



MINISTERIO DE DEFENSA NACIONAL
INSTITUTO ANTARTICO ECUATORIANO
GUAYAQUIL

INFORME DE TRABAJOS DE CAMPO EN LAS
EXPEDICIONES A LA ANTARTIDA

Expedición: XVI Expedición

Nombre del proyecto: Caracterización de la diversidad biológica y genética de microorganismos de glaciares Antárticos y del Chimborazo para la búsqueda de genes útiles en Agrobiotecnología.

Lugar: Estación Pedro Vicente Maldonado (Antártida)
Laboratorios de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos (Universidad Técnica de Ambato)

Participantes: Dr. Carlos Rodríguez (UTA)

07/03/2012

FUENTE : DVD1
EXPEDICION XVI
ENTREGADO POR: José Olmedo

INFORME DE CAMPO

NOMBRE DEL PROYECTO:

Caracterización de la diversidad biológica y genética de microorganismos de glaciares Antárticos y del Chimborazo para la búsqueda de genes útiles en Agrobiotecnología.

INVESTIGADOR:

Dr. Carlos Rodríguez M.

1. ANTECEDENTES DEL PROYECTO/COMPONENTE.- (si el proyecto es continuativo, explicar los aspectos a ser investigados en el actual trabajo de campo)

El ecosistema antártico es único en la Tierra. Debido a las bajas temperaturas que predominan durante todo el año, los organismos vivos deben haber desarrollado mecanismos evolutivos que les permiten soportar un medioambiente tan extremo. El balance de un ecosistema de estas características es posible porque las interacciones que ocurren entre plantas, animales y microorganismos permiten que muchas especies colonicen el hábitat que les rodea. Algunos estudios realizados acerca de la biodiversidad antártica se han enfocado en los diferentes grupos de microorganismos que soportan las temperaturas muy bajas del medio, mostrando que existe una gran biodiversidad microbiana, principalmente en diferentes grupos de bacterias, arqueas y hongos (1, 2, 3). Los microorganismos se caracterizan por la gran diversidad biológica y metabólica que poseen, por ello han sido capaces de colonizar prácticamente todos los medioambientes existentes en la Biósfera. Constituyen también una reserva genética abundante, con un potencial gigantesco en la búsqueda de genes útiles para Biotecnología (4).

2. OBJETIVO GENERAL DEL PROYECTO/CUMPLIMIENTO

- Caracterizar la diversidad biológica y genética de microorganismos de ecosistemas glaciares de la Antártida y del Chimborazo para la búsqueda de genes útiles en Agrobiotecnología.

3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS DEL PROYECTO /CUMPLIMIENTOS

- Aislar bacterias y hongos psicrófilos del Antártico y de las estribaciones del nevado Chimborazo (Año 3).
- Caracterizar fenotípica y molecularmente los microorganismos aislados (Año 3)
- Establecer la primera colección de microorganismos psicrófilos en el Ecuador (Año 3).
- Identificar genes de interés para Biotecnología mediante la construcción de una librería de clones de ADN (Año 3).

4. HIPÓTESIS DEL PROYECTO/COMPONENTE.-

La biodiversidad microbiana de los ecosistemas glaciares de la Antártida y del Chimborazo posee genes útiles para Agrobiotecnología.

