



AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS HALOFILAS DEGRADADORAS DE HIDROCARBUROS

Dayanira Paniagua, Sylvie Le Borgne, Rafael Vázquez-Duhalt

Instituto de Biotecnología-UNAM, Av. Universidad #2001, Col. Chamilpa Cuernavaca, Morelos c.p. 62210.

Tels: (52 777) 329 1619 Fax: (52 777) 3 17 23 88 Correo electrónico: dashpame@ibt.unam.mx

Palabras Clave: bacterias halófilas, degradación, hidrocarburos

Introducción: Los procesos extractivos de petróleo producen efluentes contaminados con hidrocarburos, conocidos por su alta persistencia y toxicidad, con una salinidad hasta tres veces más alta que la del mar [1], mientras que el 5% de los efluentes industriales a tratar mundialmente son hipersalinos [2]. La biorremediación es una alternativa segura y económica para el tratamiento de dichos efluentes [3], al igual que para ecosistemas hipersalinos. Los microorganismos convencionales utilizados en este tipo de tratamiento no son capaces de adaptarse ni operar en este tipo de ambientes, a diferencia de los organismos halófilos, en los cuales se ha encontrado una amplia diversidad metabólica [4]. Es por ello que se plantea el uso de este tipo de microorganismos para la degradación de hidrocarburos en ambientes hipersalinos.

El objetivo del siguiente trabajo es aislar y caracterizar bacterias halófilas con capacidad degradadora de hidrocarburos.

Metodología: Se aislaron bacterias extraídas de tanques de desalinización en medio mínimo salino con 90 g/l de NaCl (MSM-90) con gasóleo como única fuente de carbono. Los aislamientos fueron analizados por microscopía óptica y electrónica de barrido, así como análisis de espacio intergénico 16S-23S y DGGE (gel de electroforesis de gradiente desnaturizante). Se propagaron y se incubaron a 37°C y 150 r.p.m. durante 5 semanas en MSM-90 con gasóleo. Se cuantificó crecimiento mediante determinación de proteína soluble por el método de Bradford y se extrajo el gasóleo de los cultivos con diclorometano (DCM), posteriormente la muestra se procesó por CG analizando TPH (hidrocarburos totales de petróleo).

Resultados y discusión: Se aislaron 4 cepas: 8.113, 8.15b, 6.25, 5.59 provenientes de tanques de desalinización de petróleo. Las colonias muestran forma circular, color crema, borde entero, son mayores a 1mm, elevación convexa, superficie lisa, de consistencia suave y butirosa, aspecto húmedo, presencia de esporas. La forma celular es de bacilos, con esporas apicales (figura 1). Las cepas 6.25 y 5.59 presentan tinción de Gram positiva, mientras que las cepas 8.15b y 8.113 presentan tinción de Gram negativa. Análisis de espacio intergénico 16S-23S y DGGE muestran que las cepas son distintas. Estas cepas se propagaron en MSM-90 y gasóleo como única fuente de carbono, observando un buen crecimiento después de 5 semanas, con lo que se prueba que las bacterias utilizan el gasóleo como

sustrato. Al hacer el análisis de TPH se observa un patrón de degradación de los compuestos más pesados (figura 2).

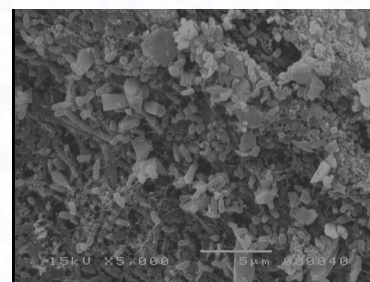


Fig 1. Fotografía de microscopía electrónica de barrido de la cepa 8.15b

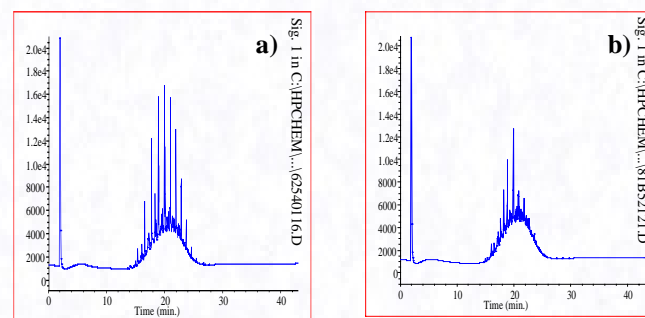


Fig 2. a) Cromatograma de TPH control después de 5 semanas de incubación. b) Cromatograma de TPH de la cepa 6.25 después de 5 semanas de incubación

Conclusiones: Se aislaron y caracterizaron cuatro cepas halófilas con capacidad degradadora de hidrocarburos.

Bibliografía.

1. Díaz M. P., Boyd K.G., Grigson S.J.W., and Burgess J.G. 2002. Biodegradation of crude oil across a wide range of salinities by and extremely halotolerant bacterial consortium MPD-M, immobilized onto polyethilen fibers. *Biotechnol Bioeng.* 79 (2): 145-153.
2. Lefebvre O., Habouzit F., Bru V., Delgenes J.P. Godon J.J. y Moletta R. 2004. Treatment of hypersaline industrial wastewater by a microbial consortium in a sequencing batch reactor. *Environ. Technol.* 25: 543-553.
3. Pieper, D y Reineke, W. (2000). Engineering bacteria for bioremediation. *Curr Opin Biotechnol.* 11:262-270.
4. Oren A. 2002. Diversity of halophilic microorganisms: Environments, phylogeny, physiology, and applications. *J Ind Microbiol Biotechnol.* 28: 56-63.