

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE INGENIERÍA, ARQUITECTURA Y DISEÑO

**DIVERSIDAD DE PROTEOBACTERIAS (ALFA, BETA, GAMMA, DELTA Y
ÉPSILON) PRESENTES EN AGUAS PROFUNDAS DEL GOLFO DE MÉXICO**

T E S I S

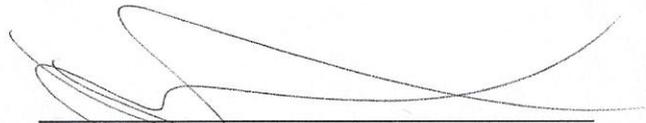
Que para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para
obtener el título de

BIOINGENIERO

Presenta

SALVADOR DUEÑAS ESPINOZA

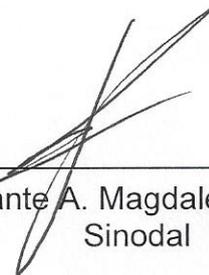
Y aprobada por:



Dr. Ricardo A. González Sánchez
Director de tesis



Dr. Alexei F. Licea Navarro
Sinodal



M.C. Dante A. Magdaleno Moncayo
Sinodal

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE INGENIERÍA ARQUITECTURA Y DISEÑO



**DIVERSIDAD DE PROTEOBACTERIAS (ALFA, BETA, GAMMA,
DELTA Y ÉPSILON) PRESENTES EN AGUAS PROFUNDAS DEL
GOLFO DE MÉXICO**

T E S I S

Que para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para
obtener el título de

BIOINGENIERO

Presenta

SALVADOR DUEÑAS ESPINOZA

Ensenada, Baja California, México.

Febrero 2013

Resumen de la tesis de Salvador Dueñas Espinoza, presentada como requisito parcial para la obtención del título de Bioingeniero.

Diversidad De Proteobacterias (Alfa, Beta, Gamma, Delta Y Épsilon) Presentes
En Aguas Profundas Del Golfo De México

Resumen aprobado por:



Dr. Ricardo A. González Sánchez

Director de tesis

La problemática ambiental que existe respecto a la explotación petrolera en México, ha llevado a la necesidad de investigar más a fondo el ecosistema marino del Golfo de México. El conocimiento de la composición de la comunidad microbiana de proteobacterias (Alfa, Beta, Gamma, Delta y Épsilon) juega un papel importante por el rol que desempeñan los microorganismos en los principales ciclos biogeoquímicos y en la estabilidad de los ecosistemas, lo que los convierte en los principales indicadores de cambios ambientales. Con la finalidad de conocer la composición de la comunidad de proteobacterias, se realizó un muestreo en 40 estaciones a lo largo y ancho del Golfo de México a diferentes profundidades, se seleccionaron los oligonucleótidos necesarios para amplificar el gen 16s de cada una de las subclases de proteobacterias y se extrajo el ADN de cada una de las muestras (~300), posteriormente se realizó la amplificación del ADN bacteriano mediante PCR en tiempo real, para finalmente proceder al análisis de datos. Los resultados obtenidos muestran una dominancia de la subclase Alfabroteobacteria en el total general de las diez profundidades de las 40 estaciones de muestreo, por otra parte, la subclase Beta se presenta en segundo lugar. La subclase Épsilon varía respecto a la profundidad, presentándose como la tercera mas abundante. En cuanto a las subclases Gamma y Delta, muestran una baja presencia, sin embargo, varían conforme aumenta la profundidad. Para llevar a cabo un análisis de la diversidad de proteobacterias en el Golfo de México, tomando en cuenta las diferentes características de este ecosistema, se procedió a sectorizar el área de muestreo en tres grandes zonas, en las cuales se puede apreciar mejor la distribución de las diferentes subclases de proteobacterias a lo largo de la columna de agua.

Palabras Clave: **Proteobacterias, Golfo de México, PCR en tiempo real**

Dedicatoria

A mis padres, que aunque no estén físicamente, siempre estarán a mi lado.

Agradecimientos

Al Dr. Ricardo A. González Sánchez, por todo su apoyo como mi director de tesis, por compartir su conocimiento y experiencia, pero antes que nada, por brindarme su valiosa amistad y confianza.

Al Dr. Alexei F. Licea Navarro, por brindarme la oportunidad de formar parte del equipo de trabajo de su laboratorio, por la beca que me brindo y apoyarme con lo necesario para realizar esta investigación.

Al M.C. Dante A. Magdaleno Moncayo, por su apoyo al realizar esta tesis, por ser mi profesor e inculcarme las ganas de investigar.

A mis hermanos, Thomas, Maribel y Mario Dueñas, por todo su apoyo a lo largo de la carrera, por estar siempre a mi lado en las buenas y malas, pero mas que nada por hacer de mi vida toda una aventura.

Al M.C. J Félix Olivares Quintero, por brindarme su apoyo al realizar esta tesis, haciendo correcciones y comentarios que hicieron de este un mejor trabajo, pero sobretodo, por confiarme su amistad y porque siempre esta ahí cuando lo necesitas.

A la M.C. Irasema Oroz Parra, por brindarme su amistad, y por esos buenos momentos dentro y fuera del laboratorio.

Al Dr. Marco De león Stradivarius, por su amistad, y por esos ratos que hicieron mas amena mi estancia en el laboratorio.

Al Ing. Luis A. Alvarado Guerra y al Ing. Jorge G. García Hernández, por brindarme su amistad, y por todas esas aventuras a lo largo todos estos años, por ser como mis hermanos y estar ahí siempre que los necesitas.

A los miembros del equipo del laboratorio de la UDB, por hacer de mi estancia en el laboratorio una muy buena experiencia.

Contenido

	Página
Resumen.....	ii
Dedicatoria.....	iii
Agradecimientos.....	iv
Contenido.....	v
Lista de Figuras.....	vii
Lista de tablas.....	x
I. Introducción.....	1
II. Hipótesis.....	9
III. Objetivos.....	10
III.1. Objetivo General.....	10
III.2. Objetivos Particulares.....	10
IV. Método.....	11
IV.1. Estrategia de Muestreo.....	11
IV.2. Selección de Oligonucleótidos.....	12
IV.3. Extracción de ADN.....	13
IV.4. Estandarización de la amplificación mediante PCR en tiempo real.....	14
IV.5. Amplificación mediante PCR.....	16
IV.6. Método de Análisis.....	17
V. Resultados.....	18
VI. Discusión.....	55

VII. Conclusión.....	58
Referencias bibliográficas.....	59
Anexos.....	63

Lista de Figuras

Figura		Página
1	Mapa del Golfo de México donde se especifican las estaciones realizadas en la segunda campaña del XIXIMI.....	12
2	Amplificaciones de las diluciones del ADN de proteobacterias.....	15
3	Porcentaje total de la concentración de ADN en las 40 estaciones del Golfo de México	19
4	Concentración de ADN a una profundidad de 150m.....	20
5	Ejemplos de las estaciones donde predominó la subclase alfa a una profundidad de 150 metros.....	21
6	Concentración de ADN a una profundidad de 400m.....	22
7	Ejemplos de las estaciones donde predominó la subclase alfa a una profundidad de 400 metros.....	23
8	Concentración de ADN a una profundidad de 600m.....	24
9	Ejemplos de las estaciones donde predominó la subclase alfa a una profundidad de 600 metros.....	25
10	Concentración de ADN a una profundidad de 800m.....	26
11	Ejemplos de las estaciones donde predominó la subclase alfa a una profundidad de 800 metros.....	27
12	Concentración de ADN a una profundidad de 1000m....	28
13	Ejemplos de las estaciones donde predominó la subclase alfa a una profundidad de 1000 metros.....	29

14	Concentración de ADN a una profundidad de 1200m....	30
15	Ejemplos de las estaciones donde predominó la subclase alfa a una profundidad de 1200 metros.....	31
16	Concentración de ADN a una profundidad de 1500m....	32
17	Ejemplos de las estaciones donde predominó la subclase alfa a una profundidad de 1500 metros.....	33
18	Concentración de ADN a una profundidad de 2000m....	34
19	Ejemplos de las estaciones donde predominó la subclase alfa a una profundidad de 2000 metros.....	35
20	Concentración de ADN a una profundidad de 2500m....	36
21	Ejemplos de las estaciones donde predominó la subclase alfa a una profundidad de 2500 metros.....	37
22	Concentración de ADN a 20m del fondo marino.....	38
23	Ejemplos de las estaciones donde predominó la subclase alfa a 20 metros del fondo marino.....	39
24	Ejemplos de las estaciones donde predominó la subclase beta en diferentes profundidades.....	41
25	Ejemplos de las estaciones donde predominó la subclase beta en diferentes profundidades.....	42
26	Ejemplos de las estaciones donde predominó la subclase beta en diferentes profundidades.....	43
27	Porcentaje total de la Concentración de ADN en las 40 estaciones del Golfo de México (subclases gamma y delta).....	44

28	Ejemplos de las estaciones donde predominó la subclase gamma en diferentes profundidades. a) Estación 17 a 2500m.....	45
29	Ejemplos de las estaciones donde predominó la subclase Delta a diferentes profundidades.....	46
30	Ejemplos de las estaciones donde predominó la subclase Épsilon a diferentes profundidades.....	48
31	Mapa del Golfo de México donde se especifica la sectorización y ubicación las estaciones realizadas en la segunda campaña del XIXIMI.....	49
32	Ejemplos de profundidades del sector 1.....	50
33	Ejemplos de profundidades del sector 2	51
34	Ejemplos de profundidades del sector 3.....	52

Lista de Tablas

Tabla		Página
I	Características y ejemplos de las diferentes subclases de proteobacterias.....	4
II	Grupos bacterianos a identificar empleando oligonucleótidos específicos.....	13

I. Introducción

El océano ocupa la mayor parte de la superficie del planeta cubriendo 362 millones de km², con una profundidad media de 3794 m. Se divide en cinco océanos; Pacífico, Atlántico, Índico, Polar Ártico y Antártico; cada uno a su vez dividido en distintos mares y subcuencas. La temperatura superficial del océano es muy variable; oscila de -2°C a 30°C y disminuye rápidamente conforme aumenta la profundidad, mientras que la temperatura de las aguas por debajo de 1000 m varía poco estacionalmente (van de 4°C a 15°C). El océano contiene una concentración de sales disueltas de aproximadamente 35 g por litro de agua de mar (partes por mil). A su vez, los océanos se encuentran en movimiento perpetuo mediante un sistema de corrientes que transportan el agua marina, cumpliendo un papel esencial a nivel global, específicamente en la regulación del clima, así como en la migración de organismos marinos. Por las características antes mencionadas, el océano es un espacio muy favorable para el desarrollo de la vida, sin embargo, los sistemas marinos son muy variables, altamente dinámicos y complejos. Por lo tanto, el grado de conocimiento de la biodiversidad en los mares es aún muy limitada (Caso, *et al.*, 2004; Duarte, 2010; Lara-Lara, *et al.*, 2008).

México cuenta con una gran extensión oceánica, se distribuye en dos regiones: Pacífico y Atlántico. Del lado del Pacífico se encuentra el Golfo de California y el Golfo de Tehuantepec y en el Atlántico se localiza el mar Caribe y

el Golfo de México. Dichas regiones hacen de México un país con una gran riqueza natural en sus mares y costas, producto de su singular fisiografía y posición geográfica. Por lo tanto, los ecosistemas marinos en México proporcionan una enorme diversidad de recursos naturales, entre ellos encontramos alimentos, combustibles, fármacos y recursos genéticos que contribuyen al desarrollo socioeconómico del país (Lara-Lara, *et al.*, 2008; Biodiversidad mexicana, 2012).

En México, los hidrocarburos han ganado una importante participación en su sistema económico, ya que, los ingresos derivados del petróleo constituyen más del 10% de las exportaciones nacionales. La explotación de este combustible fósil, ha llevado a México a ser el sexto mayor productor de petróleo en el mundo. En nuestro país, los principales yacimientos de petróleo se encuentran en la región del Golfo de México, siendo este la fuente más importante de producción petrolera a nivel nacional, con más del 80% del petróleo mexicano. (Arias, *et al.*, 2009; Castañeda, *et al.*, 2006; Explorando México, 2008).

El Golfo de México es un mar marginal profundo ubicado entre 18° y 30° N, y 82° y 98° O. Es una frontera internacional que comparten: México, Cuba y Estados Unidos, es una cuenca semicerrada que se conecta con el Mar Caribe a través del canal de Yucatán y con el Océano Atlántico a través del estrecho de Florida (Lara-Lara, *et al.*, 2008; Caso, *et al.*, 2004; Hidalgo y Álvarez, 2008). El sistema de corrientes se genera en el Mar Caribe donde la circulación más importante del golfo es dominada por la corriente de Lazo que combina la

corriente de Yucatán con la corriente de Florida (Caso, *et al.*, 2004). La batimetría del Golfo de México varía notablemente, alcanzando profundidades de hasta 3600 m en la región central. El promedio de profundidad de las aguas del golfo es de aproximadamente 1615 m y la cuenca abarca un volumen de 2.4 millones de Km³ de agua, ocupada por una gran diversidad de organismos, tanto vegetales como animales; entre los que se encuentra una amplia variedad de aves marinas, acuáticas y terrestres, así como mamíferos marinos, peces, crustáceos y algas (Lara-Lara, *et al.*, 2008; Caso, *et al.*, 2004; EPA, 2010).

Independientemente de los eucariotas presentes en los sistemas marinos, los organismos más abundantes en el océano son los procariotas: bacterias y arqueas. Estas dominan el océano en diversidad, abundancia y actividad, siendo las responsables de la conducción de los principales ciclos biogeoquímicos (Duarte, 2010; Galand, *et al.*, 2010). Recientemente se ha considerado que la profundidad es el factor principal que define las diferencias en la composición de la comunidad microbiana marina, pero su investigación se dificulta de sobremanera por su inaccesibilidad (La Cono, *et al.*, 2009; Galand, *et al.*, 2010).

Dentro de las Eubacterias tenemos a las Gram-Positivas y Gram-negativas, donde encontramos a la clase Proteobacteria, que comprende la rama filogenética más grande y diversa, llegando a ser de gran interés médico, industrial y agrícola (Kersters, *et al.*, 2006). Las proteobacterias constan de más de 460 géneros y 1600 especies, distribuidos en cinco subclases importantes,

conocidas como Alfa, Beta, Gamma, Delta y Épsilon proteobacterias, las cuales se describen en la tabla 1 (Galand, *et al.*, 2010; Kersters, *et al.*, 2006).

Tabla I. Características y ejemplos de las diferentes subclases de Proteobacterias.

Subclase	Géneros	Especies	Características	Ejemplos
α -Proteobacteria	140	425	En esta subclase se encuentran la mayoría de las proteobacterias oligotróficas, se caracterizan por su amplia diversidad morfológica y metabólica, encontrando bacterias metilotróficas, quimiolitótrofas, así como bacterias fijadoras de nitrógeno. (Kersters, <i>et al.</i> , 2006; Mohapatra P., 2008).	<i>Agrobacterium</i> <i>Caulobacter</i> <i>Hypomicrobium</i> <i>Nitrobacter</i> <i>Rizobium</i> <i>Rhodospirillum</i> <i>Rickettsia</i>
β -Proteobacteria	75	220	Metabólicamente las β -proteobacterias coinciden en parte con las α -proteobacterias, por lo tanto, podemos encontrar bacterias quimiolitótrofas, quimioheterótrofas, metilótrofas, fotolitótrofas y algunas fijadoras de nitrógeno (Kersters, <i>et al.</i> , 2006, Mohapatra P., 2008).	<i>Bordetella</i> <i>Burkholderia</i> <i>Leptothrix</i> <i>Neisseria</i> <i>Nitrosomonas</i> <i>Sphaerotilus</i> <i>Thiobacillus</i> <i>Thiomicrospira</i>
γ -Proteobacteria	180	750	Las γ -proteobacterias constituyen el subgrupo más grande de las proteobacterias, con una gran variedad de tipos fisiológicos. Cuenta con bacterias fotosintéticas púrpuras de azufre (PS), así como organismos quimiorganotróficas, fotolitótrofos, quimiolitotróficas y algunos metilótrofos (Kersters, <i>et al.</i> , 2006; Mohapatra P., 2008).	<i>Azotobacter</i> <i>Beggiatoa</i> <i>Chromatium</i> <i>Escherichia</i> <i>Haemophilus</i> <i>Leucothix</i> <i>Methylococcus</i> <i>Photobacterium</i> <i>Pseudomonas</i> <i>Vibrio</i>

δ-Proteobacteria	60	160	Esta subclase se caracteriza por su metabolismo quimiorganótrofo, y se puede dividir en dos grupos. El primer grupo contiene las bacterias depredadoras de otros procariontes, y el segundo grupo está conformado por organismos anaerobios generadores de sulfuro a partir de sulfato y azufre. (Kersters, <i>et al.</i> , 2006; Mohapatra P., 2008).	<i>Bdellovibrio</i> <i>Desulfovibrio</i> <i>Desulfuromonas</i> <i>Myxococcus</i> <i>Stigmatella</i>
ε-Proteobacteria	6	50	Es la subclase más pequeña de la clase proteobacteria. La mayoría de estas especies son microaerófilos, quimiorganótrofos y no sacarolíticas (Kersters, <i>et al.</i> , 2006; Mohapatra P., 2008).	<i>Campylobacter</i> <i>Helicobacter</i>

El descubrimiento de los microorganismos, ha llevado a la necesidad de estudiar su heterogeneidad, así como sus características específicas, por lo que el estudio de la diversidad bacteriana ha sido abordado de diferentes maneras (Madigan, *et al.*, 2009). La invención del microscopio en el año 1665 por el matemático y naturalista inglés Robert Hooke, le abrió paso a la microbiología, desarrollándose ampliamente en la segunda parte del siglo XIX (Madigan, *et al.*, 2009; Caballero, 2008). A través de los años los microscopios han sido una herramienta fundamental para el estudio de los microorganismos. El desarrollo de esta técnica ha llevado a la creación de métodos cada vez más especializados (Madigan, *et al.*, 2009; Caballero, 2008). Un ejemplo, es la cuantificación de bacterias mediante la siembra de diluciones de suspensiones

bacterianas en medios específicos, seguido de la cuantificación de unidades formadoras de colonias (UFC). Sin embargo, este método es obstaculizado por el tiempo de crecimiento así como la subestimación del número correcto de bacterias (Pathak S, *et al.*, 2012).

A finales de los años setenta la aparición de las técnicas moleculares modernas revolucionó el conocimiento de los organismos vivos, en especial la de los microorganismos. La caracterización de microbios utilizando métodos moleculares ha llevado a la comprensión de la diversidad microbiana (Chandramohan, 2005; De Long, 2005). Dicha caracterización se ha llevado a cabo en particular por la comparación de secuencias de genes localizados en ADN ribosomal (16S), proporcionando una nueva perspectiva en la interpretación de la relación evolutiva microbiana (De Long, 2005).

En la actualidad los métodos moleculares como PCR en tiempo real, FISH (Hibridación fluorescente *in situ*), y los microarreglos, son los procedimientos más especializados para la identificación de microorganismos (Chandramohan, 2005; Dorigo, *et al.*, 2005). Por otro lado, la perspectiva basada en la amplificación por PCR, es actualmente la herramienta más utilizada en la investigación de la biodiversidad microbiana marina (Dorigo, *et al.*, 2005).

El PCR en tiempo real es un método cuantitativo que puede ofrecer enfoques importantes para la investigación. Esta técnica determina de manera más exacta y reproducible la cuantificación de ADN y ARN en comparación a

cualquier otro método basado en PCR. Este sistema se basa en la detección y cuantificación de una sonda fluorescente unida al ADN, lo cual permite conocer y registrar en todo momento la cinética de la reacción de amplificación (Dorigo, *et al.*, 2005; Costa, 2004).

El PCR tiempo real cuenta con una serie de importantes ventajas para la investigación, la primera gran ventaja de esta técnica es su rapidez, ya que no requiere de ningún análisis posterior (electroforesis, etc.), otra ventaja importante es que al ser un sistema cerrado, disminuye el riesgo de contaminación y elimina fuentes potenciales de error (Costa, 2004; Cortázar A. y Silva E., 2004). El sistema de PCR tiempo real permite una amplificación confiable con alta especificidad y sensibilidad (Cortázar A. y Silva E., 2004), por lo que, la cuantificación de ADN y ARN presentes en las muestras es realizada de manera más sencilla, precisa y con un rango mucho mayor que los procedimientos convencionales. Esto hace del PCR tiempo real la técnica por excelencia para la cuantificación específica de ácidos nucleicos, al ser un procedimiento de alta precisión y exactitud (Costa, 2004; Cortázar A. y Silva E., 2004).

Desde inicios del siglo XX, el Golfo de México ha sido una zona de explotación petrolera para México, lo que ha contribuido al desarrollo económico del país. Por desgracia esto también ha ocasionado el deterioro del ecosistema marino, causado por la explotación de los yacimientos petroleros ubicados en el suelo marino (Lara-Lara, *et al.*, 2008; Rivera-Castro; 2008).

Hoy en día, México enfrenta un importante reto en materia energética, por lo que la estrategia nacional de energía plantea la exploración de nuevos yacimientos en agua profunda del Golfo de México, por lo que, conocer las características de la comunidad de proteobacterias es crucial para evaluar la composición del ecosistema marino y permitirnos evaluar los daños al presentarse problemas por derrames de hidrocarburos (PEMEX, 2011; Mohapatra P., 2008).

La presente investigación, se realizó por la necesidad de conocer la composición de las comunidades bacterianas de proteobacterias en el Golfo de México a lo largo de la columna de agua, por el importante papel que juegan los microorganismos en los principales ciclos biogeoquímicos y en la estabilidad del ecosistema marino, ya que las diferencias en la estructura de la comunidad microbiana refleja la capacidad de los microorganismos para responder a determinados sustratos y factores ambientales (Mohapatra P., 2008).

II. Hipótesis

Existe una gran diversidad de proteobacterias (alfa, beta, gamma, delta y épsilon) en aguas profundas del Golfo de México.

III. Objetivo

III.1 Objetivo General

Evaluar la diversidad de proteobacterias (alfa, beta, gamma, delta y épsilon) en aguas profundas del Golfo de México.

III.2 Objetivos Particulares

- Extraer ADN de las muestras colectadas en el Golfo de México durante el crucero oceanográfico XIXIMI-2.

- Identificar la presencia de ADN de proteobacterias en aguas profundas del Golfo de México por medio de PCR tiempo real.

- Contrastar la presencia de proteobacterias en la columna de agua en diferentes puntos del Golfo de México.

IV. Método

IV.1 Estrategia de muestreo

Se colectaron muestras en aguas profundas del Golfo de México durante el crucero oceanográfico XIXIMI-2, realizado del 1 al 19 de julio del 2011.

El método de muestreo se basó en la colecta de 2 litros (L) de agua marina de cada botella oceanográfica (Niskin y GoFlo) procedente de la roseta, dentro de botellas Nalgene de 2 L. Posteriormente el contenido de cada botella fue filtrado mediante una bomba peristáltica Cole Parmer Easy Load modelo 7518-00, en la cual se instaló un filtro STERIVEX™-GP 0.22µm millipore al extremo final de la manguera. Al finalizar el filtrado de los 2 L de agua de mar de cada una de las botellas Nalgene, se rotuló cada filtro, se cubrió con papel parafilm en ambos extremos y se colocó en su empaque previamente rotulado con el número de estación y profundidad para finalmente almacenarlo a -20°C.

