



MINISTERIO DE DEFENSA NACIONAL
INSTITUTO ANTARTICO ECUATORIANO
GUAYAQUIL

INFORME DE TRABAJOS DE CAMPO EN LAS
EXPEDICIONES A LA ANTARTIDA

Expedición: XXII

Nombre del proyecto: Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos en la Estación Científica Pedro Vicente Maldonado, mediante el empleo de cepas microbianas

Lugar: Isla Greenwich

Participantes: Miguel Gualoto, Tania Oña, Ekaterina Gualoto, Isabel Toaza

(FEBRERO 2018)

2. OBJETIVO GENERAL DEL PROYECTO

Comprobar la eficiencia de los microorganismos antárticos, para degradar determinados derivados de hidrocarburo, tales como hexano (TPHs) y benceno (HAPs) en pruebas de laboratorio in situ.

3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Reanimar a la bacteria antárticas traídas desde Ecuador.
- Realizar pruebas de degradación de una mezcla de hidrocarburos (Hexano y benceno), en condiciones ambientales de la estación Maldonado.
- Confirmar los datos obtenidos en Ecuador, en relación a su cinética y tasa de degradación.
- Ampliar el muestreo de suelos en busca de microorganismos con potencial biotecnológico ambiental

4. HIPÓTESIS DEL PROYECTO/COMPONENTE.-

Las bacteria antárticas, soportan la desecación y transportación, sin perder la capacidad para degradar hidrocarburos.

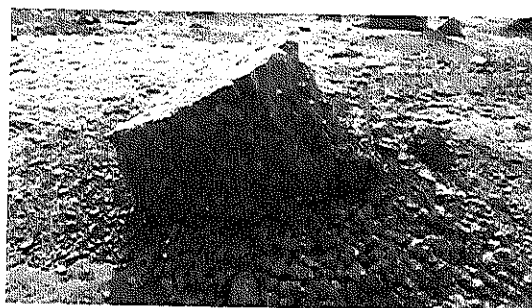
4. ÁREA DE ESTUDIO.- (determinar lugares donde se efectuarán los trabajos, incluyendo coordenadas geográficas, planos o levantamientos)

Tabla 1. Sitios de muestreo y coordenadas

SITIOS

LEON DORMIDO

Coordenadas:
21E0359163
UTM3073246
Altitud: 10 msnm



RIO CULEBRA

Coordenadas:
21E0359154
UTM3072896
Altitud: 7msnm



7 febrero	Seguimiento al proyecto de líquenes. Toma de muestras de suelos en el río culebra y en león dormido Toma de muestras de líquenes y aislamiento de ácaros, siembra en medio de agar nutritivo	Apoyo al proyecto de líquenes antárticos UTN . Dos muestra de suelos Proyecto de ácaros antárticos y microorganismos asociados Proyecto UTN-UDLA
8 de febrero	Muestreo de aguas en la Ensenada Guayaquil, control monitoreo ambiental de las operaciones de PEVIMA. Montaje de celdas experimentales de celulasas antárticas	Apoyo al programa de monitoreo ambiental. Proyecto de celulasas antárticas UC
9 de febrero	Confirmación de crecimiento celular de cepas experimentales. Confirmación de morfología celular	Pruebas de gram u de oxidasas
10 y 11 de febrero	Visita a Isla Dee, al sitio de afloramiento de fósiles con la investigadora de la ESPOL	Sustentación del proyecto de declaratoria de área protegida, bajo la administración de Ecuador.
12 de febrero	Visita a estación Prat. Muestreo de suelos junto a zona de almacenamiento de combustibles. Primera titulación del NaOH de las celdas experimentales	Una muestra de 1kg. Muestras aún sin cambios
13 de febrero	Siembra de las muestras de Prat en tres medios de cultivo: Pseudomona, Agar nutritivo, Agar sangre y PDA. Incorporación de tierra a unidades experimentales de celulasas en conformidad con protocolo de la investigadora. Pruebas de uso de algas marinas para la estabilización y degradación de lodos de la PTAR	Proyecto celulasas Proyecto lodos PTAR-UDLA
14 y 15 de febrero	Aislamiento e identificación de microorganismos asociados a ácaros. Recolección de líquenes en Isla Dee y en las inmediaciones de Maldonado. Toma de un fragmento de madera fósil para su conservación en la biblioteca de Maldonado	Proyecto UTN-UDLA Proyecto UTN Queda rotulado con coordenadas, hora y fecha de recolección
16 de febrero	Segunda titulación de la solución de Hidróxido de sodio de las celdas experimentales. Muestreo de líquenes en Punta Ambato	Proyecto líquenes UTN
17 de febrero	Conformación de crecimiento de microorganismos de Prat. Tinción de gram. Verificación de presencia de turbiedad	

