BIER14

**Estudio del mecanismo de remoción de Cr(VI) en la levaduras autóctona *Pichia* sp. 6N**

Bernal, A.1; Cruz, E.1; Nieto Peñalver, C. 1, 2; Figueroa, L.I.C.1,2; Fernández, P.1

1) PROIMI-CONICET, San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina; 2) Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, Universidad Nacional de Tucumán, Argentina.

elias-cruz@outlook.com

El cromo tiene múltiples aplicaciones industriales y se presenta en diversos estados de oxidación. El Cr(VI) es considerado tóxico debido a su carácter cancerígeno y mutagénico y es la principal especie de cromo utilizada en los procesos industriales pero el Cr(III) es necesario en concentraciones trazas en diversos organismos vivos. La reducción de Cr(VI) a Cr(III) se conoce como el principal mecanismo de detoxificación para un gran número de microorganismos, pero el o los mecanismos involucrados en la resistencia a Cr(VI) pueden diferir considerablemente entre las diferentes especies, incluyendo aquellas sin historia previa de exposición al metal. Esta característica es explotada en tecnologías de biorremediación de Cr(VI), donde el microorganismo seleccionado es crecido y volcado al ambiente para promover la detoxificación del ambiente.

Se trabajó con la levadura endofítica de caña de azúcar *Pichia* sp. 6N. Se usó medio de cultivo YM a 25°C, 250 rpm durante 96 h con concentraciones iniciales de Cr(VI) de 0,5 y 1 mM. El estudio del mecanismo de resistencia involucrado en la detoxificación del metal, se realizó mediante cinéticas de remoción de Cr(VI). Las determinaciones de Cr(VI) remanente se realizaron por colorimetría con el reactivo *S*-difenilcarbazida (DFC) en medio ácido y Cromo total por Espectroscopía de Absorción Atómica (EAA) en las muestras tomadas a intervalos de tiempo regulares. Para evaluar la distribución o presencia de cromo en la superficie y/o el interior celular (fenómenos de bioacumulación o depósitos como mecanismo responsable de la remoción de Cr(VI)), se realizaron observaciones por microscopia electrónica de transmisión (MET, modelo Zeiss EM 109), de barrido (MEB, modelo Supra 55vp Zeiss) y el análisis por espectroscopia de energía dispersiva (EDS, modelo Inca-Oxoford) en muestras crecidas a 250 rpm, 25°C durante 48 h, en ausencia y presencia de Cr(VI) 1mM.

La remoción total de Cr(VI) 0,5 y 1mM (medido por DFC) se alcanzó luego de 48 y 96 h de cultivo respectivamente. Cuando se analizó cromo total en las muestras de sobrenadante de cultivo por EAA, se observó q la concentración inicial del metal se mantuvo constante durante todo el cultivo con una mínima cantidad del metal encontrada en la biomasa digerida con ácido. Esto supone que el principal mecanismo de remoción involucrado en la cepa 6N podría ser la reducción del metal de Cr(VI) a especies menos tóxicas Cr(III).

El análisis de las muestras por MEB no mostró signos de alteración o cambios notorios en la morfología celular de acuerdo a los cultivos controles crecidos en ausencia del metal. Presentaron tamaño y forma típicos de las levaduras. En el análisis de los resultados obtenidos por MET no se encontraron zonas que presenten alguna irregularidad o que se encuentren con mayor densidad o de indicios de acúmulos de metal en la estructura de la célula. La forma celular típica fue conservada. El análisis con EDS de la cepa 6N expuesta a Cr mostró espectros con niveles bajos casi imperceptibles del metal. Esto indica que los mecanismos de bioconversión o bioacumulación no están localizados principalmente en la superficie celular y puedan estar situados extra o intracelularmente. Estos resultados revelan que el principal mecanismo involucrado en la remoción del metal implica la bioespeciación del metal con cambios en los estados de oxidación.