

## DINAMICA DE POBLACIONES BACTERIANAS DE SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS EN BIOPILAS DE REMEDIACION.

Aída Hamdan Partida<sup>1,2</sup>, María Trejo-Hernández<sup>3</sup>, Octavio Loera<sup>2</sup> y Hugo Ramírez-Saad<sup>1</sup>, Universidad Autónoma Metropolitana. 1.Unidad Xochimilco. Depto. Sistemas Biológicos. Calz. del Hueso # 1100, Villa Quietud. C.P. 04960  
2. Iztapalapa. Depto. Biotecnología San Rafael Atlixco No. 186 C.P. 09340 México, D.F. Centro de Biotecnología.  
Universidad Autónoma del Estado de Morelos<sup>3</sup>, Cuernavaca, Mor. Fax. 54. 83. 72 37.  
aidahamdan@yahoo.com.

Palabras clave: DGGE, biomonitorio.

**Introducción.** El análisis de las comunidades microbianas involucradas en procesos de biodegradación de hidrocarburos ha sido un desafío para los microbiólogos. La estructura, diversidad, dinamismo y estabilidad de las poblaciones microbianas en muestras ambientales se pueden estudiar por técnicas de biología molecular. Debido a que los análisis de microbiología tradicional son insuficientes para establecer estos parámetros poblacionales, ya que entre 90 y 99% de estas especies no son cultivables (5). La aplicación de técnicas de biología molecular ofrece varias técnicas para el análisis de comunidades microbianas. Una de éstas es la Electroforesis en Gel con Gradiente de Desnaturalización (DGGE), que permite obtener perfiles de las comunidades microbianas presentes en diversos ambientes, sin necesidad de cultivar (2). El 16S rRNA y su respectivo gen (16S rDNA) son marcadores moleculares apropiados para generar dichos perfiles moleculares de la comunidad. Las biopilas son una tecnología de biorremediación el cual utiliza procesos fisicoquímicos y biológicos, a donde el suelo contaminado se mezcla con un material texturizante (bagazo de caña). El objetivo de este trabajo fue conocer la estructura y dinamismo de poblaciones microbianas en procesos de biorremediación mediante biopilas de suelo de Campo 10, Poza Rica.

**Metodología.** Cuantificación de bacterias totales en agar nutritivo y de bacterias hidrocarbonoclastas en agar medio mineral para hidrocarbonoclastas (1). Extracción del ADN de los suelos por el método de LisoZima-Bead Beater-SDS (4). En la amplificación por PCR para la región V6-V8 del 16S rDNA se utilizaron los cebadores GC968f y UNI1401r. El DGGE se realizó en un gradiente de 44 – 54% de desnaturizantes (formamida y urea) tanto del suelo como de las cepas aisladas de las muestras.

**Resultados y discusión.** Las cuentas bacterianas en suelo contaminado con hidrocarburos mostraron incremento de dos órdenes de magnitud en el número de bacterias hidrocarbonoclastas, con respecto al suelo control no contaminado. Un efecto similar se observó en el número total de bacterias, aunque la diferencia es de solo un orden de magnitud. El monitoreo de las poblaciones microbianas durante su tratamiento en biopilas, produjo patrones de bandas diferentes entre el suelo control y el contaminado. Se encontraron bandas correspondientes a poblaciones prominentes a lo largo de los diferentes tiempos de muestreo. A partir de bacterias hidrocarbonoclastas aisladas de las muestras, se obtuvieron los patrones de DGGE de 20

cepas puras, de ellas sólo una cepa coincidió con el patrón de bandas de los suelos.

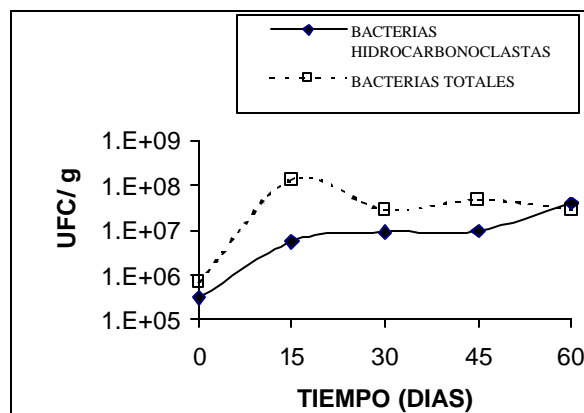


Tabla 1. Cuentas viables a diferentes tiempos de tratamiento en biopilas.

**Conclusiones.** Las bacterias hidrocarbonoclastas aumentaron en 2 órdenes de magnitud a lo largo del tratamiento. Los patrones de bandas en el DGGE en combinación con las huellas moleculares de los aislados obtenidos, sugirieron que la mayoría de las especies bacterianas que están en el proceso de biorremediación no son cultivables con los medios de cultivo utilizados.

**Agradecimientos.** Proyecto CONACYT 33584-B y al IMP a través de un proyecto FIES. AHP contó con beca CONACYT para estudios de posgrado.

### Bibliografía.

- Hernández, B. (2002). La rizosfera de plantas gramíneas y leguminosas en la fitorremediación de suelos contaminados con petróleo. *Tesis Doctoral*. Colegio de Posgraduados. Instituto de Recursos Naturales.
- Muyzer, G. Waal, E. Uitterlinden, A. (1993). Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction amplified genes coding for 16S rRNA. *Appl. Environ. Microbiol.*59: 695-700.
- Muyzer, G, Brinkhoff, T, Nübel, U. (1998) Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) in microbial ecology. En *Molecular Microbial Ecology Manual*. Chap.4. 4.: 1-27.
- Ogram, A. Saylor, S. Barkay, T. (1998). Isolation of nucleic acids from environmental samples. *Techniques in Microbial Ecology*, Oxford University Press New Cork 273-288.
- Rozsak, D., Colwell, R. (1987) Survival strategies of bacteria in the natural environment. *Microbiol. Rev.* 51: 365-379.