



UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE MAGISTER EN CIENCIAS, MENCIÓN MICROBIOLOGÍA

**ESTUDIO DE LA RESISTENCIA A ARSÉNICO EN
BACTERIAS AISLADAS DESDE SEDIMENTOS DEL
RÍO CAMARONES (XV REGIÓN, CHILE) QUE
PRESEWNTAN CONCENTRACIONES VARIABLES
DEL METALOIDE.**

Profesor Guía: María Angélica Mondaca Jara
Dpto. de Microbiología
Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad de Concepción

Tesis para ser presentada a la Dirección de Postgrado de la
Universidad de Concepción

CAROLINA FERNANDA MELLADO MOLINA
CONCEPCIÓN-CHILE
2010

RESUMEN

El arsénico es un elemento tóxico, que se distribuye ampliamente en la naturaleza. En sistemas acuáticos, las formas inorgánicas de arsénico que predominan son el As(III) y el As(V), siendo la primera la especie más tóxica y móvil del metaloide. Si bien el ciclo biogeoquímico del arsénico está influenciado por factores físico-químicos, uno de los más importantes lo constituye la transformación bacteriana, la cual interviene en la movilidad, distribución y biodisponibilidad de las distintas especies de arsénico en el ambiente. De esta forma, la presión selectiva que ejerce el arsénico en las aguas, selecciona aquellos genotipos bacterianos que pueden sobrellevar dicho estrés, reportándose casos en que la toxicidad del metaloide es evitada por las bacterias reduciendo al mínimo la cantidad de arsénico incorporado al citoplasma, utilizando sistemas de transporte de fosfato con alta especificidad o mediante determinantes genéticos, como el operón *ars*. Éste, básicamente consiste en una serie de genes que codifican para proteínas encargadas de reducir el arseniato a arsenito, en el citoplasma y luego expulsarlo de la célula a través de una bomba específica de eflujo.

Estudios previos realizados por Escalante (2007) demostraron que los sedimentos del río Camarones, tienen una actividad biológica responsable principalmente de la transformación de arsénico mediante bacterias heterotróficas reductoras del metaloide.

El objetivo del presente trabajo fue relacionar la expresión de genes, que permiten desarrollar estrategias de sobrevivencia utilizada por bacterias arseniato-reductoras aisladas desde sedimentos de distintos sectores del río Camarones (XV región, Chile), con las diferentes concentraciones del metaloide que presenta cada sector del río. Se aislaron 34 cepas bacterianas arseniato-resistentes y se les determinó la capacidad de reducir arseniato,

utilizando KMnO_4 ; se evaluó el efecto del arseniato sobre el transporte del fosfato inorgánico en las células, mediante ensayos de competencia; se detectó la presencia de los genes del operón *ars* mediante PCR y, finalmente, se generó una relación entre éstos mediante un análisis de escalamiento multidimensional (MDS).

Los resultados indican que las cepas en estudio aisladas desde sedimentos con mayores concentraciones del metaloide presentaron los mayores niveles de reducción de As(V) a As(III) , alcanzando la capacidad de reducir hasta el 90% del arseniato presente en el medio. Al someter una selección de cepas a pruebas de competencia entre sustratos (arseniato y fosfato), se demostró que las bacterias fueron capaces de reducir arseniato incluso utilizando concentraciones de fosfato inorgánico a las cuales se encuentran inhibidas las vías de ingreso inespecífico de arseniato a la célula. La detección de los genes del operón *ars*, permitieron demostrar que no existe una relación entre la presencia de los genes *arsCBA* y las concentraciones del metaloide en el medio del que fueron aisladas. Sin embargo, su frecuencia de aparición se relaciona con las concentraciones de arsénico en los sedimentos, lo cual se demostró mediante un MDS que arrojó tres grupos de acuerdo a la presencia de los genes de resistencia ubicados en el operón *ars*, los cuales coincidieron con los sectores estudiados del río Camarones y Lauca y sus diferentes concentraciones de arsénico.

De acuerdo a lo anteriormente señalado, se puede concluir que si bien la presencia de genes relacionado con las estrategias de resistencia bacteriana al arsénico, son comunes a todas las cepas e independientes a las concentraciones del metaloide en el medio de las que fueron aisladas, éstas se expresan siguiendo patrones que se relacionan directamente con los diferentes sectores analizados en este estudio, arrojando mayores niveles de tolerancia y capacidad reductora de arseniato (detoxificación), aquellas cepas

aisladas desde zonas que mantienen concentraciones mayores del metaloide en sus sedimentos.

