

Microorganismos nativos tolerantes a Atrazina aislados de suelos agrícolas en el departamento de Córdoba, Colombia

Atrazine- tolerant native microorganisms isolated from agricultural soils in the department of Cordoba, Colombia

Oviedo Z, Luis¹ M.Sc, Díaz S, Luis² M.Sc.

¹Universidad de Córdoba, Facultad de Ciencias, Departamento de Biología, Grupo de Investigación en Biotecnología- GRUBIODEQ. Montería, Colombia.

²Universidad de Sucre, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Zootecnia, Sincelejo, Colombia. Grupo de Investigación Biociencia.

Keywords:

Microorganisms;
pesticide;
soil;
bioremediation.

Abstract

The objective of the present study was to identify and evaluate atrazine tolerant native microorganisms isolated from a soil destined to the maize crop for ensiling, where this pesticide is usually used as preemergence. To determine their tolerance, they were subjected to growth at different concentrations of atrazine, different temperatures (30 °C, 37 °C and 40 °C) and pH (5.0, 6.0 and 9.0). The results show native strains that tolerated concentrations of 1000 ppm atrazine, identified as *Pseudomonas* sp (strain 1L1a), *Pseudomonas* sp (strain 1L2), *Streptomyces* sp and *Arthrobacterium* sp, which show higher growth at 37 °C (7.98E+06 CFU/mL), lower at 30 °C (3.63E+06 CFU/mL) and tolerance at 40 °C (5.80E+06 CFU/mL). The strain *Streptomyces* sp reached its highest growth (4.73E+06 UFC/mL) at pH 9.0, while *Pseudomonas* sp strain 1L1a (3.43E+06 UFC/mL), *Arthrobacter* sp (3.40E+06 UFC/mL) and *Pseudomonas* sp strain 1L2a (2.63E+06 CFU/mL) was at pH 6.0. All microorganisms showed sensitivity to pH 5.0. The growths reached at different temperatures and pH are in agreement with the adaptation to the tropical climate predominant in the region and related to the genus of microorganisms. The study indicates that the native strains are able to tolerate high concentrations of atrazine and to mineralize it in soils with low content of organic matter and nutrients.

Palabras Clave:

Microorganismos;
pesticida;
suelo;
biorremediación.

Resumen

El objeto del presente estudio fue identificar y evaluar microorganismos nativos tolerantes a la atrazina aislados de un suelo destinado al cultivo de maíz para ensilar, donde habitualmente se emplea este pesticida como preemergente. Para determinar su tolerancia, fueron sometidas a crecimiento a diferentes concentraciones de atrazina, diferentes temperaturas (30°C, 37°C y 40°C) y pH (5.0, 6.0 y 9.0). Los resultados muestran cepas nativas que toleraron concentraciones de 1000 ppm de atrazina, identificadas como, *Pseudomonas* sp (cepa 1L1a), *Pseudomonas* sp (cepa 1L2), *Streptomyces* sp, y *Arthrobacterium* sp, las cuales muestran mayor crecimiento a 37°C (7,98E+06 UFC/mL), menor a 30°C (3,63E+06 UFC/mL a 30°C) y tolerancia a 40°C (5,80E+06 UFC/mL). La cepa *Streptomyces* sp alcanzó su mayor crecimiento (4,73E+06 UFC/mL) a pH 9.0, mientras que *Pseudomonas* sp cepa 1L1a (3,43E+06 UFC/mL), *Arthrobacter* sp (3,40E+06 UFC/mL) y *Pseudomonas* sp cepa 1L2a (2,63E+06 UFC/L) fue a pH 6.0. Todos los microorganismos mostraron sensibilidad a pH 5.0. Los crecimientos alcanzados a diferentes temperaturas y pH son concordantes a la adaptación al clima tropical predominante en la región y relacionadas al **género de los microorganismos**. El estudio señala que las cepas nativas son capaces de tolerar altas concentraciones de atrazina y de mineralizarla en suelos con bajo contenido de materia orgánica y nutrientes.

