



AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS HIDROCARBUROCLASTAS DE SUELO CONTAMINADO DEL SUR DEL ESTADO DE VERACRUZ

¹Susana Rodríguez Aguilar, ¹César Espinoza Ramírez, ¹Ángel Trigos, ²María del Carmen Cuevas Díaz, ²Clara Ivonne Ruiz Reyes, ²Oswaldo Guzmán López

¹Laboratorio de Alta Tecnología de Xalapa, Universidad Veracruzana. Xalapa, Ver. 91010
²Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Veracruzana, Coatzacoalcos, Veracruz, 96538

osguzman@uv.mx

Palabras clave: Bacterias hidrocarburoclastas, suelo, aislamiento e identificación

Introducción. En la región sur del estado de Veracruz, la industria petrolera es intensa. Existen instalaciones de explotación y refinación de cientos de kilómetros, además de ductos que cruzan áreas urbanas y rurales. Esta infraestructura muchas veces no recibe el mantenimiento adecuado que garantice la seguridad del proceso de obtención y transporte de hidrocarburos, por lo que el riesgo de que ocurra un derrame es alto (1). En el suelo de esas zonas pueden encontrarse microorganismos hidrocarburoclastas con capacidad de metabolizar, degradar y transformar diversos hidrocarburos. La presencia de petróleo en el suelo enriquece selectivamente la comunidad microbiana capaz de adaptarse y utilizar el nuevo sustrato, y crea una situación selectiva que puede favorecer su presencia. El objetivo de este trabajo consiste en aislar e identificar bacterias que tengan la capacidad de degradar hidrocarburos y que sean obtenidas a partir de muestras de suelo contaminados de esta región.

Metodología. Se caracterizó fisicoquímicamente la muestra de suelo y se determinaron los hidrocarburos totales del petróleo por el método de extracción-centrifugación (1, 2). Se realizó conteo de bacterias por el método de dilución en placa, las bacterias hidrocarburoclastas se aislaron en Agar noble adicionado con rosa de bengala, estreptomycin y en atmósfera de hidrocarburos para lo cual se humedecieron discos de papel filtro estéril impregnado con petróleo crudo ligero estéril (2). Se utilizaron controles del medio, se incubaron las muestras a 35 °C. La identificación de las colonias fue por características morfológicas y pruebas bioquímicas.

Resultados. El suelo presentó hasta 10 veces más HTP's (62 589.83 mg Kg⁻¹) que el límite permisible por la normatividad mexicana (2). Su caracterización indica que es del tipo franco limoso, pH de 7.2, con 28.6 % de materia orgánica, 9.8 ppm de fósforo y 3.6 ppm de nitratos. Las metodologías utilizadas para el aislamiento e identificación permitieron obtener cuatro géneros diferentes dentro de 5 cultivos bacterianos

morfológicamente diferentes aislados a partir del suelo en estudio. Las bacterias se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1. Pruebas bioquímicas realizadas a las 5 cepas aisladas

CEPA	GÉNERO	FAMILIA
2C(B)	<i>Erwinia spp.</i>	Enterobacteriaceae
1A(A)	<i>Xanthomonas spp.</i>	
5D(A)	<i>Pseudomonas spp</i>	Pseudomonadaceae
2C(A)	<i>Pseudomonas spp</i>	
5D(B)	<i>Agrobacterium spp.</i>	

En la siguiente Tabla se presentan los resultados de las pruebas bioquímicas.

Tabla 2. Pruebas bioquímicas realizadas a las 5 cepas aisladas

CEPA	PRUEBAS BIOQUÍMICAS								
	Gram	Forma	Hugh y Leifson	KB	YDC	Ureasa	D1M	Catalasa	Oxidasa
1A(A)	-	B	-	-	+	-	N.A	+	+
2C(A)	-	B	-	+	N.A	N.A	N.A	+	+
2C(B)	-	B	+	-	-	N.A	N.A	+	-
5D(A)	-	B	-	+	N.A	N.A	N.A	+	+
5D(B)	-	B	-	-	-	N.A	+	+	+

Gram: tinción de Gram; Hugh y Leifson: Crecimiento anaerobio; KB: Crecimiento fluorescente; YDC: Colonias amarillas; D1M: Crecimiento en agar D1M; B: Bacilos; N.A: No Aplicada

Conclusiones. Las cepas nativas aisladas e identificadas del suelo contaminado con hidrocarburos permitirán la construcción de un consorcio de bacterias que pueda ser utilizado para restaurar el equilibrio de un sitio contaminado con hidrocarburos (3). Su identificación preliminar coincide con los principales géneros bacterianos hidrocarburoclastas.

Agradecimiento. Recursos PIFI y PROMEP

Bibliografía.

1. Fernández, L., Rojas, T., Roldán, M., Ramírez, H., Zegarra, R., Hernández, R., et al. (2006). *Manual de técnicas de análisis de suelos aplicadas a la remediación de sitios contaminados*. México: Instituto Mexicano del Petróleo; Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales; Instituto Nacional de Ecología.
2. NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012
3. Milton, C., Boucher, D., Vachelard, C., Perchet, G., et al. (2010). *FEMS Microbiol. Ecol.* 74, 669– 681.