

Biorremediación de suelo contaminado con pesticidas: caso DDT

Bioremediation of a pesticide polluted soil: case DDT

Bibiana Betancur-Corredor¹, Nancy Pino², Gustavo A. Peñuela³ y Santiago Cardona-Gallo³

1. MSc. Universidad de Antioquia. Grupo Diagnóstico y Control de la Contaminación (GDCON) - Sede de Investigación Universitaria, Medellín, Colombia. Escuela de Geociencias y Medio Ambiente, Facultad de Minas - Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia.
2. MSc. Universidad de Antioquia. Grupo Diagnóstico y Control de la Contaminación (GDCON) - Sede de Investigación Universitaria, Medellín, Colombia
3. PhD. Universidad de Antioquia. Grupo Diagnóstico y Control de la Contaminación (GDCON) - Sede de Investigación Universitaria. Medellín, Colombia
4. PhD. Escuela de Geociencias y Medio Ambiente. Facultad de Minas, Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia

Resumen

El 1,1,1-tricloro-2,2'bis(*p*-clorofenil)etano (DDT) ha sido usado desde la segunda guerra mundial para controlar enfermedades transmitidas por insectos en humanos y animales domésticos. El uso de estos insecticidas organoclorados se ha prohibido en la mayoría de los países, debido a su persistencia en el ambiente, susceptibilidad de biomagnificación y potencial toxicidad a animales superiores. La biorremediación involucra el uso de microorganismos para degradar contaminantes orgánicos presentes en el ambiente, transformándolos en compuestos más simples y de menor peligrosidad, inclusive inocuos. Esta estrategia de descontaminación tiene bajos costos, una amplia aceptación pública y puede llevarse a cabo en el sitio. Comparado con otros métodos, la biorremediación es una forma más promisoriosa y menos costosa de eliminar los contaminantes presentes en suelos y agua. En suelo los compuestos bifenilos clorados como el DDT, pueden ser parcialmente biodegradados por un grupo de bacterias aerobias que cometabolizan el contaminante. La biodisponibilidad de los contaminantes puede ser mejorada, tratando los suelos en presencia de agentes movilizadores del contaminante como los surfactantes. En esta revisión se discuten las diferentes estrategias de biorremediación de suelo contaminado con DDT, incluyendo mecanismos y rutas de degradación. Se describe la aplicación de estas técnicas en suelo contaminado y se discute cuál es la mejor estrategia para remediación de DDT.

Palabras clave. DDT, biorremediación, bioestimulación, surfactante, toxicidad.

Abstract

1,1,1-trichloro-2, 2'bis (*p*-chlorophenyl) ethane (DDT) has been used since the Second World War to control insect-borne diseases in humans and domestic animals. The use of these organochlorine insecticides has been banned in most countries because of its persistence in the environment, biomagnification and potential susceptibility to toxicity to higher animals. Bioremediation involves the use of microorganisms to degrade organic contaminants in the environment, transforming them into simpler and less dangerous, even harmless compounds. This decontamination strategy has low costs, and wide public acceptance, also it can take place on the site. Compared to other methods, bioremediation is a more promising and less expensive to eliminate contaminants in soil and water. In soil, compounds such as DDT, chlorinated biphenyls can be partially biodegraded by a group of aerobic bacteria that cometabolize the contaminant. The bioavailability of pollutants may be enhanced by treating the soil in the presence of contaminant mobilizing agents such as surfactants. In this review we discuss the different strategies for bioremediation of soil contaminated with DDT, including mechanisms and degradation pathways. The application of these techniques in contaminated soil is also described. This review also discusses which is the best strategy for bioremediation of DDT.

Key words. DDT, bioremediation, biostimulation, surfactant, toxicity.

Introducción

Motivos tales como el costo y la acción residual, lograron que el DDT se mantuviese por muchos años como el insecticida predilecto en la lucha antimalárica. Las intoxicaciones de rociadores y rociados, contaminación del ambiente y productos alimenticios, casos de mutagenicidad y capacidad para inducir cáncer, alteraciones del sistema inmunológico y trastornos hematológicos, han sido la causa para que grandes organizaciones ataquen el uso masivo de los insecticidas en la agricultura y la salud pública. En 1971 la OMS desaprobó el uso del DDT al aire libre, aunque recomendó su aplicación en rociamientos intradomiciliarios, sin embargo en muchos países han restringido o prohibido su uso (Franco, 1985). La problemática colombiana relacionada con los sitios contaminados con DDT y sus metabolitos, está muy ligada al uso de plaguicidas en la agricultura, por ello se han abandonado y enterrado grandes cantidades, en respuesta a la prohibición del uso de algunos pesticidas organoclorados (Arbeli, 2009). En Colombia se han encontrado existencias almacenadas de DDT, hasta el año 2006 de 160.732 kg de DDT en las ciudades de Bogotá, Cartagena, Honda y Puerto Inírida, en su mayoría propiedad del Ministerio de la Protección Social, debido a su uso para el control de la malaria. Se estima un total de 5.000 m³ de suelo contaminado en Colombia con DDT (MAVDT, 2007).

En la actualidad existe el desafío en el campo de la degradación biológica de DDT en Colombia, el cual constituye una clara amenaza a la salud humana y ecológica. En países latinoamericanos es especialmente importante que se realice investigación sobre biorremediación de contaminantes, ya que permite utilizar la gran biodiversidad microbiana de sus suelos como herramienta para mejorar ambientes dañados y preservar la salud de los ecosistemas, desde el nivel molecular hasta aplicaciones a gran escala en suelos contaminados. Este insecticida presenta un largo período de vida medio en el ambiente, incluso una vez asimilado por los organismos, el DDT y sus metabolitos permanecen en el cuerpo y son transferidos a sus predadores cuando se alimentan

de él. La concentración de éstos se incrementa a medida que se recorre la cadena alimenticia (Nakamaru et al., 2003) y se transportan por los vientos a través de la atmósfera, lo cual ha llevado a niveles de contaminación elevados de pesticidas persistentes en las regiones polares (Semeena et al., 2006). Las exposiciones a pequeñas cantidades de DDT durante un tiempo prolongado, pueden dar lugar a acumulaciones mayores de la sustancia en el tejido adiposo. La dieta ha sido la mayor forma de exposición de la población general a este tipo de contaminantes, no obstante, pueden presentarse otras vías de exposición en el aire y en el agua (Flores-Luévano et al., 2003).

El DDT es un compuesto orgánico clorado altamente resistente a la degradación por medios biológicos, químicos o fotolíticos, dado que su estructura molecular contiene estructuras aromáticas y alifáticas cloradas que generan gran estabilidad química, característica que lo hace tóxico, persistente y contaminante (Corona-Cruz et al., 1999). La biorremediación involucra el uso de microorganismos para degradar los contaminantes y por ende detoxificar los ambientes. La efectividad de esta tecnología se puede evaluar mediante la desaparición del contaminante, sin embargo este enfoque no es completo porque no se considera que los productos finales o intermediarios producidos durante la reacción de degradación puedan ser tóxicos (Ganey y Boyd, 2004). En suelos los compuestos bifenilos clorados como el DDT, pueden ser biodegradados por un grupo de bacterias aerobias que cometabolizan el contaminante y otro grupo que mineralizan el ácido clorobenzoico. La biodisponibilidad de los contaminantes puede ser mejorada, tratando los suelos en presencia de agentes movilizadores del contaminante como los surfactantes (Di Toro et al., 2006). Ciertos microorganismos debido a su capacidad metabólica, poseen un gran potencial de biodegradación, reduciendo la concentración de los xenobióticos (Finley et al., 2010).

Bacterias y hongos como *Eubacterium limosum*, *Alcaligenes eutrophus*, *Boletus edulis*, *Fusarium solani* y *Phanerochaete chrysosporium* pueden

degradar DDT en cultivos puros y suelos naturales (Li et al., 2010). La degradación microbiana de pesticidas organoclorados se ha observado bajo condiciones aerobias y anaerobias, por ejemplo para la degradación aerobia de DDT se han reportado bacterias tales como *Alcaligenes eutrophus* A5, *Serratia marcescens* DT-1P, *Micrococcus varians*, *Lactobacillus plantarum* y *Pseudomonas* sp. Se ha demostrado que la degradación aerobia de DDT por *Alcaligenes eutrophus* A5 y *Pseudomonas* sp., ocurre mediante escisión del anillo en posición *meta*, produciendo ácido clorobenzoico (Ninnekar y Kamanavalli, 2004). Bajo condiciones anaerobias, el DDT se convierte en diclorodifenildicloroetano (DDD) mediante una reacción de dechloración reductiva. El hongo *Phanerochaete chrysosporium* fue reportado con capacidad de mineralizar DDT (Fernando et al., 1989). Se ha reportado también degradación de DDT por *Staphylococcus haemolyticus* en porcentajes de hasta 32% (Sonkong et al., 2008). Existen registros de reacciones de dechloración reductiva en sedimentos de ríos con altas cargas de materia orgánica, esto debido a la alta disponibilidad de carbono orgánico como sustrato para organismos heterotróficos (Kuhn et al., 2009). El proceso de dechloración resulta en la acumulación de compuestos sustituidos en las posiciones *orto* y *para*, que contienen menos átomos de cloro (Ganey y Boyd, 2004). Las bacterias anaerobias pueden dechlorar compuestos más fácilmente que las bacterias aerobias, lo cual representa una gran ventaja ya que con este proceso no se requiere la adición de oxígeno y hay menor oportunidad de generar compuestos de hierro como precipitados que pueden contaminar los acuíferos (Litchfield, 2005). En suelos se han empleado sustratos de bagazo de caña de azúcar, sacarosa, urea, fosfato de potasio y una solución de sales minerales para los reactores aerobios, simulando la composición del compost como nutrientes para el cometabolismo de DDT (Corona-Cruz et al., 1999). Los problemas de persistencia del DDT se han resuelto en muchos casos, debido a que estos compuestos son sensibles metabólicamente a la oxidasa y a su acción piretroide esterasa. Esto ha facilitado realizar hallazgos de biodegradabilidad de los pesticidas en insectos y mamíferos *in vivo* e