28 de febrero	Conteo de microorganismos de las celdas experimentales con suelos contaminados. Conteo de microorganismos de celdas experimentales con celulasas. Sexta titulación, proyecto de biorremediación. Muestreo de moluscos en Barrientos	Proyecto diversidad de moluscos del Dr. Modesto Correoso ESPE
1 de marzo	Pesaje y embalaje de muestras. Obtención de permisos de transporte de muestras de parte de la base de PEVIMA	
2 de marzo	Limpieza de laboratorio Desarme de equipos	
3 de marzo	Embalaje de equipos y materiales para el invierno. Entrega de vituallas	
4 de marzo	Salida de Maldonado. Cierre de PEVIMA. Retorno hasta Rey Jorge	
5 y 6 de marzo	Legalización del tránsito de muestras en el INACH. Entrega de equipos Envío de materiales refrigerados en contenedor del INAE	
7 de marzo	Retorno a Ecuador	

7. DESCRIPCIÓN DEL TRABAJO DE CAMPO / METODOLOGÍA PARA LA OBTENCIÓN DE LOS DATOS (explicar el uso de equipos, procedimientos, registro, métodos utilizados durante la presente expedición)

Reactivación microbiana

Las cepas de microorganismos AP1 AP4, AP5 y B1, fueron reactivadas en un medio de agua peptonada a pH neutro. Para el efecto de cada cepa se introdujo en el medio un pedazo del papel filtro estéril, en el cual venían impregnadas las cepas



Figura 1. Frascos con medio de reanimación de agua peptonada

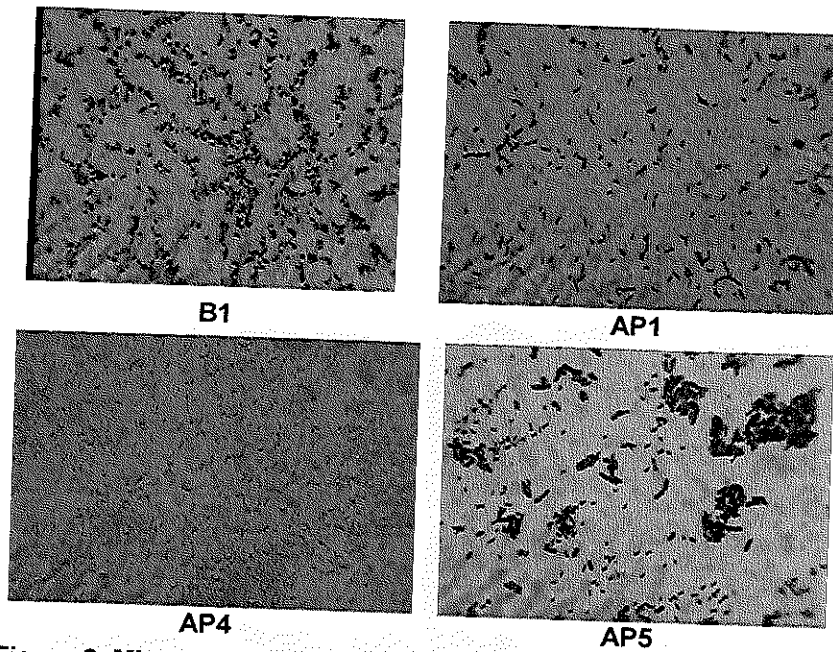


Figura 3, Microscopía de las cepas empleadas

Montaje de celdas de tratamiento de suelos contaminados con hidrocarburos.