INFORMACIÓN

Recibido: 21-09-2016;
Aceptado: 05-03-2017.
Correspondencia autor:
ldiazsotelo76@gmail.com

INTRODUCCIÓN

Los plaguicidas son de los grupos de agentes químicos más ampliamente utilizados por el hombre, tanto para proteger de organismos nocivos la producción y calidad de las cosechas como para el control de vectores y plagas importantes en la salud pública, además de que tienen uso pecuario y doméstico. Estas sustancias han sido consideradas como mutágenos potenciales, por contener ingredientes con propiedades para provocar cambios en el DNA (MARTÍNEZ y GÓMEZ, 2007). La atrazina, 2 cloro-4etil amino-6-isopropilamino-s- triazina, es un herbicida ampliamente usado en cultivos de maíz, sorgo, caña de azúcar, pastizales, como preemergente para controlar malezas de hoja ancha y algunas monocotiledoneas (HANG y NASSETTA, 2003). Es uno de los herbicidas más usados a nivel mundial y está prohibido en la Unión Europea desde 2006 (DA CUNHA *et al.*, 2012). El uso intensivo de herbicidas en las prácticas agrícolas ha recibido atención especial no sólo por su potencial de contaminación inmediata, sino también debido a su persistencia en el medio ambiente. Respecto a esto, la atrazina (2-cloro-4-(etil-amino) -6 – (isopropilamino)-1,3,5-triazina) es importante porque se ha encontrado en concentraciones mucho más altas que las permitidas, muchos años después de su aplicación (HOUOT *et al.*, 2000; SINGH *et al.*, 2004) y en muestras de leche con destino industrial en España (SANTAEFEMIA *et al.*, 2005).

El principal mecanismo de eliminación de la atrazina en ambientes con pH neutro es la degradación bacteriana. Los microorganismos pueden mineralizar la atrazina hasta amonio y anhídrido carbónico o degradarla en productos intermedios de variada persistencia y toxicidad como la hidroxiatrazina, desetilhidroxiatrazina, desisopropilhidroxiatrazina y ácido cianúrico (DA CUNHA *et al.*, 2012).

Se tiene evidencia de acuerdo a estudios que la contaminación de suelos y aguas por pesticidas y los efectos nocivos sobre el ambiente y la salud pública, que van desde su bioacumulación, persistencia y, efectos mutagénicos y cancerígenos (DA CUNHA *et al.*, 2012; HOUOT *et al.*, 2000; SINGH *et al.*, 2004), que para el caso de atrazina no se han evaluado en nuestro país, por lo que es necesario plantear alternativas tecnológicas que permitan la remoción del contaminante del suelo y evitar así la contaminación de los diversos cuerpos de agua por lixiviación o escorrentía.

MATERIALES Y MÉTODOS

Toma de muestras. Se hicieron realizaron muestreos aleatorios en una finca del corregimiento el Pital, municipio de Chinú, departamento de Córdoba,

coordenadas. 9°03'01,90" de latitud Norte y 75°26'59,66" de longitud occidente. La zona de estudio presenta las siguientes condiciones climáticas: temperatura media anual de 28°C, precipitación anual de 1341 mm, velocidad promedio del viento de 2.9 m/s y 104 msnm (IGAC, 2009). Fueron recolectadas cinco muestras de suelo de 250 g (método puntual) a una profundidad de 0 a 10 cm. El lote presenta antecedentes de siembra de cultivo de maíz para ensilar, donde habitualmente se aplica el herbicida atrazina como pre emergente. Las muestras fueron almacenadas en bolsas de polietileno y mantenidas en la oscuridad hasta que se realizó el análisis en las instalaciones del Laboratorio de Biotecnología del Departamento de Química-GRUBIODEQ de la Universidad de Córdoba. Se tomó una muestra para determinar parámetros físico-químicos del suelo (CUESTA y VILLANEDA, 2002).

Caracterización físico química del suelo. Se utilizaron los métodos de Bouyoucos para textura, Potenciométrico para pH, extracto de saturación para conductividad eléctrica, Walkley y Black para Carbono orgánico, Bray II para Fósforo disponible; Ca y Mg cuantificación por absorción atómica; K-Na por emisión atómica, y Al + H por extracción con KCl 1,0 N (Yuang), Ca - Mg - K - Na extracción con acetato de amonio 1,0 N pH 7,0, y suma de cationes para capacidad de intercambio catiónico.

Aislamiento y selección de microorganismos. 10 g de suelo se transfirieron a un matraz con 90 mL de NaCl estéril al 0.85% (w/v), agitándose durante 30 min a 400 rpm, se transfirieron 10 mL de solución inicial a un Erlenmeyer de 250 mL al que se le adicionaron 100 mL de medio líquido MSG (medio MS+ glucosa 1000 mg/L, a pH 7.0), suplementado con atrazina a una concentración de 100 mg/L como única fuente de nitrógeno. Los cultivos se incubaron aeróbicamente con agitación a 150 rpm y 28°C durante 72 h (TAFOYA, 2008). Se realizaron diluciones seriadas y mediante técnica de agotamiento y estría, sembradas en Agar MSG e incubadas durante 48 h; pasado ese tiempo, se seleccionaron las colonias que presentaron mayor rapidez de crecimiento y no mostraron halos inhibitorios, éstas se inocularon en medio líquido MSG durante 72 horas y se determinó su concentración por conteo de viables.

