

Biotecnología en la Remediación de Suelo y Agua de Fincas Camaroneras

John Salazar Fiallo

FENACAM, 2013



BIOREMEDIACION

- La Bioremediación es un proceso que utiliza las habilidades catalíticas de microorganismos vivos para un aumento de la velocidad en la extensión de la destrucción de contaminantes. (Autry y Ellis 1992, Liu y Suflita 1993)
- Las comunidades naturales pueden no ser capaces de llevar a cabo los procesos de biodegradación a la velocidad deseada debido a factores físicos o nutricionales limitantes.

PROCESOS DE BIOREMEDIACION

La actividad biológica altera la estructura molecular de los materiales y el grado de alteración determina si se ha producido una biotransformacion o mineralización.

BIOTRANSFORMACION

- Descomposicion de un compuesto organico en otro similar no contaminante o menos toxico.

MINERALIZACION

- Es la descomposicion a dióxido de carbono, agua y compuestos celulares.

BACTERIAS

INTERACCION METABOLICA

JUEGAN UN ROL IMPORTANTE EN LA DINAMICA DE NUTRIENTES EN LOS SISTEMAS DE PRODUCCION DE ACUACULTURA

OXIDACION

REDUCCION

PRINCIPALES RESPONSABLES DE MANTENER EL EQUILIBRIO ECOLOGICO ENTRE MATERIALES VIVOS O MUERTOS EN EL SUELO Y AGUA

CARBONO
NITROGENO
AZUFRE
FOSFORO
HIERRO
MANGANESO

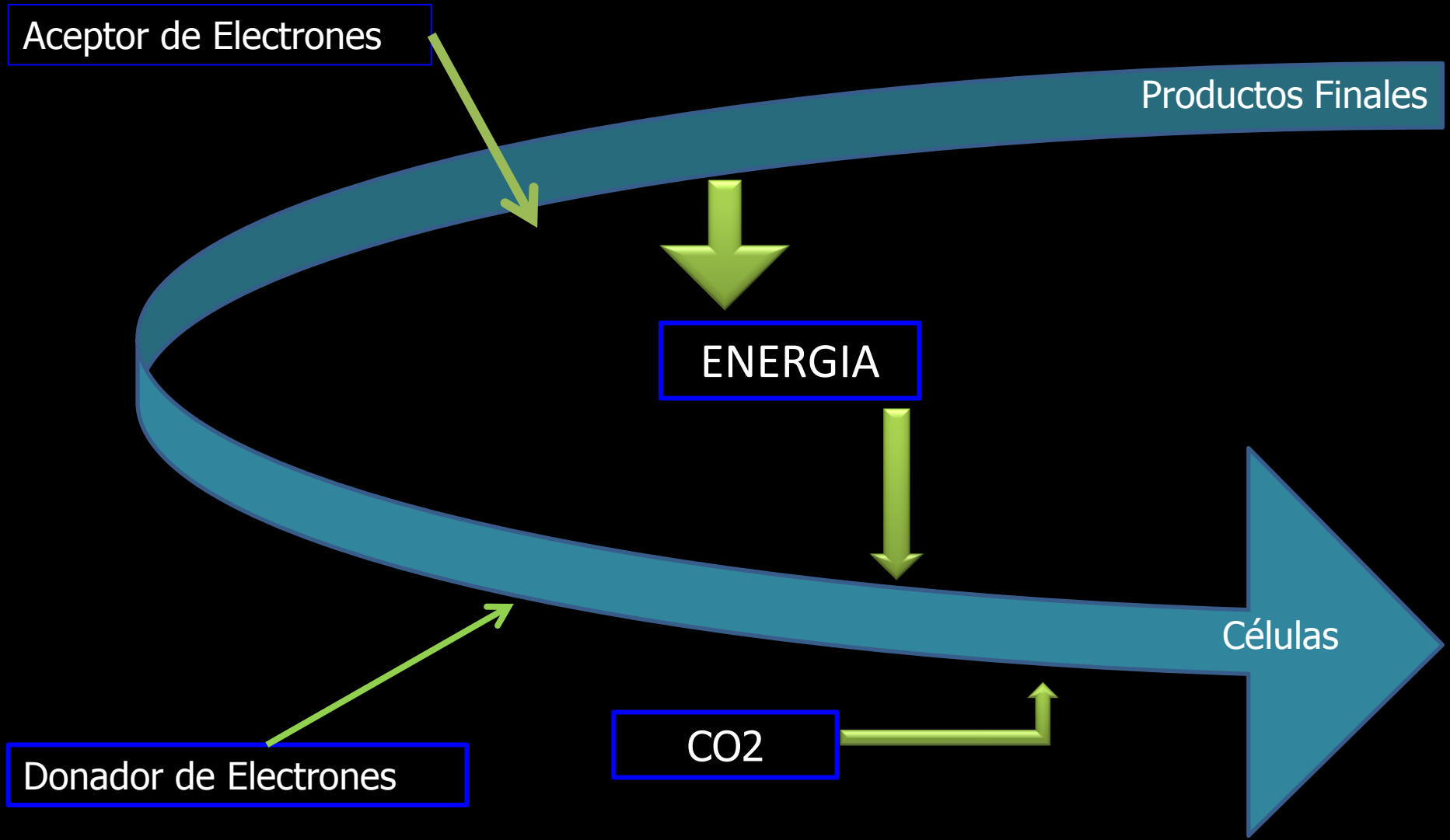
Todos los ciclos biogeoquimicos estan vinculados y el metabolismo relacionado con la transformacion de estos nutrientes tiene impacto global.

Ciclo Biogeoquimico

La cantidad de material orgánico residual y su estado, depende de nuestra habilidad desarrollada en el manejo de las piscinas durante un proceso de producción.



