



CARACTERIZACIÓN PRELIMINAR DE LA COMUNIDAD MICROBIANA EN SEDIMENTOS DE MANGLAR DE LA LAGUNA NICHUPTE, QUINTANAROO, MÉXICO

Narváez-Zapata J.^{1*}, Agraz-Hernández² C., Vargas-Canto M.G. y Poot-Bastarrachea T. ¹Depto de Microbiología Ambiental y Biotecnología, Programa de Corrosión del Golfo de México y ²Centro EPOMEX, UACam, Av. Agustín Melgar, Col. Lindavista, C.P. 24030, Campeche, Camp., México *e-mail:janarvae@mail.uacam.mx

Microcomunidades, sedimentos de manglar

Introducción. Los microorganismos del ecosistema del manglar muestran interacciones complejas involucradas con los ciclos biogeoquímicos y con el reciclamiento de nutrientes utilizados por las plantas. La productividad primaria de este ecosistema asegura un gran aporte de detritus a la cadena trófica, los cuales son hidrolizados hasta compuestos monoméricos y oligoméricos, y que bajo condiciones anóxicas son degradados a ácidos grasos de cadena corta, CO₂, y H₂O, estos compuestos a su vez son finalmente mineralizados por consorcios microbianos anaeróbicos tales como bacterias sulfato reductoras, metanogénicas que finalmente producen H₂S, CO₂, y CH₄. Un porcentaje de estas moléculas se volatiliza a la atmósfera y otra parte es metabolizada por bacterias aeróbicas sulfoxidantes y metanótrofas. Las características fisicoquímicas de estos sedimentos dependen también de factores como la distancia al cuerpo de agua, la vegetación y la perturbación (1). Lo anterior denota la importancia de estudiar estas microcomunidades en función a diferentes factores ambientales, sin embargo, hasta ahora hay pocos estudios a causa de las dificultades de su cultivo (2). En base a esto, se han desarrollado métodos no cultivables (moleculares) que permiten estudiar de forma más general estos ecosistemas. Este trabajo tiene como objetivo principal analizar a nivel genético preliminar los principales microorganismos asociados a los sedimentos de manglar en relación a su distancia al cuerpo de agua y a la perturbación causada por una planta de lodos en la laguna de Nichupté, Quintana Roo.

Metodología. Se establecieron puntos de muestreo en gradiente (Profundidad: 10 cm) con respecto a la laguna y a la planta de lodos (julio, 2004). La salinidad, pH, potencial redox (Eh), concentración de SO₄ y nutrientes fueron analizados a partir del agua intersticial según las normas EPA. El ADN se aisló con un protocolo basado en la incubación con sílice (*no publicado*) y las condiciones de PCR con oligonucleótidos universales fueron optimizadas para amplificar la mayor cantidad de bacterias y separar algunas bandas en un gel de agarosa al 2% (Tabla 1) (2).

Tabla 1. Condiciones y reactivos finales de amplificación por PCR

Reactivos	50 µl	Ciclos	Temp.	Tiempo
ADN, 150 ng/ml	5 µl	1	94°C	4 min
Buffer 10 X	5 µl			
MgCl ₂ 50 mM	3 µl		94°C	30 seg
COM1382 ng/µl	1 µl	30	55°C	50 seg
COM2380 ng/µl	1 µl		72°C	1 min
dNTPs 25 mM	1 µl			
Taq 5U/µl	2 µl	1	72°C	5 min
H ₂ O	32 µl			

Se realizó la secuenciación automática de los amplicones 16S ribosomal utilizando termosecuencia y 7 deaza GTP.

Resultados y discusión. Los parámetros fisicoquímicos que variaron en función de la distancia a la laguna fueron la

salinidad y el potencial redox. En particular el redox indica que las comunidades microbianas son predominantemente anaerobias. Esto se corrobora con otras características relacionadas tales como la producción de un persistente olor fétido (probablemente H₂S) y el color negro del sedimento, indicador de la precipitación de sulfuros (Tabla 2).

Tabla 2. Parámetros fisicoquímicos de los sedimentos

Km*	pH	Salinidad (ups)	NH ⁴ NO ² NO ³ SO ⁴				Redox (Eh)	
			(PPM)					
M1	0	7.11	15	ND	0.34	0.04	**	-82
M2	0.07	6.70	8.5	3.53	0.13	0.003	**	-344
M3	0.6	6.73	3	8.99	0.05	0.009	**	-334
M4	1.1	6.92	3	ND	ND	0.029	**	-257

* Distancia en relación al cuerpo de agua, ** En proceso, ND: No detectado
Las secuencias de la subunidad 16S obtenidas se presentan en la tabla 3. Su análisis en el Gene presencia mayoritaria de bacterias asociadas a lodos activados y a sedimentos anóxicos metanogénicos de los grupos alfa proteobacteria, delta proteobacteria y bacterias verdes no sulfurosas.

Tabla 3. Análisis de la subunidad 16S de las bacterias amplificadas

**	Grupo taxonómico	Reporte Gen-Bank Relacionado	* [%]	Fuente ambiental
M1 A	Alfaproteobacteria	<i>Ochrobactrum grignonense</i> (AY972462)	87	Lodos activados
M1 B	Alfaproteobacteria	<i>Fulvamarina sp</i> (AY278869)	10 0	Marina tropical
M2 A	Deltaproteobacteria	<i>Uncultured bacterium</i> (AJ853814)	87	Sedimentos metanogénicos
M2 B	Verdes no sulfurosas	<i>Uncultured bacterium, Chloroflexi</i> (AB178103)	82	Sedimentos metanogénicos
M3 A	Verdes no sulfurosas	<i>Uncultured bacterium, Chloroflexi</i> (AF142799)	85	Sedimentos anóxicos marinos
M4 A	Verdes no sulfurosas	<i>Uncultured eubacterium, Chlorobi</i> (AY356376)	89	Sedimentos anóxicos reducción organoclorados
M4 B	Verdes no sulfurosas	<i>Uncultured bacterium, Chloroflexi</i> (AJ305057)	78	Sedimentos metanogénicos surgencia

*, Identidad por fasta3-análisis. **, Número de accesión en proceso

Conclusiones. La amplificación por PCR directo de los sedimentos asociados al manglar resultó adecuada para la caracterización preliminar de algunas bacterias asociadas a las características anóxicas y a la degradación de sustancias contaminantes en estos sedimentos.

Agradecimiento. Financiado por CONABIO-BQ006.

Bibliografía.

- Lyimo T, Pool A. y Huub J.M. (2002). Methane Emission, Sulphide Concentration and Redox Potential Profiles in Mtoni Mangrove Sediment, Tanzania. *Western Indian Ocean J. Mar. Sci.* 1:71-80.
- Schwieger F. y Tebbe C. (1998). A new approach to utilize PCR-Single-Strand-Conformation Polymorphism for 16S rRNA gene-based microbial community analysis. *Appl. Environ. Microbiol* 64:4870-4876.