



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**Descubriendo las aplicaciones potenciales de los microorganismos  
ocultos en la zona costera de la península de Yucatán. Conocimiento para el uso y  
su protección.**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**LICENCIADO EN MANEJO SUSTENTABLE DE ZONAS COSTERAS.**

**P R E S E N T A:**

**ANDRÉS HIRAM ZAYOLA MEDINA**

**DIRECTORA DE TESIS:**

**DRA. MARÍA LETICIA ARENA ORTÍZ**

**Sisal, Yucatán. Mayo 2018**





Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Hoja de Datos del Jurado.

**1. Datos del alumno**

Zayola

Medina

Andrés Hiram

5513842947

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Ciencias

Manejo Sustentable de Zonas Costeras

312328414

**2. Datos del tutor**

Dra.

María Leticia

Arena Ortíz

**3. Datos del sinodal 1**

Dra.

Joanna María

Ortiz

Alcántara

**4. Datos del sinodal 2**

M en C

Aaron Beltrán

Yeh

Gorocica

**5. Datos del sinodal 3**

Dr.

Benjamín Otto

Ortega

Morales

**6. Datos del sinodal 4**

Dr.

Francisco Xavier

Chiappa

Carrara

**7. Datos del trabajo escrito**

Descubriendo las aplicaciones potenciales de los microorganismos ocultos en la zona costera de la península de Yucatán. Conocimiento para el uso y su protección.

57 p

2018

## **Agradecimientos.**

Agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México, y a sus instalaciones en el Parque Científico y Tecnológico donde se llevó a cabo el trabajo.

Al CONACYT costera por el financiamiento del proyecto 293354 y al Laboratorio Nacional de Resiliencia Costera por permitirme desarrollar mi tesis con sus datos.

A los técnicos académicos involucrados tanto en el proyecto como en mi formación académica.

A mi tutora Dra. Ma. Leticia Arena Ortíz por su confianza, paciencia, conocimiento y apoyo.

A mis sinodales por sus enseñanzas, ideas, tiempo y conocimiento compartido. Gracias por su confianza.

A mi familia por su cariño y apoyo a lo largo de la licenciatura. Especialmente por apoyar el sueño de dedicarle mi vida al mar.

A mis compañeros de generación, en especial a Karen Rios, Emmanuel Rodríguez, Alexis Cervantes, José Parga, Adrián Rodríguez y Azeneth Salmerón, por su amistad y apoyo moral.

A Valery Avila por su cariño, sus pésimas bromas, su tiempo y amables deseos a lo largo de este proceso.

Le agradezco a Sisal y su gente, especialmente a Gabriela Caamal y Geovanny Granados.

## Contenido

Resumen.....	1
Introducción.....	2
Antecedentes.....	7
Área de Estudio.....	7
Historia de los microorganismos.....	9
Marco Legal.....	14
Hipótesis.....	20
Objetivo General.....	17
Objetivos.....	17
Metodología.....	17
Resultados.....	22
Discusión.....	45
Conclusiones.....	49
Recomendaciones.....	50
Bibliografía.....	51

## Índice de Figuras.

Figura 1 Diagrama de metodología .....	17
Figura 2 Mapa con puntos de muestreo .....	18
Figura 3 Gráfico de géneros con mayor número de lecturas.....	22
Figura 4 Gráfico de especies con mayor número de lecturas.....	23
Figura 5 Boxplot de variables ambientales .....	23
Figura 6 Análisis de componentes principales .....	24
Figura 7 Clúster de análisis jerárquico.....	25
Figura 8 Comparación Grupo 1 Sedimento y Agua .....	26
Figura 9 Comparación Grupo 2 Sedimento .....	27
Figura 10 Comparación Grupo 2 Agua .....	28
Figura 11 Comparación Grupo 3 Sedimento .....	29
Figura 12 Comparación Grupo 3 Agua .....	30
Figura 13 Comparación Grupo 4 Sedimento .....	31
Figura 14 Comparación Grupo 4 Agua .....	32
Figura 15 Comparación Grupo 5 Sedimento .....	33
Figura 16 Comparación Grupo 5 Agua .....	34
Figura 17 Número de Lecturas por especie de la familia Geobacteraceae.....	38
Figura 18 Especies de la familia Geobacteraceae en Sedimento.....	39
Figura 19 Especies de la familia Geobacteraceae en Agua .....	39
Figura 20 Representatividad de Especies en muestras de Sedimento .....	40
Figura 21 Representatividad de Especies en muestras de Agua.....	41
Figura 22 Mapa de composición de especies en sedimento .....	42
Figura 23 Mapa de composición de especies en agua .....	44

### **Índice de Tablas.**

Tabla 1 Sitios de muestro con coordenadas .....	18
Tabla 2 Número de lecturas y proporción del mapa 1.....	43
Tabla 3 Número de lecturas y proporción del mapa 2.....	44

Resumen.

Entender y proteger los ecosistemas costeros en países como México es vital dado el papel que estos desempeñan en el medio ambiente, ya sea como refugios temporales de especies migratorias u hogar de una importante diversidad de especies endémicas, proveen servicios ambientales, son una fuente de recursos naturales con potencial biotecnológico aplicables a las industrias (e.g. farmacéutica, la alimentaria, biorremediativa, de provisión de energías alternativas).

En estos ambientes, entre otras funciones, los microorganismos que participan en los procesos biogeoquímicos tienen la capacidad de degradar y utilizar contaminantes para realizar sus funciones, su efectividad ha permitido el desarrollo de un campo de investigación enfocado en identificar y comercializar consorcios bacterianos para atender la problemática de la contaminación ambiental.

En la Península de Yucatán particularmente, el relleno de los humedales para la conformación de terrenos y construcción de viviendas ha sido una práctica común desde la época prehispánica. Sin embargo, hoy en día se usa basura como principal insumo, resultando en una contaminación ambiental severa, causando plumbismo en aves, afectando las poblaciones de flora y fauna a la par de comprometer la integridad de la población.

Este trabajo ofrece nueva información desde el punto de vista genómico de los ecosistemas costeros que puede ser considerada en la generación de soluciones sustentables para mitigar los impactos negativos en el ambiente frente a perturbaciones causadas por la intervención antropogénica, siendo el primer paso conocer la diversidad taxonómica microbiana de los sedimentos y agua de la zona costera del estado de Yucatán, en los alrededores del puerto de Sisal, en México, usando la tecnología de secuenciación de nueva generación, sesgando el análisis a aquellas especies que ya se han reportado en la literatura con capacidad de generar energías alternativas a costa de la degradación de contaminantes.

Se eligieron 22 puntos geográficos en distintos ambientes costeros cercanos a la población de Sisal (perteneciente al municipio de Hunucmá, Yucatán), la elección buscó caracterizar

la variabilidad y la resiliencia de los diversos ambientes costeros, buscando diferencias o gradientes de afectaciones ambientales atribuibles a la acción antropogénica.

Como resultado de la secuenciación del ADN ambiental y el análisis de las bases de datos el número de lecturas indicó que la distribución espacial de las especies estudiadas es variable aún en espacios contiguos, en cuanto a las variables fisicoquímicas, su alternancia es consecuencia del diseño muestral y concuerda con las mediciones reportadas en trabajos previos en la región (salinidad baja en ojos de agua, temperaturas altas derivadas de la colecta de muestras en agua estancada de poca profundidad, etc.). Se identificaron especies pertenecientes a la familia Geobacteraceae, en el género *Geobacter*, las muestras se componían de distintos arreglos de *G. pickeringii*, *G. metallireducens*, *G. sp. M18*, *G. sp. OR-1*, *G. sulfurreducens* y *G. soli*, las cuales se caracterizan por el potencial de generar electricidad a partir de la reducción de distintos contaminantes. En cuanto al género *Geoalkalibacter*, la especie *Geoalkalibacter subterraneus* fue la única encontrada, capaz de reducir Fe (III), Mn (IV), nitratos, sulfuro elemental y N-óxido de trimetilamina.

Las especies de microorganismos en el área de estudio tienen usos potenciales en la mitigación de problemas de contaminación (mal manejo de residuos, prácticas de relleno de humedales, perdigones de actividades cinegéticas y desechos de las actividades pesqueras) con la posibilidad de suministrar energía a los asentamientos cercanos. La región posee una rica comunidad microbiana, es menester el establecimiento de una línea base de comparación tanto de distribución temporal como espacial para el desarrollo de programas de protección y uso. La base de datos contiene mucha información, es necesario explorarla en búsqueda de más organismos con características únicas con el potencial de solucionar problemáticas mundiales y mejorar la calidad de vida de la humanidad.

#### Introducción.

La zona costera de Yucatán tiene características físicas y ciclos biogeoquímicos complejos, en ésta área el suelo es altamente permeable y existe un flujo subterráneo con dirección sur-norte, en temporada de lluvias los contaminantes de zonas de agricultura, ganadería y basureros son lixiviados y transportados en dirección a la costa, dañando pozos para



consumo humano y los ambientes costeros, además de recursos de interés para el ser humano, dichas características convierten a esta área en un sitio vulnerable a procesos de degradación ambiental generados por actividades antropogénicas (Føyn, 1969). Investigadores de la región han asegurado que las zonas costeras son las más afectadas por descargas de contaminantes, siendo las lagunas costeras y estuarios los sistemas más afectados (Árcega, 2017). De acuerdo al diagnóstico más reciente, aproximadamente 75% de las lagunas costeras presenta algún síntoma de impacto, volviendo comunes los problemas ambientales, sociales y económicos en las lagunas costeras de Yucatán (Herrera-Silveira, 2006).

Las lagunas costeras son un rasgo fisiográfico de suma importancia en las costas de la Península de Yucatán, donde diversas actividades como la pesca, la extracción de recursos maderables, el turismo de bajo impacto y la observación de aves son impulsadas por su productividad, atractivo estético y biodiversidad (Herrera-Silveira, 2006). No obstante los servicios ecosistémicos se han visto modificados de forma negativa como consecuencia del crecimiento poblacional (incremento en descargas de aguas residuales, modificaciones hidrológicas y cambio de uso de suelo, etc.), a pesar de estas modificaciones los organismos se han adaptado y aprovechado estas modificaciones para proliferar, especialmente los microorganismos (Jiang & Fan, 2008).

La presencia y diversidad de microorganismos en ambientes acuáticos depende de diversos factores físicos y químicos que actúan de forma complementaria o antagónica sobre los consorcios microbianos, tales factores influyen en su biomasa, composición taxonómica, morfología y fisiología, alterando el metabolismo, la morfología celular y los patrones de reproducción (Moreno et. al., 1998:33).

### Temperatura

La temperatura afecta procesos vitales de todos los organismos, en especial la velocidad de crecimiento, requerimientos nutrimentales, composición química, y actividad enzimática. La alta capacidad adaptativa de estos organismos les ha permitido adaptarse a rangos sumamente variables de temperaturas (Moreno et. al., 1998: 33). Aquellos organismos

adaptados a temperaturas bajas (0-20°C) se denominan psicrófilos. Los organismos que se desarrollan en temperaturas medias (25-40°C) son denominados mesófilos y los organismos con una temperatura óptima de crecimiento alta (50-60°C) se denominan termófilos.

En el Estado de Yucatán existen diversos ambientes costeros, entre ellos las lagunas costeras, en el presente trabajo algunas de las muestras corresponden a la laguna de la Carbonera, ubicada al este del poblado de Sisal, tiene una temperatura en la columna de agua que varía de 5 a 8°C, con valores mínimos de 18-20°C entre diciembre y febrero y máximos de 28-35°C, entre junio y octubre (Bonilla-Gómez et al., 2013, Marin-Coria y Enriquez, 2016).

La presión hidrostática también afecta los procesos biológicos, determinando su desarrollo en zonas más superficiales o profundas. No obstante, en la mayoría de los casos el efecto de la presión es significativo en valores extremos, mayores a 100 atmósferas. La Carbonera es un cuerpo somero con profundidades que oscilan 0.1 y 1.5 m (Bonilla-Gómez et al., 2013, Marin-Coria y Enriquez, 2016).

La materia en suspensión funge como sustrato para muchos microorganismos, pues colonizan su superficie, algunos colonizan tanto las partículas de materia orgánica (que pueden usar como fuente de alimento directa) como las partículas inorgánicas. Las partículas en suspensión, de origen orgánico o mineral adsorben nutrientes, en consecuencia los microorganismos encuentran un ambiente nutricional más favorable en esta materia suspendida (Moreno et al., 1998: 35). Por lo tanto las partículas suspendidas (turbidez), tienen un efecto favorable sobre el crecimiento de las colonias bacterianas.

#### pH

El crecimiento y la reproducción de los microorganismos están influenciados también por el pH medio, en ambientes marinos el rango de variación va de 6.5 a 8.5, el óptimo para la mayoría de las poblaciones bacterianas (Baath et al., 1992). El potencial redox por otro lado, afecta el metabolismo aerobio o anerobio, ciertos organismos requieren un rango concreto de pH para sobrevivir o reproducirse. La mayoría de los ambientes marinos tienen un

potencial oxidante, en consecuencia tienen poca influencia sobre las poblaciones bacterianas (Moreno et. al., 1998: 36).

Las bacterias halófitas están adaptadas a aguas saladas o hipersalinas, algunos microorganismos son susceptibles a pequeños cambios de salinidad, debido a los afluentes de agua dulce subterránea en la costa de Yucatán es posible encontrar un amplio margen de salinidades, en la zona de estudio se han reportado valores mínimos promedio de 20 ppm observados en temporada de lluvias y máximos situados en 40 ppm durante la temporada de secas, en zonas con presencia de agua dulce la salinidad es menor a 5 ppm (Marin-Coria y Enriquez, 2016).

#### Bioelementos orgánicos

La ausencia de los elementos necesarios para la síntesis de moléculas orgánicas de los microorganismos constituye un factor limitante en el crecimiento y su reproducción, comúnmente en ambientes costeros el elemento limitante es el fósforo. Algunas bacterias son capaces de utilizar compuestos inorgánicos como fuente de energía o de oxígeno. Como fuente de energía el ejemplo son las bacterias nitrificantes, que a través de su metabolismo obtienen energía oxidando amoníaco de nitrito y éste a nitrato. En el caso del uso de compuestos inorgánicos como fuente de oxígeno están las bacterias desnitrificantes, que en condiciones anaerobias usan el oxígeno de las moléculas de nitrato, obteniendo como subproducto  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{N}_2\text{O}$  o  $\text{N}_2$  (Moreno et. al., 1998: 36).

La materia orgánica es la fuente de nutrientes para las bacterias heterótrofas presentes en el agua subterránea. Por ende existe una correlación importante entre el contenido de materia orgánica y la actividad biológica. La concentración de materia orgánica también determina el tipo de organismos y su abundancia, pues existen microorganismos capaces de crecer con concentraciones muy bajas, mientras que otros están adaptados a altos contenidos de esta. La presencia de enzimas o sustancias bactericidas derivadas del metabolismo de animales y plantas puede condicionar el crecimiento de las poblaciones microbianas (Moreno et. al., 1998: 36).

#### Gases disueltos

En cuanto a gases disueltos el oxígeno condiciona los microorganismos presentes y su metabolismo, el dióxido de carbono es necesario para muchos microorganismos, en particular muchas bacterias autótrofas y fotosintéticas. Aunque raramente es un factor limitante, pues es producido abundantemente como consecuencia de la respiración de raíces, microflora y microfauna (Moreno et. al., 1998: 37).

Composición de especies.

El estudio de la estructura y composición microbiológica de los ecosistemas complejos tales como el agua y el sedimento es importante para entender de mejor manera la fisiología de la comunidad bacteriana, especialmente en los campos de *biorremediación* (denominado como cualquier proceso que implemente microorganismos, plantas, hongos u enzimas derivadas de los mismos para restablecer las condiciones previas a la presencia de contaminantes) y en el descubrimiento de nuevas aplicaciones *biotecnológicas* (tecnología aplicada a los procesos biológicos) (Bissett, 2006). El auge de la genética molecular ha motivado a diversos investigadores a desarrollar metodologías que permitan analizar de forma exhaustiva la composición microbiana en distintos ambientes a partir del estudio del ADN. Solucionando problemáticas como el análisis de presencia de organismos no cultivables, como en el caso de la microbiología tradicional.

En este contexto, y a partir de la carrera originada a partir de la secuenciación del genoma humano se han desarrollado nuevas y mejores tecnologías, para obtener las secuencias completas de diferentes genomas a costos más accesibles y en menor tiempo. Actualmente, la secuenciación de nueva generación (NGS, New Generation Sequencing) utiliza las nuevas tecnologías y estrategias para la obtención de datos masivos de secuencias de nucleótidos para conocer el genoma completo de cualquier organismo biológico, o conocer el conjunto de organismos que habitan en una muestra biológica (metagenómica), que hasta hace algunos años eran imposibles (Barbolla, 2014).

La promesa de estas aproximaciones metodológicas para el estudio de los recursos genéticos se basa en el contenido de las secuencias de nucleótidos contenidos en el ADN, donde yace la información única de los organismos, su función, la forma en la que

interactúan con su entorno y su historia evolutiva, descifrar el código oculto es el camino a la resolución de problemáticas vinculadas a cambio climático, innovación farmacológica, alimenticia, médica, tecnológica y de la misma forma en el campo de la biorremediación (Orellana, 2002).

Antecedentes.

Área de Estudio.

México se caracteriza como un país con alta influencia costera, colinda al Este con el Mar Caribe y el océano Atlántico, al Oeste con el océano Pacífico, de acuerdo al Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) en total cuenta con una línea de costa de 11, 122 km, de los cuales 3,294 km corresponden a la vertiente atlántica, en dicho espacio se desarrollan diversas actividades humanas (INEGI, 2010) desde épocas ancestrales. Las zonas costeras son valiosas en términos ecológicos, antropológicos y socioeconómicos, pues son áreas que por su biodiversidad desatan el desarrollo de actividades económicas, en su mayoría encaminadas al aprovechamiento de recursos naturales. Su dinámica, función y forma convierten en una tarea compleja delimitarle, para fines del presente trabajo se considera a la zona costera como el espacio de transición entre los ambientes marino y terrestre que se extiende desde la plataforma continental en el límite oceánico (CERC, 2000) pasando por zonas inundables adyacentes al mar, hasta el primer cambio importante en el tipo de cobertura vegetal.

Las zonas costeras contienen diversos ecosistemas con una alta productividad primaria, lo que los convierte en zonas de interés desde el punto de vista de la conservación, se trata de la primer área de protección para los asentamientos humanos adyacentes frente a fenómenos hidrometeorológicos. Las actividades que toman lugar en estos sitios se relacionan principalmente con la industria alimentaria, transportista, recreacional, energética y urbanística (Lasserre, 1979). No obstante, las consecuencias de dichas acciones modifican los procesos naturales de los ecosistemas, comprometiendo la sustentabilidad de los recursos, mientras degradan la salud de los habitantes producto de la contaminación (Rojas, 2011).

La Península de Yucatán se encuentra entre los 19°40'-21°37' N y 87°30'-90°26' O, colinda al este con el Mar Caribe y al Norte con el Golfo de México (INEGI, 2000). Se han caracterizado tres estaciones climáticas para la región: secas, que van de marzo a mayo; lluvias comprendiendo el periodo de junio a octubre y nortes que va de noviembre a febrero (Schmitter-Soto et al., 2002). Las actividades económicas de mayor importancia para el estado de Yucatán en términos de aportación al PIB (PIB, Producto Interno Bruto) son encabezados por los servicios de comercio (21.5%), seguidos por los servicios inmobiliarios de bienes muebles e intangibles (13.1%), la construcción (11.6%) y la actividades referentes a la industria alimentaria (9.9%) (INEGI, 2014).