En la sala de botes, se producen derrames involuntarios, por la rotura de mangueras y conductos durante el invierno, estos derrames producen manchas de combustibles en el piso del hangar, haciéndose necesario, la recogida de los ismos para su transporte hasta el continente, en conformidad con el Protocolo de Madrid.



Figura 4. Manchas de hidrocarburos de la sala de botes

Para resolver el problema de este tipo de contaminación se montaron seis celdas experimentales en terrarios, cada una con 20 kg, con 1000 g de materia orgánica, en calidad de cosustrato estimulante para la degradación de los hidrocarburos

- Cáscara de cítrico 200g
- Cáscara de sandía 400g
- Cáscara de melón, 150 g
- Cáscara de banana 250g

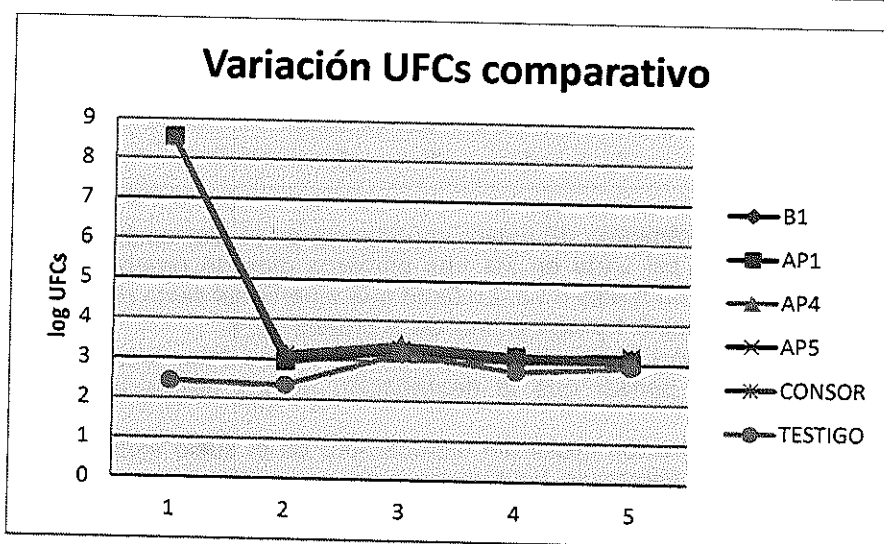
8.- DATOS OBTENIDOS (Incluir en la tabla del anexo los datos/parámetros medidos y/o muestras recopiladas con las respectivas coordenadas geográficas en UTM y latitud y longitud, georreferenciadas)

Tabla 5. Resultados del conteo microbiano en celdas con suelos contaminados.

UNIDAD	UFCs				
	1	2	3	4	5
B1 <i>Bacillus sp</i>	3.5×10^8	1024	1672	1120	1424
AP1 <i>Pseudomona putida</i>	3.5×10^8	900	1680	1440	1088
AP4 <i>Riemnella columbina</i>	3.5×10^8	1440	2624	1536	1200
AP5 <i>Bacillus sphaericus</i>	3.5×10^8	880	1840	1320	1600
CON	3.5×10^8	1280	1944	1520	1320
T	270	224	1504	600	840

Tabla 6. Conteo de UFC expresado en términos de log

UNIDAD	Log UFCs				
	1	2	3	4	5
B1	8,54	3,01	3,22	3,04	3,15
AP1	8,54	2,95	3,22	3,15	3,03
AP4	8,54	3,16	3,41	3,18	3,07
AP5	8,54	2,94	3,26	3,12	3,20
CON	8,54	3,11	3,28	3,18	3,12
T	2,43	2,35	3,17	2,77	2,92
Días	0	3	9	12	15



En la gráfica, podemos ver que la cantidad de UFCs desciende drásticamente desde 8,54 UFCs hasta valores de 2,35, hasta 3,1 en los primeros tres días de pruebas. A lo largo del experimento en todas las celdas se evidencia un crecimiento de

simultáneamente tratará los residuos orgánicos generados en la cocina de PEVIMA, en calidad de cosustrato.

Prueba experimental de degradación de derivados de hidrocarburo, tales como hexano (TPHs) y benceno (HAPs), con microorganismos antárticos en condiciones de laboratorio.