OXIDACION BIOLÓGICA



Aceptor de Electrones

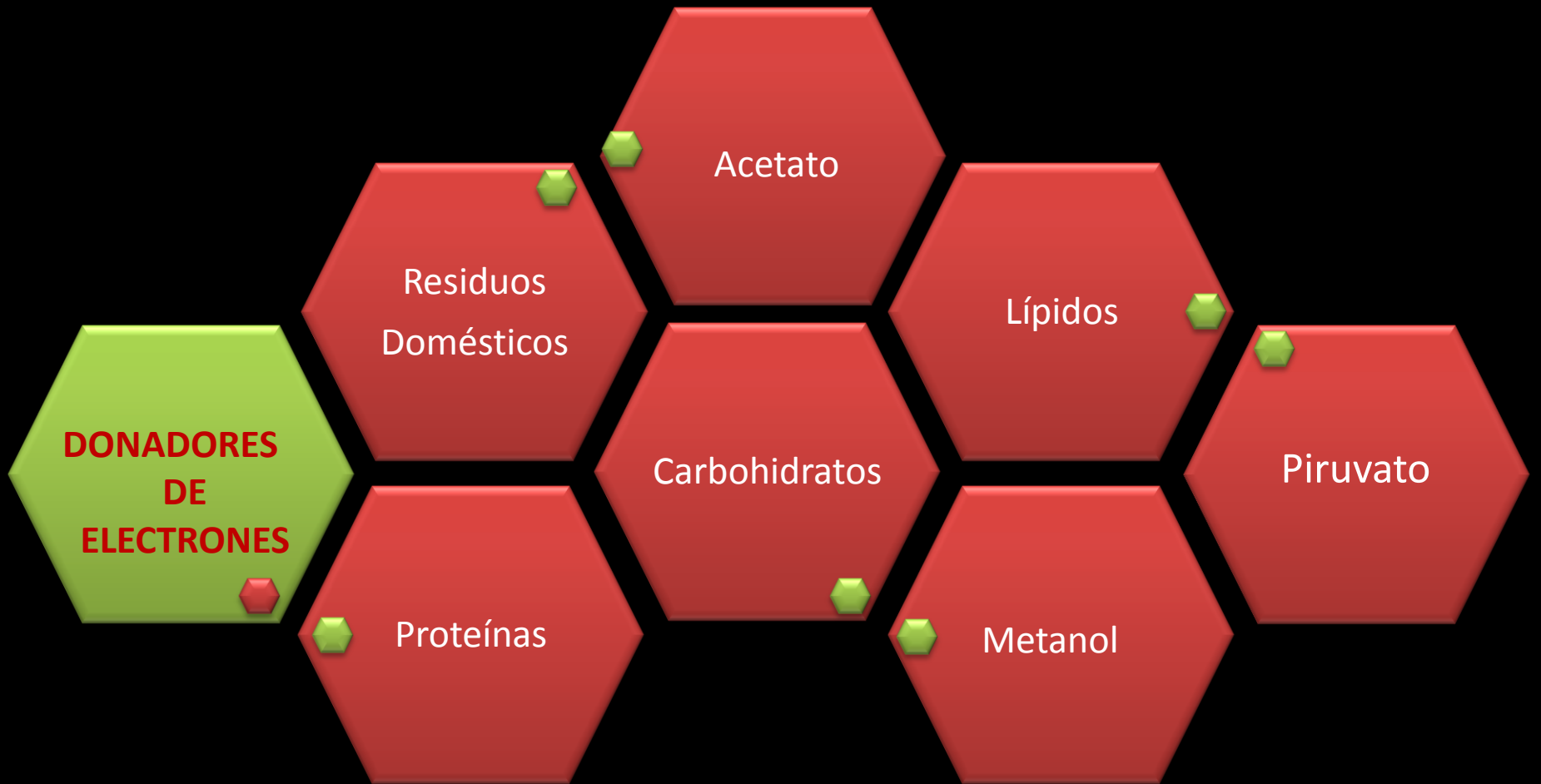
Productos Finales

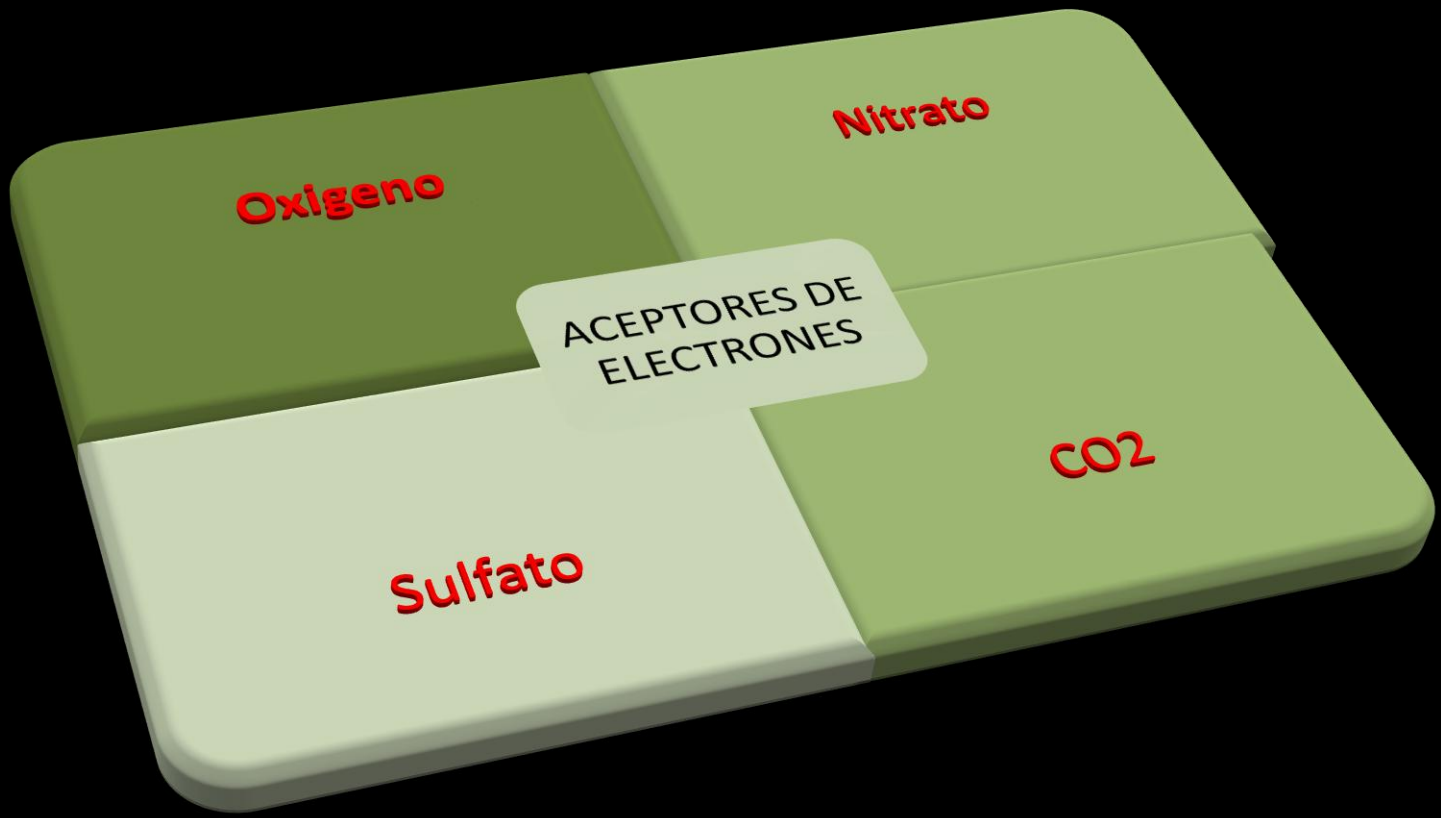
ENERGIA

Células

Donador de Electrones

CO2





Oxígeno

Nitrato

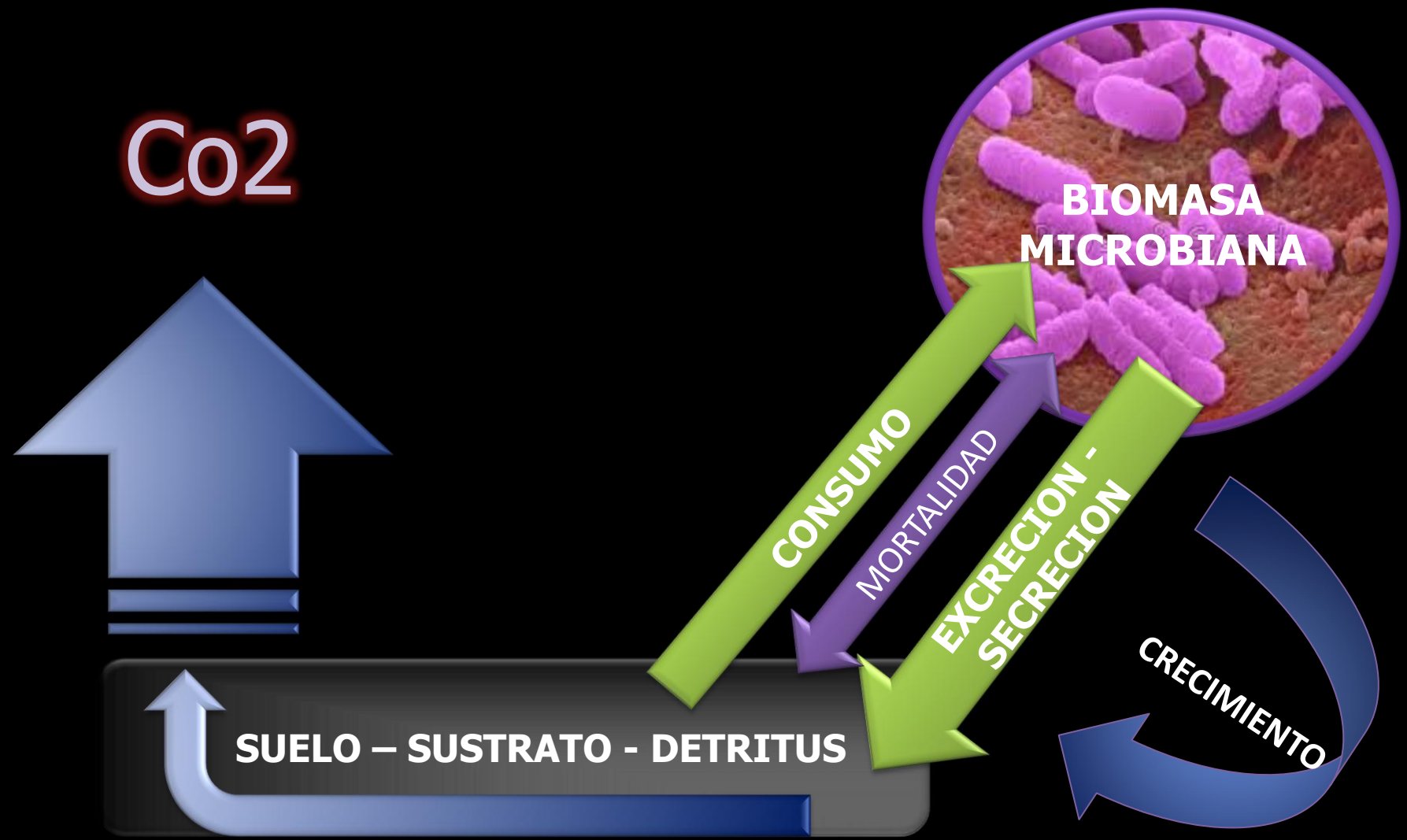
ACEPTORES DE
ELECTRONES

Sulfato

CO₂

DIAGRAMA DEL FLUJO DE CARBONO DURANTE LA DESCOMPOSICION DEL SUSTRATO

MODELO AGREN & BOSSATA



CLASIFICACION DE MICROORGANISMOS Y NECESIDADES NUTRICIONALES ESPECIFICAS

95 %

CARBONO

OXIGENO

NITROGENO

HIDROGENO

FOSFORO

AZUFRE

CALCIO

POTASIO

MAGNESIO

HIERRO

FUENTES DE CARBONO

