

## UTILIZACION DE HIDROCARBUROS POR OOMYCETES II:

*Achlya americana*, *A. prolifera* y *Dictyuchus monosporus*.

Mónica M. Steciow

Instituto de Botánica "Spegazzini", 53 N° 477, (1900).

La Plata. Buenos Aires. Argentina.

Palabras clave : *Achlya americana*, *Achlya prolifera*, *Dictyuchus monosporus*, hidrocarburos.Key words: *Achlya americana*, *Achlya prolifera*, *Dictyuchus monosporus*, hydrocarbons.

## RESUMEN

Se estudió el crecimiento in vitro de *Achlya americana*, *A. prolifera* y *Dictyuchus monosporus* usándose como fuente carbonada heptano, benceno, xileno, tolueno, nafta común, gas oil y kerosene.

Estas especies mostraron abundante crecimiento en combustibles (mezclas hidrocarbonadas), como gas oil y kerosene; en cambio, el crecimiento fue limitado en hidrocarburos aromáticos (tolueno, benceno y xileno), en nafta común y en heptano, a excepción de *D. monosporus* que no creció en estos dos últimos.

## INTRODUCCION

Entre los contaminantes más frecuentes que son arrojados por las industrias asentadas en los márgenes de los cuerpos de agua, figuran los productos obtenidos por procesos de refinamiento de crudos del petróleo, como ser combustibles de automóviles e industriales, aceites lubricantes, distintos fluidos y solventes, resultantes de un tratamiento inapropiado o ausente de las aguas residuales. Tales compuestos afectan particularmente al ecosistema acuático y terrestre.

La biodegradación microbiana, especialmente por bacterias, es uno de los mecanismos más importantes para la eliminación de hidrocarburos no volátiles del petróleo (Atlas, 1984), como así la participación de hongos filamentosos (Nyns et al., 1968) y levaduras (Komagata et al., 1964).

Cernigliay y Crow (1981), mencionan a *Saprolegnia parasitica* y algunos *Chytridiomycetes* como organismos que degradan hidrocarburos, como así Steciow & Arambarri. (1991), que ensayaron la capacidad de *A. polyandra* de crecer en estos compuestos.

El objetivo de este trabajo es demostrar la capacidad de otros Oomycetes detectados en el río Santiago (Ensenada. B. Aires) tales como *Achlya americana*, *A.*

## SUMMARY

[Hydrocarbons utilization by Oomycetes II: *Achlya americana*, *A. prolifera* and *Dictyuchus monosporus*]

The culture growth in vitro of *Achlya americana*, *A. prolifera* and *Dictyuchus monosporus* was assayed using as the only carbon source: heptane, benzene, xylene, toluene, gasoline, gas oil and kerosene.

These species grew abundantly in gas oil and kerosene; they grew few in toluene, benzene, xylene, gasoline and heptane, with the exception of *D. monosporus* that did not grow in the last two substrates.

*prolifera* y *Dictyuchus monosporus*, de utilizar in vitro heptano, benceno, tolueno, xileno, nafta común, gas oil y kerosene.

## MATERIALES Y METODOS

Las especies estudiadas y conservadas en Agar harina de maíz fueron: *Achlya americana* Humphrey, *A. prolifera* Nees y *Dictyuchus monosporus* Leitgeb.

Los compuestos analizados fueron: a) hidrocarburos alifáticos: (heptano); b) 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 de sílica gel para la eliminación de los colorantes orgánicos.

Antes del ensayo de utilización de estos compuestos las tres especies fueron previamente cultivadas en un medio líquido nutritivo (Gleason, 1968), cuya composición es: D-glucosa, 3 g; Bacto-peptona, 1.25 g; extracto de levadura, 1.25 g;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 1.36 g;  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 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 adicionado con 1% del hidrocarburo estudiado: MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O, 0.5 g; KCl, 0.7 g; KH<sub>2</sub>OP<sub>4</sub>, 2.0 g; Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 3.0g; NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, 1.0 g, en 1 litro de agua destilada (Mills et al., 1978).

