

XXV  
JORNADAS DE

# JÓVENES INVESTIGADORES AUGM - UNI

INVESTIGACIÓN  
SIN FRONTERAS  
PARA LA INTEGRACIÓN  
CIENTÍFICA Y CULTURAL



18-19-20 OCTUBRE - 2017



Asociación de Universidades  
GRUPO MONTEVIDEO



UNIVERSIDAD  
NACIONAL DE ITAPÚA

**XXV JORNADAS DE JÓVENES  
INVESTIGADORES**

**AUGM**

***“Investigación sin fronteras para una  
integración científica y cultural”***

**Tomo I**

**FICHA TÉCNICA**

**ISBN:** 978-99967-884-0-6

**DATOS GENERALES**

**TÍTULO:** XXV Jornadas de Jóvenes Investigadores

**SUBTÍTULO:** Jornadas de Jóvenes Investigadores AUGM - UNI 2017

**AÑO DE EDICIÓN:** 2017

**MES DE PUBLICACION:** OCTUBRE

**NÚMERO DE PÁGINAS:** 637

Todos los resúmenes de este libro fueron reproducidos de copias enviadas por los autores. El contenido de los mismos es de exclusiva responsabilidad de sus autores. El Comité organizador de las XXV Jornadas de Jóvenes Investigadores de la Asociación de Universidades del Grupo Montevideo no se responsabiliza por los contenidos publicados en este libro.

Toda cita o reproducción parcial de la información contenida en el presente volumen solamente pueden realizarse con la expresa mención de la fuente

## **ASOCIACION DE UNIVERSIDADES GRUPO MONTEVIDEO (AUGM)**

### **UNIVERSIDADES MIEMBROS**

#### **ARGENTINA**

Universidad de Buenos Aires (UBA)  
Universidad Nacional de Córdoba (UNC)  
Universidad Nacional de Cuyo (UNCuyo)  
Universidad Nacional de Entre Ríos (UNER)  
Universidad Nacional del Litoral (UNL)  
Universidad Nacional de La Plata (UNLP)  
Universidad Nacional de Mar del Plata (UNMdP)  
Universidad Nacional del Nordeste (UNNE)  
Universidad Nacional de Rosario (UNR)  
Universidad Nacional del Sur (UNS)  
Universidad Nacional de San Luis (UNSL)  
Universidad Nacional de Tucumán (UNT)

#### **BOLIVIA**

Universidad Mayor de San Andrés (UMSA)  
Universidad Mayor, Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca  
(UMRPSFXCH)

#### **BRASIL**

Universidade Federal do Rio Grande (FURG)  
Universidade Federal de Goiás (UFG)  
Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)  
Universidade Federal do Paraná (UFPR)  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)  
Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)  
Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)  
Universidade Federal de São Carlos (UFSCar)  
Universidade Federal de Santa Maria (UFSM)  
Universidade Estadual Paulista (UNESP)  
Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)  
Universidade de São Paulo (USP)

#### **CHILE**

Universidad de Chile (UChile)  
Universidad de Playa Ancha (UPLA)  
Universidad de Santiago de Chile (USACH)  
Universidad de Valparaíso (UV)

#### **PARAGUAY**

Universidad Nacional de Asunción (UNA)  
Universidad Nacional del Este (UNE)  
Universidad Nacional de Itapúa (UNI)

#### **URUGUAY**

Universidad de la República (UDELAR)