La carencia de un sistema de disposición de residuos eficiente en Yucatán, un flujo subterráneo de agua con dirección sur-norte en temporada de lluvias que lixivia y moviliza contaminantes, el cambio en el uso de suelo con falta de planificación y las descargas de aguas residuales agravan la degradación de los ambientes costeros, modificando el funcionamiento de los ciclos biogeoquímicos con la introducción de metales pesados, pesticidas, material radioactivo, hidrocarburos y sus derivados, por mencionar algunos (Herrera-Silveira y Morales, 2010). Anualmente se descargan en el acuífero de Yucatán 102.3 m<sup>3</sup> de aguas residuales, como consecuencia de las actividades que no cuentan con un proceso de tratamiento previo a ser vertidas al acuífero (CONAGUA, 2012; Herrera-Silveira y Morales, 2010).

La presencia de contaminantes representa un serio problema ambiental, pues su permanencia en el ambiente puede afectar algas, insectos, aves, peces y mamíferos, aunado a los problemas que la bioacumulación representa, es por ello que se requiere la implementación de un proceso de remediación (Debasmita, 2013). La producción de plaguicidas y derivados de hidrocarburos aumentó desde inicios del siglo XX, producto del crecimiento industrial del sector petrolero. Su uso ha causado un incremento desmedido de sus concentraciones en la atmósfera, hidrósfera, suelos y sedimento, desencadenando problemáticas de contaminación en distintos ambientes (García-Gutiérrez, 2012).

Las poblaciones microbianas expuestas a los diversos contaminantes son capaces de responder con producción de enzimas que degraden los compuestos, o pueden utilizarlos como fuente de energía gracias a su diversidad de rutas metabólicas y adaptaciones producto de la evolución.

#### Historia de los microorganismos

Los microbios que comúnmente se asocian a enfermedades, son en realidad seres esenciales para el funcionamiento de la mayoría de los seres vivos del planeta. El concepto engloba organismos unicelulares y pluricelulares no relacionados evolutivamente entre sí, tanto procariotas (e.g. bacterias) como eucariotas (e.g. protozoos), una parte de las algas y hongos, e incluso entidades biológicas acelulares de tamaño ultramicroscópico, como los virus (Brock., 1990)

La Tierra se formó hace 4.5-6 mil millones de años, las condiciones permanecieron inhabitables durante cerca de 3 mil millones de años, durante los cuales fue constantemente impactada y físicamente modificada. La emisión de gases, la radiación y tormentas eléctricas generaron reacciones químicas a escalas globales que cambiaron la composición de la atmósfera primitiva (Hug *et al.*, 2016).

La combinación de nitrógeno, oxígeno, carbono e hidrógeno fueron determinantes para el desarrollo de los primeros habitantes del planeta. La formación de proteínas y ácidos nucleicos permitió el desarrollo del código genético (contenido en ácidos ribonucleicos y desoxirribonucleicos) y la maquinaria necesaria para traducir la información a un producto tangible (Brock, 1990).

La naturaleza del predecesor original involucrado en el origen de la vida aún está sujeto a la especulación, se ha sugerido que la célula original puede haber usado RNA como material genético, dado que las investigaciones han mostrado que las moléculas de RNA pueden tener numerosas funciones catalíticas (Brock, 1990). Bacterias y arqueas han divergido de su precursor común desde la época temprana de este periodo. Los dos tipos de procariontes tienden a habitar diferentes tipos de ambientes y a aumentar el número de especies a diferentes tasas (Garrity *et al.*, 2012).

Muchas arqueas prefieren nichos con altas temperaturas, una rama principal del árbol de las arqueas consiste solo en especies termófilas y muchas de las arqueas metanógenas en otra rama principal pueden crecer en altas temperaturas. En contraste, ninguna rama principal de eubacteria consiste solamente en termófilos (referencia). No obstante, tanto bacterias como arqueas contienen a miembros que eran capaces de crecer a altas temperaturas, así como otras especies capaces de crecer a bajas temperaturas. Una diferencia prominente es que las bacterias se han adaptado ampliamente a condiciones aeróbicas, mientras que muchas de las arqueas son anaerobios obligados, ninguna arquea es fotosintética obligada (Brock., 1990).

Puede ser que las arqueas sean un organismo más primitivo, con una respuesta genética impar a la modificación de las condiciones ambientales. Tal estrategia restringe a las arqueas a ambientes extremos, donde existe menos competencia entre formas de vida (Garrity et al., 2012).

Los fósiles de bacterias encontrados en rocas datan de finales del periodo Denoviano y existen teorías que colocan a las bacterias incluso en el inicio del Precámbrico, durante el Arqueano la vida se diversificó y modificó sus rutas metabólicas para poder hacer uso de distintas fuentes de energía. Asegurando primero su integridad generando pigmentos para hacer frente a la luz UV consiguieron repeler la radiación mutagénica, lo que permitió evolucionar para poder utilizar la luz como fuente de energía (Souza, 2017).

Los organismos deben adaptarse a los cambios en el ambiente, está claro que las mutaciones (cambios en la secuencia de nucleótidos en el ADN de un organismo) ocurren de forma constante en todos los organismos. Los cambios en la secuencia de ADN pueden resultar en cambios en la cadena de aminoácidos de la proteína que codifica esa sección de ADN. (Garrity, et al., 2012)

Como resultado, la proteína alterada podría ser benéfica, dañina o neutral para las condiciones ambientales. Aunque muchos cambios en los nucleótidos que pueden ocurrir en el ADN no tendrán efecto en la aptitud de la célula, si el cambio en el nucleótido mejora el crecimiento celular en algún porcentaje, entonces la forma mutante será capaz de



incrementar su número relativo en la población. Si el nucleótido que cambia disminuye la tasa de crecimiento de la célula, su tasa de replicación será inefectiva en comparación a la población, por lo que la forma mutante será superada por las otras células y se perderá (Brock, 1990).

La habilidad de transferir información genética entre organismos es un factor determinístico en la adaptación a los cambios en el ambiente. El intercambio de ADN es una parte esencial del ciclo de la vida para los organismos eucariontes mayores. El intercambio genético también ocurre en el mundo bacteriano, aunque la cantidad de ADN transferido es pequeña, dicha transferencia puede ocurrir entre organismos distantemente relacionados. Los genes en plásmidos pueden llegar al cromosoma bacterial y convertirse en una parte estable de la herencia de la bacteria (Brock, 1990).

Los organismos usualmente poseen elementos genéticos móviles llamados transposones que pueden reorganizar el orden de presencia de cualquier gen del cromosoma. Los transposones pueden jugar un rol importante para ayudar a acelerar los procesos evolutivos (Kidwell, 2005).

Las bacterias se expandieron por la tierra desde la última parte del Paleoproterozoico (hace cerca de 1.8 mil millones de años), cuando el oxígeno apareció en la atmósfera producto de la acción de cianobacterias, por ello las bacterias han tenido tanto tiempo para adaptarse a sus ambientes y diversificado sus capacidades (Brock, 1990).

En las condiciones iniciales el oxígeno era escaso, factores como la temperatura y la radiación atmosférica eran extremos. Si bien el origen de las bacterias es difícil de datar, los organismos extremófilos de la actualidad (*archeobacteria*) son capaces de desempeñar sus funciones normales bajo temperaturas extremas, concentraciones de sal elevadas, radiación y pH extremos. Estas adaptaciones indican que en la historia evolutiva de los organismos fue necesario contar con la capacidad de tolerar condiciones aberrantes desde la perspectiva humana (Souza, 2017).

Someterse a tales condiciones influyó en que sus rutas metabólicas variaran para poder obtener energía a partir de sustancias diferentes al oxígeno, como el ácido nítrico, ácido

sulfúrico, hierro, arsénico o uranio. Conforme pasaron los años la evolución permitió a los microorganismos entablar relaciones simbióticas con seres más complejos (Souza, 2017).

Evolución de la microbiología.

La microbiología es la rama de la biología que analiza y estudia los microorganismos, a lo largo de la historia se ha especializado en microorganismos patógenos bacterianos, víricos y fúngicos, permitiendo que otros microorganismos sean el objeto de estudio del campo de la parasitología y otras ramas de la biología (Atlas y Bartha, 2001).

Las técnicas clásicas de estudio se basan en métodos que permiten observar características estructurales y morfológicas empleadas para su identificación. No limitadas a ello también han permitido conocer características no morfológicas, como requerimientos nutritivos, fuentes de carbono, nitrógeno y azufre, necesidades gaseosas, tolerancia térmica y pH (Alonso, 1994).

Las técnicas moleculares por otro lado, analizan los ácidos nucleicos extraídos de los microorganismos directamente o a partir de una muestra que contenga al organismo en cuestión. Permiten detectar el microorganismo de interés aún si es sólo uno en la muestra, han permitido estudiar poblaciones microbianas que no habían podido ser cultivadas y microorganismos sin necesidad de aislamiento.

Biología Molecular.

Disciplina encargada de estudiar los procesos que se desarrollan en los seres vivos a nivel molecular, enfocada en el comportamiento biológico de las macromoléculas de ADN, ARN, enzimas, etc., con ello se pretende explicar las funciones biológicas de los organismos (Claros, 2006, Collier, 2016).

El estudio a través de técnicas moleculares permite analizar poblaciones microbianas específicas, sus procesos y actividades sin necesidad de cultivos (Olubukola, 2003) permitiendo la generación de información para explicar al mundo microbiano. Técnicas como la secuenciación de ADN, desarrollos tecnológicos como bases de datos de libre acceso, algoritmos de machine learning y dispositivos computacionales especializados

permiten extraer información crucial sobre las comunidades de microorganismos en el ambiente. (Flores-Gallegos, 2009 en García- Lazalde et al., 2011, Rodicio & Mendoza, 2004; Singer et al., 2016; Valenzuela et al., 2015).

Marcadores moleculares para el estudio de los microorganismos.

Los marcadores de ADN se utilizan en investigaciones básicas, cuando se analiza la filogenia o se buscan genes específicos (FAO, 2010), en la actualidad el gen ribosomal 16S es el de mayor popularidad. Presente en todos los procariontes permite analizar la diversidad de la comunidad bacteriana, poco afectado por presiones ambientales y con una función crítica en la síntesis de proteínas (Langenheder S. & Ragnarsson H., 2005), es un gen estable que posee sitios conservados que permiten el diseño y construcción de cebadores universales implementados en los procesos de PCR, aunado a esto cuenta con regiones hipervariables que permiten la diferenciación entre organismos.

Secuenciación, como estrategia para el estudio de microorganismos.

La secuenciación de ADN significa determinar el orden de los cuatro componentes básicos químicos que conforman la molécula de ADN. La secuencia permite indagar sobre la información genética que transporta un segmento específico de ADN (National Human Genome Research Institute, 2018). La técnica de PCR, que es un método de amplificación de un fragmento de interés del genoma consta de varios ciclos repetitivos: (a) la desnaturalización de ADN a través de la ruptura de los puentes de hidrógeno, (b) la hibridación de cadenas desnaturalizadas con los cebadores, (c) extensión de la longitud de los cebadores por la polimerasa acompañada de la inserción de nucleótidos libres (Baumforth K. *et al.*, 1999).

Metagenómica.

Un campo de estudio que ha crecido inmensamente en años recientes es la metagenómica, la investigación de comunidades completas para contestar preguntas sobre la composición, diversidad y funcionamiento de ecosistemas microbianos complejos. Si bien el campo inicialmente estaba concentrado en la secuenciación de amplicones o marcadores

genéticos específicos, hoy en día se usa para investigar tanto la composición taxonómica, como la capacidad funcional potencial de una muestra. Los resultados de cualquier estudio metagenómico depende de las herramientas computacionales que pueden analizar grandes bases de datos y extraen información útil y correcta sobre la comunidad investigada. Afortunadamente, diversas herramientas se han desarrollado para investigar la composición taxonómica de los metagenomas y en algunos casos sobre la composición funcional de la comunidad. Tales herramientas pueden ser separadas en dos grupos: (1) Aquellas que utilizan las secuencias disponibles de una o más bases de datos (e. g. CLARK, Genometa, GOTTCHA, Kraken, LMAT, MEGAN, MG-RAST, One Codex) y aquellas enfocadas en una serie de marcadores genéticos (e.g. MetaPhlAn, MetaPhyler, mOTU, QIIME) (Lindgreen, S. et al., 2016).

#### One Codex.

Es una plataforma web (de acceso libre para usos académicos) que utiliza el parámetro k para comparar archivos FASTQ o FASTA con su índice de genomas microbianos. Los “matches” exactos del parámetro k son usados para encontrar la asignación taxonómica más específica para cada lectura, buscando el menor ancestro común. El resultado es presentado en forma gráfica, ejemplificando la composición de la muestra, una clasificación de abundancia de especie de mayor a menor y el acceso directo al nivel de clasificaciones (Lindgreen, S. et al., 2016).

Los diseñadores del programa reportan que analiza secuencias 900 veces más rápido que BLAST, mientras mantiene una sensibilidad y precisión (la proporción de secuencias que están correctamente identificadas) similar (a nivel de género), tomando horas y no días en clasificar los metagenomas (Randle, R., *et al.*, 2016) convirtiéndolo en una herramienta sumamente útil.

#### Marco Legal.

El manejo y experimentación con microorganismos debe garantizar seguridad, así como el apego a las regulaciones y legislaciones aplicables de conformidad con éste ámbito (Arteaga R., 2017 ). Por tanto la normativa correspondiente debería caracterizarse por flexibles y de

dominio público, desde su aplicación a su seguimiento (OMS 2005, Smith & Rhode 2008, Perez 2014).

En la actualidad la industria de la biotecnología ha cobrado mucha importancia, pues las técnicas para obtener productos generados por microorganismos son cada vez más eficientes. La gran mayoría de dichos productos son empleados en la industria alimenticia, farmacológica y bioremediativa (Lima & Smith 2003, Agüero-Teare 2014).

El desarrollo del mercado internacional exige leyes que aseguren a las empresas biotecnológicas protección y derecho de explotación exclusiva. Con lo cual se espera estimular la investigación, a la par de fomentar y facilitar la adquisición de nueva tecnología (Astudillo, 1995).

En México existen catorce normativas en materia de microorganismos (Arteaga R., 2017 ).

Bioseguridad: Normatividad para el control y manejo de microorganismos.

1. Ley de Bioseguridad.
2. NOM-164-SEMARNAT/SAGARPA-2013.
3. Convención BWCT.
4. Regulaciones de la IATA.
5. Leyes de sanidad vegetal y animal.

- Propiedad intelectual: Regulación sobre el movimiento de organismos.

1. Ley de Propiedad Industrial.
2. Tratado de Budapest.
3. Convención de París.

- Biocustodia y biocontención: Legislación aplicable a las cepas patentadas.

1. Leyes de sanidad vegetal y animal.
2. NOM-087-ECOL-SSAI-2002.
3. Regulaciones de la IATA.
4. Catálogo Global de Microorganismos.
5. CDB (Protocolo de Nagoya).
6. MOSAICS.

En México se ha avanzado en la regulación del manejo adecuado de organismos genéticamente modificados (OGM). En el año 2006 se promulgó la Ley de Bioseguridad de Organismos Genéticamente Modificados en la que se establece la manera de evaluar los riesgos de manipulación y suministro de OGM en el país. Asimismo, se creó la comisión intersectorial de Bioseguridad de los Organismos Genéticamente Modificados (Cibiogem) (Gálvez, 2001).

#### Hipótesis.

- La diversidad taxonómica microbiana de la zona costera de Yucatán es muy alta y tiene potencial de implementación en el campo de la biotecnología.
- Existen microorganismos en la zona costera de Yucatán con capacidades que permitan la resolución de problemáticas ambientales de forma sustentable.
- Existe una relación entre la comunidad microbiana y las presiones ambientales y antropogénicas.

### Objetivo General:

Estudiar la diversidad taxonómica microbiana de los sedimentos y agua de la zona costera del estado de Yucatán, en México, usando secuenciación de nueva generación y herramientas bioinformáticas.

### Objetivos:

- Analizar los datos de secuenciación masiva de nueva generación de muestras ambientales de agua y sedimentos de Sisal, Yucatán; en el marco del proyecto de genómica ambiental del Laboratorio Nacional de Resiliencia Costera.
- Describir a los microorganismos de interés por con potencial de explotación presentes en el área de estudio.
- Establecer relaciones entre la presencia de microorganismos con afinidades específicas a presiones ambientales o antropogénicas.

### Metodología.

La metodología siguió el flujo que se presenta en la figura 1 y es detallado a continuación.

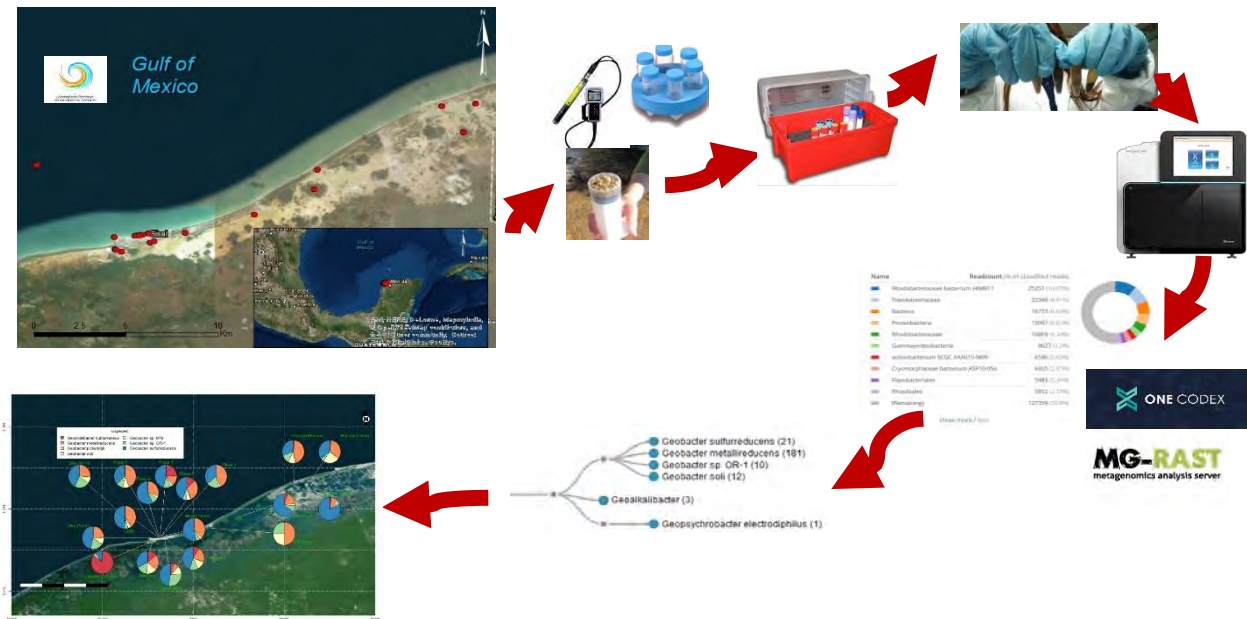


Figura 1. Diagrama de la metodología realizada. Disposición espacial, colecta de muestras, almacenamiento, filtrado, extracción, secuenciación, asignación taxonómica, análisis bioinformático.