AUTOTROFOS

HETEROTROFOS

FUENTES DE ENERGIA

FOTOTROFOS

QUIMIOTROFOS

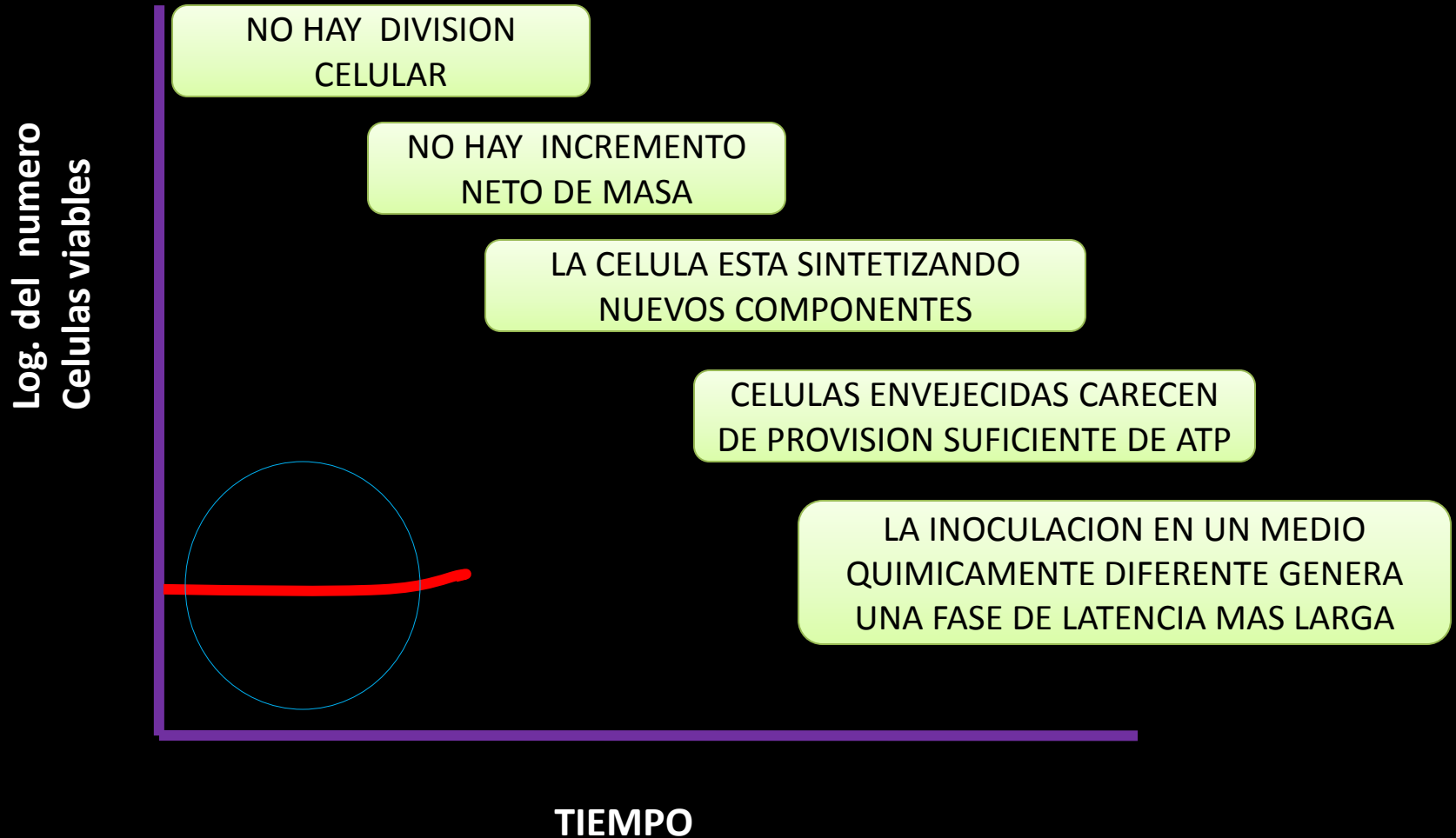
FUENTES DE ELECTRONES

LITOTROFOS

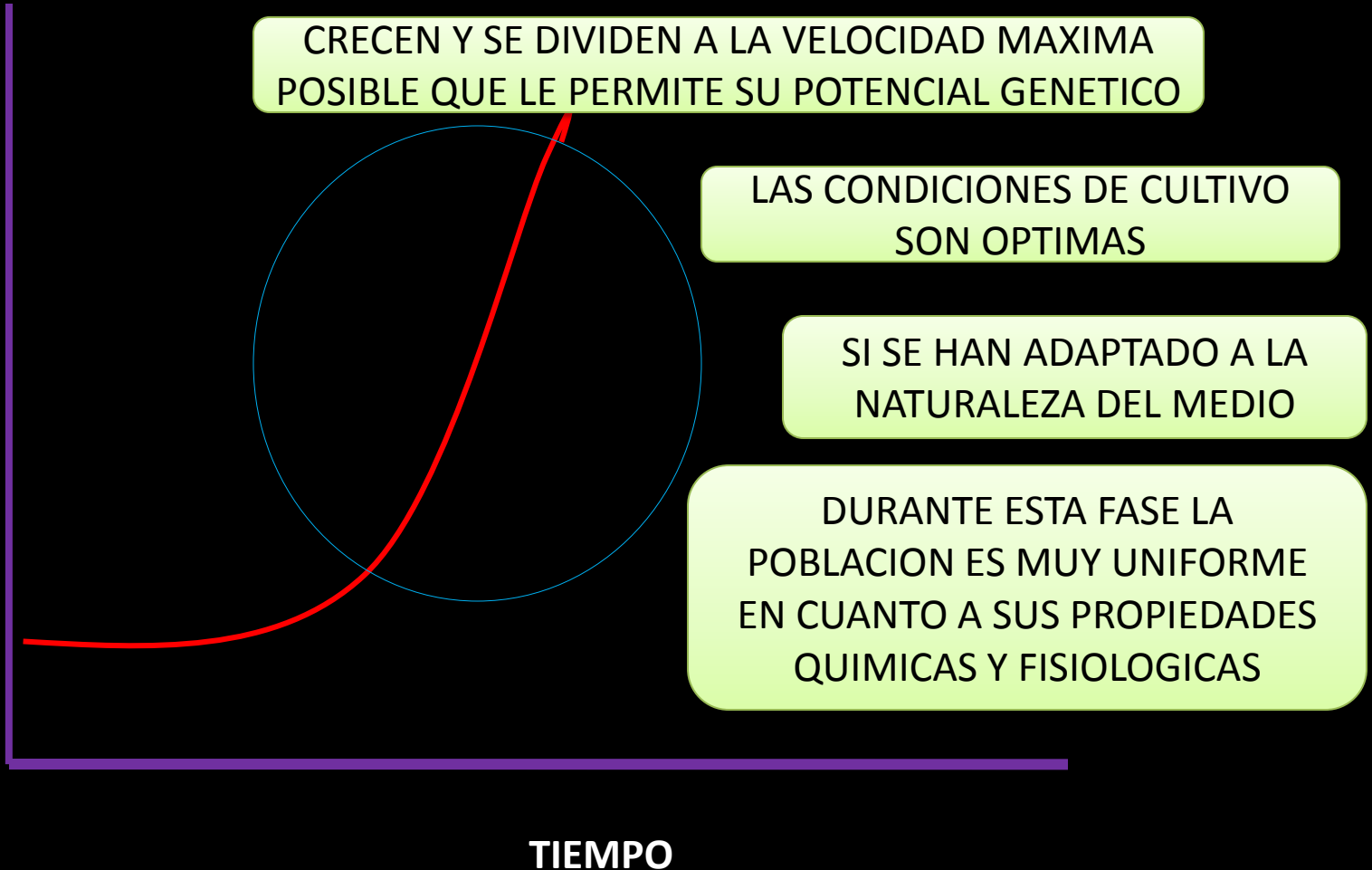
ORGANOTROFOS

FASES DE CRECIMIENTO DE UNA POBLACION O INOCULO

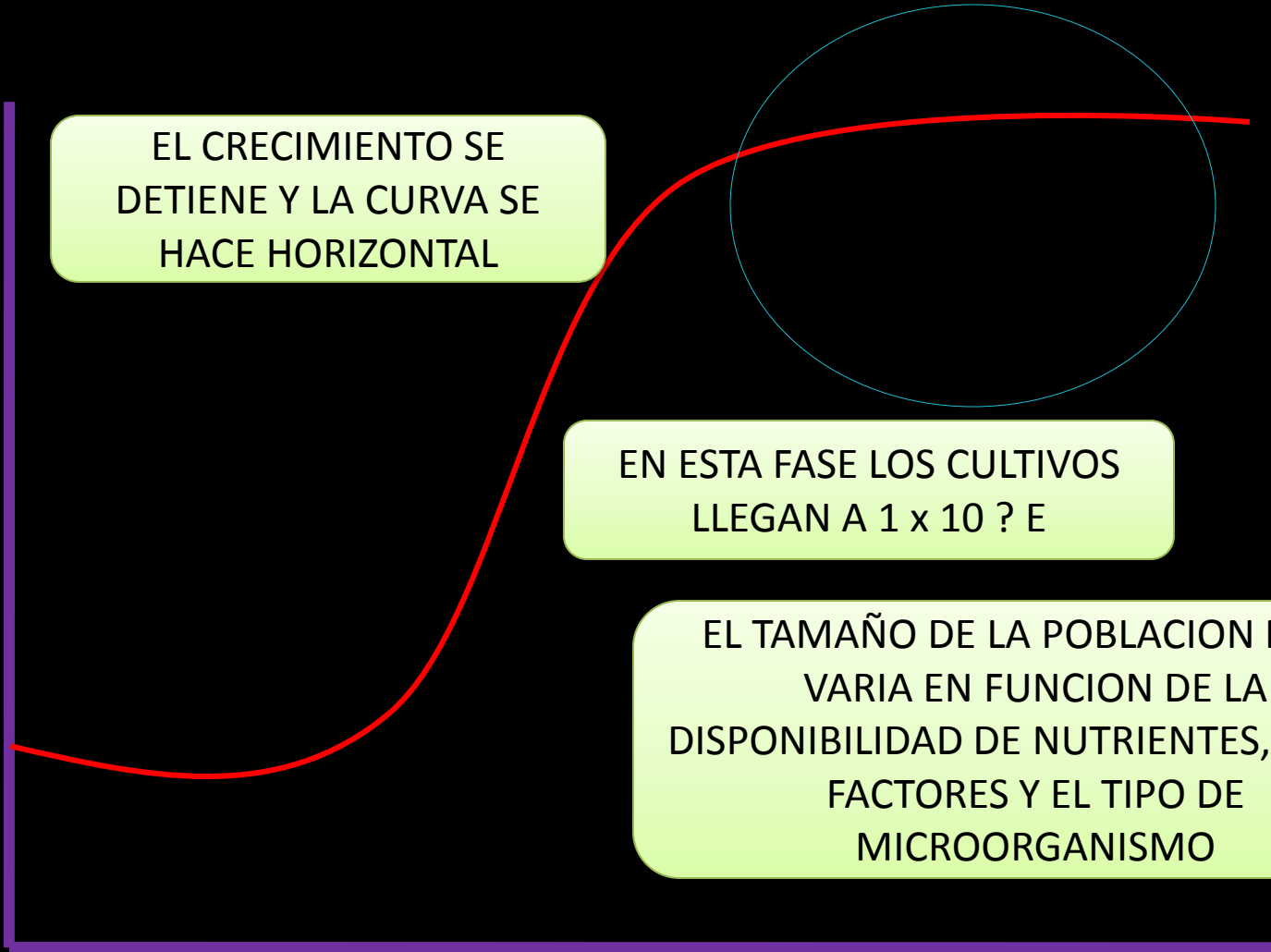
FASE DE LATENCIA



FASE EXPONENCIAL (Lag)



FASE ESTACIONARIA



EL CRECIMIENTO SE
DETIENE Y LA CURVA SE
HACE HORIZONTAL

EN ESTA FASE LOS CULTIVOS
LLEGAN A 1×10^9 E

EL TAMAÑO DE LA POBLACION FINAL
VARIA EN FUNCION DE LA
DISPONIBILIDAD DE NUTRIENTES, OTROS
FACTORES Y EL TIPO DE
MICROORGANISMO

