



Consideraciones acerca del biorrefuerzo comercializado por *Biopulcher*, aplicable a la biorremediación de vertidos de petróleo.

Las consideraciones que siguen, elaboradas a solicitud de la empresa BIOPULCHER, se hacen con base en diversas actuaciones en las que este *Grupo de Reciclado y valorización de residuos*, del Instituto de Investigaciones Mariñas (CSIC) de Vigo, tuvo ocasión de intervenir en relación con aplicaciones del biorrefuerzo al que se hace referencia.

1. Naturaleza del producto y su bioseguridad

El preparado consiste en dos cepas silvestres de *Pseudomonas putida* aisladas de un ambiente rico en petróleo, capaces de metabolizar hidrocarburos en las condiciones que se comentan más adelante. Constituye, por tanto, lo que acostumbra a denominarse un biorrefuerzo, es decir, una entidad biológica que puede añadirse a un entorno contaminado por hidrocarburos, con el fin de acelerar sus tasas naturales de biodegradación.

El preparado se atiene a las cuatro restricciones que se exigen a los organismos aplicables a propósitos de biorremediación (no fotosintéticos; no parásitos; no productores de esporas u otras formas de resistencia; no manipulados genéticamente), restricciones que anulan el posible riesgo de introducción de aloctonía permanente en el ecosistema receptor. El cumplimiento de las tres primeras condiciones es obvio tratándose de una especie bacteriana cosmopolita como *Pseudomonas*; la garantía de que el preparado cumple asimismo la cuarta condición, vino avalada por las siguientes referencias:

USSR	Museo Central de Microorganismos del Instituto Científico de Investigaciones Genéticas de Rusia: N ^o de Registro TZMPMV2443
USSR	Certificado de Autorización N ^o 1076446
USSR	Certificado de Autorización N ^o 1428809
USA	Patente N ^o 4822490
AUSTRALIA	Patente N ^o 589675
ARGENTINA	Patente N ^o 321630
ALEMANIA	Patente N ^o 0267962
CANADÁ	Patente N ^o 12855510



así como por un certificado emitido el 19 de febrero de 2003 por el Instituto de Investigación Geológica del Gas, de Tiumen.

Tales características y referencias, unidas al hecho de que la firma comercializadora no tuvo inconveniente en proporcionar muestras para su examen, fueron las que condujeron a que el Ministerio de Medio Ambiente (Organización de Parques Nacionales) autorizase, en marzo de 2003, su aplicación a mesoescala en roquedos supramareales de la isla de Sálvora (Ría de Arousa) afectados por el derrame del *Prestige*.

Durante esta campaña se situaron cestas con mejillón silvestre en el entorno directamente receptor de las escorrentías del tratamiento, siguiéndose durante un periodo de dos meses el estado de los animales en cuanto a prevalencia de agentes patógenos (*Chalmidia*, *Nematopsis*, *Mytilicola*, metacercarias de Trematodos), lesiones tisulares (infiltraciones, granulocitomas) y estado del sistema inmune (actividad lisozímica, viabilidad hemocitaria y quimioluminiscencia hemocitaria frente a un estímulo particulado). Ninguno de estos criterios acusó diferencias estadísticamente significativas con respecto a mejillones situados en zonas de control.

Por otra parte, la manipulación del preparado exigió únicamente las precauciones habituales en el uso de formulaciones pulverulentas que contienen proteínas y polisacáridos potencialmente alergénicos.

Debe señalarse que el Grupo de Reciclado del IIM había ensayado ya el producto en 1992, con ocasión del vertido (un crudo Brent) del petrolero *Aegean Sea* en aguas de A Coruña. En aquella ocasión las autoridades marítimas decidieron no realizar aplicaciones en espacios naturales, temiendo la introducción de microbiota alóctona. Sin embargo, puede señalarse que los resultados de los ensayos en varios sistemas de cultivo que reprodujeron diversas condiciones naturales fueron satisfactorios, y que en ningún caso se detectaron indicios de peligrosidad a dosis altas frente a mejillón.

