



EVALUACIÓN DE LA DIVERSIDAD BACTERIANA PROCEDENTE DE AGUA MARINA ANTÁRTICA UTILIZANDO MICROBIOLOGÍA CONVENCIONAL

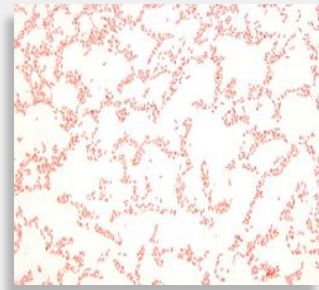
Sara Gabriela Torres Cortés
Yuly Vanessa Avendaño Osorio

Asesora:

Msc. Ligia Consuelo Sánchez Leal

Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca
Facultad de Ciencias de la Salud
Bacteriología y Laboratorio Clínico
Bogotá 2019- I

INTRODUCCIÓN

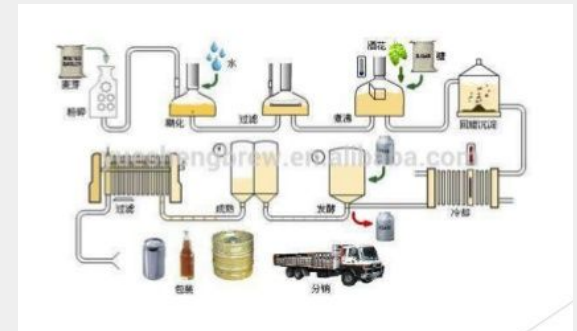


ENZIMAS → BIOPROSPECCIÓN

← Psicrófilas
Psicrotrofas →

- Proteasas
- Amilasas
- Nitrogenasas
- Enzimas desnitrificantes

Temperatura:
● Mínima
● Óptima
● Máxima



OBJETIVOS

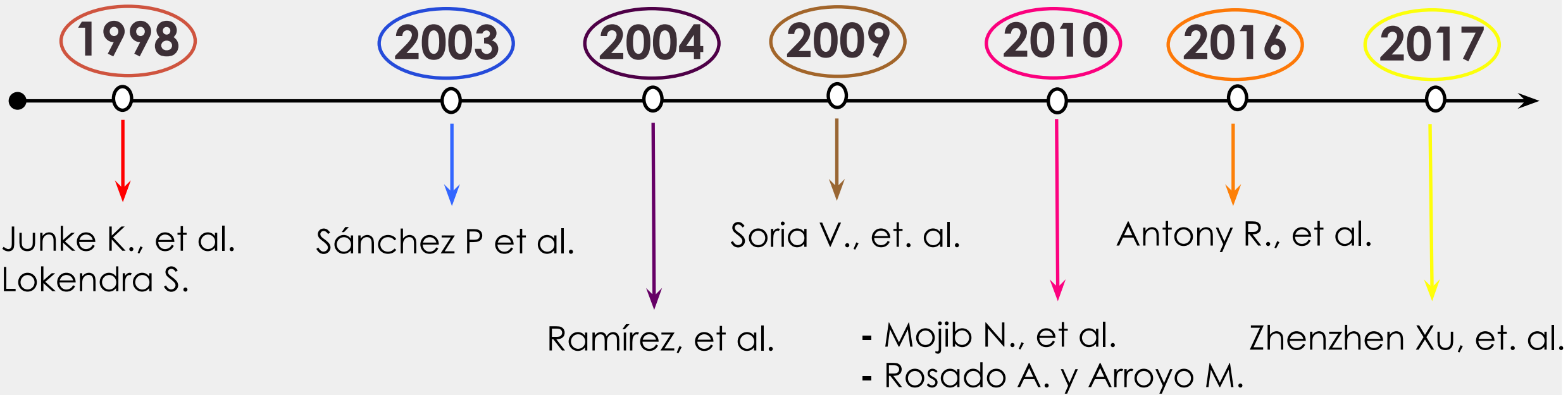
General

Evaluar la diversidad bacteriana procedente de agua marina antártica por medio de métodos microbiológicos convencionales.

Específicos

- Aislar la diversidad bacteriana procedente de agua marina antártica, en condiciones de temperatura y salinidad propicias para bacterias de este ecosistema.
- Determinar actividad enzimática proteolítica, amilolítica, fijación de nitrógeno y desnitrificación de las bacterias recuperadas a través de medios selectivos.

ANTECEDENTES



METODOLOGÍA

FASE 1. Recuperación de microorganismos bacterianos de agua marina antártica.

-Obtención de agua marina antártica.



Expedición
Almirante Padilla
2016 - 2017



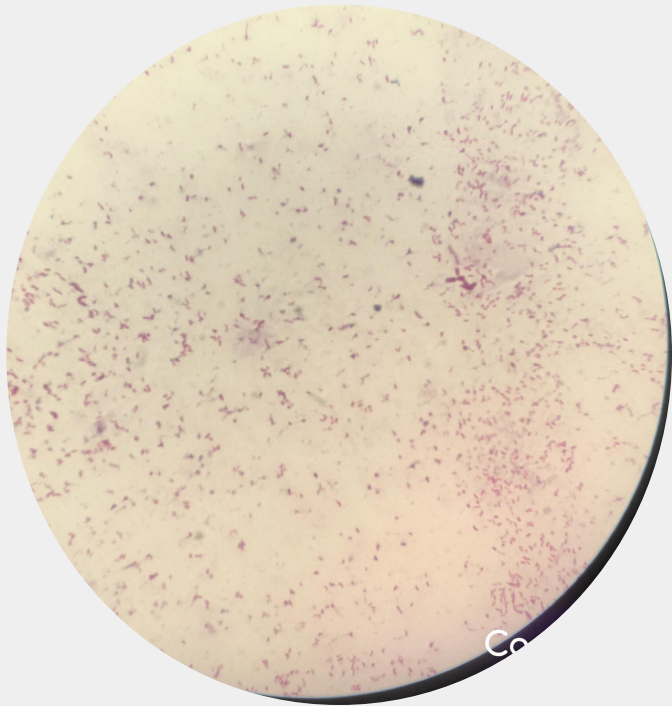
-Recuperación de bacterias cultivables procedentes de agua marina antártica.

