



UNIVERSIDAD
DE GUANAJUATO

Campus Guanajuato
División de Ingenierías



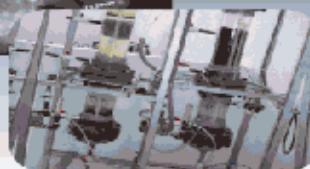
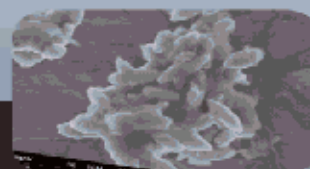
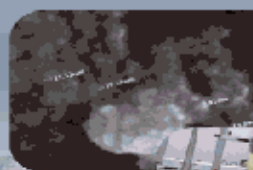
2do. Simposio Internacional de Bioingeniería Ambiental - SIBA

24 al 26 de septiembre del 2014

SIBA, el ambiente de discusión y de intercambio de conocimiento entre expertos, profesores e estudiantes, en el área de procesos aplicados en la Ingeniería Ambiental.



- Metodologías Innovadoras aplicadas a Bioprocesos
- Tratamiento de Residuos
- Tecnologías Anaerobias y Aerobias
- Energía
- Bioprocesos
- Nanotecnología
- Bioremediación
- Biotecnología
- Tratamiento de Agua



Organización:

Cuerpo Académico de
Bioingeniería, Biotecnología y
Gestión Ambiental

Departamento de Ingeniería Civil
División de Ingenierías
Campus Guanajuato

www.ugto.mx

<http://www.di.ugto.mx/SIBA>



“BIOINGENIERÍA AMBIENTAL”

ISBN: 978-607-441-330-4



DR. © 2014 Universidad de Guanajuato

Memorias del Segundo Simposio Internacional de Bioingeniería Ambiental,
organizado por el “Grupo de Investigación de Bioingeniería, Biotecnología y
Gestión Ambiental”

Guanajuato, Guanajuato. México

24 al 26 de Septiembre de 2014

“BIOINGENIERÍA AMBIENTAL”

Primera edición 2014

D.R.© 2014 Universidad de Guanajuato
Lascaraín de Retana 5, Zona Centro.
Guanajuato, Gto. CP. 36000

Edición: Grupo de Investigación “Bioingeniería, Biotecnología y Gestión Ambiental”

Arodí Bernal Martínez
Germán Cuevas Rodríguez
Sergio Antonio Silva Muñoz
Elcia M. Souza Brito

ISBN: 978-607-441-330-4

ÍNDICE

LA PARTICIPACIÓN DE LA UNIVERSIDAD PÚBLICA EN EL DESARROLLO COMUNITARIO

Felipe Macías Gloria, Patricia Campos Rodríguez y Eloy Juárez Sandoval..... 1

BIOSORPTION OF CU (II) AND PB (II) IN AQUEOUS SOLUTIONS USING PACKED COLUMNS WITH BIOSOLIDS (B) AND PYROLYSIS DERIVED BIOCHAR (BC)

Ortiz-Prieto Jorge A.^{1,2}, Acosta-Slane Damaris¹, Lozoya-Márquez Luis A.¹, Gómez-Vargas
Ramón¹, González-Sánchez Guillermo¹..... 14

CARACTERIZACIÓN DE UN DESECHO AGROINDUSTRIAL MEXICANO PARA SU EMPLEO COMO MATERIAL PUZOLÁNICO

Víctor Jiménez-Quero[□], Pedro Montes-García..... 23

DESARROLLO DE UN BIOPROCESO ANAEROBIO PARA EL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES DE LA INDUSTRIA LÁCTEA Y LA GENERACIÓN DE BIOGÁS

Luz Brenda Montserrat Crespo, Arodí Bernal Martínez y Germán Cuevas Rodríguez 30

REMOCIÓN DE HIERRO DISUELTU EN AGUA UTILIZANDO PET MODIFICADO QUÍMICAMENTE COMO AGENTE ADSORBENTE

T. V. Cervantes Melesio³, F. A. Horta Rangel³, M. A. Ramírez Morales¹, G. Cruz Jiménez¹,
R. Navarro Mendoza² U. Morales Álvarez³ [□]..... 37