**AUTORIDADES DE LA AUGM 2016 – 2017**

**PRESIDENTE DE LA AUGM**

**Dr. Waldo Albarracín Sánchez**

Rector de la Universidad Mayor de San Andrés, Bolivia

**VICEPRESIDENTE DE LA AUGM**

**Ing. Gerónimo Laviosa González**

Rector de la Universidad Nacional del Este, Paraguay

**SECRETARIO EJECUTIVO DE LA AUGM**

**Prof. Dr. Álvaro Maglia**

**RESPONSABLES DE PROGRAMAS Y PROYECTOS - AUGM**

**Lic. Fernando Sosa**

**Juan Manuel Sotelo**

**Lic. Laura Adinolfi**

**COMUNICACIÓN**

**Edward Braidá**

**INFORMÁTICA**

**Andrés Ramos**

**ADMINISTRACIÓN**

**Arch. Cecilia Gobbi**

**Gabriela Sopeña**

**Pablo Rovira**

## CONSEJO DE RECTORES

### ARGENTINA

**Rector Dr. Alberto Edgardo Barbieri**  
Universidad de Buenos Aires

**Rector Dr. Hugo Juri**  
Universidad Nacional de Córdoba

**Rector Ing. Agr. Daniel Ricardo Pizzi**  
Universidad Nacional de Cuyo

**Rector Ing. Jorge Gerard**  
Universidad Nacional de Entre Ríos

**Rector en funciones Arq. Miguel Alfredo Irigoyen**  
Universidad Nacional del Litoral

**Presidente Lic. Raúl Perdomo**  
Universidad Nacional de La Plata

**Rector Lic. Francisco Antonio Morea**  
Universidad Nacional de Mar del Plata

**Rectora Prof. María Delfina Veiravé**  
Universidad Nacional del Nordeste

**Rector Arq. Héctor Floriani**  
Universidad Nacional de Rosario

**Rector Dr. Ricardo Sabattini**  
Universidad Nacional del Sur

**Rector Dr. Félix Nieto**  
Universidad Nacional de San Luis

**Rectora Dra. Alicia Bardón**  
Universidad Nacional de Tucumán

### BOLIVIA

**Rector Dr. Waldo Albarracín Sánchez**  
Universidad Mayor de San Andrés

**Rector Ing. Eduardo Rivero Zurita**  
Universidad San Francisco Xavier de Chuquisaca

### BRASIL

**Rectora Dr<sup>a</sup> Cleuza Maria Sobral Dias**  
Universidade Federal do Rio Grande

**Rector Dr. Orlando Afonso Valle do Amaral**  
Universidade Federal de Goiás

**Rector Prof. Jaime Arturo Ramírez**  
Universidade Federal de Minas Gerais

**Rector Prof. Ricardo Marcelo Fonseca**  
Universidade Federal do Paraná

**Rector Prof. Rui Oppermann**  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

**Rector Prof. Roberto Leher**  
Universidade Federal do Rio de Janeiro

**Rectora Prof. Alacoque Lorenzini Erdmann**  
Universidade Federal do Santa Catarina

**Rectora Dr<sup>a</sup> Wanda Aparecida Machado Hoffmann**  
Universidade Federal de São Carlos

**Rector Prof. Paulo AfonsoBurmann**  
Universidade Federal de Santa Maria

**Rector Prof. Sandro R. Valentini**  
Universidade Estadual Paulista

**Rector Prof. Marcelo Knobel**  
Universidade Estadual de Campinas

**Rector Prof. Marco Antonio Zago**  
Universidade de São Paulo

#### **CHILE**

**Rector Prof. Ennio Vivaldi Véjar**  
Universidad de Chile

**Rector Dr. Patricio Sanhueza Vivanco**  
Universidad de Playa Ancha

**Rector Ing. Juan Manuel Zolezzi Cid**  
Universidad de Santiago de Chile

**Rector Aldo Valle Acevedo**  
Universidad de Valparaíso

#### **PARAGUAY**

**Rector Prof. Mst. Abel Bernal Castillo**  
Universidad Nacional de Asunción

**Rector Ing. Gerónimo Laviosa González**  
Universidad Nacional del Este

**Rector Prof. Ing. Hildegardo González Irala**  
Universidad Nacional de Itapúa

#### **URUGUAY**

**Rector Dr. Roberto Markarian**  
Universidad de la República

**ASESORES  
ARGENTINA**

Lic. Iván Bigas  
Universidad de Buenos Aires

Ing. Agr. Carlos Barioglio  
Universidad Nacional de Córdoba

Dra. Jimena Estrella Orrego  
Universidad Nacional de Cuyo

Med. Vet. Marcelo Tobin  
Universidad Nacional de Entre Ríos

Ing. Julio Theiler  
Universidad Nacional del Litoral

Lic. Francisco Javier Díaz  
Universidad Nacional de La Plata

Ing. Raúl Horacio Conde  
Universidad Nacional de Mar del Plata

Arq. Gustavo Tripaldi  
Universidad Nacional del Nordeste

Lic. María Cecilia Candusso  
Universidad Nacional de Rosario

Trad. Laura A. Benedetti  
Universidad Nacional del Sur

CPN Víctor Aníbal Moriñigo  
Universidad Nacional de San Luis

Dra. María Cristina Apella  
Universidad Nacional de Tucumán

**BOLIVIA**

Prof. Nelly Balda  
Universidad Mayor de San Andrés

Lic. Rodney Rada Puña  
Universidad Mayor, Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca

**BRASIL**

Profa. Dra. Ofir Bergemann de Aguiar  
Universidade Federal de Goiás

Prof. Fábio Alves da Silva Júnior  
Universidade Federal de Minas Gerais

Prof. Dr. André Duarte  
Universidade Federal do Paraná

Prof. NicolasMaillard  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. VitorAlevato do Amaral  
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Prof. Lincoln Fernandes  
Universidade Federal do Santa Catarina

MSc. Ma. Estela Antonioli Pisani Canevarolo  
Universidade Federal de São Carlos

Prof. César Augusto Guimarães Finger  
Universidade Federal de Santa Maria

Prof. José Celso Freire Júnior  
Universidade Estadual Paulista

Profa. Dr. Elena Brugioni  
Universidade Estadual de Campinas

Prof. Dr. Claudio Possani.  
Universidade de São Paulo

#### **CHILE**

Prof. Eduardo Vera S.  
Universidad de Chile

Profa. Cecilia Arriagada  
Universidad de Playa Ancha

Carol Johnson  
Universidad de Santiago de Chile

Alejandro Rodríguez Musso  
Universidad de Valparaíso

#### **PARAGUAY**

Prof. Dr. José Manuel Silvero Arévalos  
Universidad Nacional de Asunción

Lic. Rolando Segovia Pérez  
Universidad Nacional del Este

Prof. Dra. Lucila Bogado de Scheid  
Universidad Nacional de Itapúa

#### **URUGUAY**

Dr. Hugo Calabria  
Universidad de la República

## **AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE ITAPÚA**

**Rector:** Prof. Ing. Hildegardo González Irala

**Vicerectora:** Prof. Dra. Yilda Agüero de Talavera

### ***COMISIÓN ORGANIZADORA***

**Delegada Asesora de AUGM por la Universidad Nacional de Itapúa -**

#### **Coordinación General**

Prof. Dra. Lucila Bogado de Scheid

#### ***Miembros***

Dra. Susana Fedoruk  
Dra. Nelly Monges de Insfrán  
Arq. Edith Páez de Moreno  
Dra. Perla Sosa de Wood  
Dr. Cristian Balcázar Bogado  
Univ. Teresita Regis Acosta  
Arq. Miryan Morinigo Schapovaloff  
Lic. Carolina Balcázar  
Univ. Pamela García Benítez  
Lic. Pablo Villalba  
Mg. Sintia Ortiz García  
Mg. Edil Páez Pacheco

#### ***Colaboradores***

Dra. Estelvina Rodríguez  
Univ. Adrián Daniel Halaburda Ojeda  
Univ. Deysi Analía Cardozo Maidana  
Univ. Juan Britos  
Ing.Com. María Elena Martínez  
Dr. Osvaldo Moreira  
Dra. Vanesa Arévalos  
Ing.Com. David Martínez  
Mg. Susana Dmitruk  
Ing. Andrea Romero  
Ing.Com. Gladys Romero Encina  
Lic. Sandra Benítez  
Roly Ayala  
Univ. Andrea Ganchozo Llano  
Lic. Viviana Aldana  
Lic. Liliana Casas

#### **Comité Editorial**

Prof. Dra. Lucila Bogado De Scheid  
Prof. Dra. Susana Fedoruk  
Prof. Dr. Cristian Balcázar Bogado  
Lic. Ingrid Paredes

## **PROLOGO**

En las últimas décadas, brindar condiciones óptimas para afrontar las expectativas de una juventud ávida de conocimiento y de una sociedad cada vez más demandante y globalizada, se ha convertido en la prioridad de la gestión de las instituciones de educación superior.

