

## ESTRUCTURA DE LA POBLACIÓN BACTERIANA EN UN SISTEMA INDUSTRIAL DE BIODEGRADACIÓN DE FENOL

Ana Milena Valderrama F. y Julia Raquel Acero  
Laboratorio de Biotecnología, ECOPEPETROL-Instituto Colombiano del Petróleo  
Km 7 Autopista Piedecuesta, Piedecuesta, Santander, COLOMBIA.  
Fax: (9776) 445444 e-mail: [jacero@ecopetrol.com.co](mailto:jacero@ecopetrol.com.co)

**Palabras clave:** Fenol, ADNr 16S, *Pseudomonas spp.*

**Introducción.** En la industria del petróleo se generan residuos fenólicos como producto del desalado del crudo, procesos de destilación y extracción. Desde 1994 se implementó con éxito en la GCB de ECOPEPETROL, un sistema de biodegradación de fenol. Recientemente se han empleado técnicas moleculares como el análisis del ADNr 16S para el monitoreo y caracterización de poblaciones microbianas en el ambiente (1). El objetivo de este estudio fue caracterizar fisiológica y molecularmente las bacterias degradadoras de fenol dominantes en la planta de tratamiento de fenol de la GCB en los años 1997 y 2000.

**Metodología.** Los microorganismos fueron aislados de la planta de tratamiento de fenol en medio basal de sales suplementado con fenol (50 ppm). La identificación de las bacterias aisladas se realizó con el sistema BIOLOG Versión 4.0. La amplificación del ADNr 16S se realizó de acuerdo a lo reportado por Marchesi *et al.* (2). El análisis de restricción fue realizado con las enzimas *Hae* III y *Rsa* I usando procedimientos convencionales. La amplificación del fragmento *dmpN* se realizó según Selvaratnam *et al.* (3).

**Resultados y Discusión.** Las cepas aisladas en el año 1997 fueron identificadas por BIOLOG como *Pseudomonas putida* Biotipo B1 (ICP 16), *Ps. putida* Biotipo B2 (ICP 18) y *Ps. putida* Biotipo A1 (ICP 21); las del año 2000 correspondieron a *Ps. aeruginosa* (ICP 244), *Ps. putida* Biotipo B (ICP 245) y *Ps. putida* Biotipo B (ICP 246). La amplificación del ADNr con los primers 63f y 1387r (2) dio origen a un fragmento de 1300 pares de bases, el análisis de restricción dio origen a patrones característicos como se observa en la Figura 1. La amplificación del fragmento *dmpN* se evidenció por la presencia de una banda de 200 pares de bases para las cepas ICP 16, ICP 21 e ICP 245. El análisis de restricción, la amplificación del *dmpN* y las características bioquímicas permitió establecer la estructura y predominio de la población bacteriana en el sistema a escala industrial. Las cepas ICP 16 e ICP 245 así como las cepas ICP 18 e ICP 246 presentaron patrones bioquímicos y moleculares semejantes. La cepa ICP 21 no se recuperó en el año 2000 y se destaca la selección de una nueva cepa de *Ps. aeruginosa*.

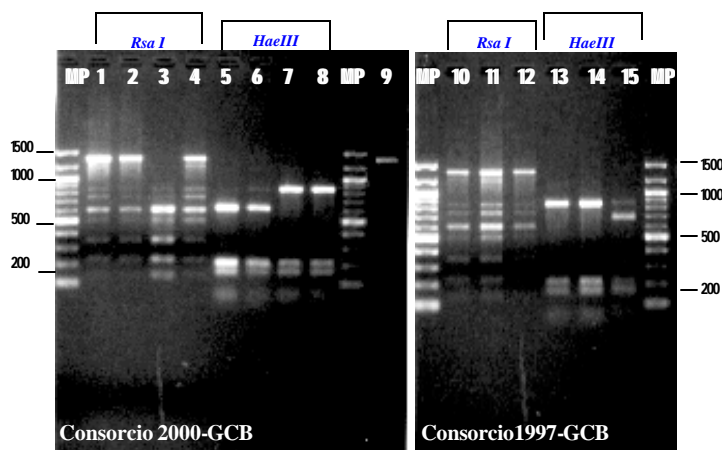


Fig 1. Análisis de restricción del ADNr 16S.

**Conclusiones.** Este estudio permitió verificar la selección de una población dominante de bacterias degradadoras de fenol a nivel industrial.

Las cepas ICP 16 e ICP 18 del año 1997 presentan características fisiológicas y moleculares semejantes a las cepas ICP 245 e ICP 246 del año 2000 que permiten sugerir su permanencia en campo.

El análisis del ADNr 16S y la amplificación de secuencias específicas como la fenol hidroxilasa, constituyen herramientas de gran utilidad en el estudio de estructuras poblacionales microbianas.

### Bibliografía.

- Widmer, F., Seidler, R., Gillevet, P., Watrud, L. y Giovanni, G. 1998. A highly selective PCR protocol for detecting 16S rRNA genes of the genus *Pseudomonas* (Sensu Stricto) in environmental samples. *Appl. Environ. Microbiol.* Vol 64 (7): 2545-2553.
- Marchesi, J., Sato, T., Weightman, A., Martín, T., Fry, J., OIM, S. y Wade, W. 1998. Design and evaluation of useful bacterium-specific PCR primers that amplify genes coding for bacterial 16S RNA. *Appl. Environ. Microbiol.* Vol 64 (2): 795-799.
- Selvaratnam, B., Shoedel, B., McFarland, C. y Kulpa, F. 1997. Application of the polymerase chain reaction (PCR) and reverse transcriptase/PCR for determining the fate of phenol-degrading *Pseudomonas putida* ATCC 11172 in a bioaugmented sequencing batch reactor. *Appl. Environ. Microbiol.* Vol 47: 236-240.