

# Evaluación de la bioestimulación de un consorcio microbiano para la degradación de PCB en suelo

Evaluation of bioestimulation using a microbial consortium to PCB degradation in soil

Nancy Johanna Pino R.\*†, Luisa Munera.\*, Gustavo Peñuela †

## RESUMEN

### INTRODUCCIÓN

En este trabajo se aislaron dos microorganismos con capacidad de degradar “capacidad de degradar policlorobifenilos (PCB)”, a partir de suelo contaminado y se evaluó su efecto como inóculo para realizar bioaumentación con el fin de recuperar suelos contaminados con PCB. Los microorganismos fueron identificados como *Pseudomonas* spp. y *Stenotrophomonas* spp. Se determinó su capacidad de degradar PCB usando los congéneres 44, 66, 118, 138, 153, 170 y 180. En medio líquido usando los PCB como fuente de carbono, se obtuvo porcentajes de degradación de 37%, 32,6% y 15% para los PCB 44, 66 y 118. En los ensayos de bioaumentación se utilizó suelo estéril y suelo no estéril, obteniéndose mayores porcentajes de degradación para todos los congéneres en el suelo estéril, lo cual demostró el efecto negativo de la microbiota autóctona sobre el inóculo adicionado.

### PALABRAS CLAVE

Biorremediación, PCB, bioaumentación, biodegradación.

## ABSTRACT

In this work two microorganisms able to degrade polychlorinated biphenyl (PCB) were isolated from contaminated soil. The isolated microorganisms were identified as *Pseudomonas* spp. and *Stenotrophomonas* spp. In order to evaluate the efficiency of a bioaugmentation strategy for PCB contamination, PCB degrading microorganisms were inoculated into soil microcosms. PCB congeners 44, 66, 118, 138, 153, 170 and 180 were monitored during the bioremediation assay. In liquid culture using PCB as sole carbon source, removal percentages of 37%, 32,6%, and 15% were obtained for PCB 44, 66 and 118 respectively. Bioaugmentation assays were carried out using sterilized and non-sterilized soil, the highest removal percentages for all congeners were observed in sterilized soil, demonstrating the effect of native microorganism on the added inoculum.

## KEY WORDS

Bioremediation, PCB, bioestimulation, biodegradation

## INTRODUCTION

Los bifenilos policlorobifenilos (PCB) son un grupo de 209 compuestos orgánicos clorados llamados congéneres,<sup>1</sup> ampliamente utilizados en el ámbito industrial hasta 1986,<sup>2</sup> cuando fueron prohibidos debido a su persistencia y toxicidad.<sup>3,4</sup> En la actualidad diferentes matrices ambientales están contaminadas con residuos de PCB en altas concentraciones, especialmente suelos y sedimentos debido a la afinidad de estos compuestos por la materia orgánica.<sup>5,6</sup> La contaminación por PCB se considera una problemática ambiental de gran preocupación mundial, por esta razón, los PCB han sido incluidos como compuestos prioritarios en la convención de Estocolmo sobre compuestos orgánicos persistentes.<sup>7,8</sup>

\* Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia, calle 70 # 52-21, Medellín, Colombia † Grupo Diagnóstico y Control de la Contaminación, Facultad de Ingeniería, Sede de Investigación Universitaria, Universidad de Antioquia, calle 70 # 52-21, Medellín, Colombia. Contacto: [nancyjohanna@gmail.com](mailto:nancyjohanna@gmail.com) Recepción: 5-5-2015. Aceptación: 10-08-2015.

Las características de los PCB que permitieron que fueran ampliamente utilizados en la industria, también los convirtieron en un peligro para el ambiente. Su alta estabilidad hace que sean resistentes a la degradación, por lo cual pueden permanecer en el ambiente por muchos años y por su carácter lipofílico se depositan en los tejidos de los organismos, acumulándose a través de las cadenas alimenticias.<sup>9</sup>

La DL50 de los PCB en animales, puede ir de 0,5 g/kg a 11,3 g/Kg de peso corporal.<sup>10</sup> La absorción de PCB en humanos y animales se da a través de la piel, la respiración y el tracto gastrointestinal. Una vez ingeridos, los PCB son transportados por el torrente sanguíneo al hígado, para acumularse en el tejido adiposo.<sup>11</sup> Los efectos adversos de los PCB en la salud dependen de la edad, el sexo, la vía de exposición y la parte del cuerpo donde estén concentrados. Estudios en animales han evidenciado la toxicidad de PCB para aves, peces y mamíferos causándoles daño hepático y la muerte a través de la ingesta de alimento contaminado.<sup>12</sup> En aves, se ha demostrado, que los PCB tienen un efecto anti estrogénico, lo que impide una adecuada calcificación de la cascara de los huevos y produce una pérdida del embrión.<sup>13</sup> Este efecto anti estrogénico también puede tener un efecto sobre la capacidad de reproducción de otras especies de animales. En ecosistemas marinos se ha comprobado que afectan la productividad y la composición de las comunidades de fitoplancton, que es la fuente primaria de la cadena alimenticia marina y uno de los mayores productores de oxígeno del planeta.<sup>14</sup>