in vitro. Como sistema abierto el suelo está sujeto a adición o remoción de compuestos antropogénicos y naturales, entre ellos los pesticidas, que son un grupo de compuestos estudiados ampliamente, dados sus efectos secundarios en la microflora del suelo (Welp y Brümmer, 1999). Los pesticidas son compuestos orgánicos utilizados en la agricultura y en la protección de los ambientes, con el fin de interrumpir el crecimiento de organismos como insectos o hierbas denominados plagas. Niveles elevados de pesticidas en ambientes acuáticos o terrestres, pueden causar numerosos problemas al ambiente, vida silvestre y salud humana (Binelli y Provini, 2003).

El 1,1,1-tricloro-2,2'bis(*p*-clorofenil)etano (DDT) ha sido usado desde la segunda guerra mundial (Beard, 2006). Es un compuesto químico sintético utilizado para controlar enfermedades en humanos y animales domésticos, transmitidas por insectos, pero que ha sido suspendido en la mayoría de los países debido a su persistencia en el ambiente, susceptibilidad de biomagnificación y potencial toxicidad a animales superiores (Lal y Saxena, 1982). Se ha demostrado el impacto adverso del DDT sobre la vida silvestre al poseer propiedades de persistencia, bioacumulación y movilización de largo alcance en el ambiente (Walker et al., 2003). Si se consideran estos efectos negativos, se hace necesario el desarrollo de métodos efectivos de remediación, donde las tecnologías biológicas ofrecen como ventaja la destrucción parcial o completa de los contaminantes (Ganey y Boyd, 2004).

2. Persistencia del DDT

La persistencia de los hidrocarburos clorados en el ambiente depende principalmente de sus características físicas y químicas. Si la estructura es más compleja, halogenada e hidrofóbica, los hidrocarburos tienden a acumularse en el material particulado del suelo (Perelo, 2010). Los hidrocarburos clorados son un grupo numeroso de compuestos, dentro de los cuales existen unos más persistentes que otros, por ejemplo, los altamente clorados pueden ser degradados más

fácilmente en condiciones anaerobias, mientras que aquellos menos clorados son biodegradables en condiciones aerobias, de igual manera, la disposición de los átomos de cloro en la molécula, también tiene influencia sobre la biodegradabilidad del compuesto (Lundmark, 2002). Otro mecanismo importante de persistencia de los pesticidas en el ambiente es aquel dado en las plantas, provistas de cera epicuticular que tiene la capacidad de absorber compuestos hidrofóbicos tales como contaminantes orgánicos persistentes del aire circundante. Algunos estudios permiten establecer posibles alteraciones en la estructura de la cutícula y la capa de cera ante elevados niveles de contaminantes orgánicos volátiles (Kylin y Sjödin, 2003). Han demostrado que el DDT persiste debido a que las células que pueden cometabolizar este compuesto, aunque numerosas, no manifiestan una elevada actividad (Pfaender y Alexander, 1973).

2. 1. Toxicidad del DDT y sus residuos en el ambiente

El DDT es útil para el control de los insectos, actuando principalmente como neurotóxico con efectos directos en el canal de sodio activado por voltaje. Esta es una proteína transmembranal de la célula que permite el paso de iones de sodio a través de la misma. En las neuronas los canales de sodio son responsables de la fase ascendente del potencial de acción, que es útil en los organismos para llevar información entre tejidos, lo que los convierte en una característica microscópica esencial para la vida (Bear et al., 2007). El DDT prolonga la corriente de inactivación de los canales de sodio, por tanto bloquea directamente los potenciales de acción mediante inhibición de los canales de sodio. Los pesticidas tienen también un modo de acción sistémico, que interfiere con el metabolismo de los patógenos mediante la inhibición de la biosíntesis de esteroides (Hatfaludi et al., 2004).

La exposición indirecta al DDT puede modificar la expresión de genes significativamente, ante la presencia de compuestos orgánicos clorados, desencadenando alteraciones en el comportamiento

celular relevantes para carcinogénesis y otros efectos adversos (Voutchkova et al., 2010). Por ejemplo, estudios han demostrado que la proteína AP-1 que actúa como factor de transcripción, regula la expresión de un gen que se ha asociado con el origen de tumores. Realizando ensayos con células epiteliales de ratas transfectadas con DNA de unión a AP-1 y un gen reportero de luciferasa, se encontró que los aromáticos clorados incrementaron la inducción de la transcripción de AP-1 en dos y tres veces, mientras que los compuestos de cloro equivalentes en concentración molar, no tuvieron efecto en la transcripción mediada por AP-1 (Ganey y Boyd, 2004). En bioensayos realizados por el Instituto Nacional de Cáncer estadounidense para evaluar la posible carcinogenicidad de DDT, se encontraron asociaciones positivas entre el aumento de la concentración del químico y la mortalidad acelerada en hembras de ratón, a las cuales se había dosificado DDT y en ambos sexos de ratones contaminados con DDE. Se presentó una asociación positiva entre la concentración de DDE suministrada a los ratones y la incidencia de carcinomas hepatocelulares. Se han encontrado también asociaciones entre mayor incidencia de diabetes con compuestos organoclorados en suero sanguíneo, alteraciones en el sistema inmunológico en humanos y animales (Ganey y Boyd, 2004). Como resultado de estas investigaciones, la Agencia para Sustancias Tóxicas y Registro de Enfermedades ha establecido un nivel mínimo de riesgo agudo de duración por vía oral para el DDT de 0,0005 mg/kg/día, basado en efectos de desarrollo perinatal del sistema nervioso en ratones neonatos, con comportamiento neurotóxico manifestado en animales adultos. La Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos estableció una dosis de referencia oral de 0,0005 mg/kg/día, basado en lesiones en el hígado de ratas. La Organización Mundial de la Salud estableció un nivel máximo en agua potable de DDT y metabolitos de 2 µg/l. En Estados Unidos la Oficina de Seguridad y Salud Ocupacional estableció un límite máximo de DDT en aire de 1 mg/m³ (U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES, 2002).

3. Microorganismos degradadores de DDT

Las bacterias Gram-negativas y Gram-positivas tienen la habilidad de metabolizar el DDT, entre ellas *Alcaligenes eutrophus*, *Hydrogenomonas* sp., *Pseudomonas putida*. En un estudio se aislaron 41 colonias bacterianas morfológicamente diferentes, mediante pruebas bioquímicas fueron clasificadas como *Staphylococcus* sp., *Micrococcus* sp., *Bacillus* sp. y *Pseudomonas* sp., y otras investigaciones las han relacionado con procesos de degradación microbiana de DDT en suelo en condiciones aerobias (Sonkong et al., 2008). Algunos investigadores han demostrado la gran capacidad de *Cupriavidus* sp. en la degradación de compuestos aromáticos como contaminantes del suelo (Pérez-Pantoja et al., 2008). *Bacillus thuringiensis* puede producir toxinas con potencial insecticida, con la habilidad de degradar pesticidas como glifosato (Accinelli et al., 2004). *Phenylbacterium* sp. puede degradar pesticidas de la familia de los carbamatos en suelos agrícolas (Lawrence et al., 2005).

