

## ANÁLISIS DE GRUPO DE LA RIQUEZA BACTERIANA DE COMUNIDADES PRODUCTORAS DE HIDRÓGENO

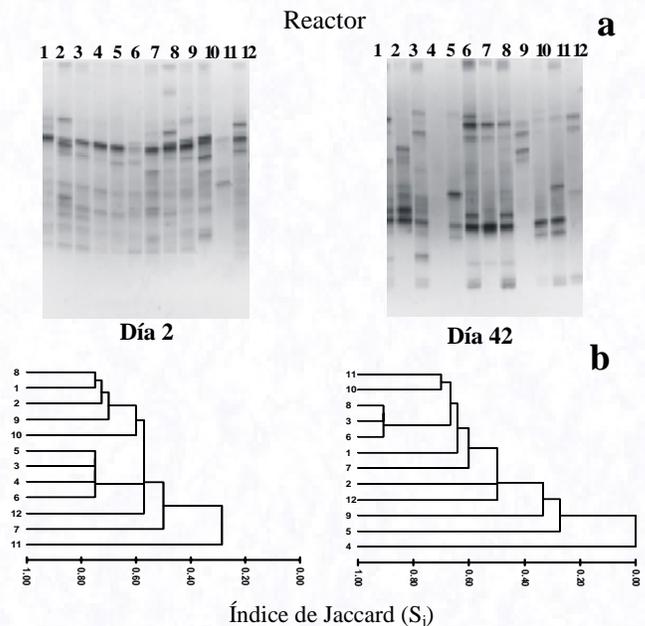
Idania Valdez Vazquez, Jorge A. Acevedo Benítez, Ma. Teresa Ponce Noyola, Fernando Esparza García, Héctor M. Poggi Varaldo. CINVESTAV, Departamento de Biotecnología y Bioingeniería, México D. F. e-mail: hectorpoggi2001@yahoo.com.

*Palabras clave: análisis de grupo, comunidades microbianas, hidrógeno.*

**Introducción.** La producción de H<sub>2</sub> por comunidades microbianas tiene como ventajas: mayor capacidad metabólica, uso de diversos residuos orgánicos, condiciones no estériles, inóculos fácilmente disponibles, entre otras (1). El conocimiento de la dinámica de estas comunidades puede permitir la operación de los reactores de forma más eficiente. Se han desarrollado métodos basados en el rRNA 16S para hacer estudios filogenéticos en procariotes, uno de ellos es la electroforesis en gel con gradiente desnaturante (DGGE). Sin embargo, en ocasiones la información obtenida es compleja y difícil de interpretar (2). Este estudio tuvo como objetivo aplicar el análisis de grupo para interpretar los perfiles de DGGE obtenidos de las comunidades bacterianas presentes en reactores productores de H<sub>2</sub>.

**Metodología.** Se operaron 12 reactores productores de H<sub>2</sub> a diferentes niveles de sólidos totales (21–35 %) y alcalinidad (0.097–0.22 gCaCO<sub>3</sub>/gST). Los reactores fueron alimentados con residuos orgánicos y operados a 55°C. Se tomaron muestras a los 2, 15, 29, 42, 55 y 79 días de operación y se extrajo el ADN total por la técnica de fenol/cloroformo. Se amplificó por PCR una región conservada del rRNA 16S de bacterias con iniciadores específicos (3). Los productos de PCR fueron cargados en geles de poliacrilamida (gradiente desnaturante 30–52 %) por 4.5 h, 60°C y TAE 0.5x (2). A partir de los geles se construyeron matrices binarias por la presencia/ausencia de bandas y fueron analizadas con el programa XLStat. Los resultados fueron representados con un dendograma que agrupa las muestras más similares mediante líneas horizontales, en el eje de las abscisas se muestra el valor del índice de similaridad de Jaccard (4).

**Resultados y discusión.** Las tendencias generales encontradas del análisis de grupo indican que al inicio del ensayo, a pesar de la homogenización de inóculo, la riqueza bacteriana no fue del todo igual en los reactores productores de H<sub>2</sub>. Durante los primeros días del ensayo (tiempo de estabilización), el contenido de sólidos totales y alcalinidad afectaron de manera uniforme y negativa la riqueza bacteriana en todos los reactores. Sólo hasta los 42 días de operación se encontró que la riqueza bacteriana fue heterogénea, lo cual puede deberse al efecto diferencial y contundente de las condiciones de operación y alcalinidad. Al transcurrir el tiempo de operación, la comunidad bacteriana siguió en constate cambio hasta alcanzar los valores mínimos de riqueza y de mayor divergencia entre comunidades de los reactores.



*Fig. 1. a) Perfil de DGGE de fragmentos del 16S del rRNA de bacterias de los 12 reactores productores de H<sub>2</sub> al día 2 y 42 de operación. b) Dendograma del análisis de grupo de las comunidades bacterianas basado en el índice de Jaccard.*

**Conclusiones.** El análisis de grupo fue efectivo para ordenar e interpretar la información obtenida de los geles de DGGE de comunidades bacterianas complejas. Se obtuvieron las tendencias generales de la dinámica bacteriana, y su relación con las condiciones de operación. Así se encontró que durante los primeros 30 días de operación la similaridad entre los reactores fue alta. Sin embargo, a partir del día 42, la diferencia entre reactores fue máxima debido a las condiciones de operación.

**Agradecimiento.** Se agradece a CONACYT por la beca otorgada para los estudios de posgrado y a CINVESTAV-IPN por el financiamiento otorgado.

### **Bibliografía.**

- Valdez-Vazquez I. Caracterización bioquímica y microbiológica de sistemas en lote y semi-continuo para la producción de H<sub>2</sub> vía fermentativa de residuos sólidos orgánicos. Tesis de Doctorado. CINVESTAV. México, 2007.
- Muyzer G, De Wall EC, Uitterlinden AG. 1993. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction amplified genes coding for 16sRNA. *Appl Environ Microbiol* 59(3):695 – 700.
- Øvreås L, Forney L, Daae FL, Torsvik V. 1997. Distribution of bacterioplankton in meromictic lake Sælenvannet, as determined by denaturing gradient gel electrophoresis of PCR-amplified gene fragments coding for 16S rRNA. *Appl Environ Microbiol* 63(9): 3367 – 3373.
- Hewson I, Fuhrman JA. 2004. Richness and diversity of bacterioplankton species along an estuarine gradient in Moreton Bay, Australia. *Appl Environ Microbiol* 70(6):3425 – 3433.