

AISLADOS NATIVOS DE *Pseudomonas* spp. DE AGUAS RESIDUALES DEL VALLE DE ABURRÁ CON CAPACIDAD PARA TOLERAR PLOMO

ISOLATED NATIVE *Pseudomonas* spp. WASTEWATER FROM THE ABURRÁ VALLEY WITH CAPACITY TO TOLERATE LEAD

*Bedoya Jessica María*¹, *Ochoa Susana*²

¹ Bacterióloga y laboratorista clínico, especialista en microbiología ambiental, Investigador IUCMA;

² Mcs. Biotecnología, Docente investigador IUCMA, grupo Biociencias.

Resumen

Los metales pesados como el plomo (Pb) poseen unas características físico-químicas, que lo convierten en un contaminante ambiental persistente, bioacumulable y de alta toxicidad. Los microorganismos expuestos a metales pesados como el plomo, pueden desarrollar capacidades de tolerancia y mecanismos de resistencia para sobrevivir en sitios contaminados con dichos elementos. Esta es una investigación en curso, la cual pretende conocer la capacidad de tolerancia al plomo de *Pseudomonas* spp. presentes en aguas contaminadas, a partir del estudio de 25 aislados nativos, procedentes de aguas residuales colectadas en el río Medellín (Valle de Aburrá), de la zona norte, los cuales fueron sembrados en agar Cetrimide, a cada uno se les realizó gram y pruebas como oxidasa y catalasa, por ende los resultados que se muestran son parciales. A partir de los reportes encontrados por diferentes autores sobre el tema, se concluye que es muy probable que los aislados obtenidos tengan la capacidad de tolerar y resistir concentraciones de plomo. Conocer a profundidad tanto los microorganismos que pueden desarrollar estas capacidades de tolerancia como los mecanismos por los cuales lo logran, permite que puedan ser utilizados en procesos de biorremediación de sitios contaminados con metales pesados.

Palabras clave: Tolerancia, Plomo, aguas residuales, *Pseudomonas* spp.

Abstract

Heavy metals such as lead have physico-chemical characteristics, which make it a persistent, bioaccumulative and highly toxic environmental pollutant. Microorganisms exposed to heavy metals such as lead, can develop tolerance capabilities and resistance mechanisms to survive in sites contaminated with such elements. This is a research in progress, which aims to know lead tolerance of *Pseudomonas* spp. present in contaminated waters, through the study of 25 native

Aislamientos nativos de *Pseudomonas spp.* de aguas residuales del Valle de Aburrá con capacidad para tolerar plomo

isolates, from wastewater collected in the Medellín River (Valle de Aburrá), from the northern zone, which were planted on Cetrimide agar. Gram and biochemical tests (such as oxidase and catalase) were performed. The results shown are partial. From the reports found by different authors on the subject, it is concluded that it is very probable that the isolates obtained have the capacity to tolerate and resist concentrations of lead. Knowing the microorganisms that can develop these tolerance capacities as the mechanisms by which they achieve, allows them to be used in bioremediation processes of sites contaminated with heavy metals.

Keywords: Tolerance, Lead, wastewater, *Pseudomonas spp.*

Introducción

Los residuos provenientes de actividades como la galvanoplastia, la industria de pinturas, baterías y curtidos, son vertidos diaria e inadecuadamente al agua, lo cual constituye una gran problemática a nivel mundial, pues estos son desechos con que contienen altas concentraciones de metales pesados como el plomo (Pb). Este elemento químico hace parte del grupo de metales no esenciales y es un contaminante ambiental persistente que se bioacumula, dando lugar a la biomagnificación en los diferentes niveles de la cadena trófica, de igual forma puede causar daños en el ADN, las proteínas, lípidos y sustituir iones metálicos esenciales como zinc, hierro y cadmio, presentes en algunas enzimas (Naik & Dubey, 2013; Naik, Pandey, & Dubey, 2012). La presencia de plomo en el agua ha generado situaciones de alto impacto no solo ecológico sino también sobre la salud de las personas, convirtiéndose así en un problema de salud pública, en parte debido a los efectos tóxicos que produce en el cuerpo cuando se está expuesto a este por largos períodos de tiempo, por lo que han cobrado gran importancia desarrollar acciones que permitan recuperar el metal del agua e implementar estrategias de disposición de este, de manera que se puedan disminuir los daños que causa.