NaCl

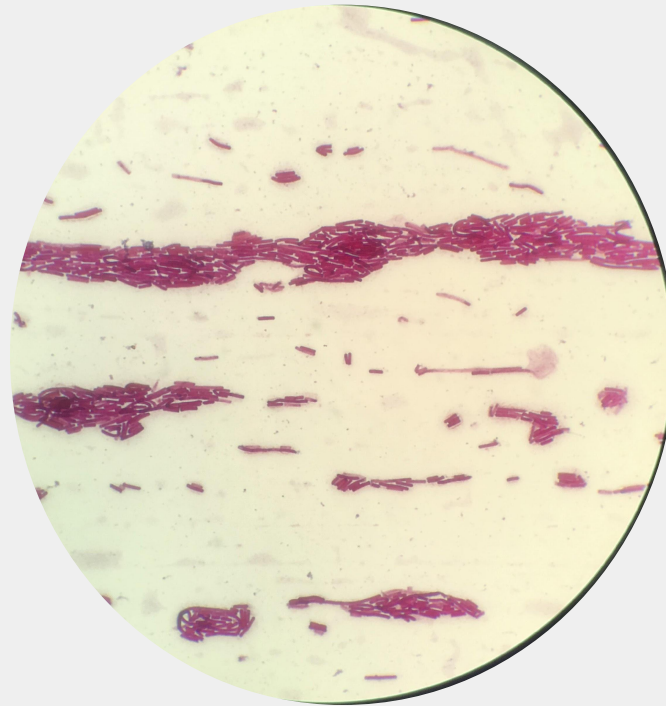
3 %, 5%
7 % y 10 %

Temperatura

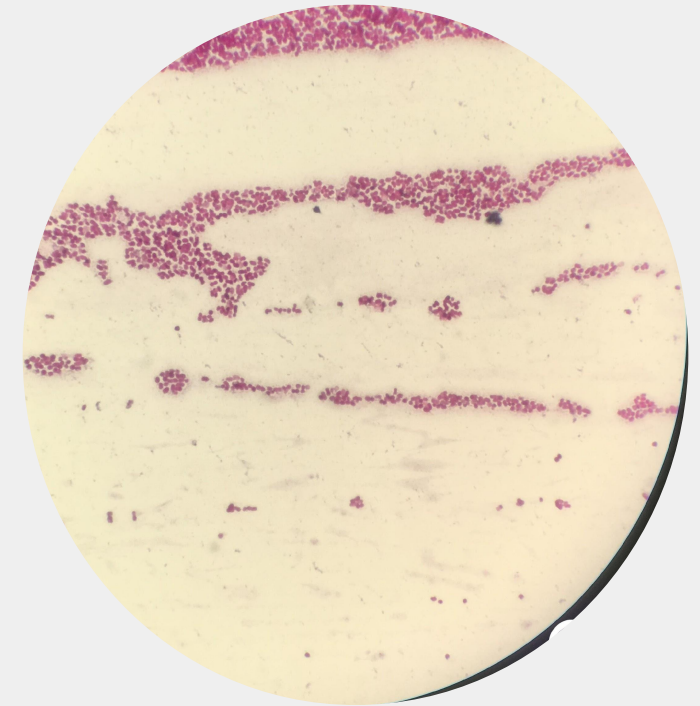
5 °C, 10 °C y
20 °C



Cocobacilos Gram negativos



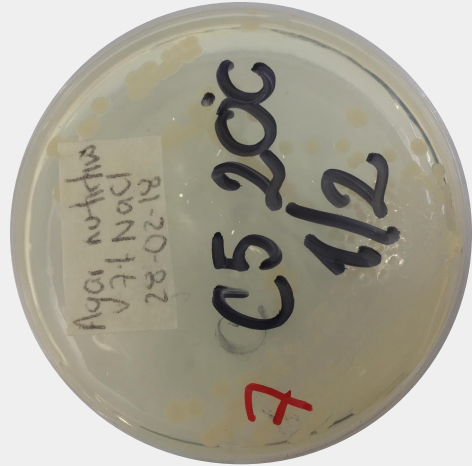
Bacilos Gram negativos



Cocos Gram positivos

FASE 2. Aislamiento de microorganismos bacterianos cultivables procedentes de agua marina antártica.

-Preparación de medio de cultivo.