## Muestreo.

Durante el mes de agosto del 2016 se colectaron muestras de agua (3L por sitio) y sedimento (50g por sitio) a lo largo de la costa del estado de Yucatán (Figura 2). Las localidades fueron seleccionadas considerando su cercanía al poblado y a distintos ambientes costeros, con lo que se pretendía contrastar el efecto antropogénico en la comunidad bacteriana.

Cada punto fue geolocalizado mediante un GPS marca Garmin modelo eTrex Legend. Paralelamente se midió temperatura, conductividad, sólidos disueltos totales, salinidad, oxígeno disuelto, concentración de oxígeno, pH y potencial redox con una sonda multiparamétrica de marca YSI modelo 556 Handheld.

La distribución espacial de los sitios se encuentra en la figura 2, mientras que las coordenadas, tipo de muestra y nombre del sitio se muestran en la tabla 1.

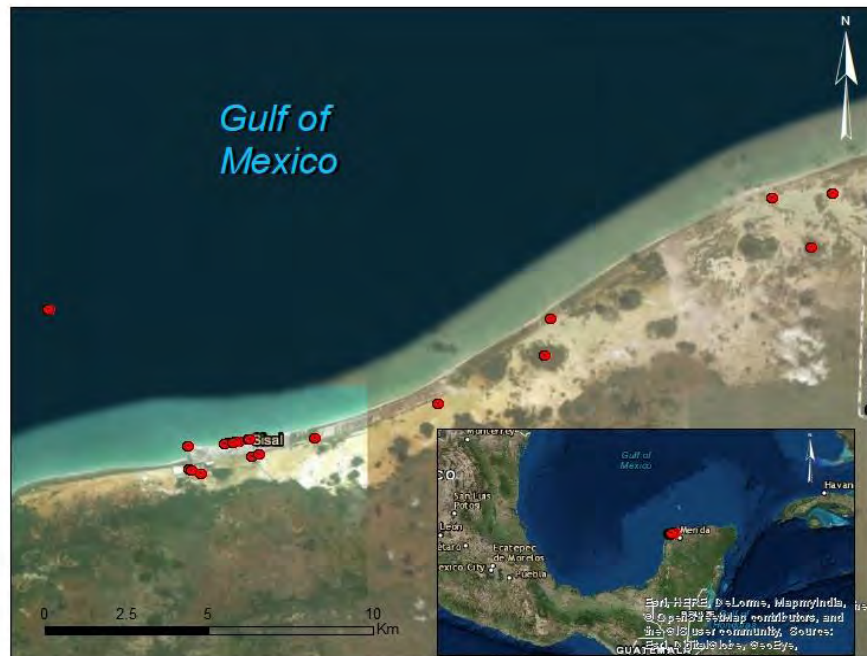


Figura 2. Mapa que muestra los puntos de colecta de agua y sedimento.

ID	Sitio	Tipo de muestra	x	y
SS01	Entrada Bocana	Sedimento	-89.889113	21.231013
SS02	Bocana Fondo 1	Sedimento	-89.87248	21.232224



SS03	Bocana Fondo 2	Sedimento	-89.87246	21.232221
SS04	Ojo de Agua	Agua	-89.878416	21.217995
SS05	Entrada Bocana	Agua	-89.889113	21.231013
SS06	Bocana Fondo 1	Agua	-89.87248	21.232224
SS07	Bocana Fondo 2	Agua	-89.87248	21.232224
SS08	Playa 1	Agua	-90.034735	21.166923
SS09	Playa 1	Sedimento	-90.034735	21.166923
SS10	Playa 2	Agua	-90.035752	21.166876
SS11	Playa 2	Sedimento	-90.035752	21.166876
SS12	Playa 4	Agua	-90.037702	21.166534
SS13	Playa 4	Sedimento	-90.037702	21.166534
SS14	Mar Puerto de Abrigo	Agua	-90.048296	21.15952
SS15	Mar Puerto de Abrigo	Sedimento	-90.048296	21.15952
SS16	Mirador	Agua	-90.045148	21.158407
SS17	Mirador	Sedimento	-90.045148	21.158407
SS18	Cocodrilo	Agua	-90.047639	21.159324
SS19	Cocodrilo	Sedimento	-90.047639	21.159324
SS20	Gasolinera	Agua	-90.031273	21.163105
SS21	Gasolinera	Sedimento	-90.031273	21.163105
SS22	Ciénega Población	Agua	-90.029285	21.163728
SS23	Ciénega Población	Sedimento	-90.029285	21.163728
SS24	Carbonera	Sedimento	-89.980422	21.176859
SS25	Carbonera	Agua	-89.980422	21.176859
SS26	Anidamiento	Agua	-89.951172	21.189687
SS27	Anidamiento	Sedimento	-89.951172	21.189687
SS28	Bajo de 10	Agua	-90.086938	21.201751
SS29	Bajo de 10	Sedimento	-90.086938	21.201751
SS30	UMDI	Agua	-90.048724	21.165823
SS31	UMDI	Sedimento	-90.048724	21.165823
SS32	Playa 5	Agua	-90.038619	21.166223
SS33	Playa 5	Sedimento	-90.038619	21.166223
SS34	Playa 3	Agua	-90.036494	21.16658
SS35	Playa 3	Sedimento	-90.036494	21.16658
SS36	Muelle Oeste	Sedimento	-90.032051	21.16745
SS37	Muelle Este	Agua	-90.031902	21.167447
SS38	Desagüe Granja Camaronera	Agua	-89.949702	21.199169
SS39	Periferia Basurero	Agua	-90.014137	21.167831

Tabla 1. Se exhiben las 39 muestras de los veintidós sitios de muestreo.

#### Muestras de agua.

Las muestras de agua se colectaron de tres puntos en la columna de agua por lugar de muestreo. En cada punto de la columna se colectó un litro de agua, donde la altura de la columna de agua era mínima los contenedores se llenaron a la misma profundidad. Las muestras se almacenaron en recipientes de polietileno de baja densidad. Se refrigeraron en contenedores y fueron transportados al laboratorio.

#### Muestras de sedimento.

Las muestras de sedimento se colectaron de los primeros 20 centímetros (donde la profundidad lo permitía) con un nucleador de polipropileno de 1 m de largo y 18 cm de diámetro. Las muestras se colocaron en tubos estériles de plástico de 50 ml con tapa de rosca y fueron refrigerados en contenedores. Tras la colecta se refrigeraron y transportaron al laboratorio.

#### Procesamiento de muestras.

Las tres muestras de agua por sitio se mezclaron y filtraron en su totalidad (o hasta que el filtro fue saturado) con una membrana de 0.45  $\mu\text{m}$ . Posteriormente los filtros se mantuvieron a  $-20^{\circ}\text{C}$  para realizar la extracción de ADN posteriormente.

#### Extracción

El ADN metagenómico de las muestras de agua y sedimento fueron extraídas siguiendo el procedimiento de lisis *in situ* y absorción sílice desarrollado por el Dr. Rafael Rojas Herrera (Rojas et al., 2008).

#### Visualización y cuantificación de ADN.

##### a) Gel de agarosa.

Se preparó un gel de agarosa al 1% para validar la presencia e integridad del ADN metagenómico.

##### b) Nanodrop.

Se siguió el protocolo del fabricante para obtener la concentración de las muestras y la relación 260/280. Para la lectura se emplearon 2 µl de cada una de las muestras.

Secuenciación Masiva.

La secuenciación se realizó en el Laboratorio Nacional de Genómica para la Biodiversidad (LANGEBIO). Se utilizó la plataforma de Secuenciación por Síntesis (SBS) con el equipo MiSeq de Illumina, se contrató el servicio de generación del amplicon 16S y sus respectivas bibliotecas, así como la corrida de la secuenciación en formato 2x300, se emplearon los siguientes primers: 357F 5'CTCCTACGGGAGGCAGCAG 3' CD (R) 5'CTTGTGCGGGCCCCGTCAATTC 3' Diseñados previamente para el uso con la plataforma de Illumina. Anexo del extremo 5' del primer Delantero: 5' TCG TCG GCA GCG TCA GAT GTG TAT AAG AGA CAG - (secuencia del locus específico) Anexo del extremo 5' del primer Reverso: 5' GTC TCG TGG GCT CGG AGA TGT GTA TAA GAG ACAG - (secuencia del locus específico). Los resultados de la secuenciación se entregaron en formato FASTQ.

Las secuencias fueron importadas al software OneCodex, donde se realizó la asignación de secuencias para la identificación de organismos por muestra.

Variables Ambientales

Se analizaron las variables ambientales con el software R, posteriormente con el programa Primer6 (versión 6.1.14) se realizó un análisis de componentes principales para agrupar los sitios de muestreo con características similares y un clúster jerárquico para complementar el análisis. Las variables fueron transformadas por raíz cuadrada y normalizadas por distancia euclidiana.

Análisis de datos taxonómicos.

Las bases de datos de cada sitio se agruparon mediante el uso del software R, se realizaron representaciones gráficas de los organismos con mayor número de lecturas a nivel de género y de especie. Posteriormente, con base en las agrupaciones creadas por el clúster y el análisis de componentes principales se exhibieron con representaciones gráficas los organismos con mayor número de lecturas por grupo y se realizó una descripción funcional de aquellas con potencial biotecnológico.

## Resultados.

### Análisis de datos.

Uniendo todas las bases que contenían las secuencias de cada sitio se obtuvieron 6' 453, 402 lecturas, pertenecientes a 595 géneros y a su vez a 3, 057 especies distintas. Las variables ambientales fueron representadas gráficamente mediante un diagrama de caja generado en R.

Con la base de datos agrupada se seleccionaron los primeros 10 géneros y primeras 10 especies, sin tomar en cuenta las repeticiones para explorar los datos y determinar las escalas de número de lecturas de los organismos dominantes en el ambiente, los resultados se muestran en las figuras 3 y 4.

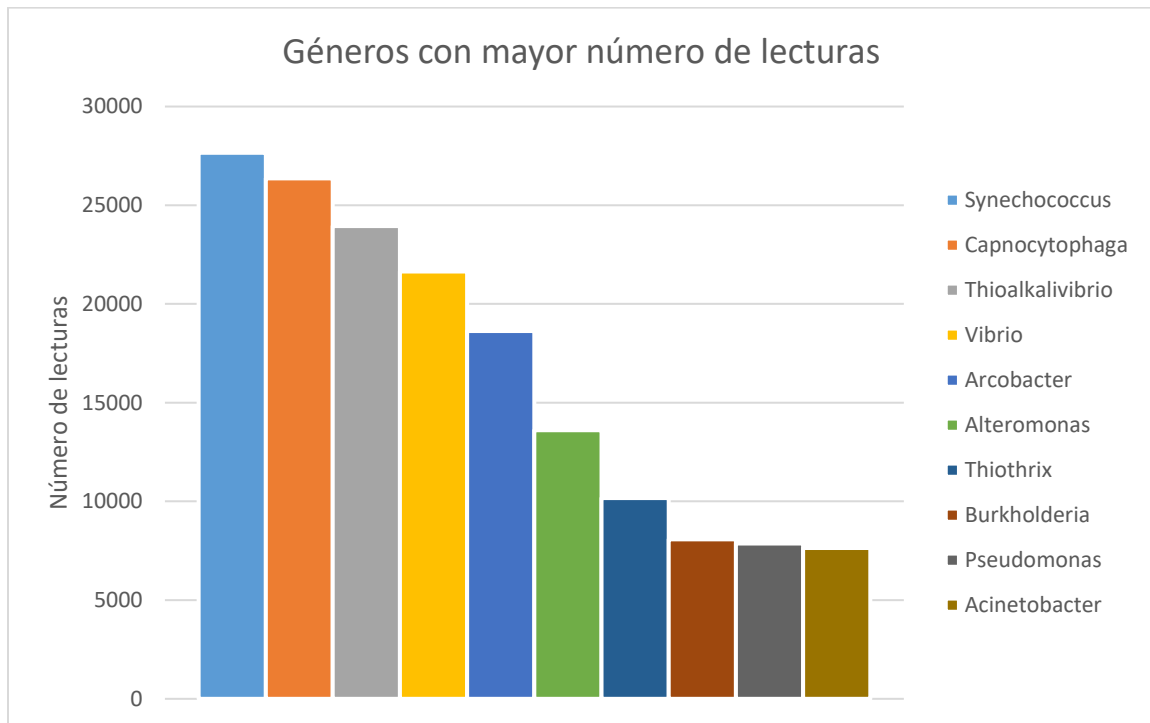


Figura 3. Se muestran los primeros 10 géneros (de 595), para esta gráfica no se utilizaron los géneros repetidos, se ha tomado en cuenta el sitio con el mayor número de lecturas. En conjunto conforman el 12.75 % del total.

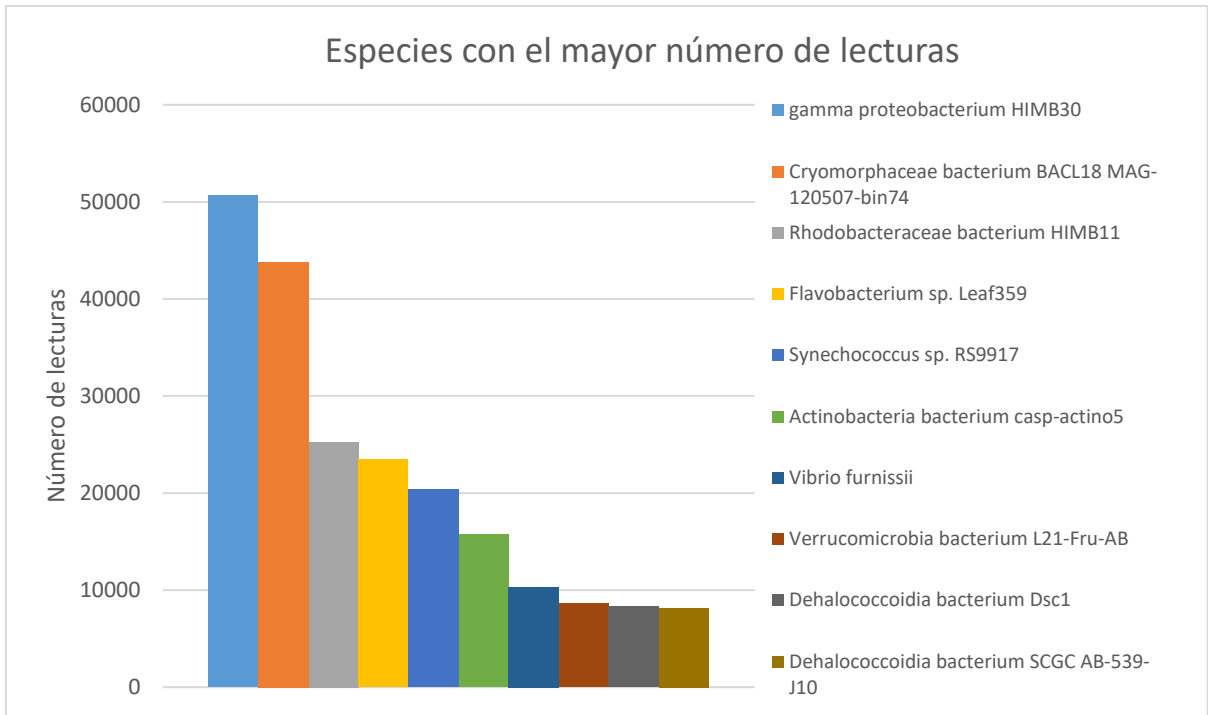


Figura 4. Se muestran las 10 especies con el mayor número de lecturas, aunque *gamma proteobacterium* HIMB30 se encuentra cinco veces entre los diez más abundantes, por ser sitios distintos se usó sólo la de mayor número de lecturas.

Se analizaron los datos de las variables ambientales en búsqueda de patrones que permitieran analizar la composición microbiana, se realizó un gráfico de cajas para exhibir su comportamiento (Figura 5).

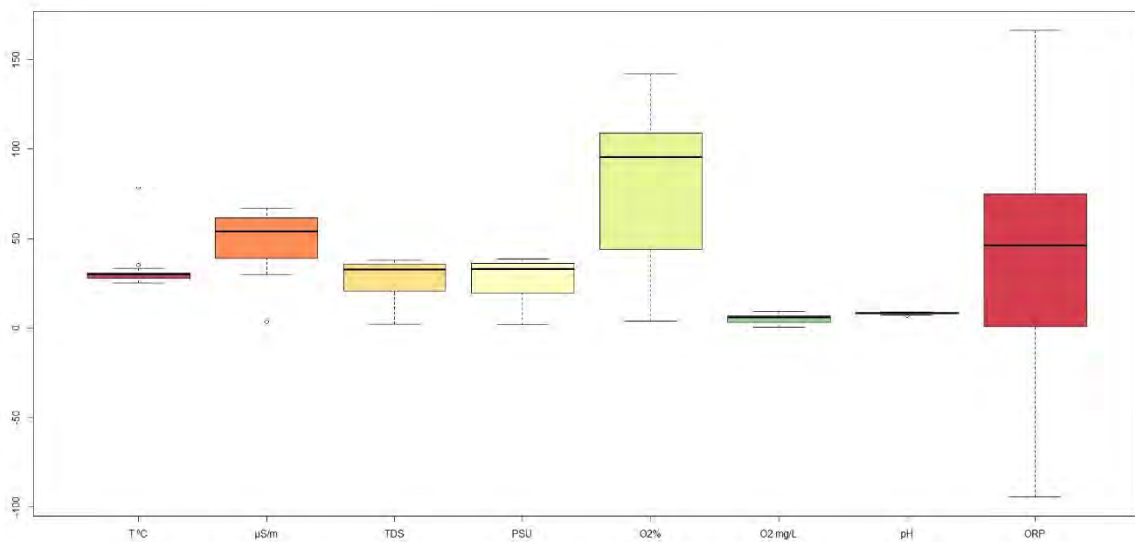


Figura 5. Boxplot de variables ambientales, tomadas en la columna de agua de cada sitio. El dato extremo de la temperatura es del sitio “Gasolinera”, pues la toma de muestra fue en la parte superficial de agua estancada y junto a un tubo de PVC negro de 1 pulgada donde T= Temperatura,  $\mu S/m$ =Conductividad micro siemens por metro, TDS=Sólidos Disueltos Totales, PSU= Unidades Prácticas de Salinidad, O<sub>2</sub>%=Concentración de oxígeno, O<sub>2</sub> mg/l= Oxígeno Disuelto y ORP= Potencial Redox. .

### Análisis de Componentes principales.

Se seleccionaron las variables: salinidad, concentración de oxígeno, pH y temperatura por no ser redundantes y se consiguió explicar el 63.1 % de la variación en el eje principal y el 25.8% en el segundo mostrados en la figura 6. El pretratamiento se basó en aplicarles raíz cuadrada y una posterior normalización de los datos.

