



Nº1 Marzo 2010

AISLAMIENTO DE HONGOS RESISTENTES A METALES PESADOS A PARTIR DE AGUA DE DIFERENTES RÍOS DE LA HUASTECA POTOSINA

Juan F. Cárdenas González
María de Guadalupe Moctezuma-Zarate
Ismael Acosta-Rodríguez

CIEP. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de San Luis Potosí
iacosta@uaslp.mx

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue el aislamiento y caracterización de hongos contaminantes resistentes a metales pesados a partir de agua de diferentes ríos de la Huasteca Potosina: Coy, Amajac, Tamazunchale, Valles, Tamuín, Bancote, La galera y Santa Rosa, y sembrando alícuotas de 100 μ L en AEM, complementado con 200 ppm de diferentes metales pesados. Los hongos, se identificaron por sus características macro y microscópicas en Agar Papa Dextrosa., determinando la resistencia de los mismos por pruebas de resistencia en placa. Se aislaron e identificaron 23 especies de hongos, siendo la más frecuente *Alternaria* sp (30.4%), seguida de *Penicillium* sp y *Curvularia* sp., y otras especies en porcentajes más bajos. Los hongos identificados presentan diferentes tolerancias a los metales pesados analizados, con diferentes características macro y microscópicas.

PALABRAS CLAVE: Aislamiento, hongos, resistencia, metales pesados, ríos, Huasteca Potosina.

INTRODUCCIÓN

Los metales pesados son elementos potencialmente tóxicos, cuya presencia en el medio ambiente se ha incrementado notablemente en las últimas décadas, fundamentalmente por la acción del hombre. La contaminación metálica supone una amenaza medioambiental importante para los seres vivos, ya que diversos metales que son micronutrientes esenciales, como el cobre y el zinc, resultan tóxicos en concentraciones elevadas, mientras que otros como cadmio, plomo mercurio y arsénico, son tóxicos a dosis mínimas (Alonso y Cols., 2004).

Recientemente, está bien establecido el potencial de adaptación de algunos microorganismos en zonas contaminadas con metales pesados, y el uso de su biomasa viva y/o muerta para tratar de eliminarlos de los diferentes nichos acuáticos contaminados. Por razones económicas, resultan de particular interés los tipos de biomasa abundante, como los desechos generados por fermentaciones industriales de gran escala o de ciertas algas que enlazan metales y se encuentran en grandes cantidad en el mar. Algunos de estos tipos de biomasa que absorben metales en cantidades elevadas, sirven como base para procesos de bioabsorción de metales, previendo su uso particular como medios muy competitivos para la destoxificación de efluentes industriales que contienen metales y para la recuperación de metales preciosos (Cañizares-Villanueva , 2000).

En la literatura se ha reportado el aislamiento de microorganismos resistentes a metales pesados como: *Cryptococcus albidus* aislada de zonas mineras de Guanajuato resistente a plata (Mendoza y cols., 1994); *Thiobacillus ferrooxidans* a partir de suelos ricos en azufre (Espejo y Romero, 1987) o resistentes a altas concentraciones de arsénico (Orrantia y cols., 1995; *Aspergillus flavus* tolerantes a metales pesados (Díaz y cols., 2002); hongos contaminantes tolerantes a plomo (Robles Galván, 1996) y la acumulación de metales pesados por macromicetos comestibles (Alonso y cols., 2004).

El aislamiento de hongos filamentosos tolerantes a metales pesados en Tangier, Morocco (Ezzouhri y cols., 2009), y la tolerancia de hongos a metales pesados (Shazia y cols., 2009). Por lo que el objetivo de este trabajo fue el aislamiento y caracterización de hongos contaminantes resistentes a metales pesados a partir de agua de diferentes ríos de la Huasteca Potosina.

METODOLOGÍA

Muestras de agua

Se tomaron en recipientes de plástico previamente lavados con ácido sulfúrico al 10% y esterilizados por calor húmedo, muestras de agua (500 mL), de algunos ríos de la Huasteca Potosina: Coy, Amajac, Tamazunchale, Valles, Tamuín, Bancote, La galera y Santa Rosa, y se guardaron en hielera, y se trasladaron al laboratorio y se conservaron en refrigeración hasta su uso.