SECADO DE BIOMASA ALGAL EN SECADOR SOLAR

Moreno Funes José Saul, Davalos Navarrete Siikmine, Valle Moreno Andrés, Cervantes
Torre-Marín Gemma* 44

ESTIMACIÓN RESPIROMÉTRICA DEL RENDIMIENTO HETERÓTROFO DEL MODELO ASM1 PARA UNA PTAR EN CHIAPAS

Valeria Zuarth Coutiño¹, Cristina Blanco González¹, Josué Chanona Soto¹ y Gustavo Yáñez
Ocampo¹..... 52

CARACTERIZACIÓN DE CEPAS BACTERIANAS NATIVAS DE UN RESIDUO INDUSTRIAL HIPERSALINO E HIPERALCALINO, CON ALTO CONTENIDO DE CROMO Y OTROS METALES

Jesús Fernando López Vázquez¹, Pamela Romo Rodríguez¹, J. Felix Gutiérrez Corona¹ ... 57

MODELADO MATEMÁTICO DE UN PROCESO DE HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOETANOL

Javier Ulises Hernández-Beltrán¹, Ivette Michelle Navarro-Gutierrez¹, Karla Cervantes-
Quintero¹, Héctor Hernández-Escoto¹ [□]..... 63

ELABORACIÓN DE CELDAS SOLARES TIPO GRÄTZEL EMPLEANDO
SENSIBILIZADORES DE DIFERENTE PROCEDENCIA

Mónica Cedillo Alaniz¹□, Juan Carlos Baltazar Vera², Rosalba Fuentes Ramírez³ 69

CÁLCULO DE EMISIONES DE GASES DE EFECTO INVERNADERO DE LA UNIDAD
PROFESIONAL INTERDISCIPLINARIA DE BIOTECNOLOGÍA DEL IPN

Andrés Valle Moreno, Miguel Ángel Tapia Bustos, Cristina Ortega Nonoal, Gemma
Cervantes Torre-Marín* 74

CONCRETE WITH RAW POLYETHYLENE TEREPHTHALATE

Luis Elias Chavez Valencia¹, Claudia Hernandez Barriga², Miguel Angel Manrique Ibarra³,
Antonio Castro Lozano⁴ 83

BIOCOMPATIBILIDAD DE COMPOSITOS ÓSEOS - OSTEOLASTOS HUMANOS

M. Sabanero López¹□, L. L. Flores Villavicencio¹, Z. Miranda Rodríguez¹, G. Barbosa
Sabanero², C. Piña Barba³ 86

COMPARACIÓN ENTRE UNA MEMBRANA PLANA Y UNA MEMBRANA DE FIBRA
HUECA EN LA ELIMINACIÓN DE MACRONUTRIENTES PRESENTES EN AGUA
RESIDUAL SINTÉTICA EN UN BIORREACTOR HÍBRIDO

Marco A. Silva, Germán Cuevas□ 90

ALTERNATIVA PARA EL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES DE LA INDUSTRIA
TEXTIL EN LA REGIÓN SUR DEL ESTADO DE GUANAJUATO

J. Merced Martínez Rosales¹, Miriam Rocío Contreras García¹, Antonio Pérez Nieto² y
Gabriela Arroyo Figueroa² 97

PET MODIFICADO QUÍMICAMENTE COMO AGENTE ADSORBENTE DE MN(II) EN
MEDIO ACUOSO

M. M. Marmolejo Lara², L. Arroyo Álvarez¹, F. A. Horta Rangel², M. A. Ramírez Morales¹, G.
Cruz Jiménez¹, U. Morales Álvarez²□ 102

RECICLAJE DE CELULARES POR SOLVÓLISIS PARA RECUPERAR METALES

Lorena Eugenia Sánchez Cadena¹*, Zeferino Gamiño Arroyo², Mario Alberto González Lara³,
Demetrio Quiroz Q.⁴, Oscar Coreño A.⁵ 109

REMOCIÓN DE CR(VI) EN BAJAS CONCENTRACIONES PRESENTE EN AGUA
MEDIANTE EL EMPLEO DE BIOMASA DE ORIGEN NATURAL

Pablo Carmona Medina¹, Juan Jesús Serafín Muñoz¹, Francisco Agustín Vidó García¹,
Francisco Javier Acevedo Aguilar², Leticia López Martínez² 115