Los microorganismos pueden adaptarse y crecer en diversas condiciones extremas de pH, temperatura y disponibilidad de nutrientes, así como en concentraciones de metales altos, debido a que han desarrollado estrategias de supervivencia en hábitats contaminados con metales pesados, sus diferentes mecanismos de desintoxicación microbianos se pueden aplicar para diseñar procesos de biorremediación económicos (Muñoz et al., 2012). Algunas cepas microbianas, incluyendo bacterias, emplean una variedad de mecanismos de protección para sobrevivir a altos niveles de plomo sin ningún impacto en su crecimiento y/o metabolismo (Naik & Dubey, 2013). Entre estos mecanismos se incluyen la capacidad de biotransformar, bioprecipitar, bioacumular y bioadsorber contaminantes como el plomo (Garza González, 2005). En la actualidad se han descubierto y aislado una gran cantidad de microorganismos resistentes a metales pesados en zonas donde estos elementos se encuentran en niveles elevados, entre estos se han encontrado bacterias del género *Pseudomonas spp.* (Prieto

Aislamientos nativos de *Pseudomonas spp.* de aguas residuales del Valle de Aburrá con capacidad para tolerar plomo

Contreras, 2015). Las bacterias del género *Pseudomonas spp.* están presentes en la mayoría de los ecosistemas de suelo y agua, estas son capaces de metabolizar una amplia variedad de compuestos orgánicos e inorgánicos, además son bien conocidas por su capacidad de resistencia a moléculas tóxicas, incluidos los antibióticos, metales pesados, detergentes y disolventes orgánicos (Chien, Lin, & Wu, 2013).

La gran diversidad de microorganismos que existen en el medio ambiente hace necesario que se profundice en la identificación de aquellos que tienen la capacidad de desarrollar mecanismos que les confieran resistencia y tolerancia a sustancias tóxicas como los metales pesados, y que a su vez les permitan sobrevivir, dado que las concentraciones de este tipo de elementos son depositados diariamente en el ambiente en altas concentraciones. Este conocimiento favorecerá finalmente los procesos de biorremediación, ya que estos están basados en el uso de microorganismos que tienen la capacidad de solubilizar, adsorber o precipitar metales pesados (Choudhary & Sar, 2009; Kang, Kwon, & So, 2016). Es por esto que el objetivo de este estudio es Conocer la capacidad de tolerancia al plomo de aislados nativos de *Pseudomonas spp.* obtenidos de aguas residuales del río del Valle de Aburrá.

Materiales y métodos

Obtención de los aislamientos de *Pseudomonas spp.*

Se tomaron muestras de aguas residuales del río Medellín, zona norte (Girardota), de un sector aledaño a industrias emisoras de residuos con Plomo. Una de las muestras se llevó al centro de laboratorios de la Universidad de Medellín para analizar la concentración de plomo en dichas aguas. Las otras muestras fueron centrifugadas a 4500 RPM durante 10 minutos. Se realizaron diluciones seriadas de 1:10, 1:100 y 1:1000; cada dilución se sembró por duplicado en medio selectivo (Agar cetrimide) para aislar *Pseudomonas spp.*, mediante siembras en superficie y se incubaron a 35°C durante 24 a 48 horas. Se obtuvieron 25 aislados, cuyas características macro y microscópicas fueron estudiadas, adicionalmente se les realizaron pruebas bioquímicas (Catalasa y oxidasa).