Aislamiento de los hongos

Se tomaron en condiciones estériles, 100 µL de cada muestra de agua, y se sembraron por duplicado en Agar Extracto de Malta (AEM) adicionado de 200 ppm de Plomo (AEM-Pb), después se incubaron a 28°C durante 7 días. Las colonias resultantes se purificaron por

resiembras sucesivas en AEM-Pb y AEM. Las cepas puras de los hongos, se identificaron por sus características macro y microscópicas en Agar Papa Dextrosa.

Prueba de resistencia en placa

Se prepararon cajas de Petri con 20 mL de AEM adicionado de 200 y 500 ppm de plomo, cobre, cadmio, zinc y plata, además de 100 y 200 ppm de arsénico y mercurio las que se inocularon en la parte central con 1×10^6 conidios/ mL y se incubaron a 28°C durante 7 días, y se comparo el crecimiento de las placas con respecto a un control sin metal.

RESULTADOS

A partir de las diferentes muestras analizadas, se aislaron e identificaron 23 especies de hongos (Tabla No. 1), siendo la más frecuente *Alternaria* sp (30.4%), seguida de *Penicillium* sp (21.7%) y *Curvularia* sp, seguido de otras especies en porcentajes más bajos (Tabla No. 2). Los hongos identificados presentan diferentes tolerancias a los metales pesados analizados, con diferentes características macro y microscópicas (Tabla No. 3).

Tabla No. 1.-Coloniasde hongos identificadas en las muestras analizadas.

Fuente (Río)	Colonia Identificada	Total
Amajac-1	<i>Curvularia</i> sp <i>Aspergillus flavus</i>	2
Amajac-2	<i>Aspergillus Níger</i> <i>A. Níger</i> <i>Penicillium</i> sp	3
Bancote-1	<i>Curvularia</i> sp <i>Penicillium</i> sp <i>Alternaria</i> sp	3
Bancote-2	<i>Alternaria</i> sp <i>Alternaria</i> sp	2
Valles, Planta tratadora-1	<i>Alternaria</i> sp Micelio estéril <i>Alternaria</i> sp	3
Valles, planta tratadora-2	<i>Penicillium</i> sp	1
Coy-1	Micelio estéril <i>Penicillium</i> sp	2
Coy-2	<i>Alternaria</i> sp <i>Penicillium</i> sp	2
Valles, Calera-1	<i>Curvularia</i> sp	1
Valles Calera-2	<i>Alternaria</i> sp	1
Coy, Planta tratadora-1	<i>Cephalosporium</i> sp <i>Fusarium</i> sp	2
Amajac/Moctezuma	<i>Cladosporium</i> sp	1

* 7 días de incubación, 28°C, AEM-Pb, AEM.

Tabla No. 2.- Frecuencia de hongos encontrados

Microorganismo	Número	Porcentaje
<i>Alternaria</i> sp	7	30.4
<i>Penicillium</i> sp	5	21.7
<i>Curvularia</i> sp	3	13.0
<i>A. niger</i>	2	8.7
Micelio estéril	2	8.7
<i>A. flavus</i>	1	4.3
<i>Cephalosporium</i> sp	1	4.3
<i>Fusarium</i> sp	1	4.3
<i>Cladosporium</i> sp	1	4.3

Tabla No. 3.- Análisis de resistencia a metales pesados de los diferentes hongos aislados**Diámetro de crecimiento (cm)**

Concentración del metal (ppm)	<i>Curvularia</i> sp	<i>A. flavus</i>	<i>A. niger</i>	<i>Penicillium</i> sp	<i>Alternaria</i> sp	<i>Alternaria</i> sp	Micelio estéril
Control	7.7	6.5	4.9	9.0	6.0	6.0	3.0
Pb 200	5.5	0.0	4.1	6.4	4.3	5.5	2.3
Pb 500	5.2	0.0	3.8	6.0	3.7	5.0	2.8
As 100	4.7	3.8	4.1	8.5	5.0	4.5	2.3
As 200	4.3	3.5	4.3	7.2	4.1	3.5	1.3
Hg 100	2.5	0.0	3.6	8.0	4.0	5.0	0.6
Hg 200	0.0	0.0	3.3	5.6	3.5	4.0	0.0
Cu 200	4.7	0.0	4.6	7.0	3.0	4.0	2.3
Cu 500	4.5	0.0	3.5	5.2	3.3	3.5	1.4
Cd 200	1.8	0.8	1.5	3.9	0.0	3.0	0.0
Cd 500	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.8	0.0
Zn 200	5.0	5.3	4.2	7.6	4.3	3.5	3.0
Zn 500	3.5	3.0	4.6	6.3	4.0	2.0	0.8
Ag 200	5.2	5.7	5.0	6.6	5.3	4.0	3.0
Ag 500	0.0	0.0	2.8	0.5	0.0	0.0	0.0

