

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^a 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^a 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

Consorcio 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 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 (γ -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 $g L^{-1}$: almidón, 10,0; caseína, 1,0; K_2HPO_4 , 0,5; agar, 15,0). Los inóculos para los ensayos en suelo se obtuvieron en tripteína soja caldo (en $g L^{-1}$: triptona, 15; peptona de soja, 3; NaCl, 5; K_2HPO_4 , 2,5; y glucosa, 2,5), durante 3 días a 30 °C y $0,85 \times g$.

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 $\mu g kg^{-1}$ de lindano y 50 $mg kg^{-1}$ 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 $g kg^{-1}$ (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 2^4 (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 2⁴. i: concentración inicial; f: concentración final.

Nivel	Cr(VI) _i (mg kg ⁻¹)	Lin _i (mg kg ⁻¹)	Temp.	Hum.	Condición	Cr(VI) _i	Lin _i	Temp.	Hum.	Cr(VI) _f (mg kg ⁻¹)	Lin _f (µg kg ⁻¹)
-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 γ -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 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.

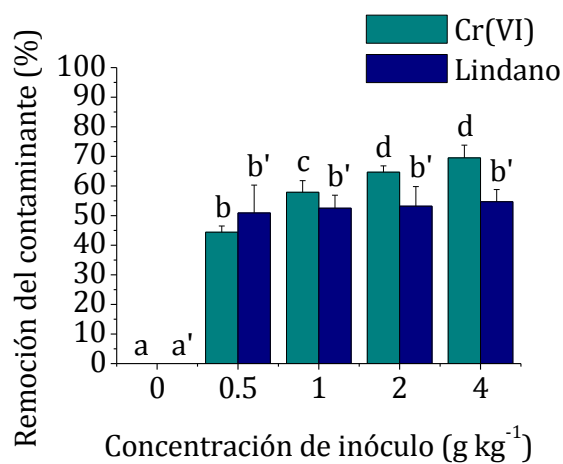
Por el contrario, no se observaron variaciones en la concentración de lindano después del tiempo de estabilización, por lo que no hubo evidencia de una contribución de los microorganismos autóctonos del suelo en la remoción del pesticida (datos no mostrados). Esto podría deberse a que los metales pesados, 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 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 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 ⁻¹	6	1296	26	32	358	652	5
Cr(VI), mg kg ⁻¹							
Suelo sin inocular	ND	197	ND	ND	192	145	ND
Suelo inoculado	-	105	ND	ND	ND	ND	ND
Lindano, µg kg ⁻¹							
Suelo sin inocular	ND	556	111	146	589	150	10
Suelo inoculado	-	304	31	41	304	75	10

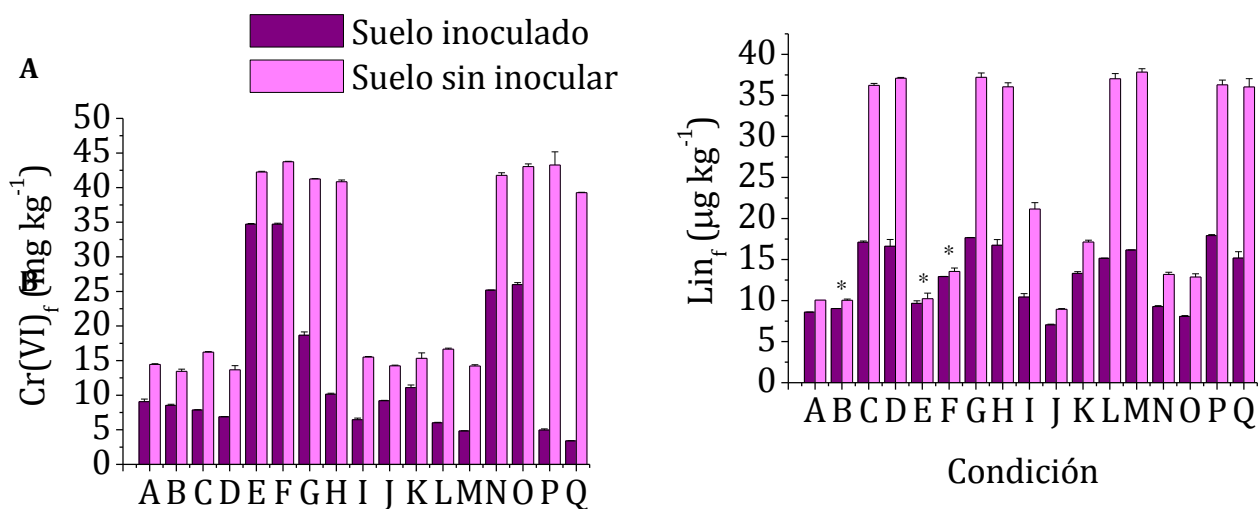
Tabla 2. Caracterización fisicoquímica y concentración de los contaminantes en los suelos. SNC: suelo no contaminado (Tucumán - Argentina). CH1, CH2 y CH3 suelos provenientes de Chicoana, RL1 y RL2 suelos provenientes de Rosario de Lerma y SC suelo proveniente de Salta Capital (Salta - Argentina).