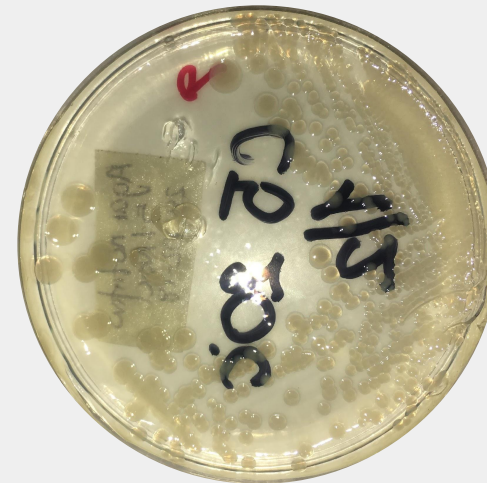
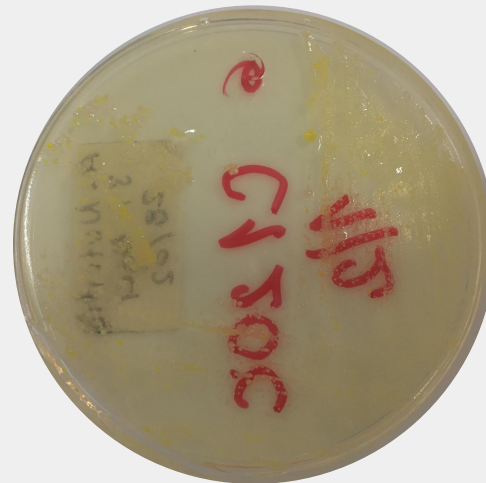
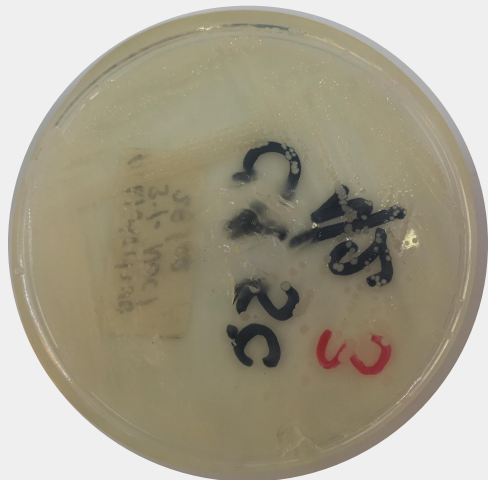
NaCl



Temperatura

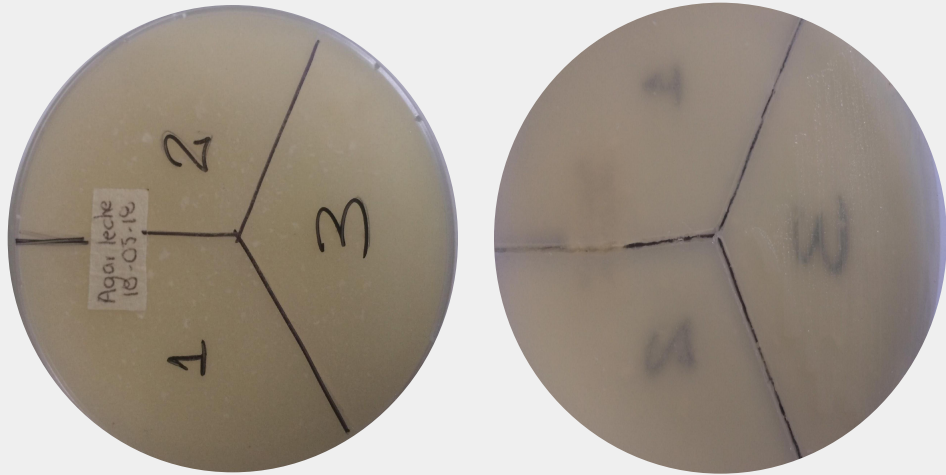


- Aislamiento de cepas bacterianas que lograron crecer en fase de recuperación.



FASE 3. Actividad enzimática de bacterias cultivables aisladas de agua marina antártica.

- Actividad proteolítica: Agar leche



- Actividad amilolítica: Agar almidón.



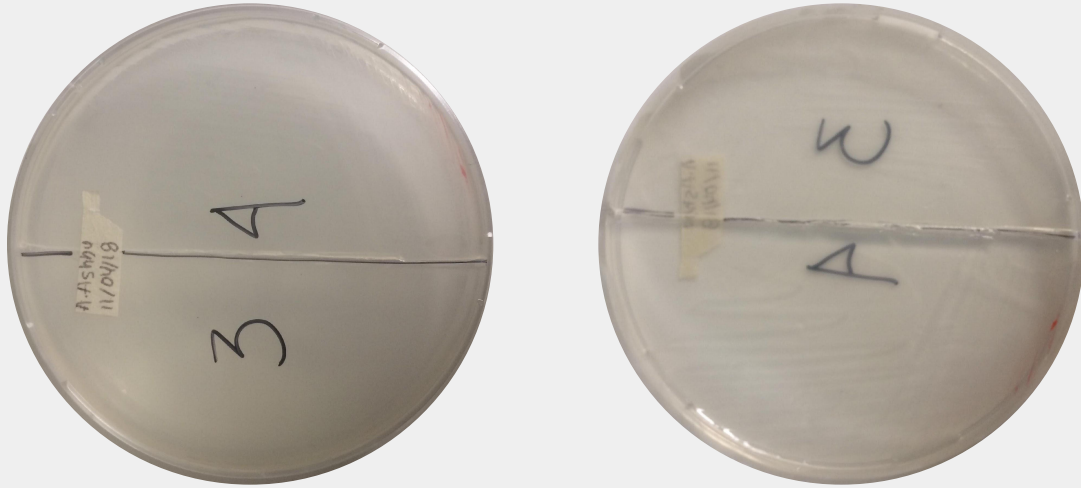
NaCl Temperatura



- + : cepa ATCC 35556 *Staphylococcus aureus*.
- : No siembra.

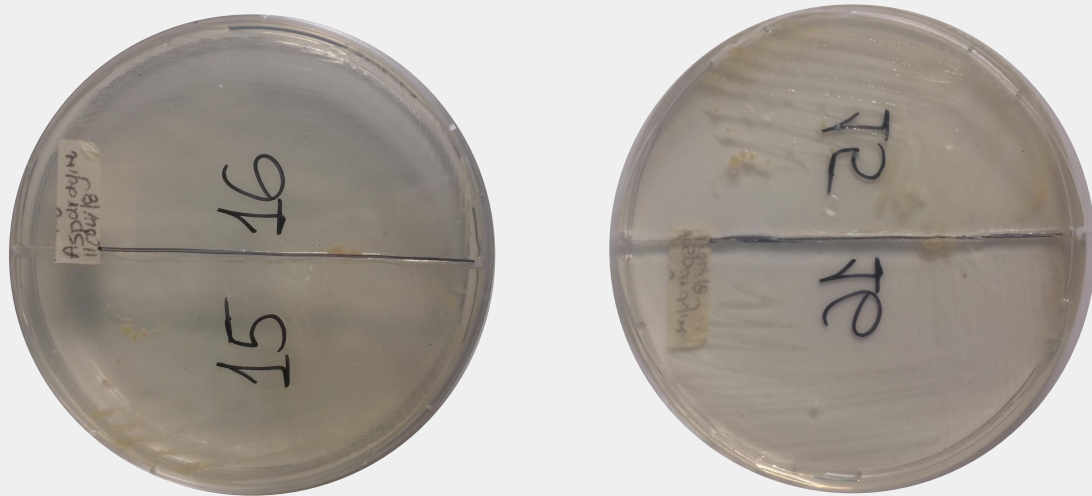
- + : cepa ATCC 1458.1 *Bacillus megaterium*.
- : No siembra.