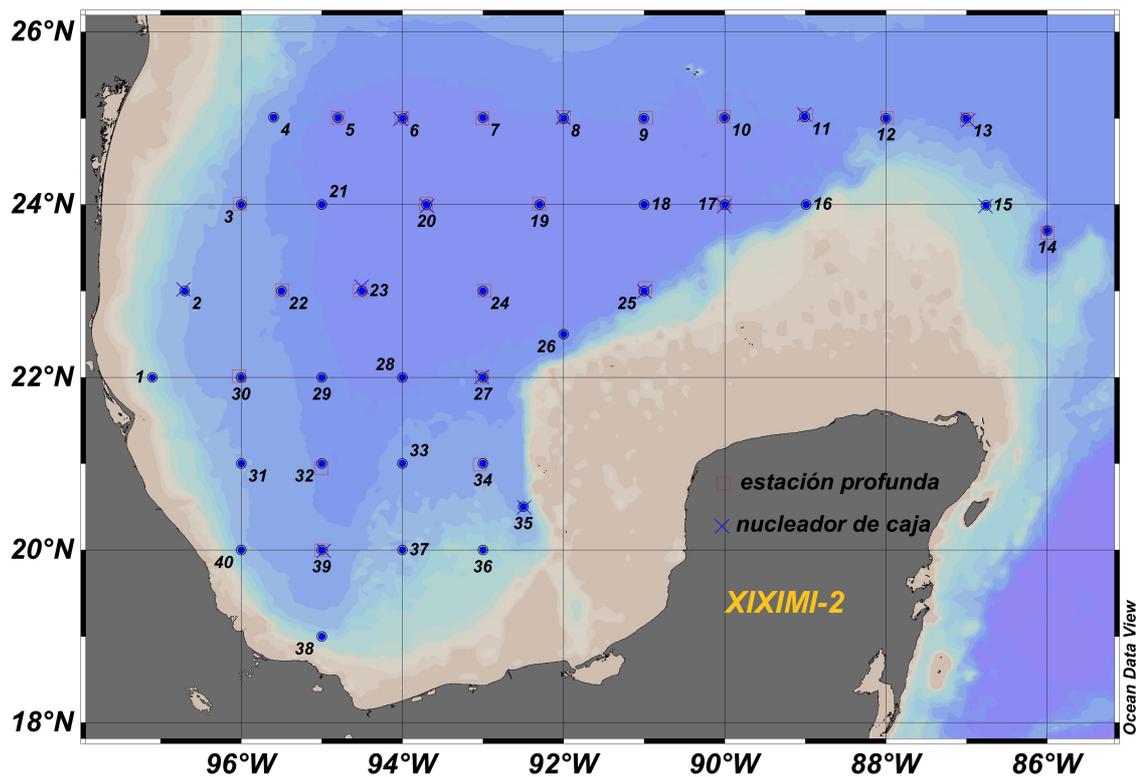


Figura 1. Mapa del golfo de México donde se especifican las estaciones realizadas en la segunda campaña del XIXIMI.

IV.2 Selección de oligonucleótidos

Para la selección de oligonucleótidos específicos para cada una de las subclases de proteobacteria, se llevó a cabo una revisión de la literatura, arrojando como resultado los oligonucleótidos descritos en la tabla 2.

Grupos bacterianos	Secuencia de oligonucleótidos
α -Proteobacteria	F 5'-ARCGAACGCTGGCGGCA-3'
	R 5'-TACGAATTTYACCTCTACA-3'
β -Proteobacteria	F 5'-GGGGAATTTTGGACAATGGG-3'
	R 5'-ACGCATTTCACTGCTACACG-3'
λ -Proteobacteria	F 5'-CMATGCCGCGTGTGTGAA-3'
	R 5'-ACTCCCCAGGCGGTCDACTTA-3'
δ -Proteobacteria	F 5'-TTCCTTGGAACAGGGAGTG-3'
	R 5'-TTCATGGAGTCGAGTTGCAG-3'
ϵ -Proteobacteria	F 5'- ATGACGCATTTTCGGTGTGTA -3'
	R 5'- GTTTAGGGCGTGGACTACCA-3'

Tabla II. Grupos bacterianos a identificar empleando oligonucleótidos específicos.

IV.3 Extracción de ADN

La extracción de ADN, se llevó a cabo siguiendo el protocolo del Kit de extracción de ADN Wizard® Genomic de Promega, con algunas modificaciones. Se agregaron 600 μ L de solución de lisis al filtro STERIVEX™ y se dejó incubar durante 8 minutos a 80°C. Se extrajo la muestra del filtro con una jeringa de 1 μ L y se colocó la muestra en un tubo eppendorf de 1.5 mL, posteriormente se agregaron 3 μ L de solución ARNasa e incubó durante 30 minutos a 37°C. Para la segunda fase, se agregaron 200 μ L de solución de

precipitación de proteínas, se mezcló con vortex e incubó en hielo durante 5 minutos, para posteriormente centrifugar a 13200 rpm durante 3 minutos. Para la fase de precipitación y rehidratación de ADN, se pasó el sobrenadante a otro tubo donde se agregaron 600µL de isopropanol a temperatura ambiente, después se centrifugó a 13200rpm durante 2 minutos, se descartó el sobrenadante y se agregó 600µL de etanol al 70% a temperatura ambiente. Posteriormente se volvió a centrifugar a 13200rpm durante 2 minutos, para descartar el etanol y permitir la evaporación total del etanol; al finalizar, se rehidrató el ADN en 80µL de agua libre de nucleasas durante toda la noche a 4°C.

IV.4 Estandarización de la amplificación mediante PCR en tiempo real

Para llevar a cabo la amplificación de ADN bacteriano mediante PCR en tiempo real, se estandarizó la concentración de ADN y de los oligonucleótidos. Se utilizó como estándar una muestra de 2 L de agua marina de la costa de Ensenada, B.C., la cual se trató de igual manera que las muestras colectadas en el Golfo de México.

Se cuantificó la concentración de ADN de la muestra estándar, utilizando un espectrofotómetro GE Nanovue, aplicando una longitud de onda de 230nm. Se prepararon 5 diluciones de la muestra por triplicado (1ng, 0.1ng, 0.01ng, 0.001ng y 0.0001ng de ADN) para después llevar a cabo la reacción de amplificación de ADN mediante PCR en tiempo real utilizando el sistema StepOnePlus de Applied Biosystems. Para poder determinar la concentración

de ADN en cada una de las muestras estándar se utilizó una ecuación logarítmica (4), obtenida mediante el software matemático MATLAB®.

$$(1) y = a(\log(x)) + b$$

Despejar:

$$(2) y = 10^{a \log x + b}$$

$$(3) y = (10^{\log x})^a (10^b)$$

Resultados obtenidos mediante MATLAB®:

$$(4) y = 9.7654E+31 * \text{VALOR (CT)}^{-21.849}$$

y = Concentración de ADN en la muestra

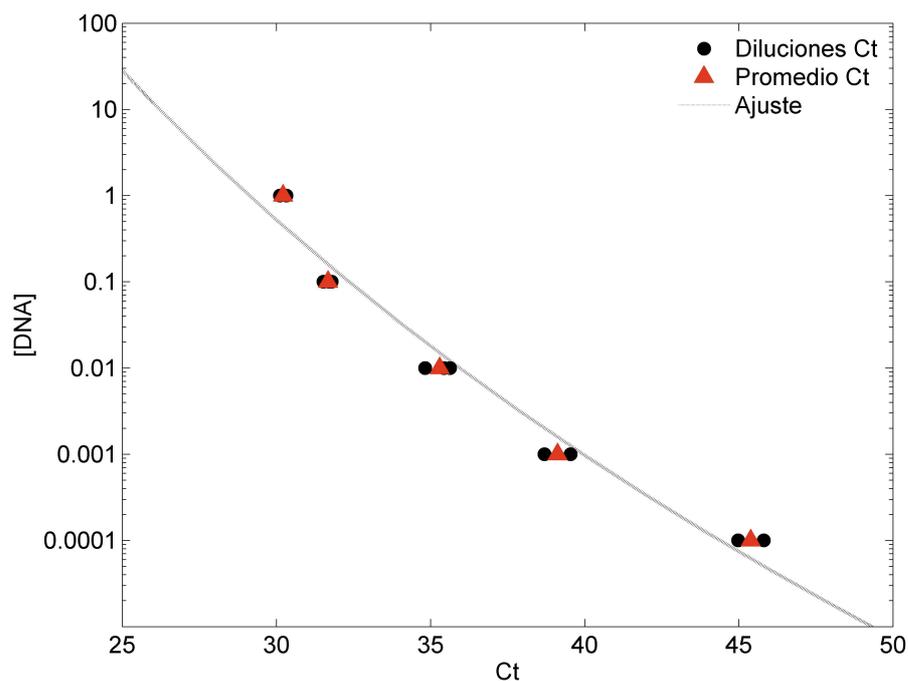


Figura 2. Amplificaciones de las diluciones de ADN de proteobacterias de la muestra estándar por triplicado, obtenidas mediante PCR en tiempo real, utilizadas para determinar la concentración de ADN de cada dilución, por medio de la aplicación de una ecuación logarítmica.

IV.5 Amplificación mediante PCR en tiempo real

Se utilizó la técnica de PCR en tiempo real, en las muestras colectadas en cada una de las 40 estaciones monitoreadas durante el crucero oceanográfico XIXIMI-2, para detectar la presencia de ADN de las cinco subclases de proteobacterias.

Se preparó la placa de 96 pozos (0.1mL) MicroAmp® de Applied Biosystems, siguiendo las siguientes especificaciones por reacción: se agregaron 5µL de Fast SYBR® Green Master Mix de Applied Biosystems, así mismo, se agregaron 0.3µL de cada uno de los oligonucleótidos (Forward y Reverse) a una concentración inicial de 20µM en cada fila respectivamente, para finalmente agregar ADN a una concentración de entre 4 y 5 ng/µL por reacción. Después, se centrifugó cada placa en una centrífuga Multifuge 1S-R de Heraeus durante 2 minutos a 4400 rpm, y 23°C. Posteriormente, se utilizó el sistema de PCR tiempo real StepOnePlus™ de Applied Biosystems para realizar la reacción de amplificación del ADN.

Las condiciones de amplificación consistieron en una desnaturalización inicial a 95°C durante 5 minutos y 50 ciclos de 95°C por 30 segundos, 55°C por 1.5 minutos y 72°C por 1 minuto.

IV.6 Método de análisis

Para identificar las subclases de proteobacterias, presentes en las muestras de la columna de agua del Golfo de México, el valor de Ct obtenido de cada muestra, se sustituyó en la fórmula (3) para determinar la concentración de ADN. Posteriormente, se llevó a cabo el graficado de cada uno de los resultados por estación y profundidad, utilizando la aplicación Microsoft Excel de Microsoft Office.

V. Resultados

Una vez realizada la amplificación del ADN bacteriano de todas las estaciones y sus profundidades mediante PCR en tiempo real, se determinó la concentración de ADN de cada uno de los subgrupos de proteobacterias. Se analizaron todas las profundidades de cada estación, de 150 m, 400 m (mínima concentración de oxígeno), 600 m, 800 m, 1000 m, 1200 m, 1500 m, 2000 m, 2500 m y Fondo (a 20 metros del fondo marino).

Total de estaciones en el Golfo de México

Al analizar los datos obtenidos mediante la amplificación de ADN, utilizando la técnica de PCR en tiempo real en las 40 estaciones de muestreo del Golfo de México, se observó una predominancia de la subclase Alfaproteobacteria con un 65%, seguido de la subclase Betaproteobacteria con un 20% y Épsilonproteobacteria con 13%, mientras que la presencia de las subclases Gammaproteobacteria y Deltaproteobacteria es casi nula con 1%, dichos resultados se pueden observar en la Figura 3.

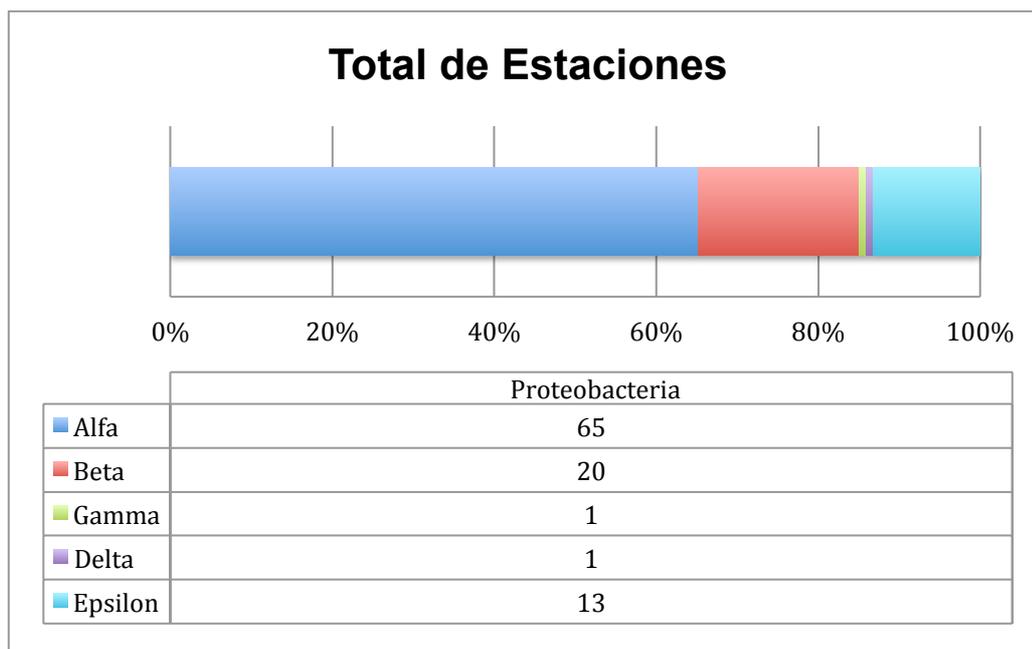


Figura 3. Porcentaje total de la concentración de ADN en las 40 estaciones del Golfo de México, realizadas en la segunda campaña del crucero oceanográfico XIXIMI.

Total de las estaciones por profundidad

Se analizaron los resultados correspondientes a cada uno de las profundidades (150 m, 400 m, 600 m, 800 m, 1000 m, 1200 m, 1500 m, 2000 m, 2500 m y fondo) en las 40 estaciones de muestreo.

Se puede observar en los resultados obtenidos de las muestras colectadas en las 40 estaciones a una profundidad de 150 m (Figura 4), una predominancia de la subclase Alfa con 51%, seguido por la subclase Beta con 37%. La subclase Épsilon obtuvo un 12% siendo la tercera más abundante, mientras que las

subclases Delta y Gammaproteobacteria tuvieron una baja presencia a esta profundidad, con 1% y menos del 1% respectivamente. En la Figura 5, podemos ver ejemplos de la predominancia de la subclase Alfa en diferentes estaciones a una profundidad de 150m.

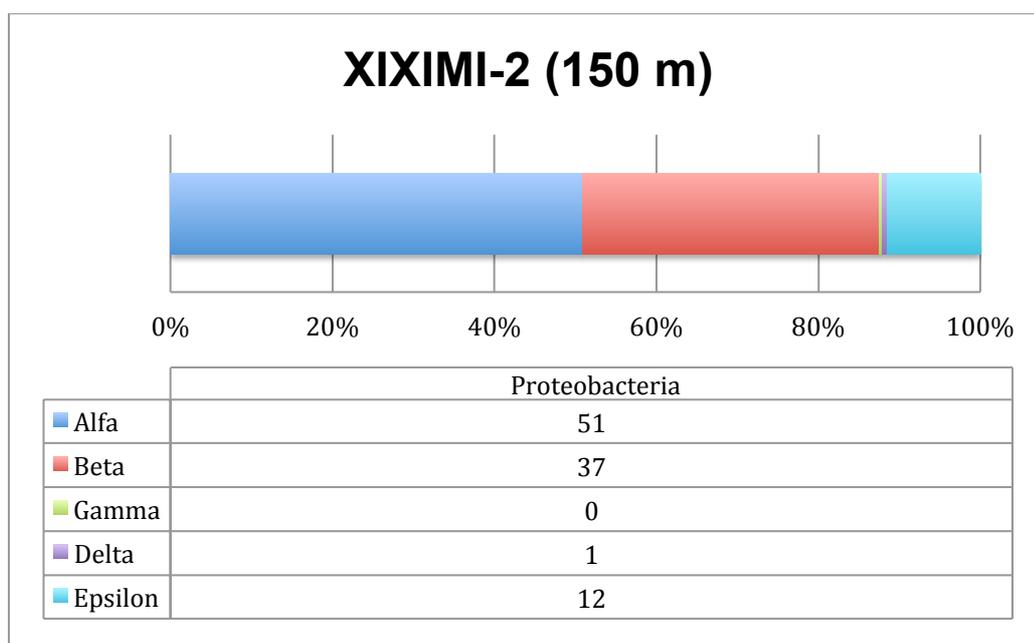


Figura 4. Concentración de ADN a una profundidad de 150 m en el Golfo de México.

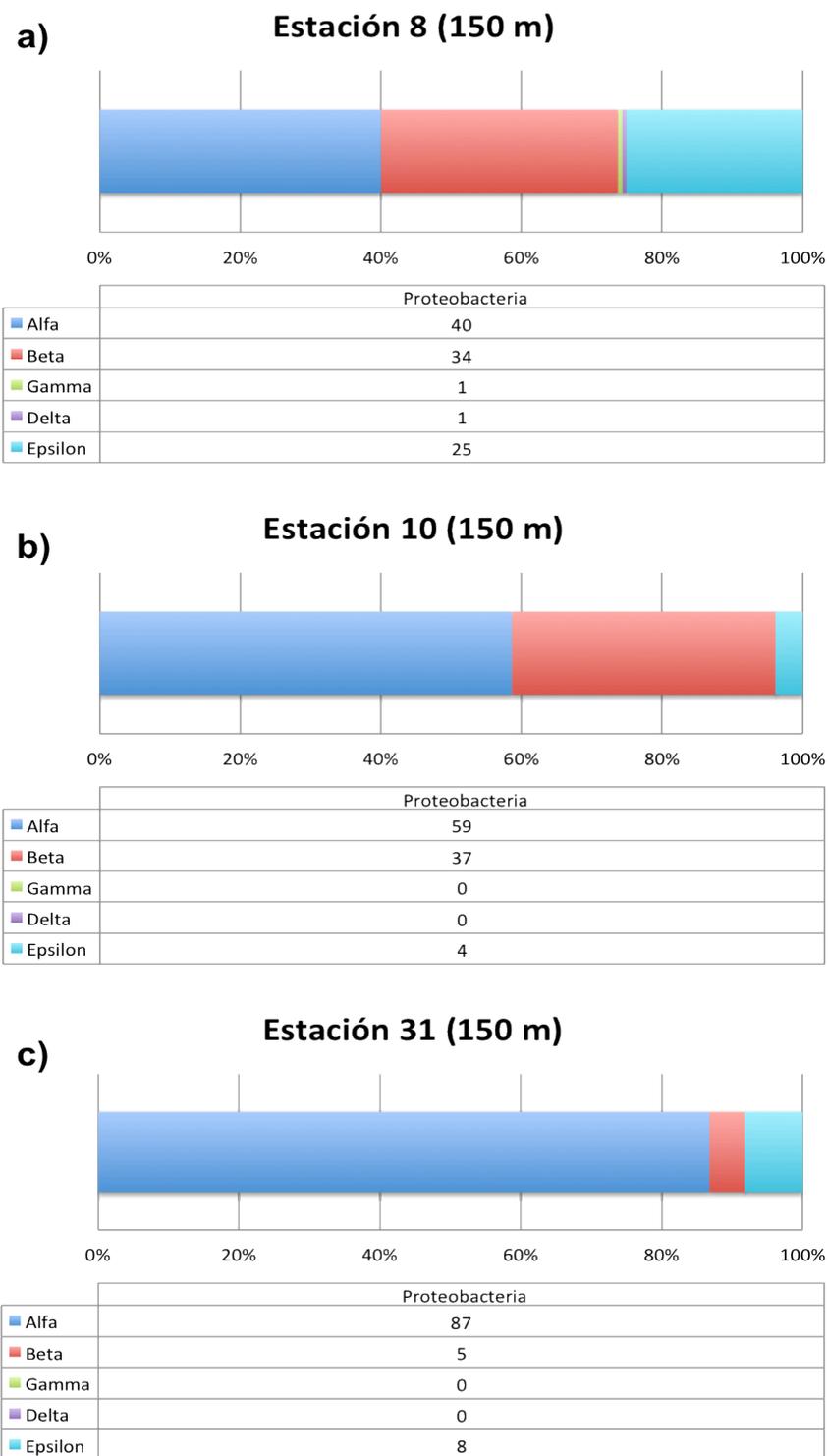


Figura 5. En esta Figura, se muestran algunos ejemplos de las estaciones donde predominó la presencia de la subclase Alfa a una profundidad de 150 metros. a) Estación 8. b) Estación 10. c) Estación 31.

Los resultados obtenidos al analizar las muestras colectadas en las 40 estaciones a la profundidad de 400 m (Figura 6), muestran una predominancia de la subclase Alfaproteobacteria con 65%, mientras que la subclase Beta y Épsilon mostraron una presencia del 23% y 11% respectivamente. Por otra parte, las subclases Gamma y Deltaproteobacteria aparecen, no mas allá del 1%. En la Figura 7, se pueden ver algunos ejemplos de los resultados obtenidos en diferentes estaciones a una profundidad de 400 m, donde la subclase Alfa predomina ampliamente sobre las demás subclases.

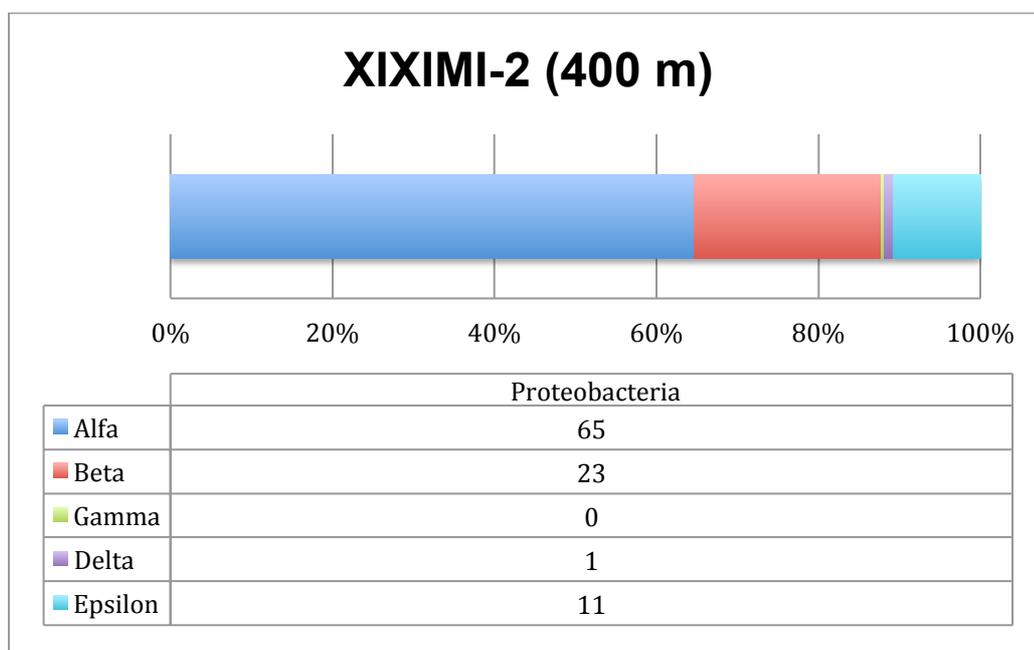


Figura 6. Concentración de ADN a una profundidad de 400 m en el Golfo de México.

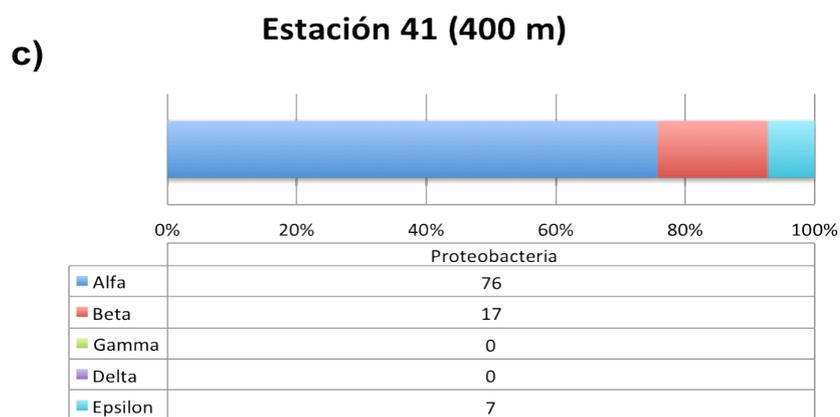
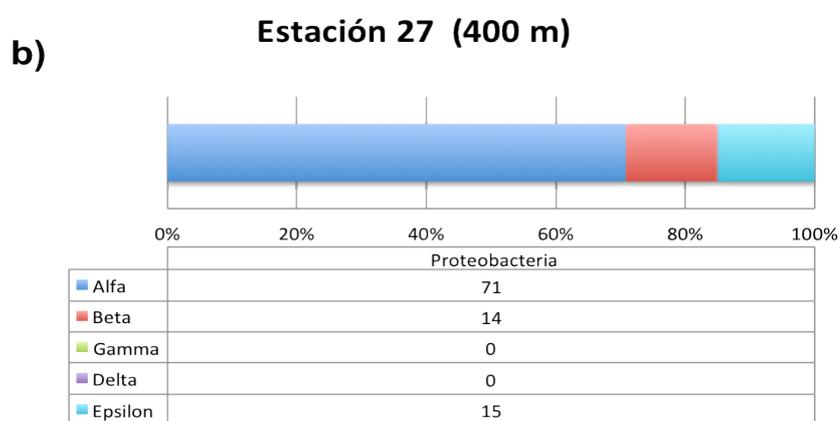
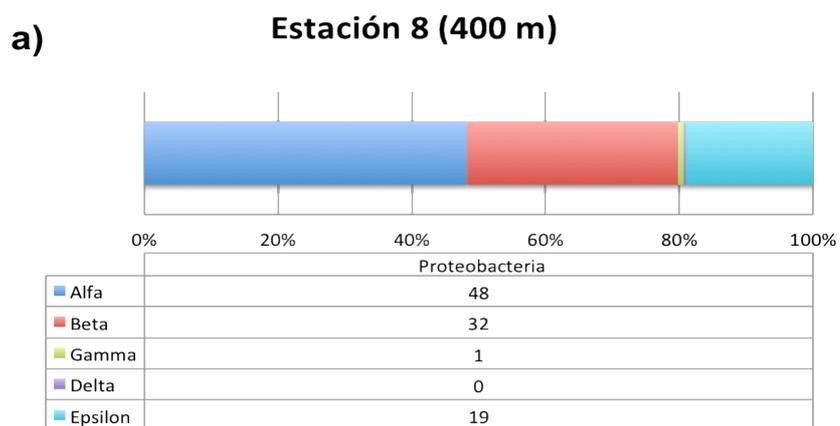


Figura 7. En esta Figura, se muestran algunos ejemplos de las estaciones donde predominó la subclase Alfa a una profundidad de 400 metros. a) Estación 8. b) Estación 27. c) Estación 41.

