



## NEMATODOS BACTERIÓFAGOS COMO BIOINDICADORES Y COMO ORGANISMOS ASOCIADOS A LOS PROCESOS DE BIORREMEDIACION

Otero, M. del C.<sup>2</sup>, Torres, N.<sup>2</sup>, Plaza, G. Del C.<sup>1</sup>, Pérez Brandán, C.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Fac. de Ingeniería – INENCO – CIUNSa – <sup>2</sup> Fac. Ciencias Naturales  
Universidad Nacional de Salta  
Avda. Bolivia 5150.  
CP 4400. Salta. Argentina  
Email: [gloria@ciunsa.edu.ar](mailto:gloria@ciunsa.edu.ar)  
Fax: 0387 - 4255489 – Tel: 0387 - 4255424

### RESUMEN

De la gran diversidad de organismos que viven en el suelo, los nematodos bacteriófagos constituyen un sujeto de estudio interesante en la búsqueda de bioindicadores adecuados para reflejar el grado de perturbación del suelo y la marcha de los procesos de recuperación. En el presente trabajo se hace una evaluación de distintas situaciones relacionadas con suelos alterados por actividades antrópicas y su relación con las poblaciones de nematodos bacteriófagos y bacterias, analizadas en laboratorio y a campo. Los resultados obtenidos muestran que el comportamiento de estos organismos responde a la evolución de los niveles de concentración del contaminante.

**Palabras claves:** Bioindicadores, nematodos, bioremediación, suelos contaminados.

### INTRODUCCIÓN

Los conocimientos sobre el comportamiento del suelo frente a los diferentes contaminantes no están, como es lógico, perfectamente establecidos, sobre todo si se tiene en cuenta la gran variedad de éstos, la continua producción de nuevas y complejas sustancias y las diferentes interacciones posibles entre ellas en cada sistema. Por ello, al tratar de establecer líneas de necesario avance en la investigación científica de suelos contaminados, no sólo deben ser consideradas la cantidad de un determinado contaminante en el suelo, sino también su biodisponibilidad, grado de toxicidad, su persistencia y posibles transformaciones en el tiempo y en los diferentes y cambiantes sistemas edáficos.

Los organismos que viven en el suelo, por su diversidad y su capacidad de adaptación a condiciones diversas pueden desempeñar múltiples funciones de gran importancia para el sistema, las que podrán producir efectos ecológicos por acción mecánica (mezcla de material orgánico, diseminación de organismos dentro del suelo, etc.) o química (degradación de compuestos orgánicos, mineralización, etc.). Asimismo, algunos de ellos pueden actuar como indicadores de calidad de suelo, que pueden tener diferentes grados de sensibilidad a distintos cambios, midiendo el grado de desequilibrio ecológico causado por el contaminante.

El indicador biológico resulta de gran utilidad para biomonitoreos, tales como la bioremediación. Este proceso constituye un conjunto de técnicas que permiten aumentar la biomasa microbiana del suelo, estimulando la biodegradación del contaminante (Plaza et al, 2001; Ercoli, ), de esta manera, la población nematológica del suelo puede constituir una herramienta valiosa para comprobar la existencia, entre otros organismos, de bacterias, las cuales desempeñan un papel fundamental en los procesos de biodegradación, no solo de sustancias que se encuentran en el suelo sino también aquellas que son sustancias problemáticas.

Los nematodos del suelo son organismos microscópicos de 0,5 a 1,5 mm de largo y 30 µm de diámetro, presentes en el agua de los poros del suelo, en gran número y diversidad de especies y niveles tróficos, pues los hay bacteriófagos, micófagos, fitófagos, predadores y omnívoros (Brussaard, 1997). De ellos, los nematodos bacteriófagos, nomenclatura que adoptamos de las clasificaciones tradicionales en nematología y mesofauna del suelo, se convierten en una medida indirecta pero específica de la presencia y abundancia de bacterias, lo que nos permite conocer el grado de alteración o reconstrucción de las cadenas alimentarias que en el suelo se producen, pudiendo comparar valores generales correspondientes a suelos no alterados o alterados con algún contaminante.