- Fijación de nitrógeno: medio de cultivo Ashby Manitol Agar.



+ : *Klebsiella pneumoniae*.
- : No siembra.

- Desnitrificación: cultivo Asparagine Nitrate Medium.



+ : *Klebsiella pneumoniae*.
- : No siembra.

Los aislamientos obtenidos, fueron conservados de acuerdo con el protocolo descrito por Sánchez L. y Corrales L.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Antony R., et. al.
en 2016

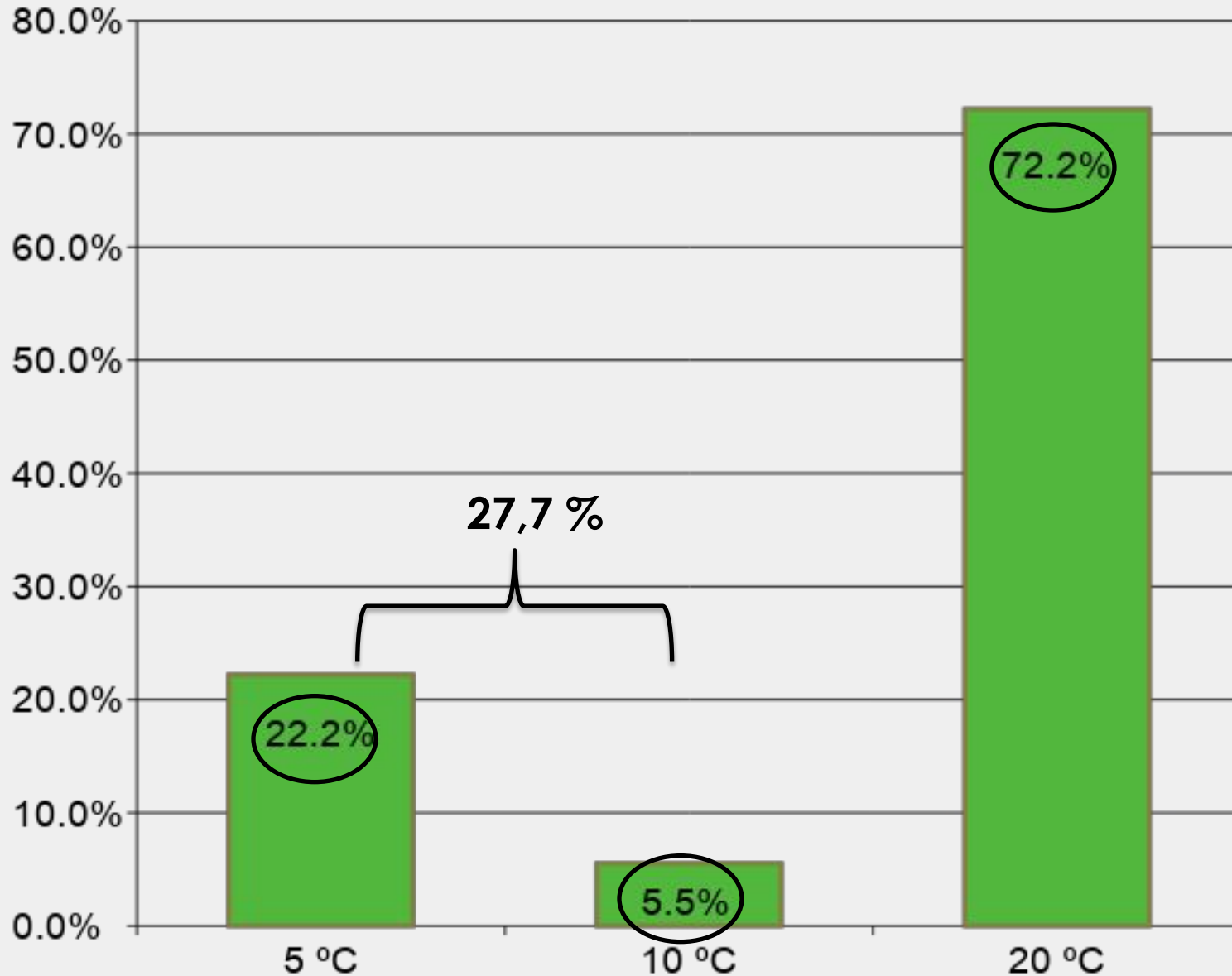
Características de crecimiento y resultados de los aislamientos bacterianos.

