

UTILIZACION DE HIDROCARBUROS POR OOMYCETES I: *Achlya polyandra* Hildebrand.

Mónica M. Steciow & Angélica M. Arambarri.
Instituto de Botánica "Spegazzini", 53 N° 477,
1900 - La Plata. Buenos Aires

Palabras clave: *Achlya polyandra*, hidrocarburos.
Key words : *Achlya polyandra*, hydrocarbons.

RESUMEN

Se ensayó el crecimiento de *Achlya polyandra* usándose como fuente carbonada: heptano, benceno, xileno, tolueno, nafta común, gas oil y kerosene.

Esta especie mostró abundante crecimiento en las dos mezclas hidrocarbonadas (combustibles): gas oil y kerosene; en cambio, fue limitado en tolueno, benceno, xileno y nafta común, no registrando crecimiento en heptano.

INTRODUCCION

La presencia de grandes cantidades de petróleo y sus derivados en ríos y océanos es el resultado de un manejo indiscriminado de estos contaminantes por el hombre y ha sido denunciado por distintos autores (Bossert & Bartha, 1984 y Andelman & Snodgrass, 1974). El proceso de refinado de los crudos del petróleo, da lugar a distintas fracciones y productos que pueden utilizarse directamente o acoplarse a nuevos procesos de síntesis. Estos son los combustibles de automóviles, de aviación, industriales, domésticos, aceites lubricantes, etc., lo que da una idea de la amplia gama de productos que pueden ser elaborados por el hombre. La diversidad de fuentes contaminantes, así como la dificultad en la identificación de su procedencia hace difícil su control el cual debería realizarse mediante un apropiado

SUMMARY

[*Hydrocarbons utilization by Oomycetes I: Achlya polyandra* Hildebrand.]

We assay the growing of *Achlya polyandra* using as the only carbon source: heptane, benzene, xilene, toluene, gasoline, gas oil and kerosene.

This species grew well in gas oil and kerosene; for instance it grew in toluene, benzene and xilene very few and it did not grow in heptane.

tratamiento de las agua residuales.

La biodegradación microbiana es el proceso más importante de eliminación de los hidrocarburos del petróleo no volátiles presentes en el agua, siendo hasta el momento, las bacterias las principales protagonistas de la biodegradación de los hidrocarburos del petróleo. En nuestro país se está estudiando su importancia en aguas continentales y lo que se conoce acerca del papel de los hongos es limitado en este sentido.

En general se considera que la producción de lipasas y esterases, está asociada a su capacidad para degradar hidrocarburos (Mills et al., 1978) y últimamente se ha encontrado que las ligninasas también son capaces de degradar estos productos (Bumpus, 1989).

En nuestro país sólo ha sido estudiada la capacidad de *Hormoconis resiniae* (= *Cladosporium*

resinae) de vivir en esos ambientes (Cabral, 1980; Videla et al., 1986).

Los Oomycetes son hongos zoospóricos, conocidos con el nombre vulgar de "mohos acuáticos" que se desarrollan en aguas continentales poco contaminadas. Trabajando en el ecosistema de Río Santiago (provincia de Buenos Aires), se han encontrado varias especies de hongos zoospóricos como: *Achlya americana*, *A. prolifera*, *A. polyandra*, *Dictyuchus monosporus*, *Saprolegnia diclina* y *S. parasitica*. Debido que este río presenta un índice muy alto de contaminación con hidrocarburos, se probó la importancia de los Oomycetes aislados en la degradación de distintos derivados del petróleo.

El objetivo de este trabajo es demostrar la capacidad de *Achlya polyandra* de crecer a expensas de gas oil, kerosene, tolueno, xileno, nafta común, heptano y benceno.

MATERIALES Y METODOS

El hongo utilizado en esta experiencia es *Achlya polyandra* Hildebrand, aislado en Río Santiago y mantenido en agar harina de maíz, en laboratorio a 20°C., realizándose repiques mensuales.

