

# VU Research Portal

## Microbial networks for bioremediation of chlorinated ethenes

Vargas Lopez, R.

2018

### **document version**

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

### **citation for published version (APA)**

Vargas Lopez, R. (2018). *Microbial networks for bioremediation of chlorinated ethenes*.

### **General rights**

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

### **Take down policy**

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

### **E-mail address:**

[vuresearchportal.ub@vu.nl](mailto:vuresearchportal.ub@vu.nl)

## Resumo en Galego

Os etenos clorados (CEs) atópanse entre os contaminantes de augas subterráneas máis frecuentemente observados. Isto débese, en gran medida, a unha práctica irresponsable no pasado, así como a derrames accidentais contemporáneos, que provocaron a contaminación de grandes áreas. O descubrimento da toxicidade e persistencia do eteno máis altamente clorado, é dicir, o tetracloroeteno (percloroetileno; PCE), e dos seus produtos de degradación, conduciu a esforzos substanciais para descifra-los mecanismos da súa degradación e para desenvolver técnicas de limpeza adecuadas para sitios contaminados. Considérase que a degradación dos etenos clorados a través da decloración reductiva (RD) anaeróbica mediante as bacterias respiradoras de organohalóxenos (OHRB) é o método máis eficiente, máis respectuoso co medio ambiente e máis rendible para a remediación da contaminación por PCE (e dos seus derivados). Con todo, cando a abundancia e tipoloxía das OHRB indíxenas nun sitio contaminado con PCE limitan ou mesmo frustran a atenuación natural, pódense tratar de mellorar as condicións dos organismos xa presentes (unha estratexia chamada bioestimulación) ou, agregar adecuadas OHRB exógenas iniciando así un proceso de bioaumentación.

Nesta tese empregamos *Desulfotobacterium hafniense* Y51 como bacteria modelo respiradora de organohalóxenos para a decloración reductiva de PCE. Aínda que a cepa seleccionada é incapaz de realiza-la decloración completa de PCE a eteno (o produto de degradación xa inofensivo), ofrece un gran potencial para a bioaumentación. As súas vantaxes inclúen a dispoñibilidade dun xenoma secuenciado e anotado, a súa alta versatilidade metabólica, a súa autosuficiencia para a vitamina B<sub>12</sub>, a súa motilidade, a súa probable quimiotaxis cara aos compostos clorados, a súa taxa de crecemento relativamente alta, o seu doado mantemento en monocultivos e a súa capacidade de formación de esporas. Pero aínda así requírese de aumentar o seu potencial de bioaumentación, conseguindo que a cepa Y51 sexa parte integral dunha rede microbiana de bioaumentación ben deseñada, formada por un conxunto complexo de gremios funcionais competentes. Neste aspecto é necesaria máis investigación na ecoloxía de sistemas.

O obxectivo xeral desta tese foi (i) comprende-los factores e interaccións ambientais (abióticos e bióticos) que controlan a actividade de *Desulfotobacterium hafniense* Y51, (ii) deseñar unha nova estratexia para a biorremediación de PCE empregando esta bacteria respiradora de organohalóxenos nunha nova rede microbiana, e (iii) posteriormente probar esta estratexia experimentalmente, validando así a nosa metodoloxía de deseño.

Primeiro, estudamos a interacción do compoñente central da nosa rede, é dicir, *D.*

*hafniense* Y51 coa súa contorna inmediata (**Capítulo 2**): *D. hafniense* Y51 expúxose en quimostatos a condicións limitantes ambientalmente relevantes (en termos de limitacións de fonte de carbono e doador e aceptor de electróns), o que podería asemellarse ao seu hábitat natural. A exploración da transcriptómica e proteómica baixo condicións limitantes revelou que ademais da súa versatilidade metabólica, *D. hafniense* Y51 posúe unha flexibilidade fisiolóxica aínda maior. A cepa Y51 emprega estratexias específicas, como inducir vías metabólicas alternativas cando se enfronta a limitacións, realizar un uso posiblemente óptimo das fontes de carbono e enerxía dispoñibles, ou escapar de contornas desfavorables mediante a activación de encimas relacionadas coa esporulación.

A decloración no medio ambiente non só depende das capacidades metabólicas individuais das bacterias que respiran organohalóxenos, senón tamén das súas interaccións con outros membros da comunidade, como os organismos fermentadores, que non só proporcionan doadores de electróns para a decloración reductiva senón tamén controlan (parcialmente) a taxa de decloración dos etenos clorados. Polo tanto, o coñecemento de cales son os factores ambientais que afectan á identidade e ó comportamento do que se presenta como o "gremio da fermentación" debería axudar a optimizar a biorremediación *in situ*. No **Capítulo 3**, a medición no tempo da fermentación da glicosa e a redución dos aceptores de electróns terminais derivados dos cultivos enriquecidos baixo catro diferentes (e independentes) estados redox, correlacionáronse coa información filoxenética derivada da análise mediante pirosecuenciación baseada no xen de ARNr 16S. Isto revelou que as condicións redox influíron fortemente nas identidades das especies fermentadoras resultantes así como no tipo de fermentación na que participaron. Con todo, esta influencia foi indirecta, é dicir, a través das especies coas que cohabitaron, as cales evitaron a inhibición dunha fermentación adicional ao consumir os produtos de fermentación.