La universidad es el espacio propicio para que los jóvenes desarrollen competencias y habilidades investigativas que los lleven a satisfacer el deseo por la adquisición de nuevos saberes.

Las Jornadas de Jóvenes Investigadores de la Asociación de Universidades del Grupo Montevideo AUGM, constituyen una brillante oportunidad para que jóvenes investigadores miembros de reconocidas universidades públicas de la región del Cono Sur de América den a conocer el resultado del esfuerzo de meses y años de trabajo en los cuales se han concebido y desarrollado investigaciones que abarcan una amplia diversidad de áreas del conocimiento.

Para la Universidad Nacional de Itapúa, representó un gran desafío y una enorme responsabilidad constituirse en el escenario físico y organizar estas jornadas de presentación de la gran producción científica de más de 600 jóvenes de las Universidades del Grupo Universitario. Las investigaciones realizadas y los conocimientos generados no deben permanecer ocultos sino que debe trascender a la sociedad y en lo posible hasta para otras generaciones; en las páginas de este libro se incorporan los resúmenes de los trabajos seleccionados por un calificado comité de evaluadores que a la luz de criterios establecidos han superado las diferentes etapas de evaluación llegando así hasta las instancias finales.

Tal como lo expresa el lema de las XXV Jornadas, este es un espacio válido para la concreción de la investigación sin fronteras para la integración científica y cultural.

**Prof. Ing. Hildegardo González Irala**

Rector

Universidad Nacional de Itapúa

## **Consortio de actino bacterias como herramienta eficiente para la recuperación de suelos co-contaminados: implementación de diseño factorial para la optimización del proceso de biorremediación**

**Aparicio, Juan Daniel**

**Director: Polti, Marta Alejandra**

**daparicio@proimi.org.ar; mpolti@proimi.org.ar**

**Planta Piloto de Procesos Industriales Microbiológicos – CONICET**

**Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia - Universidad Nacional de Tucumán**

### **Resumen**

El gran avance tecnológico y el acelerado crecimiento poblacional han generado un grave problema de contaminación mixta en los suelos. La presencia de Cr(VI) y lindano ha sido detectada en todo el mundo en diferentes ambientes, principalmente en suelos. El tratamiento de los mismos es complejo debido a la naturaleza mixta de los contaminantes. Las actinobacterias representan un componente importante de la microbiota edáfica. En un trabajo previo, el consorcio formado por *Streptomyces* sp. M7, MC1, A5 y *Amycolatopsis tucumanensis* fue capaz de biorremediar muestras de suelo contaminadas con Cr(VI) y lindano. Sin embargo, la efectividad de la biorremediación de estos suelos está sujeta a varios factores que interactúan de manera compleja, por lo tanto, los tratamientos biológicos pueden ser mejorados usando un diseño factorial. En el presente trabajo se optimizaron las condiciones del proceso de biorremediación. Después de determinar la concentración óptima de inóculo ( $2 \text{ g kg}^{-1}$ ), se realizó un diseño factorial con cuatro factores para establecer las condiciones óptimas de temperatura y humedad, dependiendo si las concentraciones iniciales de Cr(VI) y lindano eran altas o bajas. El consorcio cuádruple mostró versatilidad para biorremediar muestras de suelos co-contaminadas con Cr(VI) y lindano, en diferentes concentraciones y bajo distintas condiciones ambientales. Las condiciones óptimas, obtenidas por el optimizador de respuesta, fueron empleadas para biorremediar muestras reales de suelos, en las cuales previamente se detectó contaminación con Cr(VI) y/o lindano. En todas ellas, se demostró la eficiencia del consorcio cuádruple para biorremediar suelos reales contaminados, adaptándose a diferentes condiciones ambientales.

**Palabras Claves:** Biorremediación, Suelo, Actino bacterias, Lindano, Cr(VI), Diseño Factorial.

### **Introducción**

Los avances tecnológicos y el crecimiento de la población mundial han creado graves problemas de contaminación mixta en el suelo (Tariq y col., 2016). En particular, la co-contaminación por Cr(VI) y lindano ha sido detectada en diferentes ambientes alrededor del mundo (Maggi y col., 2012, y Coatu y col., 2013). El tratamiento de estos suelos representa un gran desafío, ya que los diferentes tipos de contaminantes requieren diferentes tecnologías para su remoción (Aparicio y col., 2015). La biorremediación es una tecnología prometedora que podría lograr con éxito dicho objetivo.

Las actinobacterias tiene una distribución cosmopolita, con miembros presentes en diversos ecosistemas (Alvares y col., 2017). Además, han demostrado gran capacidad biorremediadora en varias matrices (Benimeli y col., 2008; Alvarez y col., 2008). En un trabajo previo, el consorcio formado por *Streptomyces* sp. M7, MC1, A5 y *Amycolatopsis tucumanensis* logró remover Cr(VI) y lindano de suelos co-contaminados (Polti y col., 2014).

Sin embargo, la eficacia en la biorremediación depende de varios factores y sus interacciones (Owabor et al., 2013). Los diseños factoriales completos generan la máxima información sobre estos factores y sus interacciones (Mason et al., 2003). Mediante el uso de este enfoque, la eficacia de la biorremediación podría mejorarse.

**El objetivo** del presente trabajo fue optimizar las condiciones del proceso de biorremediación de Cr(VI) y lindano por un consorcio definido de actinobacterias. Luego, dichas condiciones fueron empleadas para biorremediar suelos reales, en los cuales previamente se detectó contaminación con Cr(VI) y/o lindano.

## **Materiales y Métodos**

**Soluciones de lindano y Cr(VI):** Se trabajó con lindano ( $\gamma$ -HCH) de 99% de pureza (Sigma-Aldrich Co.). El Cr(VI) fue agregado como  $K_2Cr_2O_7$  (Cicarelli).