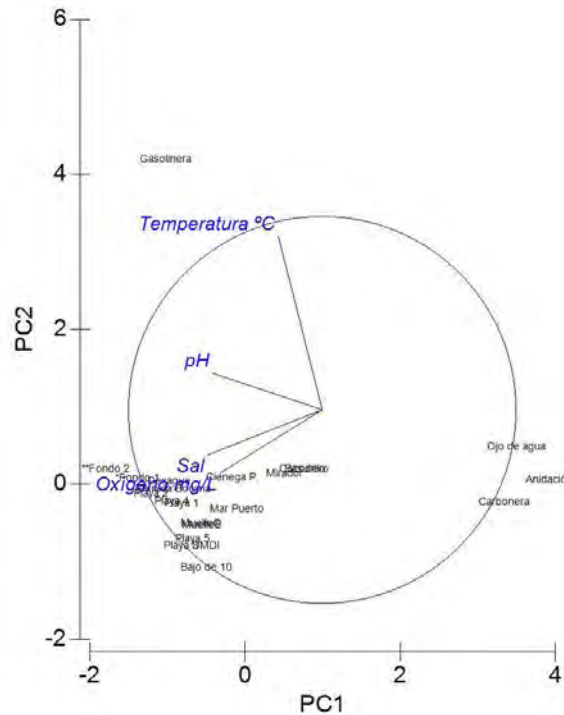


Figura 6. Análisis de componentes principales diferenciando con base en las variables ambientales los sitios de muestreo. El componente principal 1 (PC1) explica el 63.6% de la variación, el segundo explica (PC2) el 25.8%, creando un acumulado de 89.4%.

Los resultados crean una separación de al menos tres “grupos”, donde la salinidad parece ser la variable que agrupa a “Ojo de agua”, “Anidación” y “Carbonera” a la parte más positiva del componente principal uno, esto puede estar explicado por el aporte de agua

dulce de esta zona. Por otro lado el sitio “Gasolinera” está separado debido a la alta temperatura de la toma de la muestra.

Para complementar el PCA se realizó un análisis de clúster jerárquico (figura 7) en búsqueda de una división de grupos más estricta, estableciendo similitudes entre variables ambientales y por ende facilitando el procesamiento de la información.

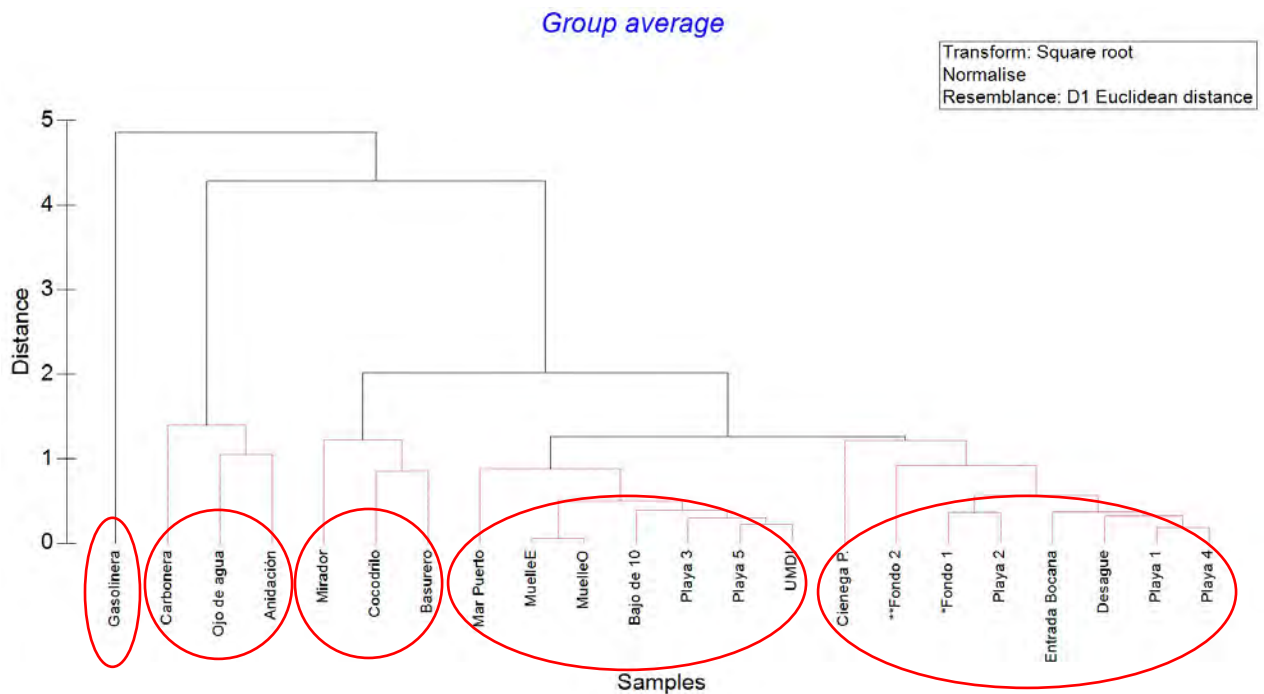


Figura 7. Clúster de análisis jerárquico mostrando cuatro grupos y el sitio “Gasolinera” apartado debido a la diferencia en la temperatura de la muestra.

El primer “grupo” está conformado por el punto “Gasolinera”, como el PCA había permitido observar, el segundo “grupo” se diferencia de los demás por el aporte de agua dulce y la reducción en el pH, el tercer grupo es diferenciado por una reducción en el oxígeno (y probablemente por la presencia de contaminantes), los últimos dos grupos tienen características muy similares, no obstante son diferenciados espacialmente (oeste y este, en ese orden).

Con base en estos grupos se decidió comparar la composición a nivel especie de los sitios diferenciando entre tipo de muestra, exceptuando el sitio “Gasolinera” donde se compararon agua contra sedimento. Adicionalmente dado el interés en la familia Geobacteraceae se buscó dentro en cada grupo en qué posición aparecía el miembro con mayor número de lecturas.

Para el grupo 1 compuesto por las muestras del sitio “Gasolinera” los resultados se muestran en la figura 8.

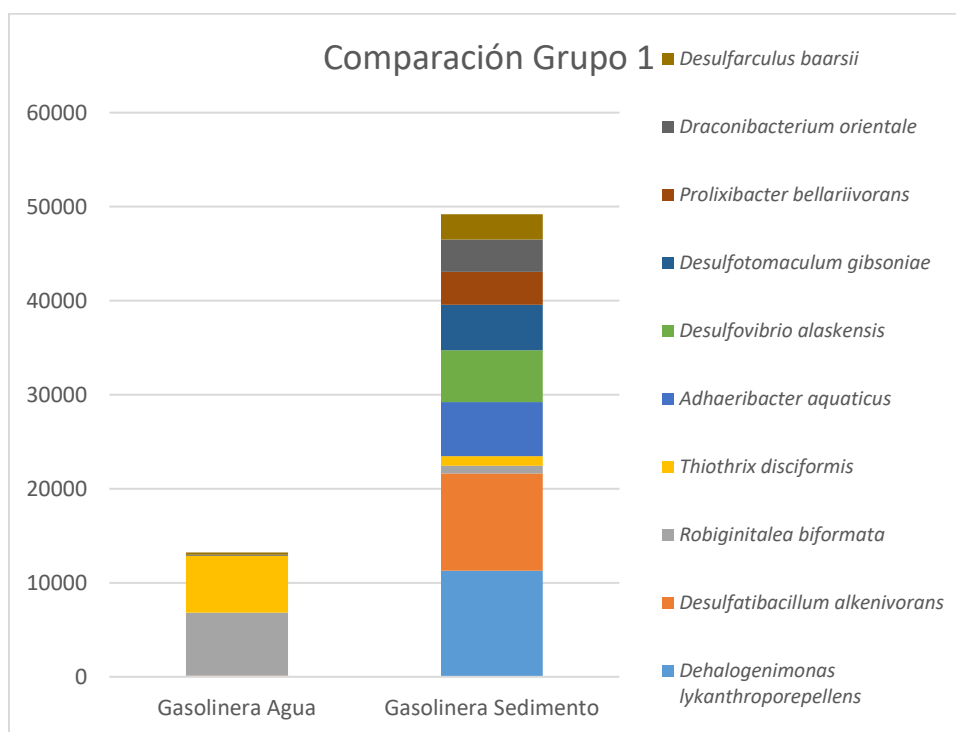


Figura 8. La gráfica muestra los primeros diez organismos con mayor número de lecturas presentes en las muestras de agua y sedimento del sitio “Gasolinera”. El número de lecturas totales para la muestra de agua fueron 63,363. Para la muestra de sedimento el número total de lecturas fueron 312,093 lecturas. La familia Geobacteraceae no se ve representada hasta la posición 31 en número de lecturas, con su mayor número en la muestra de sedimento (1,276).

El organismo con mayor número de lecturas es *Dehalogenimonas lykanthroporepellens* que es investigado por sus capacidades para degradar alcanos alifáticos policlorados mediante un proceso de dehalogenación reductiva encontrada en sedimento contaminado (Moe et al., 2009). *Desulfatibacillum alkenivorans* es una bacteria que ha sido encontrada en



sedimentos estuarinos contaminados por petróleo con capacidades biorremediativas (So y Young, 1999). En el caso de la muestra de agua el organismo con más lecturas *Robiginitalea biformata* es una bacteria quimiorófica común en agua marina (Cho y Giovannoni, 2004) capaz de producir pigmentos carotenoides y degradar almidón y esculina. El género *Thiothrix* es encontrado comúnmente en aguas con altos contenidos de azufre y en sistemas de tratamiento de aguas residuales (Garrity, 2005).

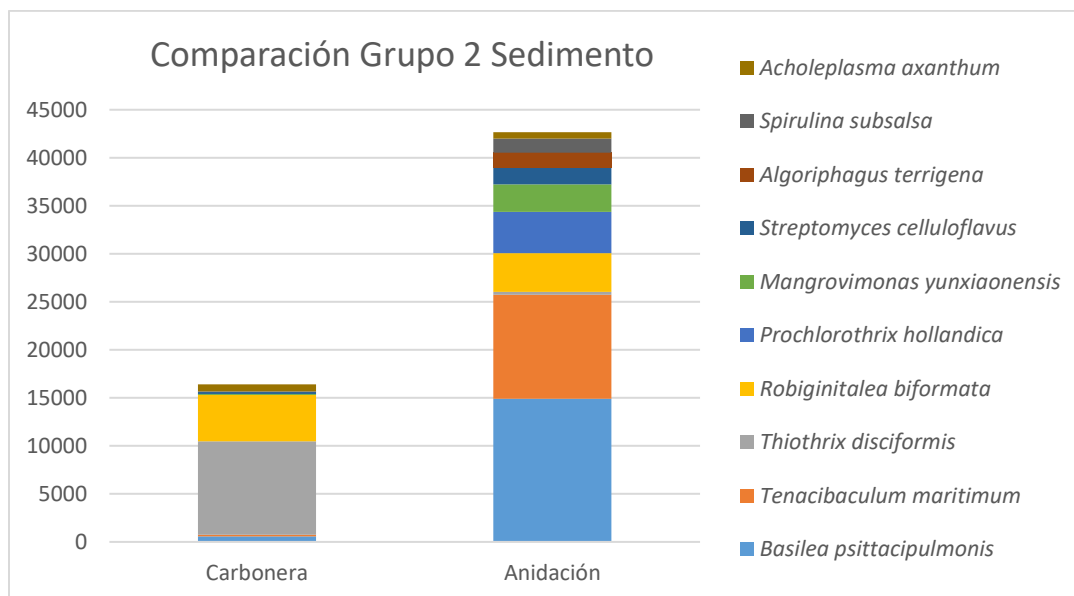


Figura 9. La gráfica exhibe la composición de las especies con mayor número de lecturas presentes en las muestras de sedimento de los sitios “La Carbonera” y “Anidación” comprendidos en el segundo grupo que estableció el clúster. El número de lecturas totales fue de 51, 813 para la muestra de “La Carbonera” y 147, 427 para “Anidación”. El miembro con más lecturas de la familia Geobacteraceae ocupa el lugar 77 con 176 lecturas para el sitio de “Anidación” y 35 para “La Carbonera”.

En esta comparación en sedimento (Figura 9) la presencia y alto número de lecturas de *Basilea psittacipulmonis* en el sitio “Anidación” corrobora la presencia de aves, pues esta bacteria ha sido aislada de pulmones de pericos como *Melopsittacus undulatus* (Whiteson et al., 2014). *Tenacibaculum maritimum* presente en ambas muestras es una bacteria patógena encontrada en peces muertos y causa síntomas de aletas dañadas, lesiones en la piel y palidez en los órganos internos. La bacteria puede residir en los riñones del pez, causando necrosis en casi todas las superficies del pez infectado (Avendaño-Herrera et al., 2006) la bacteria es de importancia porque amenaza las poblaciones de peces marinos con

valor comercial en diferentes áreas en el planeta (Piñeiro-Vidal et al., 2008). La especie con el mayor número de lecturas en el sitio “Carbonera” corresponde a *Thiothrix disciformis*, que podría indicar altas concentraciones de azufre (Garrity, 2005). *Robiginitalea biformata* se encuentra presente como en ambas muestras del sitio “Gasolinera”, productora de carotenoides y común en agua marina (Cho y Giovannoni, 2004), pero es en el sitio “Carbonera” donde presenta el mayor número de lecturas.

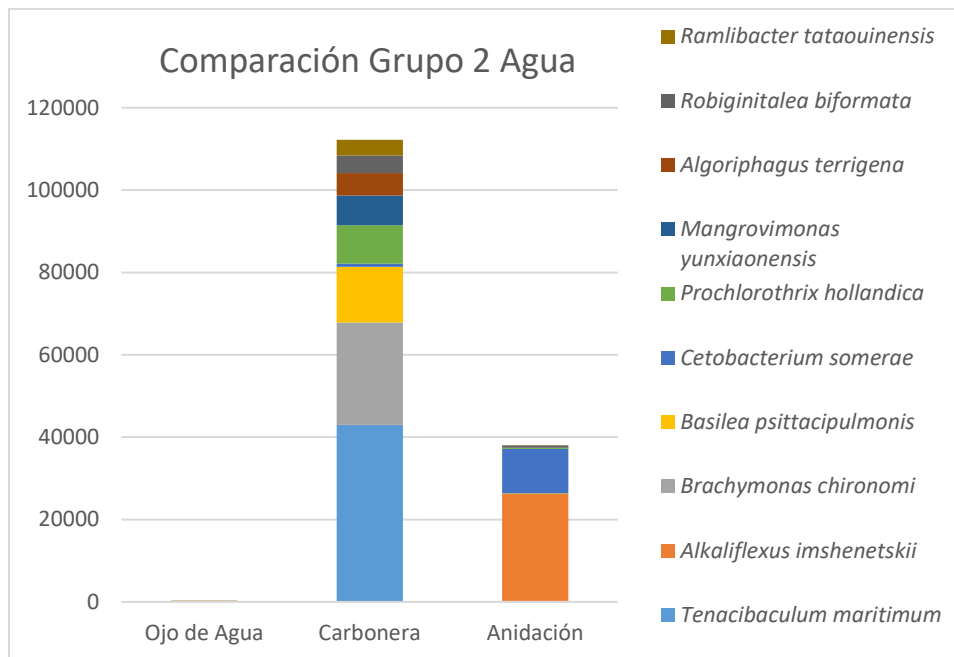


Figura 10. Se muestra la comparación entre las muestras de agua pertenecientes al segundo grupo identificado mediante el cluster. El número de lecturas totales por sitio son 9, 477 para “Ojo de Agua”, 289,921 para el sitio “Carbonera” y 250, 425 en el sitio “Anidación”. La familia Geobacteraceae es representada en la doceava posición con su mayor número de lecturas en el sitio “Anidación” con 2,295.

Al igual que en las muestras de sedimento *Tenacibaculum maritimum* es uno de los organismos con mayor número de lecturas en esta comparación (Figura 10), no obstante en estas muestras de agua el número de lecturas fue 4 veces mayor que en el sitio “Anidación”, la bacteria es un organismo patógeno que afecta a las poblaciones de peces. *Alkaliflexus imshenetskii* es una bacteria encontrada en cuerpos de agua alcalinos capaces de producir carotenoides rosados (Zhilina et al., 2004). En la muestra del ojo de agua la composición de especies se encontró dominada por *Ramlibacter tataounensis*, aislada por

primera vez de un fragmento de meteorito enterrado en las arenas de un desierto cercano a Tataouine, en Túnez (De Luca et al., 2011). *Robiginitalea biformata*, por otro lado es una bacteria productora de carotenoides sigue estando presente pero con un menor número de lecturas.

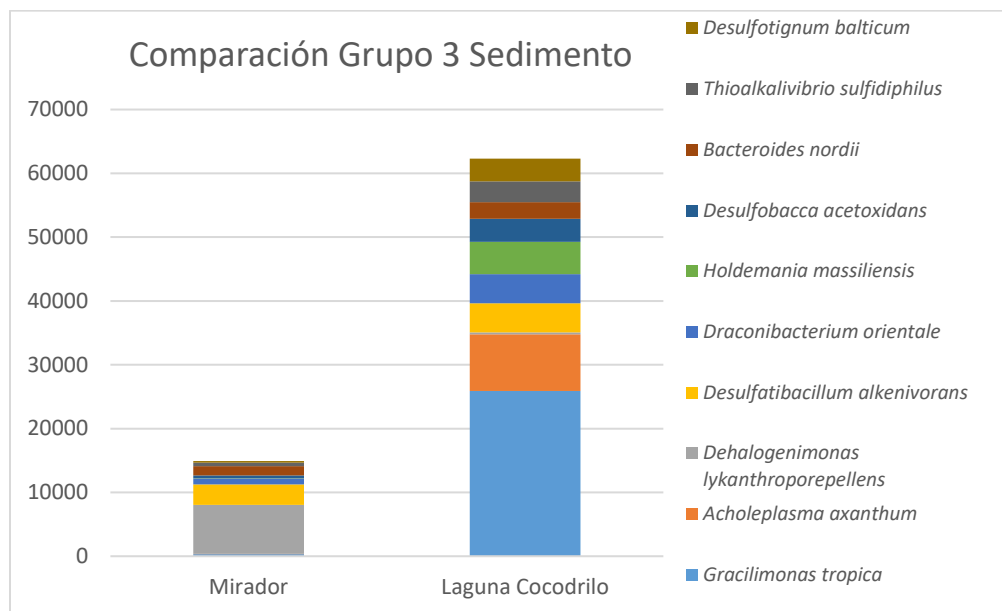


Figura 11. Comparación de las muestras de sedimento pertenecientes al tercer grupo establecido por el clúster. El número de lecturas totales para el sitio “Mirador” es de 157, 471, mientras que para “Laguna Cocodrilo” es de 352,586. Para este caso la familia Geobacteraceae se encuentra en la posición 56 con el mayor número de lecturas en la muestra del sitio “Mirador” con 629 y 399 para la “Laguna Cocodrilo”.

*Gracilimonas tropica*, el organismo con el mayor número de lecturas en esta comparación (Figura 11) es una bacteria marina común en el trópico, capaz de crecer en un rango de temperatura de 20-40°C a un pH de 6-10 y concentraciones salinas de 1-20%, puede utilizar aspartato, fructuosa y glucosa para crecer (Choi et al., 2009). *Acholeplasma axanthum* es una bacteria asociada a enfermedades respiratorias en animales, algunas plantas e insectos (Windsor et al., 2010) mientras que *Dehalogenimonas lykanthroporepellens* es el organismo con más lecturas en la muestra del sitio “Mirador”, presentando la misma tendencia que en la muestra de sedimento del sitio “Gasolinera”, común en sedimentos contaminados por petróleo.