Sobre a base destes achados determinamos en que medida a composición da comunidade, en particular os compoñentes que non son OHRB desta última, pode afectar á degradación do PCE pola cepa Y51 (**Capítulo 4**). Aplicáronse medicións de metabolitos e secuenciación Illumina para determinar o rendemento da degradación e a composición, respectivamente, dos consorcios estables (**Capítulo 3**) derivados das diferentes e relevantes condicións redox. Fixemos isto en cocultivos con *D. hafniense* Y51 nun medio líquido definido, na presenza de PCE e glicosa como fonte de carbono. Esta estratexia revelou que a historia redox da comunidade codeterminou o tipo de RD do PCE por *D. hafniense* Y51, onde as taxas de degradación máis rápidas e as densidades celulares máis altas da cepa Y51 lograronse dentro dos consorcios obtidos nas condicións redox máis favorables (é dicir, con nitrato e ferro

como aceptores de electróns), excedendo aqueles en monocultivo cunha fonte de carbono directa. A presenza de acetóxenos nos consorcios derivados das condicións sulfato-reductoras e metanoxénicas suxeriu que a súa menor eficiencia de dechloración foi causada pola competencia por fontes de electróns (hidróxeno e formato) entre este grupo funcional e a cepa Y51.

Ademais, para proba-las nosas redes microbianas nunha situación máis realista, como unha situación de bioaumentación despois dun derrame de PCE, os consorcios establecidos durante os experimentos descritos no **Capítulo 4** foron inoculados en sedimentos fluviais contaminados con PCE, despois de eliminar a comunidade microbiana endóxena do sedimento, mediante o autoclavado deste último (**Capítulo 5**). Os consorcios que contiñan a cepa Y51 usados na bioaumentación comportáronse de maneira comparable aos resultados obtidos no medio basal definido (**Capítulo 4**), o que suxire un comportamento predicible das comunidades bioaumentadas nun escenario de biorremediación *in situ*. Con todo, cando o ecosistema autóctono mantívose vivo nos sedimentos (non esterilizados mediante autoclavado), os resultados diferiron. Cremos que a alta diversidade funcional e fisiolóxica observada nos sedimentos naturais puido diminuír a capacidade de colonización por parte dos consorcios bioaumentados que contiñan a cepa Y51. A pesar disto e da presenza doutras especies autóctonas de *Desulfotobacterium* sp. nos sedimentos vivos, a nosa cepa Y51 bioaumentada identificouse aínda así como a única bacteria que respiraba organohalóxenos e como a responsable da degradación do PCE a *cis*-DCE (*cis*-dicloroetano), suxerindo a capacidade desta cepa para competir polos substratos en ambientes onde tódolos nichos están completamente cheos.

Finalmente, o **Capítulo 6** sintetiza os resultados dos capítulos experimentais precedentes nun marco conceptual. En base a isto, o capítulo analiza os achados xerais da investigación con respecto á súa importancia ambiental e as súas implicacións na biorremediación *in situ* de PCE por *D. hafniense* Y51. Argumentamos que a cepa Y51 dentro dun gremio fermentador apropiado, en combinación cun "gremio de biorremediación subseguinte" capaz de degradar o intermediario dicloroetano ata o eteno como produto final, pode ser a mellor estratexia para limpar lugares contaminados con PCE onde as bacterias respiradoras de organohalóxenos autóctonas non son o suficientemente rápidas/activas. Concluimos que debido ás diferenzas entre os distintos lugares contaminados, a efectividade de calquera deseño de biorremediación estática diferirá entre eles. Ademais, propónse o concepto dunha estratexia de "biorremediación de precisión" máis dinámica, na que cada novo sitio contaminado debe requirir unha nova análise científica para que se formule unha

estratexia de biorremediación específica do lugar e que teña un efecto máximo. Aquí débense formular directrices de traballo iniciais para a implementación en calquera novo sitio que se considere a biorremediar. Unha maior integración dos datos e o desenvolvemento da bioloxía ecolóxica de sistemas será o primeiro paso cara un obxectivo complexo pero gratificante: a biorremediación optimizada coa axuda da experimentación precisa e o modelado matemático, específico para cada sitio contaminado.