

## PATENT HIGHLIGHTS: USO DE BACTERIAS PARA LA DEGRADACIÓN DE LA ATRAZINA

Azucena Monge-López<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Coordinación de Transferencia de Tecnología, Centro Universitario de Vinculación y Transferencia de Tecnología, Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México.

\*Autor correspondiente

Email: [blanca.monge@correo.buap.mx](mailto:blanca.monge@correo.buap.mx)

### DEGRADACIÓN DE LA ATRAZINA A TRAVÉS DEL USO DE CEPAS BACTERIANAS *PSEUDOMONAS SP.*

Solicitud de patente, China CN107287134; *Método de preparación y aplicación de Pseudomonas y su preparación enzimática bifuncional* (Inventores: Ji Lei, Wang Jianing, Zhang Qiang, Chen Guanhong, Wang Leilei, Fu Xiaowen, Song Fanyong, Li Tianyuan; Solicitante: Instituto de Ecología, Academia de Ciencias de Shandong; Publicado: Octubre 24, 2017).

Los contaminantes orgánicos persistentes (COP) son contaminantes semivolátiles de larga distancia, bioacumulativos y altamente tóxicos para el medio ambiente. Se distribuyen ampliamente y causan un gran daño al cuerpo humano. La atrazina, ha sido nominada por la comunidad académica como una nueva sustancia de COP. La presente invención aborda el problema de la degradación de atrazina proporcionando un método de preparación y aplicación de *Pseudomonas sp.*, capaz de degradar bifenilos policlorados y atrazina del suelo contaminado.

El Instituto de Ecología de la Academia de Ciencias de Shandong fue creado en mayo de 2015, y esta dedicado principalmente a la investigación científica en el área del medioambiente ecológico.

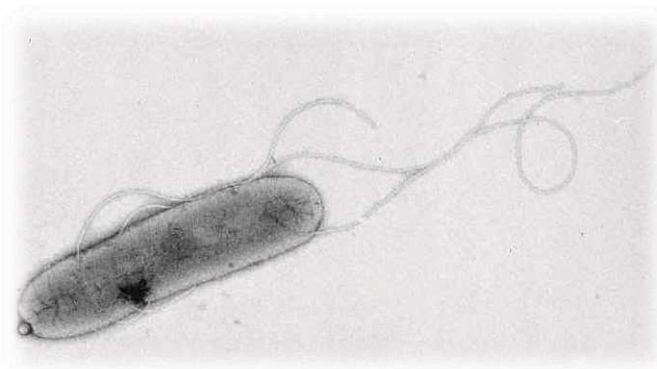


Imagen: Biomed

La fecha de presentación de la solicitud de patente data del 28 de julio de 2017. La parte de interés de la presente invención es la obtención de la cepa ECO-1 mediante los siguientes pasos: 1) sembrar la bacteria *Pseudomonas sp* en medio sólido LB e incubarla a 28-37°C durante 1-2 días para obtener la cepa activada; 2) inocular la cepa, así obtenida, en medio líquido LB a una temperatura de 28-37°C y en agitación constante a una velocidad de rotación de 100-200 rpm durante 2 días; 3) inocular la cepa, así obtenida, en un medio conteniendo sal inorgánica (1 a 10%, volumen-volumen) y a temperatura de 28 -37 °C y velocidad de rotación de 100-200 rpm; y expandir durante 3 a 5 días; y 4) centrifugar la solución, así obtenida, a 3.000-10.000 rpm durante 2-10 minutos. Las células bacterianas se recogen y suspenden en 10-30 volúmenes de

amortiguador de fosfatos a pH 6,0-8,0 y se les da un tratamiento ultrasónico. Una vez desintegradas, se someten a centrifugación durante 2-5 minutos a 4-25 °C y 3000-8,000 rpm, y se recolecta el sobrenadante y el cual contiene a la fase enzimática bifuncional.

Los resultados mostraron que la enzima bifuncional preparada a partir de la cepa *Pseudomonas ECO-1* puede degradar de manera eficiente bifenilos policlorados y atrazina, y tiene una alta actividad de degradación, especialmente para bifenilos policlorados altamente clorados que son difíciles de degradar en condiciones aeróbicas.

### DEGRADACIÓN DE LA ATRAZINA A TRAVÉS DEL USO DE UNA FORMULACIÓN DE CEPAS BACTERIAS DE *BURKHOLDERIA* Y *CLADOSPORIUM SP.*

Solicitud de patente, China CN105802874; *Bacterias mixtas para degradar eficazmente la atrazina y el método de cultivo fermental.* (Inventores: Huang Daogen, Zhang Juan, Yang Chunyu, Gao Chao; Solicitante: Instituto de Investigación de Fertilizantes Shandong Lu Hong; Publicado: Julio 27, 2016).