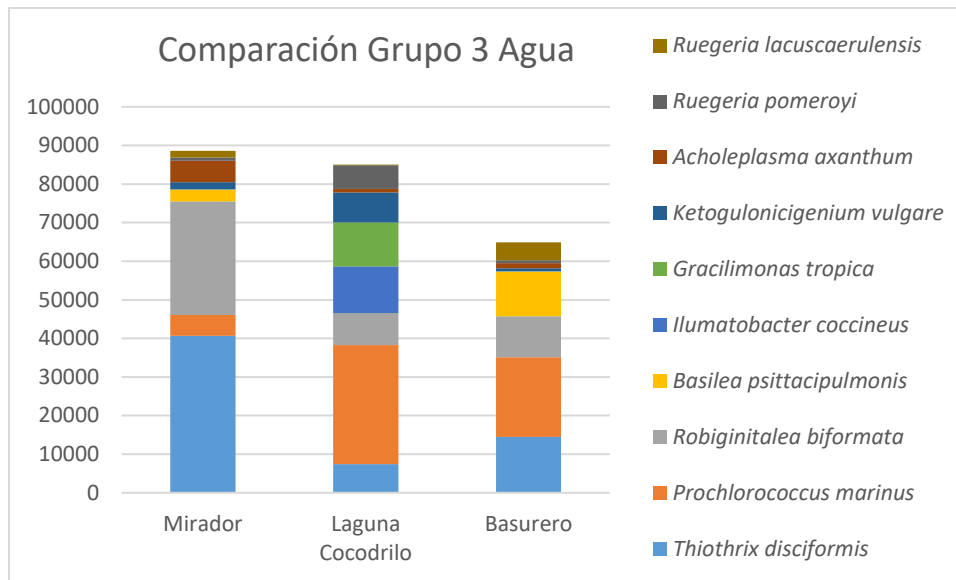


Figura 12. El gráfico muestra la comparación entre las muestras de agua pertenecientes al tercer grupo establecido mediante el clúster. El número de lecturas totales por sitio fue similar, con el orden del gráfico los números fueron: 272, 568; 277,512 y 252,244. La familia Geobacteraceae fue encontrada en la posición 108, el mayor número de lecturas fue encontrado en el sitio “Mirador” con 165, seguido por la “Laguna Cocodrilo” con 119 y 100 lecturas para el “Basurero”.

Al igual que en algunas de las muestras, en la comparación de la Figura 12 *Thiothrix disciformis* domina en número de lecturas es una bacteria capaz de oxidar azufre (Garrity, 2005). *Prochlorococcus marinus*, el segundo organismo con más lecturas, es una bacteria fotosintética que conforma el 60% de la clorofila en el océano en algunas regiones subtropicales del Pacífico (Rocap et al., 2000). *Robiginitalea biformata*, presente también en la muestra de agua del sitio “Gasolinera” como el organismo con mayor número de lecturas, en las muestras de sedimento de los sitios “Carbonera” y “Anidación” con alrededor de 5,000 lecturas y en las muestras de agua de los mismos sitios con una cantidad inferior, se trata de un organismo productor de carotenoides común en muestras marinas.

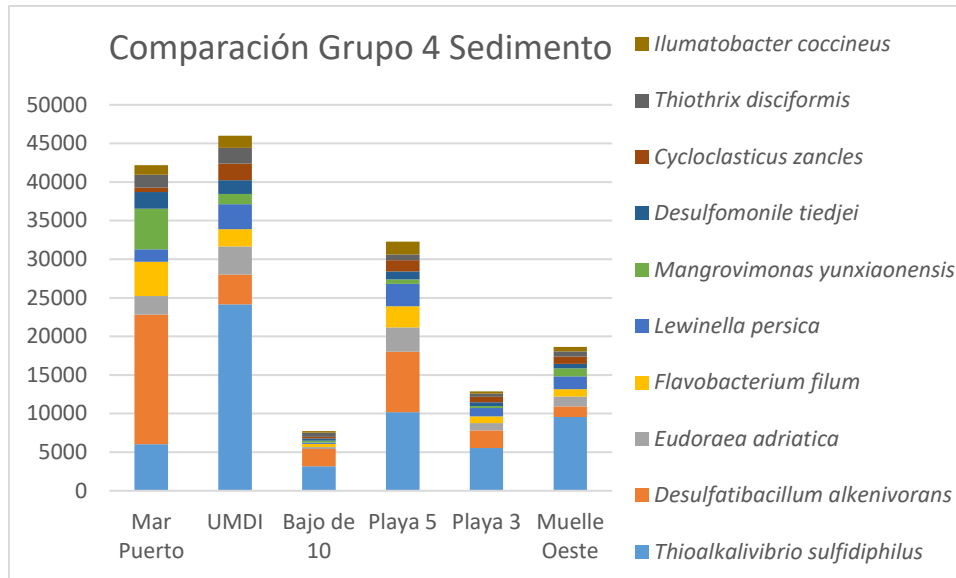


Figura 13. Se exhiben las muestras de sedimento correspondientes al grupo cuatro, El número de lecturas totales para el sitio “Mar Puerto” son 339,634; para el sitio “UMDI” fueron 262,798; en “Bajo de 10” fueron 60,492; “Playa 5” con 185,386; “Playa 3” con 75,597 y “Muelle Oeste” con 124,546. La familia Geobacteraceae se encuentra en la posición 77, con el mayor número de lecturas en la muestra de “Mar Puerto” (464).

*Thioalkalivibrio sulfidiphilus*, la bacteria con el mayor número de lecturas en el grupo cuatro (Figura 13) es un organismo capaz de oxidar azufre, con una distribución común en hábitats salinos y alcalinos (Sorokin et al., 2013). *Desulfatibacillum alkenivorans* es una bacteria que ha sido encontrada en sedimentos estuarinos contaminados por petróleo con capacidades biorremediativas (So y Young, 1999) presente en la muestra de sedimento del sitio “Gasolinera” con un número de lecturas similar al del sitio “Mar Puerto”.

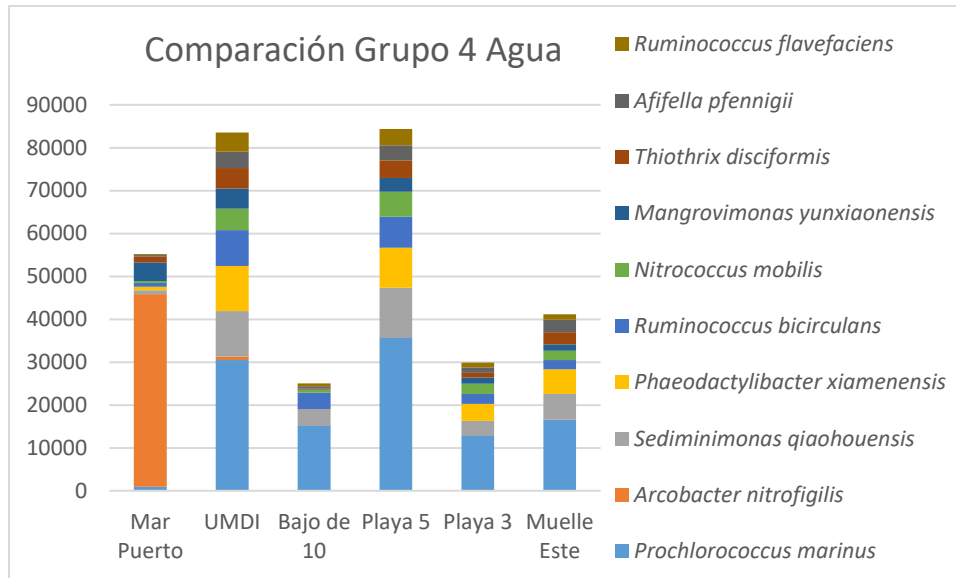


Figura 14. Se muestra la comparación entre las muestras de agua para el grupo cuatro. Por sitio, el número de lecturas totales son: 344,463 para “Mar Puerto”, 245,051 en el sitio “UMDI”, 74,524 para “Bajo de 10”, 189,781 en “Playa 5”, 73,488 para “Playa 3” y 103,156 en la muestra de “Muelle Este”. La familia Geobacteraceae aparece en la posición 94 con el mayor número de lecturas en la muestra del sitio “UMDI” con 336 lecturas.

*Prochlorococcus marinus* bacteria presente en el grupo tres de muestras de agua (Figura 14), el mayor número de lecturas se encontró en el sitio “Playa 5” con poco más de 30,000 lecturas, el organismo en cuestión es una bacteria fotosintética que conforma el 60% de la clorofila en el océano en algunas regiones subtropicales del Pacífico (Rocap et al., 2000). *Acrobacter nitrofigilis*, el segundo organismo con mayor número de lecturas fue descrito por primera vez en 1983 (Vandamme et al., 1991) con su detección como una especie fijadora de nitrógeno asociada a raíces (McClung et al., 1980), perteneciente a la familia *Campylobacteraceae* existe interés en el organismo por su estilo de vida simbiótico en ambientes marinos comparación a otros miembros del género *Acrobacter* que son patógenos asociados a animales de sangre caliente (Pati et al., 2010).

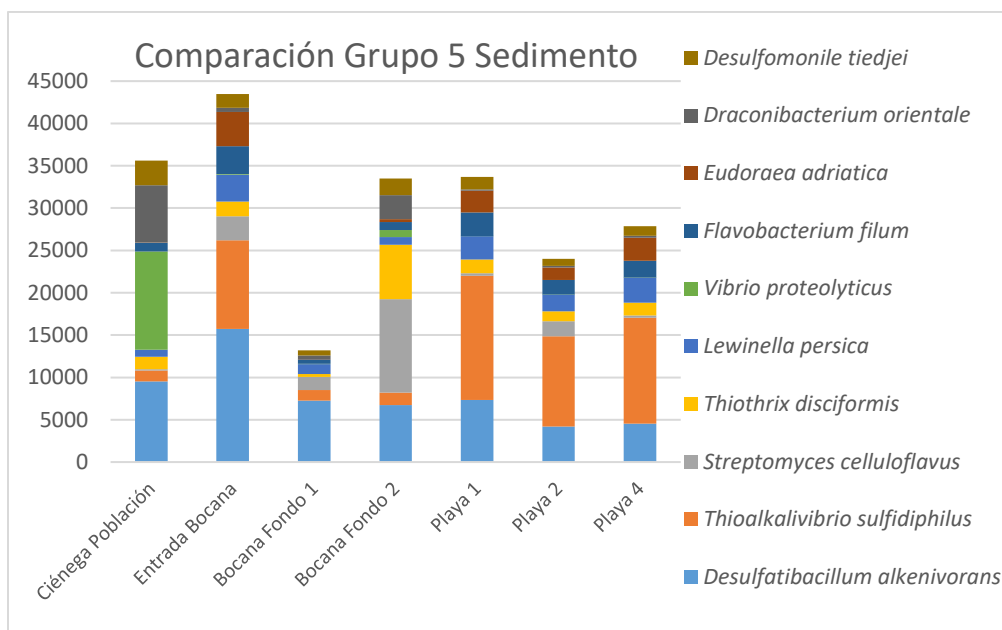


Figura 15. La gráfica muestra las especies con el mayor número de lecturas de las muestras de sedimento pertenecientes al grupo cinco. El número total de lecturas para el sitio “Ciénega Población” son 375,133; en “Entrada Bocana” 341,940, para la muestra de “Bocana Fondo 1” 167,725, para “Bocana Fondo 2” 392,152, “Playa 1” con 212,177, “Playa 2” con 143,002 y “Playa 4” con 177,124. La familia Geobacteraceae es representada en la posición 59, el sitio con el mayor número de lecturas (1,702) en “Bocana Fondo 2”.

El organismo *Desulfatibacillum alkenivorans* es una bacteria que ha sido encontrada en sedimento estuarino contaminado por petróleo con capacidades biorremediativas (So y Young, 1999) presente en la muestra de sedimento del sitio “Gasolinera” con un número de lecturas similar al del sitio “Mar Puerto” también en sedimento, para el grupo cinco (Figura 15) es la especie con el mayor número de lecturas, particularmente en el sitio “Entrada Bocana”. *Thioalkalivibrio sulfidiphilus* es una bacteria capaz de oxidar azufre, el segundo organismo con mayor número de lecturas, ha sido descrito como un espécimen con una distribución común en hábitats salinos y alcalinos (Sorokin et al., 2013). Dentro de las muestras de sedimento del grupo 4 también está presente, no obstante el mayor número de lecturas (en el sitio “Playa 1”) de este grupo representa poco menos de la mitad del sitio “UMDI”.

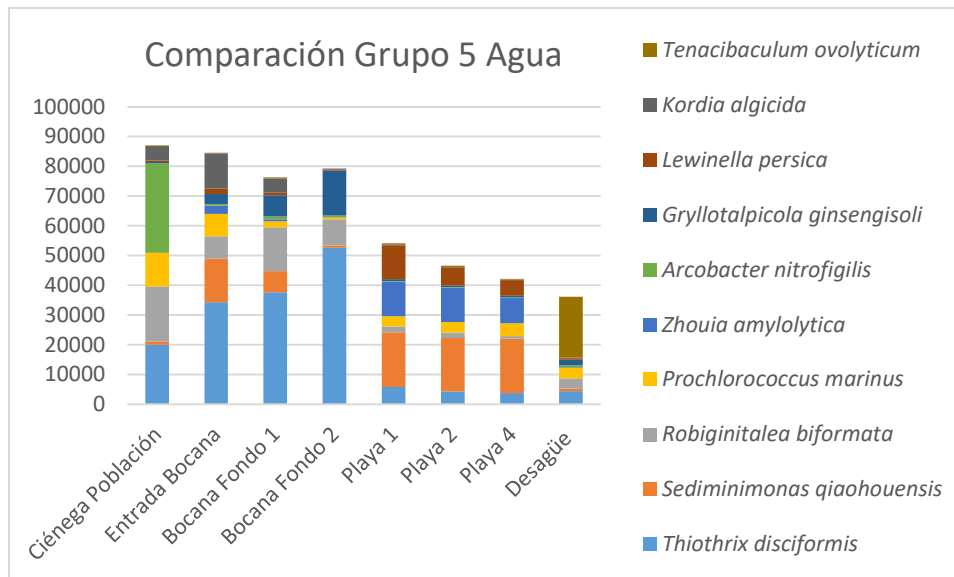


Figura 16. Se muestran las primeras diez especies con el mayor número de lecturas del grupo 5 de muestras de agua. El número total de lecturas por muestra son: 338,398 para “Ciénega Población”, 319,900 en “Entrada Bocana”, 275,241 para el sitio “Bocana Fondo 1”, 271,789 en “Bocana Fondo 2”, 299,026 en “Playa 1”, 250,646 en “Playa 2”, 169,145 para “Playa 4” y 190,456 en “Desagüe”. La familia Geobacteraceae se encuentra en la posición 85, con el mayor número de lecturas en “Playa 4” con 613.

*Thiothrix disciformis* presente en ambientes con altas concentraciones de azufre es el organismo con el mayor número de lecturas en las muestras de agua del grupo cinco (Figura 16), siendo el sitio “Bocana Fondo 2” el lugar con el mayor número de lecturas (52,648). *Sediminimonas qiahouensis* es un organismo extremófilo relacionado ambientes altamente salinos, aislada por primera vez en una mina de sal en el suroeste de China (Wang et al., 2009). *Robiginitalea biformata* bacteria común en ambientes marinos productora de carotenoides (Cho y Giovannoni, 2004) estuvo presente en la muestra de agua del sitio “Gasolinera” y en las muestras de sedimento de “Carbonera” y “Anidación” con un número de lecturas cercano a 5,000. Sin embargo en el sitio “Ciénega Población” el número de lecturas es tres veces mayor. Destaca *Tenacibaculum maritimum* presente en la muestra del “Desagüe”, es una bacteria patógena encontrada en peces muertos y causa síntomas de aletas dañadas, lesiones en la piel y palidez en los órganos internos. La bacteria puede residir en los riñones del pez, causando necrosis en casi todas las superficies del pez infectado (Avendaño-Herrera et al., 2006)



Descripción de los organismos de interés.

Familia Geobacteraceae.

Las problemáticas de contaminación de la zona encaminaron la revisión a organismos con capacidades biorremediativas, entre ellas destacó un organismo reportado con la capacidad de generar energía eléctrica, producto de la reducción de metales pesados (*Geobacter metallireducens*), se analizaron los árboles filogenéticos que OneCodex generó en busca del microorganismo y posteriormente de especies cercanamente relacionadas. A continuación se encuentra una breve descripción de cada una de las siete especies de la familia Geobacteraceae que son del interés del presente trabajo y que se encontraron presentes en las muestras ambientales analizadas en esta investigación.

*Geoalkalibacter subterraneus*

Bacteria estrictamente anaeróbica capaz de reducir Fe (III), Mn (IV), nitratos, sulfuro elemental y N-óxido de trimetilamina en presencia de un amplio rango de donadores de electrones, incluyendo una amplia variedad de ácidos orgánicos, alcoholes, extractos biológicos e hidrógeno. Capaz de crecer por rutas fermentativas, crece óptimamente a temperaturas de alrededor de 40°C (30-50°C) a un pH de 7 (6-9) con un 2% (w/v) NaCl (0.1-10%w/v). Los análisis filogenéticos han mostrado que forma parte del orden Desulfuromonadales dentro de la clase Deltaproteobacteria y está cercanamente relacionada con *Geoalkalibacter ferrihydriticus* Z-0531(T) (95.8%), *Desulfuromonas palmitatis* SDBY1(T) (92.5%) y con *Desulfuromonas michiganensis* BB1 (92.4%) (Greene et al., 2009).

*Geobacter sp. OR-1:*

Bacteria comúnmente encontrada en sedimento, cercanamente relacionada con *Geobacter pelophilus*, cuenta con la capacidad de utilizar Fe (III) soluble, ferrihidrita, nitrato y fumarato como aceptores de electrones. Se cree que esta bacteria puede catalizar soluciones de arsénico a partir de ferrihidritas con arsenato adsorbido. Con este descubrimiento se ha hipotetizado que esta especie (y aquellas cercanamente relacionadas) juegan un rol

importante en la liberación de arsénico (As (III) (arsenita)) de sedimentos anóxicos (Ohtsuka et al., 2013).

*Geobacter sp. M18.*

Se trata de una especie del género *Geobacter*, una bacteria anaeróbica litótrofa con la capacidad de reducir hierro. Se cree que al igual que otras especies del mismo género puede ser utilizada en la producción de electricidad a partir de residuos de materia orgánica (Lucas et al., 2018).

*Geobacter soli.*

Aislada por primera vez en el suelo de un bosque en Japón durante el 2014, se utilizó acetato como donador y ferrihidrita como aceptor de electrones. Se trata de un organismo estrictamente anaeróbico, crece óptimamente a 30°C, además de crecer con ferrihidrita, puede utilizar Fe (III), MN (IV), sulfuro y nitrato. Como donadores de electrones puede utilizar acetato, etanol, glucosa, lactato, ácido butírico y piruvato, entre otros. Los análisis filogenéticos han mostrado que está cercanamente relacionado con *Geobacter sulfurreducens* (98.3% de similaridad) (Zhou et al., 2014).

*Geobacter pickeringii.*

El crecimiento óptimo ocurre a un pH de 6.6-7.2, siendo más eficiente a 30°C. Como aceptores de electrones es capaz de utilizar Fe (III), azufre elemental, furamato y melato, entre otros. Puede reducir U(IV) en suspensión. Oxida metanol, etanol, butanol, glicerol, acetato, lactato y piruvato, entre otros. Su primer aislamiento fue realizado de sedimento rico en caolinita en Georgia, en Estados Unidos (Shelobolina et al., 2007).