**Microorganismos y medio de cultivo:** Las actinobacterias utilizadas fueron *Streptomyces* sp. M7, MC1 y A5 y *Amycolatopsis tucumanensis*, aisladas de ambientes contaminados (Benimeli y col., 2003, Albarracín y col., 2005, Polti y col., 2007, Fuentes y col., 2010). Las cepas se mantuvieron en medio caseína almidón agar (en g L<sup>-1</sup>: almidón, 10,0; caseína, 1,0; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,5; agar, 15,0). Los inóculos para los ensayos en suelo se obtuvieron en tripteína soja caldo (en g L<sup>-1</sup>: triptona, 15; peptona de soja, 3; NaCl, 5; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 2,5; y glucosa, 2,5), durante 3 días a 30 °C y 0,85 × g.

**Muestras de suelo no contaminado:** Se extrajeron muestras de suelo no contaminado de un área urbana de la ciudad de Tucumán-Argentina (26 ° 48'36.6 "S 65 ° 14'28.0" W). Se determinaron las principales características fisicoquímicas.

**Selección del inóculo:** Se llenaron frascos de vidrio con 200 g de suelo no contaminado y se fijó la humedad al 20%. Luego, fueron contaminados con 25  $\mu$ g kg<sup>-1</sup> de lindano y 50 mg kg<sup>-1</sup> de Cr(VI). Después de dos semanas de estabilización fueron inoculados con el consorcio de actino bacterias. Se probaron las siguientes concentraciones de inóculo: 0,5; 1; 2 y 4 g kg<sup>-1</sup> (iguales proporciones de cada cepa para alcanzar la concentración deseada). Se incubó durante 14 días a 30 °C. Se utilizaron como controles suelos co-contaminados sin inocular. Al final del ensayo se determinaron las concentraciones finales de Cr(VI) y lindano. Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

**Análisis del Diseño Factorial:** Se evaluó la importancia e interacciones de cuatro parámetros: concentración inicial de Cr(VI), concentración inicial de lindano, temperatura y humedad. Se realizó un diseño factorial completo 2<sup>4</sup>(cuatro factores, dos niveles) más un punto central (*Tabla 1*), utilizando el software estadístico Minitab (Minitab® 17.2.1, PA, USA). La metodología seguida fue la misma que la descrita en el punto 2.4, empleando las condiciones dadas por el diseño. Todos los ensayos y sus respectivos controles se realizaron por duplicado. Finalmente, se ejecutó un optimizador de respuesta para obtener las condiciones óptimas de biorremediación.

Tabla 1. Diseño factorial completo 2<sup>4</sup>. i: concentración inicial; f: concentración final.

Nivel	Cr(VI) <sub>i</sub> (mg kg <sup>-1</sup> )	Lin <sub>i</sub> (mg kg <sup>-1</sup> )	Temp.	Hum.	Condición	Cr(VI) <sub>i</sub>	Lin <sub>i</sub>	Temp.	Hum.	Cr(VI) <sub>f</sub> (mg kg <sup>-1</sup> )	Lin <sub>f</sub> (µg kg <sup>-1</sup> )
-1 (bajo)	20	10	25	10	A	-1	-1	-1	-1	9,05 ± 0,49	8,6 ± 0,00
0 (PC)	50	25	30	20	B	-1	-1	1	-1	8,55 ± 0,21	9,00 ± 0,00
+1 (alto)	80	40	35	30	C	-1	1	-1	-1	7,85 ± 0,07	17,15 ± 0,21
					D	-1	1	1	-1	6,85 ± 0,07	16,65 ± 1,20
					E	1	-1	-1	-1	34,7 ± 0,14	9,70 ± 0,42
					F	1	-1	1	-1	34,75 ± 0,21	12,9 ± 0,00
					G	1	1	-1	-1	18,65 ± 0,64	17,65 ± 0,07
					H	1	1	1	-1	10,15 ± 0,21	16,75 ± 0,92
					I	0	0	0	0	6,47 ± 0,25	10,43 ± 0,55
					J	-1	-1	-1	1	9,15 ± 0,07	7,00 ± 0,14
					K	-1	-1	1	1	11,10 ± 0,57	13,30 ± 0,28
					L	-1	1	-1	1	6,00 ± 0,14	15,15 ± 0,07
					M	-1	1	1	1	4,85 ± 0,07	16,20 ± 0,00
					N	1	-1	-1	1	25,20 ± 0,00	9,30 ± 0,14
					O	1	-1	1	1	26,00 ± 0,42	8,10 ± 0,14
					P	1	1	-1	1	4,95 ± 0,21	17,90 ± 0,14
					Q	1	1	1	1	3,35 ± 0,07	15,20 ± 1,13

Muestras de suelo contaminado: Se tomaron muestras de suelo de diferentes localidades de la provincia de Salta (noroeste de Argentina). Los puntos de muestreo en Chicoana (CH1: 25 ° 06'19,3 "S 65 ° 31'09,7" W, CH2: 25 ° 06'17,9 "S 65 ° 31'09,3" W y CH3: 25 ° 06'14,3 "S 65 ° 31'09,3" W y RL2: 24 ° 59'05.3 "S 65 ° 35'05.5" W) y Rosario de Lerma (RL1: 24 ° 59'44.7 "S 65 ° 35'39.5" W y RL2: 24°59'05.3"S 65°35'05.5"W) estaban ubicados en zonas rurales, mientras que el punto de muestreo de la ciudad de Salta (SC: 24 ° 50'54.4 "S 65 ° 26'20.2" W) estaba ubicado en una zona urbana. Se determinaron las principales características fisicoquímicas de los suelos, y se cuantificaron las concentraciones de Cr total, Cr(VI) y lindano.

Biorremediación de suelos contaminados: Los suelos reales contaminados fueron tratados empleando las condiciones óptimas (previamente determinadas). La metodología utilizada fue la misma que se describe en 2.4., ajustando las condiciones de temperatura y humedad de acuerdo a las concentraciones iniciales de Cr(VI) y lindano encontradas en los suelos. Al final del ensayo, se determinaron las concentraciones finales de Cr(VI) y lindano. Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

Determinaciones analíticas: La extracción de  $\gamma$ -HCH se realizó de acuerdo a Fuentes y col. (2011). Los extractos obtenidos se cuantificaron mediante cromatografía gaseosa.