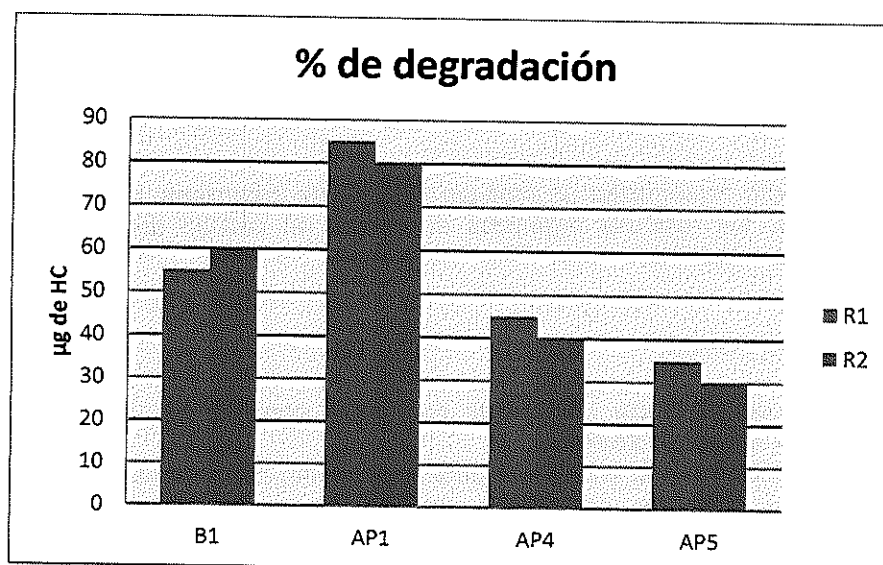
Resultados de titulación de celdas experimentales en medio líquido.

Tabla 8. Consumo de HCl en la titulación de NaOH, residual de las celdas experimentales

B1	2,0	1,6	1,6	1,3	1,0	0,9
AP1	2,0	1,4	1,2	0,8	0,5	0,3
AP4	2,0	1,8	1,7	1,5	1,2	1,1
AP5	2,0	1,9	1,8	1,8	1,7	1,3
REPETICIONES						
B1	2,0	1,7	1,5	1,2	1,0	0,8
AP1	2,0	1,6	1,1	1,0	0,8	0,4
AP4	2,0	1,8	1,8	1,6	1,5	1,2
AP5	2,0	1,9	1,7	1,7	1,6	1,4
Días	0	3	9	12	15	18

Tabla 9. Cantidad de 10^{-4} g de Mezcla Hexano-benceno degradados

B1	61,00	46,80	46,80	39,65	30,50	27,45
AP1	61,00	42,70	36,60	24,40	15,25	9,15
AP4	61,00	54,90	51,85	45,75	36,60	33,55
AP5	61,00	57,95	54,90	54,90	51,85	39,65
REPETICIONES						
B1	61,00	51,85	45,75	36,60	30,50	24,4
AP1	61,00	46,80	33,55	30,50	24,40	12,2
AP4	61,00	54,90	54,90	46,80	45,75	36,6
AP5	61,00	57,95	51,85	51,85	46,80	42,7
Días	0	3	9	12	15	18



Coordenadas sitios de muestreo:

SITIOS	COORDENADAS UTM		ALTITUD
ISLA BARRIENTOS			
Playa 1	21E0358304	3077471	3 msnm
Playa 2	21E0358819	3077469	4 msnm
Playa 3	21E0358830	3077471	3 msnm
LEON DORMIDO			
Al pie del león 1	21E0359163	3073246	10 msnm
RIO CULEBRA			
Cerca cementerio de ballenas 1	21E0359154	3072896	7msnm
ESTACION PRAT			
Área de combustibles1	21E0362729	3069603	7 msnm

