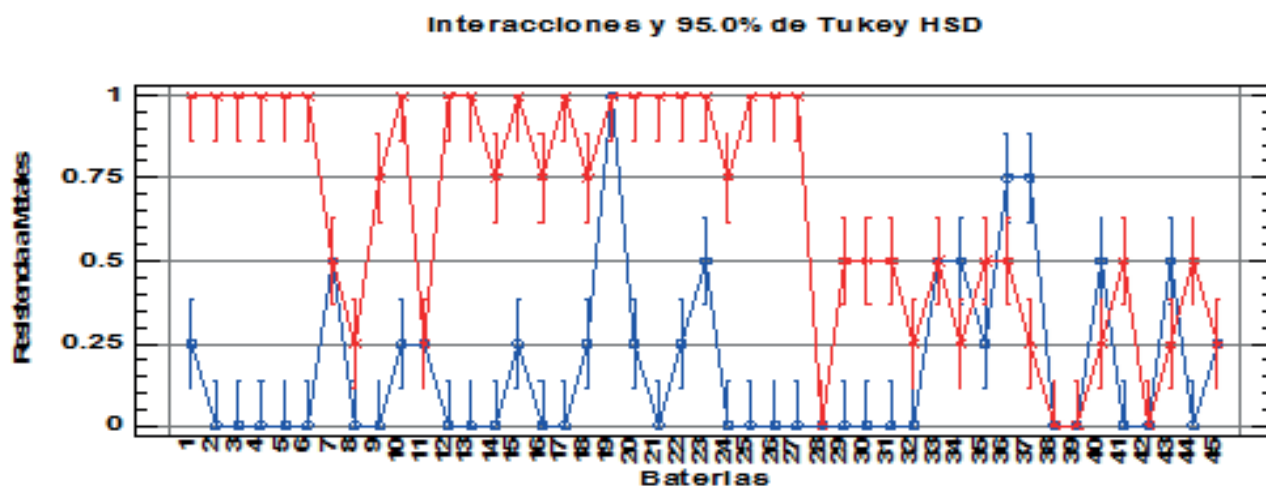
bacterias mostraron resistencia al menos a una concentración de este tóxico metal. Siendo las bacterias más resistentes la 19 (PH2) a 200 ppm de cloruro de mercurio y la misma concentración de cloruro de níquel, seguida de 36 (BT1 y 37 (BT2) a 150 ppm de mercurio cada una y con respecto a níquel toleraron 100 ppm y 50 ppm respectivamente. Además, las bacterias 7(XH3), 23(PR2), 33(BH6), 34(BH7), 40(BT5) y 43(BT8) toleraron concentraciones de 100 ppm de cloruro de mercurio respectivamente.

3. Conclusiones y Recomendaciones

Con el fin de mitigar el impacto ambiental causado por los metales pesados en los cuerpos de agua, las macrófitas acuáticas se constituyen como fuente importante de materia prima para los procesos de biorremediación. Por lo cual, se deben establecer las estrategias de biorremediación *in situ* desde las fuentes industriales de contaminación que permitan la efectiva recuperación de los ecosistemas acuáticos, además de la recuperación de dichos metales minimizando los costos de producción que involucren a los mismo.

4. Referencias

- [1] Castellanos, C. A. (2006). Los ecosistemas de humedales en Colombia. Revista luna azul.
- [2] Díaz-Pulido, A.-P., Chingaté-Hernández, N., Muñoz-Moreno, D.-P., Olaya-González, W.-R., Perilla-Castro, C., Sánchez-Ojeda, F., et al. (2009). Desarrollo sostenible y el agua como derecho en Colombia. Estudios socio-jurídicos, 11(1), 84-116.
- [3] Pérez Cordero, A., Arroyo Canchila, E., & Chamorro Anaya, L. (2015). Resistencia a níquel en bacterias endófitas aisladas a partir de Oriza sativa en Colombia. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología, 35(1).
- [4] Chen, Y., Hu, W., Huang, B., Weindorf, D. C., Rajan, N., Liu, X., et al. (2013). Accumulation and health risk of heavy metals in vegetables from harmless and organic vegetable production systems of China.



Grafica 1. Interacciones metales pesados de bacterias endófitas aisladas de tejidos de macrofitas acuáticas colectadas de la ciénaga de Ayapel, Córdoba, Colombia.

Ecotoxicology and environmental safety, 98, 324-330.

[5] Li, N., Kang, Y., Pan, W., Zeng, L., Zhang, Q., & Luo, J. (2015). Concentration and transportation of heavy metals in vegetables and risk assessment of human exposure to bioaccessible heavy metals in soil near a waste-incinerator site, South China. *Science of the total environment*, 521, 144-151.

[6] Gracia, L., Marrugo, J., & Alvis, E. (2009). Contaminación por mercurio en humanos y peces en el municipio de Ayapel, Córdoba, Colombia. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública*, 28, 118-124.

[7] Arriaga, F. A. D. (2014). Mercurio en la minería del oro: impacto en las fuentes hídricas destinadas para consumo humano. *Revista de Salud Pública= Journal of Public Health*, 16(6), 947.

[8] Pérez, A., Martínez, D., Barraza, Z., & Marrugo, J. (2016). Bacterias endófitas asociadas a los géneros *Cyperus* y *Paspalum* en suelos contaminados con mercurio. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, 19(1), 67-76.

[9] Cordero, A. F. P., SIERRA, J. N. R., & CUELLO, J. R. F. (2010). Diversidad de bacterias endófitas asociadas a raíces del pasto colosuana (*Bothriochloa pertusa*) en tres localidades del departamento de Sucre, Colombia. *Acta Biológica Colombiana*, 15(2), 219-228.

[10] Rajkumar, M., Ma, Y., & Freitas, H. (2013). Improvement of Ni phytostabilization by inoculation of Ni resistant *Bacillus megaterium* SR28C. *Journal of environmental management*, 128, 973-980