TIEMPO

FASE SENECENTE

**INCAPACIDAD DE CRECER
Y REPRODUCIRSE**

CNV

**RESPUESTA GENETICA
DESENCADENADA**

**MUERTE CELULAR
PROGAMADA**

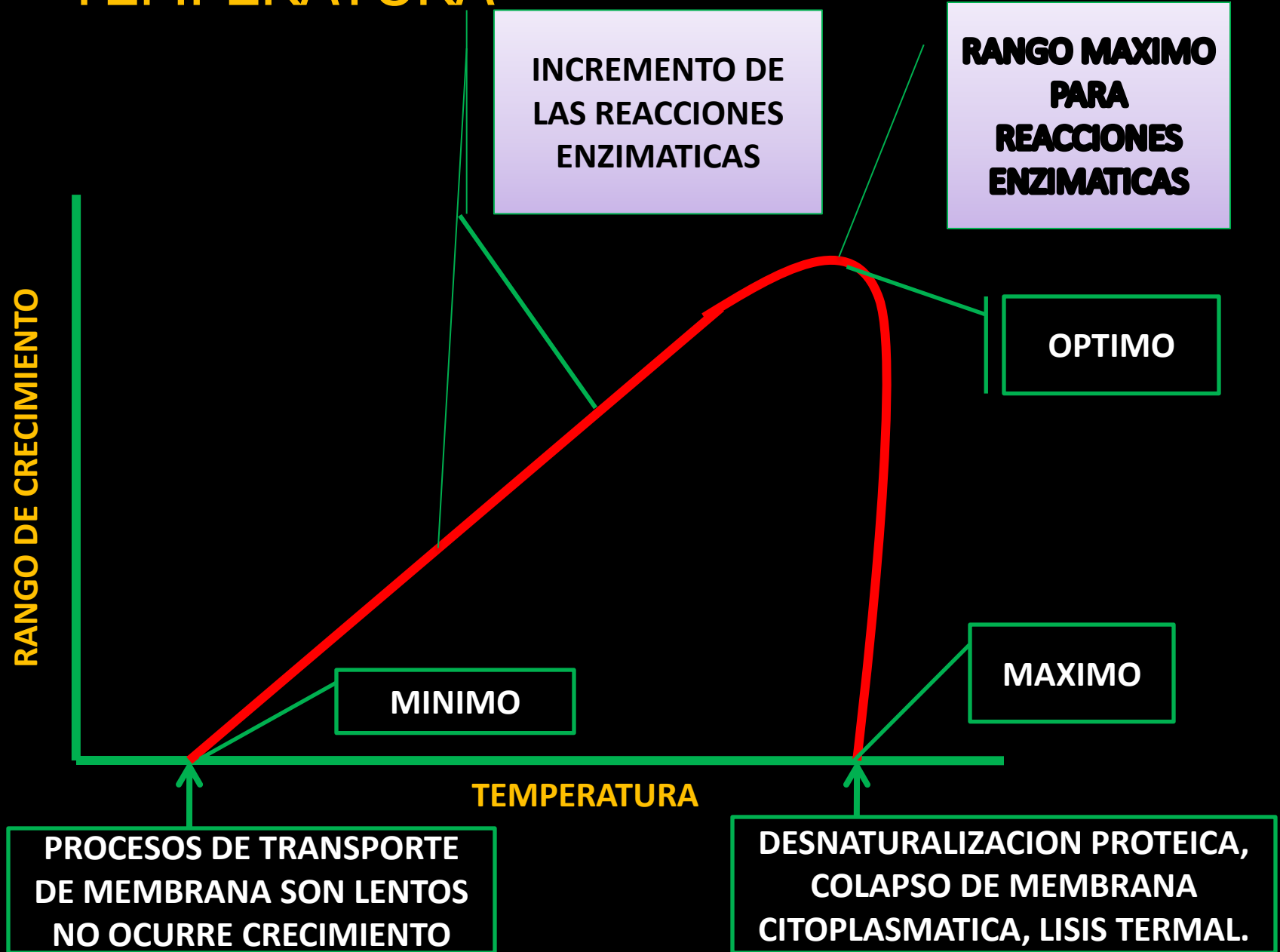
PARAMETROS DE CONTROL EN UNA BIOREMEDIACION VIABLE

- pH
- Temperatura
- Metabolismo del suelo : CO_2
- Redox : suelo / agua
- Amonio
- Nitritos
- Nitratos
- Balance Ionic

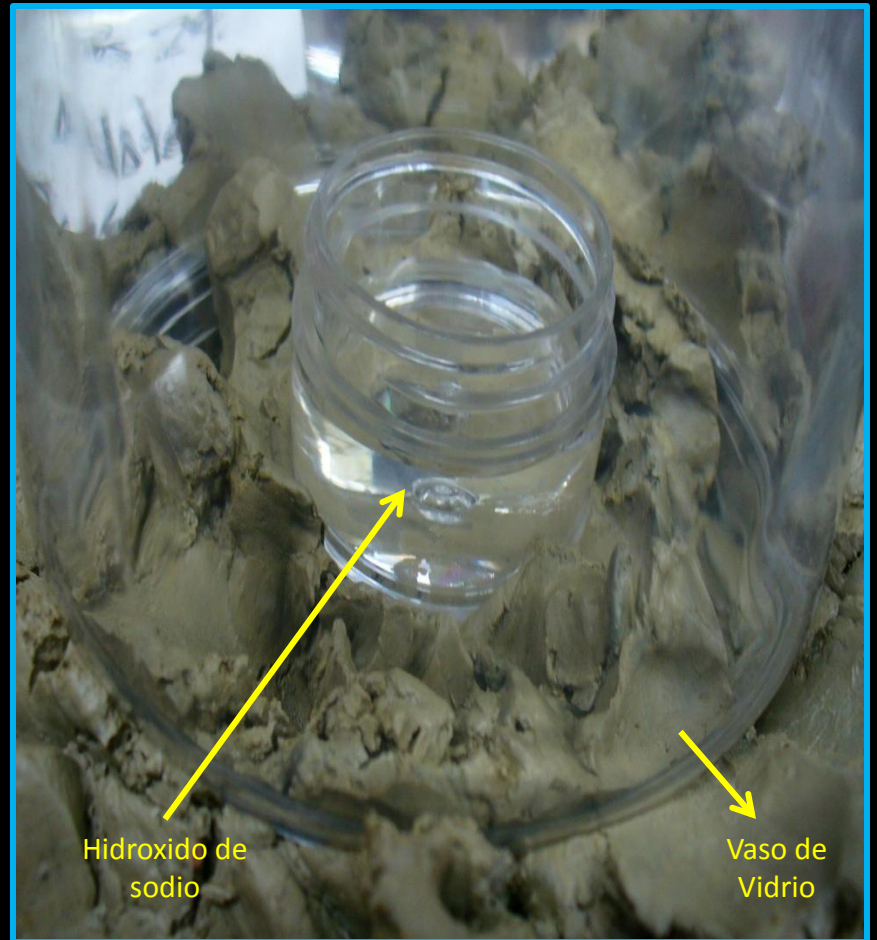
AFECTACION POR pH

- **Directa afectacion** sobre la envoltura celular generando disociacion , protonacion de macromoleculas : lps, proteinas de superficie celular, membrana citoplasmatica, distribucion de cargas locales en forma diferente.
- **Cambios de morfologia celular**, incorrecta division celular, cambios en la adhesion, floculacion, etc.
- Intentos de mantener el ph interior cercano a la neutralidad.
- Conservacion de su integridad.