En la actualidad, el uso generalizado de la atrazina a largo plazo ha causado una grave contaminación al medio ambiente. El objeto de la presente invención es proporcionar una cepa mixta de *Burkholderia* y *Cladosporium sp* capaz de degradar eficazmente la atrazina.



Imagen: thunderhouse4-yuri.blogspot

El Instituto de Investigación de Fertilizantes Shandong Lu Hong, fue establecido por el Departamento de Ciencia y Tecnología de Shandong y el Departamento de Asuntos Civiles, dedicada al diagnóstico en nutrición de cultivos, microbiología y a la investigación de fertilizantes solubles en agua.

La fecha de presentación de la solicitud de patente data del 3 de noviembre del 2015. La invención se refiere a la utilización de 2 cepas bacterianas *Burkholderia* y *Cladosporium sp* para degradar eficazmente la atrazina, proporcionando una formulación y un método de cultivo de fermentación mediante los siguientes pasos: las bacterias *Burkholderia* y *Cladosporium* fueron aisladas del lodo de pesticidas, purificadas e inoculadas en un medio de cultivo inclinado, almacenadas a 4°C, en un medio de conservación LB: levadura en polvo 5 g, peptona 10 g, cloruro sódico 5 g, agar 20 g, agua destilada 1 L, pH 7.0-7.5; las cepas en pendiente sólida se inocularon cada una en un medio de siembra líquido a 30°C a una agitación constante a velocidad de 180 r/min durante 18 horas; a una inoculación del 10%, en un medio de fermentación: 6.72 g de sacarosa, 6.75 g de glucosa, 6.34 g de harina de soja, 0.6 g de hidrogenofosfato dipotásico, 2.5 g de

dihidrogenofosfato de potasio, 0.3 g de sulfato de magnesio heptahidratado, 0.4 g de cloruro de sodio, levadura en polvo 3g, agua destilada 1L, pH 7.0-7.5, a 30°C en agitación constante a velocidad de rotación de 180 r / min y, se cultiva durante 24 horas para obtener un caldo de fermentación.

La formulación del medio de siembra líquido es: glucosa 5 g, levadura en polvo 5 g, peptona 10 g, cloruro de sodio 5 g, agua destilada 1L, pH 7.0-7.5.

La formulación fue sometida a pruebas de campo en suelos con atrazina, mostrando que ésta puede adaptarse al ambiente del suelo, degradar la atrazina y desempeñar un papel reparador.

### **DEGRADACIÓN DE LA ATRAZINA POR LA CEPA BACTERIANA *ARTHROBACTER UREAFACIENS LIULOU 1* A TRAVÉS DE LA INOCULACIÓN DE SEMILLAS.**

Solicitud de patente, US2016205939: *Bacterias degradadoras de atrazina y método de utilización del mismo para remediación de suelos y plantas.* (Inventores: Bazhanov Dmitry P, Li Hongmei, Li Chengyun, Li Jishun, Yang Hetong; Solicitante: Centro de Biotecnología de la Academia de Ciencias de Shandong; Publicado: julio 21, 2016).

La atrazina es el herbicida más utilizado en la amplia clase de compuestos de s-triazina. El objetivo de la invención es proporcionar una nueva bacteria de degradación de atrazina y la aplicación de la misma.

El Centro de Biotecnología de la Academia de Ciencias de Shandong es una institución dedicada a la investigación científica en biología y biotecnología.

La fecha de presentación de la solicitud de patente data del 30 de diciembre de 2014. La parte sustancial de la presente invención es aislar la

bacteria *Arthrobacter ureafaciens liulou 1* de la rizosfera del maíz, mediante dispersión directa en un medio sólido selectivo SM, que contiene (por litro de agua destilada) 0.5 g de  $K_2HPO_4$ , 0.2 g de  $MgSO_4 \times 7H_2O$ , 0.1 g de NaCl, 0.02 g de  $CaCl_2$ , 2 g D-glucosa, 10 ml de solución madre de atrazina, 5 ml de solución de ZnFe-Cit y 13 g de agar. La solución madre de atrazina contiene (por 100 ml de agua destilada) 1 ml de Tween 80 y 5 g de polvo de atrazina. La solución madre de ZnFe-Cit contiene (por 100 ml de agua destilada) 0.04 g de  $ZnSO_4 \times 7H_2O$ , 0.4 g de  $FeSO_4 \times 7H_2O$  y 10 g de citrato trisódico. El cultivo puro de la cepa bacteriana liulou 1 se mantiene en medios sólidos SM, SMY (SM modificado con extracto de levadura 0.1 g / L).



Imagen: VirtualMuseum.ca

Adicionalmente, la invención describe un método de la aplicación de

*Arthrobacter*

*ureafaciens liulou 1* (CGMCC 9667) que comprende: a)

inocular las semillas de plantas con el

agente biológico puro de la bacteria; y b) sembrar las semillas inoculadas en suelo contaminado.