Pruebas para la identificación de los microorganismos seleccionados. Tinción de Gram, prueba de catalasa y oxidasa, Lia, TSi- Urea- (MR-Pv)- SIM- OF (oxidación- fermentación)- Agar cetrimide (*Pseudomonas*), mckKonkey (enterobacteria, fermentadora para glucosa), EMB, API y macro morfología microbiana de acuerdo a lo especificado por el manual de Bergey's para la determinación microbiológica.

Tolerancia a concentraciones crecientes de Atrazina. Una colonia crecida en medio de cultivo de mantenimiento se transfirió a un Erlenmeyer de 50 mL que contenía 30 mL de caldo MSG con 100 ppm de atrazina, sometiéndose a concentraciones crecientes de atrazina (2 cloro-4etil amino-6-isopropilamino-s-triazina) a intervalos de 50 ppm hasta alcanzar 300 ppm y después a intervalos de 100 ppm hasta las 1000 ppm, a 150 rpm y 37 °C, durante 72 horas. Se realizaron diluciones seriadas y se valoró por conteo de viables. La prueba se realizó por triplicado.

Temperatura y pH de crecimiento óptimo de los microorganismos seleccionados. Las cepas aisladas que presentaron la mayor tolerancia a la atrazina (2 cloro-4etil amino-6-isopropilamino-s-triazina), se evaluaron a 30°, 37° y 40° Celsius para determinar la temperatura de crecimiento óptimo y a pH 5.0, 6.0 y 9.0 para estimar su tolerancia a cambios en el pH, inoculando 0.1 mL a concentración de 10⁷ UFC/mL de cada una de las cepas en 30 mL de medio MSG a 30°C, 150 rpm, durante 7 días. La determinación se realizó por conteo de viables. Todas las pruebas se realizaron por triplicado.

Análisis estadístico. Un Diseño completamente aleatorizado (DCA) para estimar la variación en la tolerancia a distintas concentraciones de atrazina, temperatura y pH de crecimiento óptimo, utilizando el software Infostat versión estudiantil, aplicando prueba de comparación de promedios de Tukey para hallar diferencias estadísticas (p<0.05).

RESULTADOS

Caracterización físico química del suelo. El análisis textural refleja que se trata de un suelo franco arenoso y los resultados de las propiedades físico-químicas (Tabla 1) denotan que se trata de suelos pobres en materia orgánica y nutrientes, típicos de la subregión sabanas del departamento de Córdoba (MALAGÓN, 2003).

Tabla 1. Propiedades físico químicas del suelo.

pH	Materia orgánica	Azufre	Fosforo	Ca	Mg	K	Na	Al+H Acides interc	C.I.C
5,1	1,84%	5,9 mg/Kg	0,7 mg/Kg	10,7 cmol/Kg	5,5 cmol/Kg	0,14 cmol/Kg	0,1 cmol/Kg	0,1	16,5
Contenido	Moderado	Deficiente	Deficiente	Abundante	Abundante	Deficiente	Suficiente	.	
Relación de Cationes	Ca/Mg	Ca/K	Mg/K	Ca+Mg/K	saturación Cationes	Ca	Mg	K	Na
	1,9	76,4	39,3	105,7	%	64,8	33,3	0,8	0,6

Tabla 2. Colonias aisladas del suelo en estudio.

N°/ Colonia	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Código	2L1	2L2	2L5a	2L5c	1L2	1L3	1L1a	1L4a	1L1b	1L7a	1L7b	1L8a	1L8b

Trece microorganismos fueron aislados y codificados para facilitar su estudio (Tabla 2). Las pruebas de coloración y bioquímicas aplicadas permitieron identificar a las colonias 1L1a y 1L2 como *Pseudomonas* sp, a la 2L1 como *Streptomyces* sp y a 2L5a como *Arthrobacter* sp.

Streptomyces sp, *Pseudomonas* sp (1L2 y 1L1a) y *Arthrobacter* sp mostraron las mejores respuestas de crecimiento a las distintas concentraciones de Atrazina con medias de 4,54E+06 UFC/mL; 3,54E+06 UFC/mL; 3,50E+06 UFC/mL y 3,42E+06UFC/mL, respectivamente (Tabla 3), logrando crecer hasta las 1000 ppm. Después de esta concentración no hubo crecimiento aparente en los medios de cultivo. Este grupo de microorganismos presentaron medias de crecimientos similares estadísticamente.

Tabla 3. Crecimiento promedio de los microorganismos aislados.

