



AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS CON ACTIVIDAD PROBIÓTICA, PRESENTES EN UN PREPARADO DE SUELO

Norma R. Delgadillo-Valdés, Jazmín Durán-Valdivia, Carolina Peña-Montes, Iván L. Montejó-Sierra y Amelia Farrés-González. Laboratorio 312, edificio E, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México. Distrito Federal México C.P. 04510. ami180@hotmail.com

Aislamiento, suelo, probióticos

Introducción. Se han reportado con frecuencia varios aislamientos de bacterias ácido lácticas (BAL) a partir de productos alimenticios, pero los aislamientos en suelo son escasos (1, 2). Sin embargo, las BAL se encuentran frecuentemente en suelo y están naturalmente presentes en la superficie de cultivos forrajeros, pastos y algunas verduras (3). Un grupo de investigadores en alimentación animal (México-Cuba), probó un fermentado de suelo con resultados positivos en la promoción del crecimiento en animales de granja, buscando en este preparado BAL, que tengan características favorables para la elaboración de suplementos probióticos para alimentación animal. Estos resultados han sido observados por otros grupos para diversos animales de granja (4).

El presente trabajo tiene como objetivo aislar e identificar BAL que se encuentren presentes en el preparado de suelo y verificar si presentan actividad probiótica.

Metodología. A partir de muestras de suelo, recolectadas del monte en el municipio de Chiautzingo, Puebla se elaboró una fermentación sólida anaerobia, la cual, se dejó fermentar 22 días enriqueciendo la mezcla con salvado de trigo y melaza diluida. De este fermentado se aislaron 9 cepas de BAL las cuales fueron seleccionadas por tinción de Gram, crecimiento en medio MRS y prueba de catalasa. Se realizaron pruebas bioquímicas para su identificación utilizando el sistema API 50 CHL Medium. Posteriormente para identificar genéticamente las colonias, se amplificó la región del gen que codifica para la subunidad pequeña del ribosoma 16s; se utilizaron cebadores específicos para amplificar el gen 16s completo (5). Se construyeron árboles filogenéticos de las cepas aisladas mediante bioinformática. Posteriormente se realizaron pruebas para determinar la capacidad probiótica (pruebas de antagonismo, resistencia a pH y sales biliares) de las cepas aisladas.

Resultados. De las 9 cepas de BAL aisladas, se identificaron 2 cepas de *Lactobacillus* con actividad probiótica. Las colonias que se aislaron fueron de bacilos largos gram positivos, catalasa negativos. De acuerdo a la tabla 1 se muestra la identificación bioquímica y genética de las colonias 6 y 11, genéticamente arroja un buen porcentaje de identidad de acuerdo a la información arrojada por el programa Blast siendo la colonia 6 *Lactobacillus paracasei* y la colonia 11 *Lactobacillus rhamnosus* y de acuerdo a su fermentación de

carbohidratos los resultados también corresponden a lo ya mencionado en las pruebas genéticas.

Tabla 1. Comparación de resultados de identificación por pruebas genéticas y bioquímicas

# Colonia	Pruebas genéticas			Pruebas bioquímicas	
	Identidad	% identidad	Valor de E	Identificación en programa informático	% identidad
6	<i>Lactobacillus paracasei</i>	83	$9E^{-37}$	<i>Lactobacillus paracasei paracasei</i>	99.8 % , T= 0.95
11	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	92	$1E^{-141}$	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	99.7 % , T= 0.99

Las cepas 6 y 11 inhiben el crecimiento de *S.aureus*. *S. pyogenes*, *L. monocytogenes* y *B. cereus*, caso contrario para las cepas de *E.coli* y *B. pumilus* (Tabla 2).

Tabla 2. Patrones antagonísticos

#	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. pyogenes</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>B. cereus</i>	<i>B. pumilus</i>
6	x	✓	✓	✓	✓	x
11	x	✓	✓	✓	✓	x

Abreviaturas: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus pyogenes*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Bacillus pumilus*.

Tabla 3: Resistencia a pH y sales biliares

Colonia	pH				Resistencia sales biliares concentración 0.5% (conteo final)
	3	4	5.5	7	UFC
6	✓	✓	✓	✓	6×10^{-3}
11	✓	✓	✓	✓	120×10^{-3}

Se observó resistencia y crecimiento en pH ácidos (2, 4, 5.5) así como también a las sales biliares (Tabla 3). Estos tres últimos parámetros son de gran importancia en la supervivencia y crecimiento de las bacterias en el tracto gastrointestinal. Los efectos de la bilis y el pH ácido han sido investigados como pasos obligados para la selección de cepas con carácter probiótico.

Conclusiones. Se aislaron e identificaron BAL en las muestras de suelo. Las cepas que se muestran fueron capaces de resistir y crecer en presencia de pH y sales biliares; muestran resistencia a 4 de 6 bacterias patógenas que se sometieron a evaluación.

Bibliografía.

- 1)Chen, Y. S., Yanagida, F. and Shinohara, T. (2004), *Letters in Applied Microbiology* 2005, 40, 195–200
- 2)ChenY-S., Wu H-C.D, Yanagida F., (2010). *Brazilian Journal of Microbiology* (2010) 41: 916-921
- 3) Yang J., Cao Y., Cai Y., Terada F. (2010). *American Dairy Science Association*®.Vol. 93:3136–3145
- 4) Hussain T, Anjum AD, Tahir J (2002) *Nature Farming Environ* 3: 1-14.
- 5) Weisburg W.G. et al. (1990). *J Bacteriol.* 173 (2): 697-703.