

Bacillus sp. 123, una cepa aislada de suelos agrícolas con potencial para degradar diferentes antibióticos.

Diego Sauka (1,3), Vanessa Areco (2,3), Cecilia Peralta (2,3), Antonela Marozzi (4), Eleodoro E. Del Valle (5), Leopoldo Palma (2,3)*.

(1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola (IMYZA), Hurlingham, Buenos Aires, Argentina. (2) Instituto Multidisciplinario de Investigación y Transferencia Agroalimentaria y Biotecnológica (IMITAB-CONICET), Universidad Nacional de Villa María, Argentina. (3) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina. (4) Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Medioambiente (INIBIOMA), Bariloche, Argentina. (5) ICIagro Litoral, Universidad Nacional del Litoral, CONICET Facultad de Ciencias Agrarias, Esperanza, Santa Fe, Argentina.



Introducción

Las especies pertenecientes al género *Bacillus* poseen diferentes propiedades naturales que van desde la capacidad de síntesis de diferentes toxinas hasta la producción de diferentes proteínas y enzimas con aplicaciones biotecnológicas. Muchos de los genes que las codifican se encuentran localizados en el ADN extracromosomal o plasmídico, generalmente acompañados de otros factores de virulencia tales como genes de resistencia a antibióticos. Estos plásmidos son transferibles pudiendo alcanzar a especies receptoras relacionadas mediante transferencia horizontal. Los genes de resistencia a antibióticos son imprescindibles para hacer frente a los mismos por parte de las bacterias patógenas pero también son frecuentemente encontrados en otras bacterias aisladas desde diferentes ecosistemas. Esta propiedad es muy interesante ya que brinda la posibilidad de que sean utilizadas en el desarrollo de nuevas herramientas aplicables a la biorremediación de suelos o aguas contaminadas con antibióticos, especialmente aquellas provenientes de hospitales y establecimientos lecheros o productores de ganado.

Objetivo

Realizar la caracterización fenotípica y genotípica de la cepa *Bacillus* sp. 123.

Métodos

- El aislamiento de cepas del género *Bacillus* se realizó según Palma (2015)¹.
- La reacción PCR de género *Bacillus* se llevó a cabo según Wu et al., (2006)².
- La secuenciación del genoma se realizó en Macrogen (Corea del Sur).
- El análisis fenotípico se realizó según procedimientos rutinarios en la UNVM (Figura 1).
- La clasificación taxonómica se realizó utilizando el servidor TYGS según Meier-Kolthoff and Göker, (2019)³.

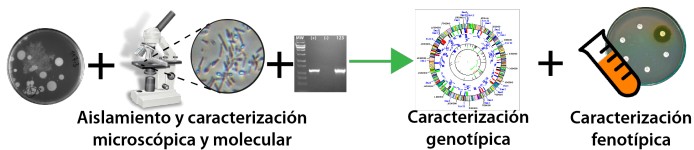


Figura 1. Esquema resumido la metodología empleada para la caracterización molecular y microbiológica de la cepa 123.

Resultados

- La cepa aislada presentó coloración Gram positiva a Gram variable y esporangio sub-terminal deformante (Figura 2 A y B).

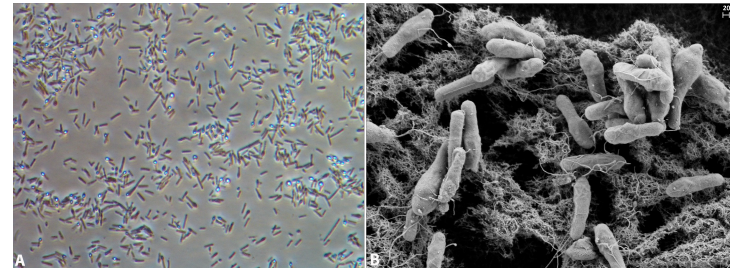


Figura 2. Análisis microscópico del aislado 123 en medio TSA (>72 hs). A) Caracterización morfológica al microscopio de contraste de fases y B) Microscopio electrónico de barrido.

- El análisis mediante PCR demostró que el aislado 123 pertenece al género *Bacillus* (Figura 3).

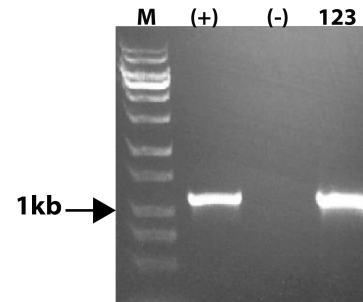


Figura 3. Análisis por PCR de el aislado 123 para el género *Bacillus* mostrando el amplicón de PCR positivo (control positivo: *Bacillus thuringiensis* HD1).

- La cepa resultó ser anaeróbica facultativa, con temperatura óptima de crecimiento a 37°C (TSA), no móvil, tolerante al NaCl (2,5 % p/v), catalasa positiva, oxidasa positiva y no hemolítica (agar sangre).

- Genoma: 5.139.413 bp con %G+C de 36,1% y 5671 CDs.
- Genes de resistencia a los antibióticos: Penicilina, Vancomicina B, Zwittermicina A, Fosfomicina, Fosmidomicina, Tetraciclina, Cloranfenicol, y Novobiocina
- Genes de resistencia a metales pesados: Cd, Zn, Pb, As y Hg.
- El servidor TYGS no identificó a la cepa a nivel de especie (Figura 4).

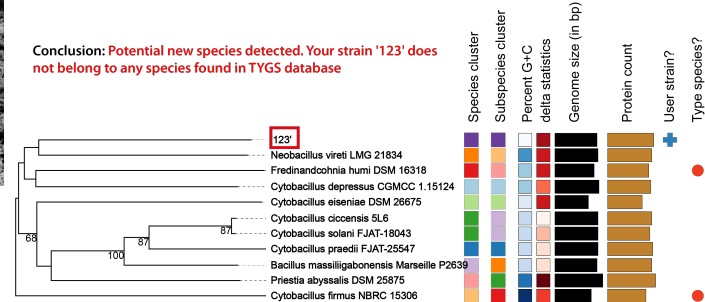


Figura 4. Filograma elaborado por el servidor TYGS. El recuadro rojo indica la cepa 123.

Discusión

- La cepa 123 no pudo ser clasificada taxonómicamente a nivel de especie con el servidor TYGS.
- Actualmente se están realizando pruebas fenotípicas adicionales (API y perfil de ácidos grasos) para describirla como nueva especie.
- Mediante antibiograma, la cepa 123 ha crecido en presencia de Cloranfenicol y Novobiocina.
- Se están planeando experimentos de tolerancia a metales pesados para determinar el potencial en biorremediación de la cepa.

Bibliografía

- ¹Palma L. 2015. Bt Research. 6(7), 1-3.
- ²Wu X., et al. 2006. J Microbiol Methods. 64, 107-119.
- ³Meier-Kolthoff J.P., Göker M. 2019. Nat. Commun. 10 (1), 2182-2192.