

# FORMULAR PROPUESTAS DE BIOPROSPECCIÓN Y BIORREMEDIACIÓN CON FINES AMBIENTALES: MICROORGANISMOS



**Investigadora responsable:** Gladys Cardona ([gcardona@sinchi.org.co](mailto:gcardona@sinchi.org.co))

**Investigadores:** Carolina Díaz, María Camila Escobar, Walter Estrada, Juan Pablo Niño, Ana Lucía Noguera y Yaneth Vásquez

**Palabras clave:** Amazonia, diversidad 16s rRNA, microorganismos, biosurfactantes, pigmentos.

**Área geográfica:** Amazonas, Caquetá y Guainía

**Objetivo:** Producir conocimiento científico sobre la diversidad biológica, socioeconómica, cultural y el aprovechamiento sostenible de la Amazonia colombiana.

**Objetivos específicos:**

- Aumentar el conocimiento de la biodiversidad terrestre y acuática en sus diferentes niveles de expresión (Microorganismos).
- Valorar la biodiversidad y los servicios ecosistémicos.
- Desarrollar el potencial de biorremediación, bioprospección y nuevos materiales a partir de microorganismos amazónicos.
- Actualizar los contenidos de las bases de datos de colecciones biológicas (Herbario Amazónico Colombiano, CIACOL, Herpetofauna, Microorganismos)

**Importancia:** Los microorganismos constituyen la principal porción de biomasa en la tierra y son ubicuos dentro del medio ambiente. Coexisten en comunidades microbianas mezcladas, cuyas acciones concertadas ayudan al sostenimiento de la vida en el planeta. Son los principales conductores de los ciclos biogeoquímicos, asegurando el reciclaje de elementos orgánicos esenciales como el carbono y el nitrógeno. Entender como los microorganismos interactúan *in situ* y como las comunidades microbianas responden a cambios ambientales es uno de los principales desafíos en los próximos años

con relevancia para la evolución, la salud humana, la salud medio ambiental, la biología sintética, la energía renovable y la biotecnología.

**Relevancia:** Los microorganismos al igual que la fauna y flora se encuentran expuestos a las mismas fuerzas y condiciones que amenazan actualmente su diversidad, por lo que un inventario sistemático sobre en regiones poco exploradas como la Amazonia colombiana, permitirá generar pautas para la conservación y uso sostenible de este valioso recurso genético, teniendo en cuenta que los microorganismos hacen posible la conexión a manera de red de toda forma animal y vegetal en el planeta; ya sea sirviendo a la plantas en la captura de nutrientes en sus raíces o a los animales en la descomposición interna de los alimentos.

**Impacto:** El uso del potencial biotecnológico de la biodiversidad microbiana depende en primer lugar del conocimiento de los diferentes niveles de organización (molecular, celular y ecosistémico) y del uso efectivo que se pueda hacer de los recursos biológicos y genéticos. Para esto, se requiere contar con una adecuada capacidad de exploración sistemática de la biodiversidad (bioprospección), usando técnicas modernas como la bioinformática y las ómicas que permita un mayor conocimiento de la biodiversidad colombiana y la obtención de productos con un mayor valor agregado de interés para la industria, que puedan ser escalables y al tiempo sirvan de insumos para otras industrias.

**Métodos:** qPCR (PCR cuantitativa en tiempo real), secuenciación Sanger Secuenciación de siguiente generación (Illumina MiSeq), programas bioinformaticos: FLASH, QIIME, SWARM, RStudio, Canoco 4.5, SPSS. Aislamiento en medio de cultivo sólido y líquido por siembra directa y pre-enriquecimiento. Espectrofotometría y Absorción atómica en vapor frío.

### Resultados:

Durante este 2020, se realizó la anotación de los genomas a 4 cepas microbianas (cepa S.H.S.9, AAE2, 16TR y 100TR) aisladas de diferentes ecosistemas amazónicos y que hacen parte de las colecciones de microorganismos productores de pigmentos y resistentes a mercurio del I. SINCHI. La cepa S.H.S.9, fue aislada de una muestra de suelo procedente de la Reserva Hábitat Sur ubicada en Leticia (Amazonas), y ha sido objeto de estudio por su capacidad para producir a partir del aminoácido L-Tirosina un pigmento de color rojo que tiende a convertirse en negro con el tiempo. La cepa AAE2, fue aislada de una muestra de aguas claras procedente de departamento del Amazonas (Leticia), y fue seleccionada por la pigmentación amarilla intracelular de sus colonias, y por la particularidad de pertenecer a un grupo de actinobacterias no filamentosas. Las cepas 16TR y 100TR se aislaron de sedimentos superficiales en el caño Pupuña (Tarapacá - Amazonas) y sedimentos intersticiales en el caño Rojo (Taraira- Vaupés), respectivamente. Estas cepas se caracterizan por su resistencia a mercurio. El análisis filogenómico de la cepa S.H.S.9 y la cepa AAE2, permitió concluir que estos organismos son una nueva especie de los géneros *Pseudomonas* y *Agrococcus*. En estas cepas se encontraron genes y rutas metabólicas asociadas a la producción de pigmentos como alomelanina, fitoflueno y Z-caroteno. Para la cepa 100TR se encontraron genes asociados a la resistencia a Hg organizados en un operon mer.