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⁻¹ a 3,4 mg kg⁻¹ (remoción del 92%) y la concentración de lindano disminuyó de 36,0 µg kg⁻¹ a 15,2 µg kg⁻¹ (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)_f y B) Lin_f 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 r² fue de 0,9927 y el r² 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 r², 0,9079, indica que el 90,79% de la variabilidad en la respuesta podría explicarse con el modelo. El r² 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.

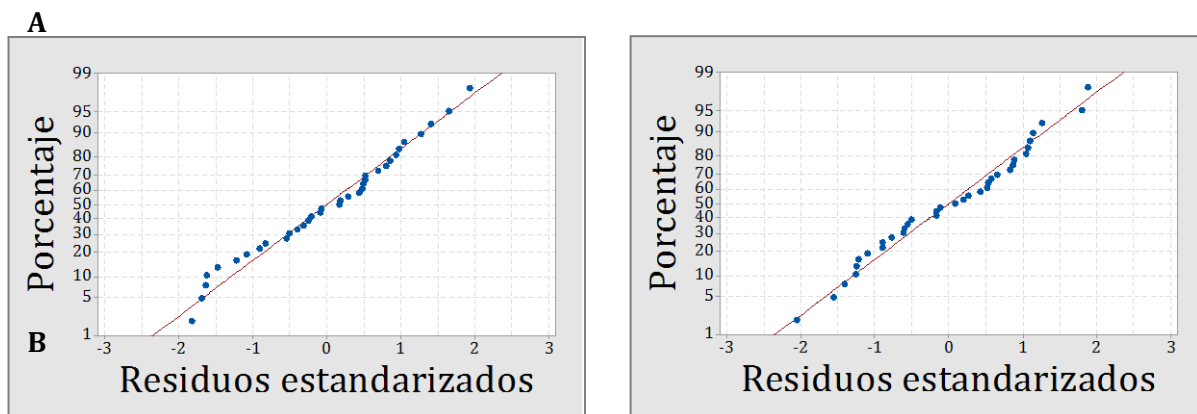
Tabla 3. Análisis de la varianza. Cr(VI)_f (mg kg⁻¹) y Lin_f (μg kg⁻¹) vs. Cr(VI)_i (A), Lin_i (B), temperatura (C) y humedad (D).

Factor	Cr(VI) _f vs. A, B, C y D	Lin _f 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.

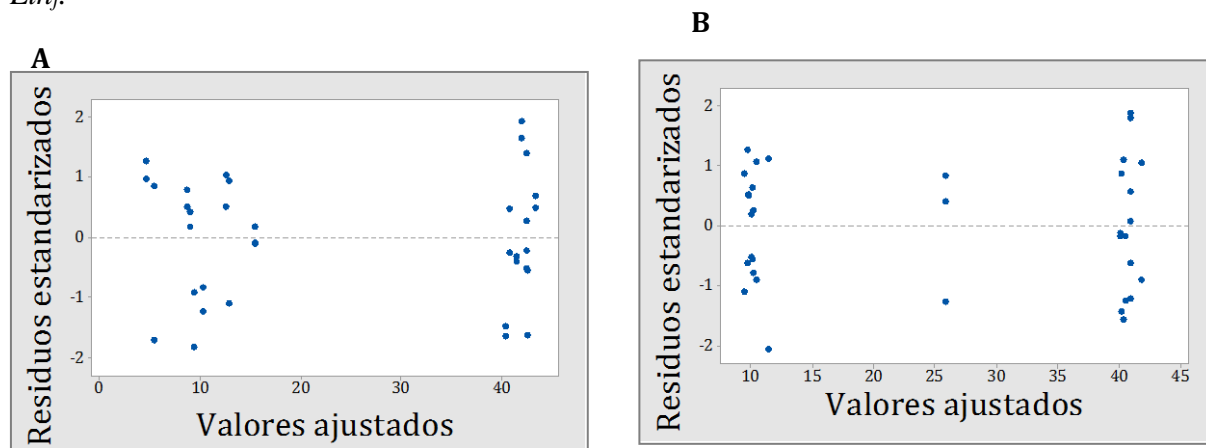
Para la validación de los resultados se utilizaron los gráficos de Probabilidad Normal de los residuos (para comprobar la normalidad de los datos) (*Figura 3*) y los gráficos del residuo estandarizado vs. residuo ajustado (para el análisis de la varianza) (*Figura 4*).

Figura 3. Gráficos de Probabilidad Normal para (A) Cr(VI)_f y (B) Lin_f.



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)_f y (B) Lin_f.



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) _i	Lin _i	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⁻¹). Por otra parte, en tres muestras, la concentración de Cr total estaba por encima del nivel permisible (9 mg kg⁻¹). 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.