El presente trabajo tiene como objetivo, estudiar los nematodos bacteriófagos, como indicadores biológicos en suelos alterados con diferentes contaminantes y asociarlos como organismos relevantes en la evaluación de la eficiencia de la biorremediación.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se estudiaron muestras representativas de suelos de zonas aledañas a actividades industriales, que fueron impactadas con residuos propios de las mismas y de suelos agrícolas y/o naturales comunes de la región, como referencia de suelos inalterados o con cierta acción antrópica. Se extrajeron muestras de suelos entre 5 y 40 cm de profundidad, sacando submuestras en distintos lugares en cada predio, las que luego se unieron y mezclaron de forma de obtener muestras compuestas representativas de cada lugar. Se realizó la caracterización físico-química de las muestras sobre el extracto acuoso según Standard Methods.

Los nematodos se separaron del suelo por el método de Baermann modificado (Fraga, 1968). Se caracterizó cualitativa y cuantitativamente la presencia de nematodos. A partir de alícuotas del agua extraída de la muestra, se calculó el promedio y el total de nematodos bacteriófagos del volumen total. El recuento se realizó bajo microscopio. Se determinó heterótrofos aerobios totales con técnica de Frioni (Frioni, 1999), para evaluar la microflora bacteriana del suelo.

La evaluación de los nematodos bacteriófagos como bioindicador se realizó en base a distintas experiencias con suelos pertenecientes a la zona de Lomitas (Norte de Salta) para la actividad petrolera y suelos pertenecientes a Rosario de Lerma (Valle de Lerma - Salta) correspondientes a una curtiembre. Se tomó como referencia suelos inalterados del lugar donde se desarrollan las actividades.

Se tomaron muestras representativas de campo con concentraciones de hidrocarburo variables siguiendo la metodología anterior, para determinar el nivel tolerable del contaminante por el bioindicador.

Para estudiar los nematodos bacteriófagos en los biomonitoreos del proceso de bioremediación de suelos contaminados con petróleo, se realizaron experiencias en laboratorio. Se utilizaron cajas con 12 litros de tierra cuyas características dependen de las variantes a estudiar. Las variantes estudiadas fueron: suelo natural (Lomitas) como suelo inalterado y suelo alterado, compuesto por una mezcla de suelo natural y residuo de petróleo (concentración aproximada de Hidrocarburo de 7%). Previa a la incorporación de residuo de petróleo se preparó el suelo mecánicamente manteniendo la humedad óptima, de manera de descompactar, airear y homogeneizar el material aumentando el número de poros.

Las cajas permanecieron durante tres meses en cámara termostaticada a una temperatura de 29°C +/-2, fueron sometidas a un régimen de humectación y aireación con una frecuencia de dos veces por semana, equivalente a un tratamiento de biorremediación por landfarming. El método seleccionado para la recolección de la muestra de cada caja, fue la construcción de una grilla hipotética cuadrada a partir de la cual se extrajeron submuestras de forma sistemática del centro de cada cuadrado, las que posteriormente fueron integradas en una sola muestra compuesta para cada caja.

Las determinaciones físico-químicas de las muestras de suelo se efectuaron en forma paralela a las determinaciones biológicas (nematodos y heterótrofos totales).

## RESULTADOS Y DISCUSION

### 1. Evaluación de organismos del suelo como bioindicadores

Del análisis de la Tabla 1 se resume que los nematodos bacteriófagos se comportan como organismos relativamente tolerantes a la exposición de polucionantes tales como hidrocarburo y altas concentraciones de sales, de manera tal que son más altos cuando las condiciones del suelo se acercan a valores normales o comunes (suelos inalterados y agrícolas) y son bajos en suelos alterados.