TEMPERATURA



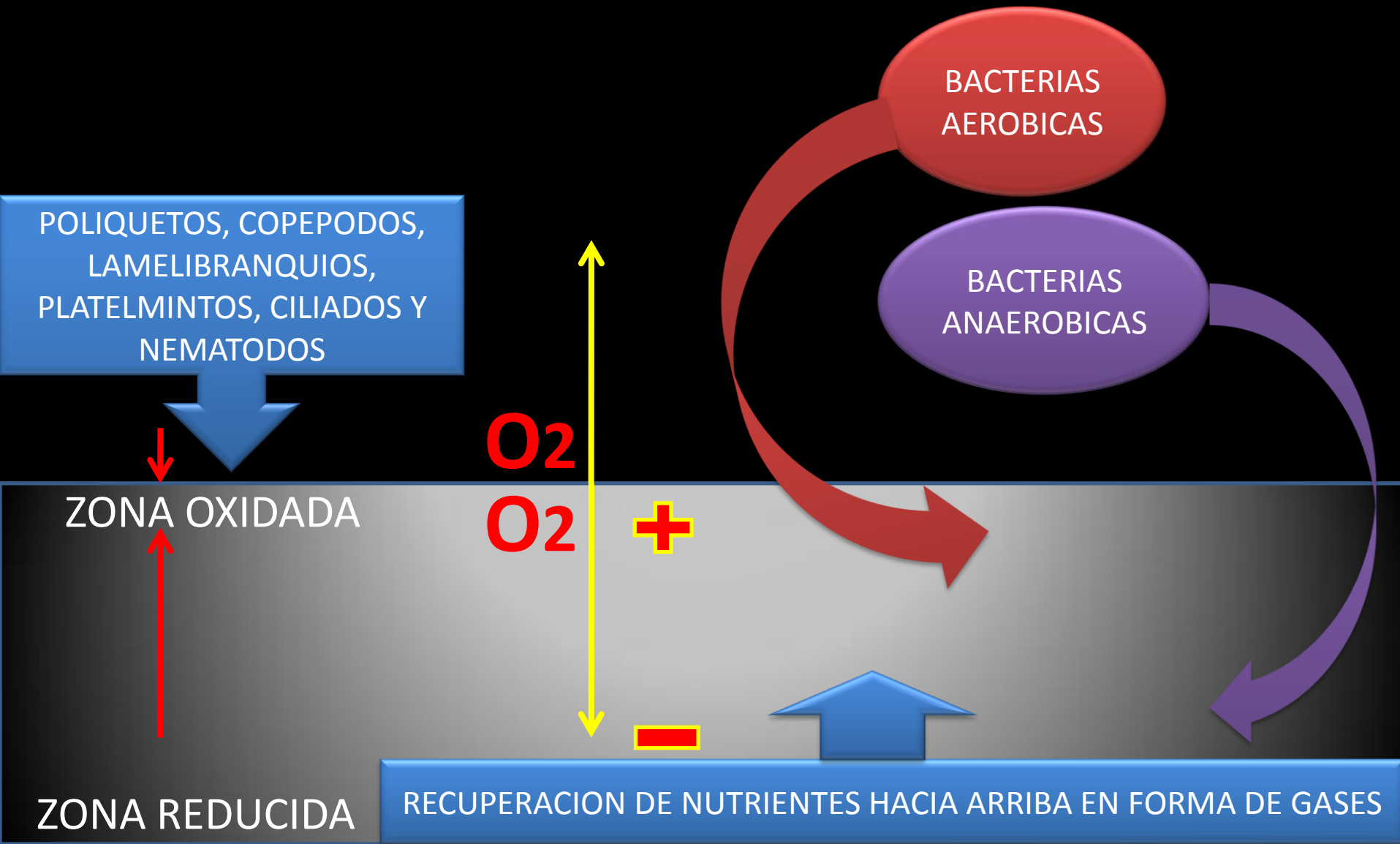
RESPIROMETRIA



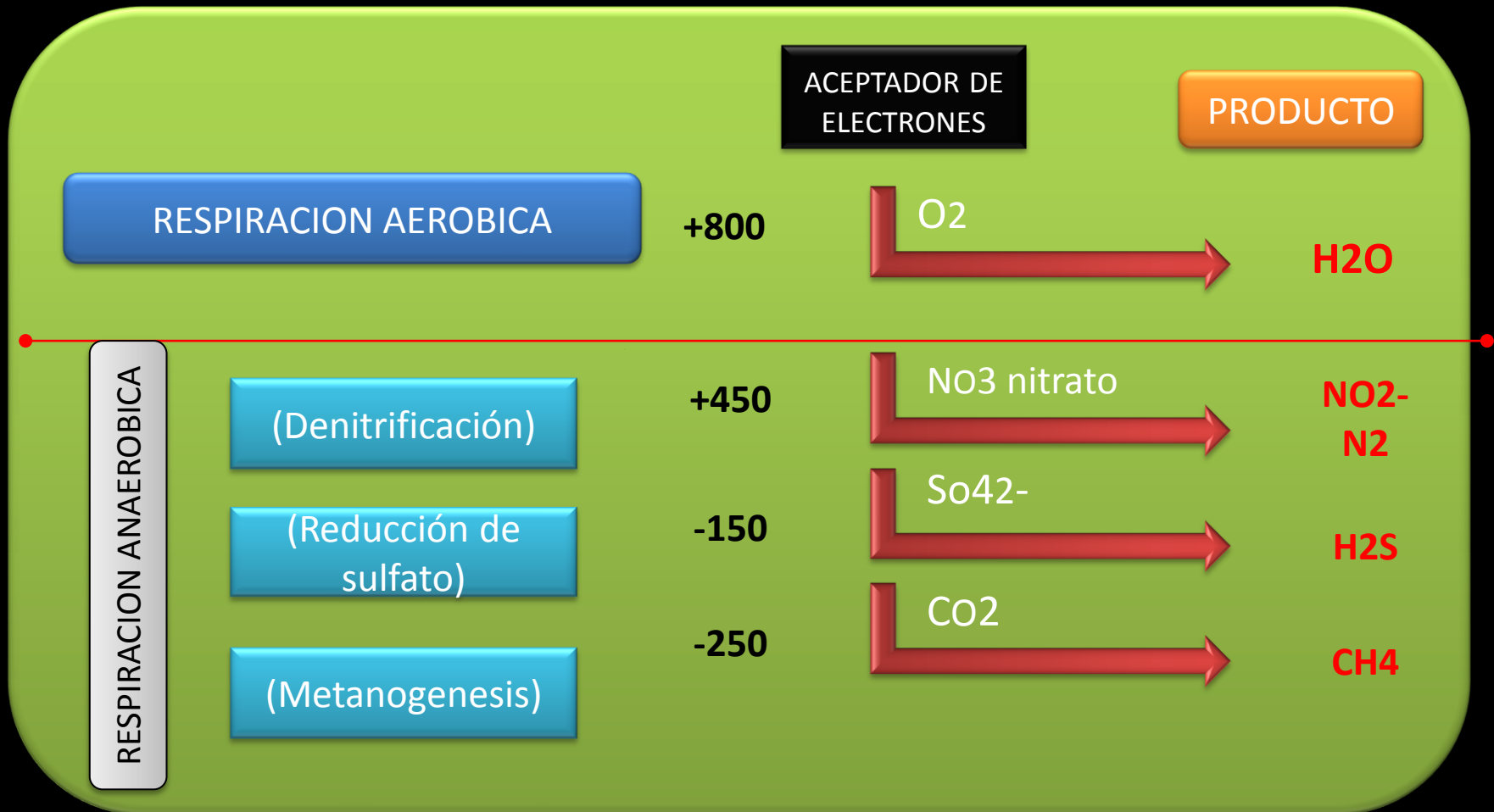
Cálculos de Respirometria

- $\text{Mg de Co}_2 = (B - V) \times N \times Z$
- B= Volumen gastado de HCL en blanco KOH
- V= " " " HCL en muestra
- N= Normalidad del HCL
- Z = Peso equivalente del $\text{Co}_2 = 22$
- KOH 0.1N
- HCL 0.1N

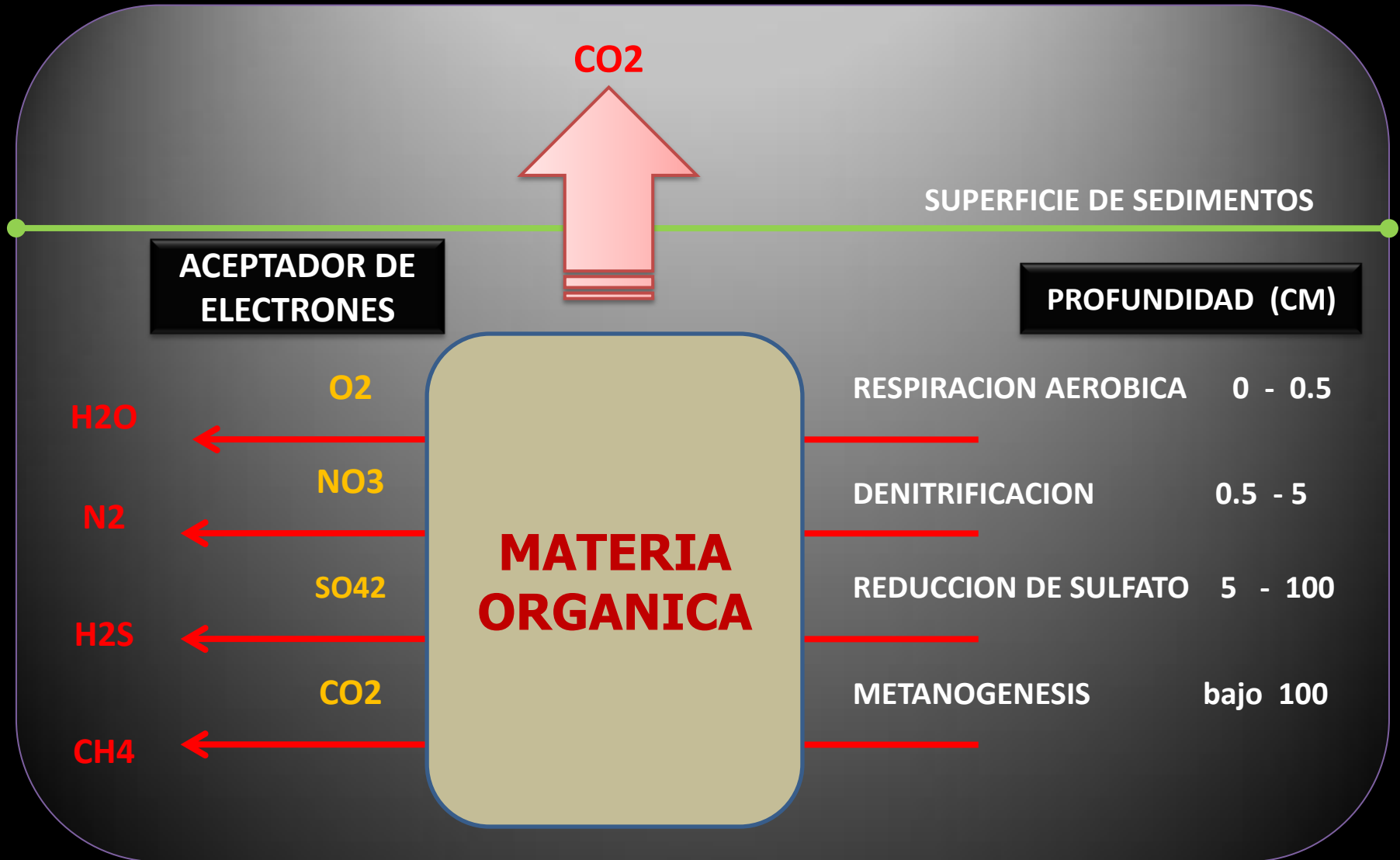
POTENCIAL REDOX COMO CONDICION ECOLOGICA