CARACTERIZACIÓN DE CEPAS BACTERIANAS NATIVAS DE RESIDUOS
INDUSTRIALES CON ALTO CONTENIDO DE METALES

Chávez Elías Amelia Fabiola¹, Romo Rodríguez Pamela¹, Gutiérrez Corona J. Félix¹□ 121

DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS DE DISEÑO EN SISTEMAS DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES	
Brett González ¹ , Alejandra Cruz ¹	128
EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO DE <i>TRAMETES VERSICOLOR</i> EN PRESENCIA DE FURADAN®, BOSCALID (CANTUS)® Y QUINTACENO®	
Fátima Ojeda-Rodríguez ¹ , Héctor G. Nuñez ² , Blanca E. Gómez ³ , Noé Saldaña ⁴ ,	
Graciela M. L. Ruiz-Aguilar ^{1*}	134
TRATAMIENTO VÍA FENTON DE AGUA RESIDUAL PROVENIENTE DE UNA INSTITUCIÓN EDUCATIVA	
Paola Abigail Martínez Aldape ¹ , Carlos J. Escudero S. ²	139
EFFECT OF THE WALNUT SHELL PECANERA IN GYPSUM	
Luis Elías Chávez Valencia ¹ , Claudia Hernández Barriga ² , Martín Alejandro Moreno Hernández ³ , Cesar Leonardo Ruiz Jaime ⁴	144
ISOLATION OF SULFATE-REDUCING BACTERIA FOR POTENTIAL BIOREMEDIATION OF METAL-CONTAMINATED EFFLUENTS	
María Fernanda Pérez Bernal ^{1*} , Jéssica Jazmín Gómez Marmolejo ¹ , Elcia M.S. Brito ¹ , Germán Cuevas Rodríguez ¹	148
EVALUACIÓN DE UN CONSORCIO BACTERIANO Y UN EFLUENTE DE BIODIGESTOR ANAEROBIO PARA LA PRODUCCIÓN DE LOMBRICOMPOSTA	
Elsa A. Guerrero, Héctor G. Nuñez, Víctor Olalde-Portugal, Vicente J. Álvarez, Rafael Veloz Graciela M. L. Ruiz-Aguilar*	153
APLICACION OF MICROCULTURE FOR BACTERIAL ISOLATION FROM INDUSTRIAL RESIDUE CONTAMINATED BY HEXAVALENT CHROMIUM	
Mariana Pérez Medina ¹ □, Carolina Alejandra Martínez Gutiérrez ² □, Reyna Edith Padilla-Hernández ³ , Julio Cesar Valerdi Negreros ¹ , Germán Cuevas Rodríguez ⁴ , Elcia M.S. Brito ⁴ □	158
AISLAMIENTO DE BACTERIAS ANAEROBIAS DEL LAGO ALKALINO DEL CRÁTER DEL RINCÓN DE PARANGUEO	
Rivera Martínez, Laura Guadalupe ¹ □, Cuevas-Rodríguez, Germán ² , Malm Olaf ³ , Brito Elcia M. S. ²	163
USING TILLANDSIA <i>USNEOIDES</i> AS BIOMARKER OF HEAVY METALS IN THE ATMOSPHERE: GUANAJUATO TUNELS	
Pedro Antonio Zárate-Santoyo ¹ , Elcia M.S. Brito ¹ , Adan Lino ² , Rodrigo Meire ² , Olaf Malm ² , Joao P.M. Torres ² , Germán Cuevas-Rodríguez ¹	169
ANAEROBIC BIOTRANSFORMATION OF HEXAVALENT CHROMIUM IN BATCH REACTORS	
Alba América Moreno González, Sergio Antonio Silva Muñoz, Elcia Souza Brito, Germán Cuevas Rodríguez, Arodí Bernal Martínez	175

AISLAMIENTO DE BACTERIAS ANAEROBIAS DEL LAGO ALKALINO DEL CRÁTER DEL RINCÓN DE PARANGUEO

Rivera Martínez, Laura Guadalupe^{1✉}, Cuevas-Rodríguez, Germán², Malm Olaf³, Brito Elcia M. S.²

(1) Depto. de Biología, DCNyE, Universidad de Guanajuato, (2) Dept. Ing. Civil (Ambiental), D.I.,
Universidad de Guanajuato, (3) Inst. Biofísica Carlos Chagas (LREPF-IBCC, URFJ), Brasil
✉ e-mail: laguarima_91@hotmail.com