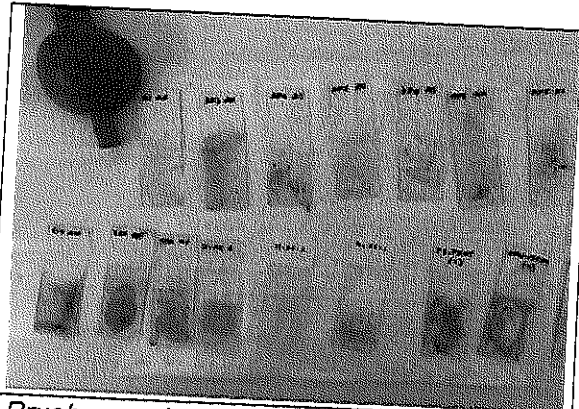
9.- TRABAJOS PENDIENTES RELACIONADOS CON EL PROYECTO (Describir los trabajos que son necesarios efectuar luego de terminada la expedición, incluyendo fechas, para terminar el análisis de los muestreos efectuados y posterior publicación de resultados)

- Caracterización genética de las cepas experimentales.
- Trabajo práctico de aplicación en condiciones alto andinas.
- Publicación (fines de año)

10.- CONCLUSIONES

- Los microorganismos antárticos, muestran la capacidad para degradar hidrocarburos, derivados del petróleo y petróleo crudo.
- Los microorganismos antárticos soportan la desecación y pueden ser transportados en forma confiable desde y hacia la Antártida.
- La Estación PEVIMA, puede gestionar sus suelos contaminados con hidrocarburos, in situ, disminuyendo así los costos de su transportación y gestión en Chile y disminuyendo los riesgos de su transportación.

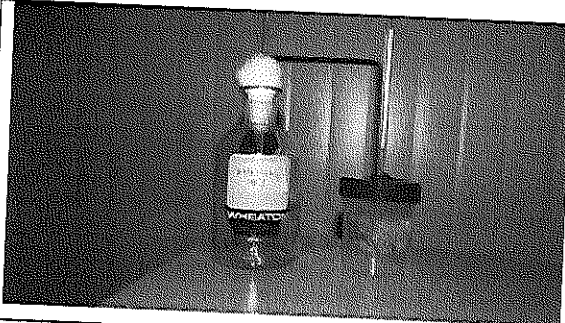
REGISTRO FOTOGRAFICO



Pruebas de gram de las cepas experimentales



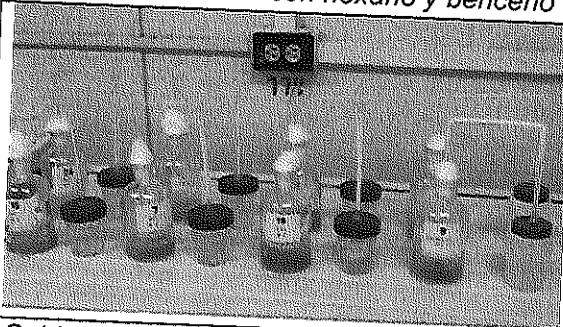
Bacilos Gram negativos de muestra de suelo de Prat 2018



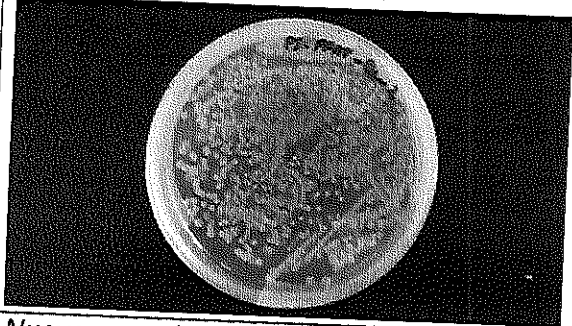
Celda experimental con hexano y benceno



Celda experimental con suelo



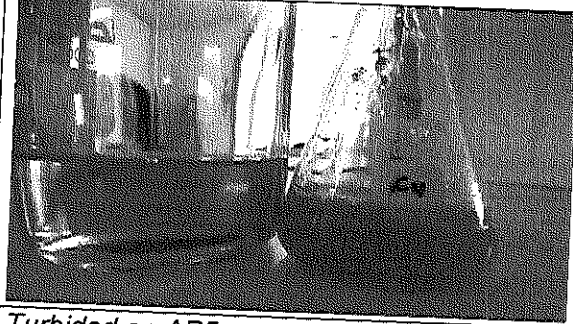
Celdas experimentales



Nueva cepa de Arturo Prat



Turbiedad de B1



Turbiedad en AP5