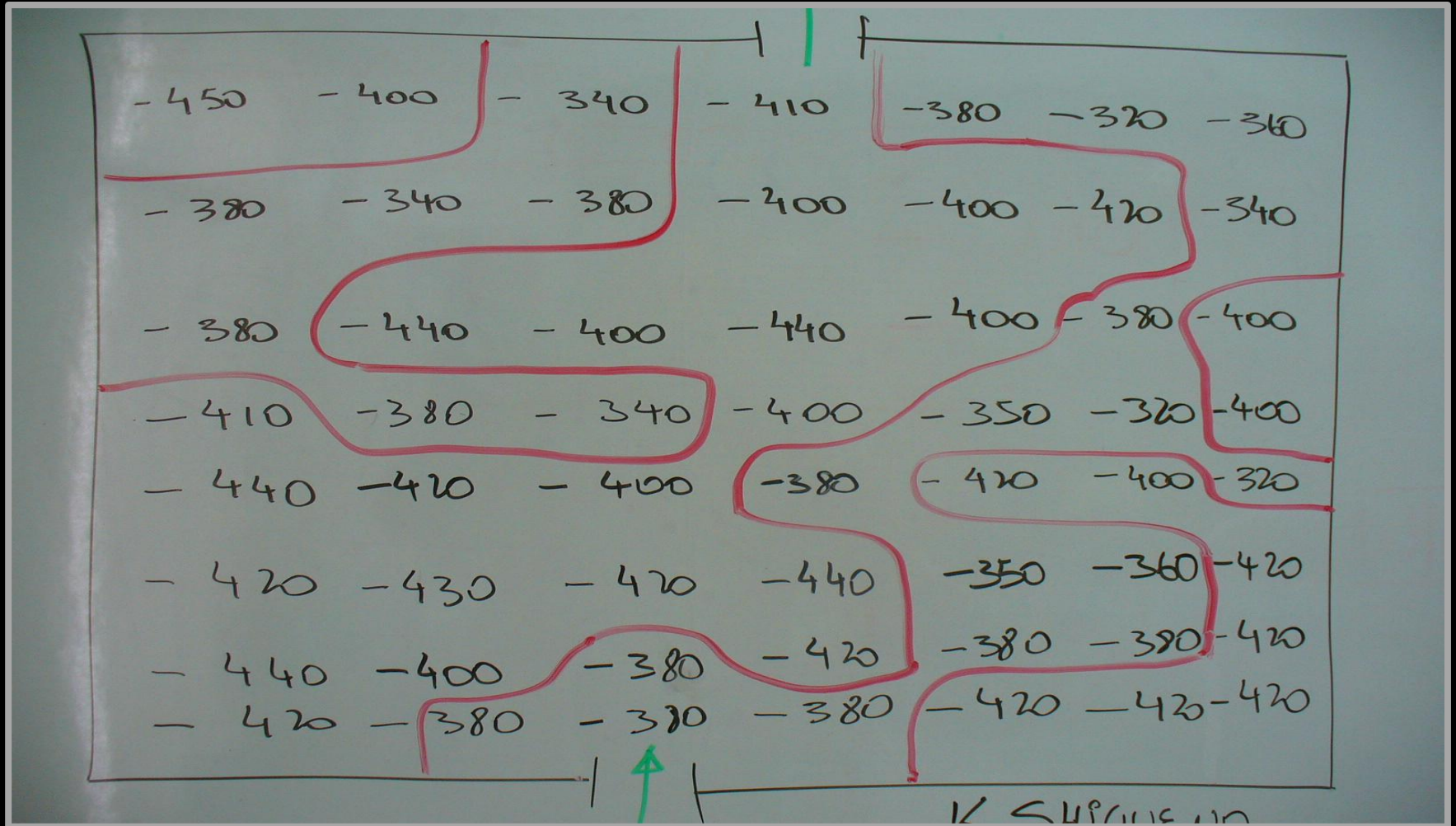
PERFIL VERTICAL DEL REDOX (MV) EN SEDIMENTOS

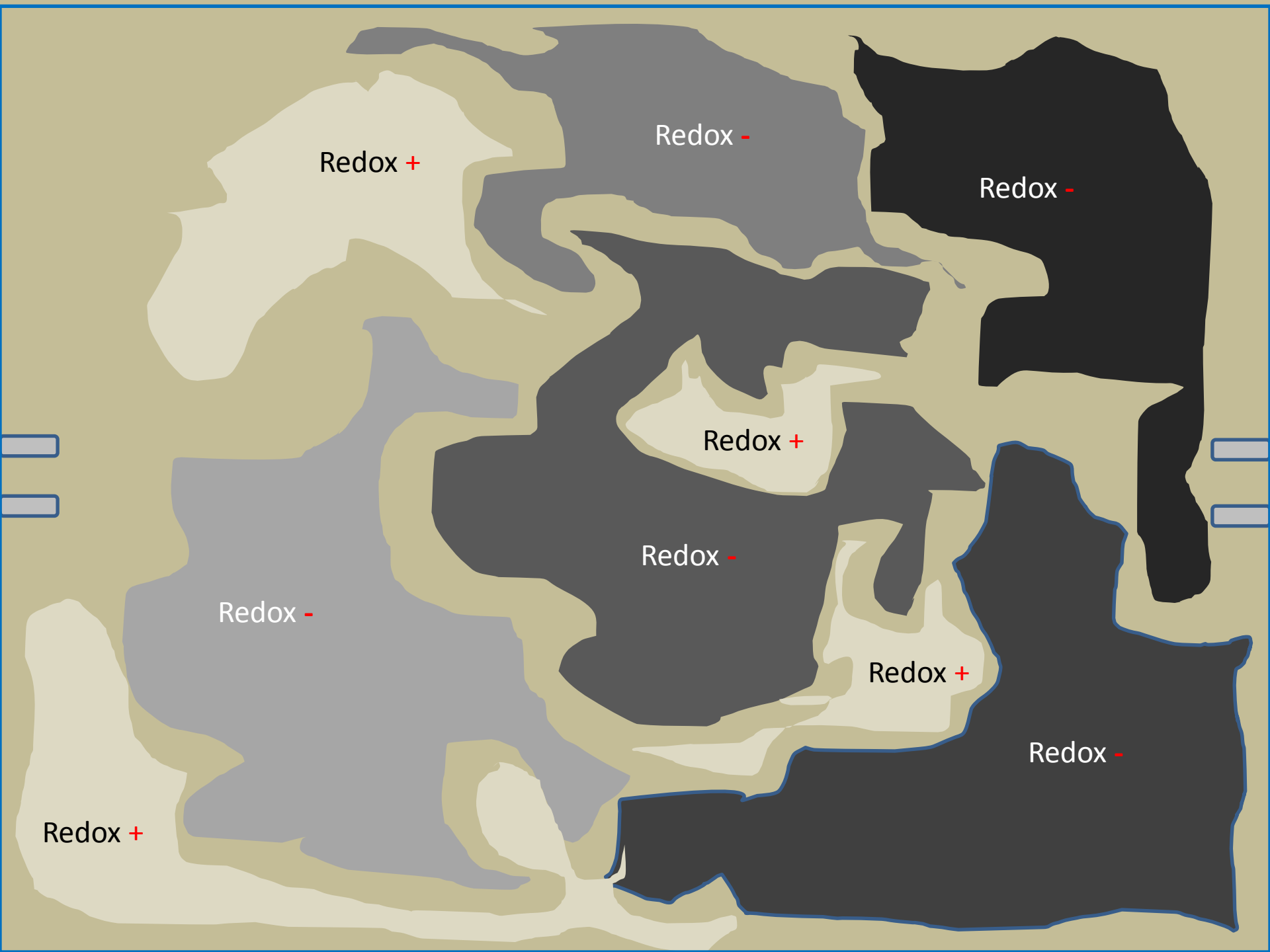


SECUENCIA DE UTILIZACION DE ACEPTORES DE ELECTRONES EN SEDIMENTOS MARINOS

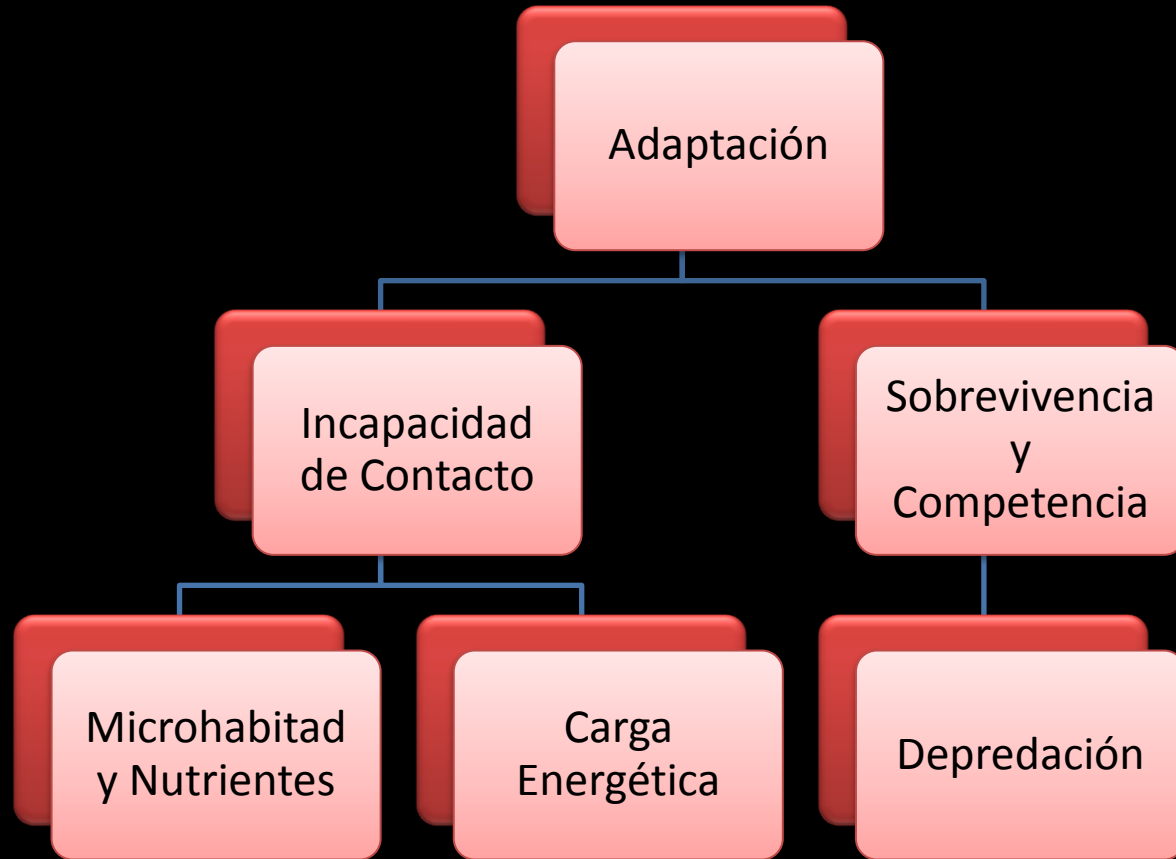


DISTRIBUCION HORIZONTAL DEL REDOX EN +/- mV. (Suelo reducido)





FACTORES A CONSIDERAR



PRINCIPIOS DE ADAPTACION

- La **distribucion y funcionamiento** de las poblaciones microbianas estan fuertemente influidas por **factores abioticos**.
- La **limitacion de nutrientes** y la **tolerancia ambiental regulan o excluyen la existencia** de microorganismos en diferentes ambientes.
- Los microorganismos **poseen limites inferiores y superiores de tolerancia** asi como optimos para los diferentes factores abioticos.

ESCASEZ DE NUTRIENTES

La reducción de los nutrientes , **limita** los componentes celulares que los contienen.

- **Reorganizan sus rutas metabólicas** celulares utilizando sustratos alternativos.
- **Alteran la superficie celular** e inducen a sistemas de alta afinidad.
- **Reducción de la velocidad de desarrollo celular** dando lugar a minicelulas.
- **Estados** de dormancia y esporulación.

FACTORES DE AFECTACION

- 1.-FACTOR:** Los microorganismos pueden convertirse en una fuente importante de alimentacion de los depredadores del suelo (protozoos).
- 2.-FACTOR:** Incapacidad de los microorganismos inoculados de contactar los compuestos a degradar.
- 3.-FACTOR:** Incapacidad de los microorganismos inoculados de sobrevivir y competir con los inherentes al sitio. (Autoctonos).

CONSIDERACIONES BASICAS

- Los **margenes de tolerancia de los factores fisicoquimicos en un sistema**, determinan que microorganismos pueden encontrarse o desarrollarse sobre una base sustentable.
- Los **margenes de tolerancia para una variable dada interaccionan con otras variables**. No es facil definir con precision los factores limitantes o de control en los ecosistemas naturales.
- A menudo **una sola condicion fisicoquimica puede bastar para excluir a un microorganismo de un ambiente**, cuando excede a sus limites de tolerancia.