Estudios epidemiológicos realizados en trabajadores expuestos a PCB, han reportado que en estos hay un incremento en el desarrollo de casos raros de cáncer hepático y melanoma maligno, además de otros efectos como lesiones en la piel, hepatitis, pérdida de peso, compromiso inmunológico, daños en el sistema nervioso central y cambios de comportamiento.<sup>15</sup>

El uso de microorganismos para la degradación de compuestos contaminantes o biorremediación es una alternativa eficiente y económica para la recuperación de suelos contaminados con PCB.<sup>16</sup> La bioestimulación, es una de las estrategias que se usa durante la biorremediación y se basa en la adición de microorganismos metabólicamente activos al suelo, con el fin de aumentar la velocidad de degradación de compuestos.<sup>17</sup> El éxito de la bioaumentación depende de factores bióticos y abióticos, siendo uno de los más importantes la adecuada selección de las cepas microbianas a inocular.<sup>18</sup> Las ce-

pas utilizadas deben tener ciertas características como alta capacidad de degradación, capacidad de adaptación y resistencia al ataque de las comunidades microbianas autóctonas.<sup>19,20</sup>

Existen varios reportes de microorganismos degradadores de PCB,<sup>21</sup> sin embargo estos no pueden ser utilizados en todos los suelos debido a las características antes mencionadas.<sup>19</sup> El objetivo de este trabajo fue identificar un consorcio microbiano con capacidad de degradar PCB y evaluar su uso en un proceso de bioaumentación para la recuperación de suelos contaminados con PCB.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El suelo usado en todos los ensayos fue obtenido de un vivero y fue contaminado artificialmente con aceite de transformador contaminado con la mezcla de PCB conocida como Aroclor 1260, ya que es una de las mezclas comerciales más comúnmente encontradas en los transformadores en Colombia.<sup>22</sup> Siete kilogramos de suelo fueron depositados en un recipiente de aluminio y el aceite fue agregado en porciones de 50 mL para un volumen final de 600 mL. Durante cada adición de aceite, el suelo se mezcló fuertemente durante 10 min para homogenizar la distribución del aceite, se dejó reposar por otros 10 min y luego se le agregaron otros 50 mL de aceite. El proceso se repitió hasta alcanzar el volumen final. Después de este proceso el suelo fue guardado por 6 meses para su estabilización y posterior uso en los ensayos.

## AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS

Diez gramos de suelo contaminado se adicionaron a 90 mL de tampón fosfato con esferas de vidrio (1 mm), estas soluciones se incubaron en agitación por 1 h a 28°C y 120 rpm. Después del tiempo de incubación, la suspensión obtenida se diluyó de manera seriada hasta 10<sup>6</sup>, se sembraron 100 µl de la dilución en medio mínimo mineral M9<sup>23</sup> solidificado con agar bacteriológico y suplementado con cristales de bifenil (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) como única fuente de carbono.<sup>24</sup> Las cajas se incubaron a 28°C por 5 días, después de este tiempo se hizo el recuento y se purificaron las colonias por siembras

sucesivas en medio mineral con bifenil. Para seleccionar los aislamientos con mayor capacidad de degradación se llevó a cabo un ensayo en concentración mínima inhibitoria, usando concentraciones entre 500 mg/L y 2500 mg/L de bifenil. Los aislamientos que mostraron crecimiento a mayor concentración fueron seleccionadas para los ensayos posteriores.

### DEGRADACIÓN DE PCB

Para evaluar la capacidad de degradación de PCB de los aislamientos seleccionados, se utilizaron estándares de los congéneres de PCB (Dr. Ehrenstorfer, Augsburg, Alemania) que se muestran en la **Tabla 1**. La remoción de PCB fue monitoreada mediante el análisis de estos 7 congéneres de PCB que son los más representativos en el Aroclor 1260.<sup>25</sup> Se preparó un inóculo con los microorganismos seleccionados, cultivándolas en un erlenmeyer con 200 mL de medio M9 suplementado con 100 mg/L de bifenilo.<sup>23</sup> Todos los cultivos fueron incubados en agitación a 30°C y 120 rpm por 48 h, luego se lavaron tres veces con tampón fosfato, centrifugando la biomasa a 5000 rpm por 10 min. El sedimento fue diluido en medio M9 hasta una DO600nm de 1. Los ensayos de biodegradación se realizaron en tubos de vidrio con tapón de caucho, con 1 mL de la suspensión bacteriana y una concentración final de cada uno de los congéneres de 10 mg/L, los cultivos fueron incubados a 30°C por 48 h en agitación a 120 rpm. Todos los ensayos fueron hechos por triplicado y como control se utilizó medio M9 con PCB pero sin inocular. Después del tiempo de incubación, se determinó la concentración residual de PCB por cromatografía de gases.

