

Aislamiento y caracterización genética de bacterias del *Tenebrio molitor* con posibles aplicaciones biotecnológicas para la biodegradación de poliestireno

Díaz de Sandy, David., Heinze, Nirvana., Estudillo-Clavería Magali. & Castillo-Urueta Pável.
Escuela Nacional Colegio de Ciencias y Humanidades Plantel Sur



INTRODUCCIÓN

El poliestireno (PS) genera graves problemáticas en ambientes acuáticos (Ivar & Costa, 2014; Solís, 2005) debido a su extensa demanda de aproximadamente 21 millones de toneladas (Ho et al., 2017).

En busca de una solución, se ha investigado el uso de la larva de *Tenebrio molitor* ya que tiene la capacidad consumir PS, sin embargo, tras ingerir una dieta con gentamicina, esta capacidad de pierde. Esto sugiere que las bacterias del tracto digestivo pueden jugar un papel importante en la degradación del material (Shan-Shan, et al., 2018; Yang, et al. 2015). Actualmente poco se sabe sobre la microbiota de estas larvas y no hay suficiente literatura que soporten su uso en la degradación del PS (Sangeetha, et al., 2015).

Por tal motivo, el propósito de esta investigación es aislar y caracterizar genéticamente los microorganismos provenientes del tracto gastrointestinal de la larva de *T. molitor* utilizados en la degradación de PS.

OBJETIVOS/HIPÓTESIS

Objetivos

General

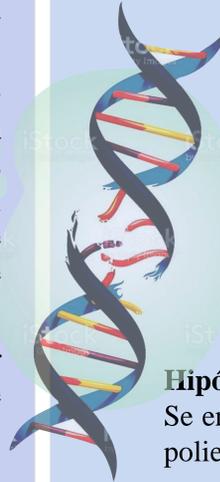
- Aislar y caracterizar genéticamente las bacterias del tracto digestivo del *Tenebrio molitor* que presenten la capacidad de biodegradar espuma de poliestireno.

Particulares

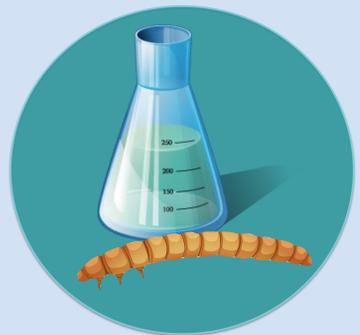
- Aislar bacterias con la capacidad de biodegradar espuma de poliestireno.
- Identificar genéticamente las colonias de las bacterias Gram positivas aisladas.

Hipótesis

Se encuentran más de un género de bacterias con la capacidad de biodegradar poliestireno en el tracto gastrointestinal de la larva del *Tenebrio molitor*.



METODOLOGÍA



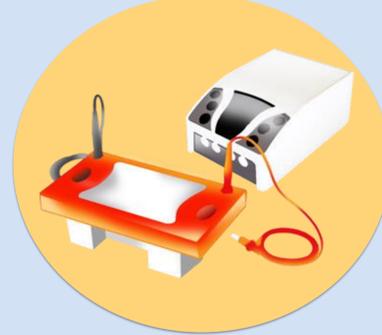
1. Colecta y procesamiento de la muestra.



2. Extracción de DNA.



3. Realización del PCR.



3. Electroforesis



4. Análisis bioinformático a través de DNA Subway.

RESULTADOS

Figura 1. Árbol filogenético de las bacterias del tracto digestivo de *Tenebrio molitor*.

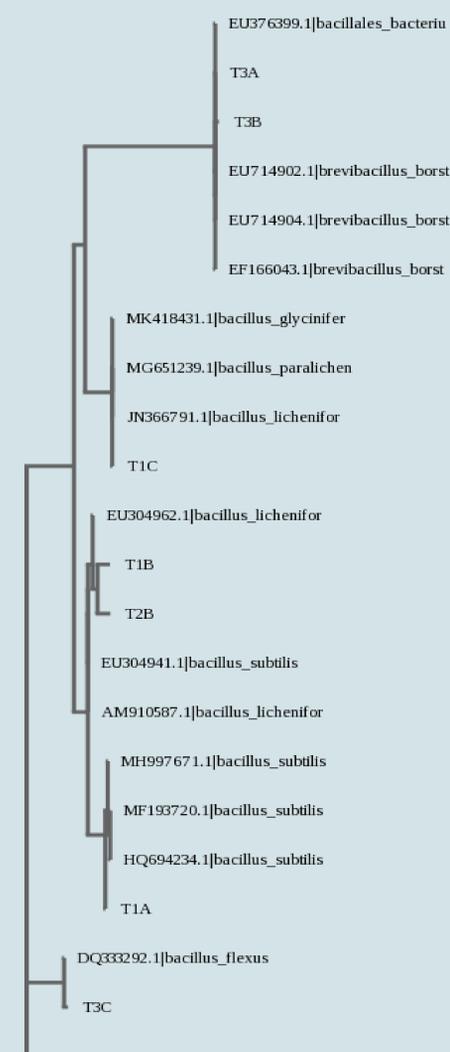


Figura 2. Caracterización macroscópica de las bacterias en MLB.