Con posterioridad al caso del *Prestige*, el mismo Grupo de Reciclado intervino asimismo en la evaluación de los resultados correspondientes a las siguientes aplicaciones del mismo preparado:



- Mayo, 2004: tratamiento de un vertido experimental y controlado de gas-oil en el puerto de Vilanova i la Geltrú.
- Periodo junio, 2004-abril, 2005: tratamiento de un vertido accidental de gas-oil debido a la rotura del depósito de una estación de telefonía móvil en una cumbre de Montserrat, con un fuerte escape de escorrentías a los suelos vegetales situados en la base de la pared.

2. Eficacia

Todo biorrefuerzo dirigido a acelerar la biodegradación de los hidrocarburos presenta una eficacia limitada por diversas condiciones del entorno, entre las cuales destacan dos.

En primer lugar, altas concentraciones de hidrocarburos actúan, incluso en bacterias capaces de metabolizarlos, inhibiendo la síntesis de las enzimas responsables de aquel metabolismo. Es decir, para toda entidad biológica los hidrocarburos son, en definitiva, una señal que indica tóxico antes que nutriente. De ahí que, aun pareciendo contradictorio, a menudo sea conveniente añadir fuentes de carbono auxiliares que mantengan abiertas las vías metabólicas relevantes. Éste es uno de los papeles que desempeñan los preparados fertilizantes oleosos para la biorremediación. Por otra parte, diferentes tipos de hidrocarburos presentan muy diferentes susceptibilidades a la biodegradación: los saturados de cadena corta y sin ramificaciones son los más biodegradables; los cicloalcanos, hopanos, resinas y asfaltenos los más persistentes.

En segundo lugar, los biorrefuerzos tienen sentido en aquellos ambientes que, ya en condiciones normales, son capaces de soportar una microbiota relativamente rica, como ocurre en las lagunas o los suelos vegetales. No puede esperarse, por ejemplo, que el petróleo contribuya a hacer de un roquedo o una playa un sustrato donde proliferen activamente las bacterias, aunque éstas sean capaces de metabolizar hidrocarburos.

A nuestro entender, estos factores son suficientes para explicar los diferentes resultados del preparado de *Biopulcher* en las actuaciones en cuya evaluación participamos.



En el caso del derrame del *Prestige*, con un fuel extremadamente persistente y en un entorno de roquedo supramareal, ningún biorrefuerzo resultó eficaz. La efectividad del preparado de *Biopulcher* fue ligeramente mayor que la de otros dos productos similares experimentados, pero la mejor opción, con diferencia, consistió en una fertilización oleosa en ausencia de biorrefuerzo.

En el vertido controlado de gas-oil en el puerto de Vilanova i la Geltrú, donde el intervalo temporal implicado hasta la desaparición del 90% del nivel inicial de hidrocarburos en la zona de control fue de 9 días, los resultados permitieron estimar que el tratamiento dividió por un factor de 4,5 el tiempo necesario para alcanzar tal eliminación del 90%.

En el vertido accidental de Montserrat, el seguimiento llevado a cabo en cuatro localizaciones puso de manifiesto que, en 80 días, los niveles de gas-oil total habían descendido a valores del 1,7; 5,2; 1,8 y 0,12% de los iniciales (el seguimiento continuó hasta los 297 días, plazo en el que el contenido de hidrocarburos pudo considerarse de nivel traza). Aunque los responsables de la actuación decidieron no dejar ninguna zona como control sin tratamiento, en todos los casos la relación entre la suma de los hidrocarburos lineales de 17 y 18 átomos de carbono y la suma de pristano y fitano (índice que refleja la actuación de mecanismos biodegradativos y no sólo físico-químicos) acusó una activa participación de tales mecanismos, no atribuible a la microbiota autóctona.

Vigo, julio de 2010

VºBº

Dra. D^a Aida Fernández Ríos
Directora del Instituto de Investigaciones
Mariñas



Dr. D. Miguel Anxo Murado García
Grupo de reciclado y valorización de
residuos