



IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE MICROORGANISMOS DEL COMPLEJO LAGUNERO “NICHUPTÉ-BOJÓRGUEZ”

Fabiola León, Noel Carbajal, Leticia Santos

Depto. De Biología Molecular, Dpto. De Geociencias, IPICYT, Camino a la Presa San José 2055, Col. Lomas 4ª Secc. CP 78216, San Luis Potosí, SLP, Mex., Fax. 4448342020. E. mail: fabiola@ipicyt.edu.mx

Palabras clave: 16S, identificación, microorganismo,

Introducción. Existe la necesidad de realizar un diagnóstico y seguimiento de los microorganismos presentes en el complejo lagunero Nichupté-Bojorguez, en Cancún Qroo., para el control y saneamiento del ecosistema en la Laguna. La identificación de microorganismos se basa actualmente en las secuencias de los genes que codifican RNA ribosomales (rDNA) de las subunidades 16S y 23S en bacterias, estas secuencias son consideradas las huellas digitales de todas las especies. En este estudio se propone el uso de la técnica RFLP-fingerprinting o huella de DNA que se usa para caracterizar comunidades y poblaciones, los datos obtenidos impactaran en el área ambiental y social, y como consecuencia en el área económica de la región directamente relacionadas con las actividades turísticas de Cancún.

El objetivo de este trabajo es caracterizar molecularmente los microorganismos presentes en el complejo lagunero.

Metodología

Se realizó un muestreo de agua en diferentes puntos del complejo lagunero. El aislamiento del DNA genómico se realizó, siguiendo el método modificado de Wisotzkey et al., 1990 (1). La amplificación de los genes 16S, se realizó por PCR con los oligonucleótidos UBF y 1492R que son universales para 16S, generando un producto de 1500 pb. El producto de PCR se clonó al vector pCR 4-TOPO, y se introdujo en células químicamente competentes de *E. coli* (Topo 10), las múltiples clonas que contienen el gen amplificado se sometieron de forma individual a una nueva reacción de PCR., estos fueron digeridos con las enzimas *Msp I* y *Bsa II*, las clonas que presentaron diferente patrón de restricción fueron secuenciadas. Cada secuencia obtenida se comparó en la base de datos NCBI <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>. La identificación de las secuencias se efectuó usando el programa nucleotide-nucleotide BLAST (blastn). Por último, se llevó a cabo análisis filogenético de todas las secuencias obtenidas para su clasificación taxonómica mediante el uso de los programas, ClustalX, MacBoxShade 2.15E y TreeViewPPC.

Resultados y discusión. Los aislados obtenidos muestran una gran colección genética bacteriana que cubre 10 géneros de seis clases filogenéticas: Proteobacteria, Cianobacteria, Bacilos, Bacteroidetes, Flavobacteria, y Sphingobacteria. Los principales grupos bacterianos representados son el grupo de Cytophaga-Flavobacteria /Flexibacter-

Bacteroidetes (CFB), el grupo de Proteobacteria (subdivisiones alfa-, beta, y gamma). De forma interesante no existen reportes de que por medio del 16S bacterias del tipo CFB especialmente bacteroidetes hubieran sido aisladas de muestras de agua marina o costera, y nosotros encontramos que este tipo de microorganismos constituyen casi una tercera parte de la comunidad presente en el complejo lagunero, los bacteroidetes se han considerado en algunos casos como indicadores fecales, esto puede explicarse porque el complejo aunque está conformado por parte del Océano Atlántico y por una gran cantidad de lagunas, se cree que agua residuales son vertidas en este complejo.

Conclusiones.

Nuestros resultados indican que la comunidad bacteriana más abundante presente en la laguna son del tipo CFB, seguido por Proteobacteria. Y las menos representativa son Cianobacterias y bacilos.

En este resultado preliminar mostramos que aunque se trata de agua marina natural, esta contaminada en casi una tercera parte puesto que las especies de Bacteroidetes son terminantemente anaerobias.

Agradecimientos.

A CONACYT, por la beca No. 170605 otorgada para los estudios de doctorado.

A la CONABIO, por el apoyo al proyecto.

Referencias.

1. Wisotzkey, J.D., Jurtschuk, P.Jr. and Fox, G.E. (1990) PCR amplification of 16S rDNA from lyophilized cell cultures facilitates studies in molecular systematics. *Curr. Microbiol.* 21, 325–327.
2. Cottrell T., Kirchman, D. 2000 Natural Assemblages of Marine Proteobacteria and Members of the *Cytophaga-Flavobacter* Cluster Consuming Low- and High-Molecular-Weight Dissolved Organic Matter. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 1692-1697.
3. Eilers, H., Amann, R. 2001. Isolation of Novel Pelagic Bacteria from the German Bight and Their Seasonal Contributions to Surface Picoplankton. *Appl. Environ. Microbiol.* 67, 5134-5142.
4. Frickey, T., Lupas, A. 2004. CLANS: a Java application for visualizing protein families based on pairwise similarity. *Bioinformatics* 20, 3702-3704.