6. CRONOGRAMA DEL TRABAJO DE CAMPO EFECTUADO

Fecha	Actividad	Producto
22/02/2012	<ul style="list-style-type: none"> Llegada a la Estación Científica Pedro Vicente Maldonado 	
23/02/2012	<ul style="list-style-type: none"> Recolección de muestras en Isla Barrientos 	<ul style="list-style-type: none"> Suelos, arena de playa, fotografías.
	<ul style="list-style-type: none"> Preparación de medios de cultivo para bacterias y hongos: agar nutritivo (AN), agar papa dextrosa (PDA). 	<ul style="list-style-type: none"> Cajas petri con medios de cultivo.
	<ul style="list-style-type: none"> Soluciones de antibióticos y blancos de dilución. 	<ul style="list-style-type: none"> Antibióticos listos para su uso. Tubos con 9 ml de agua estéril.
24/02/2012	<ul style="list-style-type: none"> Recolección de muestras en Isla Roberts, Torre, y Dee 	<ul style="list-style-type: none"> Suelos, arena de playa, fotografías.
	<ul style="list-style-type: none"> Siembra de platos de aislamiento con muestras de Suelo y Arena de Barrientos, y sedimentos de Dee. Platos incubados a 9°C y 22°C 	<ul style="list-style-type: none"> Platos petri en los incubadores. Fotografías
25/02/2012	<ul style="list-style-type: none"> Trabajo de laboratorio. Procesamiento de muestras 	<ul style="list-style-type: none"> Muestras etiquetadas.
26/02/2012	<ul style="list-style-type: none"> RANCHERO 	
27/02/2012	<ul style="list-style-type: none"> Recolección de muestras en Punta Ambato 	<ul style="list-style-type: none"> Suelos, arena de playa, fotografías.
	<ul style="list-style-type: none"> Preparación de medios de cultivo 	<ul style="list-style-type: none"> Cajas petri con agar nutritivo y agar papa dextrosa
28/02/2012	<ul style="list-style-type: none"> Determinación de la población de microbios en las muestras medioambientales estudiadas (Suelo y Arena de Barrientos, y sedimentos de Dee) 	<ul style="list-style-type: none"> Fotografías Conteo de colonias. Número de ufc/g.
	<ul style="list-style-type: none"> Aislamiento en cultivo puro de bacterias incubadas a 22°C 	<ul style="list-style-type: none"> Cajas petri inoculadas e incubadas a 22°C
29/02/2012	<ul style="list-style-type: none"> Trabajo de laboratorio. Aislamiento de microorganismos (hongos) y levaduras 	<ul style="list-style-type: none"> Cajas petri inoculadas e incubadas a 22°C y 9°C
	<ul style="list-style-type: none"> Evaluación de experimentos 	<ul style="list-style-type: none"> Fotografías Tablas en Excel
01/03/2012	<ul style="list-style-type: none"> Atención a visita de autoridades del Gobierno y mando militar a PEVIMA 	
02/03/2012	<ul style="list-style-type: none"> Trabajo de laboratorio. Preparación de medios de cultivo 	<ul style="list-style-type: none"> Fotografías. Borrador de informe de campo
	<ul style="list-style-type: none"> Aislamiento de microorganismos 	<ul style="list-style-type: none"> Cajas petri con microorganismos incubadas a 22°C y 9°C
	<ul style="list-style-type: none"> Evaluación de experimentos 	<ul style="list-style-type: none"> Fotografías

1/10, y 1/10², fueron colocados y extendidos, sobre la superficie de cajas petri que contenían agar nutritivo y agar papa dextrosa. El agar nutritivo y agar papa dextrosa fueron suplementados con nistatin (75 µg/ml), y con clorotetraciclina (20 µg/ml), respectivamente. Los platos inoculados fueron incubados a temperaturas de 22°C y 9°C por 4 a cinco días. Posterior al periodo de incubación se procedió a contar el número de colonias presentes en los diferentes platos. El número de ufc por gramo de suelo fue calculado para aquella dilución en la que el número de colonias se encuentren en un rango entre 30 hasta 300, usando la siguiente fórmula:

$$\text{UFC/g suelo} = \frac{N \times \text{FD} \times V_t}{V_i \times S}$$

Donde:

- N número de colonias
 FD Dilución en la cual se contó N (Ej: conteo realizado en la dilución 1/10³, FD= 1x10³)
 Vt Volumen de la dilución 1/10, en mililitros
 Vi Volumen inoculado en mililitros
 S Cantidad de suelo seco o raíces utilizada para preparar la dilución 1/10

Muestras usadas en la determinación de la población y diversidad de microorganismos

Sitio Recolección	Tipo de muestra	Código de muestra
Barrientos	Suelo	S13
Barrientos	Arena Playa	S10
Dee	Sedimento	S06

Aislamiento, purificación y almacenamiento de microorganismos

Todas las bacterias, levaduras y hongos fueron aislados y purificados en cultivo puro. De cada uno de los platos de aislamiento se escogieron las colonias diferentes. Los platos inoculados fueron incubados a 9°C o 22°C, dependiendo de la temperatura de incubación de los platos originales. Todos los cultivos puros fueron almacenados en tubos crioviales que contenían 500 µl de glicerol al 30%, para su transporte al Ecuador.