ABSTRACT

The Rincon of Parangueo is a Quaternary maar located in Valle of Santiago in a Michoacan-Guanajuato volcanic field in the central part of the Trans Mexican Volcanic Belt [2]. The Rincon of Parangueo crater-lake has a phreatomagmatic origin. The water's chemistry of this lake has a high salinity and pH, mainly because of desiccation process which is intensified by anthropogenic activities. The physicochemical parameters of this crater-lake and the geographic isolation could to facilitate the evolve the microorganisms with physiology highly specialized to the extreme conditions of this environment. This site is of special interest to the extreme-microorganisms applied on biotechnological researches, which can be used as source of extreme-enzymes, other compounds, and to study the origin of the live and the live out off the earth. Here we show the preliminary researches of the bioprospection of anaerobic microorganisms of Rincon of Parangueo crater-lake for the isolating sulfate reducing bacteria (BSR). The bacterial isolates were obtained using the Roll-Tube technique, the minimal mineral media used was enriched with Parangueo's water, and the anaerobic atmosphere was obtained with N₂ gas to optimize the BSR isolation. Subsequently, the genomic DNA will be extracted and the gene 16S rDNA will be amplified for phylogenetic identification of these isolates. Additionally, we show the sample characterization. We determined the content of heavy metals (Zn, Fe, Cu y Mn), the bacterial biomass and the content of exopolysaccharide (69% y 31% respectively) of the samples used as inoculum.

Keywords: Biotechnology, bioprospecting, BSR, anaerobic, Roll- tube, alkaline, extremophile

RESUMEN

El Rincón de Parangueo es un maar cuaternario localizado en el Valle de Santiago, una región volcánica de Michoacán-Guanajuato que hace parte central del cinturón volcánico transmexicano [2]. El origen del lago cráter de Rincón de Parangueo es freatomagmático [3]; La química del agua muestra una alta salinidad y pH, los cuales se formaron debido al elevado proceso de desecación, incrementadas por las actividades antropogénicas actuales [1]. Por otra parte, el aislamiento geográfico y parámetros físico-químicos presentes en ese lago cráter lo clasifica como un hábitat extremo, los cuales permitieron la evolución de microorganismos especializados conocidos como extremófilos (Valerdi et 2013). Estos hábitats extremos son de interés biotecnológico por la diversidad microbiana y las características fisiológicas que puedan presentar. En el presente trabajo se realizó la bioprospección de microorganismos anaeróbicos del lago cráter Rincón de Parangueo para el aislamiento de bacterias sulfato reductoras (BSR). Adicionalmente se determinó las concentraciones de los metales (Zn, Fe, Cu y Mn), de biomasa bacteriana y de exopolisacáridos (69% y 31%, respectivamente) de las muestras utilizadas como inóculo. Los aislados bacterianos se obtuvieron con la técnica Roll-Tube utilizando medios mínimos mineral para las BSR. Posteriormente se realizó la extracción de ADN genómico y se amplificó el gen ADNr 16S. Ese se envió a secuenciar, para la futura identificación filogenética de estos aislados.

INTRODUCCIÓN

Hoya de Rincón de Parangueo es un lago maar cuaternario ubicado en el Valle de Santiago, Guanajuato. En los años 1980, los lagos maar de la región del Valle de Santiago, más precisamente La Alberca, Cántora, San Nicolás y Rincón de Parangueo secando. Parte es debido a propia geotectónica local, pero grande parte es resultado de actividades antropogénicas tal como la sobre-explotación de sus aguas.

El agua de los lagos de cráteres en regiones subárido y templado-áridas muestran una combinación de salinidad y pH elevados, hacen que estos cuerpos acuáticos sean clasificados como hábitats extremos, en donde sólo pueden habitar microorganismos altamente especializados, los alcalófilos. El lago-cráter de Rincón de Parangueo presenta material volcánico, con bicarbonatos, carbonatos, cloruros, sodio y magnesio como iones predominantes. Dichas características mineralógicas aporta al lago alta salinidad y pHs superiores a 9. Una descripción adicional, en el interior del cráter-lago Rincón de Parangueo sustenta colonias de estromatolitos, los cuales actualmente tiene riesgo de ser destruidos por las actividades antropogénicas sobretodo de turismo. A pesar de hacer parte de patrimonio natural, la falta de información hace que la población local exploten de manera poco ecológica el sitio, por ejemplo, son ofrecidos recorridos de caballo que destruyen los stromatolitos. Dichas actividades, pueden estar destruyendo el patrimonio local, además de estarem probablemente interferir en el proceso natural de aislamiento geográfico natural del sitio.

