

# EXTRACCION Y PURIFICACION DE ADN DE SUELOS MEXICANOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS.

Aída Hamdan Partida<sup>1</sup>, Ildefonso Díaz Ramírez<sup>2</sup>, Mariano Gutiérrez Rojas<sup>2</sup> y Hugo Ramírez Saad<sup>1</sup>.

Universidad Autónoma Metropolitana. 1. Unidad Xochimilco. Departamento de Sistemas Biológicos. Calz. del Hueso # 1100, Villa Quietud. C.P. 04960. 2. Unidad Iztapalapa. Departamento de Biotecnología. San Rafael Atlixco No. 186, Col. Vicentina C.P. 09340. México, D.F. Fax 54. 83. 72 37.

e-mail: aidahamdan@yahoo.com

Palabras clave: ADN, hidrocarburos, purificación, suelo.

**Introducción.** El suelo puede contener en adición a los componentes naturales, una mezcla de compuestos extraños o contaminantes de diferentes propiedades químicas. Los estudios actuales de ecología microbiana del suelo, basados en métodos de biología molecular, requieren la extracción del ADN como paso inicial. Dicha metodología estará limitada por las técnicas de extracción y purificación de ADN (1). Se han propuesto diferentes técnicas, sin embargo, siempre se requiere adecuarlas a las condiciones de cada muestra ambiental, ya que generalmente se coextraen junto con los ácidos nucleicos, contaminantes que pueden interferir en la utilización posterior del ADN, procesos como PCR, hibridación, digestión con enzimas, etc., El objetivo de este trabajo fue la estandarización de un método de extracción y purificación del ADN total de diferentes suelos mexicanos contaminados con hidrocarburos.

**Metodología.** La extracción de ADN se hizo por el método de lisozima-bead beater-SDS (2). Se probaron diferentes métodos de purificación del ADN: cloruro de cesio (2), columnas Wizard Clean Up (Promega) y polivinil pirrolidona (PVP) (5).

**Resultados y discusión.** En la Tabla 1 se presentan algunas características físico-químicas de los suelos, así como las cuentas de bacterias totales.

Suelos	Tipo de suelo	pH	[HTP's] (ppm)	Tipo de contaminante	Cuenta Viable (UFC/ g de suelo seco)
1	Migajón Arcilloso	n.d.		n.d.	$9.99 \times 10^5$
2	Migajón arcilloso	n.d.	77 873	Crudo Gasolina Diesel	$5.58 \times 10^6$
3	Migajón Arcilloso arenoso	7.4	2 000	Crudo	$8.9 \times 10^7$
4	Arcilloso	7.5	3 180	Crudo	$1.8 \times 10^8$
5	Migajón arcilloso	7.0	7 260	Diesel Gasolina Crudo	$7.3 \times 10^7$
6	Migajón arenoso	7.3	36 600	Crudo	$2.7 \times 10^8$
7	Franco arenoso	7.6	5.3	Diesel	$1.2 \times 10^7$
8	Migajón Arcilloso arenoso	7.7	24	Diesel	$2.9 \times 10^8$

Tabla 1. Características de los suelos utilizados en el presente estudio.

La técnica de Lisozima- bead beater-SDS al utilizar diferentes formas de lisis celular nos permitió obtener un buen rendimiento de ADN de todos los suelos ensayados (Fig 1). De las técnicas de purificación, la que ofrece el mejor rendimiento es PVP, siendo Wizard la más baja (Fig 1). Sin embargo, el producto obtenido con esta última es más puro a juzgar por su capacidad para producir resultados positivos en PCR.

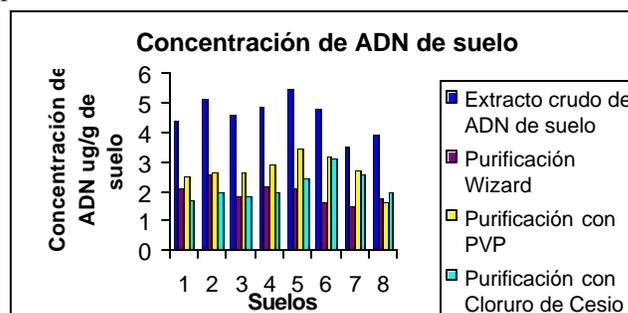


Fig. 1. Comparación de la concentración de ADN de los diferentes suelos y de los métodos de purificación.

**Conclusiones.** El método de lisozima-bead beaters-SDS extrae eficientemente ADN de suelos de distintas texturas, contaminados con hidrocarburos de diferente naturaleza. La utilización de columnas Wizard Clean Up es una buena alternativa para purificar los ácidos nucleicos obtenidos.

**Agradecimientos.** Gerencia de Ductos, PEMEX y Proyecto CONACYT 33584-B.

## Bibliografía.

- Holben, W. E. (1992) Isolation and purification of bacterial DNA from soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 33: 1225-1228.
- Johnston, W, Stapleton R, Sayler G. (1996) Direct extraction of microbial DNA from soils and sediments. *Molecular Microbial Ecology Manual 1.3.2: 1-9*
- Leff, L, Dana R, Mc-Arthur J, Shimkets. (1995). Comparison of methods of DNA extraction from stream sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 61: 1141-1143.
- Ogram, A., Sayler, and Barkay T. (1987) The extraction and purification of microbial DNA from sediments. *J. Microbiol. Methods.* 7: 57-66.
- Ramírez, H. Akkermans, W. Akkermans A. (1996) DNA extraction from actinorhizal nodules. *Molec. Microbial. Ecol. Manual 1.4.4. Pp 1-11*