8.- DATOS OBTENIDOS (Incluir en la tabla del anexo los datos/parámetros medidos y/o muestras recopiladas con las respectivas coordenadas geográficas en UTM y latitud y longitud, georreferenciadas)

Figura 1. Número de muestras recolectadas por sitio

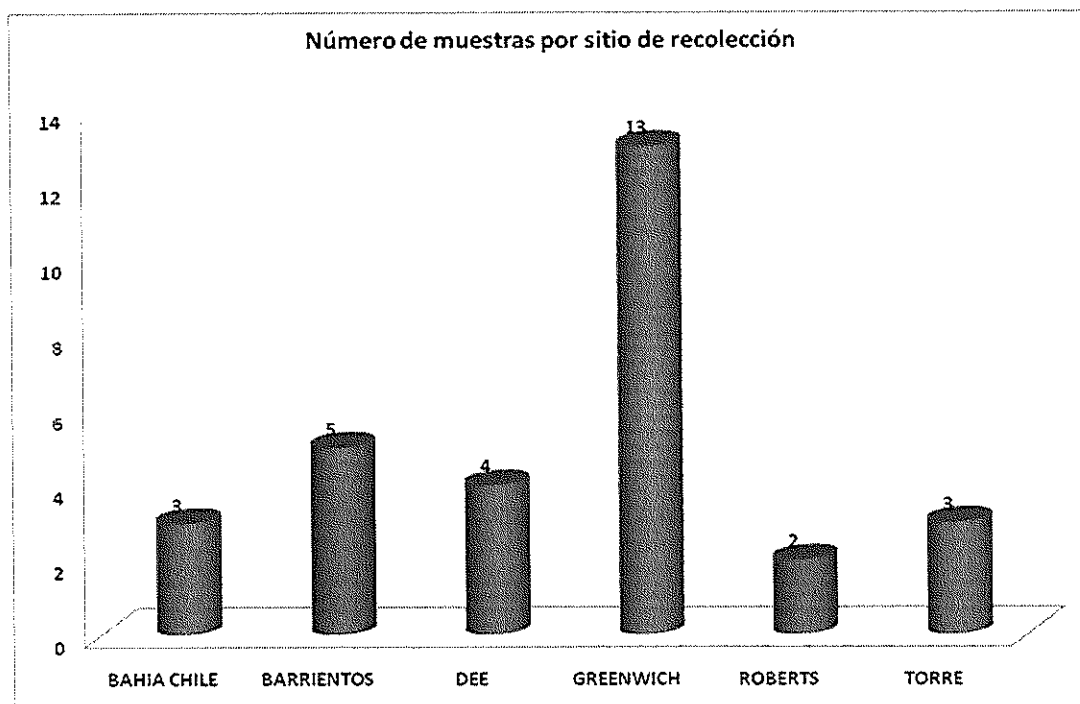


Figura 2. Número de muestras por tipo

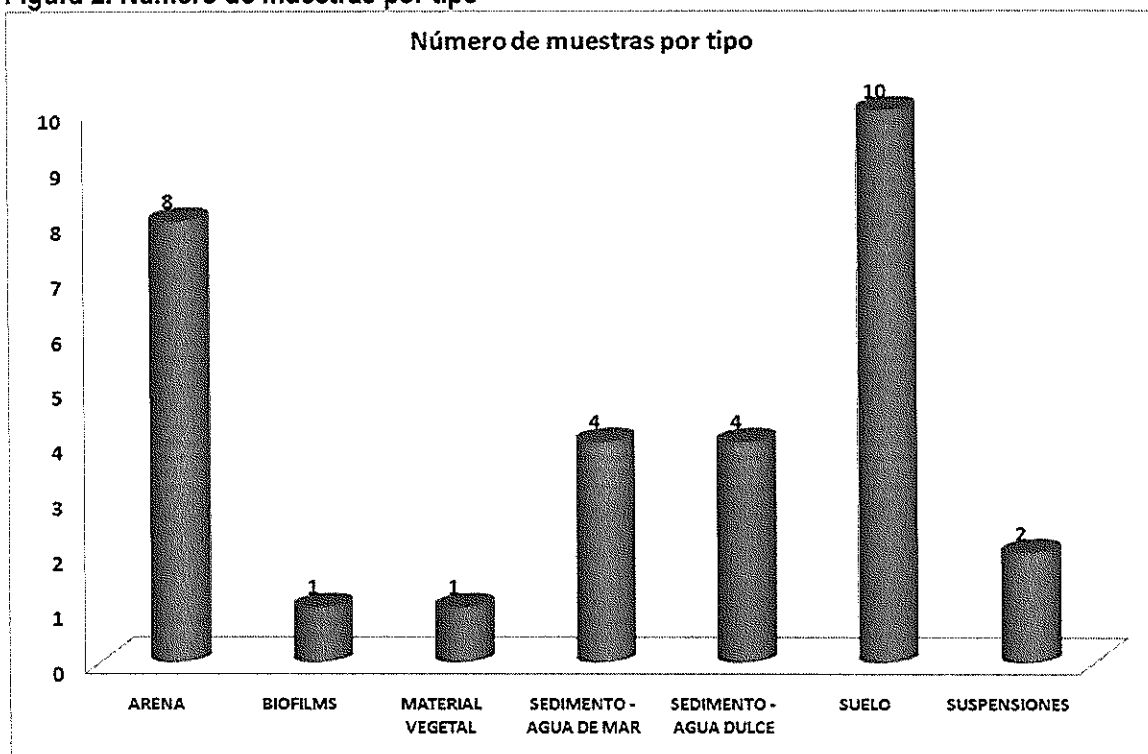


Figura 4. Diversidad de colonias de bacterias de sedimentos lago congelado, Isla Dee.