Los cultivos se mantuvieron en agitación, a 20-22°C, por el término de 5-10 días. Para estimar el crecimiento, se obtuvo el peso seco de las muestras, las que se filtraron con una bomba de agua, a través de un papel de filtro de 2,5-3 um de porosidad, secándose en una estufa a 85-90°C, durante 12 horas.

Los resultados son el promedio de tres réplicas, cada una con tres repeticiones; todos los ensayos se realizaron con un testigo en el medio basal.

## RESULTADOS

A continuación se expresan los resultados del crecimiento de las tres especies ensayadas (Tablas 1, 2 y 3).

Tabla 1.

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

	5 días	10 días
sales (testigo)	10,87	14,00
heptano	27,00	29,86
benceno	9,49	16,27
tolueno	14,54	40,76
xileno	10,00	16,71
nafta común	12,00	18,62
gas oil	58,74	64,93
kerosene	27,48	51,53

Tabla 2.

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

	5 días	10 días
sales (testigo)	16,50	18,34
heptano	11,68	22,57
benceno	12,99	19,70
tolueno	18,33	28,47
xileno	17,43	19,51
nafta común	2,00	43,64
gas oil	60,62	64,74
kerosene	30,98	41,46

Tabla 3.

Crecimiento de *Dictyuchus monosporus* Leitgeb en los distintos hidrocarburos, expresados en mg de peso seco/50 ml de medio.

	5 días	10 días
sales (testigo)	15,99	23,76
heptano	15,66	19,90
benceno	20,35	29,31
tolueno	20,76	35,15
xileno	24,00	27,34
nafta común	20,98	23,35
gas oil	40,44	43,82
kerosene	32,33	55,17

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 las tres especies ensayadas.

-*Achlya americana*, en heptano, tolueno, gas oil y kerosene alcanzó un incremento de biomasa a los 5 días, continuando el crecimiento a partir de esa fecha. En benceno y xileno, presentó en los 5 primeros días, una disminución del peso inicial, debido a su incapacidad de usar este sustrato; con un ligero incremento a los 10 días. En nafta común el crecimiento fue escaso. En gas oil fue donde la especie tuvo un crecimiento más notable (Tabla 1, Fig. 1).

-*Achlya proliferata*, en heptano, benceno y xileno no difiere mayormente del testigo con pequeñas fluctuaciones entre los 5 y 10 días. En tolueno, nafta común, gas oil y kerosene se lograron los mayores valores de biomasa en especial en gas oil desde los 5 días (Tabla 2, Fig. 2).

-*Dictyuchus monosporus*, no mostró crecimiento en heptano y escaso en xileno, en benceno fue moderado, mientras en tolueno, gas oil y kerosene fue elevado.

El crecimiento de esta especie se vió favorecido en forma continua en kerosene donde alcanzó un crecimiento superior, en relación al gas oil, al cabo de los 10 días (Tabla 3, Fig. 3).

## DISCUSION

El petróleo y los hidrocarburos presentes en un ecosistema proveen una fuente de carbono y energía para el crecimiento microbiano, que puede estar limitado, entre otros factores, por la cantidad disponible de oxígeno, nitrógeno (nitratos), fósforo (fosfatos), materia orgánica y temperatura (Atlas & Bartha, 1973; Mc Kenzie & Hughes, 1976).