	T1A Forma: Irregular Bordes: Lobulados Elevación: Planas Superficie: Rugosa Consistencia: Membranosa Color: Blanquecino Luz transmitida: Transparente Luz reflejada: Opaca
	T1B Forma: Irregular Bordes: Lobulados Elevación: Planas Superficie: Rugosa Consistencia: Membranosa Color: Blanquecino Luz transmitida: Traslúcida Luz reflejada: Opaca
	T1C Forma: Circular Bordes: Ondulado Elevación: Planas Superficie: Rugosa Consistencia: Membranosa Color: Blanquecino Luz transmitida: Traslúcida Luz reflejada: Opaca
	T2B Forma: Irregular Bordes: Lobulados Elevación: Planas Superficie: Rugosa Consistencia: Membranosa Color: Blanquecino Luz transmitida: Traslúcida Luz reflejada: Opaca
	T3A Forma: Circular Bordes: Ondulado Elevación: Convexas Superficie: Lisa Consistencia: Cremosa Color: Blanquecino Luz transmitida: Traslúcida Luz reflejada: Opaca
	T3A Forma: Circular Bordes: Entero Elevación: Convexas Superficie: Lisa Consistencia: Cremosa Color: Blanquecino Luz transmitida: Transparente Luz reflejada: Brillante
	T3C Forma: Circular Bordes: Entero Elevación: Planas Superficie: Lisa Consistencia: Cremosa Color: Blanquecino Luz transmitida: Traslúcida Luz reflejada: Opaca

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

La Figura 1, muestra que las bacterias del tratamiento de T1A tienen similitud con *Bacillus subtilis* determinando la especie presente en la muestra secuenciada. Los tratamientos T1B y T2B muestran relación con *B. subtilis* además de parentesco con *Bacillus licheniformis*, especie con la cual tuvo mayor incidencia en el BLAST, lo que permitió determinar que este es el microorganismo presente en dichas muestras.

El tratamiento de T1C mostró bacterias con relación muy cercana a tres especies distintas del género *Bacillus*: *Bacillus licheniformis*, *Bacillus paralicheniformis* y *Bacillus glycinifermentans*. De modo que no fue posible determinar con exactitud que especie se encuentra presente en la muestra secuenciada.

Las bacterias de los tratamientos T3A y T3B se encuentran relacionadas con *Brevibacillus borstelensis* y *Bacillales bacterium*. Debido a que con *Brevibacillus borstelensis* se tuvo mayor incidencia ésta se considerado como el organismo presente en ambas muestras.

Finalmente, se determinó la especie *Bacillus flexus* en el tratamiento T3C.

Cabe destacar que las observaciones morfológicas de las colonias aisladas coincide con las reportadas para las especies encontradas con ayuda del Barcoding.

Las especies encontradas son de suma importancia ya que hay estudios que reportan su capacidad para degradar compuestos del petróleo (*Bacillus subtilis*), degradación de PVC (*Bacillus flexus*), degradación de polietileno (género *Brevibacillus*). La presencia de estos microorganismos en el *Tenebrio molitor* permitirá aportar una explicación a la pérdida de masa observada en los tratamientos de degradación de PS.

Nuestra hipótesis es aceptada, lo que implica que se logró identificar más de una especie bacteriana como las posibles responsables de la degradación de poliestireno.

REFERENCIAS

- Ho, B., Roberts, T., & Lucas, S. (2017). An overview on biodegradation of polystyrene and modified polystyrene: the microbial approach, *Critical Reviews in Biotechnology*, 38 (2), 308-320. DOI: 10.1080/07388551.2017.1355293
- Ivar do S., J.A. & Costa, M.F. (2014). The present and future of microplastic pollution in the marine environment. *Environmental Pollution*, 185 : 352 - 364. Recuperado el 25 de septiembre de 2017 de : https://ac.els-cdn.com/S0269749113005642/1-s2.0-S0269749113005642-main.pdf?_tid=581
- Shan-Shan Y., Wei-Min W., Anja M. B., Han-Qing F., Joseph P. R., Yiran L., Zhi-Yue W., Rui F., McClellan R., Shu-Hong G., Daliang N., Phillips D., Bo-Yu P., Hongtao W., Ya-Lei Z., Jie G., Defeng X., Nan-Qi R., Robert M., Jizhong Z., Hu-Chun T., Christine J., Mark Eric B. & Craig S. (2018). Ubiquity of polystyrene digestion and biodegradation within yellow mealworms, larvae of *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae). *Chemosphere* 212. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.08.078>
- Sangeetha, R., Kannan, V., Natarajan, K., Nivas, D., Kannan, K., Chandru, S., and Arokiaswamy, R.A. (2015). The Role of Microbes in Plastic Degradation. In *Environmental Waste Management*. Chapter 12. Taylor & Francis Group, 341 - 370. DOI: 10.1201/b18243-13.
- Solis, C. (2005). Características del Poliestireno Expandido. Recuperado el 24 de enero de 2018, de <http://www.davsa.com/infoWeb/Grupo/Subgrupos/caracteristicas/040101D-20.pdf>
- Yang, Y., Yang, J., Wu, W.-M., Zhao, J., Song, Y., Gao, L., Yang, R., & Jiang, L. (2015). Biodegradation and Mineralization of Polystyrene by Plastic-Eating Mealworms: Part 2. Role of Gut Microorganisms. *Environmental Science & Technology*, 49(20) : 12087-12093. DOI : 10.1021/acs.est.5b02663