Para determinar Cr total, se llevó a cabo una digestión por microondas según el método EPA 3052. La cuantificación se realizó mediante ICP-MS.

Para determinar Cr(VI) se empleó un método físico descrito por Csillag y col. (1999), el cual reproduce la máxima succión de una planta. Polti y col. (2011) demostraron que dicha fracción corresponde exclusivamente a Cr(VI). Los extractos de suelo se analizaron por espectrometría de absorción atómica.

## Resultados y Discusión

### Determinación de la concentración óptima de inóculo

Las principales características fisicoquímicas del suelo no contaminado (SNC) empleado se muestran en la *Tabla 2*.

Después de dos semanas de estabilización, el Cr(VI) se redujo a  $16 \text{ mg kg}^{-1}$  (datos no mostrados). Esto se debe a que el Cr(VI), al ser altamente reactivo, reacciona con los componentes del suelo, reduciéndose a Cr(III). Esta concentración se consideró como 100% para los cálculos de remoción.

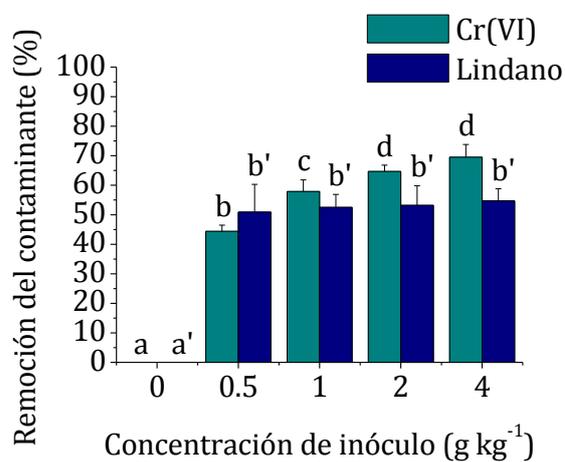
Por el contrario, no se observaron variaciones en la concentración de lindano después del tiempo de estabilización, por lo que no hubo evidencia de una contribución de los microorganismos autóctonos del suelo en la remoción del pesticida (datos no mostrados). Esto podría deberse a que los metales pesados, incluido el Cr, inhiben los procesos biológicos de la microbiota edáfica (Sandrin y Maier, 2003).

Después de 14 días a  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ , la remoción de lindano osciló entre 50,9 y 54,7% (*Figura 1*), sin diferencias significativas.

Por otro lado, la remoción de Cr(VI) osciló entre 44,4 y 69,5% (*Figura 1*) y fue mayor cuanto mayor era el inóculo, sin embargo no se observaron diferencias significativas entre las concentraciones de inóculo de 2 y  $4 \text{ g kg}^{-1}$ .

Es posible que las concentraciones de inóculo más altas causen competencia por sustratos que llevan una disminución inicial en la concentración efectiva de células en el sistema, reduciendo los rendimientos del proceso (Benimeli y col., 2008). Se seleccionó el inóculo de  $2 \text{ g kg}^{-1}$  para ensayos posteriores ya que fue la concentración de inóculo más baja que permitió la remoción simultánea más alta de Cr(VI) y lindano.

*Figura 1. Remoción de contaminantes en suelos tratados con diferentes concentraciones de inóculo. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).*



Parámetro	SNC	CH1	CH2	CH3	RL1	RL2	SC
pH	6,75	9,72	5,75	7,81	7,56	7,52	4,30
Materia orgánica, %	1,92	16,1	2,50	2,85	1,05	3,92	0,93
Nitrógeno Total, ppm	0,85	0,96	0,15	0,18	0,07	0,221	0,053
Fósforo, ppm	14,0	138,0	40,5	30,0	37,4	13,2	9,0
Arcilla, %	42,9	53,5	42,9	26,4	23,7	38,3	29,0
Limo, %	40,8	33,5	40,8	61,1	13,8	42,6	40,2
Arena, %	16,2	13,0	16,2	12,5	62,5	19,1	30,8
Textura	Franco	Franco arenoso	Franco	Franco limoso	Arcilloso	Franco	Franco arcilloso
Cr Total, mg kg <sup>-1</sup>	6	1296	26	32	358	652	5
Cr(VI), mg kg <sup>-1</sup>							
Suelo sin inocular	ND	197	ND	ND	192	145	ND
Suelo inoculado	-	105	ND	ND	ND	ND	ND
Lindano, µg kg <sup>-1</sup>							
Suelo sin inocular	ND	556	111	146	589	150	10
Suelo inoculado	-	304	31	41	304	75	10

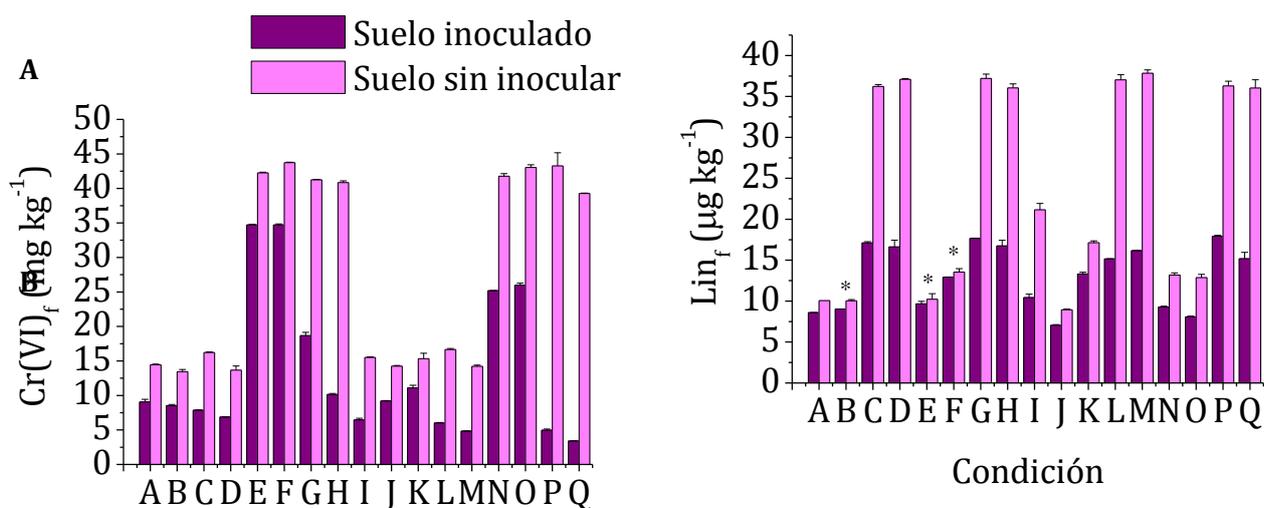
Tabla 2. Caracterización fisicoquímica y concentración de los contaminantes en los suelos. SNC: suelo no contaminado (Tucumán - Argentina). CH1, CH2 y CH3 suelos provenientes de Chicoana, RL1 y RL2 suelos provenientes de Rosario de Lerma y SC suelo proveniente de Salta Capital (Salta - Argentina).