Figura 1. Aumento del peso seco en función del tiempo en *A. americana*

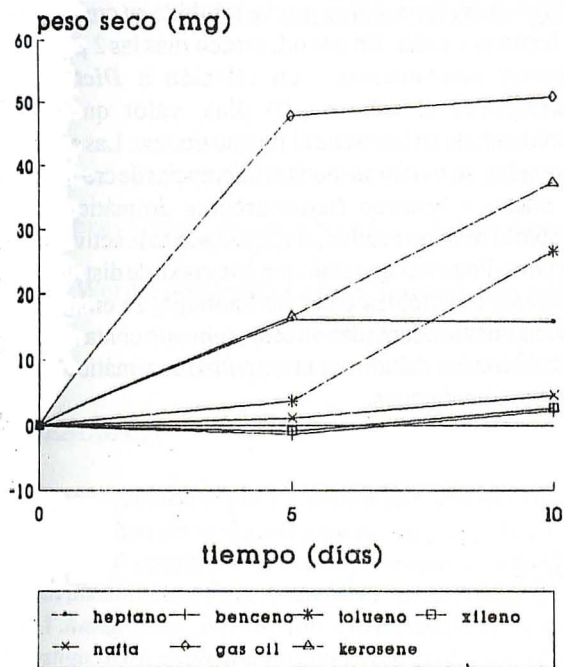


Figura 2. Aumento del peso seco en función del tiempo en *A. prolifera*

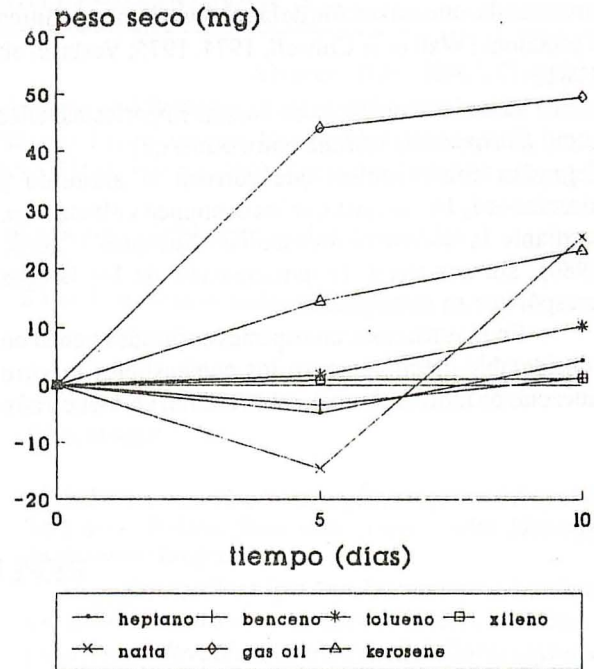
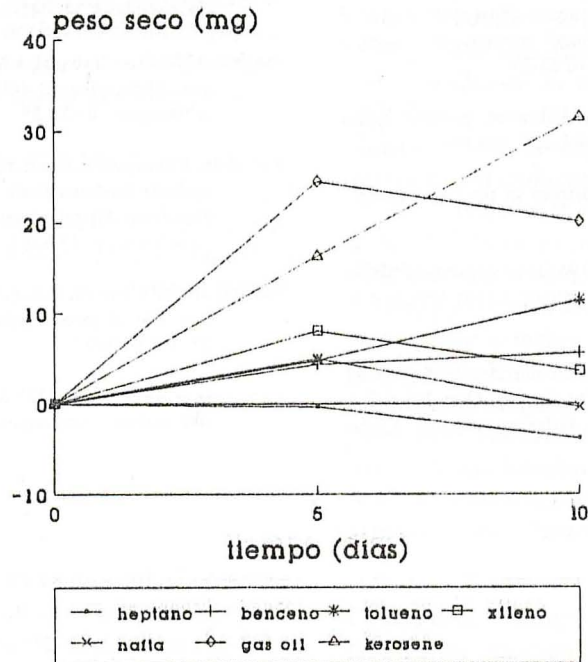


Figura 3. Aumento del peso seco en función del tiempo en *D. monosporus*





La presencia de combustibles como la nafta y el gas oil, entre otros, inhiben la descomposición de los sustratos vegetales en un cuerpo de agua, afectando a los procesos de mineralización de la celulosa, lignina, quitina y proteínas (Walker & Colwell, 1974, 1975; Vestal et al; 1984).