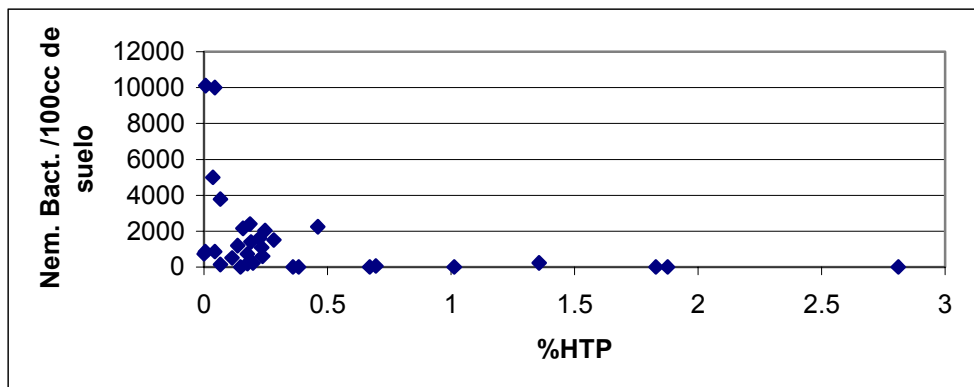
Una característica común de los suelos impactados por actividades de petróleo y de curtiembre, es el alto contenido de materia orgánica que en principio tendría que favorecer el desarrollo bacteriano y por ende el de los nematodos bacteriófagos, cosa que no ocurre debido a la presencia de alguna sustancia inhibidora o una relación de nutrientes desequilibrada. Para el caso de la curtiembre el suelo alterado posee alta conductividad, por alto contenido de sales que afecta la membrana celular de las bacterias disminuyendo su población y por consiguiente la población de nematodos.

Actividad		Nemat. bacteriófagos/cm <sup>3</sup> suelo	Bacterias UFCgr/suelo	Mat. Orgánica	Nitrógeno ppm	Fósforo ppm	PH	Conductividad mmhos/cm
Curtiembre	Suelo inalterado	2300	9200x10 <sup>9</sup>	0.29	20	8	6.4	0.19
	Suelo Alterado	333	430x10 <sup>9</sup>	5.8	390	17	7.0	18.1
Petrolera	Suelo inalterado	1156	90x10 <sup>11</sup>	0.1882	2000	161	7.32	0.12
	Suelo alterado	134	190x10 <sup>11</sup>	6.0986	2400	53	7	0.42
Agrícola	Cult. Alfalfa	1600		1.69	1100	2	7.3	1.43
	Valores óptimos para un suelo agrícola *			2.51-3.90	1100-1500	11-20	6.7-7.3	menor a 2.0

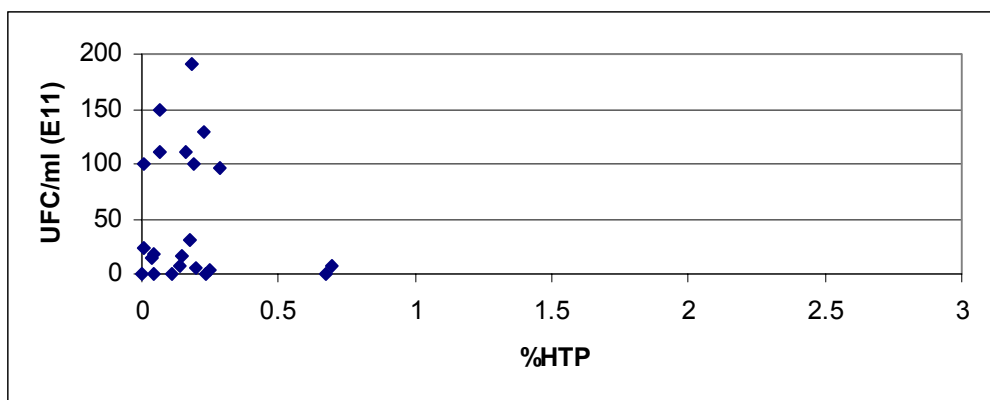
\*INTA. EEA Salta

**Tabla 1:** Caracterización física-química y biológica de suelos provenientes de distintas actividades.

Los análisis de campo en emprendimientos de explotación petrolífera (Figura 1) muestran el descenso de las poblaciones de nematodos bacteriófagos y bacterias al aumentar el porcentaje de petróleo en el suelo. Cuando el valor de hidrocarburo sobrepasa el 1%, la población de nematodos bacteriófagos y bacterias bajan a valores mínimos o a niveles no detectables.