Cepa No.	Temperatura	Dilución	NaCl	Tinción Gram
1	5 °C	1:2	3 %	Cocobacilos Gram negativos
2	5 °C	1:4	5 %	Bacilos Gram negativos
3	5 °C	1:2	3 %	Bacilos Gram negativos
4	10 °C	1:2	3 %	Cocos Gram positivos
5	5 °C	1:2	3 %	Cocobacilos Gram negativos
6	20 °C	1:2	3 %	Cocobacilos Gram negativos
7	20 °C	1:2	7 %	Bacilos Gram negativos

8	20 °C	1:2	10 %	Cocobacilos Gram negativos
9	20 °C	1:2	5 %	Bacilos Gram negativos
10	20 °C	1:2	5 %	Cocobacilos Gram negativos
11	20 °C	1:2	10 %	Cocobacilos Gram negativos
12	20 °C	1:2	7 %	Cocos Gram positivos
13	20 °C	1:4	3 %	Bacilos Gram negativos
14	20 °C	1:2	3 %	Cocobacilos Gram negativos
15	20 °C	1:4	3 %	Cocobacilos Gram negativos
16	20 °C	1:2	7 %	Cocos Gram positivos
17	20 °C	1:2	5 %	Bacilos largos Gram negativos
18	20 °C	1:2	5 %	Bacilos largos Gram negativos

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Porcentaje de aislamientos bacterianos según temperatura de incubación a las que fueron sometidas



Revilla, A.

Psicrófilos: 15 °C o inferior a máximo 20 °C

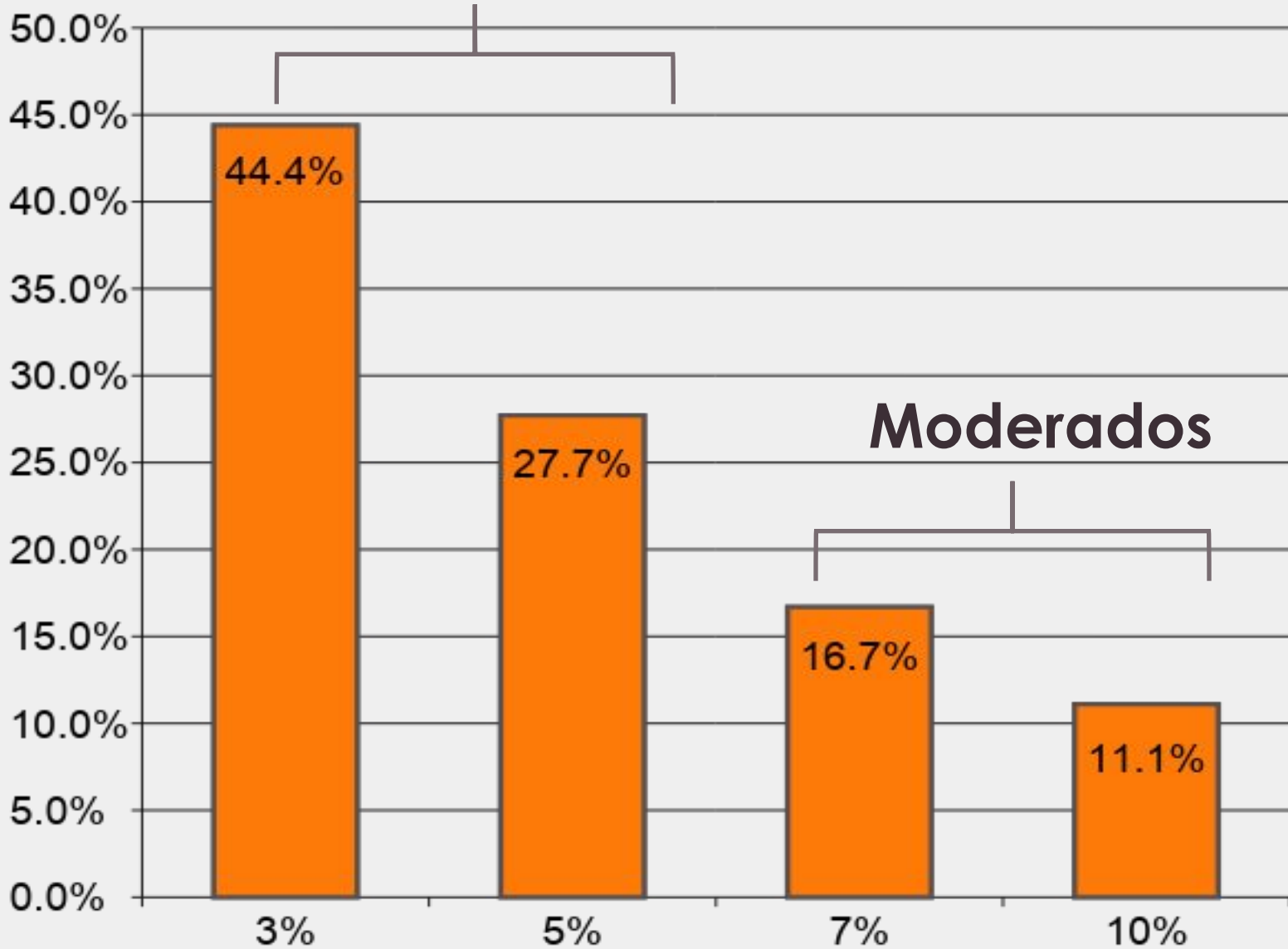
Rosa Margesin y Georges Feller en 2010:

Psicrótrofos: Max. 40 °C, óptima de 20 a 25 °C.