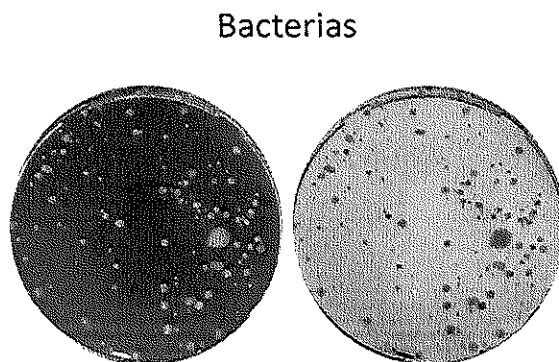


Figura 5. Número de ufc/g de bacterias

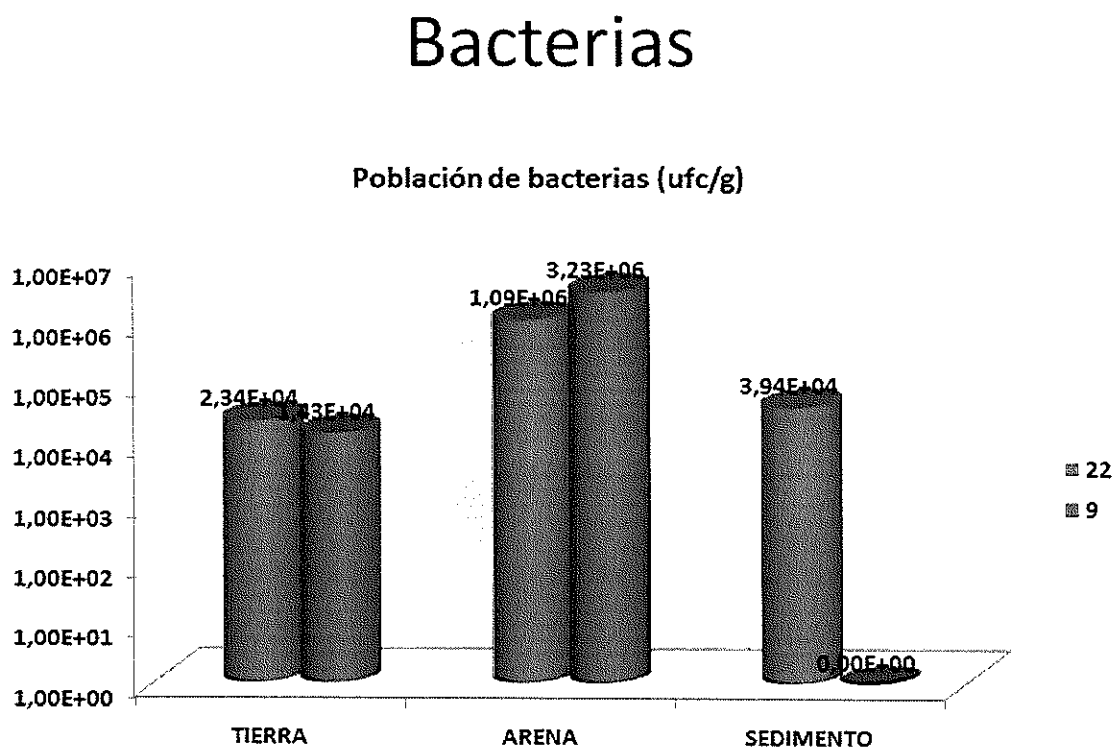


Tabla 2. Codificación de los cultivos aislados, purificados y almacenados

código	origen	tipo de muestra	dilución	medio de aislamiento	Temperatura (°C)
cr001	Dee	sedimento	1,00E+01	Agar Nutritivo	22
cr002	Dee	sedimento	1,00E+01	Agar Nutritivo	22
cr003	Dee	sedimento	1,00E+01	Agar Nutritivo	22
cr004	Dee	sedimento	1,00E+01	Agar Nutritivo	22
cr005	Dee	sedimento	1,00E+01	Agar Nutritivo	22
cr006	Dee	sedimento	1,00E+01	Agar Nutritivo	22
cr007	Dee	sedimento	1,00E+01	Agar Nutritivo	22
cr008	Dee	sedimento	1,00E+01	Agar Nutritivo	22
cr009	Dee	sedimento	1,00E+01	Agar Nutritivo	22
cr010	Dee	sedimento	1,00E+01	Agar Nutritivo	22
cr011	Dee	sedimento	1,00E+01	Agar Nutritivo	22
cr012	Dee	sedimento	1,00E+01	Agar Nutritivo	22
cr013	Dee	sedimento	1,00E+01	Agar Nutritivo	22
cr014	Dee	sedimento	1,00E+01	Agar Nutritivo	22
cr015	Dee	sedimento	1,00E+01	Agar Nutritivo	22
cr016	Dee	sedimento	1,00E+01	Agar Nutritivo	22
cr017	Dee	sedimento	1,00E+01	Agar Nutritivo	22
cr018	Dee	sedimento	1,00E+01	Agar Nutritivo	22
cr019	Dee	sedimento	1,00E+01	Agar Nutritivo	22
cr020	Dee	sedimento	1,00E+01	Agar Nutritivo	22
cr021	Dee	sedimento	1,00E+01	Agar Nutritivo	22
cr022	Dee	sedimento	1,00E+01	Agar Nutritivo	22
cr023	Barrientos	arena	1,00E+02	Agar Nutritivo	22
cr024	Barrientos	arena	1,00E+02	Agar Nutritivo	22
cr025	Barrientos	arena	1,00E+02	Agar Nutritivo	22
cr026	Barrientos	arena	1,00E+02	Agar Nutritivo	22
cr027	Barrientos	arena	1,00E+02	Agar Nutritivo	22
cr028	Barrientos	arena	1,00E+02	Agar Nutritivo	22