Para la determinación de su capacidad degradativa se utilizó como medio de cultivo el propuesto por Mills et al. (op.cit.) para bacterias, y para el crecimiento inicial que siguió con los procedimientos de Gleason (1968).

Se probaron los siguientes compuestos: a) hidrocarburos alifáticos: heptano; hidrocarburos aromáticos: tolueno, benceno y xileno; c) mezclas de hidrocarburos: nafta común, kerosene, y gas oil. Todas estas muestras provienen de YPF (Yacimientos Petrolíferos Fiscales). Las mezclas de hidrocarburos fueron filtradas a través de una columna silica gel para la eliminación de los colorantes orgánicos.

Achlya polyandra fué cultivada previamente en un medio líquido nutritivo (Gleason, op. cit.) con la siguiente composición: D-glucosa, 3 g; Bacto-peptona, 1,25 g; extracto de levadura, 1,25 g; KH_2PO_4 , 1,36 g; Na_2HPO_4 , 0,71 g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,12 g; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,07 g; en 1 litro de agua destilada. Al cabo de 3 días se extrajeron los inóculos equivalentes a 0,5 mg de peso seco los que se incorporaron a 50 ml del siguiente medio basal que llevaba agregado 1% del hidrocarburo: $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,5 g; KCl, 0,7 g;

KH_2PO_4 , 2,0 g; Na_2HPO_4 , 3,0 g; NH_4NO_3 , 1,0g en 1 litro de agua destilada.

Los cultivos se mantuvieron por 5-10 días en agitación a 20-22°C.

Para determinar el crecimiento, se obtuvo el peso seco de las muestras, las que se filtraron con una bomba de agua, a través de un papel filtro de 2,5-3 um de porosidad, secándose en una estufa a 85-90°C, durante 12 horas, hasta obtener peso constante. Todas las experiencias se realizaron con un testigo en el medio basal, con tres réplicas y en tres repeticiones para cada una de ellas.

RESULTADOS Y DISCUSION

El crecimiento neto, que resulta de restar el valor del crecimiento en el medio basal (testigo), nos da una idea del grado de utilización de las distintas fuentes hidrocarbonadas por el hongo ensayado (Cuadro 1).

En heptano: *A. polyandra* presenta en los primeros 5 días una disminución del peso seco inicial, debido a su incapacidad de usar este sustrato. A los 10 días hay un ligero incremento, no significativo (Figura 1).

En benceno *A. polyandra* presenta un incremento pequeño, pero constante, de biomasa con el tiempo, este comportamiento también se observa en xileno, tolueno y nafta.

En gas oil, en cambio, hay un gran incremento de biomasa en los primeros 5 días, alcanzando los 70 mg de peso seco, continuando el crecimiento pero de manera más lenta a partir de esa fecha. Mientras que en kerosene también se aprecia un crecimiento significativo y constante alcanzando los 62,90 mg de peso seco en 10 días (Figura 1).

Las bacterias han sido ampliamente estudiadas con relación a su habilidad para descomponer hidrocarburos en suelo y agua. La capacidad de los hongos como descomponedores de estos sustratos ya ha sido considerada por Nyns et al. (1968) en hongos filamentosos y por Komagata et al. (1964) para levaduras, pero no hay referencias de la capacidad de los Oomycetes de utilizar estos sustratos.

Solanas (1981), considera que los n-alcanos son los hidrocarburos más susceptibles de oxidación por los microorganismos (bacterias en la mayoría de los casos), siendo los comprendidos entre el carbono

11 y el carbono 25 los utilizados más rápidamente. Le siguen los isoalcanos, aunque los muy ramificados o los que contienen carbonos cuaternarios son menos susceptibles. Las olefinas son menos utilizadas que sus correspondientes alcanos siguiéndoles los hidrocarburos aromáticos.

