



Ajuntament de Barcelona
Barcelona Cultura



BELEN CASTILLO


La bioremediació amb fongs
Observació de cultius de fongs, reacció enzimàtica

Parla i experimenta amb algú que fa ciència



Observatori de
la Difusió de la
Ciència

UAB



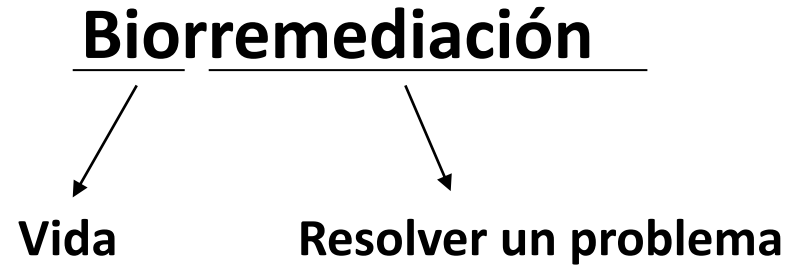
BIOTECNOLOGÍA Y MEDIO AMBIENTE: BIORREMEDIACIÓN CON HONGOS

**Belén Castillo
UAB**

A decorative graphic on the left side of the slide. It features a vertical stack of stripes in various shades of gray and blue. To the right of these stripes, there are several blue circles of different sizes, arranged in a roughly vertical line, with the largest circle at the top and smaller ones below it. The word "BIORREMEDIACIÓN" is written in white, bold, uppercase letters to the right of the circles.

BIORREMEDIACIÓN

¿QUÉ ES LA BIORREMEDIACIÓN?



Se refiere al espectro de métodos que utilizan organismos (como bacterias, plantas, hongos, etc.) o productos metabólicos obtenidos a partir de ellos para degradar contaminantes orgánicos peligrosos o convertir contaminantes inorgánicos en compuestos ambientalmente menos tóxicos o no tóxicos.



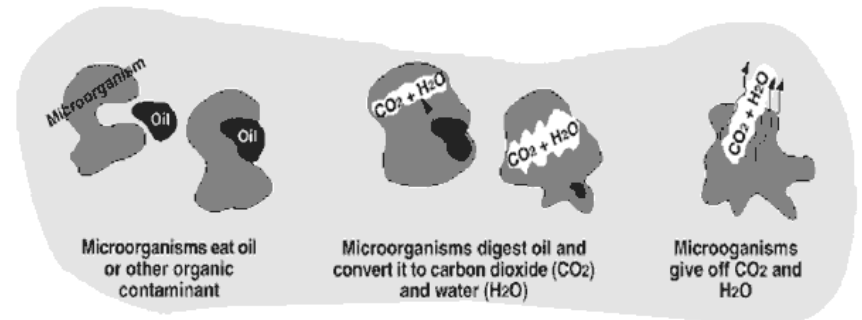
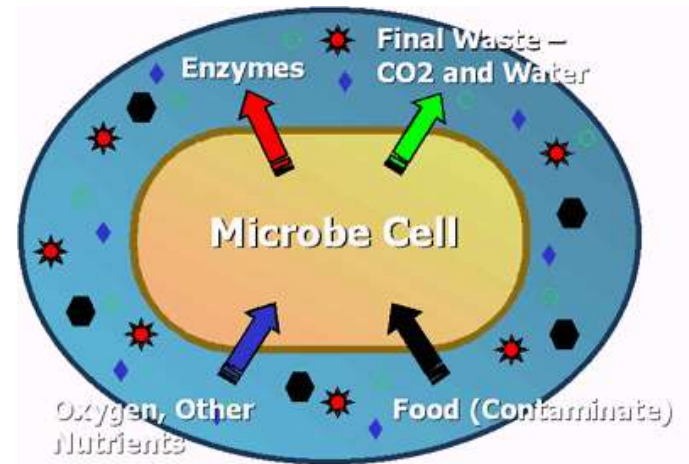
INTRODUCCIÓN

- La biorremediación es un proceso espontáneo o dirigido en el cual mediante procedimientos biológicos, fundamentalmente microbiológicos, se degradan o transforman los contaminantes hasta formas menos tóxicas o no tóxicas y se mitiga, como consecuencia, la contaminación ambiental.
- La utilización de la capacidad de degradación de los microorganismos es la base fundamental de los tratamientos biológicos de contaminaciones orgánicas.