Los microorganismos en ambientes con compuestos xenobióticos, evolucionan hasta alcanzar la capacidad de degradarlos, aunque las rutas de degradación sean limitadas por la baja velocidad relativa. Para mejorar la actividad catalítica y la especificidad de las enzimas de los microorganismos, se han aplicado técnicas de ingeniería genética tales como mutagénesis de sitio dirigida o *error-prone PCR* (Singh et al., 2008). En algunos casos, los metabolitos producidos a partir de reacciones de degradación de un contaminante son aún tóxicos o resistentes a la degradación. Un posible enfoque para mejorar estos procesos de degradación, es el aprovechamiento de consorcios de microorganismos que siguen las rutas de degradación requeridas (Singh et al., 2008). La comprensión de la fisiología y genética de las poblaciones involucradas en los procesos de biorremediación, es útil para evaluar y optimizar la descontaminación (Watanabe, 2001). El conocimiento de los cambios en las comunidades microbianas durante la biorremediación es escaso, debido a que muchas de las bacterias ambientales no pueden todavía ser cultivadas por técnicas convencionales de

laboratorio (Iwamoto y Nasu, 2001). Investigadores han clonado genes del catabolismo de bifenil policlorados del ADN cromosómico de *Pseudomonas pseudoalcaligenes* KF707 (Furukawa y Miyazaki, 1986). Erickson y Mondello (1992), determinaron la secuencia de nucleótidos de una región que codifica para la enzima bifenil dioxigenasa de la cepa LB400 de una especie del género *Pseudomonas*, el cual es un organismo potencialmente valioso para la biorremediación. Los recientes desarrollos en técnicas de biología molecular permiten monitorear e identificar bacterias y genes catabólicos involucrados en la degradación de compuestos xenobióticos, entre dichas técnicas están PCR cuantitativa en tiempo real, PCR transcripción reversa, hibridación *southern blot* y PCR de rango largo. Éstas muestran los microorganismos relevantes catabólicamente y los genes funcionales presentes en un sistema contaminado (Marzorati et al., 2010). Técnicas de biología molecular tales como hibridación *in situ* fluorescente (FISH), con sondas de oligonucleótidos de RNA ribosomal, son ampliamente utilizadas en estudios de ecología microbiana. Otra técnica utilizada es la PCR *in situ*, en la cual se detectan y amplifican genes objetivo, dentro de células bacterianas individuales y así se investiga cómo la expresión de un gen en las células bacterianas responde a las condiciones ambientales. La electroforesis en gel DGGE o la amplificación en PCR de fragmentos de ADN ribosomal 16S, se utilizan como herramientas para determinar diferencias temporales o espaciales en poblaciones bacterianas y para monitorear cambios en la diversidad (Iwamoto y Nasu, 2001). Las técnicas de biología molecular permiten evaluar la expresión de genes involucrados en la biorremediación mediante cuantificación de niveles de mRNA, estos pueden proveer más información que los análisis de secuencias 16S, ya que debe haber una correlación positiva entre abundancia relativa de estos genes y el potencial de degradación del contaminante (Lovley, 2003). También se han aplicado técnicas de hibridación DNA-DNA, para detectar y monitorear poblaciones cruciales involucradas en remediación ambiental. En experimentos de remediación de hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH's), se han detectado genotipos catabólicos en suelos contaminados, utilizando PCR cuantitativa

competitiva (QC-PCR) (Samanta et al., 2002). En general, para sobrepasar la barrera de los organismos cultivables, el análisis genómico de bacterias adaptables a los ambientes contaminados, es decisivo para entender la diversidad genética, estructura de la población y rol ecológico en la mayoría de hábitats. Los estudios metagenómicos incluyen secuenciación masiva para capturar comunidades completas, mediante técnicas como pirosecuenciación. Posterior a la secuenciación se realizan análisis metagenómicos no selectivos o dirigidos, para asignar roles a las proteínas codificadas por los genes secuenciados (Lakshmi, 2010). La degradación microbiana de compuestos xenobióticos algunas veces incluye reacciones químicas redox, para ganar energía de la transferencia de electrones entre aceptores y donadores de electrones. También pueden capturar carbono, nitrógeno o elementos traza, para construir sus estructuras celulares (Strong y Wackett, 2005).

3. 1. Biodegradación aerobia de DDT

La estructura química del DDT, incluyendo mitades aromáticas y alicíclicas ofrece varias posibilidades de ataque bioquímico. En la figura 1 se muestra la ruta aerobia de degradación de DDT. En el paso A, el DDE es atacado por una dioxigenasa en las posiciones *orto* y *meta*. Este ataque da como resultado al intermediario 2,3-dihidrodiol-DDE. En los pasos B y D, el 2-(4'-clorofenil)-3,3-dicloropropenoato produce, vía decarboxilación, el 1,1-dicloro-(4'-clorofenil) etano, el cual sufrirá oxidación en el lado alifático de la cadena para producir 1,1-dicloro-(4'-clorofenil) etanol, que es nuevamente oxidado a 4-cloroacetofenona. El grupo metilo terminal del 1,1-dicloro-(4'-clorofenil) etano, sufrirá también oxidación para producir ácido fenilacético. En el paso C, la transformación de 4-cloroacetofenona a 4-cloronenzaldehído puede darse mediante oxidación y subsecuente decarboxilación del grupo metilo terminal. En el paso E, el producto resultante del rompimiento del anillo será degradado a un ácido clorado de 5 ó 6 carbonos, dependiendo del sitio donde ocurra el rompimiento hidrolítico (UMBBB, 2008).

3. 2. Biodegradación anaerobia de DDT

Las condiciones anaerobias optiman la descomposición de algunos pesticidas clorados o su conversión a otros compuestos en el suelo, demostrándose que la adición de residuos de alfalfa incrementa la conversión de DDT a DDD, ya que provee a los microorganismos de nutrientes como carbohidratos solubles y aminoácidos que ejercen un efecto favorable sobre la transformación (Ko y Lockwood, 1968). Las primeras etapas de la degradación de DDT ocurren en la ausencia de oxígeno atmosférico. Los estudios *in vitro* sugieren que la etapa de escisión del anillo del DDT requieren de una oxigenasa, por lo cual la completa destrucción de DDT necesita de condiciones aerobias (Pfaender y Alexander, 1972). En la figura 2 las reacciones A, D, E y F son pasos múltiples cuyos intermediarios no han sido plenamente identificados, los cuales son catalizados por la enzima dehalogenasa DDT reductiva para producir DDD. El paso E y sus sucesores degradan DDM aerobicamente. Los pasos B y C pueden ser reacciones no enzimáticas. *Synechococcus* sp. y *Klebsiella pneumoniae* subsp., son los organismos que pueden iniciar esta ruta de degradación, pero otros microorganismos también pueden llevar a cabo los pasos sucesivos posteriores.

3. 3. Biodegradación fúngica de DDT

Las poblaciones microbianas en un suelo contaminado con DDT son fuente de microorganismos resistentes a este plaguicida, siendo los del reino Fungi los que presentan mayor resistencia al compuesto, como evidencia de procesos de adaptación que sufren estos microorganismos para asimilar nuevas fuentes de carbono (Kantachote et al., 2001; Mitra et al., 2001; Purnomo et al., 2011). Se ha demostrado que el micelio de hongos ectomicorrícicos, está rodeado por limos, que ubicados alrededor de la hifa, pueden cumplir las funciones de buffer donde se capturan compuestos químicos tóxicos como el DDT. Esto permite una reducción de la toxicidad a la célula (Huang et al., 2007). Se ha verificado la habilidad del hongo ligninolítico para degradar contaminantes, debido a la producción de la enzima extracelular

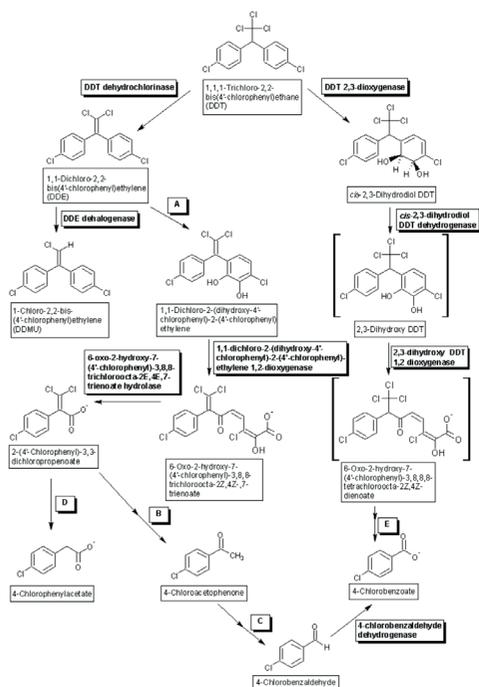


Figura 1. Ruta de degradación aerobia de DDT como sustrato. Fuente: University of Minnesota Biocatalysis/Biodegradation Database (1998). Disponible: http://umbbd.ethz.ch/ddt/ddt_image_map.html. Fecha de acceso: 15 de enero de 2012.

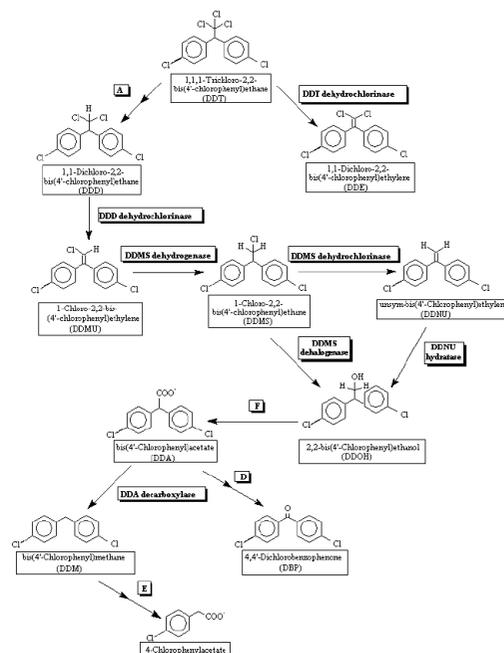


Figura 2. Ruta de degradación anaerobia de DDT como sustrato. Fuente: University of Minnesota Biocatalysis/Biodegradation Database (1998). Disponible: http://umbbd.ethz.ch/ddt/ddt_image_map.html. Fecha de acceso: 15 de enero de 2012.

lacasa. Ésta se considera involucrada en reacciones de dechloración de compuestos clorofenólicos (Juhász y Naidu, 1999).