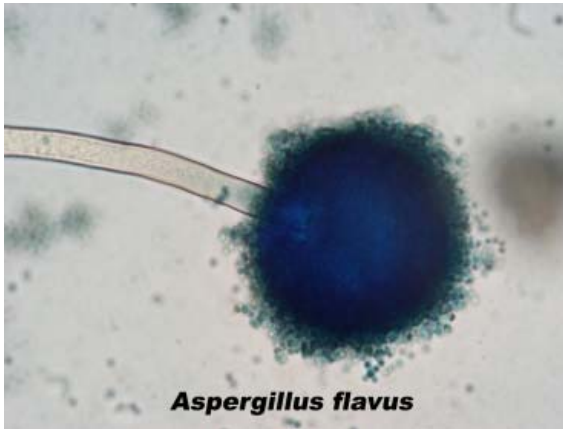
* 7 días de incubación a 28°C

DISCUSIÓN

En este trabajo se aislaron 23 hongos con diferente resistencia a los metales analizados los cuales fueron *Alternaria* sp, *Penicillium* sp, *Curvularia* sp, *A. niger*, Micelio estéril, *A. flavus*, *Cephalosporium* sp, *Fusarium* sp y *Cladosporium* sp, lo que coincide con algunos reportes de la literatura (Mendoza y cols., 1994; Díaz y cols., 2002; Cañizares-Villanueva, 2000). Los hongos aislados presentan diferentes patrones de resistencia a los metales analizados, la mayoría crecen en plomo y zinc, pocos en mercurio y arsénico, y la mayor sensibilidad encontrada fue a cadmio. Estos hongos se pueden utilizar para la captación de

metales pesados en solución solos o acompañados de otras biomásas, lo cual es el siguiente paso, según como se reporta en la literatura (Acosta y cols., 2004; Kratochvil, and Volesky 1998; Volesky, 2003; Volesky, 2003).

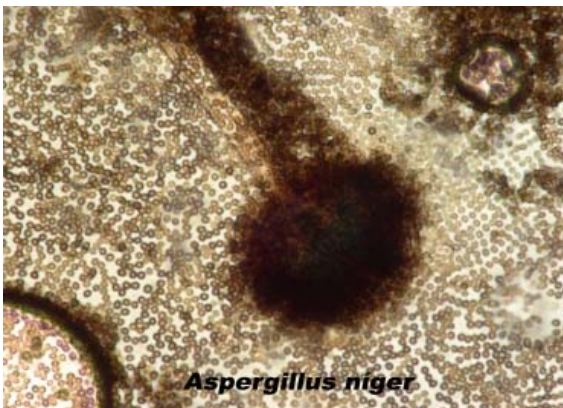
Finalmente, los resultados obtenidos indican un cambio en la microflora debido a un aumento en la contaminación por metales pesados de los ríos estudiados (Ezzouhri y cols., 2009; Shazia y cols., 2009).



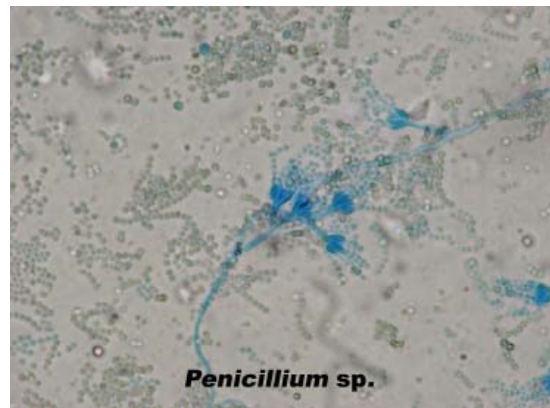
Aspergillus flavus



Curvularia sp.