PROCESO DE LA BIORREMEDIACIÓN

- Los microorganismos producen enzimas que “rompen” la molécula contaminante en partes digeribles.
- El contaminante es ingerido y digerido por la célula como nutriente junto con otras fuentes de energía.
- Convertir sustancias que son peligrosas para los organismos vivos a productos inertes, de manera que solo queden desechos inofensivos de dichas sustancias.



GENERALIDADES DE DEGRADACIÓN:

- Los estudios de biodegradación se centran en bacterias por la facilidad que ofrecen para estudiar sus vías metabólicas y llevar a cabo construcciones genéticas que permitan degradar específicamente determinados compuestos contaminantes.
- La capacidad de los hongos para transformar una gran variedad de compuestos orgánicos y llevarlos hasta compuestos más simples ofrece un potencial indiscutible para su utilización en procesos de tratamiento de contaminaciones.
- Reciclan la materia orgánica para enriquecer el suelo.



HONGOS



HONGOS DE LA PODREDUMBRE BLANCA

- Grupo muy heterogéneo.
- Comunes en bosques de pino y encino
- Pueden actuar como patógenos, provocando enfermedades en árboles vivos, debilitándolos y matándolos.
- Atacan a todos los componentes de la pared celular.



BIORREMEDIACIÓN CON HONGOS

Efectivos en eliminación de:

- Sustancias empleadas en la preservación de la madera.
- Hidrocarburos aromáticos policíclicos.
- Organoclorados.
- Bifenilos policlorados.
- Tinturas.
- Pesticidas.
- Fungicidas.
- Herbicidas.
- Lignina.



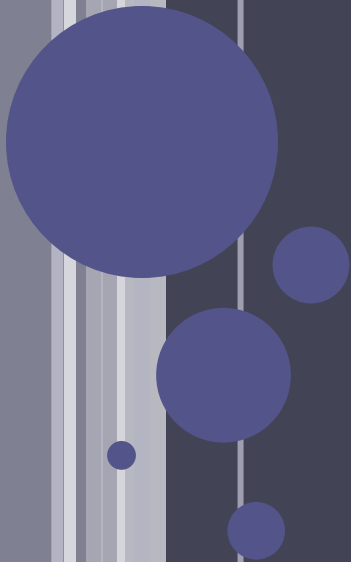
TRAMETES VERSICOLOR

- Hongos de podredumbre blanca
 - Sistema oxidativo inespecífico
 - Extracelular (LiP, MnP, lacasa, VP)
 - Intracelular (citocromo P450)
 - Elevado poder de degradación
- *Trametes versicolor*
- *Phanerochaete chrysosporium*
- *Irpex lacteus*
- ...



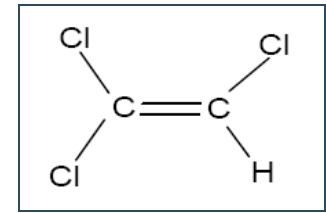
Y CON TODO ESTO...

¿QUÉ HACEMOS NOSOTROS?



INTRODUCCIÓN: TCE

- Hidrocarburo alifático clorado
- Aplicación en la industria como desengrasante
- Causa efectos adversos sobre
 - La salud (compuesto carcinógeno y mutagénico)
 - Ambientales