Las condiciones naturales de un hábitat extremo facilitan el desarrollo de microorganismos extremos, las características desarrolladas dependen de estas condiciones ambientales. En el Rincón de Parangueo, se espera que haya evolucionado microorganismos alcalofílicos, con resistencias a presión osmótica, debido a elevada concentración de sales y también resistentes a radiación solar y a periodos de desecación. Se ha verificado la presencia en los tapetes microbianos alrededor de los lagos así como entre estromatolitos ligeramente húmedos. Las condiciones y características observadas en campo (p.ej., olor de sulfuro y capas de colores rojas y negras) nos hizo hipotetizar que dicho ambiente existen microorganismos sulfato reductores.

La capacidad de la sulfato reducción esta presente en varios procariontes anaerobios, tanto del dominio bacterias como arqueas. Estos poseen una amplia fisiología, pero en general son capaces utilizar una variedad de compuestos orgánicos sencillos como fuente de carbono, así como, varios compuestos del azufre para la sulfato-reducción. El objetivo del presente trabajo fue realizar la bioprospección de bacterias extremófilas anaerobias del lago-cráter del Rincón de Parangueo sobretodo las Bacterias Sulfato-reductoras (BSR).

METODOLOGÍA

Colecta – El lago del Rincón de Parangueo (20°25'N-101°15'W y 1700 m s.n.m) es uno de los cráteres volcánicos del Valle de Santiago, Guanajuato, México. En setiembre de 2013 se colectaron muestras de sedimento superficial de sus lagos para utilizarlo como fuente de microorganismos. Además, también se colectó el agua de ese sitio, y muestras de sedimento para la caracterización de algunos metales y metaloides. Se determinaron *in situ* los parámetros fisicoquímicos de conductividad eléctrica, pH, temperatura, oxígeno disuelto y salinidad con instrumentos de campo.

Para la caracterización química y microbiológica se almacenaron las muestras en tubos falcón esteriles de 50 ml. Para la bioprospección de las bacterias, se colectaron las muestras en condiciones de esterilidad manténicas (en campo) con auxilio de un mechero a gas. Estas fueron depositadas directamente en frascos de vidrio de penicilina previamente esteriles, los cuales se cerraron con tapones de butil. Una vez en laboratorio, se burbujeó N₂ gaseoso por 5 min., y de esa forma, se mantuvo las condiciones reductoras y anaerobias.

Caracterización fisicoquímica y química. Además de las condiciones fisicoquímicas determinadas en campo (conductividad eléctrica, pH, temperatura, oxígeno disuelto y la salinidad), también se tomaron muestras para el análisis de los nutrientes. Los nutrientes estudiados fueron: el

nitrógeno amoniacal (N-NH₃), el nitrato (N-NO₃) y el fosfato (P-PO₄³⁻). Para estos se utilizó kits comerciales HASCH® cuya determinación se realiza por espectrofotometría, siguiendo las recomendaciones del fabricante.

Para la evaluación de los metales, se enviaron las muestras al Laboratorio de Radioisótopos Eduardo Penna Franca (LREPF) de la Universidad Federal do Rio de Janeiro (UFRJ - Brasil). Las muestras fueron sometidas a una digestión ácida, y después se determinaron los metales extraídos por absorción atómica de flama (Malm y col, 1989).

Caracterización microbiológica – El análisis microbiológico de las muestras se realizó el mismo día de la colecta. La actividad microbiana activa del sedimento superficial se determinó a partir de la producción de las enzimas esterasas. Estas se midieron a partir de la hidrólisis de diacetato de fluoresceína (FDA), el cual se determinó por espectrofotómetro de luz visible y se cuantificó con curva patrón como referencia externa. Adicionalmente, también se determinaron el Número Más Probable (NMP) con medio mineral MMB y tres replicas.