### IDENTIFICACIÓN DE LOS AISLMIENTOS

Los microorganismos aislados se caracterizaron por coloración de Gram, producción de catalasa, oxidasa y descripción de características macroscópicas. La identificación se realizó mediante la amplificación por PCR del gen 16S rDNA usando los cebadores 27F y 1942R. La reacción se llevó a cabo en un volumen final de 50 µL, conteniendo Buffer 1X, MgCl<sub>2</sub> 2,5 mM, dNTPs 0,2 mM, cebadores 0,25 µM, taq polimerasa (Bioline, MA, USA) 0,1 U y 10 ng/µL de ADN. La amplificación se realizó con el siguiente protocolo: 1 ciclo a 94°C por 5 min, 35 ciclos de 94°C por 1 min,

48°C por 30 s y 72°C por 1 min, y un ciclo final a 72°C por 5 min. Los productos de la PCR fueron visualizados por electroforesis en un gel de agarosa al 1% (P/V). Los amplicones fueron secuenciados por MacroGen (Korea). Las secuencias obtenidas fueron editadas usando el software Genius®<sup>26</sup> y la presencia de secuencias quimeras se evaluó mediante el software CHIMERA CHECK. Las secuencias editadas fueron comparadas con otras secuencias en el GenBank usando BLAST (Basic Local Alignment Search Tool).

Los microorganismos también fueron evaluados para detectar la presencia del gen bphA1, el cual codifica la subunidad grande de la bifenil dioxigenasa, que es la primera enzima de la vía catabólica del bifenil.<sup>23</sup> La amplificación del gen se realizó usando los cebadores A13-(5-ATGTTCCGGCCAGCACATGACG-3) y A1r (5- GTCAAGAGCGGCAGCAGGAC-3) y un protocolo de amplificación descrito previamente.<sup>27</sup>

**Tabla 1.** Congéneres de PCB utilizados y su concentración

Congéneres de PCB	Concentración mg/L
44 (2,2', 3,5' - Tetraclorobifenil)	0,53 mg/L
66 (2,3', 4,4' - Tetraclorobifenil)	1,1 mg/L
118 (2,3', 4,4',5- Pentaclorobifenil)	21,8 mg/L
138 (2,2',3, 4,4',5' - Hexaclorobifenil)	38,7 mg/L
153 (2,4,5, 2',4',5' - hexaclorobifenil)	6,2 mg/L
170 (2,2',3,3',4,4',5-Heptaclorobifenil)	2,4 mg/L
180 (2,2',3,4,4',5,5'-Heptaclorobifenil)	17 mg/L

### ENSAYO DE BIOAUMENTACIÓN PARA LA DEGRADACIÓN DE PCB EN SUELO

El ensayo se llevó a cabo en un experimento tipo batch. Se depositaron 100 g de suelo en recipientes plásticos, a los cuales se les añadieron 25 mL de la mezcla de bacterias suspendidas en tampón fosfato para alcanzar una concentración final de 10<sup>6</sup> UFC/g suelo. Los ensayos realizados son descritos en la **Tabla 2**. La esterilización del suelo fue llevada en una autoclave a 121°C a 1.1 atm por 1 h, para comprobar la efectividad de la esterilización, las muestras del suelo fueron cultivadas en caldo LB e incubadas a 30°C por 48 h. Se consideró estéril aquel suelo que no

**Tabla 2.** Ensayos de degradación en suelos

Ensayo	Descripción
1	Suelo estéril, con PCB mas mezcla de bacterias
2	Suelo estéril, con PCB sin adición de bacterias
3	Suelo sin esterilizar, con PCB, mas mezcla de bacterias
4	Suelo sin esterilizar, con PCB sin mezcla de bacterias
5	Suelo sin PCB mas adición de mezcla de bacterias

mostrara turbidez después del tiempo de incubación. Los recipientes se incubaron a 28°C por 45 días. Se tomaron muestras al iniciar el ensayo y al final para determinar la concentración de PCB y cuantificación del gen BphA1.

#### CUANTIFICACIÓN DEL GEN BPHA1 EN SUELO POR PCR EN TIEMPO REAL.

El ADN del suelo fue extraído usando el kit Power-soil® (Mo Bio, CA, USA) de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Para la cuantificación del gen BphA1 se utilizaron los cebadores descritos anteriormente. La reacción de PCR se llevó a cabo en un termociclador LightCycler 1.5 (Roche, Bogotá, Colombia). El volumen final de reacción fue 20 µl que contenía 10 µl del FastStart SYBR Green Master (Roche, Bogotá Colombia), 0.5 mM de cada primer y 10 µl de ADN o agua grado PCR como control negativo. El protocolo de amplificación fue: 1 ciclo a 95°C por 10 min, seguido por 45 ciclos a 95°C por 30 s, 55°C por 30s y 72°C por 1 min.