Al analizar las muestras colectadas en el total de las estaciones a una profundidad de 600 m (Figura 8), se obtuvieron resultados que muestran que la predominancia de la subclase Alfa fue de 76%, mientras que la subclase Beta estuvo presente en un 15%, seguido por Épsilon con 8%, y Delta y Gammaproteobacterias con 1% y menos del 1% respectivamente. En la Figura 9, se pueden observar los resultados obtenidos en diferentes estaciones a profundidad de 600m, donde la subclase Alfa fue predominante.

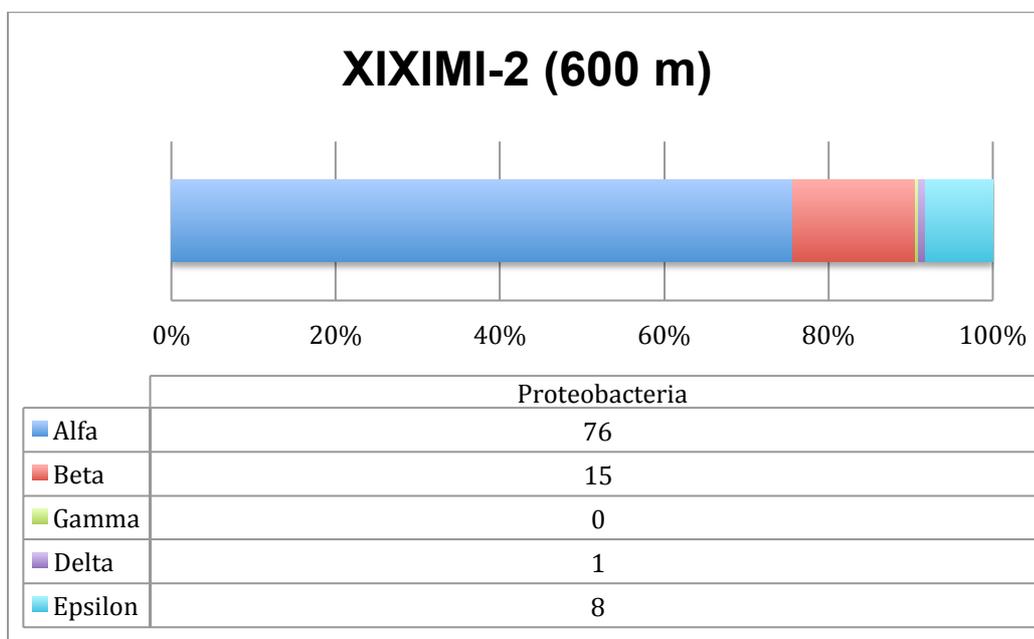


Figura 8. Concentración de ADN a una profundidad de 600 m en el Golfo de México.

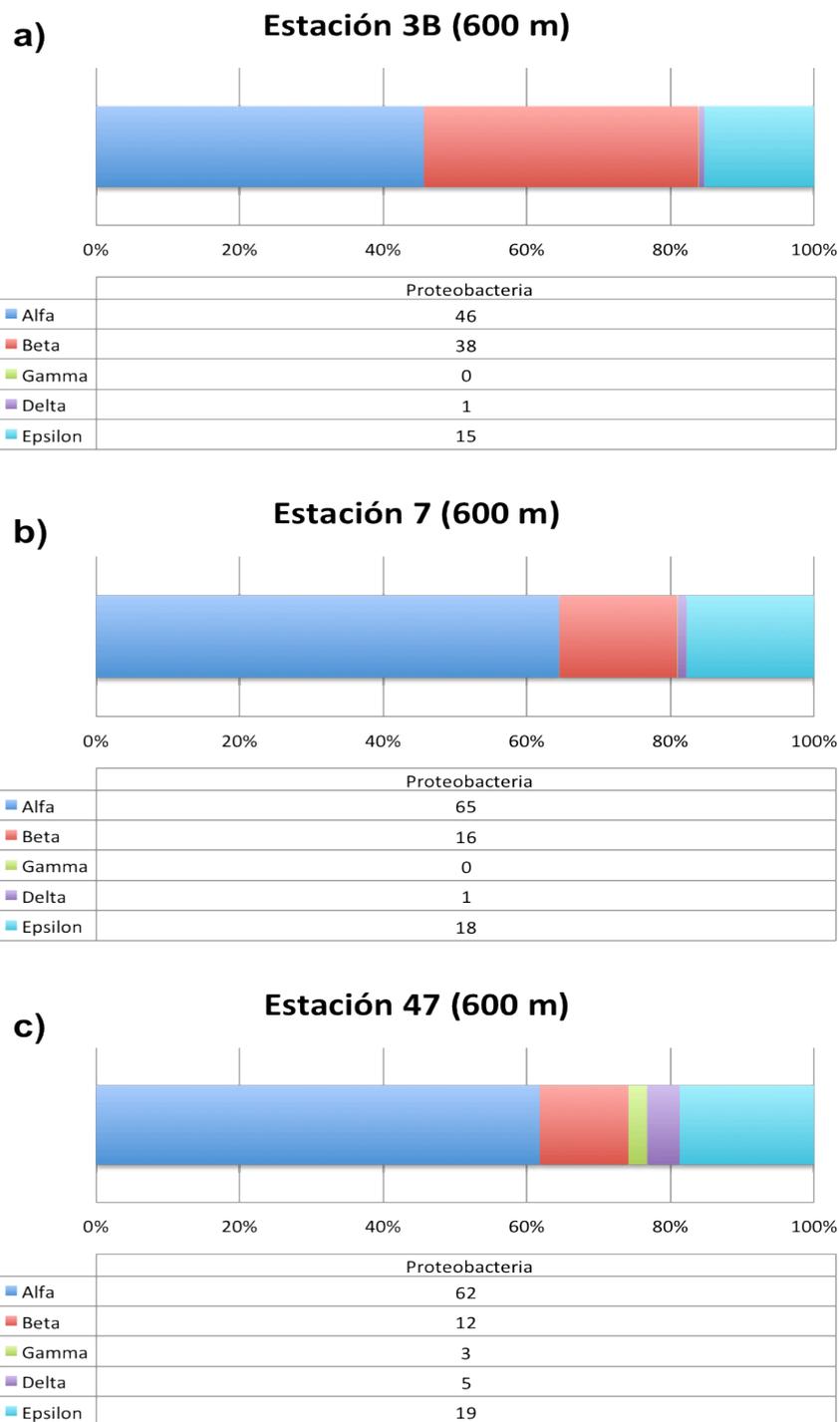


Figura 9. En esta Figura, se muestran algunos ejemplos de las estaciones donde predominó la subclase Alfa a una profundidad de 600 metros. a) Estación 3B. b) Estación 7. c) Estación 47.

Los resultados obtenidos al analizar las muestras colectadas en todas las estaciones a una profundidad de 800 m (Figura 10), mostraron una dominancia de la subclase Alfaproteobacteria con 64%, seguido por la subclase Épsilon con un 20% y la subclase Beta con 13%. A esta profundidad la subclase Gamma, se hace presente con un 3%, mientras que la subclase Delta obtuvo un 1%. En la Figura 11, se muestran estaciones en las cuales la subclase Alfa fue predominante.

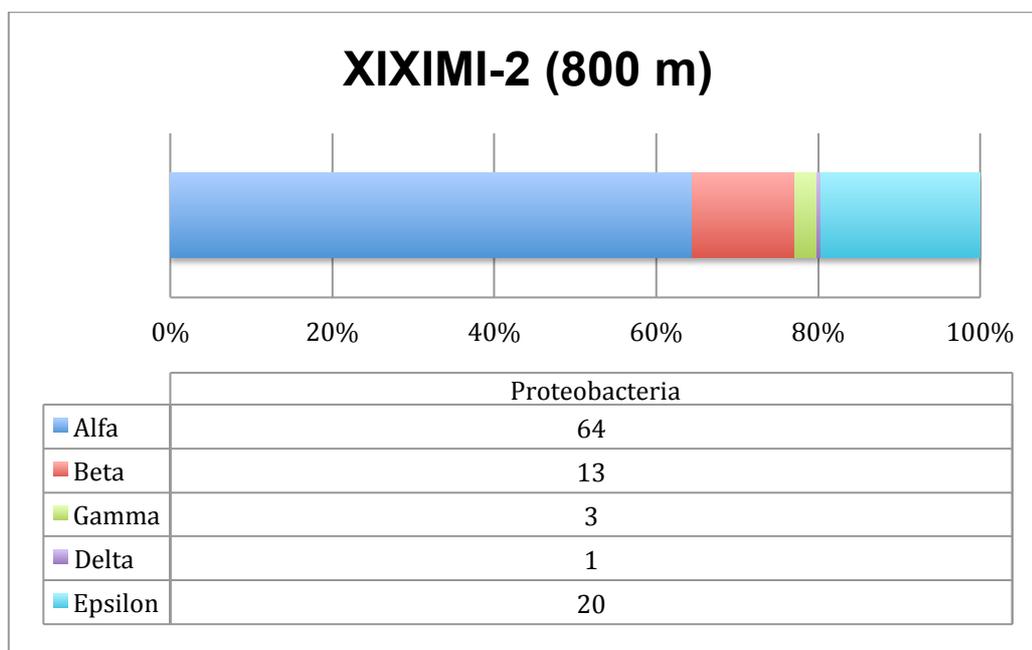


Figura 10. Concentración de ADN a una profundidad de 800 m en el Golfo de México.

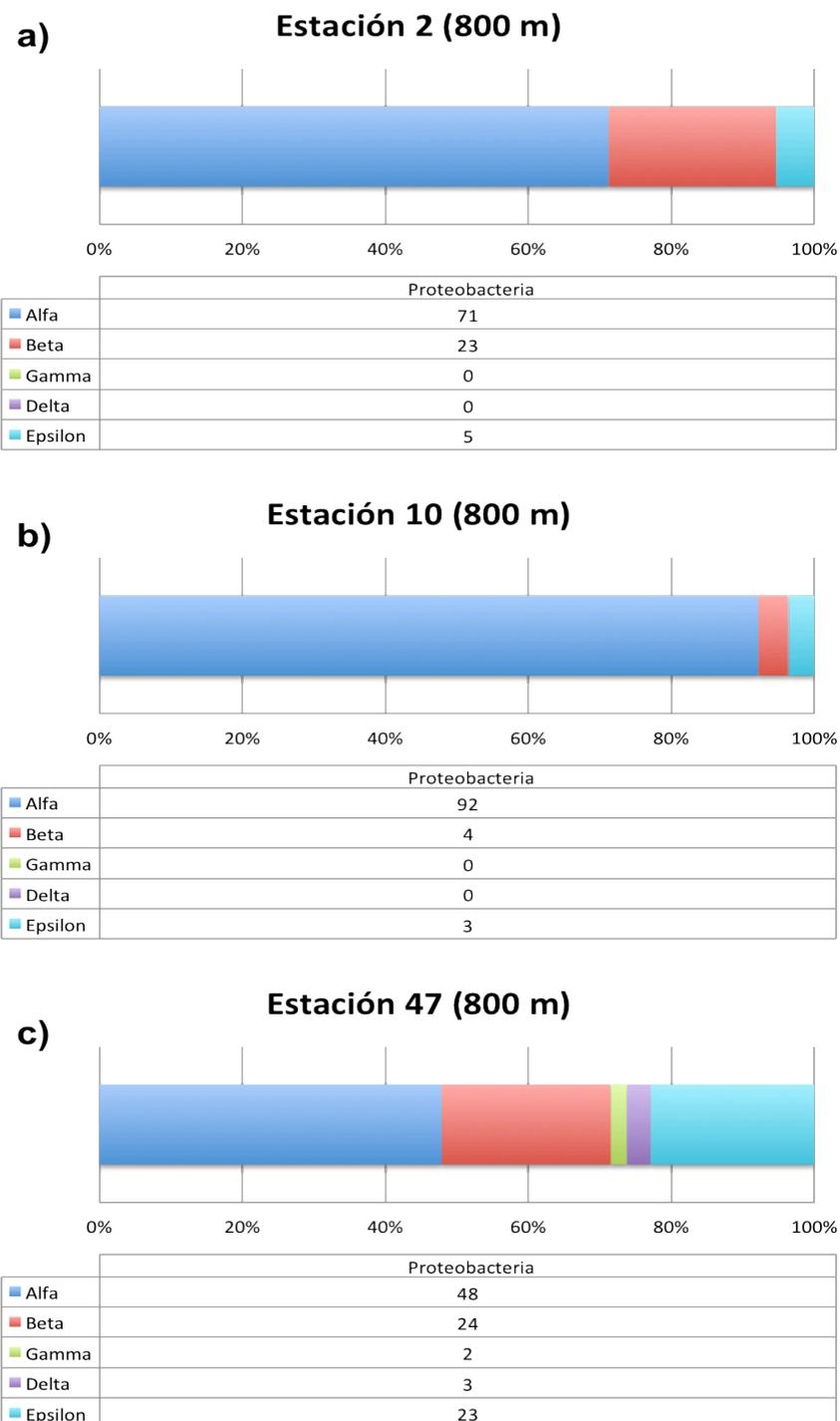


Figura 11. En esta Figura, se muestran algunos ejemplos de las estaciones donde predominó la subclase Alfa a una profundidad de 800 metros. a) Estación 2. b) Estación 10. c) Estación 47.

Los resultados obtenidos en el total de las estaciones a la profundidad de 1000 m (Figura 12), mostraron una predominancia de la subclase Alfa con 70%, mientras que las subclases Beta y Épsilonproteobacteria tuvieron una presencia similar con 15% y 14% respectivamente. A esta profundidad las subclases Gamma y Delta mostraron una presencia menor al 1%. En la Figura 13, se muestran algunos ejemplos de los resultados obtenidos a una profundidad de 1000 m en diferentes estaciones, donde se observa la predominancia de la subclase Alfa.

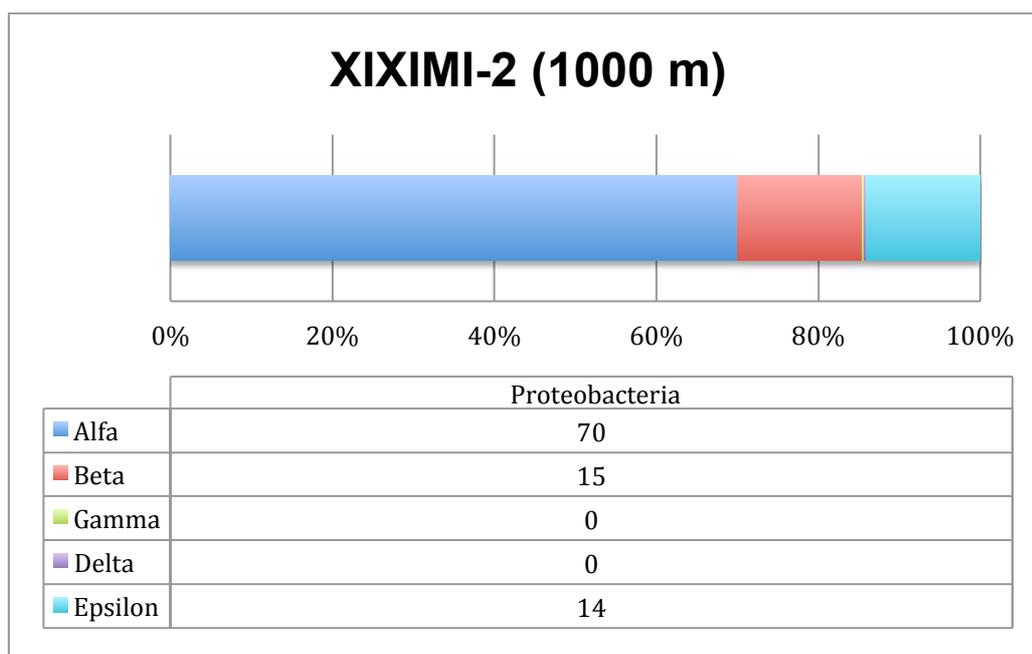


Figura 12. Concentración de ADN a una profundidad de 1000 m en el Golfo de México.

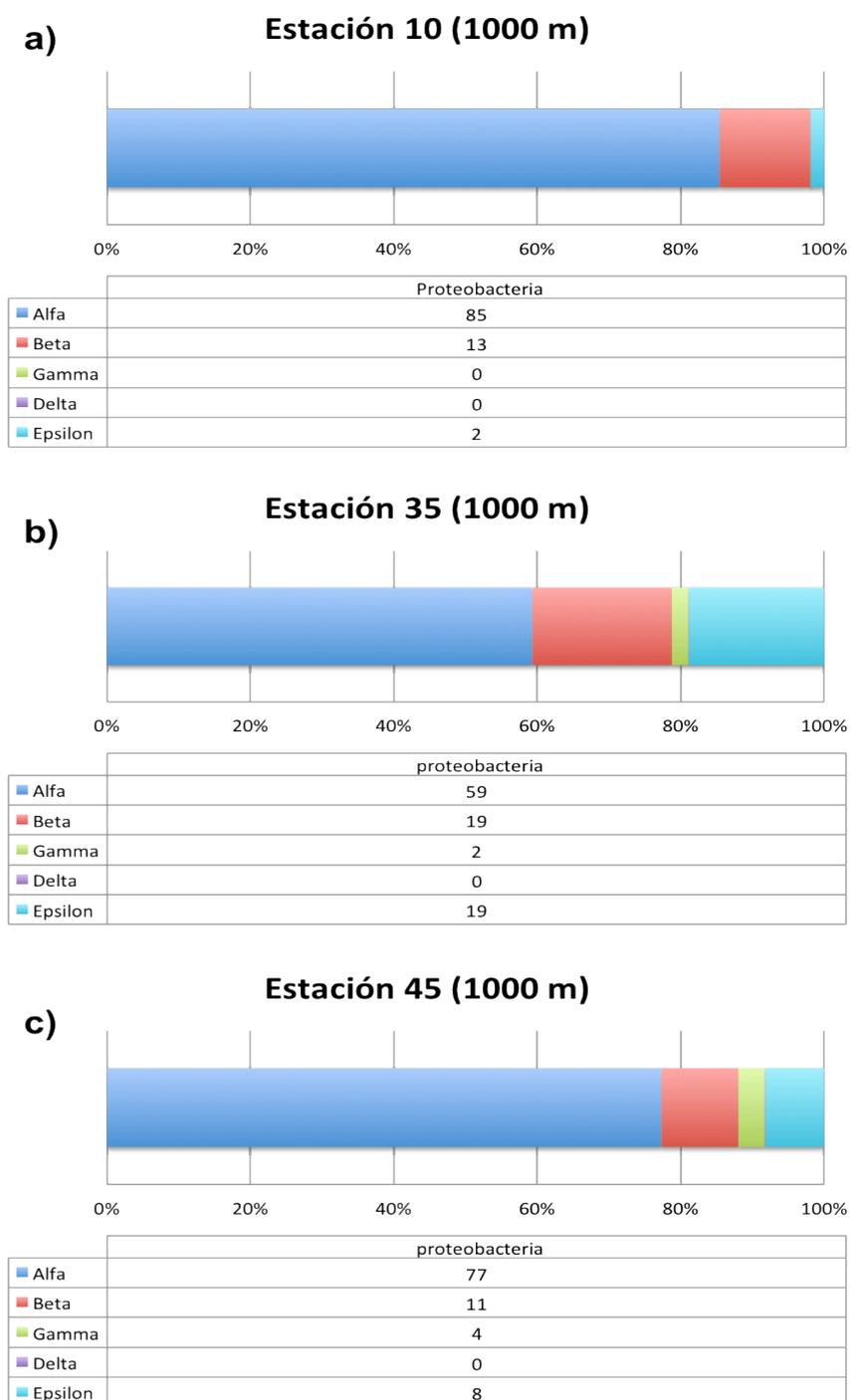


Figura 13. En esta Figura, se muestran algunos ejemplos de las estaciones donde predominó la subclase Alfa a una profundidad de 1000 metros. a) Estación 10. b) Estación 35. c) Estación 45.

Se muestra una dominancia de la subclase Alfa con 60%, en las muestras correspondientes a las 40 estaciones a una profundidad de 1200 m (Figura 14), seguido de Beta y Épsilon con 18% y 12% respectivamente. A esta profundidad, la subclase Delta estuvo presente con un 8%, mientras que la subclase Gamma presentó un 2%. La Figura 15 muestra ejemplos de los resultados obtenidos en diferentes estaciones a una profundidad de 1200 m, donde se ve la predominancia de la subclase Alfa.

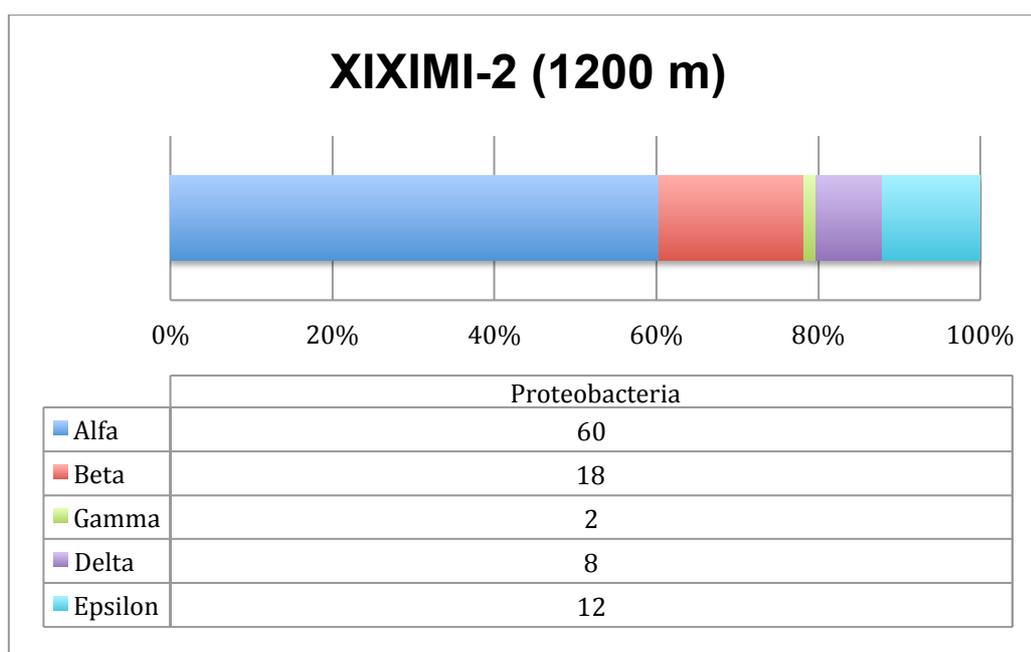


Figura 14. Concentración de ADN a una profundidad de 1200 m en el Golfo de México.

