



TOLERANCIA A METALES DE ENTEROBACTERIAS AISLADAS DE UNA BIOPELICULA FORMADA EN EL INTERIOR DE UN DUCTO DE GAS AMARGO.

Iván Galán y Sylvie Le Borgne. UAM-Cuajimalpa, Departamento de Procesos y Tecnología, Av. Pedro A. de los Santos 84, Col. San Miguel Chapultepec, 11850 México D.F. Fax (+52) (55) 58-04-64-07. Correo electrónico: sylvielb@correo.cua.uam.mx.

Palabras clave: Metales, enterobacterias

Introducción. La descarga de metales tóxicos en el medio ambiente es preocupante ya que estos metales pueden ingresar a las cadenas tróficas mediante la adsorción por las plantas o el lavado hacia los acuíferos. Se han reportado diferentes mecanismos por los cuales los microorganismos reaccionan a la presencia de metales incluyendo la biosorción, la precipitación o la transformación enzimática de los metales (1). Estos mecanismos pueden ser explotados en la bioremediación de metales. Varios microorganismos, bacterias, hongos, protistas, han sido descritos que pueden interactuar con metales. Diferentes corrientes y efluentes de las industrias petroleras contienen grandes cantidades de compuestos tóxicos como hidrocarburos aromáticos y policíclicos, fenoles, sulfuros y metales pesados. Un trabajo anterior reportó el aislamiento de cepas de *Escherichia hermannii* y *Enterobacter cloacae*, capaces de tolerar y acumular vanadio, a partir de muestras de suelos contaminados de una refinería (2).

En este trabajo, reportamos el aislamiento e identificación de cepas de bacterias entéricas a partir de una biopelícula formada en el interior de un ducto de la industria petrolera transportando gas amargo y examinamos su tolerancia a diferentes metales tóxicos.

Metodología. La muestra de biopelícula fue tomada y cultivada en un medio anaerobio como descrito anteriormente (3). Posteriormente las bacterias anaerobias facultativas presentes en este cultivo fueron cultivadas en condiciones aerobias en medio de soya tripticasa. La identificación bacteriana se hizo mediante pruebas bioquímicas en la galería automatizada Vitek (BioMerieux). Las pruebas de tolerancia a metales pesados fueron realizadas en medio sólido de soya tripticasa suplementado con diferentes concentraciones del metal a estudiar a partir de una solución stock 1 M preparada en agua y esterilizada por filtración.

Resultados y discusión. Un estudio molecular preliminar indicó la presencia de diversas enterobacterias además de una bacteria sulfato-reductora en el consorcio desarrollado en condiciones anaerobias a partir de la biopelícula colectada en la superficie del ducto de gas amargo (3). La secuenciación parcial del gene 16S rRNA identificó la presencia de los géneros *Klebsiella*, *Citrobacter* y *Pantoea*. Después de realizar el aislamiento en condiciones aerobias, se obtuvieron tres cepas denominadas GA1, GA2 y GA3 que fueron identificadas mediante pruebas bioquímicas (Cuadro 1). En el caso de *Klebsiella*, el porcentaje de similitud muestra que la especie podría no ser *pneumoniae*, solo un

estudio molecular permitirá resolver esta duda mediante secuenciación del gene 16S rRNA y hibridación DNA-DNA.

Cuadro 1. Identificación bioquímica de los aislados.

Aislado	Identificación
GA1	<i>Klebsiella pneumoniae</i> 96% <i>Klebsiella ornithinolytica</i> <3%
GA2	<i>Citrobacter freundii</i> 99%
GA3	<i>Enterobacter cloacae</i> 99% <i>Enterobacter intermedius</i> <1%

Posteriormente, se realizaron pruebas de tolerancia a metales. En el cuadro 2, se reporta la máxima concentración tolerada para cada una de los aislados.

Cuadro 2. Patrones de tolerancia a metales.

Aislado	Concentración máxima tolerada (mM)						
	Co ²⁺	CrO ₄ ²⁻	Ni ²⁺	Mo ⁵⁺	Cu ²⁺	Zn ²⁺	[VO ₃] ⁻
GA1	2	1	5	2	5	10	50
GA2	2	1	2	1	2	10	100
GA3	5	1	50*	2	5	10	100

* El tamaño de las colonias disminuye a partir de 2 mM

Los niveles de tolerancia encontrados son altos comparados con los reportados en la literatura; es destacable la excepcional tolerancia a Ni²⁺ (hasta 50 mM) del aislado de *Enterobacter*. Se han reportado en la literatura otros aislados ambientales de *Klebsiella*, *Citrobacter* y *Enterobacter* de aguas residuales y zonas costeras con contaminación fecal que fueron capaces de acumular metales y mostraron una alta tolerancia a metales. La detección de enterobacterias en ductos de la industria petrolera muestra que estas bacterias también pueden ser encontradas en otros ambientes muy distintos.

Conclusiones. Los aislados aquí reportados fueron tolerantes a altas concentraciones de algunos metales; si además pueden acumular o transformar estos metales en compuestos menos tóxicos, podrían ser útiles en bioremediación de metales. Con este estudio extendemos el rango de hábitats en los cuales se pueden encontrar las enterobacterias.

Bibliografía.

- Valls M., de Lorenzo V. (2002) Exploiting the genetic and biochemical capacities of bacteria for the remediation of heavy metal pollution. FEMS Microbiol. Rev. 26(4): 327-338.
- Hernandez A. et al. (1998) Metal accumulation and vanadium-induced multidrug resistance by environmental isolates of *Escherichia hermannii* and *Enterobacter cloacae*. Appl. Environ. Microbiol. 64(11): 4317-4320.
- Jan-Roblero J. et al. (2004) Phylogenetic characterization of a corrosive consortium isolated from a sour gas pipeline. Appl. Microbiol. Biotechnol. 64(6): 862-867.