3. 4. Enzimas involucradas en la biodegradación de DDT

En el suelo, la actividad total de una enzima comprende actividades asociadas con diferentes constituyentes, como microorganismos viables, restos celulares, arcillas y coloides húmicos. Se pueden encontrar enzimas cuya función se lleva a cabo en el citoplasma de los microorganismos que están proliferando, otras que se encuentran restringidas al espacio periplásmico de las bacterias Gram negativas, enzimas unidas a la superficie exterior de una célula viable y cuyos sitios activos se extienden en el medio ambiente, enzimas secretadas por células vivas durante el crecimiento y división, las cuales por lo general se encuentran en la fase

acuosa del suelo, enzimas asociadas a células que no proliferan, tales como esporas fúngicas, quistes de protozoarios, semillas de plantas y endosporas bacterianas (Burns, 1982). Existen también enzimas unidas a células muertas y restos celulares, otras que son liberadas de células lisadas, enzimas asociadas temporalmente en complejos, enzimas adsorbidas por minerales arcillosos, otras asociadas con coloides húmicos por adsorción, de allí que la medición de la actividad enzimática del suelo presenta el desafío en definir cuál combinación de actividades en estas múltiples categorías, aplica para un fin determinado como la degradación de DDT, considerando además que la distribución de actividades entre las diferentes categorías, cambia con el tiempo y depende de la enzima (Burns, 1982). Los efectos de DDT y metabolitos en diferentes enzimas en el suelo, encuentran inhibición en la actividad de dehidrogenasas y fosfatasa ácida

(Mitra y Raghu, 1998). Sin embargo, uno de los mecanismos por los cuales los microorganismos degradan DDT es enzimático, en estos procesos se generan radicales hidroxilo, llevando a cabo reacciones Fenton extracelularmente, cuyo tipo de reacción depende de la concentración de hierro en el medio. También se ha evaluado la degradación de DDT en sistemas de compostaje, donde durante las etapas mesofílica e inicio de la termofílica, se aumenta la tasa de degradación, presentando un óptimo de remoción de DDT a 60°C (Purnomo et al., 2010). Factores como el pH, la temperatura y otros sustratos en el medio, pueden afectar el crecimiento de los microorganismos y sus habilidades degradadoras. Bidlan y Manonmani (2002) demostraron que a medida que aumenta la temperatura, se incrementa también la tasa de degradación de DDT por *S. marcescens* bajo condiciones de pH ácidas. Se ha demostrado que la presencia de metales como arsénico puede inhibir la degradación del DDT, ya que ambos inhiben la actividad microbiana, además se sugiere que la presencia de otros metales aumenta la propiedad recalcitrante del DDT en el suelo (Edvartoro et al., 2003; Van Zwieten et al., 2003). Se ha demostrado que las células de *Pseudomonas* sp. que crecieron en un medio con bifenil, degradaron el DDT a ácido 4-clorobenzoico bajo condiciones aerobias, mediante la ruta de la doble hidroxilación del anillo catalizado por la enzima bifenil-2,3-dioxigenasa (Hayy Focht, 1998; Ninnekar y Kamanavalli, 2004). Se ha encontrado una cepa de *Sphingobacterium* sp., que tiene la habilidad de utilizar DDT como su única fuente de carbono y energía. También el pH del medio, la temperatura y la presencia de fuentes adicionales de carbono, juegan un papel crucial en la degradación de DDT (Fang et al., 2010). Las enzimas involucradas en la degradación aerobia de DDT son DDT dehidroclorinasa y DDT 2,3-dioxigenasa, para generar DDE y cis 2,3-Dihidrodiol DDT respectivamente. La enzima DDT dehidroclorinasa es la principal enzima involucrada en los procesos de degradación anaerobia para obtener DDE. El metabolito DDD se degrada principalmente por la enzima DDD dehidroclorinasa.

4. Biorremediación

Es posible comprobar el papel microbiano en las transformaciones de contaminantes, ya que el compuesto es transformado en muestras no esterilizadas, pero no en muestras esterilizadas del ambiente natural, demostrando que los microorganismos son capaces de utilizar estos compuestos químicos como nutrientes y energía (Alexander, 1981). Los suelos contienen hábitats ocupados por una diversidad de organismos, que interactúan unos con otros mediante relaciones directas, como las tróficas, mutualistas, parasíticas y predatorias, e indirectas, como la metabiosis, que es definida como una forma de dependencia ecológica, en la cual un organismo puede modificar el ambiente antes de que un segundo pueda vivir allí. También nuevos hábitats potenciales y nichos pueden crearse como resultado de la acción bacteriana, por cambios en el pH y en el potencial redox (Waid, 1999). La detoxificación de los suelos por la eliminación de sustancias tóxicas por cepas pioneras de bacterias anaerobias, permitirán la evolución de las cepas, formando hábitats nuevos (Waid, 1999). Como evidencia de estas relaciones, se ha observado en algunos estudios que los sistemas de microorganismos anaerobios son capaces de degradar contaminantes clorados como el DDT, por decloración reductiva y que los productos resultantes pueden ser degradados más rápidamente por procesos aerobios (Corona-Cruz et al., 1999). Varias cepas de bacterias del suelo, están involucradas en la degradación de compuestos orgánicos tóxicos, y algunas de ellas pueden adaptarse a degradar xenobióticos recalcitrantes. La detoxificación del suelo también permite que las plantas susceptibles a toxinas sobrevivan o crezcan (Waid, 1999).

4. 1. Biodisponibilidad

Es la facilidad de que los compuestos químicos presentes en el suelo, puedan ser absorbidos o metabolizados por receptores humanos o ecológicos o estar disponibles para la interacción con sistemas biológicos. Las características microbianas de mayor importancia en la biodisponibilidad de los contaminantes orgánicos presentes en el suelo, son

las de tipo morfológico, fisiológico y adaptaciones de comportamiento de células sencillas y poblaciones, y fenómenos asociados con la dinámica y ecología de comunidades naturales. Las adaptaciones morfológicas comprenden el tamaño y forma de las células, que les permiten desplazarse en la matriz del suelo y acceder a los microporos. Estos procesos de movilización para alcanzar un sustrato, se logran mediante el desarrollo de estructuras de elevadas dimensiones fractales, para un mejor aprovechamiento del espacio tridimensional que contiene el sustrato. Las adaptaciones fisiológicas incluyen la adquisición de sistemas de asimilación de alta afinidad para el contaminante, los cuales permiten al microorganismo llevar a cabo procesos de transferencia y desorción de un contaminante más rápido que otros. Otra característica importante es la capacidad de los microorganismos de co-utilizar los contaminantes con otros sustratos de carbón, debido a que los compuestos químicos que entran al ambiente a bajas concentraciones, no son lo suficientemente impactantes para causar la evolución de nuevas rutas catabólicas. Otra interacción de importancia es la síntesis y secreción de moléculas de superficie activas, la cual es una adaptación fisiológica a la baja bioaccesibilidad. La quimiotaxis es una adaptación del comportamiento que le permite a los microorganismos, localizar fuentes de contaminantes e incrementar su biodisponibilidad mediante el movimiento en dirección a un gradiente superior (Semple et al. 2007).

