



AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE UNA *Pseudoalteromonas* sp. MARINA CON ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA.

Alejandra Cetina, Víctor Monteón, Armando Zepeda, David Jay, Ruth López*.

CIET- Universidad Autónoma de Campeche, Av. Patricio Trueba de Regil s/n C.P 24090, Fax (981) 81 3 01 71, dzinup@hotmail.com

Palabras clave: actividad antimicrobiana, Pseudoalteromona, bacteria marina.

Introducción: Las bacterias marinas han demostrado ser una nueva fuente de metabolitos bioactivos, únicos estructuralmente (1).

Las *Pseudoalteromonas* son bacterias marinas obligadas que habitan comúnmente en el medio ambiente marino; se ha reportado la producción de metabolitos bioactivos por parte de este genero de microorganismos marinos (2).

El objetivo de este trabajo es aislar y caracterizar bacterias marinas que muestren actividad antibacteriana contra cepas patógenas al hombre.

Metodología: El aislamiento se realizó a partir de una muestra de sedimento marino obtenido de las costas del estado de Campeche. La muestra se sembró en placas de agar a base de caseína disuelto en agua de mar. Se realizó una caracterización primaria del aislado en base a criterios de morfología colonial, tinción de gram y se observó al microscopio electrónico de barrido. El aislado fue crecido en medio líquido YG (extracto de levadura 4g/l, glucosa 10 g/l, NaNO₃ 2g/l, FeSO₄ 0.01g/l, K₂HPO₄ 0.5g/l, MgSO₄ 0.5g/l) en agua de mar a pH 7.4.

Se preparó un extracto crudo del aislado y se efectuó un análisis de sensibilidad por medio de la técnica de difusión en disco.

Para la identificación molecular se aisló el DNA genómico y se llevó a cabo la amplificación y secuenciación de la fracción del gene 16S rDNA. La secuencia obtenida fue alineada y comparada con la base de datos GENE BANK.

Resultados y Discusión: En el presente trabajo, se aisló a partir de una muestra de sedimento marino una colonia de bacterias marinas en un medio sólido a base de caseína; en el pasado reciente la frecuencia de bacterias cultivables había llegado a ser baja, atribuyendo el fenómeno a la composición irreal de los medios de cultivo utilizados.

Sin embargo en este trabajo con el medio de cultivo utilizado se lograron aislar microorganismos de origen marino.

El análisis de sensibilidad del extracto crudo reveló actividad contra *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* como se observa en la Cuadro 1, esta bien documentado que las bacterias marinas son prolíficas en la producción de metabolitos bioactivos y que en muchos casos producen mas de una sustancia con actividad biológica (1).

Cuadro 1. Actividad antimicrobiana del aislado crecido en medio líquido YG, durante 72 horas.

	S.aureus	S.sensible	S.aureus resistente	P.aeruginosa multirresistente
Aislado	15 mm	14 mm	19 mm	10 mm

La caracterización primaria reveló que el aislado es un bacilo gram negativo y crece en colonias grandes con pigmento amarillo, la observación por microscopia electrónica de barrido mostró que el tamaño del aislado es de 1µm.

La secuencia obtenida alineada y comparada con la base de datos reveló una identidad del 97% con el genero *Pseudoalteromonas* sp., se ha reportado niveles de homología para nucleótidos de 16S rDNA de 87.7% y hasta de 90.3% en miembros de este genero marino, sin embargo, con los primers utilizados se obtuvo una homología de 97% lo cual es fuertemente indicativo de género.

```
GNGACTGTGGTTTCTTCATCACGNAAANACCTTACCTACC
CTTGACATACAGAGAACTTACCAGAGATGTGTTGGTGCCT
TCGGGACTCTGATACAGGGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTC
GTGTTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCA
ACCCCTATCCTTAGTTGCCAGCNATTCGGTCGGGAACCTT
AAGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGNGGAAGGTGGGGA
CCACGTCAAGGTCATCATGGCCCTTNNTTTTTTTTNCTAC
ANACGTGCTANAATGGCANGTACTCTCNANCATCCAGCT
AGNACTNNCCCCCCCCCNANAAAGCTNGCTCCNCT
NNCCCTTAGANANANTTCNCNTNCACTCATNNNNNNAT
NNNCNCNCTNNCNCNAAAANAATCANNANCTCTNCAN
CCCNANTCNGNTNNAANNCCCNNTNN.
```

Fig.1 . Secuencia de nucleótidos del fragmento de cerca de 495 bp del gene 16S rDNA, dirección 5' - '3.

Conclusiones: En este trabajo se logró aislar una bacteria marina en un medio a base de caseinato. El aislado mostró actividad contra *S.aureus* y *P.aeruginosa*.

El análisis molecular reveló que el aislado pertenece al genero *Pseudoalteromonas* y es un bacilo gram negativo con pigmento amarillo de 1µm.

Agradecimientos: A la Arqlga. Helena Barba y el Biol.. Pedro López del Departamento de Arqueología subacuática Centro INAH Campeche.

Bibliografía:

1. Fenical, W. 1993. Chemical studies of marine bacteria: developing a new resource. *Chem. Rev.* **93**: 1673-1683.
2. Kalinovskaya, N, Ivanova, E, Alexeeva, Y. 2004. Low-molecular-weight, biologically active compounds from marine *Pseudoalteromonas* species. *Curr. Microbiol.* **48**: 441-446.