



# XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



## Inducción de alcano monooxigenasas involucradas en el cometabolismo del metil *tert* butil éter en bacterias del género *Pseudomonas*.

Ana Luisa Bravo de la Garza, Sylvie Le Borgne y Marcia Morales Ibarra Universidad Autónoma Metropolitana Cuajimalpa Departamento de Procesos y Tecnología, México DF CP 01120, arisa\_ana@hotmail.com.

*Palabras clave:* Alcano monooxigenasa, Cometabolismo, MTBE.

**Introducción.** El metil *tert* butil éter (MTBE) es un carcinógeno potencial que se agrega a las gasolinas para reducir las emisiones vehiculares. Este compuesto constituye un problema ambiental al contaminar aguas subterráneas por derrames o fugas de gasolina. A pesar de que el MTBE es recalcitrante, hay microorganismos capaces de biodegradarlo como las bacterias del género *Pseudomonas* que lo degradan por cometabolismo (1), por la acción de monooxigenasas (MO) inducidas durante el metabolismo de alcanos utilizados para el crecimiento. El objetivo fue evaluar en dos aislados del género *Pseudomonas*, el efecto de diversos inductores de MO en la biodegradación cometabólica del MTBE y determinar la presencia de los genes y la expresión de dichas enzimas.

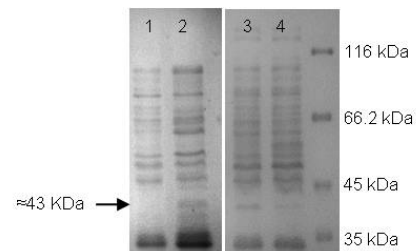
**Metodología.** La degradación cometabólica del MTBE se evaluó usando un medio mineral simple durante 24 h, en presencia y ausencia de los inductores: dicitopropilcetona (DCPK), pentano (C<sub>5</sub>) y octano (C<sub>8</sub>) (2). Se evaluó también la producción del intermediario *tert* butil alcohol (TBA). A partir de ADN genómico se amplificaron genes homólogos al gen *alkB* de *Pseudomonas putida* GPO1 (3), la expresión de proteínas de membrana, homólogas a la alcano hidroxilasa (AlkB), se analizó por electroforesis (SDS-PAGE) de la fracción de membrana de cultivos con cada inductor.

**Resultados.** Los aislados Ps1 y Ps2 identificados como *P. aeruginosa* y *P. nitroreducens* fueron capaces de biodegradar MTBE con C<sub>5</sub>, C<sub>8</sub> o DCPK (Tabla 1), pero no al ser cultivadas en medio rico con glucosa.

**Tabla 1.** Consumo de MTBE y rendimiento de TBA en MTBE de cultivos de Ps1 y Ps2 en presencia y ausencia de inductores

Inductor	Consumo MTBE (%)		Y <sub>TBA/MTBE</sub> (mgC <sub>TBA</sub> /mgC <sub>MTBE</sub> )	
	En presencia	En ausencia	En presencia	En ausencia
<b>Ps1</b>				
DCPK	18.4 ± 0.5	49.9 ± 17.2	0.062	0.032
Pentano	27.8 ± 8.3	39.3 ± 0.8	0.384	0.088
Octano	35.5 ± 0.6	37.2 ± 2.1	0.677	0.177
<b>Ps2</b>				
DCPK	44.6 ± 6.8	45.6 ± 3.5	0.503	0.073
Pentano	48.8 ± 10.5	53.5 ± 15.4	0.526	0.369
Octano	42.0 ± 2.7	60.0 ± 16.4	0.701	0.154

La biodegradación de MTBE por Ps1 fue mayor en los cultivos en presencia de DCPK y C<sub>5</sub>; para Ps2 no se observó ningún efecto de la presencia o ausencia de los inductores (Tabla 1). Sin embargo, en ambos aislados hubo un efecto sobre la acumulación de TBA en el medio, representado por Y<sub>TBA/MTBE</sub>, siendo significativamente menor en ausencia de inductores (Tabla 1), sugiriendo que existe competencia entre el consumo del TBA y de los inductores, pero no entre el TBA y el MTBE. La biodegradación de MTBE con DCPK con Ps1 y Ps2 indica la actividad de una monooxigenasa homóloga a AlkB (2), por lo que se buscó el gen que codifica dicha enzima, amplificándose una secuencia de ~1280 pb. El perfil de las proteínas de membrana extraídas de Ps1 con DCPK, C<sub>5</sub> y C<sub>8</sub> muestra una banda de 43kDa, similar al peso molecular de AlkB, que no aparece en el extracto de medio rico (Fig.1).



**Fig. 1.** Electroforesis de proteínas de cultivos de Ps1 en medio rico (1), con DCPK (2) y en medio mineral con C<sub>5</sub> (3) y C<sub>8</sub> (4).

**Conclusiones.** Las enzimas que oxidan al MTBE por cometabolismo en Ps1 y Ps2, son monooxigenasas homólogas a AlkB con capacidades catabólicas distintas. Para Ps1, la presencia de inductores disminuye la biodegradación de MTBE, mientras que para Ps2 no hay efecto por la presencia o ausencia de los inductores en la biodegradación. En ambos aislados, la presencia de inductores favorece la acumulación de TBA en el medio.

**Agradecimiento.** Al Doctorado en Ciencias Biológicas de la UAM, al Instituto de Ciencia y Tecnología del DF y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (proyecto 24647), por el apoyo otorgado.

### Bibliografía.

- Morales M, Nava V, Velásquez E, Razo-Flores E y Revah S (2009). *Biodegradation*. 20 (2): 271-280.
- Smits THM, Balada SB, Witholt B y van Beilen JB (2002). *J Bacteriol*. 184 (6): 1733-1742
- van Beilen JB, Smits THM, Roos FF, Brunner T, Balada SB, Röttlisberger M y Witholt B (2005). *J Bacteriol*. 187 (1): 85-91.