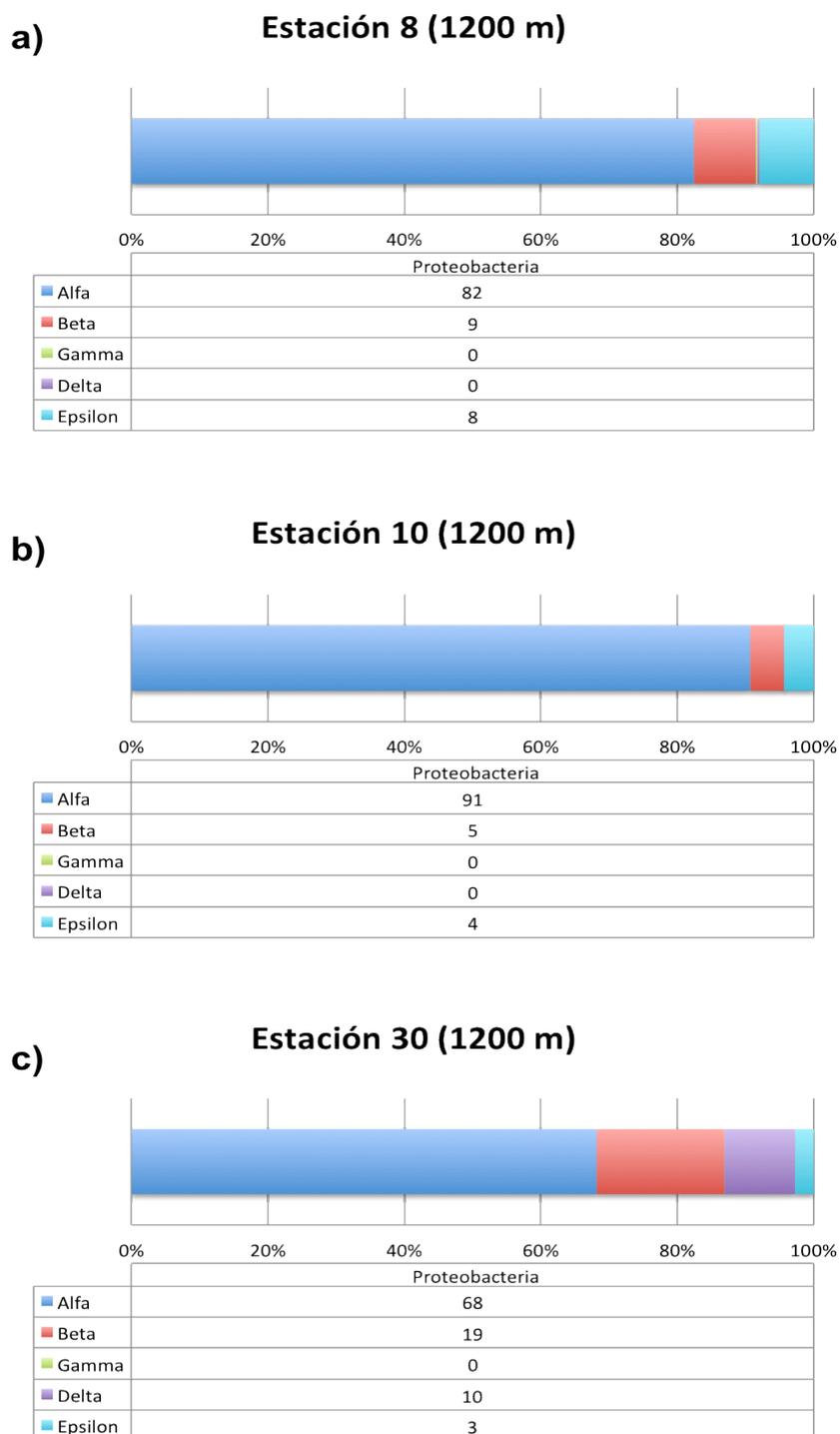


Figura 15. En esta Figura, se muestran algunos ejemplos de las estaciones donde predominó la subclase Alfa a una profundidad de 1200 metros. a) Estación 8. b) Estación 10. c) Estación 30.

La Figura 16 recopila los resultados obtenidos, en las muestras de las 40 estaciones a una profundidad de 1500 m, en los que se observa una predominancia de la subclase Alfa con un 83%, siendo ésta la profundidad en la que dicha subclase es más abundante con respecto al resto de las profundidades analizadas, mientras que las cuatro subclases restantes (Beta, Gamma, Delta y Épsilon) no están presentes mas allá del 7%. En la Figura 17, se pueden observar ejemplos donde la subclase Alfa fue predominante.

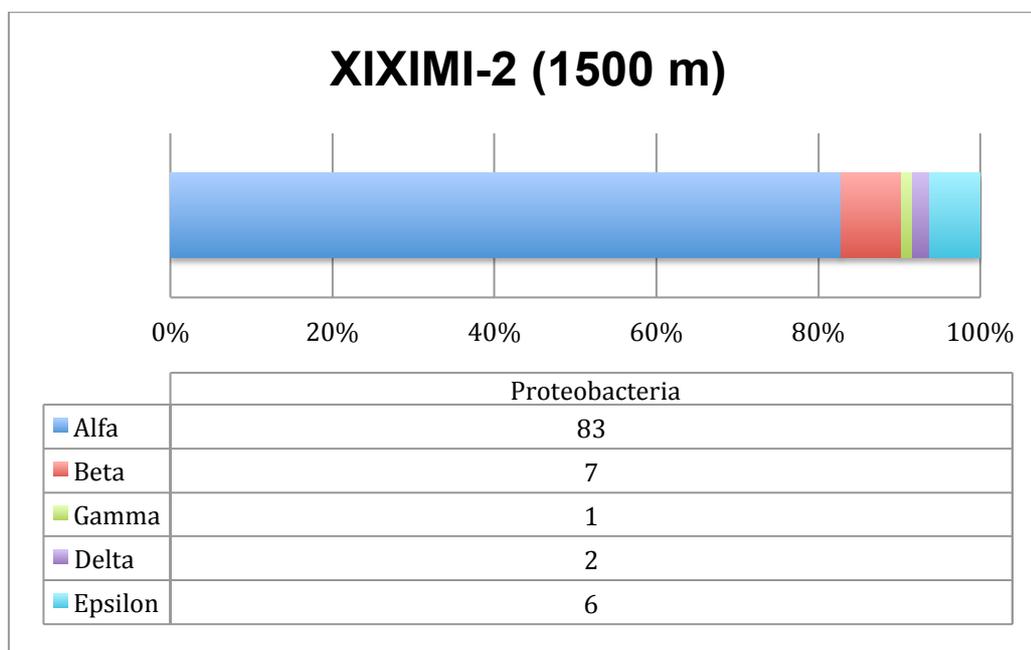


Figura 16. Concentración de ADN a una profundidad de 1500 m en el Golfo de México.

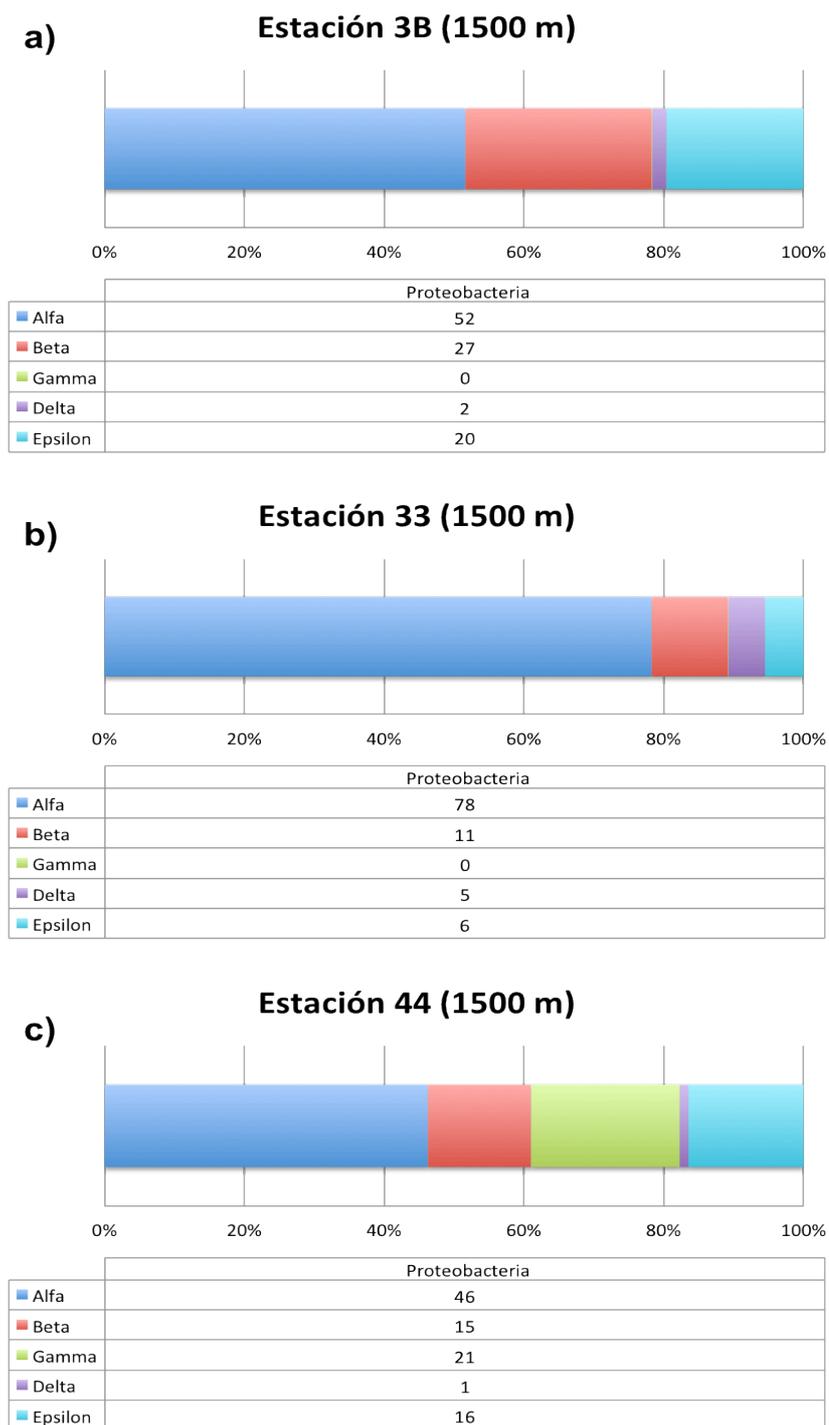


Figura 17. En esta Figura, se muestran algunos ejemplos de las estaciones donde predominó la subclase alfa a una profundidad de 1500 metros. a) Estación 3B. b) Estación 33. c) Estación 44.

En la Figura 18 se recopila el total de los resultados obtenidos en las 40 estaciones a una profundidad de 2000 m, pudiéndose observar una predominancia de la subclase Alfa con un 50%, la subclases Épsilon y Beta obtuvieron un 22% y 20% respectivamente, así como 5% para la subclase Delta y 3% para la subclase Gamma. Esto se puede ver en la Figura 19, en donde podemos observar una mayor distribución porcentual, entre las diferentes subclases de proteobacterias.

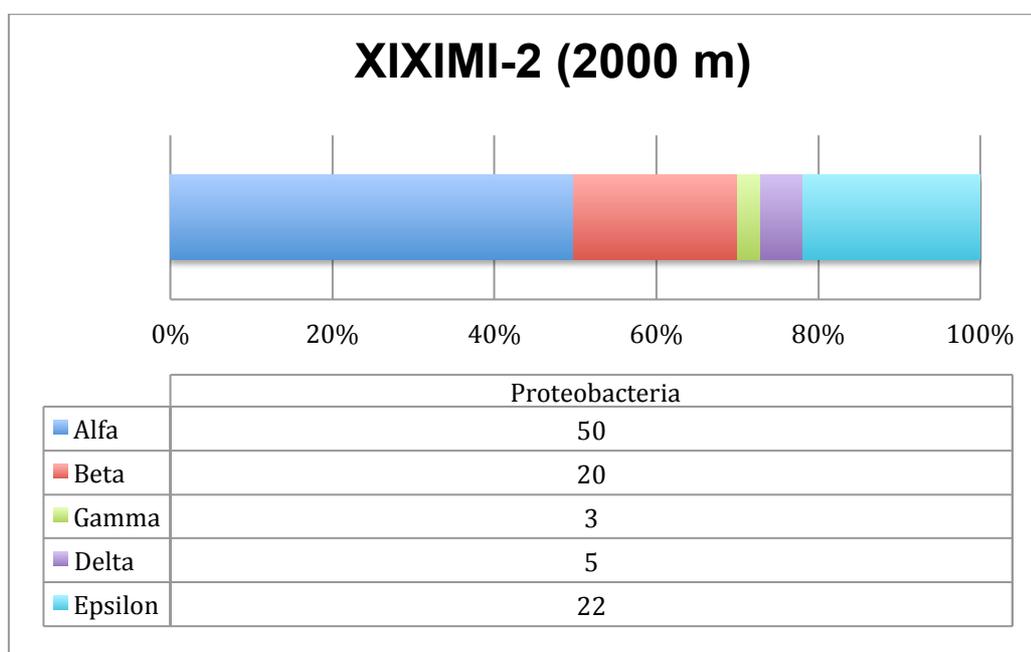


Figura 18. Concentración de ADN a una profundidad de 2000 m en el golfo de México.

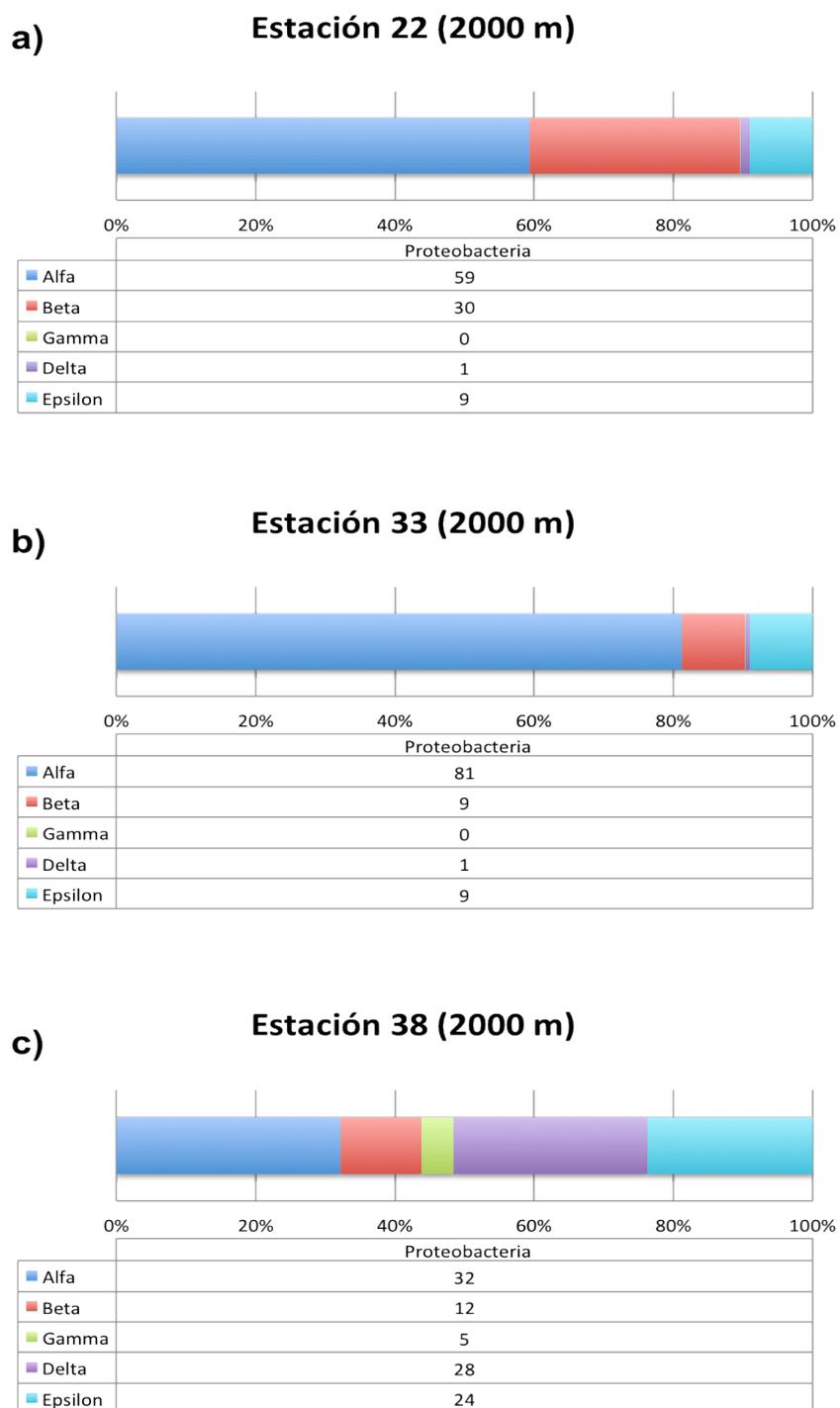


Figura 19. En esta Figura, se muestran algunos ejemplos de las estaciones donde predominó la subclase alfa a una profundidad de 2000 metros. a) Estación 22. b) Estación 33. c) Estación 38.

Los resultados obtenidos en las 40 estaciones a la profundidad de 2500 m (Figura 20), mostraron una dominancia de la subclase Alfa con 53%, seguida por la subclase Épsilon con un 36%, mientras que la subclases Beta, Gamma y Delta mostraron una presencia de 8%, 1% y 2% respectivamente. La Figura 21, muestra algunos ejemplos de los resultados en diferentes estaciones a una profundidad de 2500 m, donde se denota la dominancia de la subclase Alfa, seguida por la subclase Épsilon.

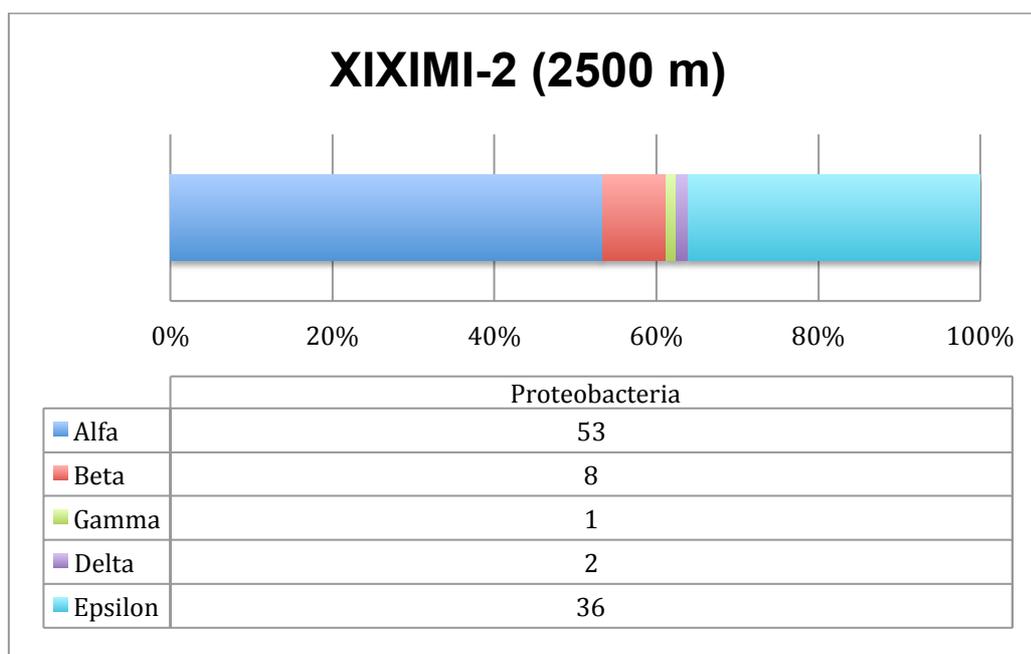


Figura 20. Concentración de ADN a una profundidad de 2500 m en el Golfo de México.

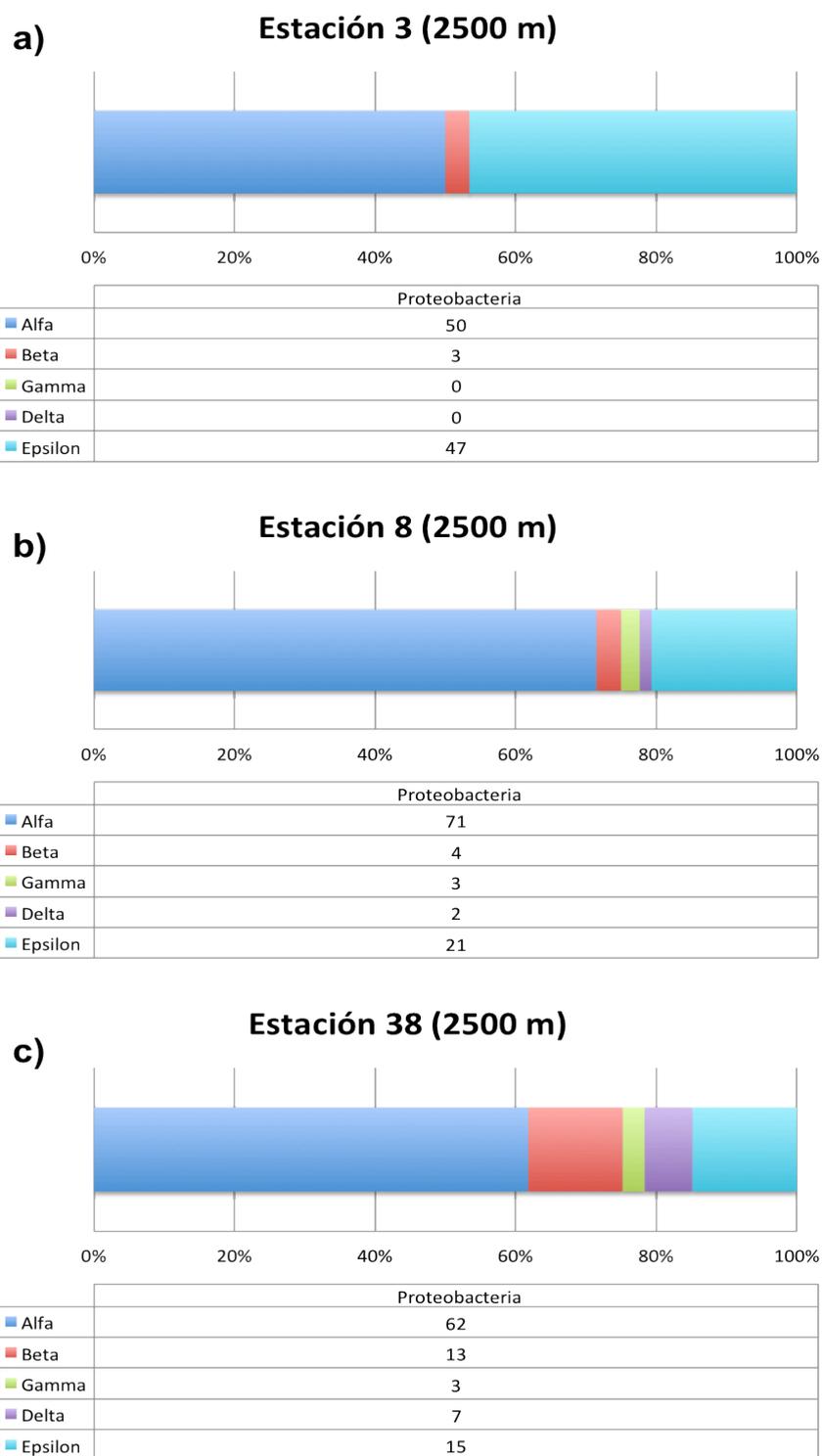


Figura 21. En esta Figura, se muestran algunos ejemplos de las estaciones donde predominó la subclase alfa a una profundidad de 2500 metros. a) Estación 3. b) Estación 8. c) Estación 38.

Los resultados obtenidos en el total de las estaciones a 20 metros del fondo marino (fondo) (Figura 22), mostraron una predominancia del 74% de la subclase Alfa, mientras que Beta y Épsilon, mostraron una proporción similar con 14% y 12% respectivamente. Por otro lado, la presencia de las subclases Gamma y Delta es menor al 1%. La Figura 23, muestra ejemplos de la predominancia de la subclase Alfa y la baja presencia de las subclases Delta y Gamma.

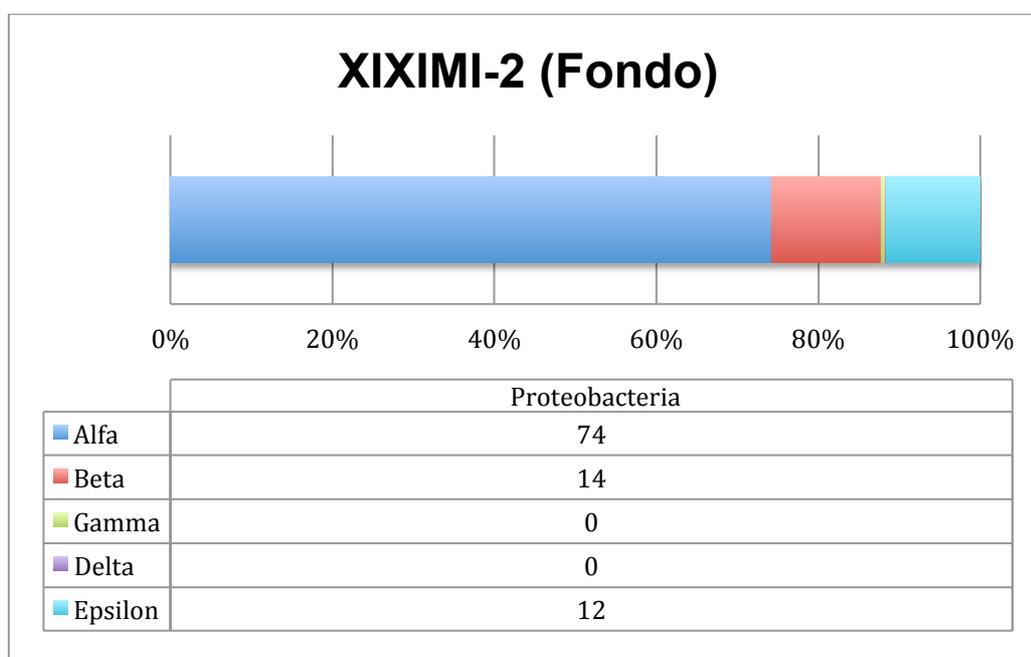


Figura 22. Concentración de ADN a 20 m del fondo marino del Golfo de México.

