

TABLA DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS.....	iv
FINANCIAMIENTO.....	vi
TABLA DE CONTENIDO.....	vii
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	ix
ÍNDICE DE TABLAS.....	x
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xi
RESUMEN.....	xii
SUMMARY.....	xvi
INTRODUCCIÓN.....	1
Antártica.....	1
El efecto del hombre.....	2
Hidrocarburos aromáticos policíclicos.....	5
Fenantreno.....	7
Estrategias de biodegradación.....	8
HIPÓTESIS.....	14
OBJETIVO GENERAL.....	14
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	14
MATERIALES.....	15
MÉTODOS.....	17
1. Métodos de análisis químico y biológico de suelos.....	17
2. Métodos microbiológicos.....	19
RESULTADOS.....	26
1. Caracterización química y biológica de muestras de suelos antárticos expuestos y sin exponer a diésel.....	26
Selección de las muestras de suelo.....	26
Determinación del pH de los suelos.....	26
Cuantificación de HAP en suelo.....	27
Cuantificación de cadmio, cromo y plomo en suelos.....	28

Determinación de la actividad biológica total de los suelos.....	29
Determinación del número de heterótrofos en los suelos.....	30
2. Aislamiento y caracterización de bacterias degradadoras de fenantreno resistentes a metales.....	31
Enriquecimiento de suelos.....	31
Selección de microorganismos a partir de suelos antárticos.....	32
Identificación de microorganismos.....	33
Caracterización microbiológica de los aislados seleccionados.....	34
Caracterización microbiológica.....	35
Resistencia a estrés oxidativo.....	36
Cinética de crecimiento con fenantreno y diesel como única fuente de carbono.....	39
Efecto de los metales pesados en el crecimiento y degradación de fenantreno.....	40
Cinética de crecimiento en presencia de cadmio.....	41
Cinética de degradación de fenantreno.....	42
Ensayo de bioaumentación con <i>P. flavescens</i> D43FB.....	43
3. Dilucidar procesos asociados a la degradación de fenantreno.....	43
Presencia de dioxigenasas.....	44
Quimiotaxis.....	45
Producción de biosurfactantes.....	46
Formación de biopelícula y adhesión a fenantreno.....	47
DISCUSIÓN.....	50
Caracterización de suelos antárticos.....	50
Contaminación de HAP y metales pesados.....	50
Análisis biológico de los suelos.....	51
Caracterización de aislados antárticos.....	52
Método de selección.....	52
Identificación de aislados degradadores de fenantreno.....	53
Efecto del cadmio.....	54
Degradación de fenantreno y procesos asociados.....	55

CONCLUSIONES.....	58
BIBLIOGRAFÍA.....	59

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Figura 1. Mapa del territorio antártico.....	1
Figura 2. Zonas contaminadas en Isla Rey Jorge, Antártica	13
Figura 3. Los 16 HAPs de interés para la EPA.....	15
Figura 4. Molécula de fenantreno C ₁₄ H ₁₀	17
Figura 5. Esquema de las distintas rutas de metabolismo del fenantreno descritas en bacterias degradadoras.....	10
Figura 6. Esquema de bacteria degradadora de HAPs creciendo cerca de suelo con fenantreno adsorbido.....	11
Figura 7. Zona de muestreo.....	26
Figura 8. Determinación del pH en muestras de suelo Antártico.....	27
Figura 9. Concentración de HAP en suelo.....	28
Figura 10. Cuantificación de metales pesados de suelo Antártico.....	29
Figura 11. Determinación de actividad biológica total.....	30
Figura 12. Determinación de unidades formadoras de colonia por gramo de suelo.....	31
Figura 13. Enriquecimiento de suelos.....	32
Figura 14. Metabolización de fenantreno.....	33
Figura 15. Esquema resumen de selección de microorganismos.....	33
Figura 16. Tinción de Gram.....	35
Figura 17. Temperatura óptima de crecimiento.....	35
Figura 18. Tiempo mínimo de exposición a luz UV que inhibe el crecimiento.....	37
Figura 19. Presencia de catalasa.....	38
Figura 20. Cinética pseudo enzimática de peroxidasa.....	39
Figura 21. Cinética de crecimiento con hidrocarburos como única fuente de carbono.....	40
Figura 22. Efecto del cadmio en el crecimiento con fenantreno como única fuente de carbono.....	42

Figura 23. Degradación de fenantreno en presencia de Cd^{+2}	42
Figura 24. Bioaumentación de terrario con <i>P.flavescens</i> D43FB.....	43
Figura 25. Purificación de plásmidos.....	44
Figura 26. Ensayo de motilidad.....	45
Figura 27. Ensayo de quimiotaxis.....	46
Figura 28. Evaluación de producción de biosurfactantes.....	47
Figura 29. Ensayo de formación de biopelícula.....	48
Figura 30. Adhesión a cristales de fenantreno.....	48
Figura 31. SEM de bacteria adherida a cristales de fenantreno.....	49
Figura. 32. Conversión de concentración de fenantreno a hidrocarburo total.....	50
Figura 33. Árbol filogenético.....	53
Figura 34. Esquema resumen de la estrategia de degradación de fenantreno propuesto para <i>Pseudomonas flavescens</i> D43FB.....	57

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Microorganismos degradadores de HAPs.....	7
Tabla 2. Reactivos utilizados.....	15
Tabla 3. Caracterización de aislados bacterianos.....	34
Tabla 4. Ensayos bioquímicos y crecimiento con distintas fuentes de carbono.....	36
Tabla 5. Caracterización resistencia a estrés oxidativo.....	39
Tabla 6. MIC de metales pesados de las cepas aisladas.....	41
Tabla 7. Niveles de contaminación según Norma Chilena, Holandesa y Mexicana.....	51