4. 2. Bioestimulación

Los compuestos químicos sujetos a la acción microbiana no generan un crecimiento sustancial de las poblaciones responsables, lo cual ha llevado a considerar el fenómeno denominado cometabolismo o co-oxidación, por tanto, probablemente las poblaciones están creciendo en otro sustrato mientras se desarrolla este tipo de transformación (Alexander, 1981). El cambio en la concentración de los metabolitos DDE y DDD durante el tratamiento, sugiere que la degradación ha seguido la ruta de dechloración reductiva, donde DDE y DDD son los principales productos de transformación de DDT por ataque microbiano

(Bidlan y Manonmani, 2002). Si DDD y DDE no se han acumulado estequiométricamente con la degradación de DDT, indica que se dio una degradación posterior de estos compuestos en el suelo. El enfoque remediador utilizado para eliminar pesticidas es el realizado por Weijs *et al.* (2013), quienes reportaron que la adición de nutrientes al suelo subsuperficial, podría incrementar el número de bacterias que degradan los hidrocarburos derivados del petróleo y así estimular la tasa de remoción, lo cual dio origen al proceso que ahora es conocido como biorremediación estimulada *in situ*. Esta estrategia incluye la adición de aceptores de electrones como oxígeno en forma de nitratos y fosfatos o fuentes de nitrógeno (Litchfield, 2005). Algunos estudios han demostrado que las fracciones degradables de pesticidas organoclorados como el DDT, están correlacionadas negativamente con el carbono orgánico del suelo, indicando que a mayor cantidad de carbono orgánico en el suelo, se da mayor persistencia del compuesto (Zhang et al., 2011). Similarmente, las fuentes de carbono adicionales pueden favorecer o no la degradación de DDT; en estudios realizados utilizando glucosa, extracto de levadura, sucrosa y fructosa, los tiempos de degradación de DDT y sus metabolitos, fueron más cortos en el tratamiento con *Sphingobacterium* sp., distinto a lo que sucedió cuando no fue usada una fuente adicional de carbono (Fang et al., 2010). Se ha demostrado que la mineralización de DDT por *Phanerochaete chrysosporium* requiere de la presencia de carbohidratos de bajo peso molecular, materiales celulósicos o lignocelulósicos útiles como sustrato de crecimiento (Fernando et al., 1989). *Serratia marcescens* presentó el mismo comportamiento en la degradación de DDT, donde la presencia de glicerol, peptona y extracto de levadura, permitieron una total transformación. Aunque en ocasiones la presencia de fuentes más favorables de carbono puede impedir la degradación de xenobióticos, debido a represión catabólica o disminución en las tasas de transcripción, ya sea por súper enrollamiento del ADN promotor o por disminución en la unión de factores de transcripción (Bidlan y Manonmani, 2002). Estudios han demostrado que la adición de nitrógeno y fósforo al suelo contaminado con

compuestos orgánicos, estimula la biodegradación de estos compuestos e incrementa la abundancia de especies microbianas (Atagana et al., 2003). La presencia de micronutrientes puede también promover la reacción de dechloración, como ha sido demostrado con la presencia de hierro con estado de oxidación cero, que actuando como agente reductor y eficiente donador de electrones puede efectivamente ayudar en la dechloración de DDT y sus metabolitos por parte de microorganismos del suelo (Yao et al., 2006). *Shewanella decolorationis* S12, fue capaz de reducir DDT a DDD bajo condiciones anaerobias, donde la tasa de transformación de DDT fue acelerada por la adición de α -FeOOH, siendo la dechloración reductiva mejorada por el Fe(II) biogénico en la superficie del α -FeOOH (Li et al., 2010).

4. 3. Adición de surfactante en el proceso de biorremediación

Para aumentar la biodisponibilidad de los pesticidas se utilizan surfactantes, los cuales tienen la habilidad de acumularse a lo largo de las interfaces líquido-líquido y reducir ambas tensiones superficiales. Los surfactantes tienen la habilidad de mejorar la transferencia de masa de contaminantes hidrofóbicos de una matriz sólida o una fase líquida no acuosa en fase acuosa, acumulando los compuestos hidrofóbicos en las micelas formadas por ellos. Las moléculas en fase micelar son degradadas ya sea por difusión en la fase acuosa, para ser luego utilizadas por las bacterias o por asimilación microbiana directa de las micelas (Li y Chen, 2009). Las desventajas en el uso de surfactantes incluyen factores tales como que el surfactante pueda ser utilizado como sustrato preferido por los microorganismos o que pueda generar toxicidad al estar presente en elevadas concentraciones (Alamri, 2009). El DDT es un líquido en fase no acuosa (NAPL). Los surfactantes pueden ser usados para desplazar los NAPLs mediante reducción de la tensión interfacial entre el NAPL y el agua, ya que estas fuerzas pueden restringir su movilidad, considerando que la solubilidad en agua es el mecanismo controlador de la remoción de contaminantes orgánicos (Mulligan et al., 2001). Luego el contaminante movilizado

puede ser degradado por los microorganismos, gracias al incremento en su biodisponibilidad (Wu et al., 2008) y su transferencia a la fase acuosa, donde los microorganismos son activos (Bardi et al., 2003). El potencial rol del surfactante consiste en incrementar la biodisponibilidad del DDT y metabolitos por solubilización de la contaminación original y dechloración del DDT biodisponible (Walters y Aitken, 2001). El parámetro más importante en términos de la habilidad de un surfactante de movilizar xenobióticos hidrofóbicos en suelo contaminado, es la concentración crítica de micela (CMC), concentraciones de surfactante en agua-suelo inferiores a CMC, tienen poco o ningún efecto en la solubilización de materiales hidrofóbicos (Haigh, 1996).

Estudios han demostrado que el aumento de carbono orgánico disuelto estimula el crecimiento bacteriano (Kantachote et al., 2003). La aplicación de surfactantes a suelos enriquecidos que degradan contaminantes insolubles en agua, alteran las poblaciones microbianas responsables de la degradación, teniendo implicaciones en el proceso de biorremediación (Watanabe, 2001). Aunque los surfactantes mejoran la solubilización de los contaminantes, el efecto inhibitorio de la adición de surfactante sobre la degradación de DDT, puede deberse a un posible efecto tóxico y baja biocompatibilidad del compuesto sobre las poblaciones de bacterias degradadoras, incluso puede ser considerado como un contaminante adicional (Bardi et al., 2003). Se ha comprobado también que en ciertos tipos de suelos, cuando el surfactante ha tenido poco efecto en el comportamiento del contaminante adsorbido a bajas o altas concentraciones, puede deberse a la mineralogía de la arcilla del suelo, ya que las cargas superficiales pueden ser altamente negativas resultando en repulsión electrostática del surfactante (Haigh, 1996). El uso de tenso activo Tween 80 en investigaciones previas, mostró la habilidad de duplicar los niveles de remoción de DDT (Baczynski y Pleissner, 2010). Algunos estudios reportados por Baczynski & Pleissner (2010) comprobaron que las dosis de surfactante, superiores a la concentración crítica de micela

son inhibitorias para la biorremediación de suelo contaminado con compuestos hidrofóbicos.

4. 4. Atenuación natural monitoreada

La atenuación natural es la habilidad natural del suelo de degradar el contaminante (Bento et al., 2005). La atenuación natural monitoreada, asociada a la biorremediación intrínseca, es una opción que tiene amplia aceptación debido a que es una alternativa de remediación de bajo costo, ya que solo implica los costos de monitoreo y depende de procesos naturales, para alcanzar objetivos de descontaminación de un sitio, dentro de un tiempo razonable. La biodegradación es el mecanismo primario para la destrucción de contaminantes, posteriormente los procesos físicos y químicos tales como dispersión, dilución, adsorción, volatilización y transformaciones abióticas, son también importantes (Margesin y Schinner, 2001). En la actualidad existe aún controversia respecto a la degradación natural de contaminantes orgánicos persistentes como el DDT, debido a sus co-productos tóxicos de degradación. Aunque investigaciones recientes demuestran que el DDE, que es un coproducto tóxico de degradación, se puede degradar también naturalmente, lo cual es importante considerando que el producto principal y sus co-productos no serán persistentes permanentemente, y es posible que los procesos naturales puedan ser significativos reduciendo el riesgo asociado a estos suelos y sedimentos contaminados (Renner, 2001). Los factores que limitan la degradación de un contaminante por atenuación natural, incluyen la baja biodisponibilidad de los contaminantes, toxicidad de sus metabolitos, falta de uno o más nutrientes traza y ausencia de microorganismos con el potencial biocatalítico apropiado en el ambiente a ser tratado (Strong y Wackett, 2005). Los procesos de transformación químicos considerados dentro de los mecanismos de atenuación natural pueden ser: hidrólisis, disminución de la radiactividad, reacciones redox, inmovilización y procesos de cambio de fase y la adsorción (Alvarez y Illman, 2006).

4.5. Evaluación de toxicidad utilizando *Vibrio fischeri* como organismo indicador

Monitorear la toxicidad del suelo durante la biorremediación es una parte importante del proceso, ya que la cuantificación del contaminante está limitada a indicar la concentración de este compuesto en el ambiente, pero no proporciona información respecto a sus efectos biológicos. Es necesario utilizar un método rápido y sensible que indique información sobre la toxicidad del suelo en el ambiente. El ensayo de inhibición de la bioluminiscencia está basado en una bacteria marina Gram negativa, *V. fischeri*. La producción de la luz está directamente relacionada con la actividad metabólica de la población bacteriana y cualquier inhibición de la actividad enzimática, causa una disminución correspondiente en la bioluminiscencia (AENOR, 2009). El mecanismo bioquímico de luminiscencia en *V. fischeri*, tiene como rol principal el flavin mononucleótido reducido (FMNH₂). FMN se reduce a FMNH₂ después de la reacción con la forma reducida del fosfato dinucleótido nicotinamida adenina (NAD(P)H), en presencia de la enzima flavin reductasa $\text{NAD(P)H} + \text{H} + \text{FMN} \rightarrow \text{NAD(P)} + \text{FMNH}_2$. FMNH₂ se oxida a FMN y H₂O, después de la reacción con oxígeno molecular en presencia de aldehído y luciferasa. En esta reacción se emite luz azul-verde con una longitud de onda de 490 nm (Parvez et al., 2006). Investigadores han comprobado que el uso de pruebas de toxicidad es altamente recomendado para visualizar el efecto de contaminantes orgánicos, como los pesticidas organoclorados, acompañados de pruebas químicas para la caracterización y cuantificación de los contaminantes. Se ha demostrado además que la contaminación de una matriz con pesticidas organoclorados, puede alcanzar una inhibición de la bioluminiscencia de *V. fischeri* superior al 90% (Farré et al., 2002). También se ha determinado la toxicidad de sustancias orgánicas como 2,4-dinitrofenol, 4-fenilazofenol, pentaclorofenol utilizando *V. fischeri* como organismo indicador, con el objetivo de estimar valores de la concentración efectiva máxima EC50 (Altenburger et al., 2000). El ensayo de bioluminiscencia con *V. fischeri* con un tiempo de incubación de 15 minutos puede determinar la toxicidad de sustancias puras,