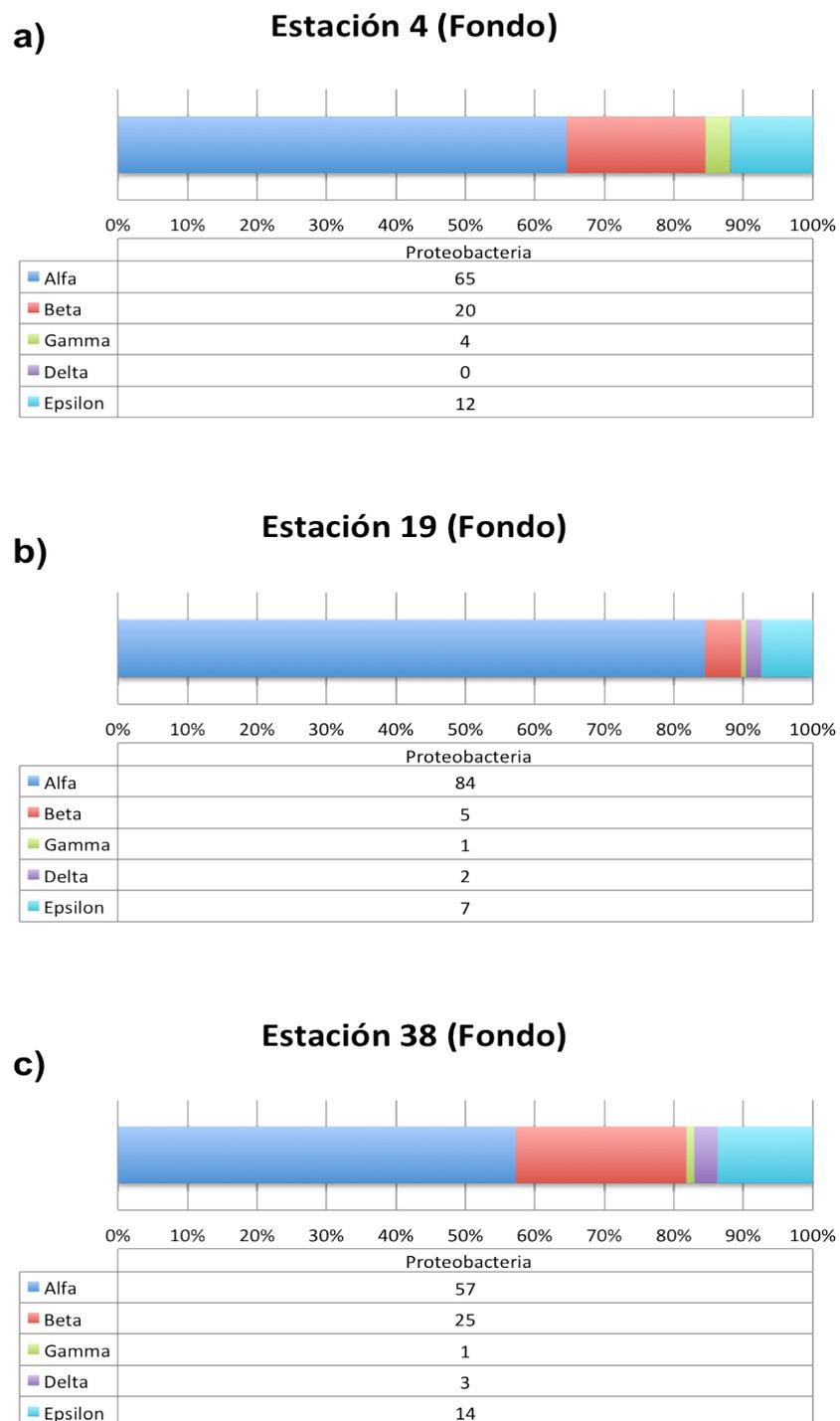


Figura 23. En esta Figura, se muestran algunos ejemplos de las estaciones donde predominó la subclase Alfa a 20 metros del fondo marino. a) Estación 4. b) Estación 19. c) Estación 38.

Presencia por subclase (Beta, Gamma, Delta y Épsilon)

Betaproteobacteria

En las Figuras 24, 25 y 26, se muestran ejemplos de estaciones a diferentes profundidades, donde la subclase Beta fue predominante.

A pesar de la dominancia de la subclase Alfa en el total de las 40 estaciones, la subclase Beta se presenta con un gran porcentaje a lo largo y ancho del golfo de México.

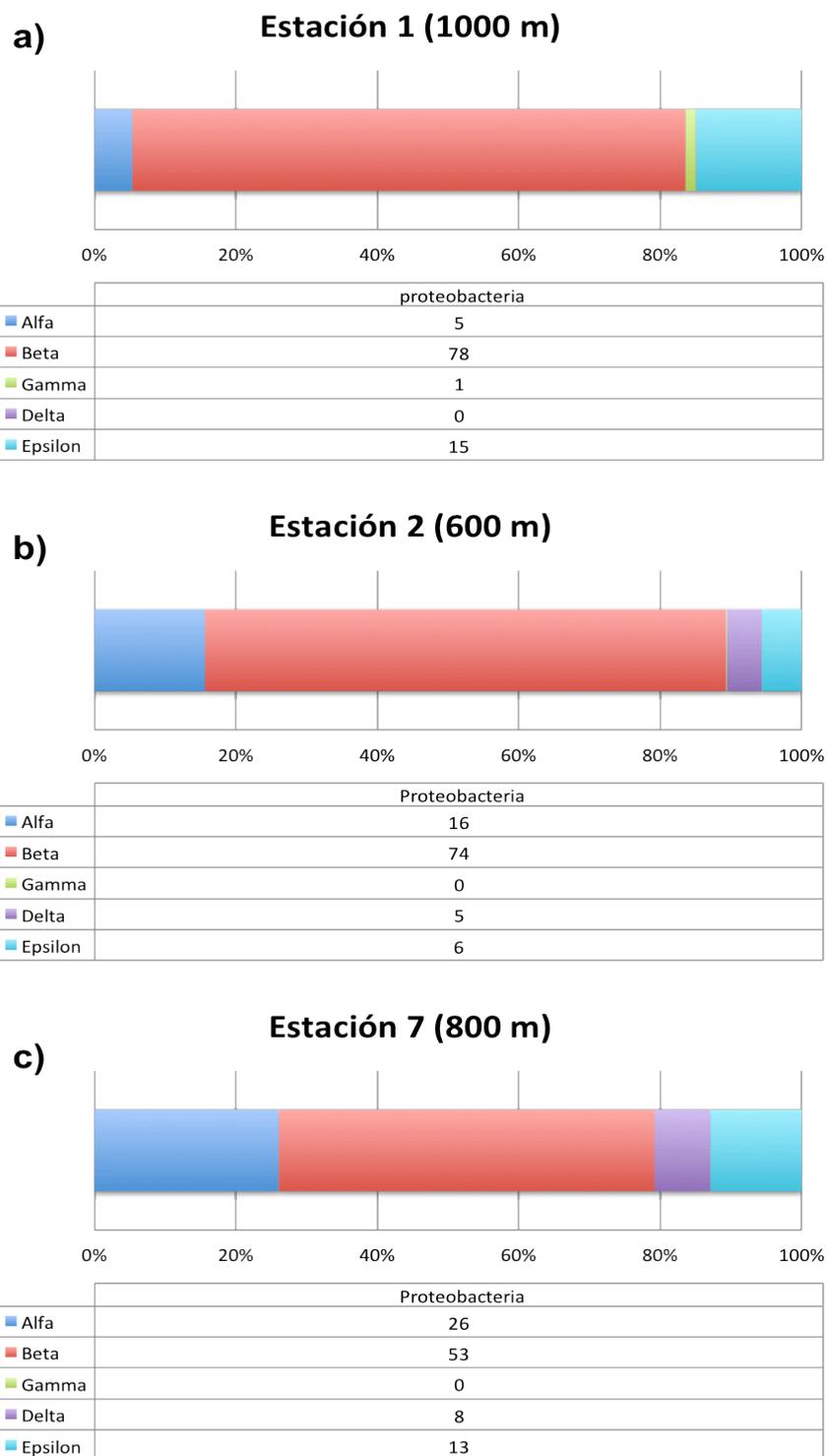


Figura 24. En esta Figura, se muestran algunos ejemplos de las estaciones donde predominó la subclase Beta a diferentes profundidades. a) Estación 1 a 1000 m. b) Estación 2 a 600 m. c) Estación 7 a 800 m.

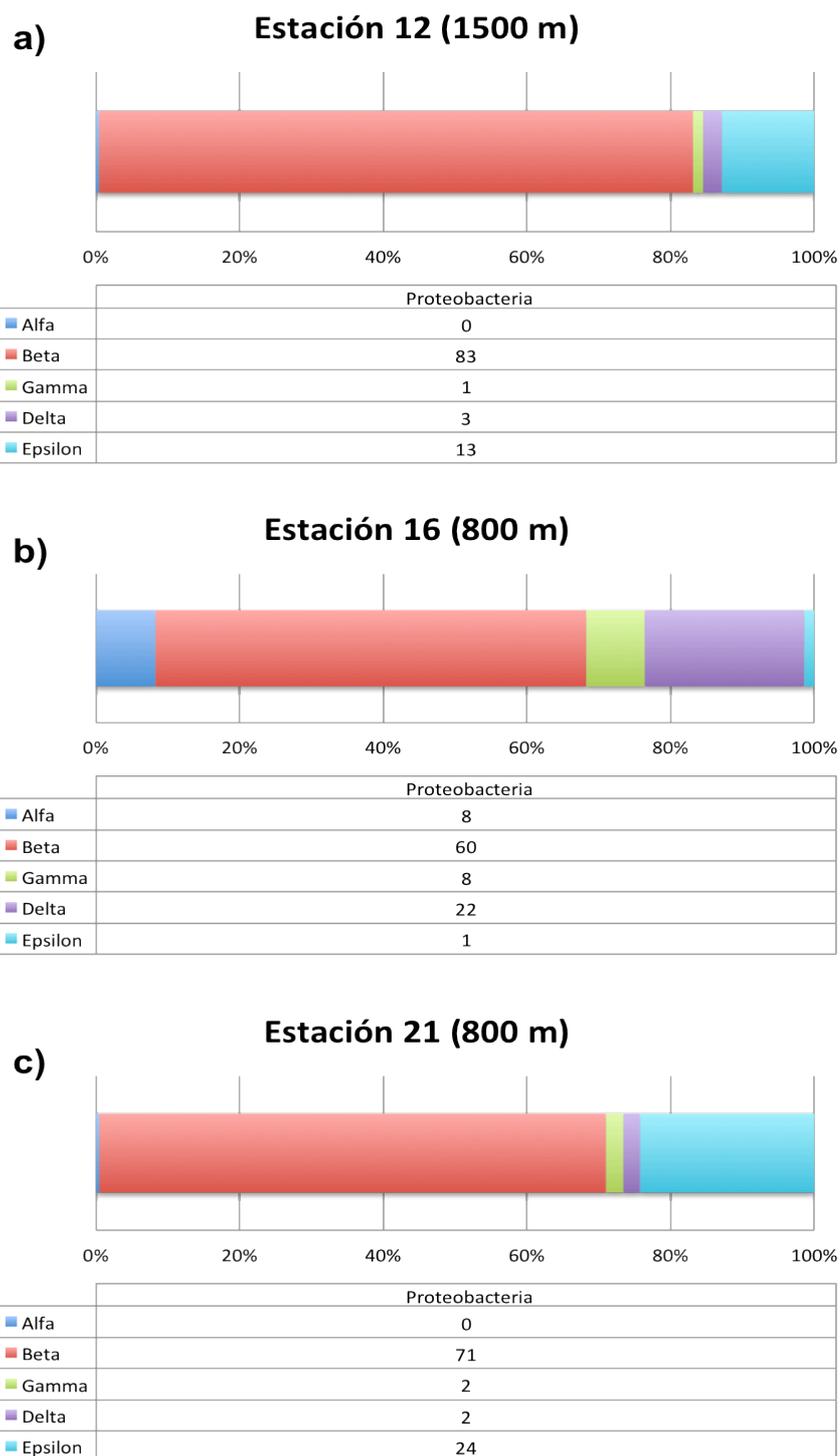


Figura 25. En esta Figura, se muestran algunos ejemplos de las estaciones donde predominó la subclase Beta a diferentes profundidades. a) Estación 12 a 1500 m. b) Estación 16 a 800 m. c) Estación 21 a 800 m.

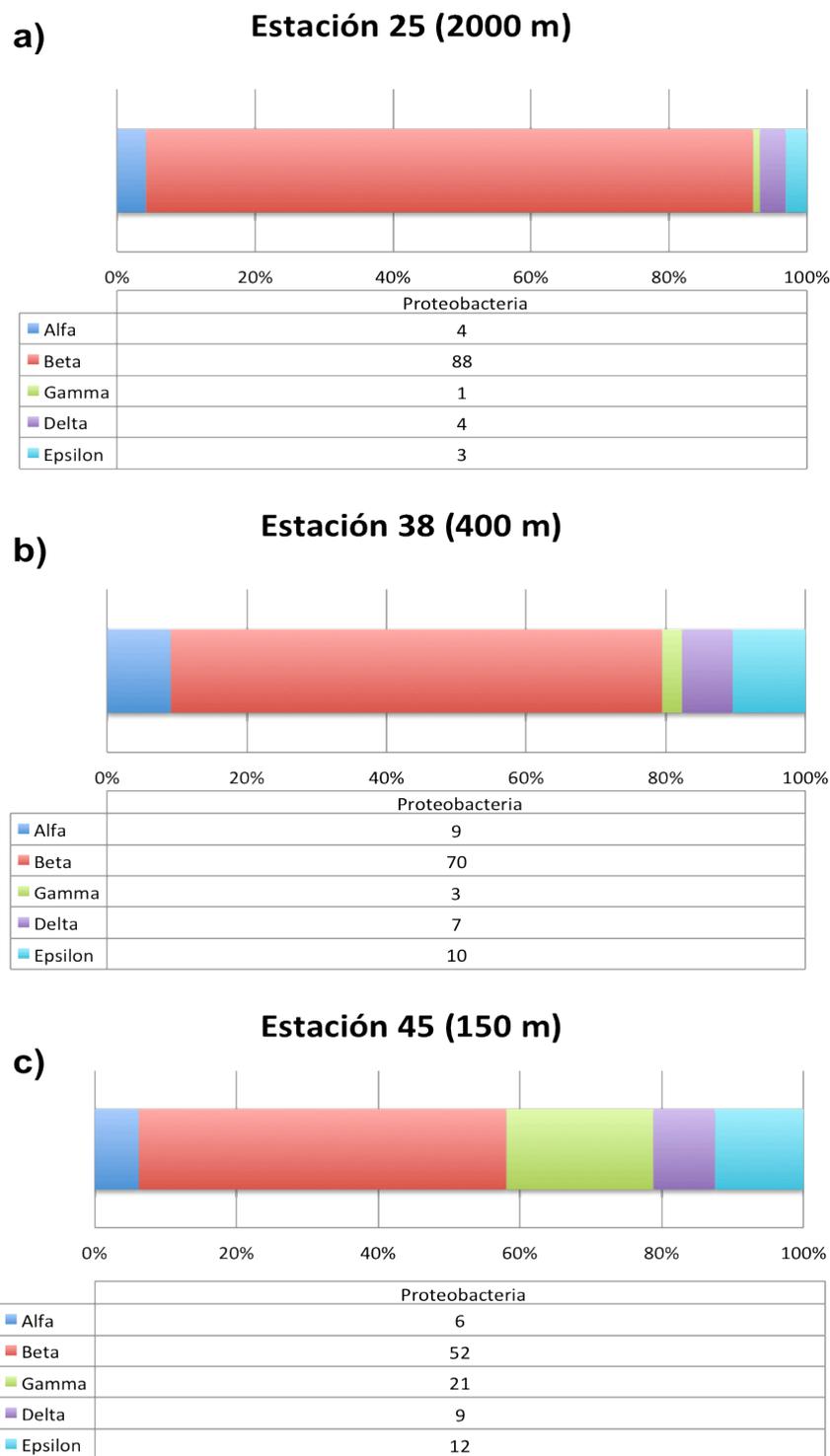


Figura 26. En esta Figura, se muestran algunos ejemplos de las estaciones donde predominó la subclase Beta a diferentes profundidades. a) Estación 25 a 2000 m. b) Estación 38 a 400 m. c) Estación 45 a 150 m.

Gamma y Delta

Aún cuando en los resultados globales de las 40 estaciones muestreadas en el Golfo de México, se observa una muy baja presencia de las subclases Gamma y Deltaproteobacterias, dichas subclases dominaron en profundidades de 1200 m a 2500 m en las estaciones 16, 17, 18, 19 y 20 en el paralelo 25°N. Estos resultados, se pueden observar en la Figura 28 (dominancia de Gamma) y la Figura 29 (dominancia de Delta).

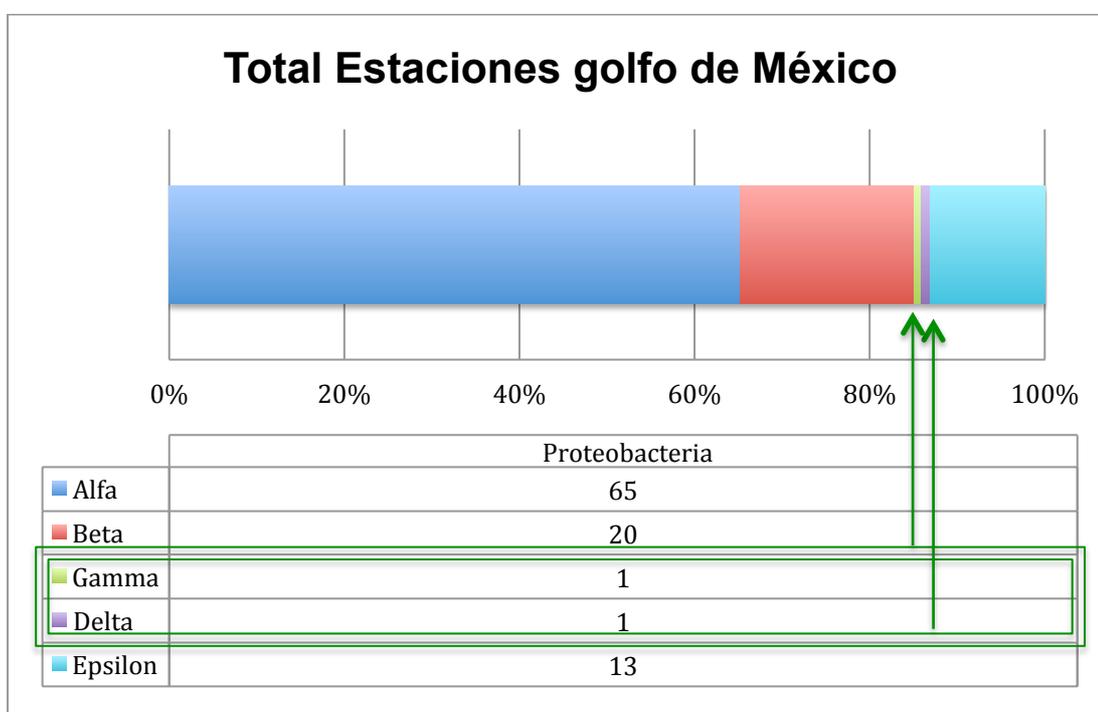


Figura 27. Porcentaje total de la concentración de ADN en las 40 estaciones del Golfo de México, realizadas en la segunda campaña del crucero oceanográfico XIXIMI (subclases Gamma y Delta).

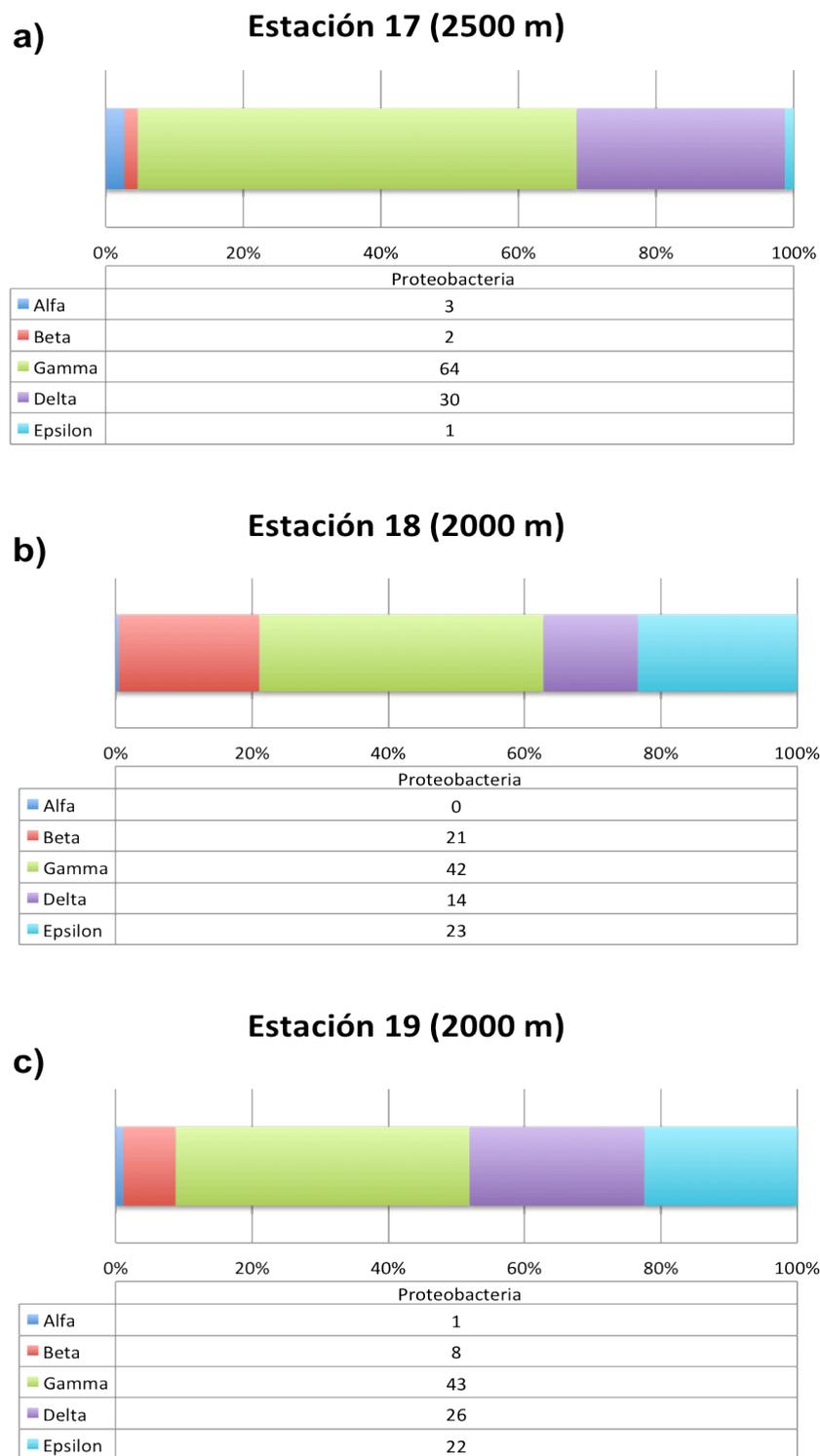


Figura 28. En esta Figura, se muestran algunos ejemplos de las estaciones donde predominó la subclase -Gamma a diferentes profundidades. a) Estación 17 a 2500 m. b) Estación 18 a 2000 m. c) Estación 19 a 2000 m.

