

AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS DE ORIGEN MARINO CON CAPACIDAD DE BIODEGRADAR HIDROCARBUROS

Silvestre A. Hernández Rivera

Resumen

Se utilizaron 10 muestras de agua de mar, de diferentes profundidades, obtenidas del estuario del río Coatzacoalcos para extraer e identificar bacterias indígenas con capacidad de biodegradación de hidrocarburos. Las muestras extraídas crecieron en medio marino, utilizando las sales y concentraciones que propone Mulkins G.J. et. al (1974), modificado por la ausencia de trazas de diversas sales y haciéndolo por inoculación directa: 2.5 ml por cada 25 ml de medio marino, en concentraciones de 10 y 20% de aceite crudo proveniente de la Refinería Tula, Hidalgo. Dichas muestras se pusieron en agitación continua a 30° y 46 rpm, identificándose diversos géneros de bacterias, tales como: Bacillus, Streptococcus, Vibrio, Aeromonas, Chromobacterium, Beneckea, etc., prometedores en la biodegradación de hidrocarburos.

Introducción

La contaminación que sufren las aguas de mar debido a los continuos derrames de petróleo originados en las plataformas marinas o por los buquetanques petroleros, hace que se presenten perturbaciones alarmantes en los ecosistemas acuáticos cuyos daños, en la mayoría de los casos, son irreversibles, ya que modifican las condiciones de vida y disminuyen la variedad de organismos que hay en cada uno de ellos.

Las alteraciones pueden ser desde la desoxigenación del medio receptor, ocasionado por el crecimiento y multiplicación de organismos que utilizan como fuente de sustrato las materias orgánicas biodegradables (Gatellier, C.R. 1971), hasta los cambios que sufre el medio receptor tanto en su composición química como en sus características físicas.

De ahí la importancia de encontrar nuevas formas de control en dichas perturbaciones a través de microorganismos biodegradantes de hidrocarburos (Mulkins, G. J. *et. al*, 1974), ya sea para estudiarlos en forma individual o en cultivos mixtos (Walker, J. D. *et. al*, 1975).

Con base en antecedentes que refieren su existencia y distribución se sabe que ésta es amplia en las aguas de mar (Humitake, Seki, 1973) e incluso es mayor su presencia en el medio ambiente días después de ocurridos los derrames de hidrocarburo.

Material y método

Se emplearon 10 muestras de agua de mar que fueron colectadas, a diferentes profundidades (0.30 a 3 mts) del estuario del río Coatzacoalcos y depositadas en frascos estériles. Se usó 2.5 ml. de la muestra como inóculo directo por cada 25 ml de medio marino (Mulkins, G.J., *et. al*, 1974), modificado por la ausencia de trazas de diversas sales. Las sales utilizadas en grs por litro fueron: Fosfato Dibásico de potasio 4.74, Fosfato Monobásico de Potasio 0.56, Sulfato de Magnesio 0.50, Cloruro de Sodio 28.4, Cloruro de Calcio 0.1, Nitrato de Amonio 2.5.

El medio marino se distribuyó en tubos de ensayo en cantidades de 25 ml por cada uno y se esterilizó a 121°C durante 15 minutos en autoclave; después se le agregó a cada tubo 2.5 ml de inóculo en forma directa y se le adicionó, finalmente, aceite crudo en una concentración de 10%. Enseguida se puso en baño de agitación continua a 30° y 46 rpm dejándose para su crecimiento durante 48 hrs. Posteriormente se prepararon tubos con medio marino a los que se les agregó inóculo (2.5 ml) proveniente del cultivo anterior, más hidrocarburo al 20%, dejándose en las mismas condiciones que los tubos de ensayo anteriores, durante 103 hrs. Basándose en los resultados obtenidos se seleccionaron 7 muestras que se consideraron las más eficaces en la biodegradación del hidrocarburo y se sometieron al mismo proceso pero ahora con aceite crudo al 10%, para observar su comportamiento dejándose durante 72 hrs en las mismas condiciones que los tubos anteriores.

Una vez crecidos los aislados en dichos tubos, se extrajo una muestra con el asa, misma que se estrió sobre placas de Agar con hidrocarburo, incubándose a 30°C hasta obtener crecimiento (el medio fue esterilizado inicialmente a 121°C durante 15 minutos en el autoclave).

Por último, se prepararon placas de Agar Mueller-Hinton para purificar las

muestras anteriormente crecidas obteniéndose diferentes cepas de cada una de ellas, en algunos casos hasta dos y tres cepas diferentes que fueron sometidas a diversas pruebas bioquímicas para su identificación.

Resultados

En las primeras muestras con inóculo 2.5 ml por cada 25 ml de medio marino y con hidrocarburo al 10%, se observó desaparición del hidrocarburo a las 72 hrs y un intenso crecimiento bacterial.

En la segunda muestra con la misma cantidad que la muestra anterior, tanto de medio marino como de inóculo, pero con hidrocarburo al 20%, la cepa de hidrocarburo desapareció prácticamente a las 103 hrs y se observó un intenso crecimiento bacterial.

Por lo que hace a las muestras que contenían medio marino e inóculo en las mismas proporciones que las muestras anteriores y con hidrocarburo al 10%, éste casi desapareció a las 72 hrs, e igualmente se observó un intenso crecimiento bacterial.

Respecto a las bacterias crecidas en un inicio en placas de Agar con hidrocarburo y más tarde en Agar Mueller-Hinton, se aislaron y purificaron en algunos casos hasta dos y tres cepas que dieron como resultado el aislamiento e identificación de los siguientes géneros: *Streptococcus*, *Bacillus*, *Vibrio*, *Aeromonas*, *Beneckea*, *Macromonas*, etc. que por su comportamiento en la biodegradación de hidrocarburos representan una alternativa para el control de la contaminación causada por éstos en el medio acuático.

Discusión

De los resultados obtenidos, podemos considerar que la presencia de hidrocarburos contaminantes en aguas marinas ha dado origen a que diversos microorganismos (*Streptococcus*, *Bacillus*, *Vibrio*, *Aeromonas*, *Beneckea*, etc., algunos de los cuales coinciden con los encontrados por otros investigadores: Mulkins-Phillips, G. J. *et. al*, 1974 y Baumann, P., 1981) que se encuentran normalmente en el medio, presenten la capacidad de utilizar el hidrocarburo como una fuente de carbono para su subsistencia. Dichos microorganismos, después de los derrames de hidrocarburos, incrementan su número debido a la abundancia de "alimento" (Sirvins, s., Tramier, B., 1986). Finalmente, la cantidad de bacterias disminuye a causa de la reducción de nutrientes, de la formación de nuevas sustancias producidas al biodegradar el hidrocarburo (Gordon, D. C., *et. al*, 1971) a los cambios de temperatura (Atlas, R. M., 1975). Con todo, estos microorganismos no desaparecen del medio a pesar de que no sea notoria la presencia de hidrocarburos en el agua.

Se observó también que los microorganismos al ser sometidos a diferentes concentraciones, no poseen todos la misma capacidad para degradar el contaminante, sin embargo cuando trabajan en conjunto (inóculo mixto) su capacidad de degradación aumenta.

En resumen podemos decir que en los microorganismos marinos se encuentra, a mediano y largo plazo, una fuente de importante ayuda para contrarrestar la contaminación de las aguas marinas, quedando demostrado, positivamente, su comportamiento en la biodegradación de hidrocarburos.

* * *