#### CUANTIFICACIÓN DE PCB

La extracción de PCB del medio de cultivo se llevó a cabo mediante una extracción líquido-líquido con hexano; las muestras fueron mantenidas a 4°C durante el proceso para evitar la pérdida por volatilización. Para la extracción se adicionó un volumen de hexano a los tubos con cultivo y se agitaron en vórtex por 1 min y se transfirió la fase superior a otro tubo, este proceso se repitió y al final se unieron las dos extracciones. Cada muestra se evaporó con nitrógeno hasta un volumen de 500 µl aproximadamente y después se reconstituyó hasta 5 mL con hexano.

Para la extracción de PCB del suelo se tomaron 10 g de suelo previamente secado a temperatu-

ra ambiente. La extracción se llevó a cabo con 20 mL de una mezcla de acetona:hexano 1:1 (Merck, Darmstadt, Alemania), luego se sonicó por 20 min y se filtró a través de acrodisco de 0.22 µm de nylon Whatman®. Este proceso se repitió tres veces. El extracto fue secado con nitrógeno hasta 1 mL y se reconstituyó a 5 mL con hexano. Para la limpieza del extracto se utilizó ácido sulfúrico al 50%. El proceso de limpieza fue repetido las veces que fue necesario.

La cuantificación de los congéneres de PCB se realizó por cromatografía GC-MS. El procedimiento se llevó a cabo en un cromatógrafo modelo 7890A (Agilent Technologies, CA, USA) acoplado a un espectrómetro de masas MSD modelo 5975C, con energía de ionización por impacto electrónico de 70eV y un automuestreador 7693 de Agilent. Se usó una columna capilar HP-5MS UI (Agilent) de 30 m de longitud, 0,25 mm de diámetro interno y 0,25 µm de espesor de película. Para el análisis de datos se utilizó el software Chemstation® de la misma casa comercial. Como estándar interno se utilizó el PCB 209. Las condiciones cromatográficas para GC-MS utilizadas fueron las siguientes: Gas de arrastre: Helio a 1,5 mL/min. Programa del horno: Comenzó a 40°C durante 2,0 min, luego aumentó hasta 150°C a una rata de 30°C/min por 1 min, posteriormente aumentó hasta 250°C a una rata de 3°C/min, tiempo en el cual permaneció 1.0 min, volvió a aumentar hasta 310°C a una rata de 25°C/min, tiempo en el cual permaneció 10.0 min. El programa de temperatura también incluyó un ciclo posterior de 5 min a 310°C. Volumen de inyección: 2 µL. Tipo adquisición: SIM/SCAN. Tiempo total corrido: 53,4 minutos.

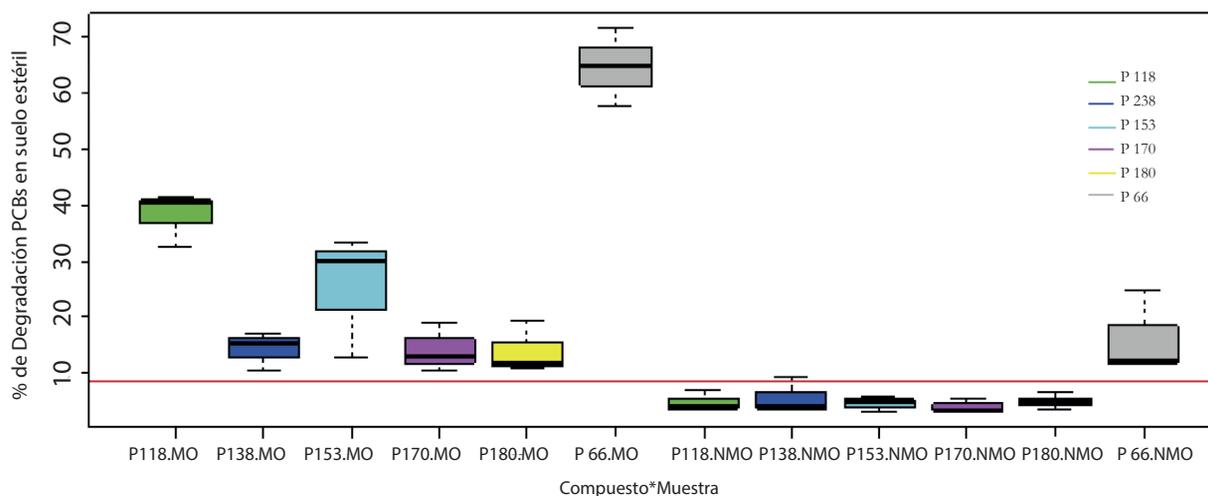
#### ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos fueron analizados a través del programa estadístico "R" empleando técnicas de exploración de datos, elaboración de modelos lineales, verificación de supuestos y pruebas de contraste entre medias para determinar diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### IDENTIFICACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS