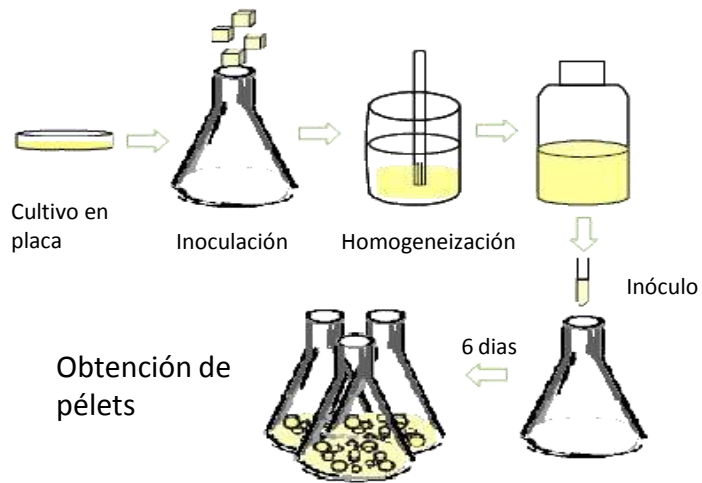


Tricloroetileno

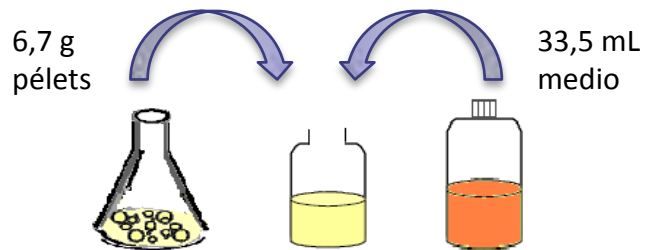
**Contaminante
recalcitrante**

- Elevado estado de oxidación
- Muchas fuentes de emisión
- Características físico-químicas





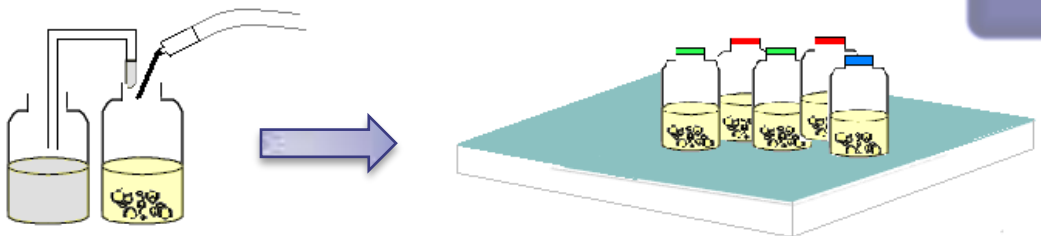
1. Formación de pélets



2. Inoculación

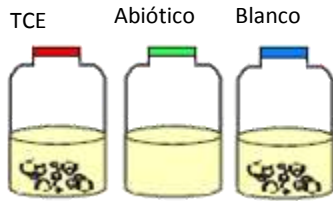
5 μ L TCE puro

Oxígeno

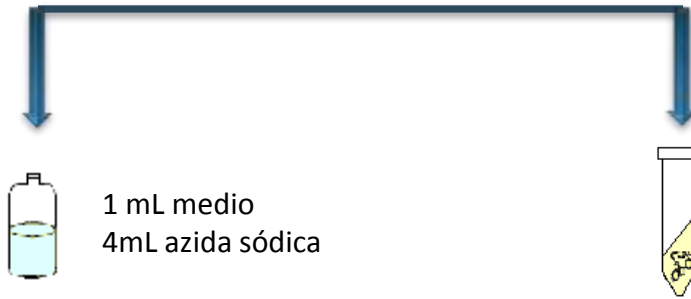


3. Adición de TCE y oxigenación





4. Muestreo a 0, 1, 2, 3, 6, 12, 24, 48, 72 y 96 horas



1 mL medio
4 mL azida sódica

Extracción RNA y
digestión con DNasa

**Estudios de
degradación del TCE**

5. Análisis por cromatografía
de gases y RT-PCR a tiempo
real

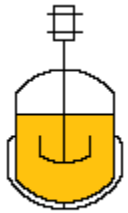
RT-PCR usando
SYBR green®

**Estudios de la
expresión génica**



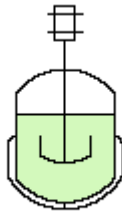
PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Abióticas



