

IDENTIFICACIÓN DEL GEN *alkB* EN UN CONSORCIO BACTERIANO DEGRADADOR DE HEXADECANO EN UN BIORREACTOR

Olivia Tzintzun Camacho, Octavio Loera Corral, Mariano Gutiérrez Rojas, Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana- Iztapalapa, Av. San Rafael Atlixco No. 186. Col. Vicentina. C.P. 09340, México, D.F., Fax 5804-6407, e-mail: oliviatc@gmail.com

Consortio bacteriano, degradación de hexadecano, gen alkB

Introducción. El empleo de consorcios bacterianos para remediar suelos contaminados con hidrocarburos es más ventajoso que los cultivos axénicos (1). Se conoce que las alcano-monooxigenasas son las enzimas que catalizan la reacción inicial en la biodegradación de los compuestos alifáticos. Sólo dos especies han sido investigadas a nivel génico: *Pseudomonas oleovorans* y *P. maltophilia*, como resultado se han desarrollado sondas derivadas del gen *alkB* de *P. oleovorans* que permiten identificar bacterias degradadoras de hidrocarburos (2).

El objetivo de este trabajo fue identificar el gen *alkB* en un consorcio bacteriano degradador de hexadecano en un biorreactor secuencial de columna de burbujas.

Metodología. Se empleó un biorreactor de columna de burbujas (2L) operado en ciclos secuenciales de 10 días, con medio mineral y hexadecano o HXD (13 000 ppm) como única fuente de carbono y energía, inoculado con un consorcio de cuatro bacterias Gram negativas (Cepas: A, B, D y F), todas nativas de sitios contaminados con hidrocarburos. El HXD residual fue cuantificado por cromatografía de gases y la formación de sólidos suspendidos por gravimetría. Para la extracción del ADN genómico se empleó el kit Wizard DNA de Promega y la amplificación del gen *alkB* se llevó a cabo empleando cebadores diseñados de regiones conservadas del gen *alkB* de *P. oleovorans* ATCC 29347, el producto esperado fue de 870 pares de bases (pb) (3).

Resultados y discusión. En la Figura 1 se muestra las cinéticas de HXD residual para 10 ciclos de operación del biorreactor. A partir del séptimo día de cultivo para cada ciclo, la concentración de HXD en el medio llegó a ser cero; además, se observa una clara emulsificación en el medio de cultivo, este fenómeno probablemente se produjo como una estrategia del consorcio para aumentar la solubilidad del HXD (4). Por otra parte, como se observa en la Figura 2 se obtuvo un producto de amplificación de 870 pb sólo a partir de la cepa A, similar al producto del gen *alkB* de *P. oleovorans* ATCC 29347. Estos resultados son evidencia de que al menos una cepa del consorcio posee el gen *alkB*, sin embargo, es necesario contar con la secuencia de los productos de PCR y confirmar su homología.

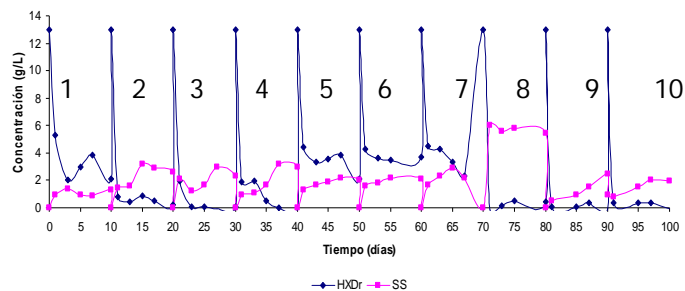


Fig. 1. Cinéticas de biodegradación de HXD durante 10 ciclos de operación del biorreactor.

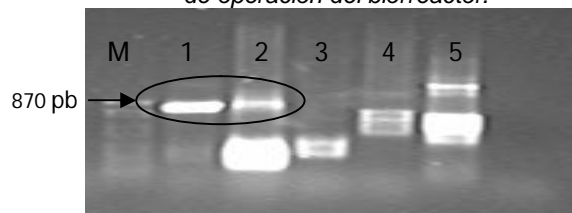


Fig.2. Identificación del gen *alkB* en las cepas aisladas del consorcio bacteriano. Posiciones: 1) Cepa control *P. oleovorans* ATCC 29347, 2) Cepa A, 3) Cepa B, 4) Cepa D, 5) Cepa F.

Conclusiones. Los niveles de biodegradación de HXD son indicio de la cooperación entre las poblaciones bacterianas, por aumento de la solubilidad del HXD y por la presencia del gen *alkB* en la cepa A.

Agradecimiento. Al CONACyT (Beca No. 203419) y PEMEX-Refinación.

Bibliografía.

- Riffaldi, R, Levi-Minzi, R, Cardelli, R, Palumbo, S y Saviozzi, A. (2006). Soil biological activities in monitoring the bioremediation of diesel oil-contaminated soil. *Water, Air, and Soil Pollution*, 170: 3–15.
- Beilen, van J.B, Wubbolts, M.G. y Witholt, B. (1994). Genetics of alkane oxidation by *Pseudomonas oleovorans*. *Biodegrad.* 5: 161-174.
- Vomberg, A y Klinner, U. (2000). Distribution of *alkB* genes within n-alkane-degrading bacteria. *J. Appl. Microbiol.* 89: 339-348.
- Kim, I.S, Foght, J.M, Gray, M. (2002). Selective Transport and Accumulation of Alkanes by *Rhodococcus erythropolis* S+14He. *Biotechnol Bioeng.* 80 (6): 650-659.