Durante el proceso de aislamiento de microorganismos degradadores de PCB, se obtuvieron 15 aisla-



**Figura 1.** Degradación de congéneres de PCB en suelo estéril con adición y sin adición de microorganismos. MO (adición de microorganismos), NMO (sin adición de microorganismos).

mientos de las cuales fueron seleccionadas dos por su capacidad para crecer a altas concentraciones de bifenil. Las cepas se identificaron como *Stenotrophomonas* spp. y *Pseudomonas* spp. En ambos microorganismos también se detectó el gen bphA1, lo cual confirmó su habilidad para degradar PCB (Figura 1). *Pseudomonas* es un género bacteriano caracterizado por su versatilidad para utilizar una gran variedad de compuestos como fuente de carbono, por lo cual se ha aislado con frecuencia de ambientes contaminados con PCB y se ha demostrado su capacidad para degradar dichos compuestos.<sup>28</sup> Así mismo varias especies del género *Stenotrophomonas* también han sido reportadas previamente como degradadoras de varios congéneres de PCB.<sup>29</sup>

#### DEGRADACIÓN DE PCBs POR LOS MICROORGANISMOS AISLADOS

En la Tabla 3 se muestran los porcentajes de degradación de los congéneres por los microorganismos en medio líquido. La degradación de los PCB por bacterias se puede dar mediante dos procesos: degradación oxidativa por microorganismos aerobios y dechloración reductiva por microorganismos anaerobios. El mecanismo descrito con más frecuencia para la degradación aeróbica es la 2,3 y 3,4 dioxigenación,<sup>30</sup> sin embargo la cantidad y la posición de los átomos de cloro afectan esta reacción, por lo cual muchas especies de microorganismos tienen un ataque preferencial y

diferente con cada molécula de PCB.<sup>31</sup> Durante este ensayo se observó que las cepas tuvieron la capacidad de degradar 3 congéneres de los 7 que fueron evaluados inicialmente. Los congéneres monoclorados son utilizados por las bacterias como sustrato para el crecimiento, pero la degradación de congéneres más clorados se da por procesos de cometabolismo,<sup>29,31</sup> donde muchas veces es necesaria la inducción de los genes de la vía metabólica por moléculas análogas,<sup>23</sup> esto podría explicar porque solamente tres congéneres fueron degradados. Los PCB son moléculas muy estables, que resisten la degradación química y biológica, sin embargo los microorganismos aislados lograron degradar un congénere pentaclorado, lo cual demuestra su capacidad metabólica para la degradación de PCB.

**Tabla 3.** Degradación de congéneres de PCB por los microorganismos aislados

PCB	% Degradación
44	37,00±9.5
66	32,67±6.5
118	15,00±8.1

### DEGRADACIÓN DE PCB DURANTE LA BIOAUMENTACIÓN EN SUELO

En este trabajo se evaluó la disminución de la concentración de PCB, relacionada con la adición de los microorganismos al suelo. En la *Figura 1* se muestran los resultados de remoción de los diferentes congéneres de PCB en los ensayos con suelo estéril. El PCB 44 fue detectado al iniciar los ensayos, sin embargo al final de los experimentos, no fue posible determinar su concentración ya que estuvo por debajo del límite de cuantificación del método. Se ha reportado que los congéneres menos clorados se volatilizan rápidamente después de un vertimiento,<sup>31</sup> por lo que posiblemente la pérdida del PCB 44 estuvo relacionada con procesos de volatilización y no con procesos biológicos.

En el suelo estéril con adición de microorganismos, el PCB 66 fue el congénere en el que se observó mayor remoción (64,6%). La cantidad de cloros en la molécula de PCB, es uno de los factores que influyen en su biodegradación, siendo los PCB menos clorados los que son biodegradados fácilmente,<sup>31</sup> esto podría explicar el mayor porcentaje de remoción del PCB 66 ya que era uno de los compuestos menos clorados evaluados en el ensayo.

