



UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE MAGISTER EN CIENCIAS MENCION MICROBIOLOGÍA

Diversidad Bacteriana y Evaluación de la Capacidad de Transformación Genética Bajo Estrés en Proteobacterias Aeróbicas Quimioorganotrofas de Lagos Patagónicos de la región de Aysén

Profesor Guía: Miguel Martínez Poblete
Dpto. de Microbiología
Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad de Concepción

Tesis para ser presentada a la Dirección de Postgrado de la Universidad de Concepción

ROY MACKENZIE CALDERÓN
CONCEPCIÓN-CHILE
2010

RESUMEN:

Las bacterias poseen diversas estrategias adaptativas que les permiten competir eficientemente por nutrientes y adaptarse a las condiciones del entorno. En los ambientes oligotróficos-psicrófilos, las especies bacterianas podrían estar filogenéticamente relacionadas y compartir propiedades fisiológicas, siendo capaces de metabolizar una amplia gama de sustratos en común. Estas propiedades podrían permitirles sobrevivir y mantener la actividad metabólica a bajas temperaturas. Por lo tanto, la caracterización de la diversidad microbiana en la proporción bacteriana activa permite obtener información acerca del funcionamiento del ecosistema, y además suponer el rol ecológico que cada grupo podría estar realizando en él. Por otra parte, las bacterias que se encuentran bajo condiciones de estrés manifiestan cambios fisiológicos y morfológicos entre los cuales se inducen vías de respuesta que llevan a la célula a aumentar la frecuencia de transformación para favorecer la adquisición de nuevo material genético que puede otorgar nuevas propiedades metabólicas a la célula. Esta estrategia de respuesta a las condiciones desfavorables es una ventaja adaptativa de las bacterias en los ambientes naturales. Los lagos Patagónicos de Chile son ecosistemas acuáticos oligotróficos, con temperaturas inferiores a 10°C en donde es posible investigar las respuestas fisiológicas y genéticas de las bacterias que enfrentan ambientes que requieren de una mayor flexibilidad metabólica y genética. El objetivo de esta investigación fue “determinar la composición de las comunidades bacterianas y su actividad metabólica en el agua superficial de los lagos patagónicos, y evaluar las capacidades de estas comunidades como de cepas bacterianas aeróbicas heterotróficas aisladas desde estos cuerpos de agua para captar y expresar genes codificados en ADN extracromosomal”. El análisis de perfiles genéticos en tres lagos de la Patagonia fue determinada mediante el análisis de perfiles de los genes de la subunidad menor del ARN ribosomal (DGGE), y la actividad metabólica de la fracción heterótrofa aeróbica de las comunidades microbianas se obtuvo utilizando el sistema EcoPlate (BIOLOG). Los ensayos de transformación se realizaron utilizando

un plásmido que codifica resistencia a antibióticos y GFP. Los resultados revelan la presencia de especies bacterianas pertenecientes a los filos Bacteroidetes, Alpha y Gammaproteobacteria, siendo sólo el phylum Bacteroidetes común en los tres lagos. Además, los perfiles de ADNr 16S demuestran diferencias en la composición de las comunidades bacterianas (<50% de similitud según coeficiente de Jaccard); no obstante, los perfiles metabólicos demuestran una alta diversidad funcional relativa y actividad metabólica en las comunidades bacterianas del agua superficial de los tres lagos, sugiriendo que a pesar de que existen diferentes grupos filogenéticos en cada lago, existe un comportamiento metabólico común que podría deberse a las condiciones ambientales que comparten los ecosistemas acuáticos evaluados. Se obtuvo células transformantes en la comunidad del lago Venus y en la cepa *Pseudomonas fluorescens* aislada del mismo lago sometidas a congelamiento. No se detectó transformación en bacterias sometidas a períodos de inanición, pero sucesivamente con un período de congelamiento, la frecuencia de transformación se duplicó. Los resultados demostraron que las bacterias en el agua superficial de los lagos de la Patagonia son susceptibles de adquirir y expresar genes por transformación, lo cual podría representar una estrategia adaptativa para sobrevivir a las variaciones nutricionales y térmicas. No obstante, si estos lagos resultan contaminados genéticamente por efecto antrópico, podrían convertirse en un reservorio de genes de resistencia a antibióticos u otros compuestos para bacterias patógenas.