efluentes, agua residual y sedimentos (Froehner et al., 2000). La bioluminiscencia producida por esta bacteria es la base para muchos bioensayos de toxicidad en agua contaminada, sedimento y suelo, en estas pruebas los efectos tóxicos de los químicos pueden incluir interacciones con los receptores de la membrana superficial, disrupción de la función de la membrana, reacciones químicas con componentes celulares o inhibición/competencia con sistemas enzimáticos. Pruebas comparativas de ensayos con bacteria luminiscente y otras pruebas comerciales como ToxAlert 10 °, Microtox ° y LUMISTox ° han demostrado su buen desempeño, obteniendo poca diferencia entre estos resultados (Jennings et al., 2001).

5. Conclusión

Una consecuencia del prolongado uso de DDT durante muchos años en Colombia fue la contaminación de los suelos y el ambiente. Los residuos de este compuesto químico aún persisten en el suelo, convirtiéndose en una amenaza a la salud humana y animal. Para eliminar éste contaminante y sus productos de degradación del suelo, en el presente trabajo se discutió sobre habilidad degradativa de bacterias, estrategias de adición de nutrientes y surfactante, lo que permite aumentar la biodisponibilidad del contaminante. Estudios han demostrado que la adición de nitrógeno y fósforo al suelo contaminado con compuestos orgánicos, estimula la biodegradación de estos compuestos e incrementa la abundancia de especies microbianas. La cantidad de nitrógeno y fósforo requerido para la biodegradación, debe reflejar la cantidad que debe ser incorporada en la biomasa que es formada a medida que los microorganismos utilizan la fuente de carbono contaminante para crecimiento. Los pesticidas pueden ser degradados por procesos bióticos y abióticos, por tanto es necesario evaluar la toxicidad de los productos de transformación y compuestos originales, ya que generalmente estos productos de transformación pueden ser más tóxicos que el compuesto original para peces, dáfnidos y algas, a causa de un modo de acción superior o una mayor acumulación del producto, en relación con el compuesto original.

Se ha comprobado en numerosos estudios la habilidad de bacterias nativas o aisladas de otras fuentes, para degradar DDT en suelo mediante protocolos de bioestimulo, adición de surfactantes e incluso mediante procesos de atenuación natural. Es importante considerar en este tipo de estudios, la presencia de metabolitos tóxicos o móviles del DDT presentes en el suelo, posterior a la aplicación. En los últimos diez años se ha aumentado el número de investigaciones realizadas sobre biorremediación de suelos y sedimentos contaminados con DDT, desde la perspectiva de ciencias ambientales, sobre estimulación de microorganismos nativos con co-sustratos, sistemas de oxidación, microextracción en fase sólida para aumentar la biodisponibilidad y aplicación de enzimas ligninolíticas de hongos. Las perspectivas futuras sobre estudios de degradación de DDT, deben enfocarse en mineralización de este contaminante, lo cual es importante en biorremediación ya que indica que el proceso de degradación del contaminado, ha producido un compuesto no tóxico (CO₂), y ha sido completa. Debe realizarse entonces más investigación *in situ* y *ex situ* para promover la biorremediación como una opción viable de tratamiento.

Agradecimientos

Los autores agradecen al grupo GDCON de la Universidad de Antioquia, quienes han permitido completamente el desarrollo de esta investigación. Al Laboratorio de Hidráulica de la Facultad de Minas de la Universidad Nacional de Colombia - Sede Medellín.

Referencias

- Accinelli, C., C. Screpanti, A. Vicari y P. Catizone. 2004. Influence of insecticidal toxins from *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* on the degradation of glyphosate and glufosinate-ammonium in soil samples. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 103(3): 497-507. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167880903004080>. Fecha de acceso: 2 de agosto de 2012.
- AENOR - Asociación Española de Normalización y Certificación. 2009. Calidad del agua. Determinación del efecto inhibitor de muestras de agua sobre la luminiscencia de *Vibrio fischeri* (Ensayo de

- bacterias luminiscentes). Parte I: Método utilizando bacterias de preparación reciente. (ISO 11348-1:2007). Disponible en: [http://www.aenor.es/DOCUMENTOS/NORMALIZACION/NORMAS NACIONALES/EXTRAC TOS/\(EX\)UNE-EN_ISO_11348-1=2009.pdf](http://www.aenor.es/DOCUMENTOS/NORMALIZACION/NORMAS NACIONALES/EXTRAC TOS/(EX)UNE-EN_ISO_11348-1=2009.pdf). Diciembre 15 de 2012.
- Alamri, S. 2009. Use of microbiological and chemical methods for assessment of enhanced hydrocarbon bioremediation. *Journal of Biological Sciences* 9 (1): 37-43.
- Alexander, M. 1981. Biodegradation of chemicals of environmental concern. *Science* (New York, N. Y.) 211 (4478): 132-138. Resumen disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7444456>.
- Altenburger, R., T. Backhaus, W. Boedeker, M. Faust, M. Scholze y L. Horst Grimme. 2000. Predictability of the toxicity of multiple chemical mixtures to *Vibrio fischeri*: mixtures composed of similarly acting chemicals. *Environmental Toxicology and Chemistry* 19 (9): 2341-2347.
- Alvarez, P. y W. Illman. 2006. Bioremediation and natural attenuation: Process Fundamentals and Mathematical Models. John Wiley & Sons, Inc. New Jersey - United States of America. 609 pp.
- Arbeli, Z. 2009. Biodegradación de compuestos orgánicos persistentes (COP): I. El caso de los bifenilos policlorados (PCB). *Acta Biológica Colombiana* 14 (1): 55-86.
- Atagana, H., R. Haynes y F. Wallis. 2003. Optimization of soil physical and chemical conditions for the bioremediation of creosote-contaminated soil. *Biodegradation* 14 (4): 297-307.
- Baczynski, T. y D. Pleissner. 2010. Bioremediation of chlorinated pesticide-contaminated soil using anaerobic sludges and surfactant addition. *Journal of environmental science and health. Part. B, Pesticides, food contaminants, and agricultural wastes* 45 (1): 82-88. Resumen disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20390935>. Fecha de acceso: 23 de mayo de 2012.
- Bardi, L., R. Ricci y M. Marzona. 2003. In situ bioremediation of a hydrocarbon polluted site with cyclodextrin as a coadjuvant to increase bioavailability. *Water, Air and Soil Pollution* 3: 15-23.
- Bear, M., B. Connors y M. Paradiso. 2007. Neuroscience: exploring the brain. 3ra. edición. L. W. & Wilkins, ed. United States of America. 857 pp.
- Beard, J. 2006. DDT and human health. *The Science of the total environment* 355(1-3): pp. 78-89. Resumen disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15894351>. Fecha de acceso: 17 de marzo de 2012.
- Bento, F., F. Camargo, B. Okeke y W. Frankenberger. 2005. Comparative bioremediation of soils contaminated with diesel oil by natural attenuation, biostimulation and bioaugmentation. *Bioresource technology* 96 (9): 1049-1055.
- Bidlan, R. y H. Manonmani. 2002. Aerobic degradation of dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) by *Serratia marcescens* DT-1P. *Process Biochemistry* 38 (1): 49-56. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0032959202000663>.
- Binelli, A. y A. Provini. 2003. DDT is still a problem in developed countries: the heavy pollution of Lake Maggiore. *Chemosphere* 52 (4): 717-723. Resumen disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12738285>. Fecha de acceso: 20 de mayo de 2012.
- Burns, R. 1982. Enzyme activity in soil: Location and a possible role in microbial ecology. *Soil Biology and Biochemistry* 14(5): 423-427.
- Corona, A., Gold, G., Gutierrez, M., Monroy, O. & Favela, E., 1999. Anaerobic-aerobic biodegradation of DDT (dichlorodiphenyl trichloroethane) in soils. *Bulletin of environmental contamination and toxicology* 63 (2): 219-225. Resumen disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10441639>.
- Di Toro, S., G. Zanolini y F. Fava. 2006. Intensification of the aerobic bioremediation of an actual site soil historically contaminated by polychlorinated biphenyls (PCBs) through bioaugmentation with a non acclimated, complex source of microorganisms. *Microbial cell factories* 5 (11). 1-10. Resumen disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1456983/?tool=pmcentrez&report=abstract>
- Edvartoro, B., R. Naidub, M. Megharajb e I. Singleton. 2003. Changes in microbial properties associated with long-term arsenic and DDT contaminated soils at disused cattle dip sites. *Ecotoxicology and environmental safety* 55 (3): 344-351. Resumen disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12798769>.
- Erickson, B. y F. Mondello. 1992. Nucleotide sequencing and transcriptional mapping of the genes encoding biphenyl dioxygenase, a multicomponent polychlorinated-biphenyl-degrading enzyme in *Pseudomonas* strain LB400. *Journal of bacteriology* 174 (9): 2903-2912.
- Fang, H., B. Dong, H. Yan, F. Tang y Y. Yulong. 2010. Characterization of a bacterial strain capable of degrading DDT congeners and its use in bioremediation of contaminated soil. *Journal of hazardous materials* 184 (1-3): 281-289. Resumen disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20828928>. Fecha de acceso: 13 de noviembre de 2011.