*Geobacter metallireducens.*

Bacteria anaerobia con flagelos, fue aislada por primera vez de sedimento de agua dulce, es capaz de ganar energía a través de la reducción de hierro, manganeso, uranio y algunos otros metales. Este organismo fue el primer organismo descubierto capaz de oxidar compuestos orgánicos a dióxido de carbono con óxido de hierro como aceptor de electrones. También juega un papel importante en el ciclado de carbono y nutrientes, tiene

usos potenciales en la biorremediación pues es capaz de metabolizar contaminantes a compuestos inofensivos (Lovley & Phillips, 1988).

#### *Geobacter sulfurreducens.*

Proteobacteria mesófila presente en la biota de sedimentos anaerobios es capaz de oxidar distintos compuestos orgánicos, capaz de reducir iones metálicos como el Fe (III). La cepa con las mayores capacidades (KN400) produce corrientes más altas en pilas microbianas, a la par de reducir óxidos de Fe (III) más rápido que la cepa salvaje. Esto se debe a la menor expresión de enzimas anapleróticas que conduce a una mayor proporción del sustrato oxidado para la respiración sin incremento en biomasa, lo que supone un estado energético distinto entre ambas cepas (Caccavo et al., 1994). Por otro lado esta cepa es capaz de mejorar la conductividad de los biofilms, con la mayor expresión del citocromo OMCS implicado en la transferencia extracelular de electrones (Bond & Lovley, 2003).

Relaciones entre variables ambientales y presencia de microorganismos.

Entre sitios el número de especies y géneros pertenecientes a la familia Geobacteraceae variaban drásticamente, se optó por unir todas las bases de datos mediante el programa R, se generaron gráficos para un mejor entendimiento sobre la distribución de las especies. Diferenciando entre muestras de agua y sedimento, y estableciendo una escala de tamaño para diferenciar entre número de lecturas como e muestra en la figura 17.

## Número de lecturas por sitio para cada especie de la familia Geobacteraceae

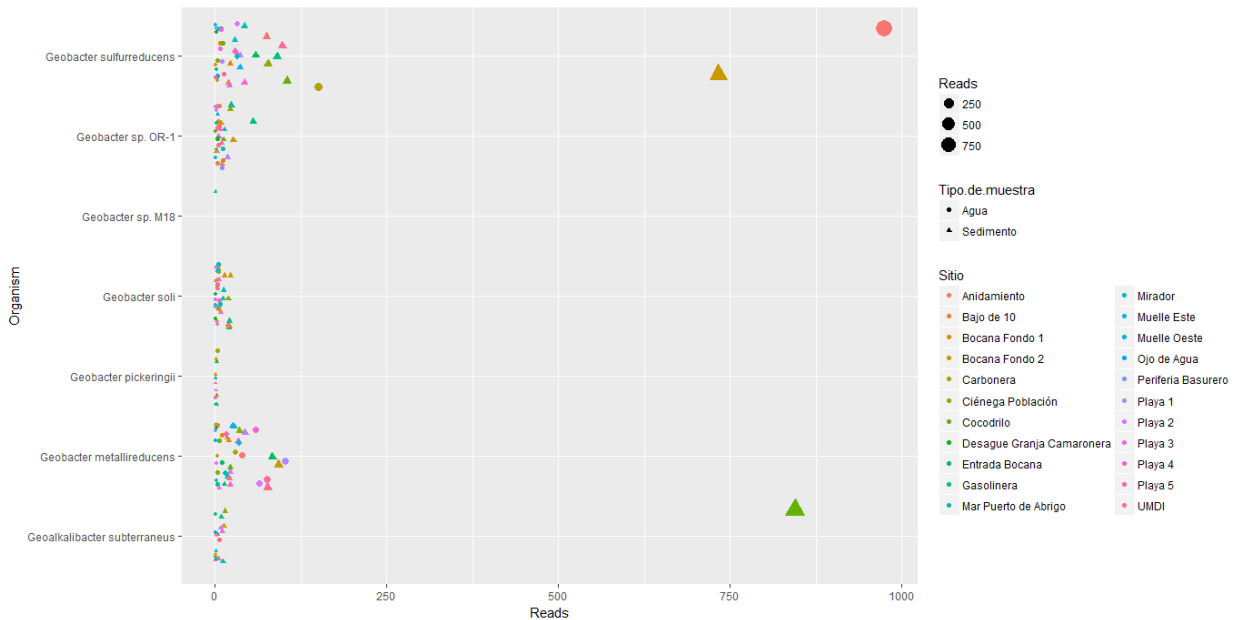


Figura 17. La gráfica muestra todas las especies del género Geobacteraceae en el “eje y”, se diferencia por color a los veintidós sitios, algunos de ellos cuentan con muestras de agua y sedimento (diferenciadas por triángulos y círculos). Las muestras con el mayor número de lecturas corresponden a la muestra de agua de la zona de “Anidamiento” (975 *Geobacter sulfurreducens*) y las muestras de sedimento de la “Laguna Cocodrilo” (845 *Geoalkalibacter subterraneus*) y del sitio “Bocana Fondo 2” (733 *Geobacter sulfurreducens*).

Esto permite observar que si bien se encuentran presentes en todos los sitios en ciertas concentraciones, existen condiciones que permiten a los organismos proliferar ampliamente, hasta 1,000 veces más en algunos casos.

Diferenciando entre tipos de muestra se desarrollaron dos gráficas de cajas para analizar la variación entre el número de lecturas “común” dentro de cada especie en cada tipo de ambiente con siete especies en las muestras de sedimento (Figura 18) y seis especies en las de agua (Figura 19).

### Especies de la Familia Geobacteraceae en Sedimento

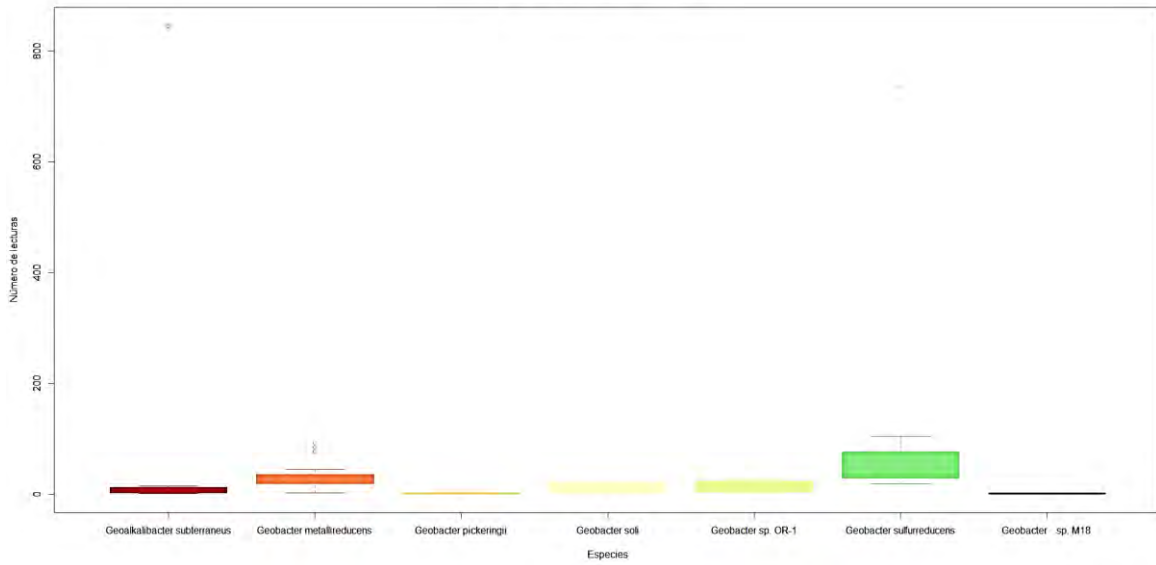


Figura 18. El diagrama de caja muestra que aunque *Geobacter metallireducens* y *Geobacter sulfurreducens* tienen números de lecturas más variables entre muestras (con respecto a las otras especies) aún existen tres casos de lecturas fuera de lo común para este estudio en lo que concierne a *Geobacter metallireducens*.

Siendo solo un caso para *Geobacter sulfurreducens* y *Geobacter sp. OR-1*.

### Especies de la Familia Geobacteraceae en Agua

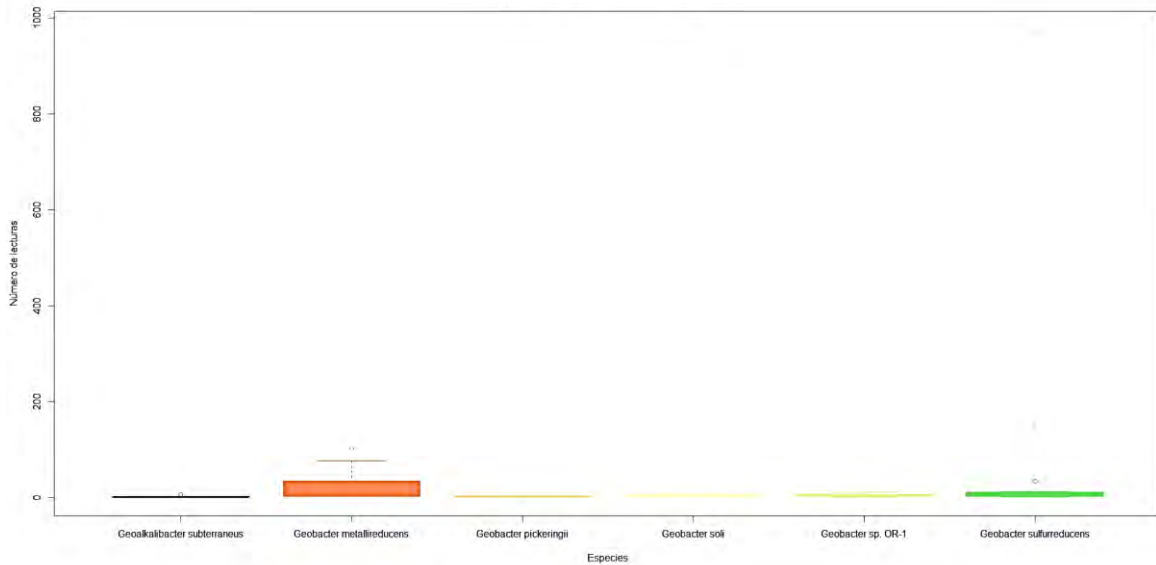


Figura 19. El diagrama muestra un número de lecturas promedio menor al de las muestras de sedimento, presenta datos extremos en la mitad de las especies. Sobresale el dato de *Geobacter sulfurreducens* con cerca de mil lecturas, que aparenta ser un caso extraño en comparación al número de lecturas promedio, inclusive agrupando los dos tipos de muestra.

Complementario al análisis de gráficas de caa se crearon gráficos de pastel que indican en cuantos sitios se encuentra cada una de las especies por tipo de muestra. En la Figura 20 se muestra que tres especies del género *Geobacter* (*metallireducens*, *soli* y *sp. OR-1*) se encuentran en todas las muestras de sedimento, a su vez, en las muestras de agua solo *Geobacter metallireducens* y *Geobacter sulfurreducens* están en todas las muestras de agua (Figura 21).

### Representatividad de Especies en muestras de Sedimento

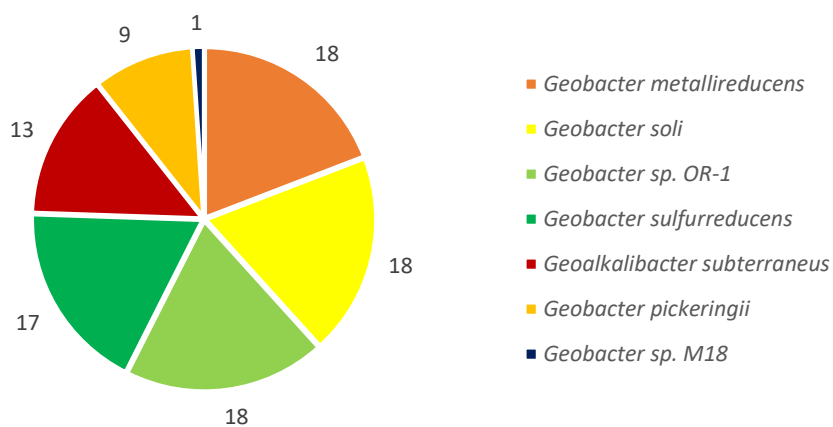


Figura 20. Con 3, 525 lecturas y un total de 18 sitios la gráfica muestra que la presencia de las cuatro primeras especies es común, pudiendo ser estas las especies que deberían intentar aislarse o analizar su desempeño como consorcio.

## Representatividad de Especies en muestras de Agua

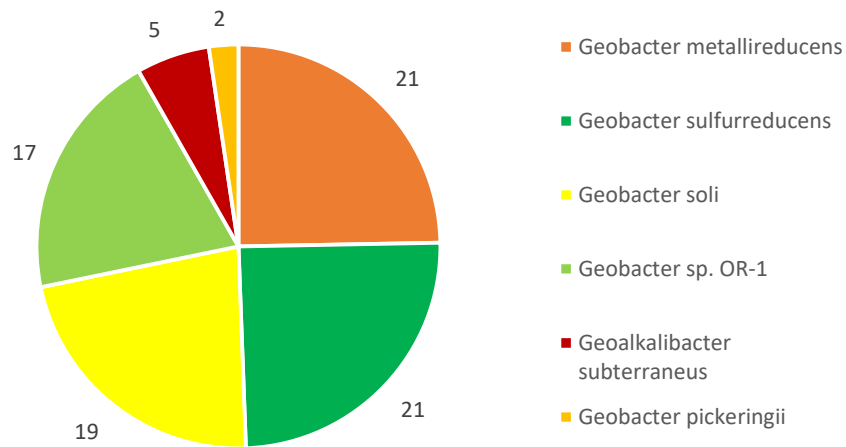


Figura 21. Con 1,972 lecturas en un total de 21 sitios es notorio que los microorganismos tienen mayor afinidad por el sedimento. La composición de especies dominantes se mantiene de forma similar a las muestras de sedimento.

Para entender mejor la forma en la que las especies de la familia Geobacteraceae varían por sitio y distinguiendo entre los tipos de muestras se generaron dos mapas con graficas de pastel por sitio (sedimento-Figura22 y agua-Figura 23). Es importante destacar que se hicieron basados en las proporciones que el número de lecturas por especie representan del total de cada sitio.

## Mapa muestras de sedimento.

### Especies de la Familia Geobacteraceae en Sedimento

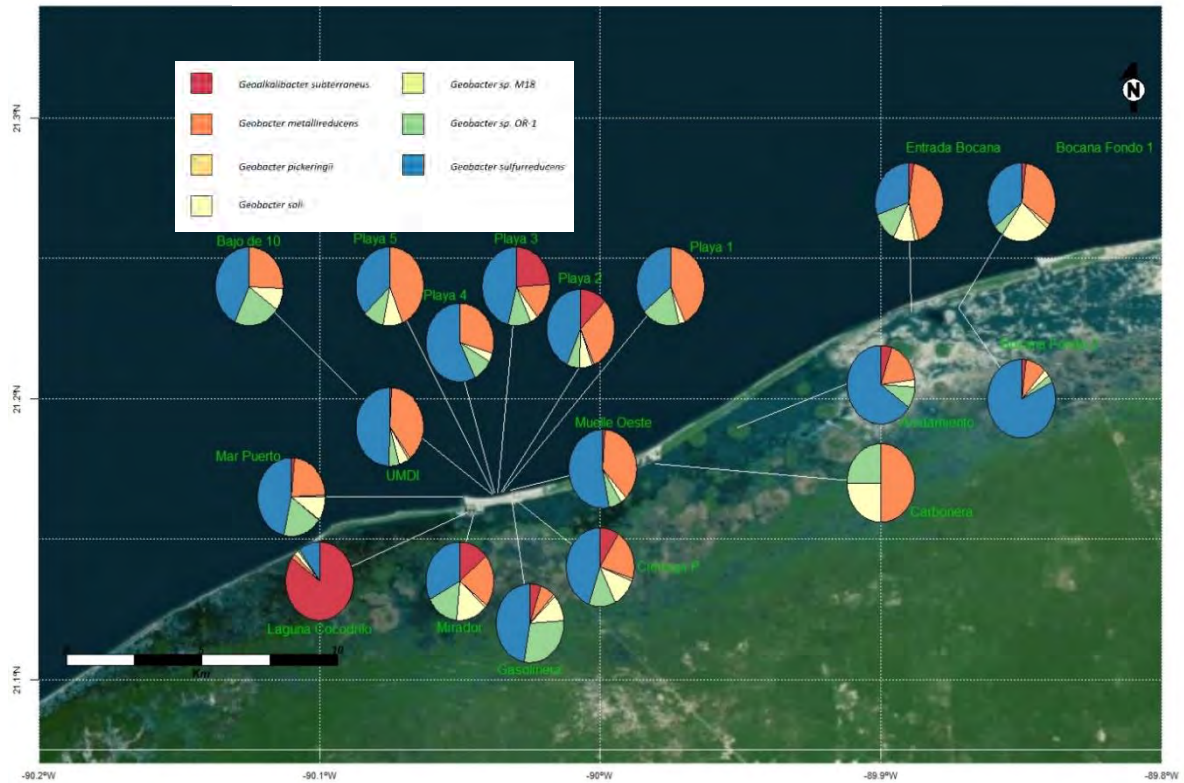


Figura 22. Se muestran 18 puntos correspondientes a muestras de sedimento, se nota una dominancia aparente por *Geobacter sulfurreducens*, sin embargo la variación es alta aún en lugares contiguos, que puede ser atribuida a las condiciones ambientales, presencia de algún contaminante o relaciones interespecíficas, el sitio Laguna Cocodrilo destaca por un cambio considerable en cuanto a composición de especies siendo dominado por *Geoalkalibacter subterraneus*.

Debido a que se desconoce si las proporciones se mantienen a escalas de muestreo mayores a 3 L, se adjunta un fragmento de la tablas (Tabla 2 y 3) de muestras de sedimento y agua donde una especie representa el 50% o más del total de la familia Geobacteraceae por sitio.



Especie	Lecturas	Proporción	Sitio
<i>Geoalkalibacter subterraneus</i>	845	0.84	Laguna Cocodrilo
<i>Geobacter sulfurreducens</i>	733	0.82	Bocana Fondo 2
<i>Geobacter sulfurreducens</i>	76	0.65	Anidamiento
<i>Geobacter sulfurreducens</i>	43	0.57	Playa 4
<i>Geobacter sulfurreducens</i>	37	0.53	Muelle Oeste
<i>Geobacter sulfurreducens</i>	98	0.5	UMDI
<i>Geobacter metallireducens</i>	2	0.5	Carbonera

Tabla 2. La tabla muestra que a pesar de que en algunos sitios la composición está dominada por una especie en más del 50% es relativo al total de lecturas por sitio. El ejemplo es claro en el sitio de la Laguna Cocodrilo, donde domina *Geoalkalibacter subterraneus* (84% correspondiente a 845 lecturas) en un arreglo de 5 especies con un total de 1,006 lecturas. Mientras que *Geobacter metallireducens* domina el 50% de la muestra del sitio La Carbonera, compuesto por 3 especies que en conjunto suman 4 lecturas.