Resultados y discusión

Aislamiento de *Pseudomonas spp.*

Características de los aislados. Las características macroscópicas y microscópicas de los aislados al igual que los resultados de las pruebas bioquímicas (catalasa y oxidasa) realizadas, se describen detalladamente en las Tablas 1 y 2. Se observó a partir de los Gram realizados que todos los aislamientos resultaron ser bacilos

Aislamientos nativos de *Pseudomonas* spp. de aguas residuales del Valle de Aburrá con capacidad para tolerar plomo

Gram negativos, adicionalmente ningún aislado fue catalasa positivo y solo 4 resultaron oxidasa positiva. Por algunas de las características macroscópicas de las colonias y su crecimiento en un medio selectivo para aislar *Pseudomonas* spp, se puede decir que los aislamientos son presuntamente consistentes con el género *Pseudomonas* spp. Por medio de lámpara de luz U.V se pudo comprobar que 3 de los aislados (P11, P18 y P25) producían fluorescencia al igual que solo 4 produjeron pigmentación (P11, P14, P18 y P25).

Tabla 1. Características macroscópicas de los aislados.

Aislamiento	Características Macroscópicas							
	Tamaño	Color	Forma	Borde	Superficie	Aspecto	Pigmento	Fluorescencia
P01	Grandes	Blanca	Circular	Redondeado	Planoconvexa	Brillante	No	No
P02	Pequeñas	Blanca	Puntiforme	Redondeado	Convexas	Brillante	No	No
P03	Medianas	Crema	Irregular	Ondulado	Plana	Brillante	No	No
P04	Medianas	Crema	Irregular	Ondulado	Plana	Brillante	No	No
P05	Grandes	Crema	Irregular	Ondulado	Plana	Brillante	No	No
P06	Medianas	Crema	Irregular	Ondulado	Planoconvexa	Brillante	No	No
P07	Medianas	Blanca	Irregular	Ondulado	Cerebriforme	Opaca	No	No
P08	Grandes	Crema	Irregular	Ondulado	Cerebriforme	Opaca/Seca	No	No
P09	Grandes	Blanca	Irregular	Ondulado	Planoconvexa	Brillante/Húmeda	No	No
P10	Medianas	Blanca	Circular	Redondeado	Planoconvexa	Brillante	No	No
P11	Grandes	Amarillo-Verdoso	Irregular	Redondeado	Plana	Opaca	Si	Si
P12	Medianas	Crema	Irregular	Ondulado	Convexas	Brillante	No	No
P13	Pequeñas	Blanca	Puntiforme	Redondeado	Planoconvexa	Brillante	No	No
P14	Grandes	Verde	Irregular	Ondulado	Planas	Opaca	Si	No
P15	Grandes	Blanca	Irregular	Ondulado	Planoconvexa	Brillante/Húmeda	No	No
P16	Grandes	Blanca	Irregular	Ondulado	Planoconvexa	Brillante	No	No
P17	Grandes	Blanca	Circular	Redondeado	Planoconvexa	Brillante	No	No
P18	Grandes	Amarillo-Verdoso	Irregular	Ondulado	Plana	Opaca	Si	Si
P19	Pequeñas	Crema	Circular	Redondo	Convexas	Brillante	No	No
P20	Grandes	Blanca	Irregular	Ondulado	Planoconvexa	Opaca	No	No
P21	Pequeñas	Transparente	Irregular	Ondulado	Planas	Opaca	No	No
P22	Grandes	Crema	Circular	Redondeado	Convexas	Brillante	No	No
P23	Grandes	Blanca	Circular	Redondeado	Convexas	Brillante/Húmeda	No	No
P24	Pequeñas	Transparente	Irregular	Ondulado	Planoconvexa	Opaca	No	No
P25	Grandes	Amarillo-verdoso	Irregular	Ondulado	Plana	Opaca	si	Si

Tabla 2. Características microscópicas de los aislados y resultados pruebas catalasa y oxidasa.