Medio de cultivo - Se utilizaron medios de cultivo selectivos para bacterias sulfato reductoras (BSR). Se mezclaron medios mínimos mineral y una solución mineral obtenido a partir del agua del sitio (filtrada y esterilizada 3 veces con intervalos de 24h entre cada autoclave). La proporción utilizada de agua destilada y el agua del medio fue de 1:1. Esta solución se burbujeó de N₂ gaseoso para mantener la condición anaeróbica. También se le adicionaron el FeSO₄ y S⁰ para actuar como aceptadores de electrones, 0.5 ml de lactato, piruvato, glicerol y acetato (1M) como fuente de carbono, y resazurina como indicador de oxidación-reducción. Con ese medio, cuyo pH era superior a 9, se preparó un pre-cultivo inoculado con la muestra de sedimento superficial, anteriormente descrita. Se dejó a incubar por 15 días. De esa suspensión se realizaron diluciones seriadas (1 mL del pre-inoculo para 9 ml de medio fresco), en frascos de penicilina y en condiciones anaeróbicas. Estos fueron utilizados para aislamiento de los microorganismos anaerobios restringidos con la técnica del Roll- Tube.

Roll-Tube (Hungate, 1960). Inicialmente se lavó el agar bacteriano con agua destilada (5X), para asegurar una capa realmente transparente de agar-sólido. En tubos de Hungate, se preparó 4 mL agar lavado (30g/L). Se esterilizó en autoclave, y aún caliente, se le añadió 6 ml de la solución del medio, y se le inyectó 10 µL de la suspensión del inóculo en diferentes diluciones. Inmediatamente se le sometió a un baño de hielo para rodar el tubo hasta formar una ligera y delgada capa de agar solidificada sobre la superficie del tubo. Posteriormente se inyectó, por 2 minutos, N₂ gaseoso al tubo para mantener la condición anaeróbica. Los cultivos realizados se incubaron a 37 °C por 15 días. Las colonias aisladas vistas en los tubos en roll tube, se colectaron en atmósfera de anaerobiosis, y se las transfirieron individualmente a un medio líquido. Se dejaron incubar hasta la observación del aumento de biomasa.

PONGA AQUÍ LA FOTO DEL ROLL TUBE, EL ESQUEMA Y UNA FOTO TUYA TRABAJANDO EN LA BOLSA

Observación microscópica - Se tomó muestra del medio líquido para observar en microscopía en campo claro (aumento de 1000x). Se realizó la tinción de Gram para verificar la morfología de los aislados. Los aislados con una única morfología celular, y con biomasa suficiente para formar una pastilla, se utilizaron para la extracción de su ADN genómico.

Extracción de DNA- La extracción de ADN genómico se realizó con el kit Wizard® Genomic DNA siguiendo las recomendaciones del proveedor del producto. El DNA obtenido se verificó por electroforesis (75 volts durante 45 minutos) en gel agarosa al 1%. Estos fueron utilizados como molde para la amplificación del gen ADNr 16S la cual se realizó por la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). Para la PCR se utilizaron los oligonucleótidos 8F (5'-GGATCCAGACTTTGATYMTGGCTCA G) y 907R (5'- CCGTCAATTCMTTTGAGTTT). Se probaron varias concentraciones de ADN (0.5 µl, 1 µl y 2 µl). La reacción de amplificación inició