### Análisis del diseño factorial

El análisis de varianza (ANOVA) mostró que la concentración final de Cr(VI) fue significativamente menor en los suelos inoculados que en los respectivos controles sin inocular (Figura 2A). De forma similar, la concentración final de lindano en los suelos inoculados fue significativamente menor que las obtenidas en los controles sin inocular, excepto en tres condiciones (B, E y F) que tienen en común baja concentración inicial de lindano y baja humedad (Figura 2B). Las mayores remociones de Cr(VI) y lindano se alcanzaron cuando la temperatura, humedad y concentraciones iniciales de Cr(VI) y lindano fueron elevadas (condición Q). El Cr(VI) disminuyó de 43,3 mg kg<sup>-1</sup> a 3,4 mg kg<sup>-1</sup> (remoción del 92%) y la concentración de lindano disminuyó de 36,0 µg kg<sup>-1</sup> a 15,2 µg kg<sup>-1</sup> (remoción del 58%) (Figura 2).

El diseño factorial empleado en este estudio permitió correlacionar dos respuestas (concentración final de Cr(VI) y concentración final de lindano) con todos los parámetros del proceso a la vez, e incluyó combinaciones de 1 y 2 factores. No se consideraron las combinaciones de 3 y 4 factores ya que sólo se realizaron dos repeticiones por condición. Con el fin de simplificar la identificación de los factores, se designó a cada parámetro como: (A) concentración inicial de Cr(VI), (B) concentración inicial de lindano, (C) temperatura y (D) humedad.

Figura 2. Concentración de A) Cr(VI)<sub>f</sub> y B) Lin<sub>f</sub> en suelos inoculados con el consorcio y sus respectivos controles sin inocular, para todas las condiciones dadas por el diseño factorial. i: concentración inicial; f: concentración final; \*: no presenta diferencias significativas con su respectivo control.



Se obtuvieron las mejores ecuaciones de regresión para las concentraciones finales de Cr(VI) (1) y lindano (2):

(1) Concentración final de Cr(VI) = - 6,08 + 0,7060A + 0,5293B + 0,102C - 0,142D - 0,009875A \* B - 0,00354A \* C - 0,007815A \* D - 0,01204B \* C - 0,007815A \* D - 0,01204B \* C - 0,00366B \* D + 0,01251C \* D - 7,374 Punto central

El r<sup>2</sup> fue de 0,9927 y el r<sup>2</sup> predicho fue 0,9830, lo que indica que el modelo logra explicar el 99,27% de los datos observados y podría predecir más del 98% de nuevos datos.

(2) Concentración final de lindano = - 8,11 + 0,1468A + 0,532B + 0,476C + 0,006D + 0,000068A \* B - 0,00369A \* C - 0,001432A \* D - 0,00992B \* C - 0,00051B \* D + 0,00132 C \* D - 2.723 Punto central

El valor de r<sup>2</sup>, 0,9079, indica que el 90,79% de la variabilidad en la respuesta podría explicarse con el modelo. El r<sup>2</sup> predicho fue del 78,36%, lo que sugiere que el modelo podría predecir 78,36% de nuevas observaciones.

El análisis de la varianza generada por Minitab se presenta en la *Tabla 3*. Los efectos principales de los factores y las interacciones dobles se identificaron basándose en valores  $p < 0,05$ . Los cuatro parámetros tuvieron un efecto estadísticamente significativo en las concentración final de Cr(VI), así como también, todas las interacciones entre los factores. Esto indica que el efecto individual de cada factor cambia en presencia de los otros factores.

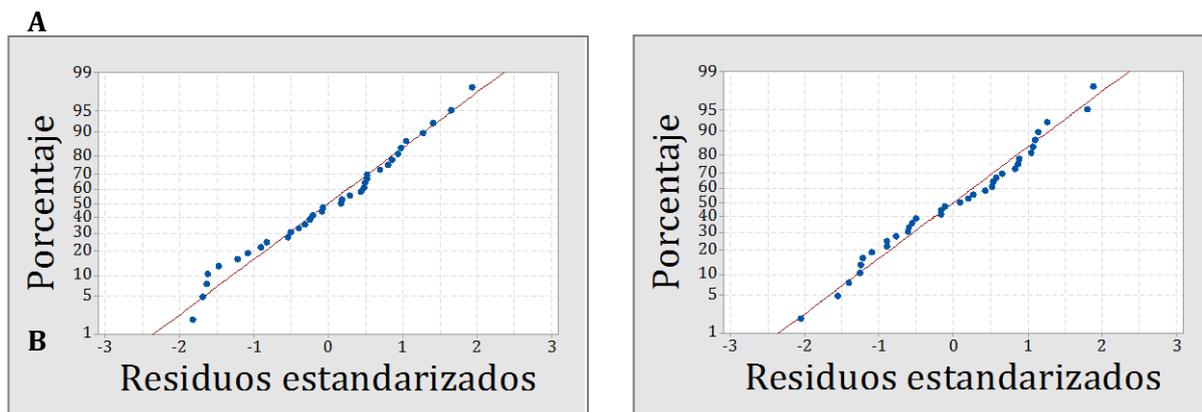
*Tabla 3. Análisis de la varianza. Cr(VI)<sub>f</sub> (mg kg<sup>-1</sup>) y Lin<sub>f</sub> (µg kg<sup>-1</sup>) vs. Cr(VI)<sub>i</sub> (A), Lin<sub>i</sub> (B), temperatura (C) y humedad (D).*

Factor	Cr(VI) <sub>f</sub> vs. A, B, C y D	Lin <sub>f</sub> vs. A, B, C y D
	valor-p	valor-p
A	0,000	0,272
B	0,000	0,000
C	0,003	0,166
D	0,000	0,128
AB	0,000	0,902
AC	0,009	0,340
AD	0,000	0,094
BC	0,000	0,006
BD	0,007	0,760
CD	0,003	0,790

Sólo la concentración inicial de lindano tuvo un efecto estadísticamente significativo sobre la concentración final de lindano. La interacción entre la concentración inicial de lindano y la temperatura (BC) fue la única estadísticamente significativa.