- Farré, M., C. Gonçalves, S. Lacorte y D. Barceló. 2002. Pesticide toxicity assessment using an electrochemical biosensor with *Pseudomonas putida* and a bioluminescence inhibition assay with *Vibrio fischeri*. *Analytical and bioanalytical chemistry* 373 (8): 696-703. Resumen disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12194026>. Fecha de acceso: 30 de septiembre de 2012.
- Fernando, T., S. Aust y J. Bumpus. 1989. Effects of culture parameters on DDT biodegradation by *Phanerochaete chrysosporium*. *Chemosphere* 19 (8-9): 1387-1398.
- Finley, S., L. Broadbelt y V. Hatzimanikatis. 2010. In silico feasibility of novel biodegradation pathways for 1,2,4-trichlorobenzene. *BMC systems biology* 4 (7): 1-14. Resumen disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2830930/?tool=pmcentrez&report=abstract>
- Flores-Luévano, S., P. Fariás, M. Hernández, P. Romano-Riquer, J. Webber, E. Dewailly, J. Cuevas-Alpuche e I. Romieu. 2003. Concentraciones de DDT / DDE y riesgo de hipospadias. Un estudio piloto de casos y controles. *Salud Pública de México* 45 (6): 431-438.
- Franco, S. 1985. La apoteosis del DDT y el problema de la erradicación del paludismo en América Latina. *Revista Nueva Antropología* 7 (28): 129-152.
- Froehner, K., Backhaus, T. & Grimme, L. 2000. Bioassays with *Vibrio fischeri* for the assessment of delayed toxicity. *Chemosphere* 40 (8): 821-828. Resumen disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10718573>.
- Furukawa, K. y T. Miyazaki. 1986. Cloning of a gene cluster encoding biphenyl and chlorobiphenyl degradation in *Pseudomonas pseudoalcaligenes*. *Journal of bacteriology* 166 (2): 392-398. Disponible en: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=214617&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Ganey, P. y S. Boyd. 2004. An Approach to evaluation of the effect of bioremediation on biological activity of environmental contaminants: dechlorination of polychlorinated biphenyls. *Environmental Health Perspectives* 113 (2): 180-185. Disponible en: <http://www.ehponline.org/ambra-doi-resolver/10.1289/ehp.6935>. Fecha de acceso: 28 de abril de 2012.
- Haigh, S. 1996. A review of the interaction of surfactants with organic contaminants in soil. *Science of The Total Environment* 185 (1-3): 161-170. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0048969795050493>.
- Hatfaludi, T., M. Liska, D. Zellinger, J. Ousman, M. Szostak, A. Ambrus, K. Jalava y W. Lubitz. 2004. Bacterial ghost technology for pesticide delivery. *Journal of agricultural and food chemistry* 52 (18): 5627-34. Resumen disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15373403>.
- Hay, A. y D. Focht. 1998. Cometabolism of 1,1-Dichloro-2,2-Bis(4-Chlorophenyl)Ethylene by *Pseudomonas acidovorans* M3GY Grown on Biphenyl. *Applied and Environmental Microbiology* 64 (6): 2141-2146.
- Huang, Y., X. Zhao y S. Luan. 2007. Uptake and biodegradation of DDT by 4 ectomycorrhizal fungi. *The Science of the total environment* 385 (1-3): 235-241. Resumen disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17707073>. Fecha de acceso: 13 de noviembre de 2011.
- Iwamoto, T. y M. Nasu. 2001. Current bioremediation practice and perspective. *Journal of bioscience and bioengineering* 92 (1): 1-8. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16233049>.
- Jennings, V., M. Rayner-Brandes y D. Bird. 2001. Assessing chemical toxicity with the bioluminescent photobacterium (*Vibrio fischeri*): a comparison of three commercial systems. *Water research* 35 (14): 3448-56. Resumen disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11547867>.
- Juhász, A. y R. Naidu. 1999. Apparent degradation of 1,1,1-trichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethane (DDT) by a *Cladosporium* sp. *Biotechnology Letters* 21: pp. 991-995.
- Kantachote, D., R. Naidub, I. Singletona, N. McClurec y B. Harch. 2001. Resistance of microbial populations in DDT-contaminated and uncontaminated soils. *Applied Soil Ecology* 16: 85-90.
- Kantachote, D., I. Singleton, R. Naidu, N. McClure y M. Megharaj. 2003. Sodium application enhances DDT transformation in a long-term contaminated soil. *Water, Air and Soil Pollution* 154: 115-125.
- Ko, W. y J. Lockwood. 1968. Accumulation and concentration of chlorinated hydrocarbon pesticides by microorganisms in soil. *Canadian journal of microbiology* 14 (10): 1075-1078.
- Kuhn, T., K. Hamonts, J. Dijk, H. Kalka, W. Stichler, D. Springael, D. Winnie y R. Meckenstock. 2009. Assessment of the intrinsic bioremediation capacity of an eutrophic river sediment polluted by discharging chlorinated aliphatic hydrocarbons: a compound-specific isotope approach. *Environmental science & technology* 43 (14): 5263-5269. Resumen disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19708351>.
- Kylin, H. y A. Sjödin. 2003. Accumulation of airborne hexachlorocyclohexanes and DDT in pine needles. *Environmental science & technology* 37 (11): 2350-2355. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12831016>.

- Lakshmi, V. 2010. Genomics approach to bioremediation. Pp: 39. *En*: Fulekar, M. (Ed.). *Bioremediation Technology: Recent Advances*. Capital Publishing Company. India.
- Lal, R. y D. Saxena. 1982. Accumulation, metabolism, and effects of organochlorine insecticides on microorganisms. *Microbiological reviews* 46 (1): 95-127. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC373213/?tool=pmcentrez&report=abstract>
- Lawrence, K., Y. Feng, G. Lawrence, C. Burmester y S. Norwood. 2005. Accelerated degradation of aldicarb and its metabolites in cotton field soils. *Journal of nematology* 37 (2): 190-197. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2620956/?tool=pmcentrez&report=abstract>
- Li, F., X. Li, S. Zhoua, L. Zhuanga, F. Caoa, D. Huang, W. Xua, T. Liua y C. Feng. 2010. Enhanced reductive dechlorination of DDT in an anaerobic system of dissimilatory iron-reducing bacteria and iron oxide. *Environmental pollution* 158 (5): 1733-1740. Resumen disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20031285>. Fecha de acceso: 21 de octubre de 2011.
- Li, J. y B. Chen. 2009. Surfactant-mediated biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Materials* 2 (1): 76-94.
- Litchfield, C. 2005. Thirty years and counting: bioremediation in its prime? *Bioscience* 55 (3): 273-279.
- Lovley, D. 2003. Cleaning up with genomics: applying molecular biology to bioremediation. *Nature reviews. Microbiology* 1 (1): 35-44. Resumen disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15040178>. Fecha de acceso: 16 de julio de 2012.
- Lundmark, C. 2002. Breakthroughs in Bioremediation. *Bioscience* 52 (12): 1156.
- Margesin, R. y F. Schinner. 2001. Bioremediation (Natural attenuation and biostimulation) of Diesel-Oil-Contaminated Soil in an Alpine Glacier Skiing Area. *Applied and Environmental Microbiology* 67 (7): 3127-3133.
- Marzorati, M., A. Balloi y D. Francesca De Ferra. 2010. Identification of molecular markers to follow up the bioremediation of sites contaminated with chlorinated compounds. Pp: 16. *En*: Streit, W. y R. Daniel (Eds.). *Metagenomics: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology*. Springer Science + Business Media.
- MAVDT - Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial 2007. Consolidación del inventario de plaguicidas (COP). Colombia. 36 pp. Disponible en: http://siscope.ine.gov.mx/descargas/pnis/colombia_plaguicidas_cop.pdf.
- Mitra, J., P. Mukherjee, S. Kale y N. Murthy. 2001. Bioremediation of DDT in soil by genetically improved strains of soil fungus *Fusarium solani*. *Biodegradation* 12 (4): 235-245. Resumen disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11826906>.
- Mitra, J. y K. Raghu. 1998. Long-term DDT pollution in tropical soils: effect of DDT and degradation products on soil microbial activities leading to soil fertility. *Bulletin of environmental contamination and toxicology* 60 (4): 585-591. Resumen disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9557196>.
- Mulligan, C., R. Yong y B. Gibbs. 2001. Surfactant-enhanced remediation of contaminated soil: a review. *Engineering Geology* 60 (1-4): 371-380. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0013795200001174>.
- Nakamaru, M., Y. Iwasa y J. Nakanishi. 2003. Extinction risk to bird populations caused by DDT exposure. *Chemosphere* 53 (4): 377-387. Resumen disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12946395>. Fecha de acceso: 21 de abril de 2012.
- Ninnekar, H. y C. Kamanavalli. 2004. Biodegradation of DDT by a Pseudomonas Species. *Current Microbiology* 48 (1): 10-13. Disponible en: <http://www.springerlink.com/openurl.asp?genre=article&id=doi:10.1007/s00284-003-4053-1>. Fecha de acceso: 13 de noviembre de 2011.
- Parvez, S., C. Venkataraman y S. Mukherji. 2006. A review on advantages of implementing luminescence inhibition test (*Vibrio fischeri*) for acute toxicity prediction of chemicals. *Environment international* 32 (2): 265-268. Resumen disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16188318>.
- Perelo, L. 2010. Review: In situ and bioremediation of organic pollutants in aquatic sediments. *Journal of hazardous materials* 177 (1-3): 81-89. Resumen disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20138425>. Fecha de acceso: 29 de febrero de 2012.
- Pérez-Pantoja, D., R. De la Iglesia, D. Pieper y B. González. 2008. Metabolic reconstruction of aromatic compounds degradation from the genome of the amazing pollutant-degrading bacterium *Cupriavidus necator* JMP134. *FEMS Microbiology Reviews* 32 (5): 736-794. Resumen disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18691224>. Fecha de acceso: 31 de julio de 2012.
- Pfaender, F. y M. Alexander. 1972. Extensive microbial degradation of DDT in vitro and DDT metabolism by natural communities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 20 (4): 842-846.
- Pfaender, F. K. y M. Alexander. 1973. Effect of nutrient additions on the apparent cometabolism of DDT. *Journal of agricultural and food chemistry* 21 (3): 397-