## Muestras de agua

### Especies de la Familia Geobacteraceae en Agua

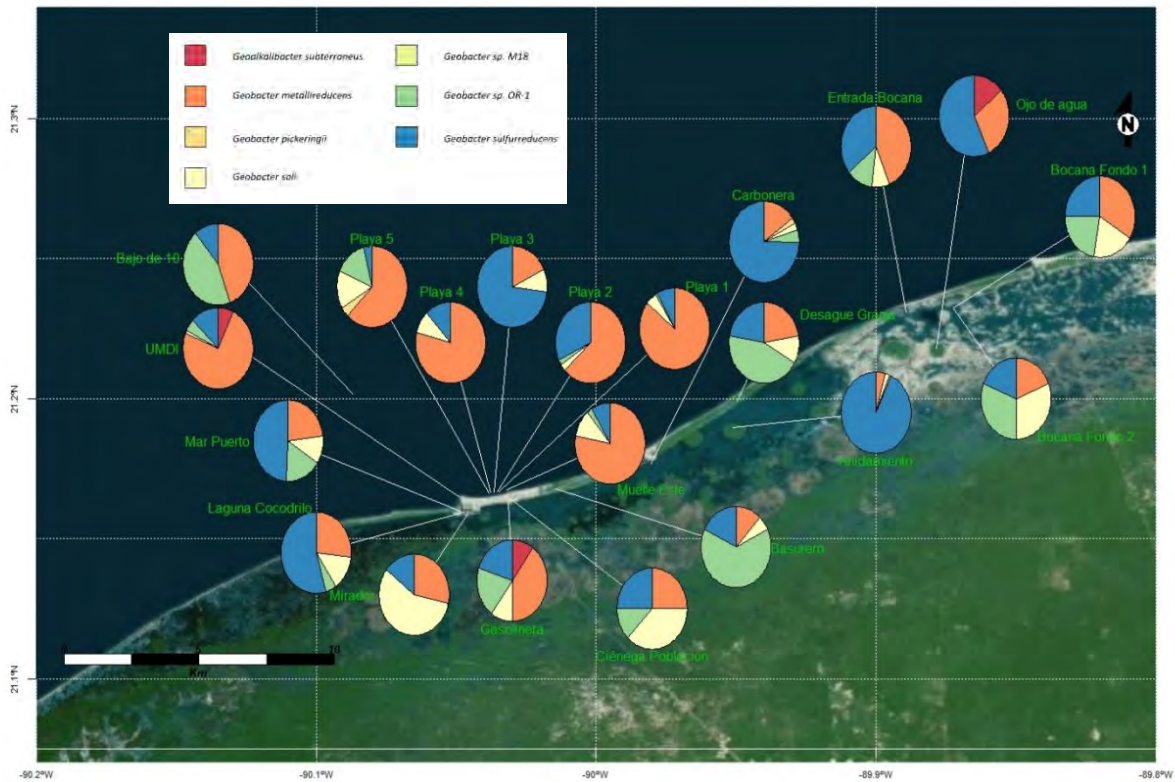


Figura 23. Se muestran los gráficos de los 21 sitios correspondientes a muestras de agua, la mayoría de los sitios presentan dominancia de *Geobacter metallireducens*, en contraste los sitios de Anidamiento, y Playa 1 muestran dominancia de una especie distinta, *Geobacter sulfurreducens*.

Especie	Lecturas	Proporción	Sitio
<i>Geobacter sulfurreducens</i>	975	0.93	Anidamiento
<i>Geobacter metallireducens</i>	103	0.86	Playa 1
<i>Geobacter metallireducens</i>	60	0.79	Playa 4
<i>Geobacter metallireducens</i>	35	0.78	Muelle Este
<i>Geobacter metallireducens</i>	77	0.75	UMDI
<i>Geobacter sulfurreducens</i>	151	0.74	Carbonera
<i>Geobacter sulfurreducens</i>	8	0.73	Playa 3
<i>Geobacter sp. OR-1</i>	11	0.65	Basurero
<i>Geobacter metallireducens</i>	65	0.63	Playa 2

<i>Geobacter metallireducens</i>	17	0.63	Playa 5
<i>Geobacter sulfurreducens</i>	4	0.57	Ojo de Agua
<i>Geobactr soli</i>	4	0.57	Mirador
<i>Geobacter sulfurreducens</i>	12	0.55	Laguna Cocodrilo

Tabla 3. Muestra que existe una dominancia por parte de *Geobacter sulfurreducens*, al igual que en las muestras de sedimento, sin embargo *Geobacter metallireducens* cobra protagonismo en sitios distribuidos a lo largo de la línea de costa en la playa. Por otro lado a diferencia de las muestras de sedimento la dominancia de una especie es más común en muestras de agua.

Sobresale el sitio de Anidamiento y la Carbonera, donde domina la especie *Geobacter sulfurreducens*, una especie de proteobacteria mesófila, común en suelos y sedimentos anaerobios, capaz de oxidar distintos compuestos orgánicos acoplados a la reducción de iones metálicos como el Fe (III) (Caccavo, et al., 1994).

Por otro lado en la zona suroeste del mapa, los sitios adyacentes de la Laguna Cocodrilo: el Mirador, la Gasolinera y la muestra de Ciénega Población presentan variaciones entre la composición de especies, es necesaria la toma de muestras y estudios para analizar metales pesados, pesticidas y demás variables explicativas.

#### Discusión.

Analizar bases de datos de metagenomas bacterianos de muestras ambientales abre una ventana de oportunidad para la identificación de organismos con capacidades reportadas en la literatura como organismos con aplicaciones biotecnológicas. Lo que entre otras ventajas permite buscar de manera dirigida, aislar o bien, identificar con sondas especie específicas el microorganismo en cuestión y poder hacer seguimiento en el tiempo.

Por otro lado la presencia de algunas de las bacterias con mayor número de lecturas y las actividades a las que están asociadas pueden establecer las bases para utilizarlos como bioindicadores. Si bien algunos de los organismos como *Gracilimonas tropica*, *Prochlorococcus marinus* son comunes en ambientes marinos, el cambio en la composición de especies en donde estos tienen el mayor número de lecturas podría indicar la modificación de las condiciones ambientales (Choi et al., 2009; Rocop et al., 2000).

En el caso de organismos como *Dehalogenimonas lykanthroporepellens*, *Desulfobacillum alkenivorans*, podrían ser indicadores de ambientes perturbados, pues han sido descritos como organismos presentes en sedimento contaminado y degradadores de hidrocarburos, lo que hace sentido al estar presentes en las muestras de sedimento de los sitios “Gasolinera”, “Mirador” y “Mar Puerto” dentro de los cinco organismos con mayor número de lecturas (Moe et al., 2009; So y Young, 1999).

*Robiginitalea biformata* y *Alkaliflexus imshenetskii* que son productoras de carotenoides podrían desempeñar un papel fundamental creando condiciones de mayor turbidez permitiendo la proliferación de otros microorganismos que requieren de ambientes menos incidencia de luz solar (Cho y Giovannoni, 2004; Zhilina et al., 2004).

*Thioalkalivibrio sulfidiphilus* y *Thiothrix disciformis* son organismos vinculados al ciclo del azufre, no es extraña su presencia pues en ambientes como las lagunas costeras donde las bacterias anaerobias pueden permanecer en el sedimento degradando materia orgánica, de igual forma un cambio en la composición de especies podría indicar problemáticas ambientales (Sorokin et al., 2013; Garrity, 2005).

En cuanto a organismos que podrían representar algún tipo de amenaza se encuentran *Vibrio proteolyticus* que es una bacteria citotóxica ha sido investigada para analizar su potencial patógeno en el ser humano, se han realizado pruebas con células HeLa. *Tenacibaculum maritimum* es una bacteria patógena para peces marinos que podría comprometer el stock pesquero, monitorear su comportamiento en la región podría permitir a los tomadores de decisiones establecer acciones para proteger los recursos pesqueros (Ray et al., 2016; Avendaño-Herrera et al., 2006).

*Basilea psittacipulmonis* es una bacteria que se ha aislado en aves, el hecho de que esté presente con un número de copias elevado dentro de las muestras del sitio “Anidación” y “Periferia Basurero” es lógico, pues el primer sitio es frecuentado por distintas especies para reproducirse mientras que en el segundo es común ver aves buscando alimento entre la basura (Whiteson et al., 2014).

*Ramlibacter tataounensis*, como se mencionó previamente en los resultados ha sido aislada previamente de un meteorito en Túnez, su presencia en los sitios “Anidación”, “Ojo de Agua” y “Carbonera” puede ser debido a que son afluentes de agua conectados a la red hidrológica subterránea de la península, la bacteria podría estar vinculada al meteorito que impactó en Chicxulub, sin embargo es necesario investigar más al respecto (De Luca et al., 2011).

Si bien en la actualidad las investigaciones alrededor de la familia Geobacteraceae giran en torno a hacer más eficiente su reproducción en laboratorio (Ueki et al., 2017) sigue siendo importante generar información sobre la composición de especies en zonas de interés, en la península de Yucatán han abordado el tema haciendo pruebas de conductividad eléctrica analizando a nivel de familias y géneros (González-Gamboa, 2013).

Analizar las comunidades bacterianas a nivel de especie permite dejar menos información a suposiciones. Aunque se trata de organismos que han sido estudiados mediante experimentación in situ y también mediante cultivos en laboratorio la información gira en torno a *Geobacter metallireducens* y *Geobacter sulfurreducens* (Ueki et al., 2017). En la mayoría de los trabajos se nombra a *Geobacter sulfurreducens* y a *Geobacter metallireducens* como los organismos más comunes en el sedimento, no obstante con los resultados de este trabajo demuestran que *Geobacter soli* y *Geobacter sp. OR-1* están presentes en la mayoría de los sitios muestreados.

La composición de especies se mantiene similar entre tipos de muestra, el número de lecturas es mayor en las muestras de sedimento, es muy probable que se deba a que estos organismos son más comunes en lodos (Holmes et al., 2017) y que aquellos encontrados en muestras de agua son debido a la capacidad de las bacterias a adherirse a las partículas en suspensión.

Las diferencias en composición entre sitios contiguos y entre el mismo sitio pero diferente tipo de muestra indican que las variables ambientales medidas para el presente trabajo no son las variables que rigen el arreglo de las especies analizadas. Esto hace sentido ya que

no se midieron concentraciones de contaminantes, que podrían explicar de mejor manera la presencia o dominancia.

Por ejemplo el dominio en la composición (845 lecturas representando el 84%) por *Geoalkalibacter sulfurreducens* en el sitio “Laguna Cocodrilo” en la muestra de sedimento podría indicar un tipo de contaminación particular, pues en ninguna otra muestra la especie domina.

Con las especies analizadas no es posible establecer relaciones a contaminantes o a la presencia del ser humano, sitios como el “Basurero”, el “Desague de la Granja Camaronera”, el “Mar del Puerto de Abrigo” y los sitios cercanos al poblado no muestran composiciones similares mediante este análisis, aunado a ello el número de lecturas fue mucho menor en comparación con sitios más alejados de la población.

Debe tenerse en cuenta que los organismos analizados son bacterias con altas capacidades adaptativas, capaces de crecer en rangos amplios de temperatura, salinidad y pH, siendo que algunas de ellas han sido cultivadas y se ha conseguido establecer las condiciones óptimas para su crecimiento.

Es necesario un enfoque multidisciplinario puesto que trabajos como este analizan e intuyen una parte de la realidad, entender el comportamiento de los microorganismos podría llevar a su implementación como bioindicadores, mientras que monitorear su distribución y abundancia podría derivar en estudios de asociación a problemáticas derivadas de la contaminación.

Limitantes en la escala.

Si bien la escala de las muestras podría parecer pequeña para asegurar que la composición de especies se mantiene, el estudio subestima el número de organismos presentes en el ambiente, pues la muestra que se colecta es de 3 L de agua y 50 g de sedimento (del que solo una porción mínima es usada para la extracción de ADN), por lo que extrapolarlo al área de aprovechamiento potencial supondría una abundancia de organismos incuantificable.

En la actualidad los avances tecnológicos permiten el mejoramiento de las capacidades de los microorganismos, a través de tecnología machine learning es posible editar SNP's buscando optimizar la cadena de ADN, aunque la mayoría de los cambios no representan una mejoría en el proceso que se busca mejorar, el proceso busca la perfección teórica, empresas como Agile BioFoundry aseguran que el 20% de los cambios mejoran su eficiencia.

Este tipo de modificaciones pueden terminar en el escalamiento industrial de este tipo de tecnologías que, implementadas a la par de materiales superconductores podrían significar el siguiente paso en la producción de energías limpias y la mitigación de contaminación o tratamiento de residuos.

#### Conclusiones.

Existe una gran diversidad taxonómica en el agua y sedimento de la zona costera del estado de Yucatán, las aplicaciones son múltiples y en lo que concierne al presente trabajo existe una ventana de oportunidad para crear consorcios bacterianos capaces de degradar contaminantes y generar electricidad.

No fue posible establecer una relación entre las variables ambientales con la composición de las especies analizadas, la presencia de las siete especies en las cuales se enfoca el trabajo puede estar determinada por la presencia de contaminantes, no medidos en el presente estudio.

Existe una gran cantidad de información y especies con potencial de explotación, las condiciones ambientales son propicias para el desarrollo de microorganismos especializados en la degradación de contaminantes. El trabajo genera información en el marco multidisciplinar brindando información de carácter biológico de la zona.

Existen siete especies de las cuales no todas han sido cultivadas previamente, el siguiente paso debe ser probar diferentes arreglos de consorcios en búsqueda de una mayor productividad eléctrica y comutualismo.

La presencia o ausencia de una o más de las especies en los diferentes sitios de muestreo no bastan para vincularlos a procesos de contaminación. No parece existir relación entre los sitios perturbados (e.g. basurero, gasolinera) y el número de lecturas o diversidad de

especies del género con las especies analizadas. Aunado a ello los microorganismos en general cuentan con una gran capacidad adaptativa frente a los cambios ambientales, permitiéndoles obtener energía a través de diversas fuentes, por ende la presencia de algún género reportado como degradador de un contaminante no necesariamente indica la existencia del contaminante.

#### Recomendaciones.

Para estudios posteriores se recomienda cuantificar concentraciones de contaminantes tales como metales pesados, pesticidas, hidrocarburos en agua y sedimentos de los sitios de colecta, y otros elementos como nutrientes, materia orgánica, humedad etc., para tener más elementos para correlacionar ambiente y tipo de microorganismos presentes.



## Bibliografía.

AGÜERO-TEARE, A. (2014). BIODIVERSIDAD, RECURSOS GENÉTICOS, CONSERVACIÓN, USO SUSTENTABLE, BIODIVERSIDAD AGRICOLA, ALIMENTACIÓN Y AGRICULTURA. RECURSOS GENÉTICO.

ALONSO, J. (1994). LOS MÉTODOS DE GOLGI. UNIVERSIDAD DE SLAMANCA, VOLUMEN 74. 230 PP.

ANDREWS, A., VAIL, G. 1990. CRONOLOGÍA DE SITIOS PREHISPÁNICOS COSTEROS DE LA PENÍNSULA DE YUCATÁN Y BELICE. BOLETÍN DE LA ESCUELA DE CIENCIAS ANTROPOLÓGICAS.18: 104 Y 105. 18-95.

ÁRCEGA, F. A. (2017). CONTAMINACIÓN HISTÓRICA POR HIDROCARBUROS EN EL PUERTO DE SISAL, YUCATÁN. EN L. N. COSTERA, CARACTERIZACIÓN MULTIDISCIPLINARIA DE LA ZONA COSTERA DE SISAL, YUCATÁN (PÁGS. 138-151). MÉRIDA, YUCATÁN: DANTE S.A. DE C. V.

ARTEAGA R., D. L. (2017). LEGISLACIÓN DE RECURSOS GENÉTICOS MICROBIANOS EN MÉXICO. EN M. & ARENA, MICROBIOLOGÍA AMBIENTAL EN MÉXICO (PÁGS. 18-30). MÉRIDA, YUCATÁN: CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA.

ASTUDILLO, G. (1995). LA PROTECCIÓN LEGAL DE LAS INVENCIONES. UNIVERSIDAD DE LOS ANDES.

ATLAS, R. Y BARTHA, R. (2001). ECOLOGÍA MICROBIANA Y MICROBIOLOGÍA AMBIENTAL. PEARSON EDUCACIÓN. 696 PP.

AVENDAÑO-HERRERA R., TORANZO A. Y MAGARIÑOS B. (2006) TENACIBACULOSIS INFECTION IN MARINE FISH CAUSED BY TENACIBACULUM MARITIMUM: A REVIEW 71: 255–266 DOI: 10.3354/DAO071255.

BAATH, E., FROSTEGARD, A., FRITZE, H., 1992. SOIL BACTERIAL BIOMASS, ACTIVITY, PHOSPHOLIPID FATTY ACID PATTERN, AND PH TOLERANCE IN AN AREA POLLUTED WITH ALKALINE DUST DEPOSITION. APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY 58, 4026–4031.

BARBOLLA, L. E. (2014). THE STUDY OF BIODIVERSITY IN THE ERA OF MASSIVE SEQUENCING. REVISTA MEXICANA DE BIODIVERSIDAD, 85, 1249-1264.

BAUMFORTH K.R., N. P. (1999). DEMYSTIFIED... THE POLYMERASE CHAIN REACTION. MOLECULAR PATHOLOGY, 52(1), 1.

BISSETT, A. B. (2006). BACTERIAL DIVERSITY IN ORGANICALLY ENRICHED FISH FARM SEDIMENTS. FEMS MICROBIOLOGY ECOLOGY, 48–56.

BONILLA-GÓMEZ JL, BADILLO M, LÓPEZ K, GALLARDO A, GALINDO C, ARCEO D, CHIAPPA-CARRARA X (2013) ENVIRONMENTAL INFLUENCES ON THE ABUNDANCE OF DOMINANT FISHES IN A VERY SHALLOW TROPICAL COASTAL LAGOON IN NORTHWESTERN YUCATAN PENINSULA, MEXICO. MARINE SCIENCE RESEARCH AND DEVELOPMENT 3(1): 2-12 [HTTP://DX.DOI.ORG/10.4172/2155-9910.1000118](http://dx.doi.org/10.4172/2155-9910.1000118).

BROCK, T. D. (1990). THE EMERGENCE OF BACTERIAL GENETICS. COLD SPRING HARBOR, NY: COLD SPRING HARBOR LABORATORY PRESS.

CLAROS, G. (2006). APROXIMACIÓN HISTÓRICA A LA BIOLOGÍA MOLECULAR A TRAVÉS DE SUS PROTAGONISTAS, LOS CONCEPTOS Y LA TERMINOLOGÍA FUNDAMENTAL. PANACE, 4(12), 168.

CERC, (2000). COASTAL ENGINEERING MANUAL. US ARMY CORPS OF ENGINEERS, VIRGINIA, MA.

CHO, J. Y GIOVANNONI, S. (2004). ROBIGINITALEA BIFORMATA GEN. NOV., SP. NOV., A NOVEL MARINE BACTERIUM IN THE FAMILY FLAVOBACTERIACEAE WITH A HIGHER G+C CONTENT. INTERNATIONAL JOURNAL OF SYSTEMATIC AND EVOLUTIONARY MICROBIOLOGY 54: 1101-1106, DOI: 10.1099/ijs.0.03023-0.