Porcentaje de aislamientos bacterianos según concentración de NaCl.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

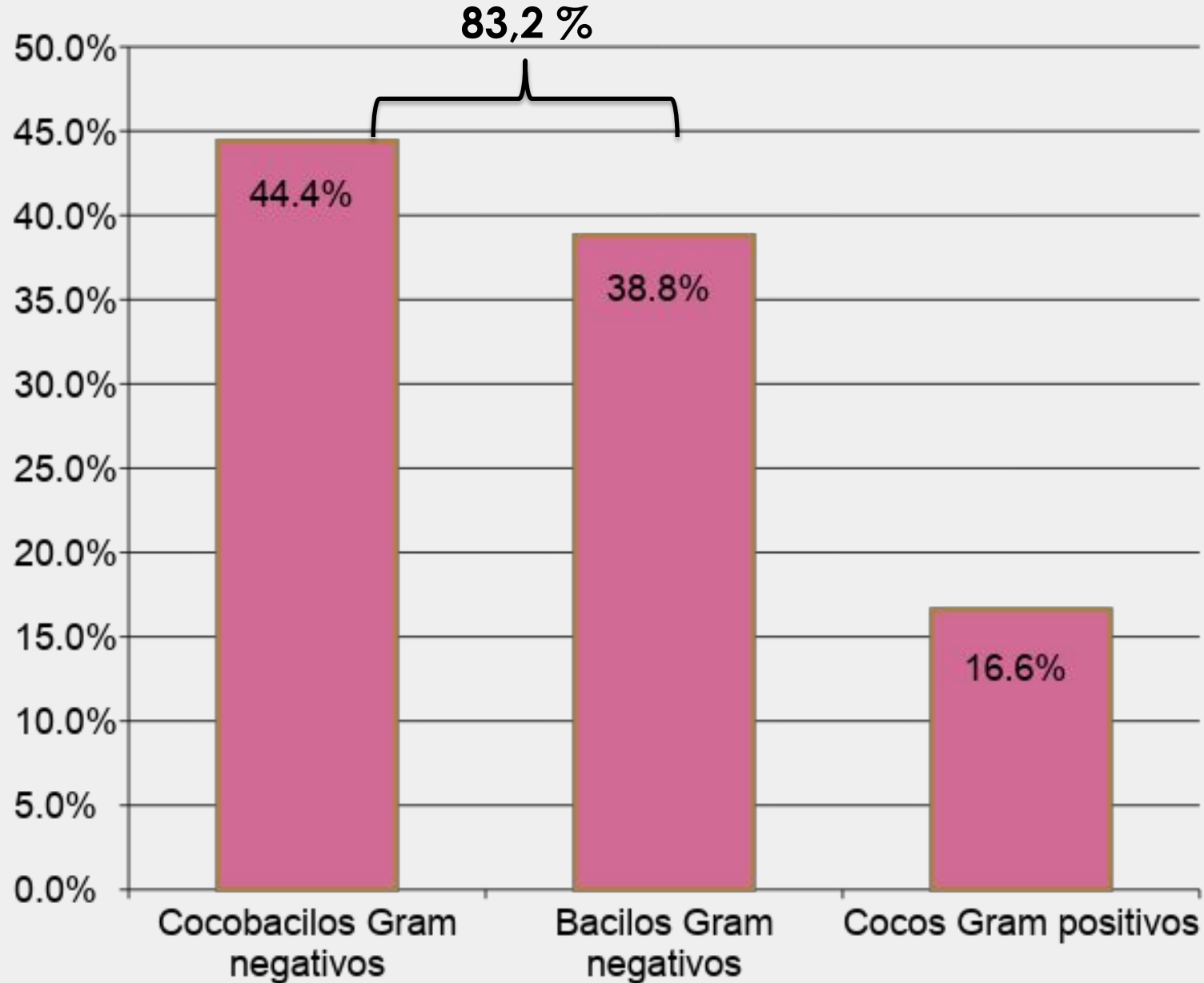
Débiles



Garzón D. en 2013.
51 % a 5 % de NaCl
34 % a 1 % de NaCl
2,8 % a 10 % de NaCl

Moderados

Porcentaje de aislamientos bacterianos según morfología observada en tinción de Gram.



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

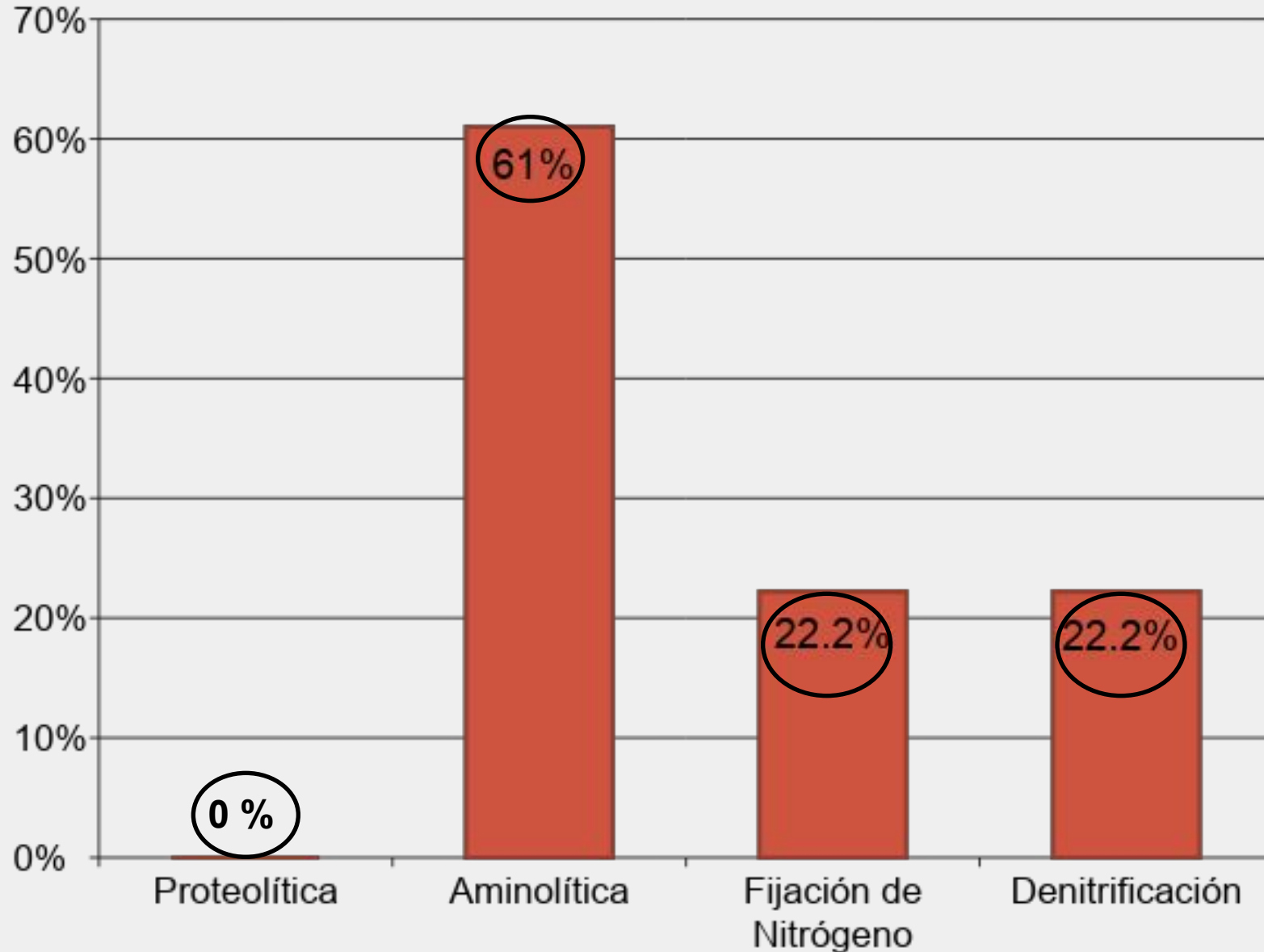
Elena B. y Monticelli L.:
96,6 % Gram negativas

