

USO DE BIFENILOS POLICLORADOS COMERCIALES (PCB, AROCLOR 1232) POR LA ESPECIE BACTERIANA CONSTRUIDA GENETICAMENTE *Ralstonia eutropha* H850-4LT

Rolf-Michael Wittich^{1,2} y Peter Wolff²

¹ Línea Contaminación y Biodegradación, Departamento de Ecología Acuática, ECOSUR unidad Chetumal, Carretera Chetumal-Bacalar Km 2, CP 77000 Chetumal, Quintana Roo, México. Tel y Fax: 983-835-0440

² Division of Microbiology, German Research Center for Biotechnology, Braunschweig, Alemania

E-mail: wittich@ecosur-qroo.mx

Palabras clave: ingeniería genética, biodegradación, Aroclor 1232, *Ralstonia eutropha* H850-4LT (modificada)

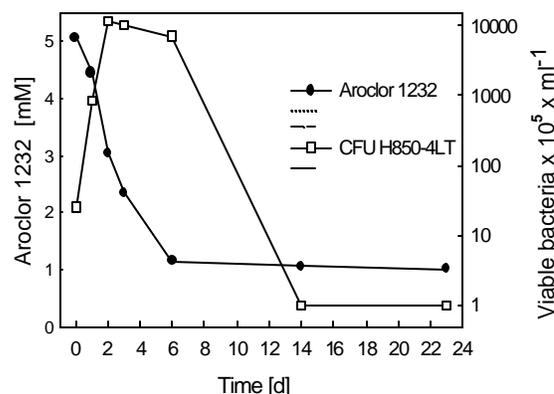
Introducción. Está restringida la biodegradación aerobia de bifenilos policlorados comerciales (PCB) como Aroclor, Fenclor etc. por bacterias a los congéneres oligoclorados via de intermedios clorados como ácidos clorobenzoicos (1). Existen reportes sobre la biomineralización de bifenilos mono y biclorados, como se encuentran en el Aroclor 1221, por bacterias obtenidas por un intercambio de genes de manera natural o *in vitro*, o con las herramientas de la biología molecular (2,3,4,5). El objetivo principal de este trabajo es mostrar la aplicación de vectores genéticos y su expresión con éxito bajo estrés de selección en sistemas naturales y artificiales, contaminados por PCB.

Metodología. Se utilizó un sistema de vectores sobre la base de minitransposon Tn5 o Tn10 (6). La especie blanco con capacidad de mineralizar bifenilo, fue *Ralstonia eutropha* H850. Los genes que codifican para la dioxigenasa de ácido tolúico, *xyID* de *Pseudomonas putida* mt-2 TOL; la dioxigenasa de ácido 2-clorobenzoico, *cbdABC* de *Burkholderia cepacia* 2CBS y la clorocatecol dioxigenasa, *tcbRCDEF* de *Pseudomonas* sp. P51, fueron integrados en forma estable en el cromosoma de la bacteria blanco. Se cuantificó la desaparición de clorobifenilos en medios líquidos con sales básicas y con las bacterias modificadas. Se utilizó un sistema HPLC con una columna de fase reversa, G18-2, y una fase móvil de metanol/agua de 95/5 vol %, leyendo a 210 nm.

Resultados y Discusión. Se aislaron derivados de la especie *Ralstonia eutropha* H850 sobre un medio sólido con mezclas de ácidos clorobenzoicos, exprimiendo la nueva capacidad de mineralizar todos los monoclorobifenilos, 2,2'-dicloro-, 2,3'-dicloro-, 2,4'-dicloro-, 3,5-dicloro- y 3,4'-diclorobifenilo. Aroclor 1221 fue degradado en un 98 % en medio líquido y Aroclor 2132 en un 83 % (Figura 1). El crecimiento de las bacterias modificadas en este medio ascendió a casi tres dimensiones con los PCBs individuales del Aroclor 1232. La biomasa producida indicó una utilización significativa del carbono del Aroclor.

Conclusiones. Porque hasta hoy no fue posible con éxito el aislamiento de especies bacterianas con capacidad de crecer con, y biodegradar ni Aroclor 1221 ni Aroclor 1232, una construcción racional de nuevos derivados bacterianos como los reportados tenía sentido. Estudios sobre la mineralización de Aroclor 1232 en sedimentos artificialmente contaminados

Degradation of Aroclor 1232 by *Ralstonia eutropha* H850-4LT



están en progreso en nuestro laboratorio. Estamos siguiendo mejorando la especie mencionada.

Bibliografía.

1. Higson, F.K. 1992. Microbial degradation of biphenyl and its derivatives. *Adv. Appl. Microbiol.* 37: 135-164.
2. Havel, J., Reineke, W. 1993. Degradation of Aroclor 1221 in soil by a hybrid pseudomonad. *FEMS Microbiol. Lett.* 108: 211-217.
3. Potrawfke, T., Löhnert, T.-H., Timmis, K.N. Wittich, R.-M. 1998. Mineralization of low-halogenated biphenyls by *Burkholderia* sp. strain LB400 and by a two-membered consortium upon directed inter-species transfer of chlorocatechol pathway genes. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 50: 440-446.
4. Reineke, W. 1998. Development of hybrid strains for the mineralization of chloroaromatics by patchwork assembly. *Annu. Rev. Microbiol.* 52: 287-331.
5. Hrywna, Y., Tsoi, T.V., Maltseva, O.V., Quensen, J.F. 3rd, Tiedje, J.M. 1999. Construction and characterization of two recombinant bacteria that grow on *ortho*- and *para*-substituted chlorobiphenyls. *Appl. Environ. Microbiol.* 65: 2163-2169.
6. De Lorenzo, V. 1994. Analysis and construction of stable phenotypes in gram-negative bacteria with Tn5- and Tn10-derived minitransposons. *Methods. Enzymol.* 235: 368-405.