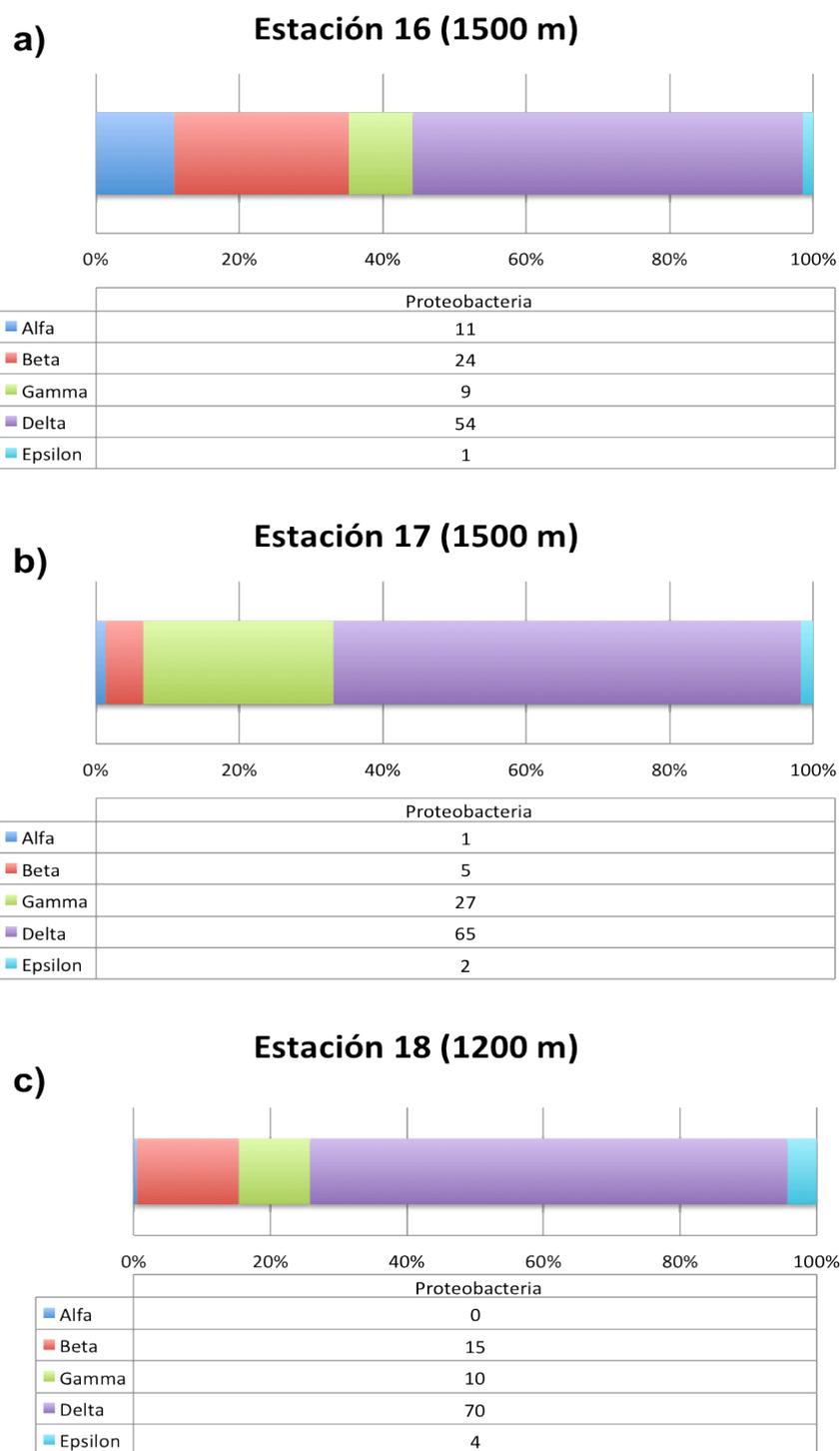


Figura 29. En esta Figura, se muestran algunos ejemplos de las estaciones donde predominó la subclase Delta a diferentes profundidades. a) Estación 16 a 1500 m. b) Estación 17 a 1500 m. c) Estación 18 a 1200 m.

Épsilon

La subclase épsilon predomina en pocas estaciones, sin embargo dicha subclase se presentó en la mayoría de las estaciones a lo largo y ancho del Golfo de México.

En la Figura 30, se muestran ejemplos de estaciones a diferentes profundidades donde esta subclase predominó.

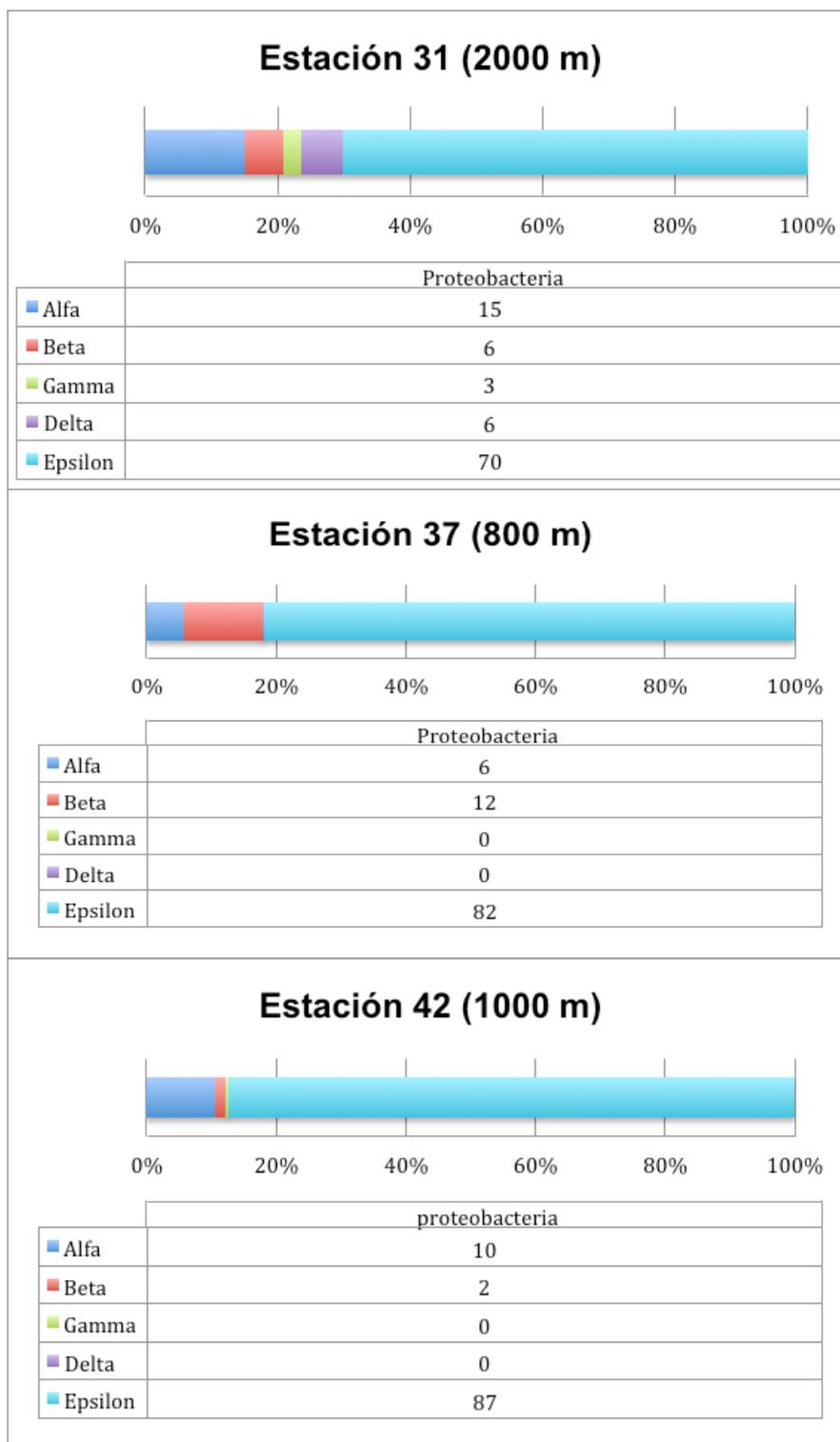


Figura 30. En esta Figura, se muestran algunos ejemplos de las estaciones donde predominó la subclase Épsilon a diferentes profundidades. a) Estación 31 a 2000 m. b) Estación 37 a 800 m. c) Estación 42 a 1000 m.

Análisis de estaciones del golfo de México por sectores

El análisis por sectores, se llevó a cabo siguiendo los criterios de las diferentes características de ubicación de las 40 estaciones en el Golfo de México. A la zona de explotación petrolera actual ubicada al sur del golfo, entre el 19° y 22°N, y 92° y 97°O, se representa como el sector 1 (S1). La zona donde se exploran nuevos yacimientos de petróleo se ubica entre el 22° y 25°N, y 92° y 97°O, asignado como el sector 2 (S2), y por ultimo el sector 3 (S3), ubicado entre el 23° y 25°N, y 86° y 91°O, que corresponde a la zona del Golfo de México con la influencia de la corriente del lazo. En la Figura 31, se muestra de manera gráfica la sectorización antes mencionada.

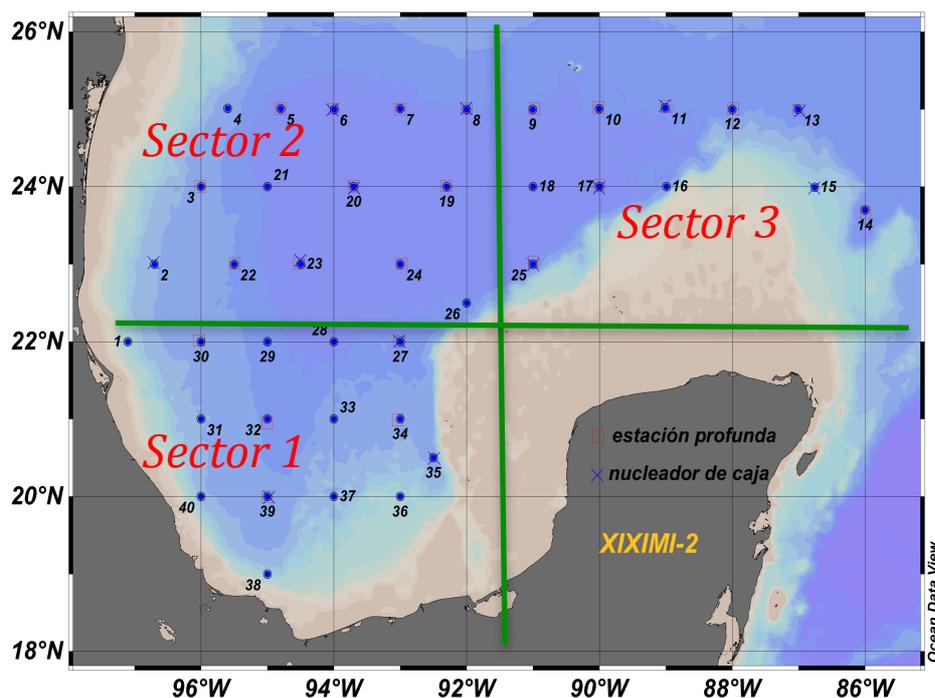
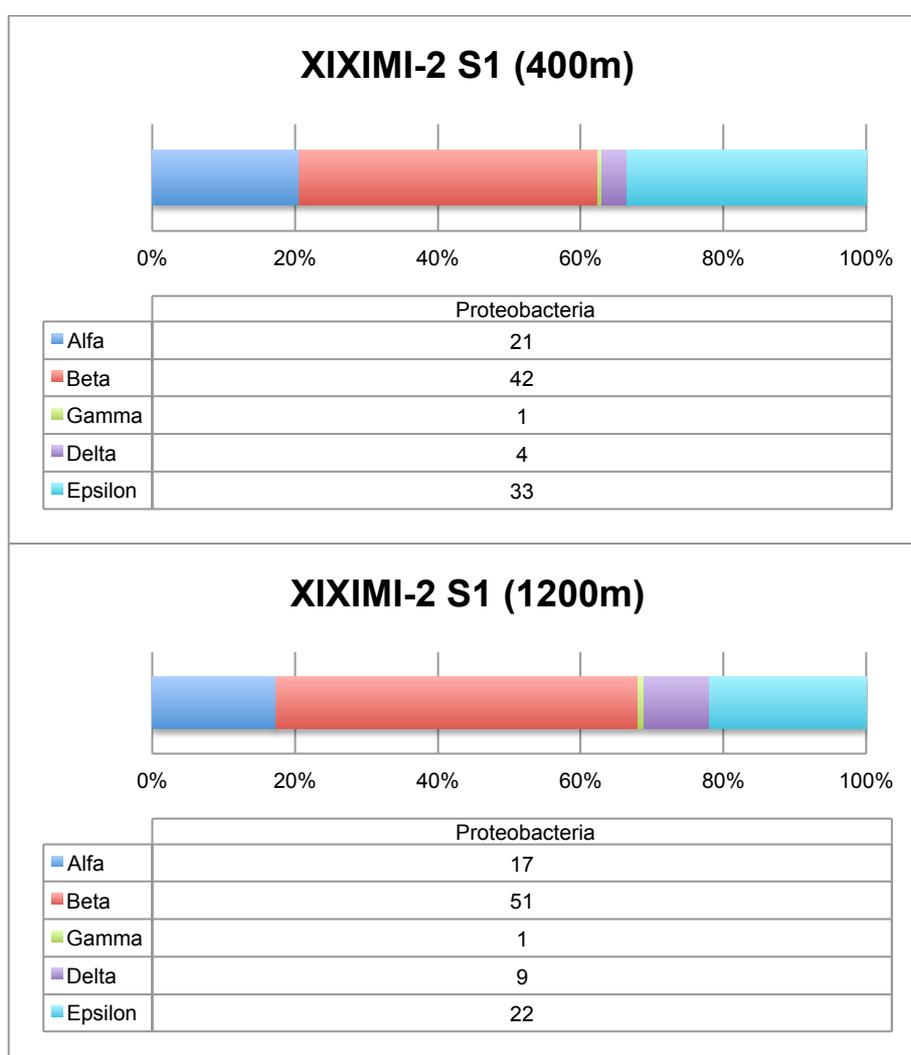


Figura 31. Mapa del golfo de México donde se especifica la sectorización y ubicación las estaciones realizadas en la segunda campaña del XIXIMI.

Sector 1 (S1)

Los resultados obtenidos en el sector 1, muestran la predominancia de la subclase Beta, la cual aumenta conforme la profundidad, a su vez las subclases Gamma y Delta, aunque en menor cantidad, se comportan de manera similar a la subclase Beta. Por otra parte, la subclase Épsilon disminuye conforme aumenta la profundidad. En cuanto a la subclase Alfa, esta muestra una leve variación conforme aumenta la profundidad (Figura 32).



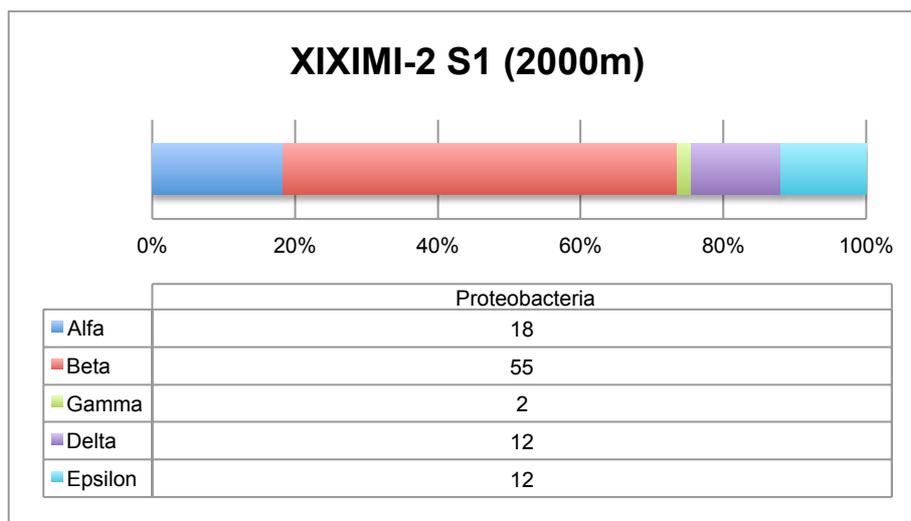


Figura 32. En esta Figura se muestran algunos ejemplos de profundidades del sector 1, donde se observan los cambios en la conformación de la comunidad microbiana.

Sector 2 (S2)

Los resultados del sector 2, muestran diferentes características a las observadas en el sector 1, ya que la subclase Beta, disminuye conforme aumenta la profundidad, y la subclase Alfa predomina e incrementa en aguas profundas, por otra parte, las subclases Épsilon, Delta y Gamma se presentan en bajas concentraciones, sin embargo, dicha concentración aumenta a lo largo de la columna de agua al aumentar la profundidad (Figura 33).

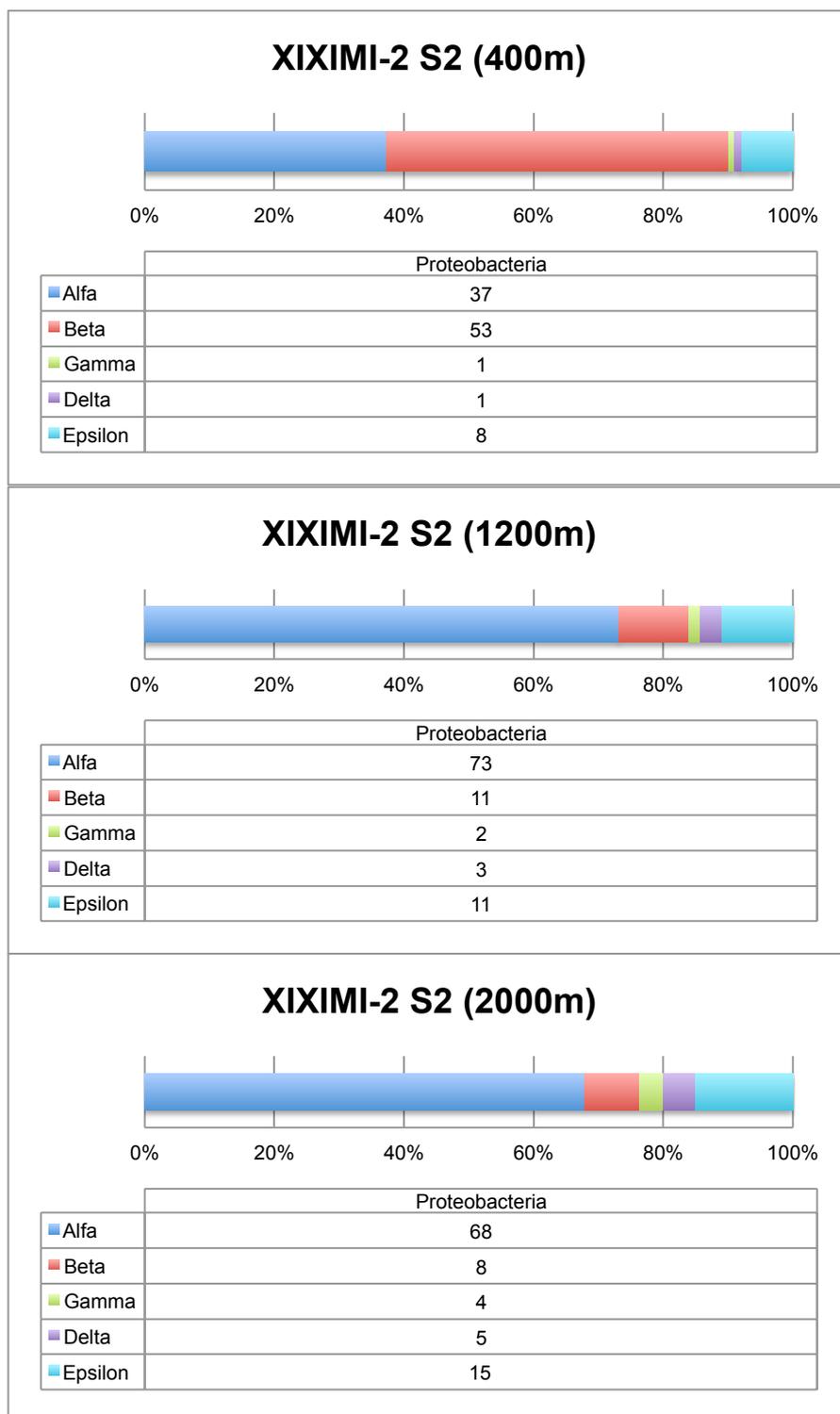
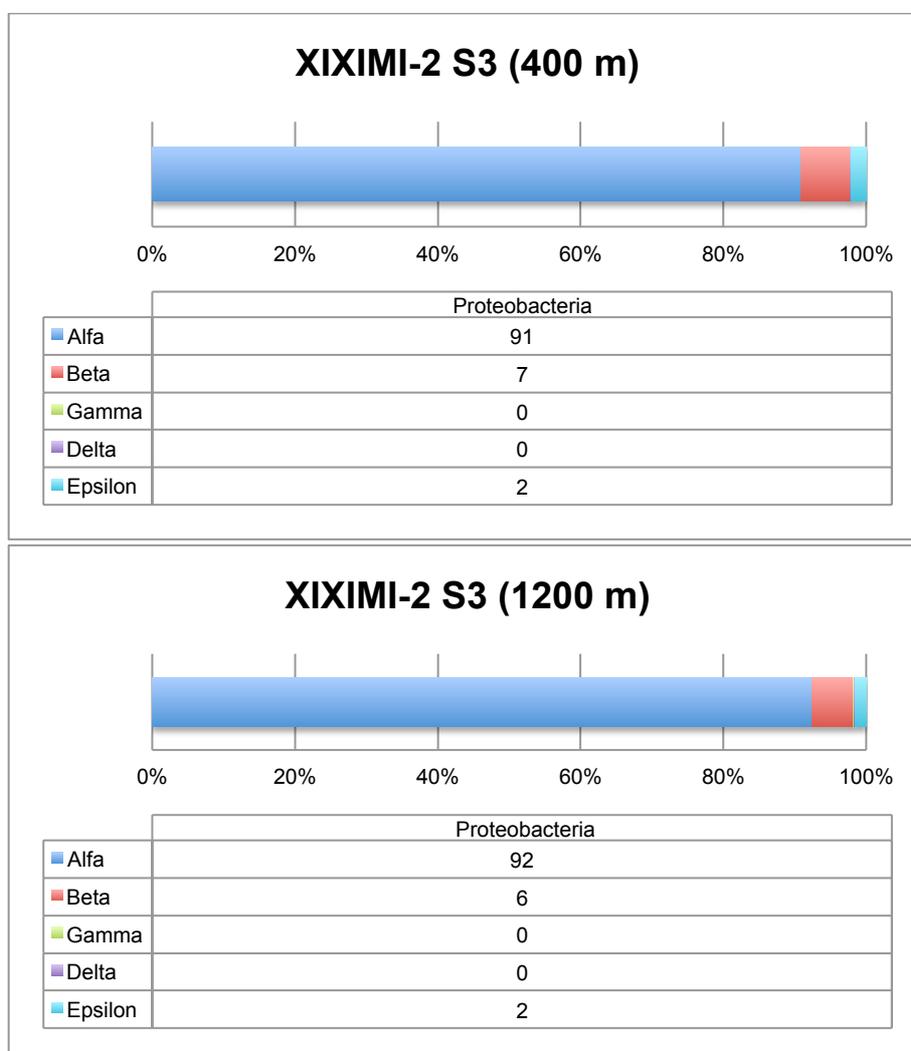


Figura 33. En esta Figura se muestran algunos ejemplos de profundidades del sector 2, donde se observan las características de la conformación de la comunidad microbiana.

Sector 3 (S3)

En el sector 3 se observa un dominio total de la subclase Alfa a lo largo de la columna de agua. Las subclases Beta y Épsilon se presentan en bajas concentraciones, sin incrementar considerablemente conforme aumenta la profundidad. Por otra parte, la presencia de las subclases Gamma y Delta es nula (Figura 34).



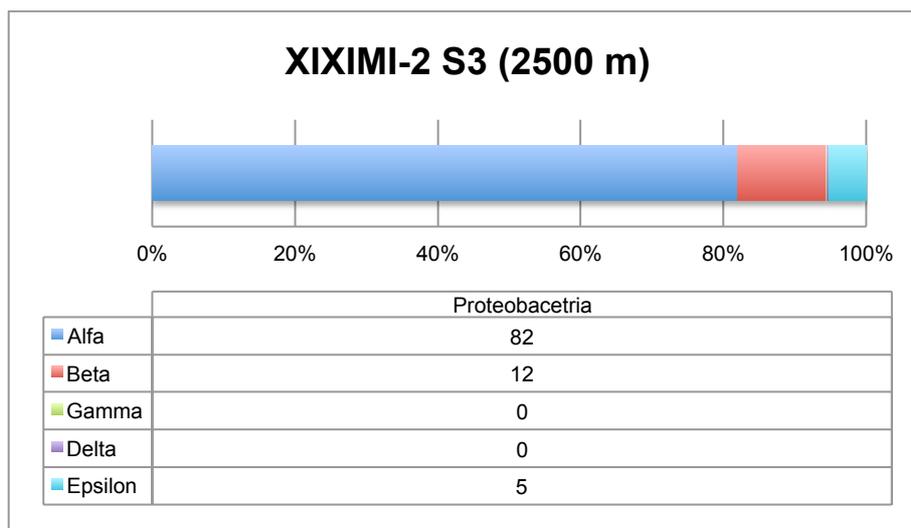


Figura 34. En esta Figura se muestran algunos ejemplos de profundidades del sector 3, donde se observan la predominancia de la subclase Alfa a lo largo de la columna de agua.