399. Resumen disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4708801>.
- Purnomo, A., F. Koyamaa, T. Moria y R. Kondo. 2010. DDT degradation potential of cattle manure compost. *Chemosphere* 80 (6): 619-624. Resumen disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20494402>. Fecha de acceso: 15 de agosto de 2011.
- Purnomo, A. S., T. Moria, K. Takagic y R. Kondo. 2011. Bioremediation of DDT contaminated soil using brown-rot fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation* 65 (5): 691-695. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0964830511000680>. Fecha de acceso: 13 de julio de 2011.
- Renner, R. 2001. "Natural" Remediation of DDT, PCBs Debated. *Environmental Science & Technology* 32 (15): 1-9.
- Samanta, S., O. Singh y R. Jain. 2002. Polycyclic aromatic hydrocarbons: environmental pollution and bioremediation. *Trends in biotechnology* 20 (6): 243-248. Resumen disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12007492>.
- Semeena, V., J. Feichter y G. Lammel. 2006. Impact of the regional climate and substance properties on the fate and atmospheric long-range transport of persistent organic pollutants – examples of DDT and γ -HCH. Vol. 6: 1231-1248.
- Semple, K., K. Doicka, L. Wickb y H. Harmsb. 2007. Microbial interactions with organic contaminants in soil: definitions, processes and measurement. *Environmental pollution* 150 (1): 166-176. Resumen disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17881105>. Fecha de acceso: 17 de julio de 2011.
- U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES. Public Health Service. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (2002). Toxicological profile for DDT, DDE and DDD. Atlanta, Georgia. Disponible en: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp35.pdf>. Fecha de acceso: 29 de septiembre de 2012.
- Singh, S., S. Hyun Kang, A. Mulchandani y W. Chen. 2008. Bioremediation: environmental clean-up through pathway engineering. *Current opinion in biotechnology* 19 (5): 437-444. Resumen disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18760355>. Fecha de acceso: 5 de abril de 2012.
- Sonkong, K., P. Prasertsan y V. Sobhon. 2008. Screening and identification of p,p' - DDT degrading soil isolates. *Songklanakarinn Journal of Science and Technology* 30 (April): 103-110.
- Strong, L. y L. Wackett. 2005. Engineering of bioremediation processes: A critical review. Pp: 379-396. En: Fingerman, M. y R. Nagabhusanam (Eds.). Bioremediation of aquatic and terrestrial ecosystem. Science Publishers, Inc. New Orleans.
- UMBBD-University of Minnesota Biocatalysis/Biodegradation Database, 1998. DDT Pathway Map. Fecha de acceso: 20 de enero de 2013.
- Voutchkova, A., T. Osimitz y P. Anastas. 2010. Toward a Comprehensive Molecular Design Framework for Reduced Hazard. *Chemical Reviews* 110 (10): 5845-5882.
- Waid, J., 1999. Does soil biodiversity depend upon metabolic activity and influences? *Applied Soil Ecology* 13 (2): 151-158.
- Walker, K., M. Ricciardone y J. Jensen. 2003. Developing an international consensus on DDT: a balance of environmental protection and disease control. *International journal of hygiene and environmental health* 206 (4-5): 423-435. Resumen disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12971698>.
- Walters, G. y M. Aitken. 2001. Surfactant-Enhanced anaerobic solubilization biodegradation of 1,1,1-Trichloro-2,2-Bis(p-Chlorophenyl)-Ethane (DDT) in contaminated soil. *Water Environment Research* 73 (1): 15-23.
- Watanabe, K. 2001. Microorganisms relevant to bioremediation. *Current opinion in biotechnology* 12: 237-241.
- Weijs, L., R. Yang, K. Das, A. Covaci y R. Blust. 2013. Application of Bayesian population PBPK modeling and Markov chain Monte Carlo simulations to pesticide kinetics studies in protected marine mammals: DDT, DDE, DDD in harbour porpoises. Disponible en: <http://orbi.ulg.ac.be/bitstream/2268/149301/2/2013%20Weijs%20EST%20supp%20mat.pdf>.
- Welp, G. y G. Brümmer. 1999. Effects of organic pollutants on soil microbial activity: the influence of sorption, solubility, and speciation. *Ecotoxicology and environmental safety* 43 (1): 83-90. Resumen disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10330325>.
- Wu, N., S. Zhanga, H. Huang, X. Shana, P. Christieb y Y. Wang. 2008. DDT uptake by arbuscular mycorrhizal alfalfa and depletion in soil as influenced by soil application of a non-ionic surfactant. *Environmental pollution* 151 (3): 569-575. Resumen disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17560700>. Fecha de acceso: 19 de marzo de 2012.
- Yao, F., X. Jiang, G. Yu, F. Wang y Y. Bian. 2006. Evaluation of accelerated dechlorination of p,p'-DDT in acidic paddy soil. *Chemosphere* 64: 628-633.
- Zhang, N., Y. Yanga y S. TAO. 2011 Sequestration of organochlorine pesticides in soils of distinct organic carbon content. *Environmental pollution* 159 (3): 700-705. Resumen disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17560700>.

nih.gov/pubmed/21216056. Fecha de acceso: 13 de noviembre de 2011.

Van Zwieten, L., M. Ayres y S. Morris. 2003. Influence of arsenic co-contamination on DDT breakdown and microbial activity. *Environmental Pollution* 124 (2): 331-339. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0269749102004633>. Fecha de acceso: 13 de noviembre de 2011.

Bibiana Betancur-Corredor

MSc. Universidad de Antioquia
Grupo Diagnóstico y Control de la Contaminación (GDCON) - Sede de Investigación Universitaria
Medellín, Colombia.

Escuela de Geociencias y Medio Ambiente, Facultad de Minas - Universidad Nacional de Colombia
Medellín, Colombia.

bibi2130@gmail.com

Nancy Pino

MSc. Universidad de Antioquia
Grupo Diagnóstico y Control de la Contaminación (GDCON) - Sede de Investigación Universitaria
Medellín, Colombia

nancyjohanna@gmail.com

Gustavo A. Peñuela

PhD. Universidad de Antioquia
Grupo Diagnóstico y Control de la Contaminación (GDCON) - Sede de Investigación Universitaria
Medellín, Colombia

gustavo.penuela413@gmail.com

Santiago Cardona-Gallo

PhD. Escuela de Geociencias y Medio Ambiente
Facultad de Minas, Universidad Nacional de Colombia
Medellín, Colombia

scardona@unal.edu.co

Citación:

Betancur-Corredor, B., N. Pino, G. A. Peñuela, S. Cardona-Gallo. 2013. Biorremediación de suelo contaminado con pesticidas: caso DDT. *Revista Gestión y Ambiente* 16 (3): 119-135

Recibido para evaluación: 14-IX-2012

Aceptación: 16-VII-2013

Recibido versión final: 30-IX-2013