Se conoce el efecto de hongos imperfectos, tales como *Hormoconis resiniae* entre otros, que degradan combustibles, que corroen al aluminio y aleaciones de los tanques que los contienen y almacenan, mediante la acción de metabolitos liberados (Cabral, 1980), sin conocerse la participación de los hongos zoosporicos en estos procesos.

En nuestro caso, las especies ensayadas tienen un considerable crecimiento en los combustibles in vitro (mezclas de hidrocarburos), sobre todo en kerosene y aún

más en gas oil. A los 10 días, las 2 especies probadas: *Achlya americana* y *A. prolifera* crecen a expensas de los hidrocarburos alifáticos, aromáticos y combustibles, salvo *Dictyuchus monosporus* que ve inhibido su crecimiento en heptano y nafta. En gas oil, crecen más las 2 primeras especies mencionadas, en relación a *Dictyuchus monosporus* al cabo de 10 días, valor que se ve incrementado en kerosene al mismo tiempo. Las especies ensayadas, no muestran muchas diferencias de crecimiento en xileno y benceno (hidrocarburos aromáticos). En cambio el tolueno resulta ser degradado más activamente por ellos. Podemos concluir que éstos taxa de distribución constante o periódica en el río Santiago, se encuentran especialmente adaptadas en este ambiente contaminado, probablemente debido a una actividad enzimática eficaz en estos xenobiontes.

## REFERENCIAS

- Atlas, R. M. (1984). Petroleum Microbiology. MacMillan Publishing Company. New York.
- \_\_\_\_\_ & Bartha, R. (1973). Stimulated biodegradation of oil slicks using oleophilic fertilizers. Environ. Sci. Technol. 7: 538-541.
- Cabral, D. (1980). Corrosion by microorganisms of jet aircraft integral fuel tanks. Part. 1: Analysis of fungal contamination. International biodeterioration Bulletin 16:23-27.
- Cerniglia, C.H. & Crow, S.A (1981). Metabolism of aromatic hydrocarbons by yeasts. Arch. Microbiol. 129: 9-13.
- Gleason, F. H. (1968). Nutritional comparisons in the *Leptomitales*. Amer. J. Bot. 55: 1003-1010.
- Komagata, K., Nakae, T. & Katsuya, N. (1964). Assimilation of hydrocarbons by yeast I. Preliminary screening. J. Gen. Appl. Microbiol. 10: 313-321.
- Mc Kenzie, R. & Hughes, D.E. (1976). Microbial degradation of oil and petrochemical in the sea. En: Skinner, Carr, J.G & F.A (eds) Microbiology in agriculture, Fisheries and Food. Academic Press. New York. pp 9110.
- Mills, A.L., Breuil, C. & Colwell, R.R. (1978). Enumeration of petroleum degrading marine and estuarine microorganisms by the most probable number method. Can. J. Microbiol. 24: 552-557.
- Nyns, E.J., Augiere, J.P. & Wiaux, A.L. (1968). Taxonomic value of the property of fungi to assimilate hydrocarbons. Antonie van Leeuwenhoek 34: 441-457.
- Steciow, M.M. & Arambarri, A.M. (1991). Utilización de hidrocarburos por Oomycetes I: *Achlya polyandra* Hildebrand. Boletín Micológico. 6 : 33-35.
- Vestal, R., Cooney, J.J., Crow, S. & Berger, J. (1984). The effects of hydrocarbons on aquatic microorganisms. En: Atlas, R.M. (ed). Petroleum Microbiology. Mac Millan Publishing Company. New York. pp. 475-505.
- Walker, J.D. & Collwell, R.R. (1974). Microbial petroleum degradation: use of mixed hydrocarbon substrates. Appl. Microbiol. 27: 1053-1060.
- \_\_\_\_\_ (1975). Some effects of petroleum on estuarine and marine microorganisms. Can. J. Microbiol. 21: 305-313.