CHOI D, ZHANG G, NOH J, KIM W, CHO B. (2009) GRACILIMONAS TROPICA GEN. NOV., SP. NOV., ISOLATED FROM A SYNECHOCOCCUS CULTURE

INTERNATIONAL JOURNAL OF SYSTEMATIC AND EVOLUTIONARY MICROBIOLOGY 59(5):1167-1172  
DOI:10.1099/ijs.0.005512-0

COLLIER, J. (2016). CELL CYCLE CONTROL IN ALPHAPROTEOBACTERIA. CURRENT OPINION IN MICROBIOLOGY, 30, 107-113.

CONAGUA. (2012). SITUACIÓN DEL SUBSECTOR AGUA POTABLE, ALCANTARILLADO Y SANEAMIENTO. COMISIÓN NACIONAL DEL AGUA.

DE LUCA, G., BARAKAT, M., ORTET, P., FOCESATO, S., JOURLIN-CASTELLI, C., ANSALDI, M., ... HEULIN, T. (2011). THE CYST-DIVIDING BACTERIUM RAMLIBACTER TATAOUINENSIS TTB310 GENOME REVEALS A WELL-STOCKED TOOLBOX FOR ADAPTATION TO A DESERT ENVIRONMENT. PLOS ONE, 6(9), E23784. [HTTP://DOI.ORG/10.1371/JOURNAL.PONE.0023784](http://doi.org/10.1371/journal.pone.0023784)

DEBASMITA, N. &. (2013). OPTIMIZATION AND KINETICS STUDIES ON BIODEGRADATION OF ATRAZINE USING MIXED MICROORGANISMS. ALEXANDRIA ENGINEERING JOURNAL, 52: 499-505.

FAO. (2010). LA SITUACIÓN DE LOS RECURSOS ZOOGENÉTICOS MUNDIALES PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA. COMISIÓN DE RECURSOS GENÉTICOS PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA, [HTTP://WWW.FAO.ORG/DOCREP/012/A1250s/A1250s00.HTML](http://www.fao.org/docrep/012/A1250s/A1250s00.html).

FØYN, E. (1969). WASTE DISPOSAL AND POLLUTION IN COASTAL LAGOONS. EN A. A. PHLEGER, LAGUNAS COSTERAS, UN SIMPOSIO (PÁGS. 281-290). MÉXICO: UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.

GÁLVEZ, M. (2001). PROTOCOLO DE CARTAGENA UNA PERSPECTIVA MEXICANA. BIOTECNOLOGÍA, 6(2-3): 30-35.

GARCÍA-GUTIÉRREZ, C. Y.-M. (2012). PROBLEMÁTICA Y RIESGO AMBIENTAL POR EL USO DE PLAGUICIDAS EN SINALOA. RA XIMHAI, 8(3):1-10.

GARCÍA-LAZALDE V., MORALES ADAME D., RODRÍGUEZ-HERRERA R. Y AGUILAR-GONZÁLEZ C. (2011). IDENTIFICACIÓN MOLECULAR Y ESTUDIO FILOGENÉTICO DE MICROORGANISMOS BENÉFICOS (BACILLUS Y TRICHODERMA) EMPLEADOS EN LA AGRICULTURA. REVISTA CIENTÍFICA DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE COAHUILA. AÑO 3, NO. 5.

GARRITY, M. (2005). THE GAMMAPROTEOBACTERIA (SEGUNDA EDICIÓN). NUEVA YORK, NY: SPRINGER. PP. 131-142. ISBN 0387241442.

GARRITY, M. ET AL. (EDS.), BERGEY'S MANUAL OF SYSTEMATIC BACTERIOLOGY, 5 VOL., 2ND ED. (2001–12).

GONZÁLEZ-GAMBOA N. (2013). EVALUACIÓN DE SEDIMENTOS PROCEDENTES DE LA CIÉNAGA DE PUERTO PROGRESO Y PUERTO DE ABRIGO DE YUCALPETÉN EN CELDAS DE COMBUSTIBLE MICROBIANAS DE SEDIMENTOS. TESIS DE MAESTRÍA, CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA DE YUCATÁN, A.C., MÉRIDA, YUCATÁN. 96P.

GUILLÉN, L. (2017) DIVERSIDAD BACTERIANA PRESENTE EN EL SEDIMENTO SUPERFICIAL DE CUATRO ARRECIFES DE CORAL, UBICADOS SOBRE LA PLATAFORMA CONTINENTAL DE LA PENÍNSULA DE YUCATÁN-MÉXICO. TESIS DE MAESTRÍA, FACULTAD DE CIENCIAS, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO, MÉXICO, SISAL, YUCATÁN. 103 P.

HERRERA SILVEIRA, J. (2006). COASTAL LAGOON OF YUCATÁN (SE, MÉXICO): RESEARCH, DIAGNOSTIC AND MANAGEMENT. . EN CINVESTAV-IPN, ECOTRÓPICOS, 19 (2). (PÁGS. 94-108). MÉRIDA, YUCATÁN.

HERRERA SILVEIRA, J., & MORALES, O. (2010). LAGUNAS COSTERAS. BIODIVERSIDAD Y DESARROLLO HUMANO EN YUCATÁN, CICY, PPD-FMAM, CONABIO, SEDUMA, 24-26.

HOLMES, D.E.; SHRESTHA, P.M.; WALKER, D.J.F.; DANG, Y.; NEVIN, K.P.; WOODARD, T.L.; LOVLEY, D.R. METATRANSCRIPTOMIC EVIDENCE FOR DIRECT INTERSPECIES ELECTRON TRANSFER BETWEEN GEOBACTER AND METHANOTHRIX SPECIES IN METHANOGENIC RICE PADDY SOILS. APPL. ENVIRON. MICROBIOL. 2017.

HUG, L., BAKER, B., ANANTHARAMAN, K., BROWN, C., PROBST, A., CASTELLE, C., BUTTERFIELD, C., HERNSDORF, A., AMANO, Y., ISE, K., SUZUKI, Y., DUDEK, N., RELMAN, D., FINTAD, K., AMUNDSON, R., THOMAS, B. Y BANFIELD, J. (2016). A NEW VIEW OF THE TREE OF LIFE. NATURE MICROBIOLOGY 1.

INEGI. (2000). ASPECTOS GEOGRÁFICOS DE YUCATÁN. MARCO GEOESTADÍSTICO. INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA GEOGRÁFICA E INFROMÁTICA.

INEGI (2010) EL SECTOR ALIMENTARIO EN MÉXICO. INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA GEOGRÁFICA E INFROMÁTICA.

INEGI. (2014). SISTEMA DE CUENTAS NACIONALES DE MÉXICO. PRODUCTO INTERNO BRUTO POR ENTIDAD FEDERATIVA 2003-2014. INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA GEOGRÁFICA E INFORMÁTICA.

JIANG W. & FAN, W. (2008). BIOREMEDIATION OF HEAVY METAL-CONTAMINATED SOILS BY SULFATE-REDUCING BACTERIA. DEPARTMENT OF ENVIRONMENTAL ENGINEERING, BEIJING UNIVERSITY OF AERONAUTICS AND ASTRONAUTICS, BEIJING, CHINA.

KIDWELL, M.G. (2005). «TRANSPOSABLE ELEMENTS.» EN (ED. T.R. GREGORY). THE EVOLUTION OF THE GENOME. SAN DIEGO: ELSEVIER. PP. 165-22. ISBN 0-12-301463-8.

LAMGEMHEDER S. Y RAGNARSSON H. (2007). THE ROLE OF ENVIRONMENTAL AND SPATIAL FACTORS FOR THE COMPOSITION OF AQUATIC BACTERIAL COMMUNITIES. ECOLOGY 88(9):2451-61.

LASSERRE, P. (1979). COASTAL LAGOONS. SACTUARY ECOSYSTEMS, ERODLESS OF CULTURE. TARGETS FOR ECONOMIC GROWTH. NATURE AND RESUMES, 15 (4), 1-21.

LINDGREEN, S. ET AL. AN EVALUATION OF THE ACCURACY AND SPEED OF METAGENOME ANALYSIS TOOLS. SCI. REP. 6, 19233; DOI: 10.1038/srep19233 (2016).

LIMA, N. &. (2003). BIOLOGICAL RESOURCE CENTRES AND THE USE OF MICROBES. PROCEEDINGS OF EUROPEAN CULTURE COLLECTION ORGANISATION XXII, 422.

MARIN-CORIA E, ENRIQUEZ C (2016). VARIACIONES DE TEMPERATURA Y SALINIDAD EN EL SISTEMA LAGUNAR LA CARBONERA, YUCATÁN, MÉXICO. REVISTA DIGITAL E-BIOS. 4, AÑO 6 NÚM. 11. ISSN: 2007-5782.

MCCLUNG CR, PATRIQUIN DG. (1980) ISOLATION OF A NITROGEN-FIXING CAMPYLOBACTER SPECIES FROM THE ROOTS OF SPARTINA ALTERNIFLORA LOISEL. CAN J MICROBIOL; 26:881-886 10.1139/m80-153.

MOE, W.M.; YAN, J.; NOBRE, M.F.; DA COSTA, M.S.; RAINEY, F.A. (2009). DEHALOGENIMONAS LYKANTHROPPELLENS GEN. NOV., SP. NOV., A REDUCTIVE DEHALOGENATING BACTERIUM ISOLATED FROM CHLORINATED SOLVENT CONTAMINATED GROUNDWATER. INT J SYST EVOL MICROBIOL. 59: 2692–2697.

MORENO, L, VIRGÓS, L. Y NAVARRETE, P. (1998). CONCEPTOS BÁSICOS DE MICROBIOLOGÍA DE LAS AGUAS SUBTERRÁNEAS. INSTITUTO TECNOLÓGICO GEOMINERO DE ESPAÑA.

NATIONAL HUMAN GENOME RESEARCH INSTITUTE. (2018). NATIONAL HUMAN GENOME RESEARCH INSTITUTE. OBTENIDO DE NATIONAL HUMAN GENOME RESEARCH INSTITUTE: [HTTPS://WWW.GENOME.GOV/27563183/SECUENCIACION-DEL-ADN/](https://www.genome.gov/27563183/SECUENCIACION-DEL-ADN/)

OLUBUKOLA, O. (2003). MOLECULAR TECHNIQUES: AN OVERVIEW OF METHODS FOR THE DETECTION OF BACTERIA. AFRICAN JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY, 2(12), 710-713.

OMS, ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. (2005). MANUAL DE BIOSEGURIDAD EN LABORATORIO. GINEBRA, SUIZA.

ORELLANA, O. (2002). PERSPECTIVES IN SEQUENTIATION OF BACTERIAL GENOMES: NEW STRATEGIES IN THE DEVELOPMENT OF ANTIMICROBIAL THERAPIES. REVISTA CHILENA DE INFECTOLOGÍA, 19(SUPPL. 1), 46-49.

PATI, A., GRONOW, S., LAPIDUS, A., COPELAND, A., GLAVINA DEL RIO, T., NOLAN, M., ... KYRPIDES, N. C. (2010). COMPLETE GENOME SEQUENCE OF ARCOBACTER NITROFIGILIS TYPE STRAIN (CIT). STANDARDS IN GENOMIC SCIENCES, 2(3), 300–308. [HTTP://DOI.ORG/10.4056/SIGS.912121](http://doi.org/10.4056/sigs.912121)

PEREZ, R. (2014). BIOTECNOLOGÍA: BIOSEGURIDAD Y BIOCUSTODIA EN LA INVESTIGACIÓN BIOTECNOLÓGICA. ARBOR, 190(768):A150.

PIÑEIRO-VIDAL M., RIAZA, A. Y SANTOS, Y. (2008) TENACIBACULUM DISCOLOR SP. NOV. AND TENACIBACULUM GALLAICUM SP. NOV., ISOLATED FROM SOLE (SOLEA SENEGALENSIS) AND TURBOT (PSETTA MAXIMA) CULTURE SYSTEMS, IJSEM 58(1):21-25 DOI:10.1099/IJS.0.65397-0

RANDLE-BOGGIS, R. J., HELGASON, T., SAPP, M., & ASHTON, P. D. (2016). EVALUATING TECHNIQUES FOR METAGENOME ANNOTATION USING SIMULATED SEQUENCE DATA. FEMS MICROBIOLOGY ECOLOGY, 92(7).

RAY, A., KINCH, L. N., DE SOUZA SANTOS, M., GRISHIN, N. V., ORTH, K., & SALOMON, D. (2016). PROTEOMICS ANALYSIS REVEALS PREVIOUSLY UNCHARACTERIZED VIRULENCE FACTORS IN VIBRIO PROTEOLYTICUS. MBIO, 7(4), E01077–16.

ROCAP, G. ET AL. (2003). GENOME DIVERGENCE IN TWO PROCHLOROCOCCUS ECOTYPES REFLECTS OCEANIC NICHE DIFFERENTIATION. NATURE 424: 1042-1047.

RODICIO, M. Y MENDOZA, M. (2004). IDENTIFICACIÓN BACTERIANA MEDIANTE SECUENCIACIÓN DEL ARNR 16S FUNDAMENTO, METODOLOGÍA Y APLICACIONES EN MICROBIOLOGÍA CLÍNICA. ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y MICROBIOLOGÍA CLÍNICA. 22:238-245.

ROJAS, C. (2011). NOTAS EN TORNO A LA PROTECCIÓN DE LOS SITIOS ARQUEOLÓGICOS Y PALEONTOLÓGICOS EN CENOTES Y CUEVAS SUMERGIDAS EN QUINTANA ROO. FORO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA, DE DESARROLLO TECNOLÓGICO Y EXPOSICIÓN CULTURAL DEL "SISTEMA HIDROLÓGICO DE LA CUENCA PENÍNSULA DE YUCATÁN", 32.

ROJAS, R., NARVÁEZ, J., ZAMUDIO, M., MENA, M.E. (2008). A SIMPLE SILICA-BASED METHOD FOR METAGENOMIC DNA EXTRACTION FROM SOIL AND SEDIMENTS. MOL BIOTECHNOL. 40:13-17.

SCHMITTER-SOTO, J., COMÍN, F., ESCOBAR-BRIONES, E., HERRERA-SILVEIRA, J., ALCOCER, J., SUÁREZ-MORALES, E., ELÍAS-GUTIÉRREZ, M., DÍAZ-ARCE, V., MARÍN, L. Y STEINICH, B. (2002). HYDROGEOCHEMICAL AND BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF CENOTES IN THE YUCATAN PENINSULA (SE MEXICO). HYDROBIOLOGIA 467: 215-228.

SINGER, E., BUSHNELL, B., COLEMAN-DERR, D., BOWMAN, B., BOWERS, R. M., LEVY, A., ... & HALLAM, S. J. (2016). HIGH-RESOLUTION PHYLOGENETIC MICROBIAL COMMUNITY PROFILING. THE ISME JOURNAL, 10(8), 2020-2032.

SMITH, D. Y RHODE, C. (2008). SAFETY IN MICROBIOLOGY. LABORATORY MANAGER, 125: 4-6.

SO, C. Y YOUNG, L. "INITIAL REACTIONS IN ANAEROBIC ALKANE DEGRADATION BY A SULFATE REDUCER, STRAIN AK-01" APPL ENVIRON MICROBIOL, 1999, RETRIEVED FROM [HTTP://WWW.NCBI.NLM.NIH.GOV/PMC/ARTICLES/PMC91754/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC91754/)

SOROKIN D. Y., TOUROVA T. P., MUYZER G. (2013) ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF TWO NOVEL ALKALITOLERANT SULFIDOGENS FROM A THIOPAQ BIOREACTOR, DESULFONATRONUM ALKALITOLERANS SP. NOV., AND SULFUROSPIRILLUM ALKALITOLERANS SP. NOV. EXTREMOPHILES, 17 (3), 535.

SOUZA, V. (2017). INTRODUCCIÓN EN MICROBIOLOGÍA AMBIENTAL EN MÉXICO (PÁGS. 13-16). MÉRIDA, YUCATÁN: CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA.

UEKI, T., DIDONATO, L.N., LOVLEY, D.R., 2017. TOWARD ESTABLISHING MINIMUM REQUIREMENTS

FOR EXTRACELLULAR ELECTRON TRANSFER IN GEOBACTER SULFURREDUCTENS. FEMS MICROBIOL. LETT. 364 FNX093.

URREA MARIÑO, U. 2012. PRÁCTICAS DE VIDA COTIDIANA ASOCIADAS A LA BASURA, LOS RESIDUOS Y LOS DESECHOS EN LA LOCALIDAD COSTERA DE SISAL, YUCATÁN: PROPUESTA DE MODELO DE MANEJO. TESIS DE LICENCIATURA, FACULTAD DE CIENCIAS, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO, MÉXICO, SISAL, YUCATÁN. 194 P.

URREA MARIÑO, U. 2016. EL IMPACTO QUE TIENE LA BASURA EN EL DESARROLLO DE LA ACTIVIDAD PESQUERA EN SISAL, YUCATÁN. MEMORIAS EN EXTENSO DEL VII SIMPOSIO INTERNACIONAL DEL CARBONO EN MÉXICO (EN PRENSA). PROGRAMA MEXICANO DEL CARBONO. MÉXICO.

VALENZUELA, F., CASILLAS, R., VILLALPANDO, E., & VARGAS, F. (2015). THE 16S rRNA GENE IN THE STUDY OF MARINE MICROBIAL COMMUNITIES. [EL GEN rRNA 16S EN EL ESTUDIO DE COMUNIDADES MICROBIANAS MARINAS]. CIENCIAS MARINAS, 41(4), 297-313.

VANDAMME P, FALSEN E, ROSSAU R, HOSTE B, SEGERS P, TYTGAT RDE, LEY J. (1991) REVISION OF CAMPYLOBACTER, HELICOBACTER, AND WOLINELLA TAXONOMY: EMENDATION OF GENERIC DESCRIPTIONS AND PROPOSAL OF ARCOBACTER GEN. NOV. INTERNATIONAL JOURNAL OF SYSTEMATIC BACTERIOLOGY; 41:88-103 10.1099/00207713-41-1-88.

WANG, Y. X., WANG, Z. G., LIU, J. H. ET AL. SEDIMENTIMONAS QIAOHOUENSIS GEN. NOV., SP. NOV., A MEMBER OF THE ROSEOBACTER CLADE IN THE ORDER RHODOBACTERALES. INT J SYST EVOL MICROBIOL, 2009, 59: 1561–1567

WHITESON, K., HERNANDEZ, D., LAZAREVIC, V., GAIA, N., FARINELLI, L., FRANÇOIS, P., PILO, P., FREY, J., SCHRENZEL, J. (2014). "A GENOMIC PERSPECTIVE ON A NEW BACTERIAL GENUS AND SPECIES FROM THE ALCALIGENACEAE FAMILY, BASILEA PSITTACIPULMONIS". BMC GENOMICS. 15 (1): 169.

WINDSOR, HELENA M.; WINDSOR, G. DAVID; NOORDERGRAAF, J.H. (2010). "THE GROWTH AND LONG TERM SURVIVAL OF ACHOLEPLASMA LAIDLAWII IN MEDIA PRODUCTS USED IN BIOPHARMACEUTICAL MANUFACTURING". BIOLOGICALS. 38 (2): 204.

ZHILINA, T., APPEL, R., PROBIAN, C., LLOBET, E., HARDER, J. Y WIDDEL, F. (2004). ALKALIFLEXUS IMSHENETSKII GEN. NOV. SP. NOV., A NEW ALKALIPHILIC GLIDING CARBOHYDRATE-FERMENTING BACTERIUM WITH PROPIONATE FORMATION FROM A SODA LAKE. ARCHIVES OF MICROBIOLOGY. VOLUMEN 182, PP. 244-253.