con una desnaturalización a 94 °C durante 5 min seguida de 33 ciclos del siguiente patrón de incubación: 94 °C durante 1 min, 52 °C durante 45s y 72 °C durante 1 min., después se aplicó una extensión final a 72 °C por 10 minutos. Estos productos se verificaron por electroforesis (75 volts durante 45 minutos) en gel agarosa al 1.5%. Antes de enviar a secuenciación estos productos fueron sometidos a una purificación con el kit comercial MoBio, el cual elimina los primers y productos de reacción no utilizados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el día de la colecta la conductividad eléctrica estuvo en 33.3 mS/cm, el pH 10.07, la temperatura del agua entre 22.3 - 24.4 °C, el oxígeno disuelto 7.6 mg/L y la salinidad de 22.35 g/L (Tabla 1). El lago del Rincon de Parangueo es un lago raso formado por agua acumulada durante el periodo de las lluvias y por agua de runoff. La conductividad, pH y salinidad de estas aguas son resultados de la disolución de los minerales del propio cráter. Como anteriormente descrito, el lago posee varios iones con predominancia de los bicarbonatos, carbonatos, cloruros, sodio y magnesio. La temperatura y el oxígeno de estas aguas, por su vez, es resultante de características climáticas del momento en que se estuvo realizando la colecta. La temperatura del lago resulta del calentamiento diurno por la absorción de la energía del sol, y el oxígeno parte de las micro-algas y microorganismos autótrofos del lago, pero también por la interacción del agua del lago con la atmósfera. Como hoy impedimentos y anteojos para el aire en movimiento, ese es responsable por gran parte del contenido de oxígeno del lago. Desafortunadamente no teníamos instrumentos para hacer la caracterización química del sedimento. El contenido de los nutrientes (Tabla 1), clasifica el lago como oligotrófico. Tal cual ocurre con los parámetros físico-químicos ya descritos, el aporte de nutriente para el lago proviene principalmente con el agua de lluvia y de runoff. Los metales estudiados también mostraron valores no muy elevados compatibles con el esperado. Los valores elevados de Fe son normales.

Tabla 1. Valores observados en la determinación de los parámetros químicos y físico-químicos en el día de muestreo.

Parámetros físico-químicos ⁽¹⁾		Caracterización química	
Conductividad eléctrica (mS/cm)	33.3	N-NH ₃ (mg/L)	248.75 ⁽¹⁾
pH	10.07	N-NO ₃ (mg/L)	265 ⁽¹⁾
Temperatura (°C)	22.3- 24.4	P-PO ₄ ³⁻ (mg/L)	300 ⁽¹⁾
Oxígeno disuelto (mg/L)	7.60	Zn (mg/g)	No detectable
Salinidad (g/L)	22.35	Cu (mg/g)	6.73 ± 1.1 ⁽²⁾
		Mn (mg/g)	21.8 ± 4 ⁽²⁾
		Fe (mg/g)	500.79 ⁽²⁾

(1) medidas tomadas a partir de muestras del agua y (2) a partir de muestras de sedimentos

La caracterización microbiológica de las muestras de los sedimentos superficiales sugieren que a pesar de las características extremadamente alcalinas y de la elevada salinidad, ese sedimento presenta elevada actividad bacteriana como se puede observar a partir de la determinación del FDA hidrolizado (Tabla 2). Los resultados de la actividad microbiana y la estimación del número más probable de los microorganismos heterotróficos tuvieron en prácticamente en misma orden, a pesar de que en trabajos anteriores tenemos observados que la técnica del NMP no es ideal para ambientes extremos, lo mismo no se observó en el caso de ese muestreo. Se determinó, por diferencia de peso natural y liofilizada, que la muestra del tapete microbiano estudiado presentaba elevado contenido de agua (83%). Adicionalmente, após liofilización se extrajo de ese tapete la fracción de los exopolisacáridos, y identificamos que aproximadamente 70% de ese tapete se forma de biomasa y que tan solo 30% es de EPS.

Segundo Simposio Internacional de Bioingeniería Ambiental 24, 25 y 26 de Septiembre 2014

Tabla 2. Valores observados en la determinación de los parámetros microbiológicos para las muestras del tapete microbiano estudiado y que se utilizó como fuente de microorganismos en ese trabajo.