Aislamientos nativos de *Pseudomonas* spp. de aguas residuales del Valle de Aburrá con capacidad para tolerar plomo

Aislamiento	Microscópicas		Oxidasa	Catalasa
	Gram	Forma		
P01	Negativa	Bacilos	Negativa	Negativa
P02	Negativa	Bacilos	Negativa	Negativa
P03	Negativa	Bacilos	Negativa	Negativa
P04	Negativa	Bacilos	Negativa	Negativa
P05	Negativa	Bacilos	Negativa	Negativa
P06	Negativa	Bacilos Cortos	Negativa	Negativa
P07	Negativa	Bacilos Cortos	Negativa	Negativa
P08	Negativa	Bacilos	Negativa	Negativa
P09	Negativa	Bacilos	Negativa	Negativa
P10	Negativa	Bacilos	Negativa	Negativa
P11	Negativa	Bacilos Cortos	Positiva	Negativa
P12	Negativa	Bacilos	Negativa	Negativa
P13	Negativa	Bacilos	Negativa	Negativa
P14	Negativa	Bacilos	Positiva	Negativa
P15	Negativa	Bacilos	Negativa	Negativa
P16	Negativa	Bacilos Cortos	Negativa	Negativa
P17	Negativa	Bacilos	Negativa	Negativa
P18	Negativa	Bacilos	Positiva	Negativa
P19	Negativa	Bacilos	Negativa	Negativa
P20	Negativa	Bacilos	Negativa	Negativa
P21	Negativa	Bacilos	Negativa	Negativa
P22	Negativa	Bacilos	Negativa	Negativa
P23	Negativa	Bacilos Cortos	Negativa	Negativa
P24	Negativa	Bacilos	Negativa	Negativa
P25	Negativa	Bacilos Cortos	Positiva	Negativa

Las bacterias del género *Pseudomonas* spp. han demostrado ser capaces de crecer y desarrollarse en condiciones poco favorables, como aquellos sitios que presentan concentraciones importantes de sustancias que normalmente resultan ser tóxicas para las células. Esto se debe a la capacidad que tiene este tipo de bacterias para metabolizar gran variedad de compuestos orgánicos e inorgánicos, adicionalmente cuentan con diversos mecanismos que les confieren una capacidad especial de resistencia a moléculas tóxicas, incluyendo metales

Aislamientos nativos de *Pseudomonas* spp. de aguas residuales del Valle de Aburrá con capacidad para tolerar plomo

pesados (Chien et al., 2013). Esto lo demostraron Choudhary y Sar en un estudio, en el cual se caracterizaron bacterias resistentes a metales, aisladas de una mina de uranio en India, por medio de un análisis filogenético, basados en la secuenciación del gen 16s rRNA, se lograron identificar más de 12 cepas diferentes de *Pseudomonas* spp, adicionalmente pudieron demostrar la capacidad de resistencia a varios metales, a través de espectroscopía FTIR (Fourier-transform infrared) y análisis de dispersión de energía de rayos-x (EDX) (Choudhary & Sar, 2009). Existen gran variedad de investigaciones que dan cuenta de la capacidad de tolerancia y resistencia de este género bacteriano a metales pesados, la mayoría de los aislados estudiados son procedentes de lugares que presentan contaminación con dichos elementos tóxicos. En un estudio realizado en Taiwan, se aisló una bacteria resistente a metales pesados, perteneciente al género *Pseudomonas* sp, a partir de los sedimentos obtenidos del río Er-Jen, el cual es conocido por su fuerte contaminación debido a las escorrentías de las actividades industriales locales, incluidas fábricas de electrochapado y de fundiciones (Chien et al., 2013). Otro estudio con una cepa bacteriana denominada *P. aeruginosa* ASU 6A, la cual fue aislada de aguas contaminadas con metales procedentes de actividades mineras en Assiut, Egipto, pudo comprobar mediante análisis IR que la cepa tenía la capacidad de resistir plomo y níquel mediante un mecanismo de biosorción (Gabr, Hassan, & Shoreit, 2008). De igual forma el estudio realizado por Naik, Pandey y Dubey, lograron aislar de agua superficial del estuario de Mandovi, India, una cepa bacteriana resistente al plomo, lo cual se demostró mediante el análisis del mecanismo de bioacumulación intracelular del metal (Naik et al., 2012).

