



## CLASIFICACIÓN, ANÁLISIS Y CARACTERIZACIÓN DE DOS HONGOS LIGNIOLITICOS Y TERMOTOLERANTES, AISLADOS DE SUELOS CONTAMINADOS CON PETRÓLEO

Mónica Méndez<sup>1</sup>, Jorge Luis Folch<sup>1</sup>, María del Carmen González<sup>2</sup> y Edgar Dantán<sup>1</sup>. (1) Centro de Investigación en Biotecnología, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Av. Universidad 1001 Col. Chamilpa C.P. 62210. Fax: 01 (777) 3297057. (2) Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. [edantan@cib.uaem.mx](mailto:edantan@cib.uaem.mx)

*Palabras clave:* Biorremediación, Hongos, Filogenia.

**Introducción.** Una de las principales causas de contaminación son los derrames de petróleo. El petróleo es una mezcla extremadamente compleja de compuestos orgánicos. De las diferentes fracciones del petróleo, los hidrocarburos policíclicos aromáticos (HPAs) constituyen un grupo de contaminantes considerado de estudio prioritario debido a sus propiedades mutagénicas, tóxicas y cancerígenas. Los HAPs, son los de mayor toxicidad y al mismo tiempo los más recalcitrantes a los métodos convencionales de remediación (1). El suelo tiene la capacidad de absorber estos compuestos y muchos son volatilizados en la atmósfera, pero son los microorganismos los principales degradadores de estos compuestos (2). La biorremediación es el proceso utilizado para detoxificar contaminantes en los diferentes ambientes –mares, estuarios, lagos, ríos y suelos– usando de forma estratégica microorganismos, plantas o enzimas de estos. Las técnicas de biorremediación pueden ser clasificadas según el tratamiento y a la fase usada. La bioaugmentación, es la inoculación de una alta concentración de microorganismos en el suelo contaminado para facilitar la biodegradación. Uno de los problemas a los que se enfrenta esta táctica, es la posibilidad de contar con organismos endógenos que puedan ser cultivables y manejables, esto es por que, como se van a inocular en el suelo contaminado, estos microorganismos deben poder adaptarse al suelo que se desea tratar. Por este motivo, contar con organismos adaptados a las condiciones de contaminación por petróleo es fundamental.

En este trabajo se presenta la caracterización de dos hongos que son capaces de crecer en altas concentraciones de petróleo y con una gran tolerancia al estrés calórico.

- Purificación de dos cepas de hongos basidiomicetos colectados en suelos contaminados con petróleo en Coatzacoalcos, utilizando diversos medios de cultivo y mediante antibióticos y fungicidas.
- Clasificación taxonómica basada en aspectos morfológicos y moleculares.
- Estudio filogenético analizando el gen del RNA ribosomal 18S.
- Caracterización de ambas cepas a la tolerancia al petróleo y a altas temperaturas.

### Resultados y discusión.

Los hongos fueron colectados sobre un derrame de petróleo, en la región industrial del complejo petroquímico de la Cangrejera, en Coatzacoalcos, Ver. en el mes de marzo.

Mediante la selección de diversos medios de cultivo y la utilización de antibióticos, se lograron aislar y purificar dos cepas de hongos basidiomicetes. Basados en aspectos morfológicos se determinó que las cepas colectadas eran: *Pycnoporus sanguineus* y *Schizophyllum commune*. Estos datos fueron confirmados por la secuencia del gen de tubulina de cada cepa, el cual se aisló por medio de PCR utilizando el DNA genómico de ambos hongos. Basados en secuencias reportadas de otros hongos, se diseñaron un par de oligonucleótidos para amplificar el gen del RNA ribosomal 18S. Los productos amplificados fueron purificados y clonados en un vector. Las clonas se analizaron y se realizó la secuenciación nucleotídica. Utilizando el programa CLUSTALW, se realizó un análisis filogenético para ambas cepas. Para caracterizar los niveles de tolerancia al estrés por calor, de cada una de las cepas, se inocularon ambos hongos en medio V8 y se incubaron durante siete días a 28, 30, 37, 42 y 50°C. Los resultados obtenidos, demostraron que ambos hongos son capaces de crecer aún a 50°C, aunque su crecimiento se retrasa a 42 y 50°C.

### Conclusiones.

Los resultados obtenidos en este trabajo, demuestran que ambas cepas pueden ser excelentes candidatos para ser utilizados como organismos biorremediadores en suelos contaminados con petróleo. Muchos de los sitios contaminados se encuentran en lugares que presentan climas extremos, como es el caso del sureste del país, donde las temperaturas llegan alcanzar hasta los 47°C ó más, por lo que contar con organismos como estos genera una gran alternativa en la biorremediación. El estudio de estos hongos abre diversas líneas de investigación, como poder estudiar la maquinaria ligninolítica o proteínas que le proporcionen la capacidad de termotolerantes y el estudio de las enzimas para un uso industrial.

**Agradecimiento.** Proyecto financiado por: **PROMEP UAEMOR-PTC-119.**

### Bibliografía.

1. Valderrama, B. (2001) Microbiología del petróleo y sus derivados. Publicado en *Microbios en Línea*, Editores: Martínez Romero E. y Martínez Romero J. Publicaciones Digitales, Centro de Investigación sobre Fijación de Nitrógeno-UNAM
2. Crawford, S. L., Johnson, G. E. and Goetz, F. E. (1993). "The potential for bioremediation of soils containing PAHs by composting". *Compost Science & Utilization* 1 (3):41-47.