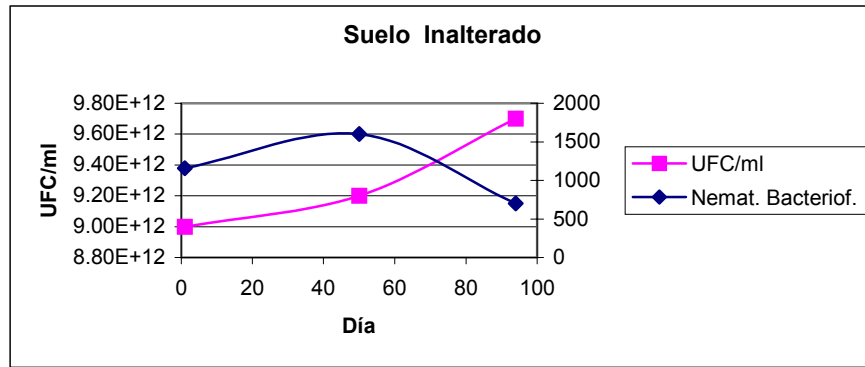
**Figura 1:** Variación de las cantidades de nematodos bacteriófagos con la concentración de hidrocarburo (gr Hidrocarburos Totales en 100 gr de muestra seca) en suelos de lugares de actividad petrolera.



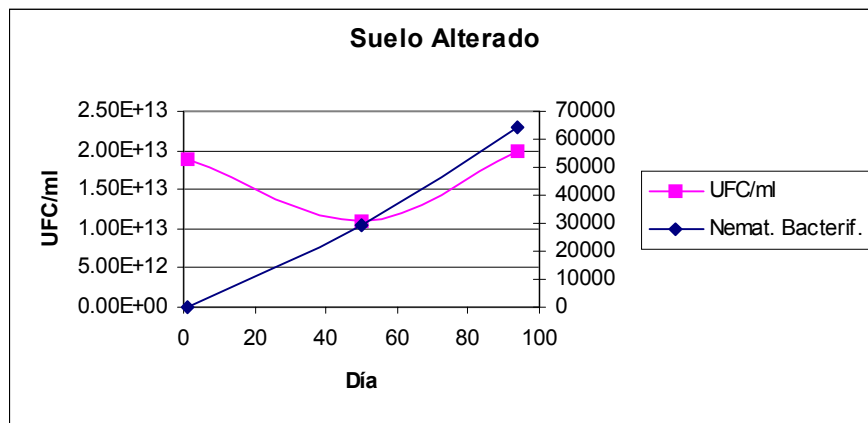
**Figura 2:** Variación de la cantidad de microorganismos bacterianos con la concentración de hidrocarburo (%HTP en muestra seca) en suelos en lugares de explotación petrolera.

## 2. Evaluación de nematodos bacteriófagos en un biomonitoreo del proceso de bioremediación de suelos contaminados con petróleo

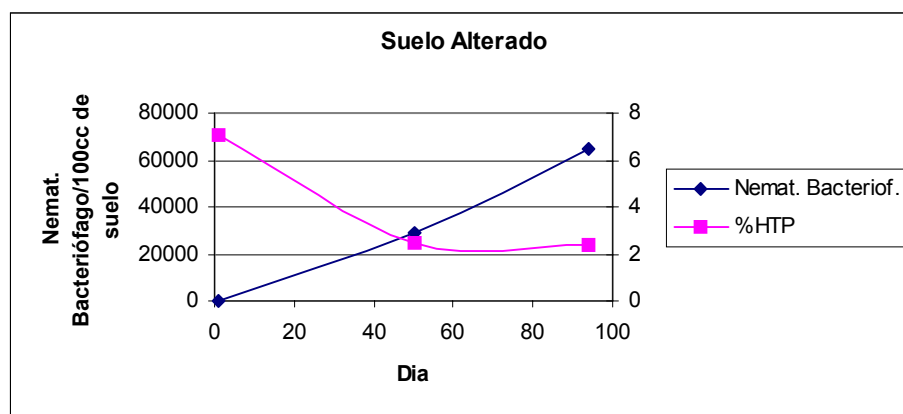
En Figura 3 se observa una oscilación de las poblaciones de nematodos bacteriófagos y bacterias entre rangos normales en un suelo inalterado durante los 100 días que transcurrió la experiencia. En el suelo alterado, los valores iniciales de nematodos son muy bajos por la introducción del contaminante lo que también hace disminuir en una primera etapa la población bacteriana. A mitad del proceso, y en la medida que disminuye el petróleo ( Figuras 4 y 5), ambas poblaciones aumentan.