Microorganismo	UFC/mL
2L2	6,98E+05
1L3	3,17E+06
1L7a	2,33E+06
1L2- <i>Pseudomonas</i> sp	3,54E+06
1L4a	2,84E+06
2L1- <i>Streptomyces</i> sp	4,54E+06
1L1b	2,49E+06
1L1a- <i>Pseudomonas</i> sp	3,50E+06
1L7a	1,43E+06
2L5a- <i>Arthrobacter</i> sp	3,42E+06
1L8a	5,34E+05
1L8b	1,47E+06
2L5c	1,00E+06

La mayoría de los microorganismos toleraron concentraciones inferiores a 800 ppm de atrazina, mientras *Pseudomonas* sp (1L1a) logro crecer 3.33E+05 UFC/mL a 1000 ppm de atrazina, teniendo un resultado significativamente superior a los demás organismos que crecieron a este nivel de concentración (Figura 1).

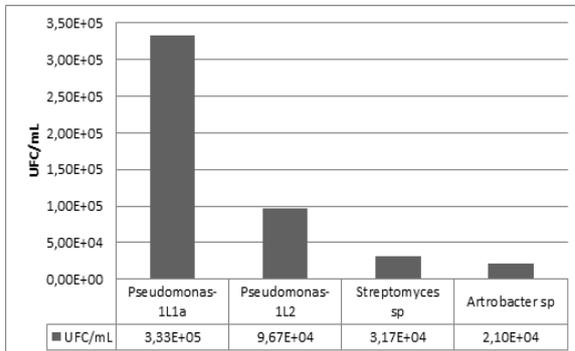


Figura 1. Crecimiento de diferentes microorganismos a 1000 ppm de atrazina.

La temperatura donde se presentó el mayor crecimiento en los microorganismos fue a los 37°C, seguidas de los 30°C y 40°C, con 3.63E+06 UFC/mL, 7.98E+06 UFC/mL y 5.8E+06 UFC/mL, respectivamente.

El crecimiento promedio para *Arthrobacter* sp correspondió 1,15E+07 UFC/mL, el de *Pseudomonas* sp (1L2): 6,39E+06 UFC/mL, para *Streptomyces* sp: 3,98E+06 UFC/mL, y *Pseudomonas* sp (1L1a): 1,32E+06 UFC/mL (Figura 2).

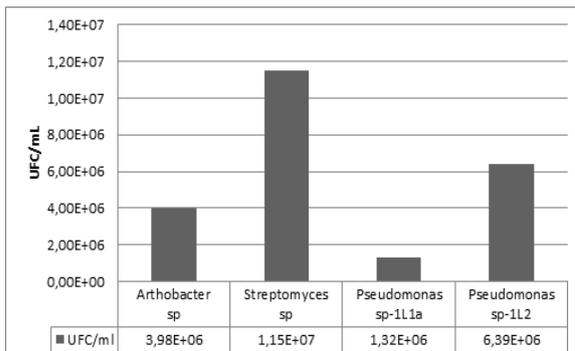


Figura 2. Crecimiento promedio de cada cepa en las temperaturas evaluadas

La temperatura de mayor crecimiento de las cepas seleccionadas fueron para la *Streptomyces* sp: 40°C; para la *Pseudomonas* sp1L2: 37°C; para la *Arthrobacter* sp y *Pseudomonas* sp (1L1a): 30°C, donde cada cepa se vio influenciada significativamente en las variaciones de temperatura de incubación (Figura 3). No se encontraron diferencias estadísticas en los promedios de crecimiento a distintas temperaturas ($p=0,1440$), pero significativas entre las cepas ($p=0,0006$) y la interacción cepa* temperatura ($p=0,0002$).

A pH 5.0 se presentó el menor crecimiento de los microorganismos con una densidad poblacional de 1.43E+06 UFC/mL y diferencia significativa ($p<0,05$) con los pH 6.0 y 9.0, con 2.76E+06 UFC/mL y 2.98E+06 UFC/mL, respectivamente.

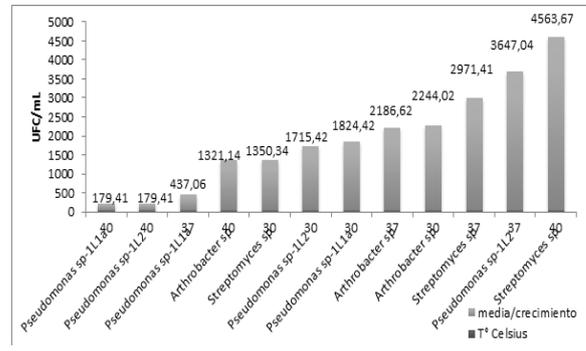


Figura 3. Efecto de la temperatura en cada microorganismo.