FDA hidrolizado	9.5×10^3	% biomasa	69
NMP	2×10^3	% EPS	31
		% humedad	83

Se realizaron 12 réplicas con la técnica de Roll-Tube en distintas concentraciones, y se utilizaron diferentes volúmenes del inoculo diluido (10 μ l, 20 μ l, 50 μ l y 100 μ l). De estas réplicas se aislaron 8 colonias, las cuales se trasladaron al medio líquido manteniendo las condiciones de anaerobiosis. Tras el análisis morfológico de estos aislados (con Tinción de Gram) se determinó que sólo se obtuvo un aislado (Figura 1). Estas en aumento de 1000x se trataban de microcos gram negativos, pero algunas en fase de división, o sea, visualizados aquí como diplococos (Figura 1A). El ADN genómico de este microorganismo fue extraído, y utilizado para amplificar el gen ADNr 16S (Figura 1B). De las varias concentraciones probadas para amplificar el gen de ADNr 16S, se observa una banda muy ligera en el carril B de la Figura 2B, correspondiente al volumen de 1 μ l de ADN. Para los volúmenes de 0.5 μ l y 2 μ l de DNA (Carril A y C; Figura 2B), no se obtuvo amplificación visible en la electroforesis. Así, se utilizó las condiciones de la muestra del carril B para lograr más del gen ADNr 16S, el cual se purificó y se envió a secuenciación en el laboratorio de LangeBio, en el CINESTAV Irapuato, para realizar un estudio taxonómico de ese aislado. Según las informaciones del laboratorio, no se ha logrado realizar la reacción de para la secuenciación de la muestra. El posible causa para eso puede haber sido debido a una gran cantidad de sales en la muestra. Para eliminar esta hipótesis, a seguir, se realizará un dialisis del ADN de ese aislado con una membrana especial. Otra posibilidad es mejorar la eficiencia de purificación y eliminación de las proteínas. Para eliminar estos riesgos se cambiará de técnica por otra, con etapas más eficientes en la eliminación de las proteínas.

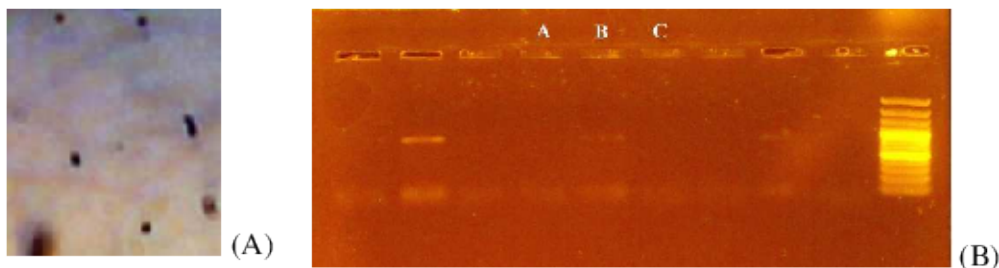


Figura 1. En A se observa la morfología celular de aislado obtenido (Microscopía óptica de campo claro; ocular de 10x y objetiva de 100x). (B) fotografía de la electroforesis del producto de la PCR con los oligonucleótidos 8F y el 907R. El fragmento esperado es de aproximadamente 900 pares de bases (según se observa en el carril del control positivo). Se utilizaron 3 concentraciones de ADN: 0.5 μ l, 1 μ l y 2 μ l (ilustrados en la foto como carril A, B y C, respectivamente); el primero carril es el control negativo.

Para terminar, los cultivos que aún no se logran obtener una única morfología celular serán aplicados a otra metodología, hasta lograr morfologías celulares uniformes.

CONCLUSIONES

Se logró obtener varias colonias de BSR, las cuales se detectaron por la presencia de colonias negras. De estas se logró aislar una bacteria, la cual se observó que son micrococcos y microdiplococos gram negativos. Con la secuenciación se analizará si se trata de una especie. Se pretende aumentar el número de diluciones con las probabilidades de encontrar más aislados con la técnica de Roll-tube.

AGRADECIMENTOS

El trabajo hace parte del proyecto BIOMETAL de Inovacion Tecnologica de Cooperacion Internacional Francia-Mexico, financiado por CONACyT y ANR (No. 188775).

REFERENCIAS

- [1] Armienta MA, R.S. de la Cruz, Ceniceros N. et al (2008). Water chemistry of lakes related to active and inactive Mexican volcanoes. *J. Volcanology and Geothermal* , 178(2):249–258.
- [2] Cifuentes RMU y Fucuguachi JU et al (1999). Paleomagnetic study of the Valle de Santiago volcanics, Michoacán-Guanajuato volcanic field, Mexico. *Geofísica Internacional*, 38(4):217-230
- [3] Gómez JJA, Levresse Gilles, Núñez GC y González MV et al (2013). Active sinking at the bottom of the Rincon de Parangueo maar (Guanajuato, Mexico) and its probable relation with subsidence faults at Salamanca and Celaya. *Bol. Soc. Geológica Mexicana*, 65(1):169-188
- [4] Jiménez B., Marín L., Morán D., Escolero Ó., Alcocer J., Martínez V. (2005). El Agua en México vista desde la Academia. Edición Digital, Acad. Mex. Ciencias, 99-116.