

## AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE BACTERIAS AEROBIAS EN AGUA DE RECIRCULACIÓN DE SISTEMAS DE ENFRIAMIENTO EN LA INDUSTRIA PETROLERA PARA EL DISEÑO DE BIOCIDAS

Aarón Calderón Contreras<sup>1</sup>, Rocío George Téllez<sup>2a</sup>, Joaquín Martínez Valadéz<sup>2b</sup>, y Francisco J. Fernández<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa. Departamento de Biotecnología. Av. San Rafael Atlixco No. 186, Col. Vicentina, Iztapalapa. México D.F. C.P. 09340. Tel. 01 (55) 5804-6453. Fax: 5804-4712, E-mail: fjfp@xanum.uam.mx. <sup>2</sup> Instituto Mexicano del Petróleo. <sup>a</sup> Programa de Investigación en Recuperación Mejorada de Hidrocarburos; <sup>b</sup> Área de Productos Químicos.

*Palabras clave: Biocidas, Chromobacterium sp, Sistemas de enfriamiento.*

**Introducción.** El fenómeno de bioensuciamiento, ocasionado por la actividad microbiológica en los sistemas de agua de recirculación de plantas de proceso, representa un problema importante para la industria del petróleo, debido a que puede facilitar la aparición de corrosión electroquímica y microbiológica. Es por ello necesario el desarrollo de productos químicos (biocidas) que controlen dicho fenómeno.

Para poder realizar el diseño de compuestos químicos de manera específica es necesario conocer primero el tipo de microorganismos que se encuentran en el ambiente de estudio, por lo que en el presente trabajo se realizó una prospección de bacterias aerobias y, posteriormente, el aislamiento microbiológico y la identificación molecular de las mismas.

**Metodología.** Se utilizaron dos muestras de agua de recirculación de sistemas de enfriamiento, las cuáles se inocularon al 5% (v/v) en caldo nutritivo y se incubaron a 30°C y 250 rpm, durante diferentes tiempos. El crecimiento microbiano se cuantificó por el método turbidimétrico. A continuación, se realizó una resiembra en medio LB líquido, y se utilizó la técnica de dilución y siembra en placa para aislar las colonias por estría simple en agar LB. Para observar la morfología y hacer una primera clasificación de los cultivos, se realizó la tinción de Gram. El ADN genómico de las colonias aisladas se extrajo, de acuerdo al protocolo del sistema comercial Wizard Genomic DNA Purification (Promega). Para observar la integridad del ADN extraído se realizó una electroforesis en gel de agarosa. Se amplificó por PCR el gen para el ADNr 16S, utilizándose los cebadores universales E9F y E926R (1). Los productos de PCR se visualizaron mediante electroforesis y se purificaron de acuerdo al protocolo del sistema comercial Wizard PCR Prep DNA Purification System (Promega). Tras secuenciar los fragmentos, se comparó la similitud de las secuencias con las contenidas en las bases de datos, utilizando la herramienta informática BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

**Resultados y discusión.** El mejor crecimiento se observó a las 48 horas, para ambas muestras. Se

observó la presencia de bacterias Gram (-) en forma de cocos, agrupados en cadenas cortas en el caso de la SEII y en cadenas largas en el de la muestra SEV. En la Figura 1a se muestra el tamaño del ADN extraído para ambas muestras. La amplificación del gen ADNr 16S mediante PCR produjo fragmentos de algo menos de 1000 pb, en ambos casos (Figura 1b).

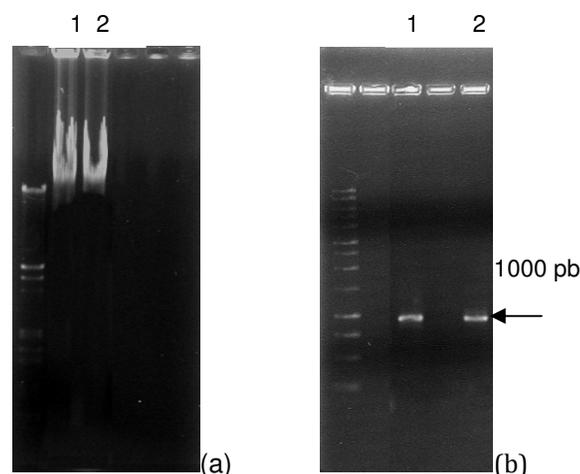


Fig. 1. (a). Extracción de ADN genómico (b) Amplificación de del gen ADNr 16S mediante PCR. 1: SEII, 2: SEV

La comparación de las secuencias con las contenidas en las bases de datos permite asegurar que las dos muestras pertenecen al género *Chromobacterium*.

**Conclusiones.** Las técnicas utilizadas en el presente trabajo permitieron identificar a nivel de género los microorganismos presentes en aguas de recirculación de sistemas de enfriamiento. Estos resultados contribuyen al conocimiento de las comunidades microbianas presentes en estos sistemas y permitirán, eventualmente, el desarrollo de productos químicos de alta especificidad.

### Bibliografía.

1. Forney, L.J. Zhou, X y Brown, C.J. (2004). Molecular microbial ecology: land of the one-eyed king. *Curr. Opin Microbiol.* 7: 210-220.