La cepa *Streptomyces* sp a pH 9.0 mostró el mayor crecimiento (4,73E+06 UFC/mL), mientras que a pH 6.0 *Pseudomonas* sp (1L1a) alcanzó un promedio 3,43E+06 UFC/mL, *Arthrobacter* sp 3,40E+06 UFC/mL y *Pseudomonas* sp (1L2a) 2,63E+06 UFC/L. En la Tabla 4 se muestra el efecto de los pH en los microorganismos tolerantes a la atrazina.

Tabla 4. Efecto del pH sobre el crecimiento de los microorganismos tolerantes a la atrazina.

Microorganismo	pH	promUFC/mL
<i>Pseudomonas</i> sp-1L2	5	2,30E+06
<i>Pseudomonas</i> sp-1L2	6	2,63E+06
<i>Pseudomonas</i> sp-1L2	9	2,33E+06
<i>Streptomyces</i> sp	5	5,00E+05
<i>Streptomyces</i> sp	6	1,57E+06
<i>Streptomyces</i> sp	9	4,73E+06
<i>Pseudomonas</i> sp-1L1a	5	2,87E+06
<i>Pseudomonas</i> sp-1L1a	6	3,43E+06
<i>Pseudomonas</i> sp-1L1a	9	2,67E+06
<i>Arthrobacter</i> sp	5	4,33E+04
<i>Arthrobacter</i> sp	6	3,40E+06
<i>Arthrobacter</i> sp	9	2,17E+06

Se encontró diferencia significativas en las medias de crecimiento a distintos valores de pH ($p=0,0036$) y en la interacción cepa*pH ($p=0,0419$), excepto en el crecimiento promedio de los microorganismos ($p>0,05$).

DISCUSIÓN

El efecto de la concentración de atrazina contra el crecimiento de las cepas, se evidencia con una tendencia inhibitoria (Figura 4), dado que la media de crecimiento a 100 ppm fue de 4,84E+06 UFC/mL, y la de 1000ppm fue de 3,71E+04 UFC/mL, encontrándose concentraciones con resultados estadísticamente similares como son los de 200 ppm y 150 ppm (4,04E+06UFC/mL y 3,31E+06 UFC/mL), 250 ppm,

400 ppm y 600 ppm (2,84E+06 UFC/mL, 2,47E+06 UFC/mL, 2,96E+06 UFC/mL), 500 ppm y 300 ppm (1,68E+06 UFC/mL, 1,56E+06 UFC/mL) y 800 ppm y 1000 ppm (8,33E+04 UFC/mL, 3,71E+04 UFC/mL), encontrándose diferencias significativas entre los microorganismos, la concentración y la tolerancia ($P < 0,0001$).

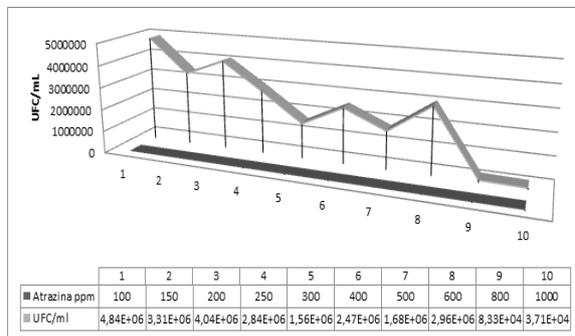


Figura 4. Efecto de la concentración de atrazina sobre el crecimiento de los microorganismos.

Los microorganismos *Streptomyces* sp, *Pseudomonas* sp y *Arthrobacter* sp han sido reportadas por varios estudios como eficientes degradadoras de atrazina. STRONG *et al.* (2002) aislaron una cepa de *Arthrobacter aureescens* codificada como TC1 de un suelo contaminado de atrazina, la cual creció en medio líquido a razón de 3.000 mg*L⁻¹ de atrazina como única fuente de nitrógeno, carbono y energía, demostrando una amplia tolerancia que cualquier otra bacteria previamente caracterizada y triplicando la alcanzada por la cepa nativa de *Arthrobacter* sp. Por otra parte, el crecimiento microbiano y los niveles de degradación inferiores a la alcanzada por la cepa nativa de *Arthrobacter* sp, se han reportado en otros estudios con la cepa bacteriana DAT1 aislada de un suelo agrícola en la provincia de Hebei- China, quien mostró capacidad de utilizar la atrazina como única fuente de nitrógeno, que fue, demostrándose de esta manera su eficiencia biodegradación y amplio rango de pH y temperatura de crecimiento (WANG y XIE, 2012), lo que demuestra su enorme potencial para la remediación de los sitios contaminados con atrazina. Otro caso relevante de *Arthrobacter* sp, fue reportado por El SEBAL *et al.* en el 2011, en donde esta bacteria fue capaz de mineralizar rápidamente el herbicida atrazina s -triazina en un suelo agrícola del delta del río Nilo (Egipto) que habían sido cultivados con maíz y periódicamente tratado con este herbicida, demostrándose la importancia de las bacterias nativas en la degradación de este tipo de plaguicida.