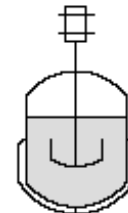
Medio y
contaminante SIN
hongo

Tratamiento



Medio,
contaminante y
hongo

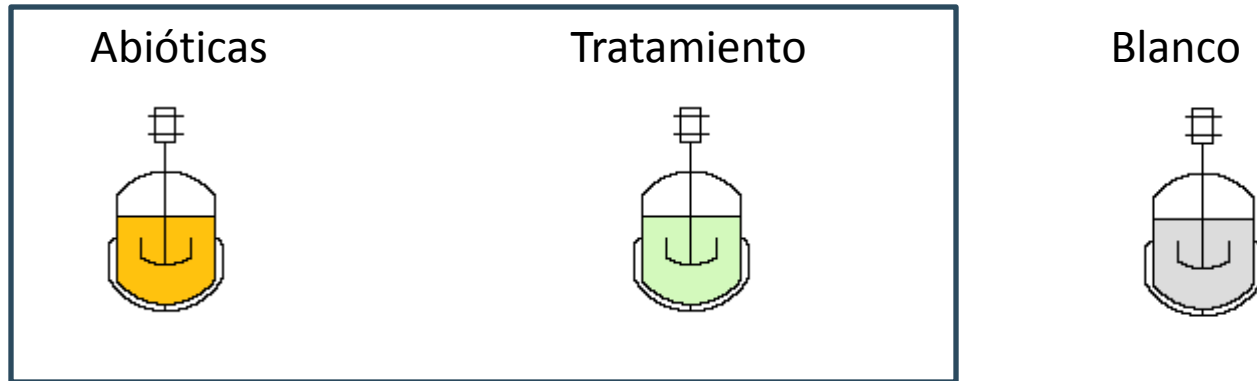
Blanco



Medio y hongo
SIN contaminante



PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL



Análisis de los contaminantes

- Compuestos clorados
- Observamos la variación de concentración de contaminante

Determinación enzimática

- Medición de la actividad lacasa
- De esta manera podemos relacionarla con la variación de contaminante