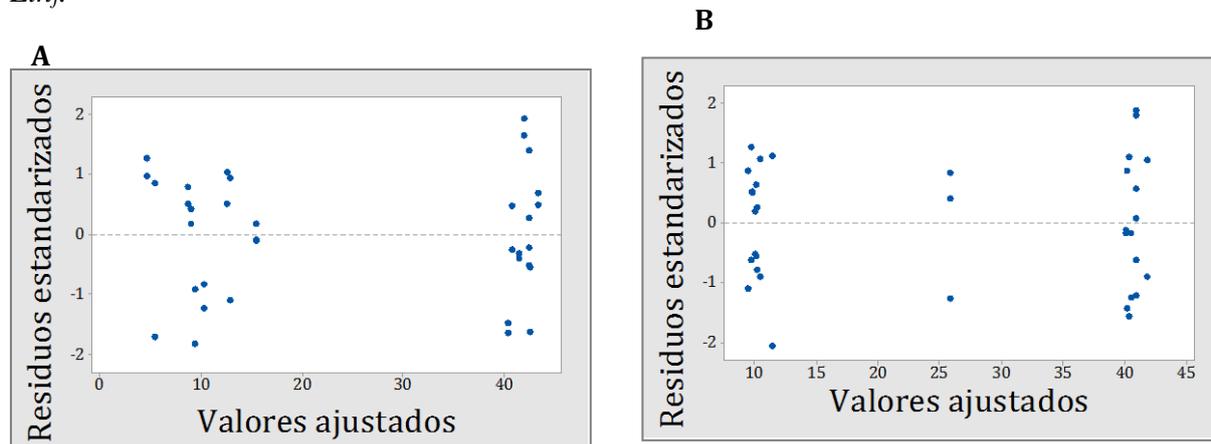
Para la validación de los resultados se utilizaron los gráficos de Probabilidad Normal de los residuos (para comprobar la normalidad de los datos) (*Figura 3*) y los gráficos del residuo estandarizado vs. residuo ajustado (para el análisis de la varianza) (*Figura 4*).

*Figura 3. Gráficos de Probabilidad Normal para (A) Cr(VI)<sub>f</sub> y (B) Lin<sub>f</sub>.*



Las líneas rectas en los gráficos de la *Figuras 3A* y *3B* indican normalidad en la distribución de los residuos. La ausencia de patrones en los gráficos de las *Figuras 4A* y *4B* suponen varianza constante. Por lo tanto, se cumplieron los supuestos de normalidad y de varianza constante.

*Figura 4. Gráficos de residuos estandarizados vs. residuo ajustado para (A) Cr(VI)<sub>f</sub> y (B) Lin<sub>f</sub>.*



Se utilizó un optimizador de respuesta para determinar las condiciones óptimas de temperatura y humedad del proceso de biorremediación, dependiendo de las concentraciones iniciales de Cr(VI) y lindano eran bajas o altas (*Tabla 4*).

Para confirmar el ajuste del modelo y la validez del procedimiento de optimización, se realizaron experimentos en muestras reales de suelos contaminados, empleando las condiciones óptimas.

Tabla 4. Condiciones óptimas del proceso de biorremediación. -1: concentración inicial baja; +1 concentración inicial alta.

Cr(VI) <sub>i</sub>	Lin <sub>i</sub>	Condiciones óptimas	
		Temp. (°C)	Hum. (%)
-1	-1	25	30
-1	+1	30	30
+1	-1	35	30
+1	+1	35	30

### 3.3. Detección de contaminación mixta en muestras de suelo reales

Las características físico-químicas de los suelos de diferentes áreas del Valle de Lerma (Salta-Argentina) y las concentraciones de contaminantes detectadas se muestran en la *Tabla 2*.

A pesar de que el uso de lindano está prohibido en Argentina, éste fue detectado en todas las muestras sobre el nivel permisible establecido en la Ley Federal de Residuos Peligrosos N° 24051 (10 µg kg<sup>-1</sup>). Por otra parte, en tres muestras, la concentración de Cr total estaba por encima del nivel permisible (9 mg kg<sup>-1</sup>). Las posibles fuentes de ambos contaminantes en estas áreas son campos de cultivos y curtiembres. El Cr total es indicativo del nivel de saturación del metal en la matriz del suelo (Kim y col., 2015). Sin embargo, no basta para evaluar los efectos adversos reales que se producen en el ecosistema del suelo. La concentración de Cr(VI) es la medida más adecuada para evaluar el riesgo ambiental. En CH2 y CH3, la matriz del suelo no estaba saturada, por lo que el Cr quedó completamente retenido en el suelo (*Tabla 2*). En CH1, el suelo se encontraba completamente saturado (Cr total elevado) por lo que una fracción de Cr(VI) quedó biodisponible. A pesar de que la concentración de Cr total en RL2 fue mayor que en RL1, las concentraciones de Cr(VI) fueron más bajas en RL2, debido a diferentes contenidos de materia orgánica y arcilla en ambos (*Tabla 2*).