Cepas de actinomicetos aisladas de sedimentos contaminados con plaguicidas fueron capaces de crecer en presencia de Lindano a razón de 10 mg L⁻¹,

siendo una cepa de *Streptomyces* sp codificada como M7 la que presentó mayor crecimiento empleándolo como única fuente de carbono, después de haber sido incubada en un medio sintético que contenía Lindano y glucosa durante 96 h; pero cuando se cultivó en presencia de glucosa (6.0 gL⁻¹) la desaparición del pesticida del medio se observó transcurridas las 72h de incubación (BENIMELI *et al.*, 2007). Cepas de Actinobacterias se aislaron de suelos contaminados con el pesticida Clordano que pudieron crecer a una concentración de 16.6mgL⁻¹, la cepa que mostró mejor crecimiento después de 96 h de incubación en medio sintético con Clordano como única fuente de carbono fue identificada como *Streptomyces* sp A5 (CUOZZO *et al.*, 2012). Otras Actinobacterias fueron aisladas de un suelo agrícola que había recibido aplicaciones continuas de Clorpirifos, las cepas fueron seleccionadas como resultado de su tolerancia a 50 mgL⁻¹ de Clorpirifos en placa de agar e identificadas como *Streptomyces* sp, las cuales se cultivaron en medio líquido con Clorpirifos a concentraciones de 25 mg L⁻¹ y 50 mg L⁻¹ durante 72 h, degradándolo aproximadamente un 90% después de 24 h de incubación (BRICEÑO *et al.*, 2012).

Atrazina, simazina, hydroxyatrazine, y terbutilazina fueron degradadas a concentraciones inferiores a 0.1 mgL⁻¹ después de 6 días por *Pseudomonas* sp, sugiriéndose que la baja observada del ácido cianúrico y la desethylatrazina procedió a través de la N-desalquilación y la dechloración (YANZE y GSCHWIND, 1998). ALEKSEEVA *et al.* (2011), encontraron que la mineralización de Atrazina fue 26 veces mayor empleando 100 mgL⁻¹ Mg₂Al en suspensión con LDH (hidróxidos de capa doble) que la alcanzada por células solas de *Pseudomonas* sp. Otro estudio en el que se empleó *Pseudomonas* sp para determinar la capacidad de mineralizar atrazina en un sedimento acuífero tanto en condiciones aerobias y desnitrificantes a 10°C fue realizado por BANG *et al.* en el 2002, degradando más del 50% (2.8mM) de la atrazina aplicada en los primeros 14 días, estimando su crecimiento por UFC en placas de Agar.

La incidencia en la capacidad de crecimiento de los microorganismos a diferentes pH, es ampliamente conocido, debido a que la eficiencia de la biorremediación de sitios contaminados es generalmente dependiente del pH y de la temperatura (SIDDIQUE *et al.*, 2002). Se encontró que *Streptomyces* sp mostró una alta tolerancia y máximo crecimiento a pH 9.0, resaltando que este género abunda en suelos con pH que oscilan entre 6.8 y 8.0, y excepcionalmente a pH inferiores a 5.0, en donde mostró una marcada sensibilidad en su crecimiento, indicándonos que es un microorganismo neutrófilo, ya que su crecimiento a pH 7.0 fue mayor que a pH 9.0 (5,33E+06 UFC/mL y 4,73E+06 UFC/mL respectivamente). *Arthrobacter* sp mostró el mismo

patrón de crecimiento a distintos pH que *Streptomyces* sp, pero mayor crecimiento a pH 6.0 ($3,40E+06$ UFC/mL) que a pH 7.0 ($2,43E+06$ UFC/mL) indicando su tolerancia a suelos ligeramente ácidos. WANG y XIE (2012) en un estudio realizado en China, reportó que *Arthrobacter* sp podía crecer óptimamente desde pH 4.0 hasta pH 10; sin embargo, existe poca información sobre la influencia del pH sobre la biodegradación de atrazina ya que su disipación podría ocurrir en los suelos agrícolas que tengan un pH 5.5 o menos, más lentamente (MUELLER *et al.*, 2010). Entonces, encontramos que el promedio general alcanzado en el crecimiento a pH 9.0 se debió a la biodisponibilidad de la atrazina debida a su mayor solubilidad en medio alcalino, no obstante al comparar el crecimiento alcanzado a pH 5.0 con el de pH 6.0 se evidencia el efecto inhibitorio de la acidez en el crecimiento de los microorganismos, pero reflejando una actividad biológica significativa a una acidez menos fuerte, demostrando su alta capacidad para biodegradar esta sustancia.