En base a lo anteriormente expuesto, se podría afirmar que las bacterias expuestas a estos compuestos tóxicos tienen capacidades para desarrollar mecanismos que les permiten sobrevivir en estas condiciones desfavorables. Por medio de una investigación preliminar a esta, se pudo determinar que las muestras de agua residual obtenidas en el mismo sitio de estudio, presentaban valores de plomo de 0.53 mg/L, esto conlleva a pensar que los aislados obtenidos podrían tener esa capacidad para tolerar plomo. Lo cual será comprobado con la continuación de la presente investigación.

Conclusión

Debido a que los aislamientos en estudio fueron obtenidos de un sitio presuntamente contaminado con plomo, se puede decir que existe una gran posibilidad de que estos tengan capacidades para tolerar y crear resistencia a este tipo de metal pesado. Para determinar si lo anterior es verídico se continuarán con la presente investigación, en la que se podrá determinar con certeza las especies de bacterias aisladas y adicionalmente se realizarán pruebas de tolerancia al plomo que permitan conocer esa capacidad de *Pseudomonas* spp. para tolerar y crear resistencia a este elemento tóxico.

Referencias Bibliográficas

- Chien, C. C., Lin, B. C., & Wu, C. H. (2013). Biofilm formation and heavy metal resistance by an environmental *Pseudomonas sp.* *Biochemical Engineering Journal*, 78, 132–137. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2013.01.014>
- Choudhary, S., & Sar, P. (2009). Characterization of a metal resistant *Pseudomonas sp.* isolated from uranium mine for its potential in heavy metal (Ni^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , and Cd^{2+}) sequestration. *Bioresource Technology*, 100(9), 2482–2492. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.12.015>
- Gabr, R. M., Hassan, S. H. A., & Shoreit, A. A. M. (2008). Biosorption of lead and nickel by living and non-living cells of *Pseudomonas aeruginosa* ASU 6a. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 62(2), 195–203. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2008.01.008>
- Garza González, M. T. (2005). Aislamiento de microorganismos con alta capacidad de tolerar y remover Pb (II), Cr (VI), Cd (II), Cu (II), Zn (II) y Ni (II), (I), 43.
- Kang, C.-H., Kwon, Y.-J., & So, J.-S. (2016). Bioremediation of heavy metals by using bacterial mixtures. *Ecological Engineering*, 89, 64–69. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.01.023>
- Muñoz, A. J., Ruiz, E., Abriouel, H., Gálvez, A., Ezzouhri, L., Lairini, K., & Espínola, F. (2012). Heavy metal tolerance of microorganisms isolated from wastewaters: Identification and evaluation of its potential for biosorption. *Chemical Engineering Journal*, 210, 325–332. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2012.09.007>
- Naik, M. M., & Dubey, S. K. (2013). Lead resistant bacteria: Lead resistance mechanisms, their applications in lead bioremediation and biomonitoring. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 98, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.09.039>
- Naik, M. M., Pandey, A., & Dubey, S. K. (2012). *Pseudomonas aeruginosa* strain WI-1 from Mandovi estuary possesses metallothionein to alleviate lead toxicity and promotes plant growth. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 79, 129–133. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2011.12.015>
- Prieto Contreras, L. F. (2015). *Estudio sobre los mecanismos de remoción y principales géneros implicados en la depuración de metales pesados, empleando lagunas de estabilización enriquecidas con bioflóculos*. Universidad Autónoma de Aguascalientes.