



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



ESTUDIO DE LA BIODIVERSIDAD DE LOS TAPETES MICROBIANOS DEL BANEARIO “LOS AZUFRES, MICHOACAN”.

Norberto Villegas Negrete, Amaranta González Sotelo, Hilda Piñón, Georgina Elena Reyna López, J. Félix Gutiérrez Corona, Elcia Margareth Souza Brito, Cesar Augusto Caretta, Robert Duran, María Soledad Goni Urriza, Remy Guyoneaud, Departamento de Biología, División de Ciencia Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato. Guanajuato, Gto. C.P. 36000. norber_villegas@hotmail.com.

Palabras clave: Extremófilos, TRFLP, árbol filogenético.

Introducción. México es considerado el quinto país con mayor diversidad biológica en el mundo, esto se debe a la gran cantidad de ecosistemas que existen en el territorio (1). Por las características que presenta la zona “Los Azufres” en el estado de Michoacán, pudiera representar un ambiente ideal para encontrar microorganismos extremófilos. Para determinar cuáles y/o cuantas especies microbianas forman parte de una comunidad, se emplean métodos independientes de cultivo, para no descartar a aquellos que no pueden cultivarse.

El objetivo general de nuestro estudio fue analizar la biodiversidad presente de los tapetes microbianos formados en el Spa “Los azufres”.

Metodología. Se tomó el tapete microbiano completo, conforme a la norma NMX AA 132 SCFI 2006, para el muestreo de suelos para la identificación y cuantificación de metales y metaloides, y manejo de muestras en territorio mexicano. Se midieron los parámetros fisicoquímicos de temperatura, oxígeno disuelto y pH, *in situ*. Parte de la muestra fue destinada a análisis elemental de metales y metaloides. En primer lugar se extrajo el ADN total utilizando el método, modificado, de Tsai y Olson (2), este ADN fue amplificado por PCR (*polymerase chain reaction*) con oligonucleótidos (8F y 907R) marcados fluorescentemente para el análisis por TRFLP (3), y sin marcar para la creación del banco de genes. Para este último caso el producto fue purificado, y posteriormente clonado utilizando el sistema pJet-1.2/blunt (Fermentas®). Se verificó la presencia del vector con el respectivo inserto en las células a través de un PCR en colonia. Las clonas positivas fueron sometidas a un análisis ARDRA (*Amplified rDNA Restriction Analysis*) para discriminar entre grupos de clonas idénticas a través del patrón de bandeado obtenido por restricción enzimática. El ADN plasmídico fue extraído (sistema Fermentas®) y enviado a secuenciar (CINVESTAV, Irapuato) y con las secuencias editadas se elaboró un árbol filogenético (4).

Resultados. De acuerdo a los parámetros fisicoquímicos determinados, este sitio de muestreo se pudo caracterizar como un lugar de temperatura media (27.4

°C) y un sitio extremo de acuerdo al valor de pH (1.27). Nuestros resultados indican que la mayoría de las poblaciones obtenidas se agrupan dentro de las α -proteobacterias, representados por géneros como *Rhodoblastus* y *Methylocella*; existen porcentajes menores para bacterias γ -proteobacterias, que incluyen géneros como *Chlorobaculum* y *Chlorobium* y cloroplastos del género *Chlorella*. Las β -proteobacterias (9%) están representadas por géneros como *Thiomonas*; en tanto que las δ -proteobacterias y las bacterias firmicutes mostraron un porcentaje igual y están representadas por géneros como *Desulfobacterium* y *Thermoanaerobacter*, respectivamente. El 13% de las clonas (3 clonas) no mostró homología alguna con los datos del banco.

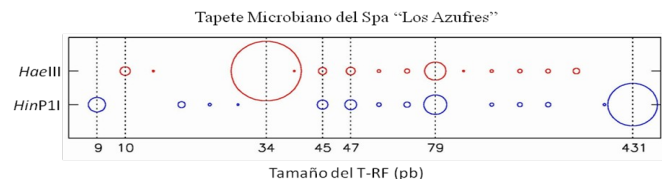


Fig. 1. Análisis del perfil t-RFLP con las enzimas HinP1I y HaeIII. El diámetro del círculo representa el tamaño relativo de la población (% de fluorescencia).

Conclusiones. Los datos nos indican que el tapete microbiano existe poca diversidad microbiana, probablemente debido a la presión selectiva que representan las condiciones ambientales. A partir de estos resultados se inició el estudio de bioprospección de bacterias del ciclo del azufre.

Agradecimiento. Universidad de Guanajuato, SEP-Promep.

Bibliografía.

- Herrera Estrella A. y Castellanos F., (2007). Ideas CONCyTEG. 2:802-823
- Tsai Y.L., Olson B.H., (1991). *Appl. Environ Microbiol.*57: 1070-1074.
- Lane D.J., Pace B., Olsen G.J. Stahl D.A., Sogin M.L. y Pace N.R., (1985). *Evolution.*82: 6955-6959.
- Brito E.M, Andrade L.H., Caretta C., Duran R., (2007). Microorganisms Bioprospection: a New Tendency in Microbial Ecology. En: *Leading-Edge Environmental Biodegradation*. Lyman E., Nova Science Publishers, Inc. EUA: ISBN 978-1-60021-903-9,199-222.