VI. Discusión

El enfoque del método de amplificación por PCR en tiempo real permite el estudio de la comunidad bacteriana en aguas profundas del Golfo de México, mediante la cuantificación del ADN bacteriano. El análisis de más de 300 muestras, procedentes de 40 estaciones del Golfo de México, proporcionan una descripción de la distribución de la comunidad de proteobacterias en la columna de agua. Dicha distribución muestra la abundancia y variedad de las cinco subclases de proteobacterias (Alfa, Beta, Gamma, Delta y Épsilon). Varios estudios han demostrado que la distancia, así como los gradientes de latitud, el área y la profundidad, son factores que influyen en la composición de la comunidad bacteriana en mares y océanos (Agogue' *et al.*, 2011; Fuhrman J., *et al.*, 2008; La Cono, *et al.*, 2009; Ma Y., *et al.*, 2009). En esta investigación, se muestra como influyen dichos factores en la distribución y estructura de la comunidad bacteriana de proteobacterias a lo largo y ancho del golfo de México.

Los resultados obtenidos en esta investigación muestran un claro dominio de la subclase Alfa, a lo largo de la columna de agua. Esto también se puede observar en estudios realizados anteriormente sobre la diversidad bacteriana en aguas profundas a lo largo del Atlántico norte, donde la subclase alfa domina la comunidad bacteriana marina (De Long, *et al.*, 2006; Agogue' *et al.*, 2011; Kirchman D., *et al.*, 2005; Ma Y., *et al.*, 2009). Por otra parte, la subclase Beta, fue la segunda más abundante en el total de las estaciones del Golfo de

México, sin embargo, dicha subclase es mas común en ambientes de agua dulce como ríos y lagos; que en los ecosistemas marinos, en donde se han asociado a la nitrificación y recientemente a ambientes marinos profundos ricos en metano (Feng B., *et al*, 2009; Espinoza-Asuar L., 2005; Agogue´ *et al.*, 2011). Los resultados, muestran la presencia de la subclase Épsilon a lo largo de toda la columna de agua en la mayoría de las estaciones, dicha subclase muestra características termofílicas, y se han encontrado en ventilas hidrotermales; ambientes extremos con altas concentraciones de sulfuro de hidrogeno, metales pesados tóxicos y temperaturas superiores a 300°C. (Lara-Lara, *et al.*, 2008; Campbell B., *et al*, 2001; Miroshnichenko M.L., *et al*, 2002). Respecto a la subclase Gamma, los resultados obtenidos muestran una baja presencia en el total de las profundidades analizadas, contrastando los resultados registrados en estudios realizados en el norte del Golfo de México, donde muestran una amplia dominancia de esta subclase. En dicha subclase podemos encontrar géneros, como *Alcanivorax*, *Marinobacter*, *Pseudomonas* y *Acinetobacter*, con la capacidad de degradar hidrocarburos al estar en presencia de este sustrato (Kostka J., *et al.*, 2011; Schneiker S., *et al*, 2006; Agogue´ *et al.*, 2011). La presencia de la subclase Delta en las 40 estaciones muestreadas del Golfo de México fue similar a la subclase Gamma, sin embargo estudios realizados en aguas del océano Pacífico y Atlántico muestran a la subclase Delta como una de las subclases dominantes (Ma Y., *et al.*, 2009; Agogue´ *et al.*, 2011), en contraste, a los resultados obtenidos en esta

investigación, los cuales muestran una baja presencia de dicha subclase en comparación a las demás subclases de proteobacterias.

Los resultados obtenidos al analizar en su totalidad las muestras correspondientes a las 40 estaciones del Golfo de México monitoreadas en este estudio, no se observó una clara influencia de la profundidad, latitud y área en la composición de la comunidad de proteobacterias, por lo que fue necesario dividir el golfo en tres grandes sectores, con el fin de simplificar el análisis de las estaciones monitoreadas en la segunda campaña del XIXIMI. Al realizar dicha división, se pudo apreciar con mayor claridad las diferencias en la composición de la comunidad microbiana. Lo anterior se puede apreciar al contrastar los tres diferentes sectores del Golfo de México, los cuales presentan diferentes características. Como podemos observar en el sector 1, la subclase Beta es predominante y aumenta con la profundidad. Por otra parte el sector 2 y sector 3 muestran una predominancia de la Alfaproteobacteria, esto demuestra que los factores antes mencionados son un factor importante en la distribución de la comunidad microbiana a lo largo de la columna de agua.

VII. Conclusión

La técnica molecular de amplificación mediante PCR en tiempo real demostró ser un método eficaz para la cuantificación de ADN bacteriano en aguas profundas de ecosistemas marinos.

La amplificación de ADN bacteriano en el análisis general, mostró una dominancia de la subclase Alfaproteobacteria en las diez profundidades de monitoreo en el Golfo de México. Sin embargo, las subclases Beta, Gamma, Delta y Épsilon figuran en concentraciones variables a lo largo de la columna de agua.

En un análisis puntual por subclase, se puede apreciar la variabilidad en la diversidad bacteriana en las 40 estaciones de muestreo, donde las cinco subclases de proteobacterias se presentan a diferentes concentraciones dependiendo de las características de ubicación y profundidad de la estación muestreada. La sectorización del área de muestreo en tres grandes zonas, nos permitió una apreciación adecuada de los resultados obtenidos, pudiendo detectar la presencia de patrones espaciales de la comunidad bacteriana en el Golfo de México.

Referencias Bibliográficas

- Agencia de protección ambiental de Estados Unidos EPA [Internet]; 2010 [Consulta el 25 de junio de 2012]. Disponible a: <http://www.epa.gov/tri/tridata/tri10/nationalanalysis/sp/tri-lae-gulf-of-mexico.html>
- Agogue´ H., Lamy D., Neal P., Sogin M., Y Herndl G., 2011. Water mass-specificity of bacterial communities in the North Atlantic revealed by massively parallel sequencing. *Molecular Ecology*, 20: 258–274
- Arias J.M. y Ireta H., 2009. Pesca y petróleo en el Golfo de México. Tabasco: Asociación Ecológica Santo Tomás A.C.
- Biodiversidad mexicana [Internet]; 2012 [Consulta el 12 de diciembre de 2012]. Disponible a: <http://www.biodiversidad.gob.mx/pais/mares/>
- Caballero A., 2008. Temas de Higiene de los Alimentos. La Habana: Editorial Ciencias Médicas,
- Campbell B.J., Jeanthon C., Kostka J.E., Luther III G.J. y Cary S.C., 2001. Growth and Phylogenetic Properties of Novel Bacteria Belonging to the Epsilon Subdivision of the *Proteobacteria* Enriched from *Alvinella pompejana* and Deep-Sea Hydrothermal Vents Applied And *Environmental Microbiology*, Oct. 2001, P. 4566–4572.
- Caso M., Pisanty I. y Ezcurra, E., compiladores, 2004. Diagnostico ambiental del golfo de México. México D.F.: Instituto nacional de ecología.
- Castañeda A. y Villagómez A., 2006. Análisis histórico de la relación macroeconomía- petróleo en México: 1970-2006. México D.F: Centro de Investigación y Docencia Económicas.
- Chandramohan D., 2005. Marine Microbiology: Challenges and Future Directions Biological Oceanography Division, National Institute of Oceanography, Goa, India.
- Cortázar A. y Silva E., 2004. Métodos físico-químicos en biotecnología: PCR. Instituto de Biotecnología, UNAM.
- Costa J., 2004. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a tiempo real. Servicio de Microbiología. Hospital Clínic i Provincial. Barcelona. España.; 22(5):299-305.

- De Long E., 2005. Microbial Community Genomics In The Ocean. Division of Biological Engineering and Department of Civil and Environmental Engineering, Room 48-427, Massachusetts Institute of Technology, (3): 459-467.
- Dorigo U., Volatier L., Humbert J-F., 2005. Molecular approaches to the assessment of biodiversity in aquatic microbial communities. *Water Research*. (39): 2207–2218.
- Duarte C., 2010. Océano, El Secreto Del Planeta Tierra. 1ra ed. España: CSIC;. p. 19-36.
- Espinosa-Asuar L., 2005. Análisis de la diversidad de procariontes usando el gen 16s ribosomal: origen marino de la región de cuatro ciénegas, Coahuila. UNAM, México, D.F.
- Explorando México; Principales yacimientos de petróleo en México [Internet]; 2008 [Consulta el 12 de diciembre de 2012] <http://www.explorandomexico.com.mx/about-mexico/6/160/>
- Feng B., Li X., Wang J., Hu Z., Meng H., Xiang L., y Quan Z., 2009. Bacterial diversity of water and sediment in the Changjiang estuary and coastal area of the East China Sea . *FEMS Microbiol Ecol*, 70:236–248.
- Fuhrman J., Steele J.A., Hewson I., Schwalbach M.S., Brown M.V., Green J.L., y Brown J.H., 2008. A latitudinal diversity gradient in planktonic marine bacteria. *PNAS*, 105 (22): 7774–7778.
- Galand P., Potvin M., Casamayor E. y Lovejoy C., 2010. Hydrography shapes bacterial biogeography of the deep Arctic Ocean. *The ISME Journal*. (4): 564–576.
- Hidalgo R. y Álvarez S., 2008. Estructura de la columna de agua y perfil de biomasa Fitoplanctónica en el golfo de México. Baja California: Ciencias Marinas, UABC.
- Kerstens K., De Vos P., Gillis M., Swings J., Vandamme P. y Stackebrandt E., 2006. Introduction to the Proteobacteria. *Prokaryotes*, (5): 3–37.
- Kirchman D. L., Dittel A.L., Malmstrom R.R., y Cottrell M.T., 2005. Biogeography of major bacterial groups in the Delaware estuary. *Limnology and Oceanography*, 50 (5): 1697-1706.
- Kostka J.E., Prakash O., Overholt W.A., Green S.J., Freyer G., Canion A., J Delgado J., Norton N., Hazen T. C. y Huettel M., 2011. Hydrocarbon-Degrading Bacteria and the Bacterial Community Response in Gulf of

Mexico Beach Sands Impacted by the Deepwater Horizon Oil Spill. *Appl. Environ. Microbiol.*, 77(22):7962-7974.

La Cono V., Tamburini C., Genovese L., La Spada G., Denaro R., Yakimov M., 2009. Cultivation-independent assessment of the bathypelagic archaeal diversity of Tyrrhenian Sea: Comparative study of rDNA and rRNA-derived libraries and influence of sample decompression. *Deep-Sea Research II*. (56): 768–773.

Lara-Lara J.R., Arenas-Fuentes V., Bazán-Guzmán C., Díaz-Castañeda V., Escobar-Briones E., Cruz-García M., Gaxiola-Castro G., Robles-Jarero G., Sosa-Ávalos R., Soto-González L., Tapia-García M., Valdez-Holguín E., 2008. Los ecosistemas marinos. en *Capital natural de México*, vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad. CONABIO, México, pp. 135-159.

Madigan M., Martinko J., Dunlap P. Y Clark D., 2009. *Brock: Biología De Los Microorganismos*. 12^a ed. Pearson, Addison Wesley.

Miroshnichenko M. L., Kostrikina, N. A., L'Haridon S., Jeanthon C., Hippe H., Stackebrandt E. y Bonch-Osmolovskaya E. A., 2002. *Nautilia lithotrophica* gen. nov., sp. nov., a thermophilic sulfur-reducing ϵ -proteobacterium isolated from a deep-sea hydrothermal vent *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* (2002), 52, 1299–1304.

Pathak S, Awuh JA, Leversen NA, Flo TH, AsjØ B., 2012. Counting Mycobacteria in Infected Human Cells and Mouse Tissue: A Comparison between qPCR and CFU. *PLoS ONE* 7(4): e34931.

PEMEX; Aguas profundas [Internet]. México D.F.: petróleos Mexicanos; 2011 [Consulta el 12 de diciembre de 2012]. <http://www.pemex.com/index.cfm?action=content§ionID=145&catID=14223>

Mohapatra P. K., 2008. *Textbook Of Environmental Microbiology*, 1^a ed, I.K. International.

Rivera-Castro J., 2008. La expropiación petrolera. Raíces históricas y respuesta de los empresarios extranjeros. *Casa del tiempo*. 1 (8): 2-7.

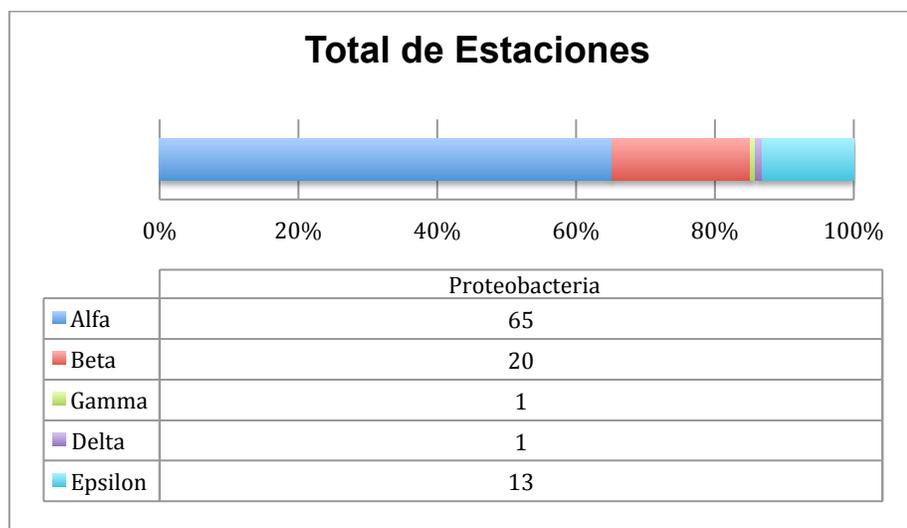
Schneiker S., dos Santos V., Bartels D., Bekel T., Brecht M., Buhrmester J., Chernikova T., Denaro R., Ferrer M., Gertler C., Goesmann A., Golyshina O., Kaminski F., Khachane A., Lang S., Linke B., McHardy A., Meyer F., Nechitaylo T., Puhler A., Regenhardt D., Rupp O., Sabirova J., Selbitschka W., Yakimov M., Timmis K., Vorholter F., Weidner S., Kaiser

O. y Golyshin P., 2006. Genome sequence of the ubiquitous hydrocarbon- degrading marine bacterium *Alcanivorax borkumensis* Nature Biotechnology, 24 (8): 997-1004.

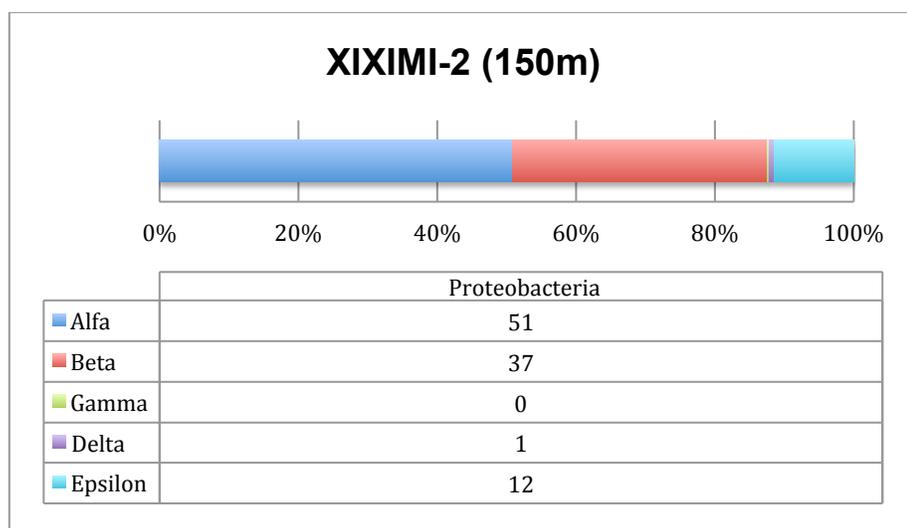
Ying Maa,b, Yonghui Zenga, Nianzhi Jiaoa, Yang Shia, Ning Honga., 2009. Vertical distribution and phylogenetic composition of bacteria in the Eastern Tropical North Pacific Ocean. Microbiological Research. 164: 624—633.

Anexos

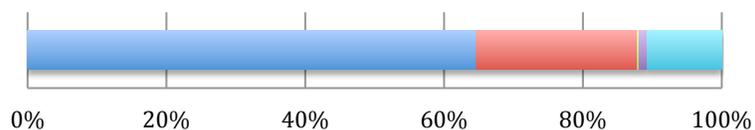
Grafica del total de Estaciones



Total de estaciones por profundidad

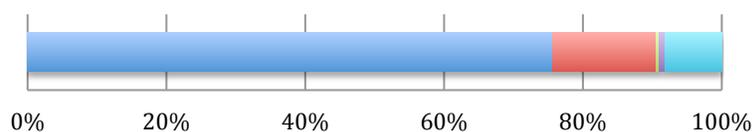


XIXIMI-2 (400m)



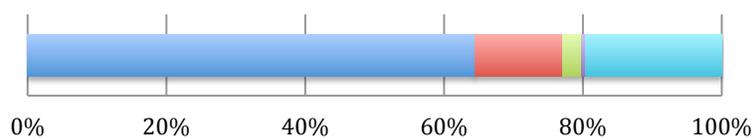
	Proteobacteria
Alfa	65
Beta	23
Gamma	0
Delta	1
Epsilon	11

XIXIMI-2 (600m)



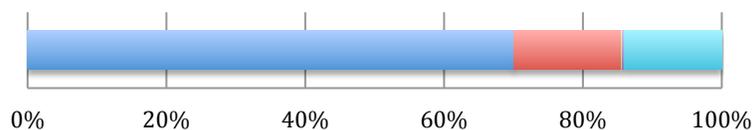
	Proteobacteria
Alfa	76
Beta	15
Gamma	0
Delta	1
Epsilon	8

XIXIMI-2 (800m)



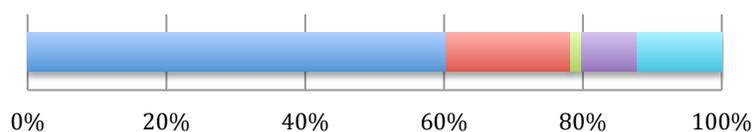
	Proteobacteria
Alfa	64
Beta	13
Gamma	3
Delta	1
Epsilon	20

XIXIMI-2 (1000m)



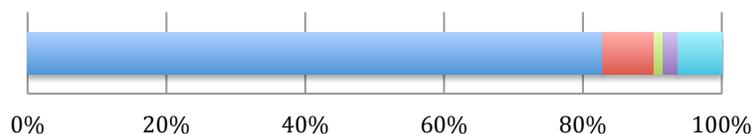
Proteobacteria	
Alfa	70
Beta	15
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	14

XIXIMI-2 (1200m)



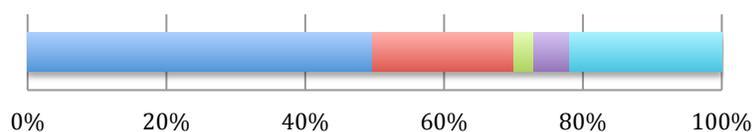
Proteobacteria	
Alfa	60
Beta	18
Gamma	2
Delta	8
Epsilon	12

XIXIMI-2 (1500m)



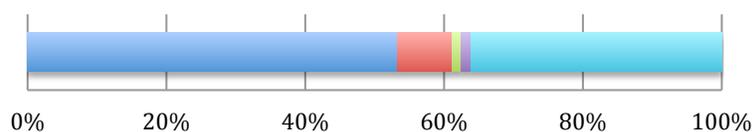
Proteobacteria	
Alfa	83
Beta	7
Gamma	1
Delta	2
Epsilon	6

XIXIMI-2 (2000m)



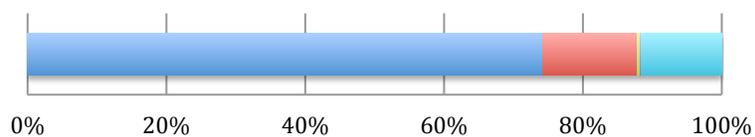
Proteobacteria	
Alfa	50
Beta	20
Gamma	3
Delta	5
Epsilon	22

XIXIMI-2 (2500m)



Proteobacteria	
Alfa	53
Beta	8
Gamma	1
Delta	2
Epsilon	36

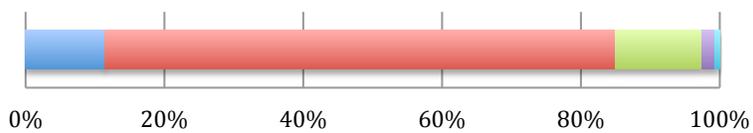
XIXIMI-2 (Fondo)



Proteobacteria	
Alfa	74
Beta	14
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	12

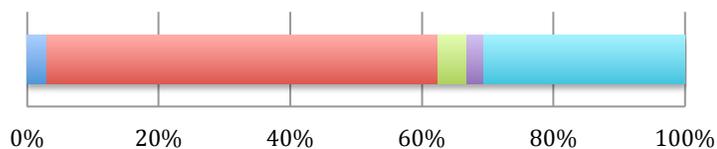
Estaciones XIXIMI-2

Estación 1 (150 m)



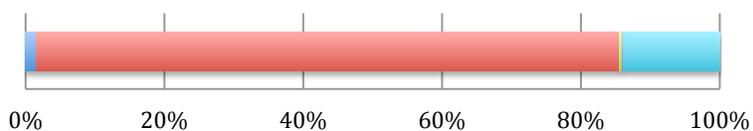
	Proteobacteria
Alfa	11
Beta	73
Gamma	12
Delta	2
Epsilon	1

Estación 1 (400 m)



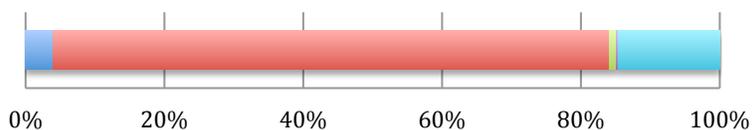
	Proteobacteria
Alfa	3
Beta	59
Gamma	4
Delta	3
Epsilon	31

Estación 1 (600 m)



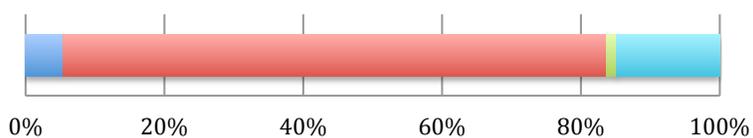
	Proteobacteria
Alfa	2
Beta	84
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	14

Estación 1 (800 m)



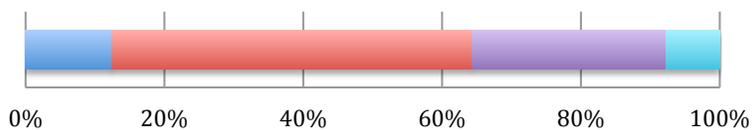
	Proteobacteria
Alfa	4
Beta	80
Gamma	1
Delta	0
Epsilon	15

Estación 1 (1000 m)



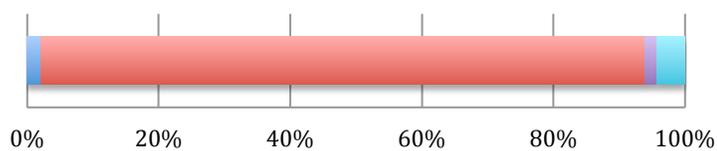
	proteobacteria
Alfa	5
Beta	78
Gamma	1
Delta	0
Epsilon	15

Estación 2 (150 m)



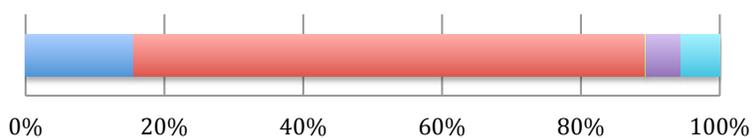
	Proteobacteria
Alfa	12
Beta	52
Gamma	0
Delta	28
Epsilon	8

Estación 2 (400 m)



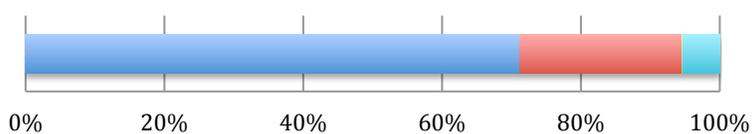
Proteobacteria	
Alfa	2
Beta	92
Gamma	0
Delta	2
Epsilon	4

Estación 2 (600 m)