LEVANTAMIENTO DE CEPAS ALPHAS

CAPTADOR DE MICROORGANISMOS



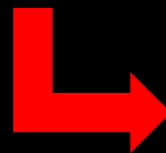
EVALUACION METABOLICA DEL
SUELO



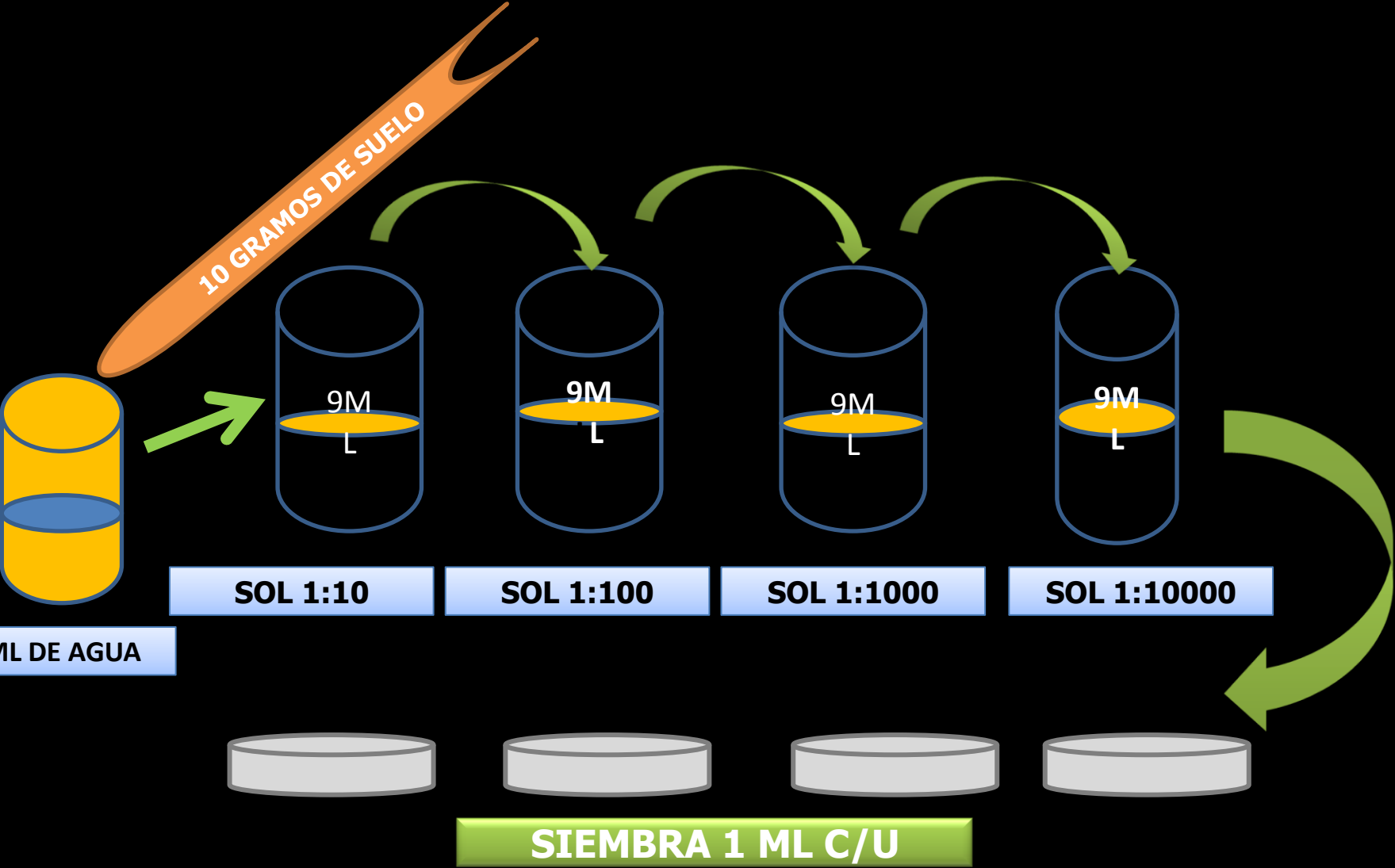
TOMA DE MUESTRAS
DILUCION – SIEMBRA Y AISLADOS

IDENTIFICACION MEDIANTE
SECUENCIACION MOLECULAR

1- MEDIO DE TRANSPORTE DEL INOCULO



2 - DILUCIONES - SIEMBRAS



METAGENOMICA

- Nueva tecnica que permite aislar microorganismos cultivables y no cultivables.
- Marcadores moleculares de identidad
- ARN Ribosomal
- Elaboracion de bibliotecas de genes.

ENSAYOS DE
TRATABILIDAD



PRESERVACION DE
CEPAS MADRES



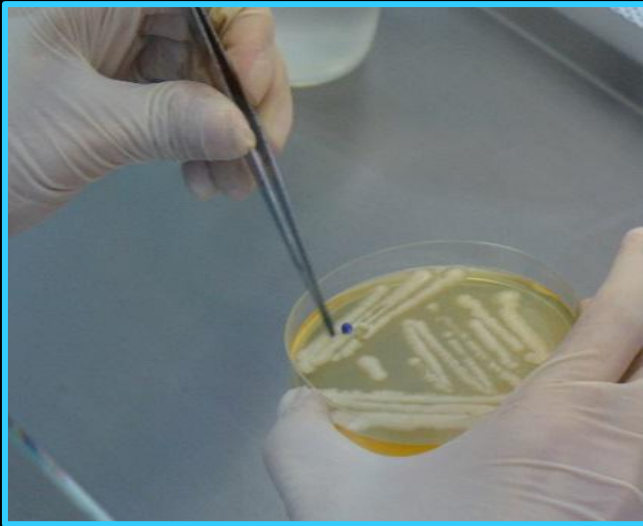
ESCALADO -
MASIVOS

PREPARACION DE MEDIOS BASES

- Agua 1l. **MEDIO N**
- Cloruro de amonio 1 g.
- Fosfato dipotasico 1 g.
- Carbonato de calcio 1 g.
- Sulfato de magnesio 10 g.
- Sulfato ferroso 10 mg.
- Cloruro de calcio 10 mg.
- Sales inorganicas 0,02 mg.
- DE:
- Mn, Mo, Cu, Co, Zn. C/U.

- Agua 1 l. **MEDIO H**
- Peptona o triptona 5g.
- Extracto de carne 3g.
- Agar 15g

ESCALADOS II y III



MASIVOS



Evaluación visual del
inoculo en términos
de turbidez

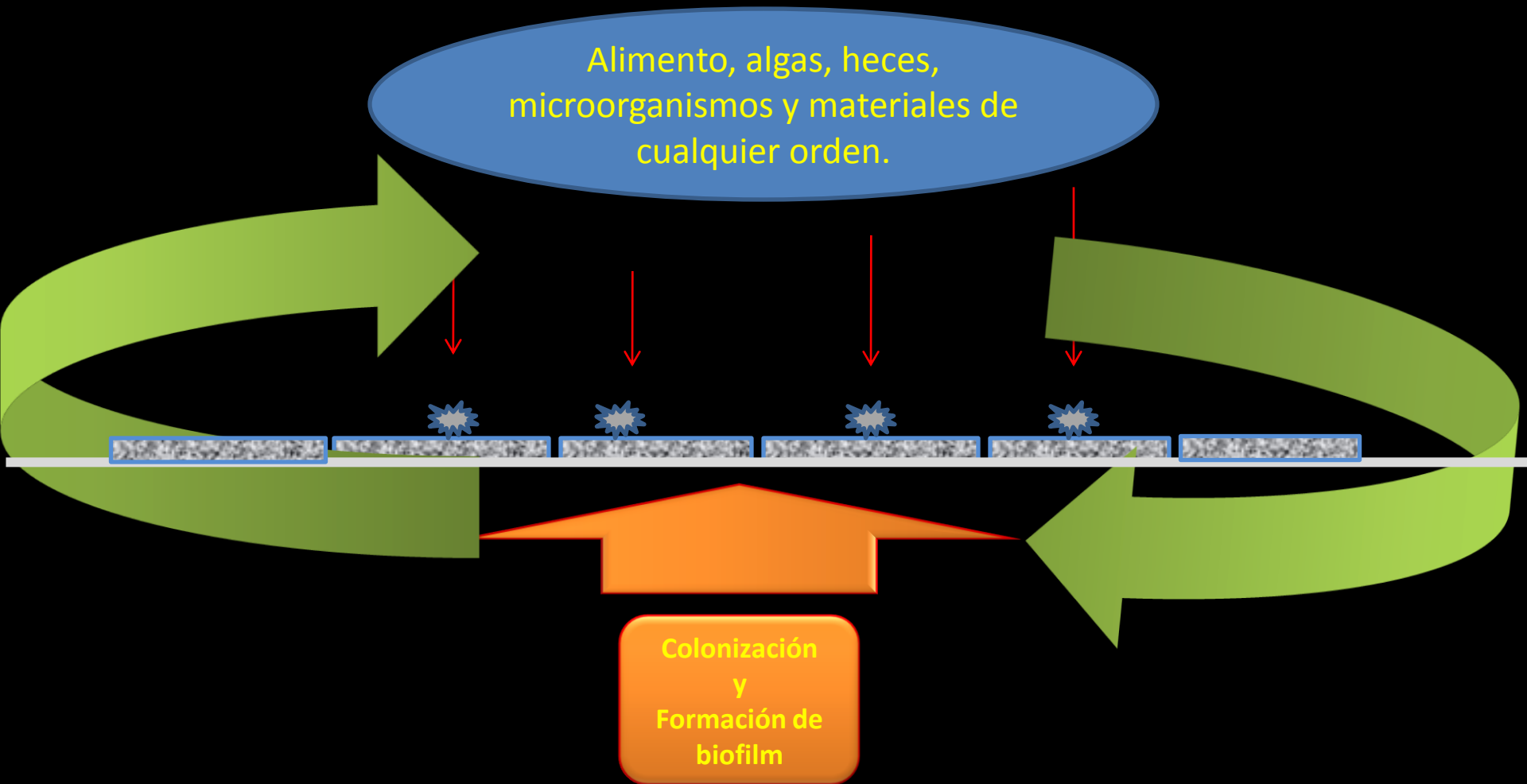


APLICACION

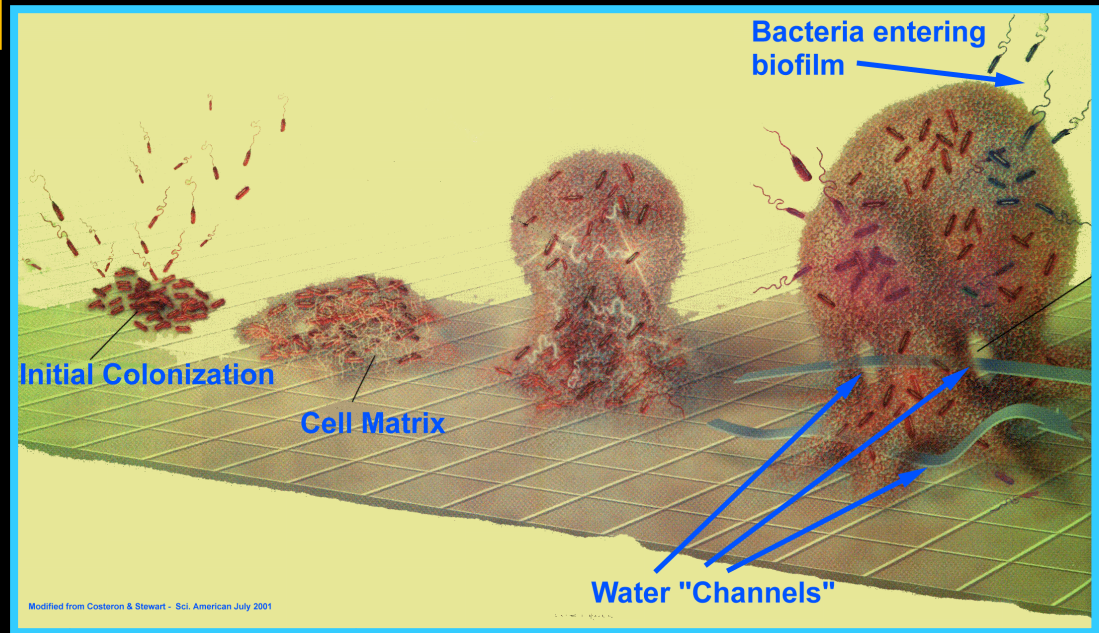
- Al boleo usando como carrier **agua** de la piscina, para remediar condiciones de suelo y agua.
- Al boleo usando como carrier **Zeolita** para remediar suelo contaminados.