≠

Rodríguez M. y Díaz C.:
32 de las 33 aisladas
Gram positivas.

Porcentaje de aislamientos bacterianos según función proteolítica, aminolítica, fijación de nitrógeno y desnitrificación

RESULTADOS Y DISCUSIÓN



Lokendra S. y Venkata K en 1998:

Temperaturas de: 20 °C

Correa Galeote en 2016:

Desnitrificación completa.

en 2004:

Zhenzhen Xu, et. al. en 2017:

Biorremediación de aguas residuales de bacterias a 4 °C

CONCLUSIONES

Los aislamientos bacterianos no son exigentes nutricionalmente, son de crecimiento lento y en su mayoría Gram negativas, características típicas de bacterias procedentes de ecosistemas marinos fríos.

La técnica de congelación utilizada para la conservación bacteriana, permite que los aislamientos al ser descongelados puedan ser utilizados para Bioprospección, ya que estas no sufren cambios fenotípicos.

A futuro, se recomienda evaluar la actividad de otras enzimáticas características de las bacterias psicrófilas y psicrótrofas y hacer escalamientos para obtener biomasa que pueda ser utilizada en bioprospección.

El análisis de la actividad enzimática de los aislamientos bacterianos, se realizó eficazmente en los diferentes medios de cultivo utilizados, a excepción de la actividad proteolítica en donde se usó un porcentaje muy bajo de caseína y temperatura de incubación.

AGRADECIMIENTOS

Al profesor Edison Tello de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de la Sabana, porque gracias a su asesoría incondicional, su conocimiento, su disponibilidad y sus relaciones con la Armada Nacional de Colombia pudimos contar con las muestras para llevar a cabo nuestro proyecto.

Al grupo Ceparium de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, por permitirnos participar en este proyecto de la Antártida y facilitarnos, muestras, materiales y equipos para la realización del proyecto.

A nuestra profesora Ligia Consuelo Sánchez por brindar siempre sus conocimientos y su valioso tiempo para hacer posible esta investigación.

A la comunidad universitaria de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca por permitir los espacios para la ejecución y los que aportaron su granito de arena.

BIBLIOGRAFÍA

- Junke K, Gosink J, Hoppe H, Staley J. *Arthrobacter*, *Brachybacterium* and *Planococcus* Isolates Identified from Antarctic Sea Ice Brine. Description of *Planococcus mcmeekinii*, sp. Nov. System. Appl Microbiol. [Internet]. 1998 [Citado en Octubre 12 del 2017]; p.306-314. Disponible en: PMID: 9704115.
- Lokendra, S., Venkata K. Isolation and Characterization of Psychrotrophic Antarctic Bacteria from Blue-green Algal Mats and Their Hydrolytic Enzymes. Department of Ocean Development, Technical Publication. [Internet]. 1998. [Citado en Octubre 12 del 2017]; p. 199-206. Disponible en: <http://14.139.119.23:8080/dspace/bitstream/123456789/424/3/ARTICLE+16.pdf>.
- Sánchez-Porro, C., Martín, S., Mellado, E. y Ventosa, A. Diversity of moderately halophilic bacteria producing extracellular hydrolytic enzymes. Journal of Applied Microbiology. [Internet]. 2003. [Citado en agosto 2 del 2018]; p. 94: 295-300. Disponible en: PMID: 12534822.
- Ventosa A, Quesada E, Rodríguez F, Ruíz F, Ramos A. Numerical taxonomy of moderately halophilic-negative rods. Journal of General Microbiol. [Internet]. 1982. [Citado en Julio 11 del 2018]; p. 128: 1959-68. Disponible en: mic-128-9-1959.pdf.
- Soria, V. Solari, A., Cabot, S., Varela, H. y Loperena, L. Evaluación de bacterias Antárticas como potenciales productores de lipasas de interés industrial. Depto. de Bioingeniería, Inst. Ing. Química, Facultad Ingeniería. [Internet]. 1998. [Citado en octubre 5 del 2017]; Disponible en: <https://es.scribd.com/document/33014692/Evaluacion-de-bacterias-Antarticas-como-potenciales-productoras-de-lipasas-de-interes-industrial>.
- Mojib N, Philpott R, Huang J, Niederweis M, Bej A. Antimycobacterial activity in vitro of pigments isolated from Antarctic bacteria. Antonie van Leeuwenhoek 98. [Internet]. 2010. [Citado en octubre 5 del 2017]; p. 531-540. Disponible en: DOI: [10.1007/s10482-010-9470-0](https://doi.org/10.1007/s10482-010-9470-0).
- Rosado, A., Arroyo, M. Evaluación de la Actividad Proteolítica Extracelulares Producidas por Bacterias Marinas Aisladas en Punta Fort William, Antártida. Laboratorio de Protal-INTEC, ESPOL-CIBE, Instituto de Investigaciones de Recursos Naturales (IIRN). [Internet]. 2010. [Citado en agosto 9 del 2017]; Disponible en: <https://es.scribd.com/document/58009763/bacterias-marinas>.
- Antony R, Sanyal A, Kapse N, Dhakephalkar P, Thamban M, Nair S. Microbial communities associated with Antarctic snowpack and their biogeochemical implications. *Microbial Research*. [Internet]. 2016. [Citado en septiembre 12 del 2017]; p. 192-202. Disponible en: PMID: 27664737.

