



PRODUCCIÓN DE POLIMEROS POR CEPAS DE *AZOTOBACTER* SP. AISLADAS A PARTIR DE MUESTRAS AMBIENTALES

María de los Ángeles Dorantes Nieto, Miguel Castañeda Lucio y Luis Ernesto Fuentes Ramírez.
Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas, Instituto de Ciencias, BUAP, Edif. 76 3er Nivel, Ciudad Universitaria, Puebla, Pue. CP 72570, Fax: (222) 2444518., lefunte@siu.buap.mx

Palabras clave: *Azotobacter*, detección PCR, 16S rDNA, alginatos.

Introducción. Las bacterias del género *Azotobacter* son gram negativas, fijadoras de nitrógeno. Poseen un metabolismo secundario bastante versátil teniendo la capacidad de producir entre otros metabolitos polihidroxialcanoatos (PHA's) y alginatos, dos polímeros de interés comercial (1). Los alginatos son una familia de exopolisacáridos usados en la industria como aditivos espesantes, en tanto el PHB es un poliéster natural materia prima para la síntesis de plásticos biodegradables

La búsqueda de nuevas cepas con mejores capacidades para la producción de metabolitos de interés biotecnológico es una de las estrategias que frecuentemente rinden buenos resultados.

En el presente trabajo se pretendió diseñar un método rápido para aislar y detectar microorganismos del género *Azotobacter* en el ambiente. Para ello diseñamos un grupo de oligonucleótidos con utilidad taxonómica.

Metodología. Para el diseño de oligonucleótidos específicos para género y para especies de *Azotobacter* se utilizaron las secuencias reportadas del gen 16S ribosomal de la subdivisión γ -Proteobacteria. Las secuencias se alinearon y se buscaron regiones de similitud entre género y especies de *Azotobacter* y que mostraran diferencias con otros géneros, especialmente en la región 3'. Se muestrearon suelos y aguas de zonas agrícolas, semidesérticas y boscosas del estado de Puebla y se aislaron cepas con medios semiselectivos para el género. Preliminarmente las cepas se identificaron por su morfología y habilidad de reducir acetileno, como una determinación indirecta de fijación de nitrógeno. Posteriormente se determinó la utilidad de los oligonucleótidos diseñados. La producción de alginatos se realizó por el método del carbazol (3) y la acumulación de PHA's se hizo según lo reportado por Law y Slepecky (2)

Resultados y discusión. Se aislaron y purificaron 200 cepas de distintas regiones del estado de Puebla. De estas 26 mostraron actividad reductora de acetileno y todas fueron identificadas como del género *Azotobacter* por pruebas fenotípicas y por PCR específico. Una cepa fue identificada como *A. vinelandii* con los oligonucleotidos específicos para esta especie.

Algunas de estas cepas se seleccionaron fenotípicamente (por su opacidad y mucoidia) y se les cuantificó la

producción de alginatos y la acumulación de PHA's, encontrando en ellas diferentes capacidades para sintetizar estos metabolitos.

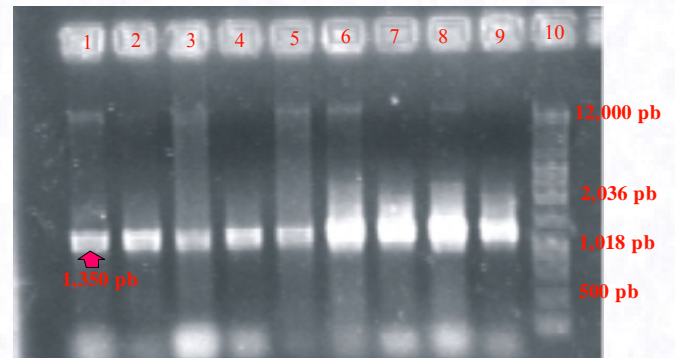


Fig. 1. Amplificaciones del gen ribosomal 16S con oligos específicos del género *Azotobacter*. 1, cepa tipo VW de *A. vinelandii* 2 al 9 cepas fijadoras aisladas en este trabajo.

Conclusiones. Los oligonucleótidos diseñados son útiles para la identificación de cepas del género *Azotobacter*. La digestión con enzimas de restricción de estos amplificados y/o la secuenciación nos llevará a una identificación más precisa.

En las cepas probadas se encontraron diferentes niveles en la producción de polímeros.

Agradecimiento. Este trabajo fue financiado parcialmente con fondos del proyecto SEP-CONACYT P46625-Q. .

Bibliografía

- 1.-Blumenkrantz, N. and G. Asboe-Hansen. (1973) New method for quantitative determination of uronic acids. *Anal. Biochem.* 54:484-489.
- 2.-Law, J. H., and R. A. Slepecky. (1961). Assay of poly- β -hydroxybutyric acid. *J. Bacteriol.* 82:33-36.
- 3.-Sabra W., A. P. Zeng, and W. D. Deckwer. (2001). Bacterial alginate: physiology, product quality and process aspects. *Appl Microbiol Biotechnol.* 56 :315-2