



ESTUDIO MICROBIOLÓGICO Y MOLECULAR DE MICROORGANISMOS ANAEROBIOS EXTREMÓFILOS

Gloria A. Carrejo-Aldrete, Yolanda Garza-García, J. Gerardo Gaona-Lozano, J.E. Mauricio-Benavides, Alma I. Soria-Ortíz y Jesús Rodríguez-Martínez Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila. Blvd. V. Carranza e Ing. José Cárdenas V., C.P.25180, Saltillo Coah., Mex. Tel. (844) 415-57-52, Fax (844) 415-93-34 * E-mail: breakfree7@hotmail.com

Palabras clave: bacterias anaerobias, gen 16SrRNA, sulfato-reducción.

Introducción. Dado el carácter extremadamente salino del ambiente de Cuatro Ciénegas, Coahuila, se piensa que los microorganismos que soportan estas condiciones representan un grupo clave para el análisis y que mantienen al menos parte de la cadena alimentaria del lugar (1) Los microorganismos adaptados a estas condiciones, denominados extremófilos, poseen además una gran diversidad metabólica que incluye fotótrofos oxigénicos y anoxigénicos, heterótrofos aerobios, fermentadores, desnitrificadores, sulfatoreductores y metanógenos. Las enzimas que poseen son estables y funcionales, representando un gran aporte a la biotecnología (2). En la presente investigación se realizó el estudio de microorganismos anaerobios aislados de ambientes extremos, por medio de técnicas microbiológicas tradicionales y técnicas moleculares con el objetivo de generar el conocimiento relacionado con su metabolismo característico para su aplicación en un proceso biotecnológico.

Metodología. Se realizó el aislamiento de microorganismos de dos muestras de suelo y una muestra de agua, colectadas de la región del Valle de Cuatrociénegas, Coah., utilizando una cámara de cultivo de anaerobios. Se diseñaron para ello, tres medios sólidos y líquidos con potencial redox bajo, en base a una previa caracterización fisicoquímica de las muestras. La identidad microbiológica, se realizó inicialmente mediante técnicas microbiológicas básicas; asimismo, el estudio de su proteosoma, fue evaluado parcialmente mediante el análisis de respuestas de cultivo a las pruebas bioquímicas clásicas. La identificación molecular de las cepas anaerobias aisladas, se realizó mediante la extracción de ADN genómico, y la amplificación del gen 16SrRNA. Las secuencias del amplicon obtenido se compararon con las existentes en la base de datos del Ribosomal Database Project. (3). En consideración al hábitat del que provenían las cepas aisladas, así como las respuestas a las pruebas bioquímicas, se realizaron ensayos preliminares para determinar actividad sulfato reductora de tres cepas, empleando un medio Postgate B, 5 % de inoculo del volumen total. El crecimiento celular se midió por turbidimetría durante 14 días. (4)

Resultados y discusiones. Se aislaron siete cepas de bacterias anaerobias a partir de las 3 muestras

analizadas, predominando las formas de cocos G (+). El 100% de los microorganismos aislados presentaron actividad proteolítica; el 80 % son halófilos, teniendo también la capacidad de llevar a cabo la desaminación y descabroxilación de lisina y ornitina. El 100 % de los microorganismos expresó actividad nitrato reductora Se establecieron las condiciones de reacción más adecuadas para la amplificación del gen 16SrRNA de estas cepas anaerobias (MgCl₂ 5mM y una temperatura de hibridación de 45 ° C) obteniendo un amplicon de 1.3 kbp para su posterior análisis de secuencia. Se comprobó la capacidad de tres cepas para reducir sulfatos, mediante su crecimiento en medio Postgate B a diferentes valores de pH.

Conclusiones. Se logró el aislamiento de microorganismos anaerobios del Valle de Cuatrociénegas Coahuila, que están adaptados a condiciones extremas de salinidad, con una diversidad metabólica que incluye desnitrificadores y sulfatoreductores. Fue necesario además, adecuar las técnicas de amplificación del gen 16SrRNA para obtener un amplicon de calidad para el análisis de secuencia. La certificación de la actividad sulfatoreductora, permitió iniciar un proceso biotecnológico de tratamiento de combustóleo mexicano.

Bibliografía.

- 1.- Souza, V, Escalante, A, Espinoza, L, Valera, A. (2004). Cuatro ciénegas un laboratorio natural de astrobiología. *Ciencias*. Vol(75) : 4-12
2. - Deker, R, Peggy, K, Joan, C. (1995). Reduction of uranium by cytochrome c3 of *Desulfovibrio vulgaris*. *Applied and environmental, Microbiology*. Vol (59): 3572-3576.
- 3.- Brusés, L, Aguirre, M, Gorodner, J. (2000). Comparación de técnicas de extracción de DNA para la detección de *Trypanosoma cruzi* mediante la técnica de PCR. *Comunicaciones científicas y tecnológicas*.
- 4.- G, Cabrera, R, Perez. (2005). Toxic affects of dissolved heavy metals on *Desulfovibrio vulgaris* and *Desulfovibrio* sp. Strains. *Journal of Hazardous Materials*. Vol (135): 40-46.