### Biorremediación de los suelo reales contaminados

El consorcio se inoculó en los suelos reales contaminados para verificar su capacidad biorremediadora. Las condiciones de temperatura de incubación y humedad se seleccionaron de acuerdo a las concentraciones iniciales de Cr(VI) y lindano detectadas (*Tabla 4*). En CH1, RL1 y RL2, las concentraciones de ambos contaminantes eran altas, por ello, la temperatura de incubación fue de 35 °C. CH2 y CH3 se incubaron a 30 °C porque sólo estaban contaminados con altos niveles de lindano. El suelo SC sólo estaba contaminado con lindano en baja concentración, por lo que incubó a 25 °C. En todos los casos, la humedad se ajustó al 30%. Después de 14 días de incubación, la remoción de Cr(VI) fue de 100%, en RL1 y RL2 y de 47% en CH1. Este efecto podría explicarse por el alto nivel de saturación por Cr en CH1 (Kim y col., 2015). Otra razón podría ser el pH alcalino de dicho suelo (pH 9,72), que no se corresponde con el pH óptimo de crecimiento de las actinobacterias del suelo, el cual está comprendido entre 5 y 9 (Goodfellow y col., 2012).

La concentración de lindano disminuyó en todas las muestras de Chicoana y Rosario de Lerma, pero no en la muestra SC (*Tabla 4*). Este podría deberse al pH ácido de este suelo (4,3) y al bajo contenido de materia orgánica, N y P, que no favorecen el crecimiento óptimo de las actinobacterias (Goodfellow y col., 2012). La variación en la remoción de plaguicidas podría

explicarse por las diferencias en los suelos, (características fisicoquímicas, concentraciones iniciales de los contaminantes y composición microbiana) que también afectan al proceso de biodegradación y no se incluyeron en este estudio. Sin embargo el consorcio pudo aclimatarse y colonizar estos suelos en diferentes condiciones ambientales.

## Conclusiones

El uso de diseños estadísticos en procesos biotecnológicos está creciendo hoy en día, ya que permiten identificar rápidamente los factores clave y las interacciones entre ellos. El modelo evaluado en el presente trabajo fue adecuado para el estudio de la biorremediación de suelos contaminados con Cr(VI) y lindano por el consorcio formado por las actinobacterias *Streptomyces* sp. M7, MC1, A5 y *Amycolatopsis tucumanensis*. El consorcio mostró versatilidad para biorremediar muestras de suelo co-contaminadas artificialmente con Cr(VI) y lindano, en diferentes condiciones ambientales, presentando la mayor remoción de ambos contaminantes a temperatura, humedad y concentraciones iniciales de Cr(VI) y lindano más altas. Se confirmó la presencia de contaminación mixta por Cr(VI) y lindano en varias muestras de suelo del Valle de Lerma (Salta-Argentina). También se demostró la eficacia del consorcio para biorremediar estas muestras reales de suelo contaminado, empleando las condiciones óptimas de temperatura y humedad de acuerdo con las concentraciones de contaminantes iniciales del sistema. Estos resultados indican que el consorcio definido formado por las cuatro actinobacterias representaría una herramienta prometedora para la biorremediación de ambientes co-contaminados con Cr (VI) y lindano.

## Bibliografía

- Albarracín, V.H.; Amoroso, M.J. & Abate, C.M. (2005) Isolation and characterization of indigenous copper-resistant actinomycete strains. *Chemie Der Erde – Geochemistry*, 65 145–156.
- Alvarez, A.; Benimeli, C.S.; Saez, J.M.; Fuentes, M.S.; Cuozzo, S.A.; Polti, M.A. & Amoroso M.J. (2012). Bacterial bio-resources for remediation of hexachlorocyclohexane. *International Journal of Molecular Sciences*, 13, 15086–15106.
- Alvarez, A.; Saez, J.M.; Davila Costa, J.S.; Colin, V.L.; Fuentes, M.S.; Cuozzo, S.A.; Benimeli, C.S.; Polti, M.A. & Amoroso, M.J. (2017). Actinobacteria: Current research and perspectives for bioremediation of pesticides and heavy metals. *Chemosphere*, 166, 41–62.
- Aparicio, J.D.; Simón Solá, M.Z.; Benimeli, C.S.; Amoroso, M.J. & Polti, M.A. (2015). Versatility of *Streptomyces* sp. M7 to bioremediate soils co-contaminated with Cr(VI) and lindane. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 116, 34–39.
- Benimeli, C.S.; Amoroso, M.J.; Chaile, A.P. & Castro G.R. (2003). Isolation of four aquatic streptomycetes strains capable of growth on organochlorine pesticides. *Bioresource Technology*, 89, 133–138.
- Benimeli, C.S.; Fuentes, M.S.; Abate, C.M. & Amoroso, M.J. (2008). Bioremediation of lindane contaminated soil by *Streptomyces* sp. M7 and its effects on *Zea mays* growth. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 61, 233–239.
- Coatu, V.; Țigănuș, D.; Oros, A. & Lazăr, L. (2013). Analysis of hazardous substance contamination of the marine ecosystem in the Romanian black Sea coast, part of the Marine Strategy Framework Directive (2008/56/EEC) Implementation. *Cercetări Marine*, 43, 174–186.
- Csillag, J.; Pártay, G.; Lukács, A.; Bujtás, K. & Németh, T. (1999). Extraction of soil solution for environmental analysis. *International Journal of Environmental and Analytical Chemistry*, 74, 305–324.

- Fuentes, M.S.; Benimeli, C.S.; Cuozzo, S.A. & Amoroso, M.J. (2010). Isolation of pesticide-degrading actinomycetes from a contaminated site: Bacterial growth, removal and dechlorination of organochlorine pesticides. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 64, 434–441.
- Goodfellow, M.; Kämpfer, P.; Busse, H.-J.; Trujillo, M.E.; Suzuki, K.; Ludwig, W. & Whitman, W.B. (2012). eds., *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology*, Springer New York, New York.
- Kim, R.Y.; Yoon, J.K.; Kim, T.S.; Yang, J.E.; Owens, G. & Kim, K.R. (2015). Bioavailability of heavy metals in soils: definitions and practical implementation—a critical review. *Environmental Geochemistry and Health*, 37, 1041–1061.
- Tariq, S.R.; Shafiq, M. & Chotana, G.A. (2016). Distribution of heavy metals in the soils associated with the commonly used pesticides in cotton fields. *Scientifica* (Cairo), 2016, 11.