Durante el año 2020 se evaluó la capacidad de reducción de mercurio por las cepas de microorganismos más prometedoras de la colección de trabajo merA positivas del I. SINCHI, observando actividad reductora de Hg a concentraciones a 40 mg HgCl<sub>2</sub>/L para las cepas identificadas como Para la cepa 23C (*Stenotrophomonas pavanii* y *Acinetobacter junii*). De igual manera se conformaron dos consorcios microbianos con capacidad para reducir Hg y/o secuestrar el metal por acción de exopolisacáridos, lo que permite corroborar el potencial de estas cepas

para ensayos de bioremediación de Hg en ecosistemas contaminados de la Amazonia.

Durante el 2020 se evaluó la expresión de pigmentos en los diferentes medios previamente reportado en la literatura para los géneros de bacterias *Burkholderia* y *Streptomyces* de la colección de bacterias productoras de pigmentos del I. SINCHI. Para las cepas HS2 (*Burkholderia stabilis*), TR100 (*Burkholderia contaminans*) y OPF (*Burkholderia* sp), la expresión de pigmentos se observó en el medio CPG, aunque en los medios King B y A también generaron pigmentos morados de interés que se difunden en el agar. La cepa TR100 (*Burkholderia contaminans*) presentó buen crecimiento en todos los medios ensayados, pero no presentó un cambio en la expresión de pigmentos.

Los análisis preliminares de los pigmentos producidos por estas cepas muestran un rango de adsorción a una longitud de onda de 100 a 400 nm, lo cual sugiere la presencia de compuestos como las fenazinas. La cepa TR100 presenta un pigmento amarillo, que exhibe una fluorescencia mayor, probablemente se trata de una toxoflavina, común en el género *Burkholderia*. La evaluación de la expresión de pigmentos en las cepas del género *Streptomyces* (Cal3, AM3, MF19) resultó en el crecimiento, formación de filamentos y esporulación en todos los medios evaluados. El análisis preliminar del tipo de pigmento producido por las cepas AM3 y MF19 sugiere la expresión de melanina en medio ISP7, la expresión de este pigmento en este género ya ha sido ampliamente documentada.

Adicionalmente se realizó la evaluación de la producción de biosurfactantes (BS) en 23 cepas bacterianas caracterizadas previamente como organismos MerA negativos. Se encontró actividad biosurfactante en organismos de los géneros *Shewanella* sp., *Bacillus* spp, *Serratia* spp, *Pantoea* sp., *Brevundimonas* sp. y *Microbacterium* sp, por lo que pueden ser particularmente útiles en la

## ANEXO 1 - Proyectos de investigación ejecutados en 2020

biorremediación de metales pesados.

Por otro lado, en el año 2020 se inició con el establecimiento de la colección de microorganismos del I. SINCHI para su registro ante el Instituto Humboldt. El Instituto SINCHI cuenta con 258 cepas microbianas ingresadas, las cuales presentan diferentes funciones ecológicas y metabólicas. Estos organismos han sido aislados a partir de muestreos realizados en diferentes coberturas y ecosistemas a lo largo de la amazonia colombiana, como son sistemas agroforestales con arazá, cocona y ají; pastizales, bosques y chagras; así como en aguas superficiales, caños y cananguchales. Se está realizando la preservación de los microorganismos según lineamientos de calidad establecidos por la WFCC (World Federation for Culture Collection). Además, se ha realizado su caracterización molecular usando como marcador taxonómico el ARN ribosomal 16S (ARNr 16S) y funcional relacionada con la producción de sideróforos, antibióticos, ácido indol-3-acético, actividad nitrogenasa, celulolítica y perfiles bioquímicos.

Actualmente se tienen conservadas 258 cepas distribuidas entre bacterias y levaduras que en su mayoría han sido caracterizadas a nivel molecular y funcional.

### Principales logros:

1. Se realizó la anotación de los genomas a cuatro cepas microbianas (cepa S.H.S.9, AAE2, 16TR y 100TR) aisladas de diferentes ecosistemas amazónicos y que hacen parte de las colecciones de microorganismos productores de pigmentos y resistentes a mercurio del I. SINCHI. Dos de estas cepas (S.H.S.9 y AAE2) son nuevas especies de los

géneros *Pseudomonas* y *Agrococcus*. En los genomas de estas cepas se encontraron genes y rutas metabólicas asociadas a la producción de pigmentos y la resistencia a Hg.

2. Se evaluó la producción de pigmentos en cepas de la colección de microorganismos del I. SINCHI, encontrando cepas productoras de fenazinas, toxoquinas y melaninas. Así mismo se encontraron cepas productoras de biosurfactantes con aplicación para la biorremediación de metales pesados como el Hg.
3. Se inició con el establecimiento de la colección de microorganismos del I. SINCHI para su registro ante el Instituto Humboldt. Se tienen conservadas 258 cepas distribuidas entre bacterias y levaduras que en su mayoría han sido caracterizadas a nivel molecular y funcional (producción de sideróforos, pigmentos, resistencia a Hg, producción de biosurfactantes, entre otros).

### Discusión y recomendaciones:

De los muchos microorganismos que hacen parte del ecosistema amazónico, el Instituto SINCHI en el 2020 enfocó sus esfuerzos en estudiar los microorganismos de la colección de trabajo del Instituto, por ser éste un importante recurso genético que soporta los principales ciclos biogeoquímicos del planeta, así como por su potencial metabólico para la producción de compuestos bioactivos con aplicación en la biorremediación de contaminantes como los metales pesados (Hg), restauración de ecosistemas degradados (actividad promotora de crecimiento vegetal – sideróforos) y producción de metabolitos con aplicación biotecnológica (pigmentos y biosurfactantes).