HOUOT *et al.* (2000), encontraron que la biodegradación de atrazina fue afectada significativamente en suelos con pH inferior a 6,5. El intervalo de pH óptimo para la degradación de la atrazina por *Arthrobacter* sp HB-5 fue entre 6,0 a 9,0 (WANG *et al.*, 2011), y otro estudio revela que el intervalo de pH óptimo para la degradación de la atrazina por *Arthrobacter* sp cepa DAT1 fue de 5.0 a 10.0. Por otra parte, la cepa DAT1 todavía podría tener altas tasas de degradación de 69,5% y 60,2% a pH 4,0 y 11,0, respectivamente, indicando que el microorganismo tiene una fuerte capacidad para sobrevivir en ambientes hostiles (WANG y XIE, 2012), sumado está que la atrazina es tres (3) veces más soluble en medios con pH alcalino que en pH ácidos (HOUOT *et al.*, 2000). El crecimiento promedio alcanzado a la concentración de 1000 ppm por *Pseudomonas* sp (1L1a) ($3,33E+05$ UFC/mL) es mucho mayor que el alcanzado por *Streptomyces* sp 2L1 ($3,17E+04$ UFC/mL) demostrando su gran capacidad degradativa de la atrazina a pH 7.0, pero

viéndose afectado a pH ácidos y alcalino demostrando ser una bacteria neutrófila más estricta.

Con respecto al efecto de la temperatura contra el crecimiento de los microorganismos, encontramos que la *Pseudomonas* sp (1L1a) y *Arthrobacter* sp son sensibles a temperaturas mayores a los 37°C indicando que son bacterias mesófilas, mientras que *Pseudomonas* sp (1L2) tiene un crecimiento óptimo mucho más estricto (37°C), ya que a 30°C y 40°C se disminuye su crecimiento, y la *Streptomyces* sp se mostró sensible a temperaturas inferiores a los 40°C, demostrando ser un microorganismo termófilo.

Con relación al efecto de la temperatura sobre el crecimiento promedio a 37°C ($7,98E+06$ UFC/mL) demuestra que todas las bacterias seleccionadas son sensibles a las temperaturas bajas ($3,63E+06$ UFC/mL a 30°C) y tolerantes a las más altas ($5,80E+06$ UFC/mL a 40°C), en concordancia con las adaptaciones al clima tropical predominante en la región.

CONCLUSIONES

Las cepas de microorganismos *Pseudomonas* sp, *Streptomyces* sp, y *Arthrobacterium* sp que fueron aislados de suelos con antecedentes de uso de prolongado con atrazina, y de acuerdo a los resultados obtenidos son capaces de tolerar altas concentraciones de este herbicida y mineralizar suelos contaminados con este herbicida que contengan bajo contenido de materia orgánica y nutrientes, como los predominantes en la subregión sabanas de los departamentos de Córdoba, Sucre y Bolívar. Además se pudo identificar una cepa de *Streptomyces* sp que es capaz de crecer a temperaturas altas, permitiéndole ser potencialmente promisorio para ser empleada en la descontaminación de atrazina en suelos agrícolas, debido a que el calentamiento global puede afectar significativamente los ciclos biogeoquímicos.

REFERENCIAS

- ALEKSEEVA, T.; PREVOT, V.; SANCELME, M.; FORANO, C.; BESSE-HOGGAN, P. 2011. Enhancing atrazine biodegradation by *Pseudomonas* sp stain ADP adsorption to Layered Double Hydroxide bionanocomposites. *Diario de materiales peligrosos*. Elsevier. 191: 126-135.
- BENIMELI, C.; CASTRO, G.; CHAILE, A.; AMOROSO, M. 2007. Lindane uptake and degradation by aquatic *Streptomyces* sp. *Biodeterioro y biodegradación Internacional*. 59 (2): 148-155.
- BRICEÑO, G.; FUENETES, M.; PALMA, G.; JORQUERA, M.; AMOROSO, M.; DIEZ, M. 2012. Chlorpyrifos biodegradation and 3,5,6-trichloro-2-pyridinol production by actinobacteria isolated from soil. *Biodeterioro y biodegradación internacional*. 73: 1-7.
- CUESTA, P. y VILLANEDA, E. 2002. El análisis de suelos: Toma de muestras y recomendaciones de fertilización para la producción Ganadera. <http://www.corpoica.org.co/sitioweb/Archivos/Foros/CAPITULOONO.pdf>. (Consultado el 13 de febrero de 2013)