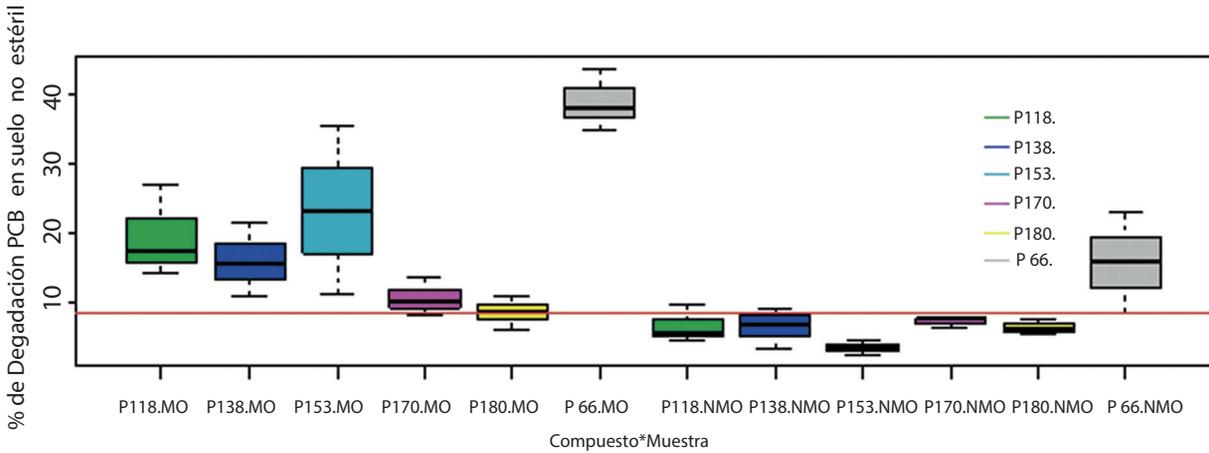
A diferencia de los resultados de remoción obtenidos en los ensayos con medio líquido, en estos ensayos se observó disminución en la concentración de todos los congéneres de PCB analizados. Estos resultados están relacionados con el metabolismo de los PCB por los microorganismos, los cuales utilizan la vía catabólica del bifenil para degradar los PCB, sin embargo como estos compuestos no son el sustrato natural de la vía, su metabolismo produce rendimientos energéticos negativos, lo cual es más evidente al aumentar el número de cloros en la molécula, por lo que usualmente los microorganismos utilizan otros compuestos menos complejos como cosustrato o como inductores de la vía durante su metabolismo.

En el suelo se pueden encontrar diferentes tipos de compuestos derivados de la materia orgánica, que pueden ser utilizados por los microorganismos como sustrato cometabólico para la degradación de PCB caso contrario del medio de cultivo, en donde la única fuente de carbono y energía que se proporcionó provenía de los PCBs. Esto podría explicar por qué en los ensayos en suelo se obtuvo degradación de todos los congéneres y en el medio líquido no, ya que en este

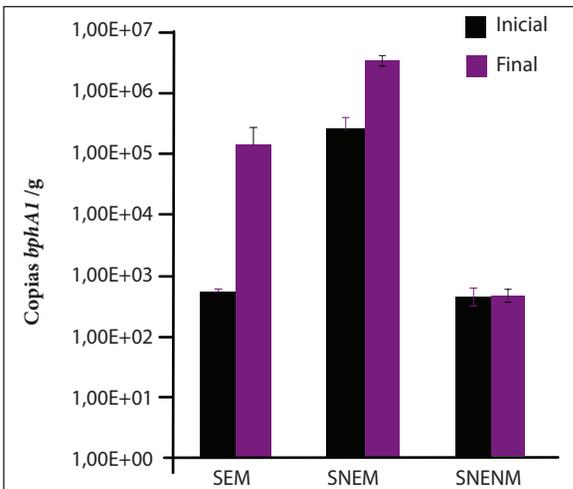
último la única fuente de carbono y energía eran los 7 congéneres de PCB.

En la *Figura 2* se muestran los porcentajes de biodegradación de los diferentes congéneres en suelo no estéril. En este tratamiento PCB 66 también fue el que tuvo mayor porcentaje de biodegradación: 39% con la adición de microorganismos y 11,8% sin la adición de microorganismos. Sin embargo, estos porcentajes fueron menores a los obtenidos con el suelo estéril con adición de microorganismos. Un comportamiento similar fue observado con el PCB 118, cuyo porcentaje de biodegradación en el suelo estéril más microorganismos fue 34,7% y en el suelo no estéril con adición de microorganismos fue 22,8%, y sin adición de microorganismos el porcentaje de biodegradación fue 7,8%. Al comparar los porcentajes de degradación de los congéneres con los diferentes tratamientos, se puede concluir que los microorganismos aislados, aumentaron la degradación de los PCB, ya que tanto en el suelo estéril como en el suelo no estéril, cuando se hizo adición de microorganismos aumentó el porcentaje de biodegradación, sin embargo, en el suelo estéril este porcentaje fue mayor, lo cual indica que los microorganismos presentes en el suelo afectaron la actividad metabólica de los microorganismos adicionados. Este efecto en la bioaumentación ha sido reportado previamente<sup>19</sup> y es una de las causas por la que los microorganismos que degradan compuestos tóxicos en laboratorio, en campo no muestran la misma actividad.