- Zhenzhen Xu, Yue Ben, Zhonglin Chen, Anxi Jiang, Jimin Shen, Xiaoyun Han. Application and microbial ecology of psychrotrophs in domestic wastewater treatment at low temperature. *Chemosphere*. Volume 191. [Internet]. 2017. [Citada en agosto 26 del 2018]. p. 946-953. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S004565351731706X>.
- Zaady, E. and Perevolotsky, A. Enhancement of growth and establishment of Oak (*Quercus ithaburensis* Decaine) seedling by inoculation with *Azospirillum brasilense*. *Forest Ecology Management*. [Internet]. 2015. [Citado en agosto 11 del 2017]; p. 238-248. Disponible en: ISSN: 2319-7706.
- Sánchez T., Leon J., Woocoltt J., Arauco K. Proteasas extracelulares producidas por bacterias marinas aisladas de aguas contaminadas con efluentes pesqueros. *Rev. Perú biol* vol.11. [Internet]. 2004. [Citado en febrero 12 del 2018]; Disponible en: ISSN 1727-9933.
- Villalta J. Estudio polifásico de bacterias psicrófilas colectadas en la isla Greenwich, Bahía Chile (Continente Antártico). Universidad de Guayaquil. [Internet]. 2013. [Citado en agosto 2 del 2017]; Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/3917>.
- Correa Galeote, D. Biodiversidad y ecología funcional de bacterias desnitrificantes. Granada: Universidad de Granada. [Internet]. 2016. [Citado en agosto 2 del 2018]; Disponible en: <http://hdl.handle.net/10481/43294>.
- REVILLA, A. Tecnología de la leche: procesamiento, manufactura y análisis. Segunda Edición. San José. Costa Rica. [Internet]. 1982. [Citado en agosto 17 del 2018]; p. 56, 57. Citado en: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=XL2012001316>.
- Rosa Margesin, Georges Feller. Biotechnological applications of psychrophiles. *Environ Technol*. [Internet]. 2010. [Citado en Julio 23 del 2018]; p. 31(8-9): 835-844. Disponible en: PMID: 20662375.
- Kushner, D.J. Vida Microbiana en Ambientes Extremos. Londres: Academic Press. [Internet]. 1978. [Citado en noviembre 29 del 2017]; p. 317-368. Disponible en: <http://www.redalyc.org/html/579/57937307>.
- Pérez Davo, A. Microorganismos halófilos en ambientes salinos de Andalucía: estudio taxonómico numérico y molecular. Granada: Universidad de Granada. [Internet]. 2014. [Citado en agosto 2 del 2018]; p. 418. Disponible en: <http://hdl.handle.net/10481/34130>.
- Garzón D. Determinación de la biodiversidad bacteriana en ecosistemas glaciares de la Antártida. Ambato-Ecuador. [Internet]. 2013. [Citada en agosto 9 del 2018]. Disponible en: <http://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/3179>.
- Runa Antony, Aritri Sanyal, Neelam Kapse, Prashant K. Dhakephalkar, Meloth Thamban, Shanta Nair, Microbial communities associated with Antarctic snow pack and their biogeochemical implications, *Microbiological Research*, Volume 192. [Internet]. 2016. [Citada en agosto 26 del 2018]. p. 192-202. Disponible en: ISSN 0944-5013.
- Elena, B., & Monticelli, L. S Estudio taxonómico y ecológico de las bacterias marinas de la Antártida. Taxonomic and ecological study of the marine bacteria of Antártida. [Internet]. 1998. [Citado en agosto 12 del 2018]; p. 97-106. Disponible en: elena-y-monticelli-142616735019.pdf.

BIBLIOGRAFÍA

- Rodríguez M., Díaz C. Determinación preliminar de producción de compuestos bioactivos de actinomicetes y bacterias aislados de ecosistemas glaciares andinos y antárticos. [Internet]. 2018. [Citada en agosto 26 del 2018]; Disponible en: <http://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/27507>.
- Kamekura M, Hamawata T, Onishi H. Application of halophilic nuclease H from *Micrococcus varians* subs. *halophilus* to commercial pruction of flavoring agent 5'-GMP. *Appl Environ Microbiol*. [Internet]. 1982. [Citado en marzo 23 del 2018]; p. 44: 994-5. Disponible en: ISSN 1517-8382.
- Carlos A. Biotecnología De Microorganismos Extremofilos. Universidad Católica de Manizales. [Internet]. 2010. [Citado en junio 16 del 2018]; Disponible en: URI: <http://hdl.handle.net/10839/1410>.
- Sánchez L., Corrales L. Evaluación de la congelación para conservación de especies autóctonas bacterianas. *Nova, Publicación Científica*, Vol. 3. [Internet]. 2005. [Citado en febrero 12 del 2018]; p. 21-29. Disponible en: http://www.unicolmayor.edu.co/invest_nova/NOVA/ARTORIG2_4.pdf.