

## Identificación de bacterias aisladas de chapopoter del Estado de Veracruz

José Norberto García Miranda<sup>a</sup>, Ulrico Javier López Chuken<sup>a</sup>, Xristo Zárate Kalfópulos<sup>a</sup>, Jesús Alberto Gómez Treviño<sup>a</sup>, Edgar Allan Blanco Gámez<sup>a\*</sup>.

<sup>a</sup>Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Químicas, Laboratorio de Biotecnología I, San Nicolás de los Garza, Nuevo León.

\*allan\_blanco@yahoo.com.mx

**Palabras clave:** Genes tod, hidrocarburos, bacterias hidrocarbonoclastas.

### Introducción

Los hidrocarburos (HCs) son compuestos formados por cadenas de carbono (C) e hidrógeno (H)<sup>1</sup>. En la actualidad existen un gran número de áreas contaminadas por el uso, la manipulación y disposición inadecuada de los HCs<sup>2</sup>. Para reducir el daño y hacer uso del suelo contaminado con HCs se ha optado por métodos químicos, físicos, los cuales pueden tener inconvenientes como la generación de compuestos más tóxicos<sup>1</sup>. Se han usado métodos biológicos con microorganismos aislados de sitios contaminados con HCs, los cuales pueden usar estos compuestos como fuente de C y llevarlos hasta mineralización<sup>3</sup>. Se han aislado organismos como *Pseudomonas aeruginosa*, *P. putida*, *Alcanivorax* sp., *Bacillus ceparia*, *Acinetobacter* sp.<sup>4-5</sup>. En el presente trabajo se identificaron las cepas aisladas de chapopoter del estado de Veracruz hasta especie con el fin de conocer la diversidad de organismos presentes en sitios contaminados con HCs.

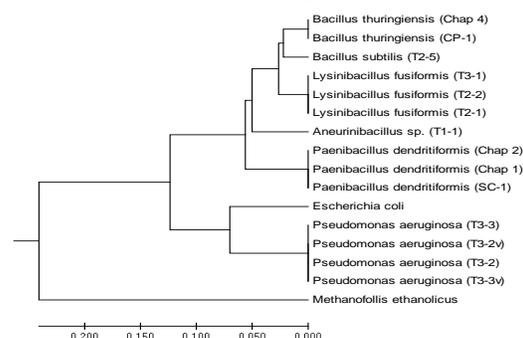
### Parte experimental

Las cepas se reactivaron en caldo nutritivo y se preservaron a -20° C. Después se realizó la determinación hasta género usando pruebas API® 20E, en caso de ser Gram negativo y pruebas de catalasa, amilasa, oxidación de citratos, formación de endosporas, oxidación y fermentación de azúcares en el caso de ser Gram positivo. Posteriormente, se extrajo el DNA genómico usando el kit PrepEase™ USB®, para después amplificar por PCR la secuencia que codifica para la subunidad 16S del rRNA usando los primers 27F (AGAGTTTGATCCTGGCTCAG) y 1392R (GGTTACCTTGTTACGACTT) y el kit GoTaq® Green Master Mix Promega ©. Los fragmentos amplificados se enviaron a secuenciar a la empresa MacroGen© y el análisis de los resultados de la secuenciación se hizo usando la base de datos del National Center for Biotechnology Information (NCBI). El cladograma se hizo con el método UPGMA usando el programa MEGA versión 7.0.21.

### Resultados y discusión

El total de las cepas con las que se trabajó fue de 19, de las cuales 18 fueron aisladas previamente de las chapopoter y se utilizó una cepa de *E. coli* (ATCC® CRM-11229™) como control. Con las pruebas bioquímicas se determinaron 4 cepas del género *Pseudomonas*, una del género *Shigella*, y 6 del género

*Bacillus*. Se obtuvo el DNA genómico de las cepas y se realizó la PCR. Al analizar los resultados de la secuenciación del gen de la subunidad 16S de rRNA se identificaron 5 especies pertenecientes a los *phyla* *Firmicutes* y *Proteobacteria* (Fig. 1).



**Fig. 1.** Cladograma realizado con las secuencias amplificadas del gen de la subunidad 16s rRNA. Para la construcción del cladograma se consideró la secuencia previamente reportada de *M. ethanolicus*

De estas, solamente *P. aeruginosa* y especies del género *Bacillus* habían sido reportadas<sup>3-4</sup>. Mientras que las especies *L. fusiformis*, *P. dendritiformis* y *Aneurinibacillus* sp. no habían sido aisladas de sitios contaminados con hidrocarburos<sup>3-4</sup>.

### Conclusiones

Se identificaron 14 cepas que pertenecen a 5 especies diferentes, de las cuales 4 son del *phylum* *Firmicutes* y 1 de *Proteobacteria*

### Referencias

1. Gan S, Lau E, Ng H, (2009) Remediation of soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *J. Hazard. Mater.* 172, 532-49.
2. Fuentes S, Méndez V, Aguila P, Seeger M, (2014). Bioremediation of petroleum hydrocarbons: catabolic genes, microbial communities, and applications *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 98, 4781-94.
3. Morimoto H, Kuwano M, Kasahara Y, (2013). Gene expression profiling of *Pseudomonas putida* F1 after exposure to aromatic hydrocarbon in soil by using proteome analysis *Arch. Microbiol.* 195, 805
4. Röling WF, Milner MG, Jones DM, *et al.*, (2002). Robust hydrocarbon degradation and dynamics of bacterial communities during nutrient-enhanced oil spill bioremediation. *Appl. Environ. Microbiol.* 68, 5537-48.
5. Kostka JE, Prakash O, Overholt WA, *et al.*, 2011. Hydrocarbon-degrading bacteria and the bacterial community response in Gulf of Mexico beach sands impacted by the Deepwater Horizon oil spill. *Appl. Environ. Microbiol.* 77, 7962-74