**Figura 3:** Variación temporal entre cantidades de nematodos bacteriófagos en 100 cc de suelo y microorganismos bacterianos (Unidades formadoras de colonias por ml) en un suelo inalterado en cajas en laboratorio.



**Figura 4:** Variación temporal entre nematodos bacteriófagos por 100 cc de suelo y microorganismos bacterianos (Unidades formadoras de colonias por ml) en un suelo alterado en cajas en laboratorio.



**Figura 5:** Variación temporal entre nematodos bacteriófagos por 100 cc de suelo y concentración de hidrocarburo (%HTP en muestra seca) en un suelo alterado en cajas en laboratorio.

Si se comparan los niveles de petróleo entre las experiencias de cajas en laboratorio y en el campo, se observa que con un 2% de hidrocarburo, en laboratorio se mantienen poblaciones relativamente altas de nematodos, esto probablemente se deba al manejo en condiciones controladas, con el mantenimiento de condiciones óptimas de temperatura, humedad y aireación constantes.

## CONCLUSION

Los nematodos bacteriófagos del suelo pueden comportarse como organismos indicadores de situaciones alteradas debidas a algún polucionante en concentraciones determinadas. En el caso de suelos contaminados con hidrocarburos se demuestra que a concentraciones mayores del 1%, la población nematológica se deprime, como así también a altas concentraciones de sales.

En condiciones normales los nematodos bacteriófagos del suelo son abundantes y están presentes en una gran diversidad de ambientes. Por otro lado presentan un ciclo de vida relativamente largo, lo que permite su conservación. Su tamaño facilita la cuantificación y estudio en laboratorio. Las técnicas de separación y aislación son prácticas y económicas. Estas características, entre otras, como la posibilidad de criarlos en laboratorio, permiten considerarlos como promisorios bioindicadores.

En un proceso de bioremediación para la recuperación de suelos empetrolados muestran también ser adecuados para su biomonitoreo, porque su evolución responde al proceso de descontaminación.

## ABSTRACT

Among the large variety of living organisms in soil the bacteriophagous nematodes have been studied extensively due to their potential use as biosensors. These biosensors can be used to determine the degree of soil perturbation (damage) and the rate of soil restoration. This paper evaluates different damaged (contaminated) soils due to the human activity and their relationship to the bacteriophagous nematodes population in field and laboratory scales. The results indicate that the behaviour of the organisms population is correlated to the contaminant concentration levels.

**Key words:** Biosensors, nematodes, bioremediation, contaminated soils.

## BIBLIOGRAFÍA

- APHA. 1995. American Public Health Association. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 19<sup>th</sup> Ed. Eaton, A.D., Clesceri, L.S. and Greenberg, A.E. Eds. APHA, AWWA, WEF, Washington.
- Brussaard, L. et al. 1997. Biodiversity and Ecosystem Functioning in Soil. *Ambio* Vol. 26 N°8. Suecia.
- Ercoli, et al. 2000. Biorremediación de suelos por técnica de acumulación aireada. 4° Jornadas de Preservación de agua, aire y suelo en la industria de petróleo y de gas, 3-6 Oct. Tomo II.
- Fraga Cesar P. 1968. Introducción a la Nematología Agrícola, Ed. Hemisferio Sur, Bs.As..
- Frioni, L. 1999. Procesos microbianos. Tomos I y II. Colecc. Manuales. Ed. De la Fundac. Universidad Nac. de Río Cuarto, Córdoba.
- Plaza, G. et al. 2001. Biorremediación en suelos contaminados con hidrocarburos. *ASADES*. Vol. 5.