

AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE ALGUNOS MICROORGANISMOS DEL TRACTO DIGESTIVO DE *Eisenia sp* POR PCR.

Jazmín Alejandra López-Hernández¹, Lourdes Rivera-Hernandez¹, Edgar Vázquez Sánchez² Cesar Valenzuela Encinas², Rodolfo Marsch,² M Olivia Franco Hernández¹, Luc Dendooven²

¹Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología Av. Acueducto S/N Col. La Laguna Ticomán, Tel 57296000 Ext 56324 Email: ofranco@acei.upibi.ipn.mx;

² Departamento de Biotecnología y Bioingeniería. Centro de Investigación de Estudios Avanzados (CINVESTAV).

Palabras clave: *Eisenia foetida*, lombricomposta, nitrificantes.

Introducción. La ciudad de México genera actualmente toneladas de basura orgánica y un tratamiento alternativo sería el vermicomposteo. *Eisenia sp* en conjunto con los microorganismos de su intestino y el suelo, transforman los desechos en un mejorador del suelo, conocido como vermi-composta, con una concentración de nutrientes óptimos para cultivos agrícolas¹. En el intestino de la lombriz ocurren procesos de fraccionamiento, desdoblamiento, síntesis y enriquecimiento enzimático y microbiano, incrementando significativamente la velocidad de degradación y mineralización del residuo y la capacidad de eliminar microorganismos patógenos de plantas y animales. Pero aún se desconoce el mecanismo completo de este proceso. El objetivo es identificar las poblaciones microbianas en el tracto digestivo de *Eisenia sp* por técnicas convencionales y moleculares.

Metodología. Las poblaciones microbianas fueron extraídas del tracto digestivo de *Eisenia sp.*, por medio de una incisión longitudinal de la epidermis de la lombriz, el extracto se cultivó en medios diferenciales (Agar Columbia, Sellers, Sanders, EMB, Mac Conkey) y generales (Agar Nutritivo y BHI). Las colonias aisladas se sometieron a pruebas de Gram y bioquímicas para identificar su género.

Amplificación del gen rDNA 16S usando iniciadores específicos para esta región, el volumen final de reacción fue de 24 uL, elaborado de acuerdo a las instrucciones del fabricante (Invitrogen) y 2.5 U de *Taq* polimerasa, se adicionó 1 uL de la siembra en caja para cada colonia. Finalmente se corrió el programa de amplificación en un termociclador IQ-cycler (Bio-Rad).

Resultados y discusión. Se aislaron 300 colonias de las cuales mediante pruebas bioquímicas se logró obtener el género solo de 13. Más del 50% de estas bacterias se pueden adaptar a diferentes fuentes de carbono. El 62% de las bacterias son halófilas moderadas ya que presentan resistencia a concentraciones de NaCl al 7%, (cuadro 1).

Un 66% de las bacterias presentan actividad proteolítica, característica que sería útil para degradar material orgánico con alto contenido proteico.

Un 84% de las bacterias reducen nitratos, característica que favorece a la calidad nutritiva del producto final como mejorador de suelo. El 100% de las bacterias presentó crecimiento facultativo, propiedad que favorece su desarrollo y adaptación en ambientes aerobios y anaerobios.

Cuadro 1. Características bioquímicas de los microorganismos del tracto digestivo de *Eisenia sp*

Prueba bioquímica	Positiva %	Negativa %	Variable %
Producción de ácido	31.6	5.3	63.2
Reducción de nitratos	84.2	15.8	
Citrato	27.8	6.7	5.6
Caldo Urea	11.1	83.3	5.6
NaCl 7%	62	229	9
CRFM	36.8	36.8	26.3
TSI	68.4	21.1	10.5
Gelatina Nutritiva	66.7	27.8	5.6

En la figura 2, se puede observar la amplificación de 1500 pb de rDNA 16s por PCR convencional, dicho proceso resultó satisfactorio para 14 de 16 cepas. Por lo tanto será necesario otro análisis, para determinar si se realizará una estrategia diferente para las cepas que no amplificaron.

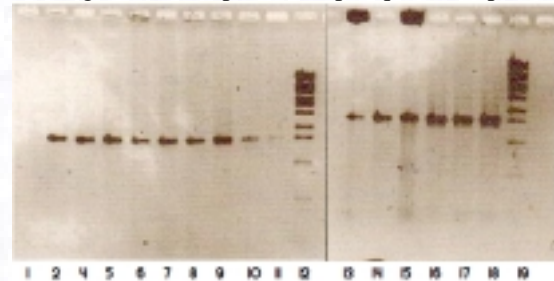


Figura 2.- Perfil de amplificación de rDNA 16s de 14 cepas aisladas del tracto digestivo de *Eisenia sp*. Los carriles son 1.- blanco, 2.- testigo positivo (DNA *E. coli* DH5α), 3. a 11 y 13 a 18 bacterias aisladas y 12 y 19.- marcador de pares de bases Styl.

Conclusiones. 16 colonias de bacterias fueron aisladas del tracto digestivo de *Eisenia sp*, y de acuerdo a las pruebas bioquímicas son del género *Branhamella*, *Streptococcus* y *Enterobacterias*. Algunas de estas cepas tienen características muy interesantes como las halotolerantes y proteolíticas. Por PCR se logró amplificar el DNA de 14 cepas, pero aún falta la secuenciación de éste y la identificación de las cepas.

Agradecimientos. Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología. Proyecto SIP 20060632

Bibliografía.

1. Edwards, A. 1984. The use of earthworms in the breakdown and Management of organic wastes. Ed. Earthworm Ecology.