cr029	Barrientos	arena	1,00E+02	Agar Nutritivo	22
cr030	Barrientos	arena	1,00E+02	Agar Nutritivo	22
cr031	Barrientos	arena	1,00E+02	Agar Nutritivo	22
cr032	Barrientos	arena	1,00E+02	Agar Nutritivo	22
cr033	Barrientos	tierra	1,00E+02	Agar Nutritivo	22
cr034	Barrientos	tierra	1,00E+02	Agar Nutritivo	22
cr035	Barrientos	tierra	1,00E+02	Agar Nutritivo	22
cr036	Barrientos	tierra	1,00E+01	Agar Nutritivo	22
cr037	Barrientos	tierra	1,00E+01	Agar Nutritivo	22
cr038	Barrientos	tierra	1,00E+01	Agar Nutritivo	22
cr039	Barrientos	tierra	1,00E+01	Agar Nutritivo	22
cr040	Barrientos	tierra	1,00E+01	Agar Nutritivo	22

12. BIBLIOGRAFIA

1. Bowman, J.P., McCammon, S.A., Gibson, J.A., Robertson, L., & Nichols, P.D. *Prokaryotic Metabolic Activity and Community Structure in Antarctic Continental Shelf Sediments*. Applied and Environmental Microbiology. **69**: 2448-2462. USA. (2003).
2. Bowman, J.P., Mccammon, S.A., Brown, M.V., Nichols, D.S., Mcmeekin, T. *Diversity and Association of Psychrophilic Bacteria in Antarctic Sea Ice*. Applied and Environmental Microbiology. **63**: 3068-3078. USA. (1997).
3. Morita, R. *Psychrophilic Bacteria*. Bacteriological Reviews. **39**: 144-167. USA. (1975).
4. Bull, A.T., Ward, A.C., & Goodfellow, M. *Search and Discovery Strategies for Biotechnology: the Paradigm Shift*. Microbiology and Molecular Biology Reviews. **64**: 573-606. USA. (2000).

13. Fecha: 07/3/2012

ANEXOS Incluir la entrega de un CD archivo digital con los datos medidos georeferenciados y fotos en formato original.

Nota.- El reporte deberá ser presentado en formato digital y deberá ser entregado antes de finalizar la estadía en la Antártida.