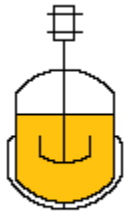
Determinación sustrato

- Medición de la concentración de glucosa
- Viabilidad hongo

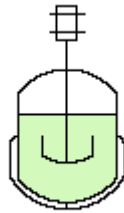


PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

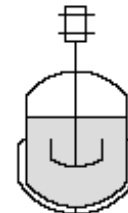
Abióticas



Tratamiento



Blanco



Disrupción celular
de los pélets

Extracción RNA
total

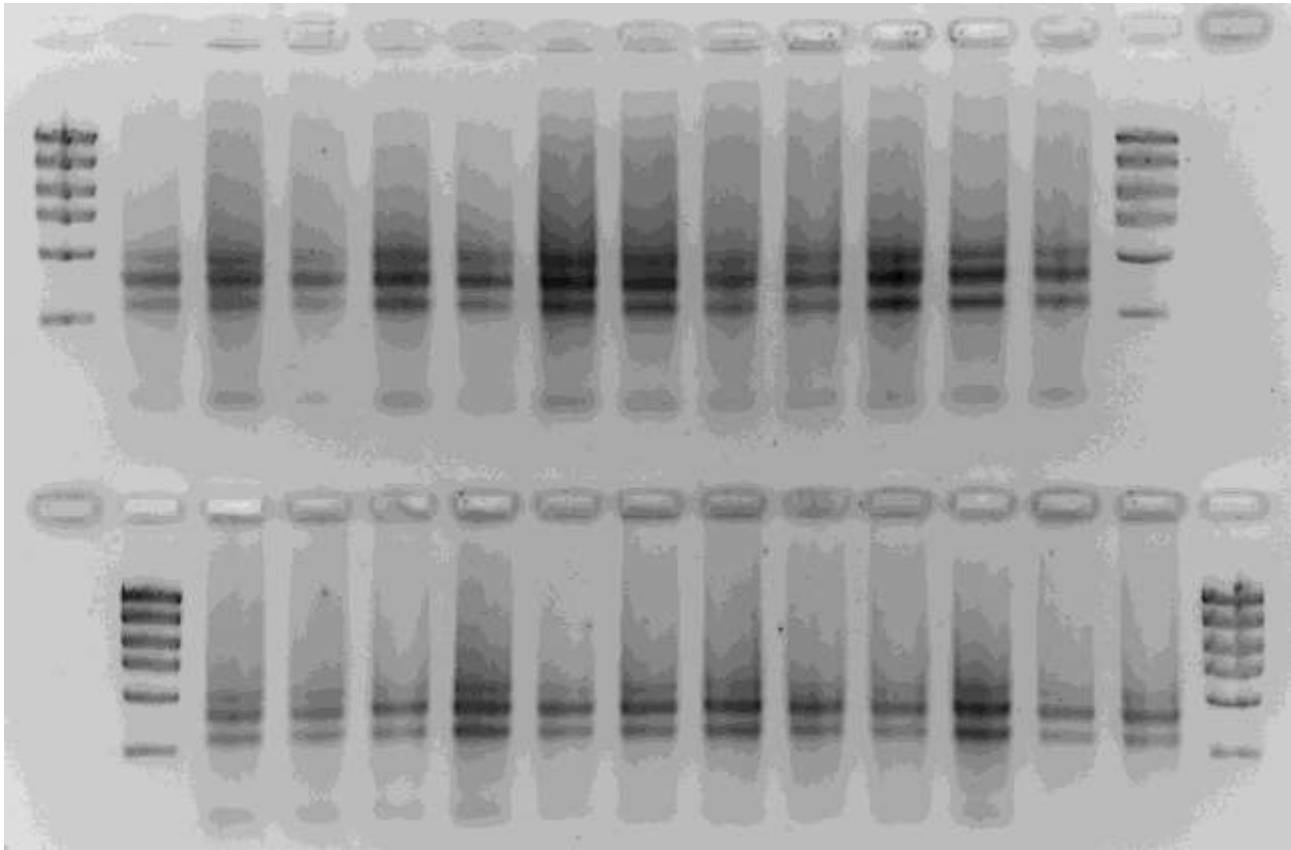
Digestión con
Dnasa I

RT-PCR a tiempo
real

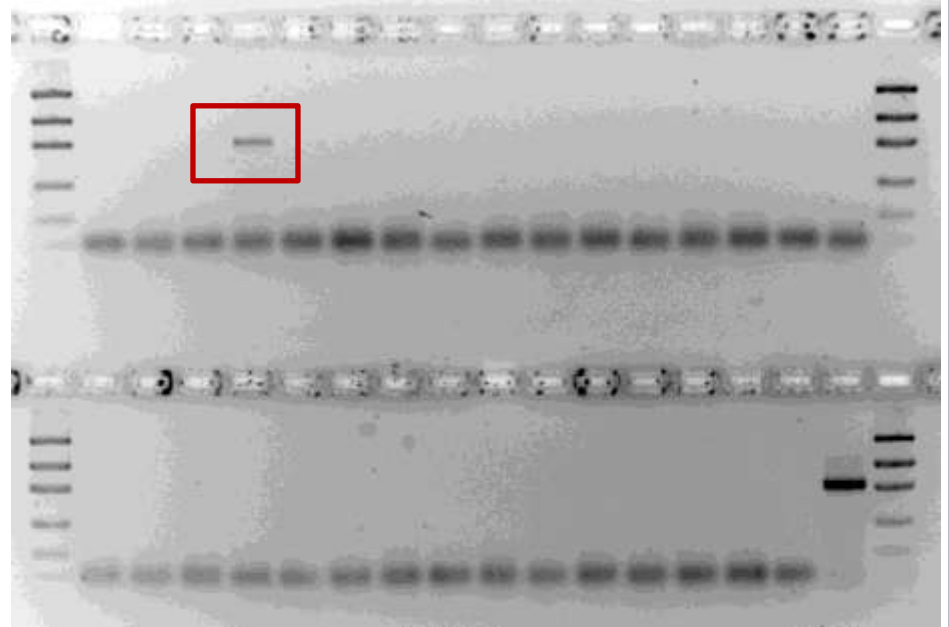


EJEMPLO

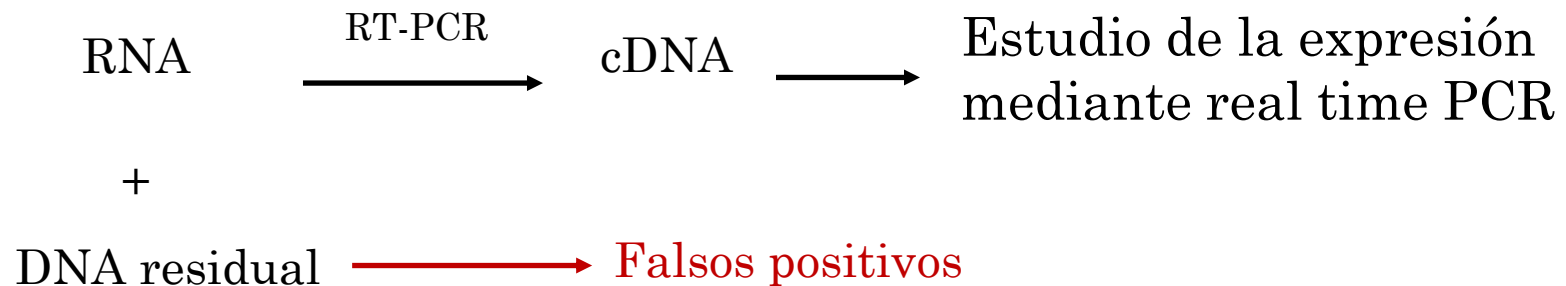
- Digestión RNA
- Cuantificación espectrofotométrica y análisis pureza



EJEMPLO



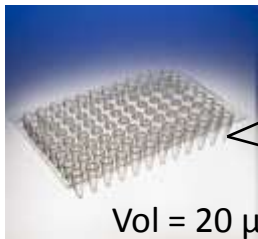
- Digestión DNasa y clean-up



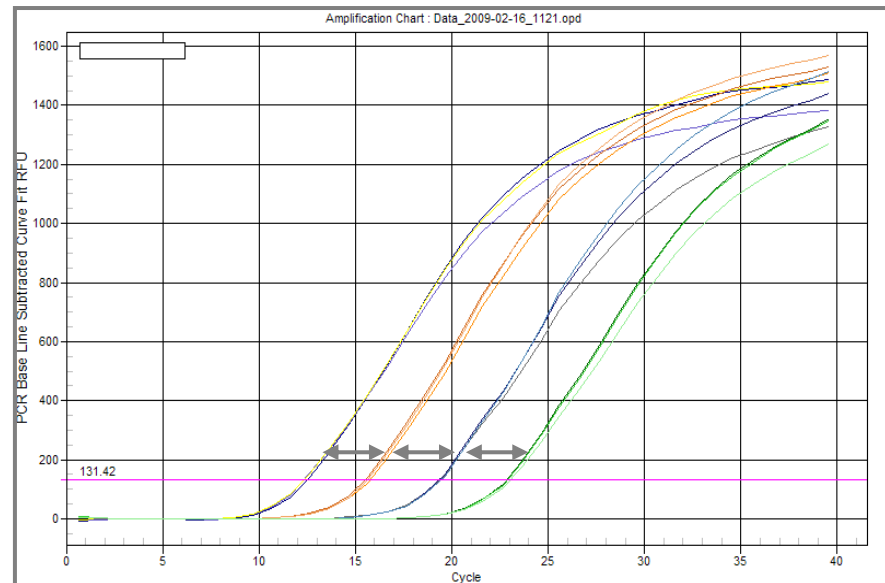
- Una vez nuestras muestras de RNA estan puras, podemos analizarlas mediante PCR a tiempo real.



EJEMPLO



- 10 µL iQSYBRSupermix
- 0.8 µL primer sense (5 µM)
- 0.8 µL primer antisense (5 µM)
- 2 µL cDNA
- 6.4 µL H₂O



Producción de la enzima lacasa en fermentador de 10L



LIMITACIONES DE LA BIORREMEDIACIÓN

- Tipo de contaminante y su concentración.
- Medio ambiente circundante a la contaminación.
- Tipo de suelo
- Naturaleza del microorganismo.
- Relación coste/beneficio: costo vs impacto ambiental general.
- Duración del proceso biorremediativo.
- Capacidad limitada de biorremediación.



¿PARA QUÉ SIRVE?

- Limpiar zonas contaminadas
- Conocimiento del hongo
- Conocimiento de las enzimas del hongo

Todo esto, nos ayuda a mejorar el proceso de biorremediación, y de esta manera optimizar los procesos.





¡MUCHAS GRACIAS!

Belén Castillo