En este ensayo también se observó que el porcentaje de remoción para cada congénere fue diferente, lo cual como se mencionó anteriormente, está relacionado con la cantidad de cloro de las moléculas.<sup>31</sup> Esto se pudo observar especialmente con los PCB 170 y 180, que eran los más clorados en el ensayo y tuvieron los porcentajes de biodegradación más bajos. Sin embargo teniendo en cuenta los porcentajes de degradación obtenidos para los otros PCB, se puede afirmar que la bioaumentación con estas bacterias favoreció la degradación de PCB, pero igualmente fueron inhibidas por la microbiota nativa, por lo que para poder mantener su actividad metabólica, muy posiblemente sea necesario hacer varias adiciones de microorganismos en el tiempo.



**Figura 2.** Degradación de congéneres de PCB en suelo no estéril con aditn y sin adición de microorganismos. MO (adición de microorganismos), NMO (sin adición de microorganismos)



**Figura 3** Concentración del gen BphA1 en los ensayos de bioaumentación SEM (suelo estéril + microorganismos), SNEM (Suelo no estéril más microorganismos) y SNENM (suelo no estéril sin microorganismos).

### CONCENTRACIÓN DE GEN BPH A1 DURANTE LA BIOAUMENTACIÓN EN SUELO

En la **Figura 3** se muestran los resultados de concentración del gen BphA1 en los ensayos de bioestimulación. Al comparar los diferentes resultados se encontró que la mayor concentración del gen BphA1 se obtuvo en el tratamiento con suelo no esterilizado al que se le adicionaron microorganismos, esto puede estar relacionado con la presencia en el suelo de microorganismos nativos con capacidad de degradar PCB y al realizar la bioaumentación, hubo un in-

cremento en el número de microorganismos degradadores. Sin embargo, esta mayor concentración de microorganismos no estuvo relacionada con la degradación de PCB, ya que en el con suelo esterilizado con bioaumentación, el porcentaje de degradación de los diferentes congéneres fue mayor, lo cual sugiere que en el otro tratamiento, pudo afectar el metabolismo de los PCB por los microorganismos degradadores adicionados. Este resultado también indica que un alto número de microorganismos degradadores no es suficiente para lograr altos porcentajes de biodegradación, sino que también hay que tener en cuenta otros factores relacionados con la ecología microbiana.

## CONCLUSIONES

Aunque se lograron aislar microorganismos con capacidad de crecer en medio con bifenil como una fuente de carbono, la degradación de PCB se vio limitada a solo tres congéneres, lo cual demuestra la necesidad de compuestos inductores de la vía catabólica para aumentar la capacidad de degradación en microorganismos. La bioaumentación, agregando microorganismos con capacidad de degradar PCB, mostró ser una buena estrategia para aumentar la degradación en suelo, sin embargo este proceso estuvo influenciado por la presencia de la comunidad microbiana autóctona, obteniéndose menores porcentajes de degradación en el suelo no estéril.

## CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no tienen ningún conflicto de interés.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Vasilyeva G, Strijakova E.** Bioremediation of Soils and Sediments Contaminated by Polychlorinated Biphenyls. *Microbiology* 2007; 76 :639-53
- Gomes H, Dias-Ferreira C, Ribeiro A.** Overview of in situ and ex situ remediation technologies for PCB-contaminated soils and sediments and obstacles for full-scale application. *Sci Total Environ* 2013; 445-6:237-60
- Aken BV, Correa PA, Schnoor JL.** Phytoremediation of polychlorinated biphenyls: new trends and promises. *Environ Sci Technol* 2009; 44: 2767-76
- Hornbuckle K, Robertson L.** Polychlorinated Biphenyls (PCBs): Sources, Exposures, Toxicities. *Environ Sci Technol* 2010; 44:2749-51
- Wolska L, Mechlińska A, Rogowska J, Namieśnik J.** Polychlorinated biphenyls (PCBs) in bottom sediments: Identification of sources. *Chemosphere* 2014; 111:151-6
- Xu L, Teng Y, Li Z, Norton J, Luo Y.** Enhanced removal of polychlorinated biphenyls from alfalfa rhizosphere soil in a field study: The impact of a rhizobial inoculum. *Sci Total Environ* 2010; 408:1007-13
- Fiedler H, Abad E, Van Bavel B, De Boer J, Bogdal C, Malisch R.** The need for capacity building and first results for the Stockholm Convention Global Monitoring Plan. *Trend Anal Chem* 2013; 46:72-84
- Passatore L, Rossetti S, Juwarkar A, Massacci A.** Phytoremediation and bioremediation of polychlorinated biphenyls (PCBs): State of knowledge and research perspectives. *J Hazard Mater* 2014; 278:189-202
- Hornbuckle K, Robertson L.** Polychlorinated Biphenyls (PCBs): Sources, Exposures, Toxicities. *Environ Sci Technol* 2010; 44:2749-2751
- Giesy J, Kannan K.** Dioxin-like and non-dioxin like effects of polychlorinated biphenyls: Implications for risk assessment. *Lakes & Reservoirs: Research & Management* 2002; 7:139-181
- Pu X, Lee L, Galinsky R, Carlson G.** Bioavailability of 2,3' pentachlorobiphenyl (PCB118) and 2,2' model and a physiologically based extraction test. *Toxicology* 2006; 217:14-21
- Dorneles P, Sanz P, Gauthier E, Alexandre F, Carolina A, Bertozzi P, Martínez M, et al.** High accumulation of PCDD, PCDF, and PCB congeners in marine mammals from Brazil: A serious PCB problem. *Sci Total Environ* 2013; 463-464:309-18
- Rajaei F, Bahramifar N, Esmaili Sari A, Ghasempouri M, Savabieasfahani M.** PCBs and Organochlorine Pesticides in Ducks of Fereydoon-kenar Wildlife. *Bull Environ Contam Toxicol* 2010; 84:577-81
- Brown T, Kuzyk Z, Stow J, Burgess N, Solomon S, Sheldon T, et al.** Effects-based marine ecological risk assessment at a polychlorinated biphenyl-contaminated site in Saglek, Labrador, Canada. *Environ Toxicol Chem* 2013; 32:453-467
- Vasilyeva G, Strijakova E.** Bioremediation of Soils and Sediments Contaminated by Polychlorinated Biphenyls. *Microbiology* 2007; 76:639-653
- Tandlich R, Brezná B, Dercová K.** The effect of terpenes on the biodegradation of polychlorinated biphenyls by *Pseudomonas stutzeri*. *Chemosphere* 2001; 44:1547-55
- Dudášová H, Lukáčová L, Murínová S, Puškárová A, Pangallo D, Dercová K.** Bacterial strains isolated from PCB-contaminated sediments and their use for bioaugmentation strategy in microcosms. *J Basic Microbiol* 2014; 54:253-60
- Fagervold SK, Watts JEM, May HD, Sowers KR.** Effects of bioaugmentation on indigenous PCB dechlorinating activity in sediment microcosms. *Water Res* 2011; 45:3899-907
- Mrozik A, Miga S, Piotrowska-Seget Z.** Enhancement of phenol degradation by a soil bioaugmentation with *Pseudomonas* spp. JS150. *J Appl Microbiol* 2011; 111:1357-70
- Guimarães BCM, Arends JBA, van der Ha D, Van de Wiele T.** Microbial services and their management: recent progresses in soil bioremediation technology. *Appl Soil Ecol* 2010; 46:157-67
- Ionescu M, Beranova K, Dudkova V, Kochankovac L, Demnerova K, Macekb T, et al.** Isolation and characterization of different plant associated bacteria and their potential to degrade polychlorinated biphenyls. *Int Biodeterior Biodegradation* 2009; 63:667-72
- MAVDT.** Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. Inventario preliminar de Compuestos Bifenilos Policlorados- PCB existentes en Colombia, Informe final; 2006.
- Pham T, Tu Y, Sylvestre M.** Remarkable abilities of *Pandoraea pnomenusa* B356 biphenyl dioxygenase to metabolize simple flavonoids. *Appl Environ Microb* 2012; 78:35-60
- Dercova K, Cicmanova J, Lovecka P, Demnerova K, Mackova M, Hucko P, et al.** Isolation and identification of PCB-degrading microorganisms from contaminated sediments. *Int Biodeterior Biodegradation* 2008; 62:219-25
- EPA.** Method 8082A Polychlorinated Biphenyls (PCBs)

- by Gas Chromatography 2007
26. **Randall J, Goldberg N, Kemp J, Radionenko M, French M, Olsen M, et al.** Genetic Analysis of a Novel *Xylella fastidiosa* Subspecies Found in the Southwestern United States. *Appl Environ Microb* 2009; 75: 5631-8
  27. **Li Y, Liang F, Zhu Y, Wang F.** Phytoremediation of a PCB-contaminated soil by alfalfa and tall fescue single and mixed plants cultivation. *J Soil Sci* 2013;13:925-31
  28. **Salihoglu G, Salihoglu N, Aksoy E, Tasdemir Y.** Spatial and temporal distribution of polychlorinated biphenyl (PCB) concentrations in soils of an industrialized city in Turkey. *J Environ Manage* 2011; 92:724-32
  29. **Fairey J, Wahman D, Lowry G.** Effects of natural organic matter on PCB-activated carbon sorption kinetics: implications for sediment capping applications. *J Environ Qual* 2010; 39:1359-68
  30. **Backe C, Cousins IT, Larsson P.** PCB in soils and estimated soil-air exchange fluxes of selected PCB congeners in the south of Sweden. *Environ Pollut* 2004; 128: 59-72
  31. **Furukawa K, Fujihara H.** Microbial degradation of polychlorinated biphenyls: Biochemical and molecular features. *J Biosci Bioeng* 2008;105:433-49