- CUOZZO, S.; FUENTES, M.; BOURGUIGNON, N.; BENIMELI, C.; AMOROSO, M. 2012. Chlordane biodegradation under aerobic conditions by indigenous *Streptomyces* strains. *Biodeterioro y biodegradación internacional*. 66: 19-24.
- DA CUNHA, J.; BELLINI, I.; PINELLI, L.; FERANDEZ, A.; DAVYT, D. 2012. Determinación de atrazina e intermediarios de biodegradación en un medio de cultivo líquido para el enriquecimiento de consorcios microbianos. VII Congreso del medio ambiente AUGM. UNLP. La Plata- Argentina.
- EL SEBAI, T.; DEVERS, M.; CHANGEY, F.; ROUARD, N.; MARTIN, F. 2011. Evidence of atrazine mineralization in a soil from the Nile Delta: Isolation of *Arthrobacter* sp. *Biodeterioro y biodegradación Internacional*. 65 (8): 1249-1255
- HANG, S. y NASSETTA, M. 2003. Evaluación de la degradación de atrazina en dos perfiles de suelo de la provincia de Córdoba. *Revista de Investigaciones Agropecuaria*. 32 (1): 57-69.
- HOUOT, S.; TOP, E.; YASSIR, A.; SOULAS, G. 2000. Dependencia de la degradación acelerada de la atrazina en el pH del suelo en los suelos de Franceses y Canadienses. *J Soil Biol*. 32:615-625.
- IGAC. 2009. Estudio general de suelos y zonificación de tierras departamento de Córdoba.
- MALAGÓN, D. 2003. Ensayo sobre tipología de suelos en Colombia. Énfasis en génesis y aspectos ambientales. *Revista académica Colombiana de ciencias*. 27: 319- 341.
- MARTÍNEZ, C. y GÓMEZ, S. 2007. Genotoxic risk in agricultural workers exposed to pesticides. *Revista internacional de contaminación ambiental*. 23 (4). México.
- MUELLER, T.; STECKEL, L.; RADOSEVICH, M. 2010. Efecto del pH del suelo y el uso histórico de la atrazina en la degradación de atrazina en un suelo de Tennessee. *J Weed Science*. 58: 478-483
- SIDDIQUE, T.; OKEKE, B.; ARSHAD, M.; FRANKENBERGER, W. 2002. Efecto de la temperatura y el pH sobre la biodegradación de isómeros de hexaclorociclohexano en agua y suelo en suspensión. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50: 5070-6.
- SANTAEFEMIA, M.; MELGAR, M.; CEPEDA, A.; GARCÍA, A. 2005. Estudio de la contaminación por plaguicidas en rutas de abastecimiento de una industria láctea. *Revista de Toxicología Asociación española de toxicología*. 22: 96-100.
- SINGH, P.; SURI, R.; SINGH, S. 2004 El aislamiento de un miembro de especie *Acinetobacter* que intervienen en la degradación de la atrazina. *Biochem BioPh Res Comm*. 317: 697-702.
- STRONG, L.; ROSENDAHL, C.; JOHNSON, G.; SADOWSKY, M.; WACKETT, L. 2002. *Arthrobacter aurescens* TC1 Metabolizes Diverse s-Triazine Ring Compounds. *Journal Applied and environmental microbiology*. 68 (12)
- TAFOYA, A. 2008. Biodegradación del herbicida triazinico, Atrazina, por una comunidad bacteriana, seleccionada en quimiostato, inmovilizada en reactores de lecho empaquetado. Tesis Doctoral. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional. México. 162 pág.
- WANG, J.; ZHU, L.; LIU, A.; MA, T.; WANG, Q.; XIE, H.; WANG, J.; JIANG, T.; ZHAO, R. 2011. Aislamiento y caracterización de *Arthrobacter* sp cepa HB-5 que transforma la Atrazina. *Geoquímica Ambiental y Salud*. 33: 259-266
- WANG, Q. y XIE, S. 2012. Isolation and characterization of a high-efficiency soil atrazine-degrading *Arthrobacter* sp. Elsevier. *Biodegradación*. 71: 61-66.
- YANZE, C. y GSCHWIND, N. 1998. Biodegradation of s-triazine compounds by a stable mixed bacterial community. *Ecotoxicology and Environmental*. 43: 47- 56.