COLONIZACION DEL FONDO

Alimento, algas, heces,
microorganismos y materiales de
cualquier orden.

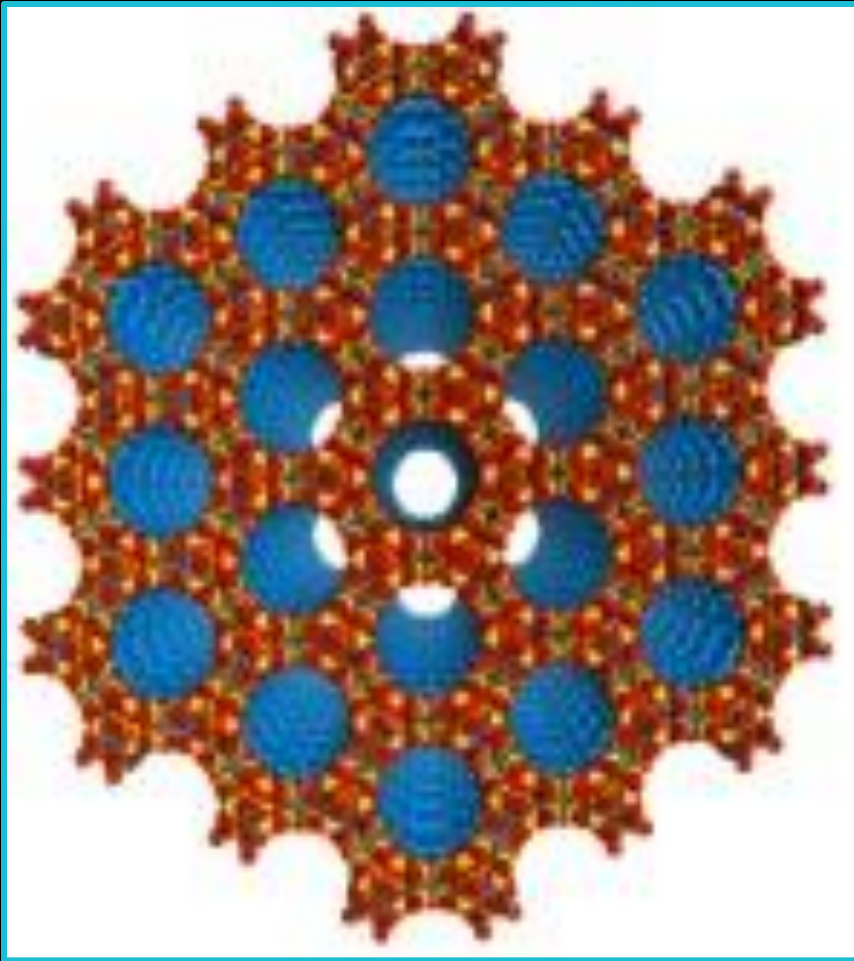


BIOFILM



- Matriz extracelular
- Proteínas
- Ácidos nucleicos
- Espacios intercelulares o canales
- Componentes extracelulares que rodean ambientes colonizados
- Previenen el acceso de agentes antimicrobianos y restringen la difusión de sus componentes al interior del biofilm.

CARRIER



INOCULACION E IMPREGNACION



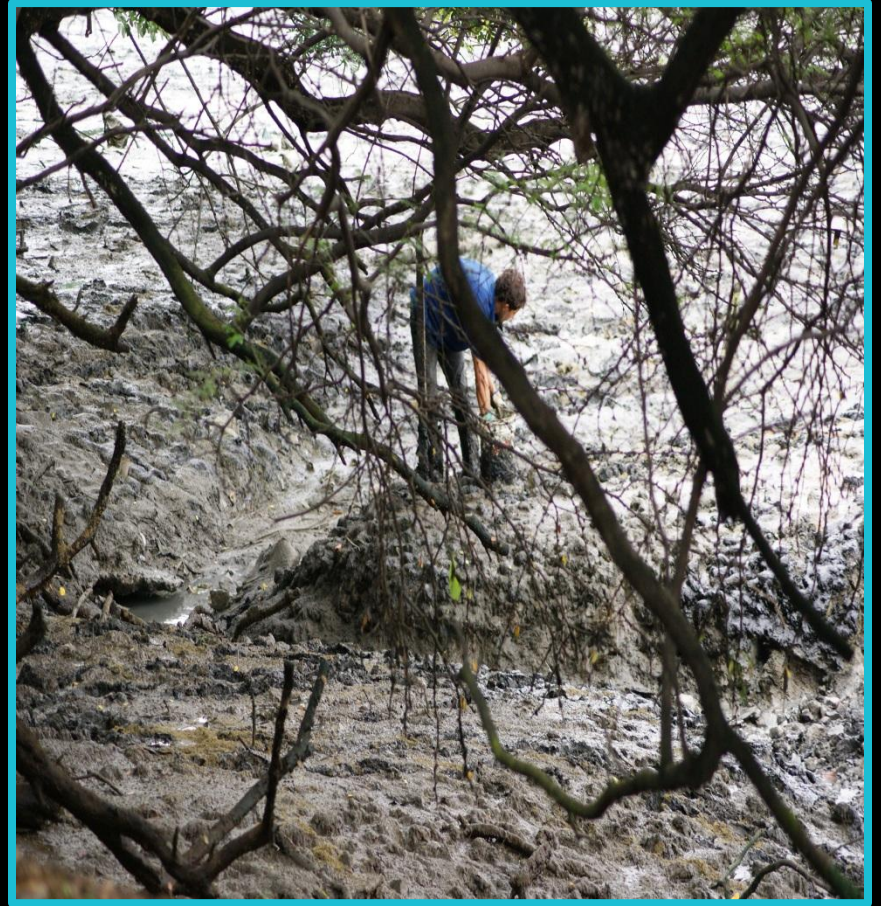
MEZCLADO UNIFORME



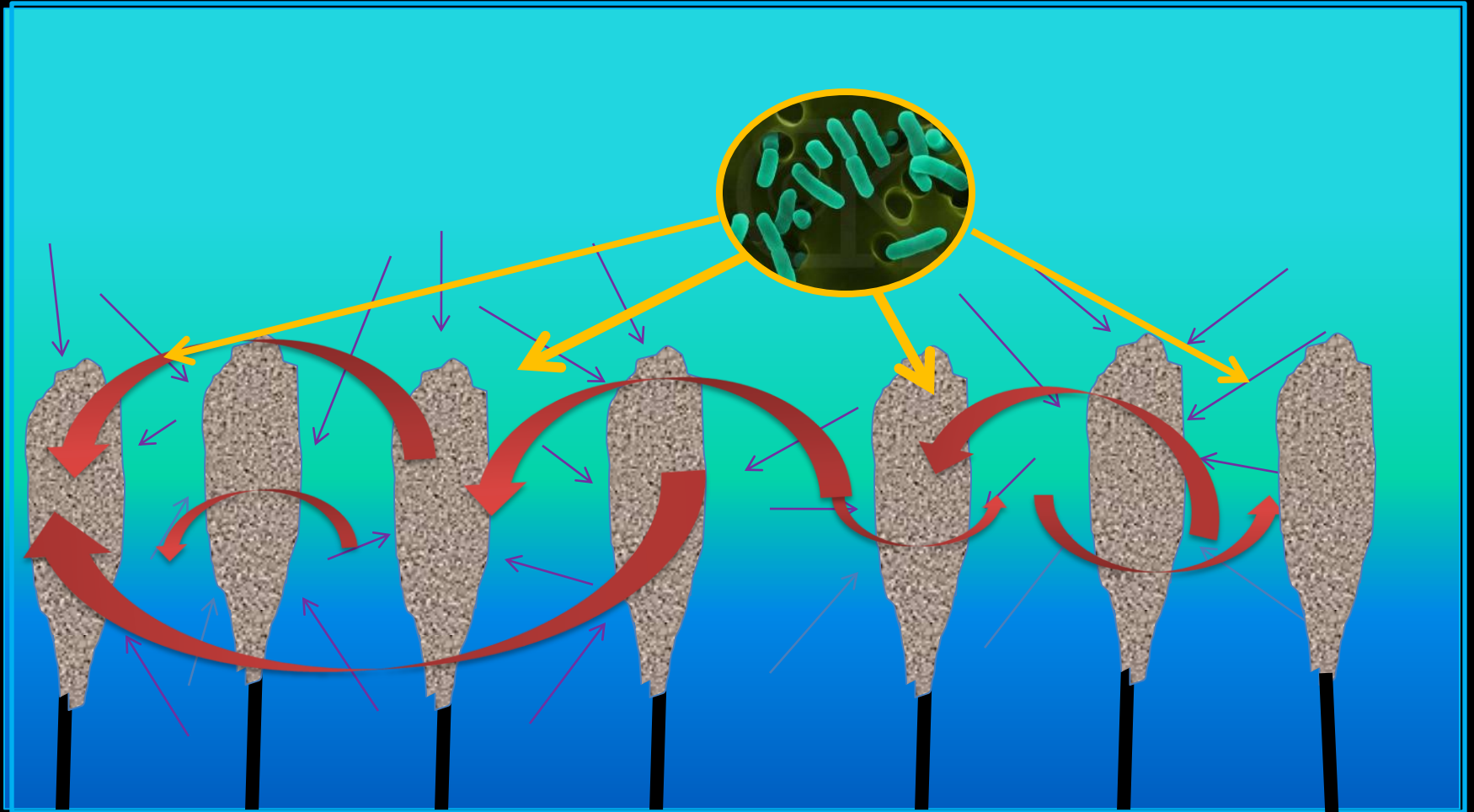
MADURACION



APLICACION



COLONIZACION DE MICROORGANISMOS EN CANALES O EN AGUAS EN MOVIMIENTO



CONCLUSIONES Y RETOS

- **ES IMPORTANTE Y NECESARIO CONOCER DE MANERA TECNICA LA EFICIENCIA DE UN PROBIOTICO ANTES DE USARLO.**
- **EVALUAR SU EXPRESION SOBRE EL OBJETIVO O FIN ESPECIFICO POR EL QUE FUE AISLADO O ADQUIRIDO.**
- **MUESTREOS MICROBIOLOGICOS PARALELOS A LOS ANALISIS QUIMICOS DE AGUA-SUELO.**
- **EL OBJETIVO FINAL DEBE DE SER EL AISLADO DE CEPAS PROPIAS PARA BIOREMEDIACION Y PREDIGESTION.**



GRACIAS POR SU ATENCION



jsalazar@arkeaslab.com