



Universidad de Concepción
Dirección de Postgrado
Facultad de Ciencias Biológicas
Programa de Magíster en Ciencias mención Microbiología

**Biotransformación de roxarsona por bacterias asociadas
a suelo agrícola y su implicancia en la contaminación de
los sistemas acuáticos.**

CARLA GERALDINE LEÓN LEMUS

Profesor Guía: Dr. Víctor Campos Araneda
Dpto. de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad de Concepción

Profesor Co- Tutor: Dra. María Angélica Mondaca Jara
Dpto. de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad de Concepción

CONCEPCIÓN-CHILE
2013

RESUMEN

El compuesto organoarsenical roxarsona (ácido 3-nitro-4-hidroxifenilarsónico) es utilizado como aditivo en la alimentación de pollos de engorde. La mayor parte de este se excreta sin cambios en las fecas de las aves y estas contienen entre 14 y 48 mg/Kg de AS. Los agricultores frecuentemente utilizan las fecas como fertilizante orgánico. Sin embargo, esta práctica contribuye a la incorporación de cantidades considerables de arsénico a tierras de cultivo. Por otra parte, se ha descrito que el nivel máximo de As en el agua potable es de 10 µg/L y que la ingesta de agua con concentraciones por sobre este nivel puede causar cáncer y otros problemas de salud. Roxarsona es altamente soluble en agua, por lo que se espera pueda movilizarse rápidamente a través del suelo y contaminar el agua subterránea y superficial. Además, se ha reportado que este compuesto puede ser biotransformado en el ambiente, en especies arsenicales inorgánicas de mayor toxicidad. Sin embargo, tanto los microorganismos como los procesos biológicos involucrados, no han sido identificados.

Bajo este contexto, el objetivo principal de este trabajo fue evaluar la biotransformación de roxarsona en diferentes estratos de suelo, en experimentos de microcosmos. Cuatro columnas fueron implementadas con suelo agrícola y guano de pollo tratado con roxarsona (0,5mM) (G-ROX): (A) Suelo estéril-G-ROX estéril; (B) Suelo-G-ROX; (C) Suelo estéril-G-ROX y (D) Suelo-G-ROX estéril. Las columnas fueron incubadas a temperatura ambiente y oscuridad durante 45 días, incorporando agua estéril periódicamente (45ml). La comunidad microbiana de la zona aeróbica (estrato A) y anaeróbica (estrato B) de cada columna fueron caracterizadas metabólicamente (BioLog Ecoplate) y molecularmente (PCR-DGGE). La biotransformación en los diferentes estratos (A y B) fue analizada por espectrofotometría. Se evaluó la toxicidad de roxarsona y compuestos generados de la biotransformación mediante el Kit Toxi-chromotest y toxicidad en HUVECs.

Los resultados obtenidos demostraron que en aerobiosis las comunidades microbianas del suelo, de ambos estratos, son capaces de transformar la roxarsona (100%). En anaerobiosis solo el estrato B fue capaz de degradar y/o

reducir significativamente la concentración de roxarsona (52,32%). El patrón de DGGE demostró que existe un efecto significativo sobre las comunidades en presencia de roxarsona. El perfil metabólico de la comunidad microbiana presente en el estrato A de todas las columnas mostró diferencias significativas en la utilización de sustrato. En cambio la comunidad del estrato B no presenta diferencias significativas entre las columnas B y D. Los resultados obtenidos mediante toxi-chromotest demostraron que roxarsona y el lixiviado de la columna control, presentaron porcentajes de toxicidad bajos (7,5 y 11,4%, respectivamente) y que las muestras de lixiviado de las columnas B, C y D presentaron mayor porcentaje de toxicidad (36,9-74,2%), detectándose diferencias significativas entre los estratos del suelo. Por otra parte, los datos demostraron que el porcentaje de viabilidad celular disminuyó significativamente en relación a la muestra control en HUVECs expuestas a 50 ul de Lixiviado B, lixiviado C y lixiviado D, a diferencia de las células HUVECs cultivadas en presencia de roxarsona y lixiviado A, que no presentan diferencias significativas con respecto a las células control. De lo anterior, se concluye que la mayor capacidad de asimilación de sustratos que presentaron las comunidades en las columnas B y D, se correlaciona con una mayor diversidad bacteriana, en relación a la columna C. La degradación de roxarsona y la toxicidad de los compuestos generados, están directamente relacionados con la estructura de la comunidad bacteriana presente en cada estrato del suelo. Por último, los resultados demuestran que la presencia de roxarsona modifica la composición estructural y funcional de las comunidades bacterianas.