Cuadro Nº 1:

Crecimiento de *Achlya polyandra*, en los distintos hidrocarburos, expresados en mg de peso seco/50 ml. de medio

	5 días	10 día
sales (testigo)	16,24 mg	17,37 mg
heptano	12,00 mg	17,92 mg
benceno	18,54 mg	24,78 mg
tolueno	16,30 mg	27,61 mg
xileno	18,90 mg	24,54 mg
nafta	19,76 mg	23,66 mg
gas oil	85,80 mg	90,96 mg
kerosene	37,30 mg	80,27 mg

REFERENCIAS

Andelman, J. B. & Snodgrass, J. E. (1974) Incidence and significance of polynuclear aroma hidrocarburos in the water environment. *Crit. Rev. Environ. Control* 5: 69-83.

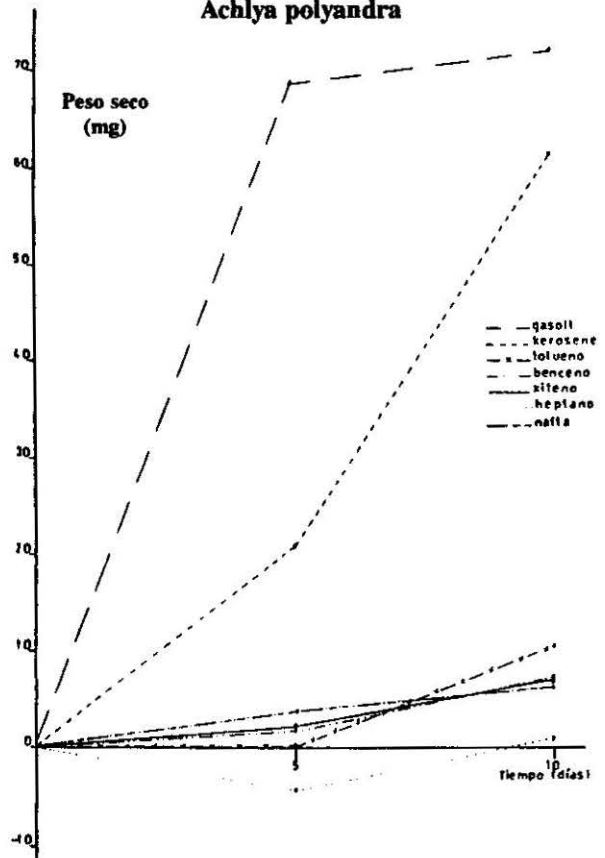
Bossert, I. & Bartha, R. (1984). The fate of petroleum in soil ecosystems in: *Petroleum microbiology*. Ed. R.M. Atlas. Mac Millan, New York. 435-473.

Bumpus, J. A. (1989) Biodegradation of polycyclic aromatic hidrocarburos by *Phanerochaete chrysosporium*. *Applied and Environmental Microbiology* 55 (1): 154-158.

Cabral, D. (1980) Corrosion by microorganisms of jet aircraft intergral fuel tanks. Part 1: Analysis of fungal contamination. *International Biodeterioration Bulletin* 16 (1): 23-27.

Gleaso, F.H. (1968) Nutritional comparisons in the Leptomitales. *Amer. J. Bot.* 55 (9): 1003-1010.

Figura 1
Aumento del peso seco en función del tiempo en *Achlya polyandra*



Komagata, K.; Nakae, T. & Katsuya. (1964) Assimilation of hidrocarburos by yeast I. Preliminary screening. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 10: 313-321.

Mills, A. L.; Breuil, C. & Colwell, R. R. (1978) Enumeration of petroleum degrading marine a estuarine microorganisms by the most probable number method. *Can. J. Microbiol.* 24:552-557.

Nyns, E.J.; Auguere, J.P. & Wiaux, A. L. (1968). Taxonomic value of the property of fungi to assimilate hidrocarburos. *Antonie van Leeuwenhoek* 34: 441-457.

Solanas, A. M. (1981). Biodegradación microbiana en la contaminación por hidrocarburos. *Mundo científico (La Recherche)* 8 (1): 913-920.

Videla, H. A.; Reinoso, E. H. & do Valle, S.M. (1986). Importancia del consumo microbiano de inhibidores en la corrosión. *Iber. Corros. y Prot.* XVII (5): 341-345.