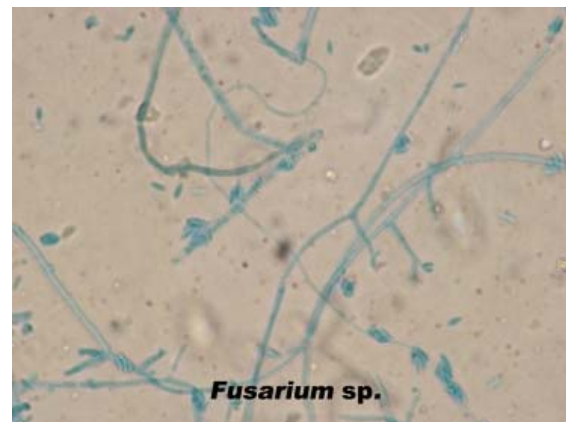
Aspergillus niger



Penicillium sp.



Alternaria sp.



Fusarium sp.

BIBLIOGRAFÍA

- Acosta, I., Rodríguez, X., Gutiérrez, C. and Moctezuma-Zárate, M.G. 2004. Biosorption of chromium (VI) from aqueous solutions onto fungal biomass. *Bioinorganic Chemistry Applications*. Vol. 2, No. 1,2. pp 1-7.
- Alonso, J., García, M.A., Pérez-López, M. y Melgar, M.J. 2004. Acumulación de metales pesados en macromicetos comestibles y factores que influyen en su captación. *Revista de Toxicología*. España. Vol. 21: pp 11-15.
- Cañizares-Villanueva, R.O. 2000. Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana. *Revista Latinoamericana de Microbiología*. Vol. 42: pp 131-143.
- Díaz, M.P. Moctezuma, M.G. y Acosta I. 2002. Aislamiento de hongos resistentes a metales pesados a partir de desechos mineros y su capacidad de remoción de Metales pesados y Flúor en solución. *FEMISCA*. pp 473-474.
- Ezzouhri, L., E. Castro, E., M. Moya, M., Espinola F. and Lairini, K. 2009. Heavy metal tolerance of filamentous fungi isolated from polluted sites in Tangier, Morocco. *African Journal of Microbiology Research* Vol. 3 (2) pp. 035-048.
- Espejo, R. and Romero, P. 1987. Growth of *Thiobacillus ferrooxidans* on elemental sulfur. *App. Environ, Microbiol.* Vol. 53. No. 8. pp 1907-1912.
- Kratochvil, D. and Volesky B. 1998. Advances in the biosorption of Heavy metals. *TIBTECH*. Vol. 16. pp 291-300.
- Mendoza, E., Sosa, L., Gutiérrez, F., Obregón, A., Mendoza, D., Lappe, P. y Ulloa, M. 1994. *Cryptococcus albidus* aislada de zonas mineras de Guanajuato como resistente a plata es capaz de acumular este metal. *Memorias del V Congreso Nacional de Micología*. pp 156.
- Orrantía, E., Arévalo, S. y Pereyra, B. 1995. Aislamiento de cepas de *Thiobacillus ferrooxidans* resistentes a altas concentraciones de arsénico. *Memorias del XXVI Congreso Nacional de Microbiología*. pp M-68.
- Robles Galván, A. 1996. Aislamiento de hongos contaminantes en ausencia y presencia de plomo a partir de aguas y lodos del Tanque Tenorio. Tesis Licenciatura. Químico Farmacobiólogo. Facultad de Ciencias Químicas. UASLP.
- Shazia, I., Iftikhar, A., Barira, J., Saeeda, Y., Kulsoon, A., Munawar, R., and Bdar-Uz, Z. 2009. Fungal tolerance to heavy metals. *Pak. J. Bot.*, 41(5): pp. 2583-2594.
- Volesky, B. 2003. Biosorption process simulation tools. *Hidrometallurgy*. Vol. 71, pp 179-190.
- Volesky B. and Holand Z.R. 1995. Biosorption of heavy metals. *Biotechnology Progress*. Vol. II pp 235-250.