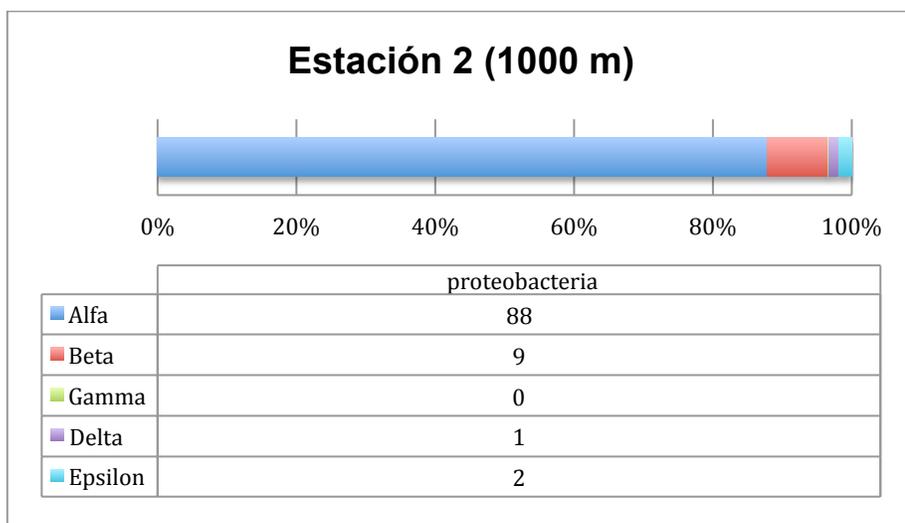


Proteobacteria	
Alfa	16
Beta	74
Gamma	0
Delta	5
Epsilon	6

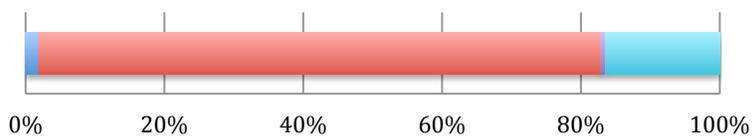
Estación 2 (800 m)



Proteobacteria	
Alfa	71
Beta	23
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	5

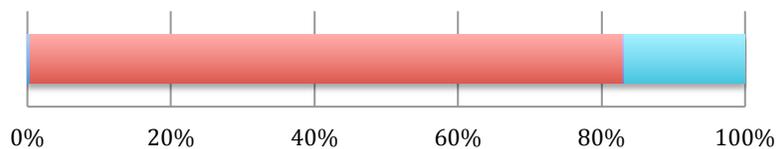


Estación 3 (150 m)



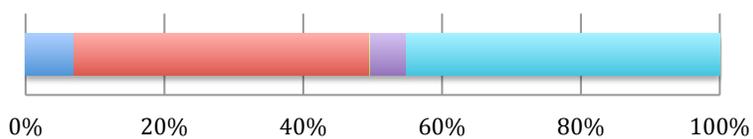
	Proteobacteria
Alfa	2
Beta	81
Gamma	0
Delta	1
Epsilon	16

Estación 3 (400 m)



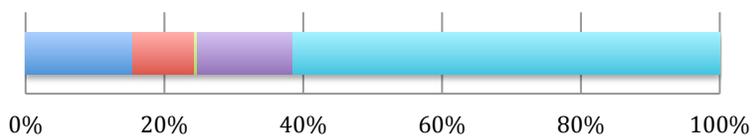
	Proteobacteria
Alfa	0
Beta	83
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	17

Estación 3 (600 m)



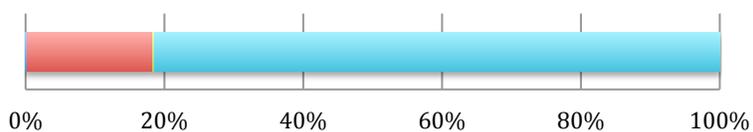
	Proteobacteria
Alfa	7
Beta	43
Gamma	0
Delta	5
Epsilon	45

Estación 3 (800 m)



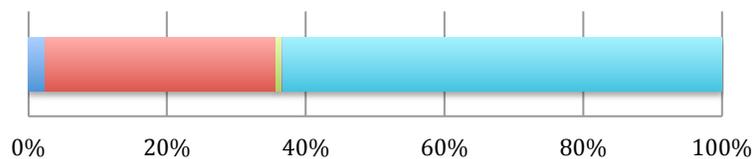
Proteobacteria	
Alfa	15
Beta	9
Gamma	0
Delta	14
Epsilon	61

Estación 3 (1000 m)



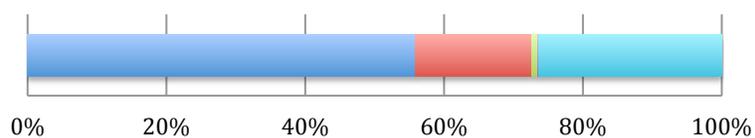
Proteobacteria	
Alfa	0
Beta	18
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	81

Estación 3 (1200 m)



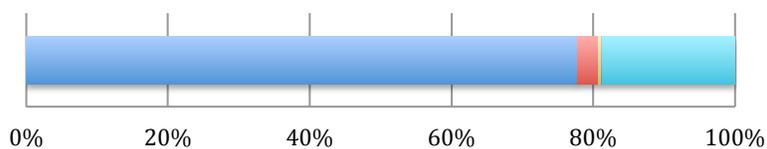
Proteobacteria	
Alfa	2
Beta	33
Gamma	1
Delta	0
Epsilon	63

Estación 3 (1500 m)



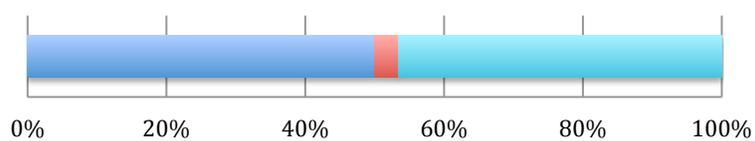
Proteobacteria	
Alfa	56
Beta	17
Gamma	1
Delta	0
Epsilon	26

Estación 3 (2000 m)



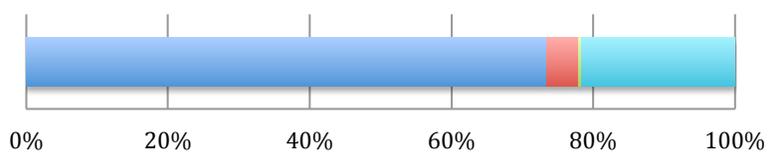
Proteobacteria	
Alfa	78
Beta	3
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	19

Estación 3 (2500 m)



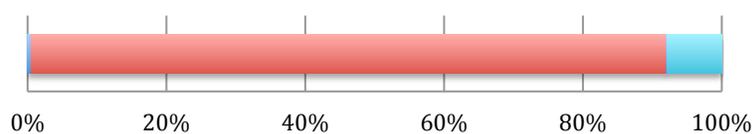
Proteobacteria	
Alfa	50
Beta	3
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	47

Estación 3 (Fondo)



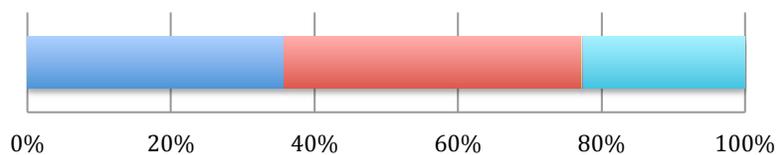
	Proteobacteria
Alfa	73
Beta	5
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	22

Estación 3B (150 m)



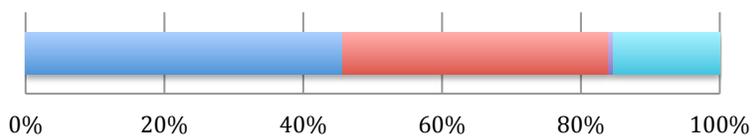
	Proteobacteria
Alfa	1
Beta	91
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	8

Estación 3B (400 m)



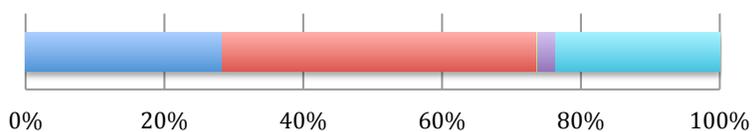
	Proteobacteria
Alfa	36
Beta	41
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	23

Estación 3B (600 m)



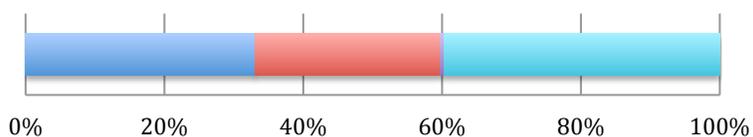
Proteobacteria	
Alfa	46
Beta	38
Gamma	0
Delta	1
Epsilon	15

Estación 3B (800 m)



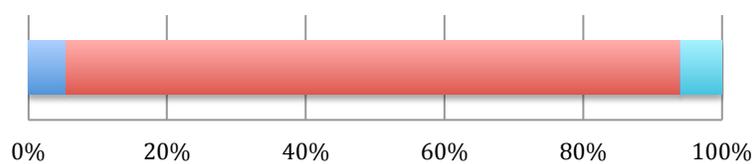
Proteobacteria	
Alfa	28
Beta	45
Gamma	0
Delta	3
Epsilon	24

Estación 3B (1000 m)



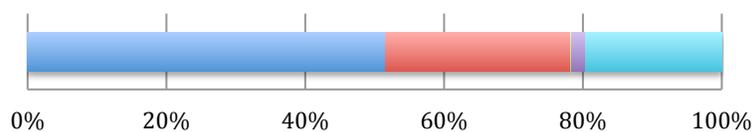
Proteobacteria	
Alfa	33
Beta	27
Gamma	0
Delta	1
Epsilon	40

Estación 3B (1200 m)



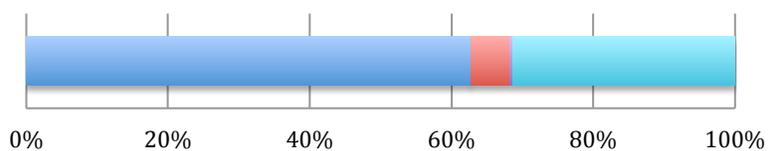
Proteobacteria	
Alfa	5
Beta	89
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	6

Estación 3B (1500 m)



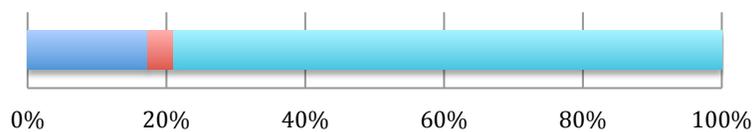
Proteobacteria	
Alfa	52
Beta	27
Gamma	0
Delta	2
Epsilon	20

Estación 3B (2000 m)



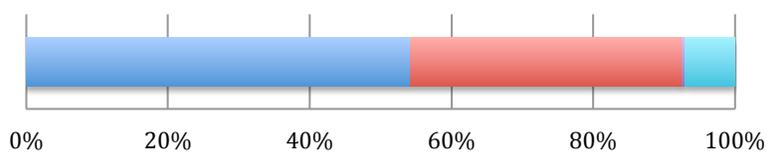
Proteobacteria	
Alfa	63
Beta	5
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	31

Estación 3B (2500 m)



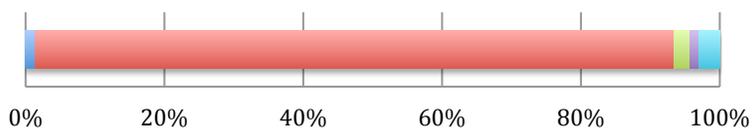
Proteobacteria	
Alfa	17
Beta	4
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	79

Estación 3B (Fondo)



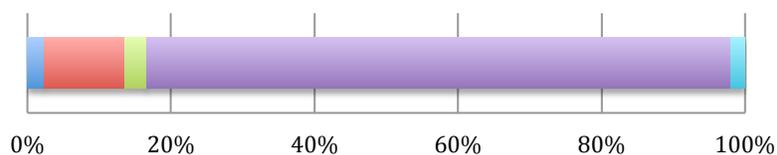
Proteobacteria	
Alfa	54
Beta	38
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	7

Estación 4 (150 m)



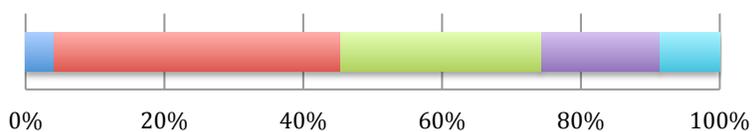
Proteobacteria	
Alfa	1
Beta	92
Gamma	2
Delta	1
Epsilon	3

Estación 4 (400 m)



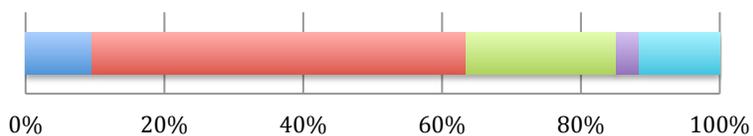
Proteobacteria	
Alfa	2
Beta	11
Gamma	3
Delta	81
Epsilon	2

Estación 4 (600 m)



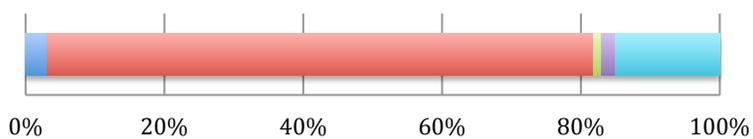
Proteobacteria	
Alfa	4
Beta	41
Gamma	29
Delta	17
Epsilon	9

Estación 4 (800 m)



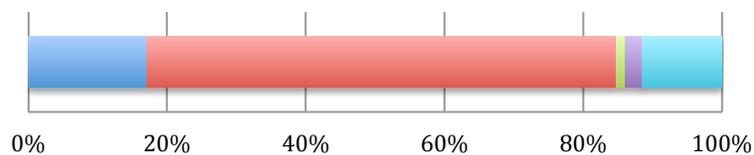
Proteobacteria	
Alfa	10
Beta	54
Gamma	22
Delta	3
Epsilon	12

Estación 4 (1000 m)



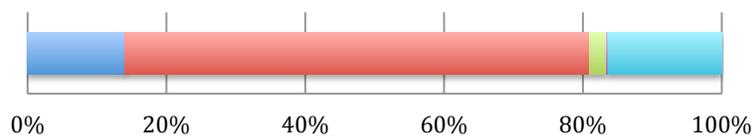
Proteobacteria	
Alfa	3
Beta	79
Gamma	1
Delta	2
Epsilon	15

Estación 4 (1200 m)



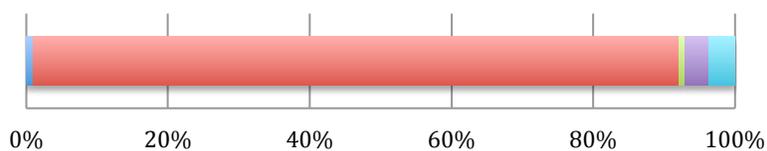
Proteobacteria	
Alfa	17
Beta	68
Gamma	1
Delta	2
Epsilon	11

Estación 4 (1500 m)



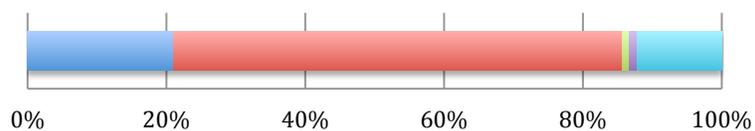
Proteobacteria	
Alfa	14
Beta	67
Gamma	2
Delta	0
Epsilon	16

Estación 4 (2000 m)



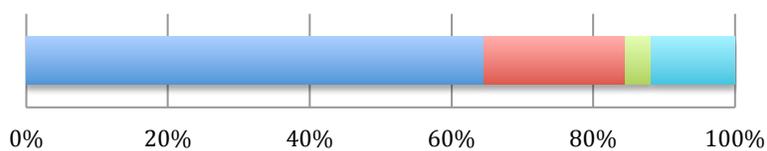
Proteobacteria	
Alfa	1
Beta	91
Gamma	1
Delta	3
Epsilon	4

Estación 4 (2500 m)



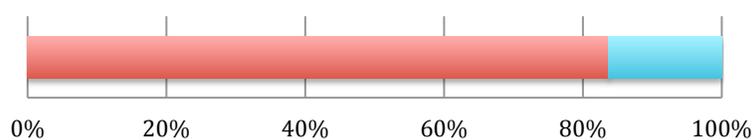
Proteobacteria	
Alfa	21
Beta	65
Gamma	1
Delta	1
Epsilon	12

Estación 4 (Fondo)



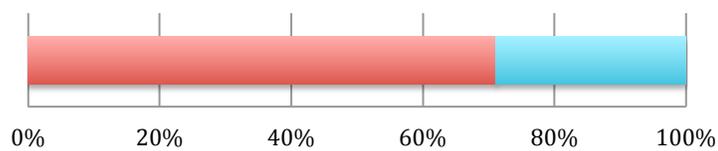
Proteobacteria	
Alfa	65
Beta	20
Gamma	4
Delta	0
Epsilon	12

Estación 5 (150 m)



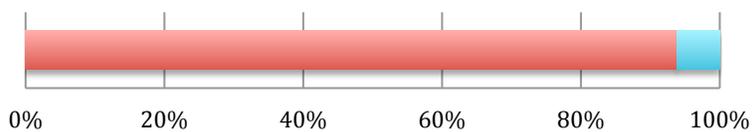
Proteobacteria	
Alfa	0
Beta	84
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	16

Estación 5 (400 m)



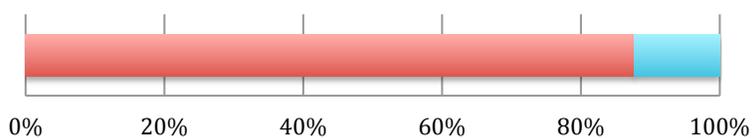
Proteobacteria	
Alfa	0
Beta	71
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	29

Estación 5 (600 m)



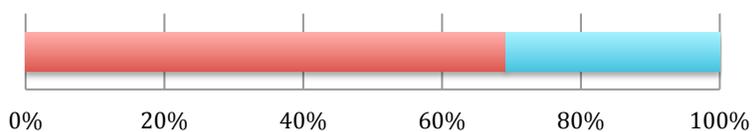
	Proteobacteria
Alfa	0
Beta	94
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	6

Estación 5 (800 m)



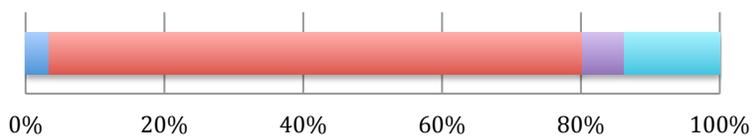
	Proteobacteria
Alfa	0
Beta	88
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	12

Estación 5 (1000 m)



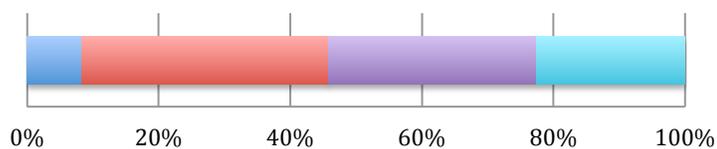
	proteobacteria
Alfa	0
Beta	69
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	31

Estación 7 (150 m)



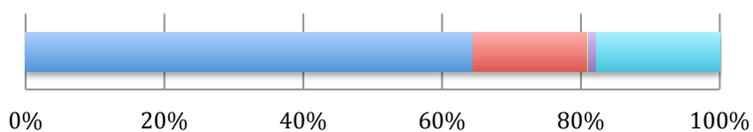
Proteobacteria	
Alfa	3
Beta	77
Gamma	0
Delta	6
Epsilon	14

Estación 7 (400 m)



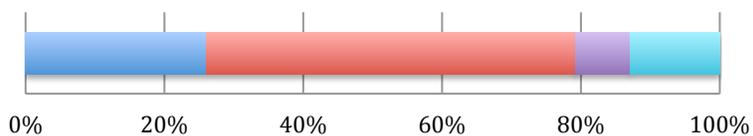
Proteobacteria	
Alfa	8
Beta	37
Gamma	0
Delta	32
Epsilon	23

Estación 7 (600 m)



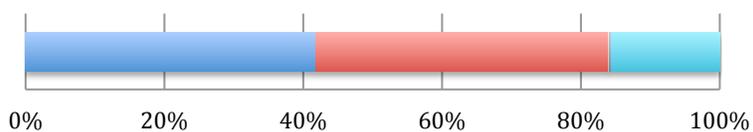
Proteobacteria	
Alfa	65
Beta	16
Gamma	0
Delta	1
Epsilon	18

Estación 7 (800 m)



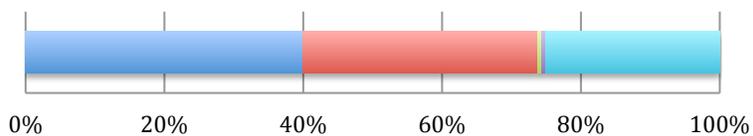
Proteobacteria	
Alfa	26
Beta	53
Gamma	0
Delta	8
Epsilon	13

Estación 7 (1000 m)



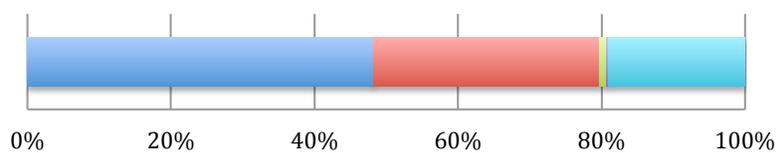
proteobacteria	
Alfa	42
Beta	42
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	16

Estación 8 (150 m)



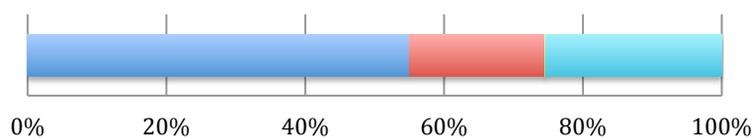
Proteobacteria	
Alfa	40
Beta	34
Gamma	1
Delta	1
Epsilon	25

Estación 8 (400 m)



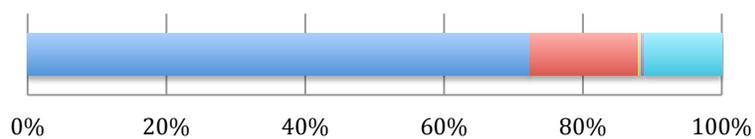
Proteobacteria	
Alfa	48
Beta	32
Gamma	1
Delta	0
Epsilon	19

Estación 8 (600 m)



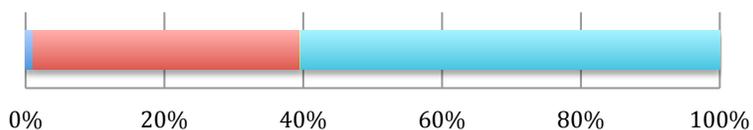
Proteobacteria	
Alfa	55
Beta	20
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	25

Estación 8 (800 m)



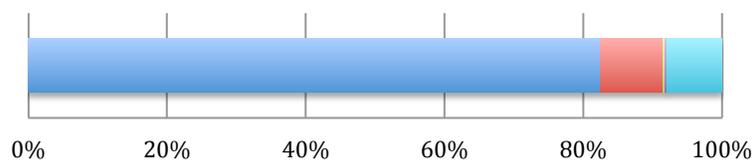
Proteobacteria	
Alfa	72
Beta	16
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	11

Estación 8 (1000 m)



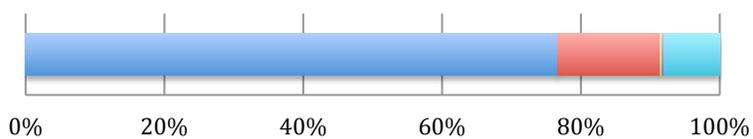
	Proteobacteria
Alfa	1
Beta	38
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	60

Estación 8 (1200 m)



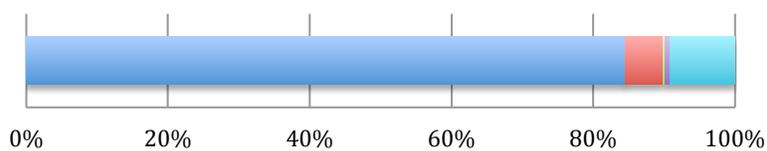
	Proteobacteria
Alfa	82
Beta	9
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	8

Estación 8 (1500 m)



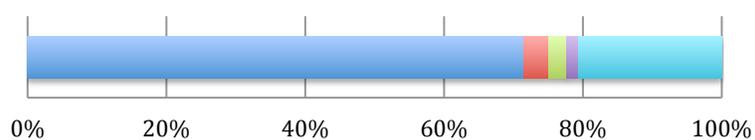
	Proteobacteria
Alfa	77
Beta	15
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	8

Estación 8 (2000 m)



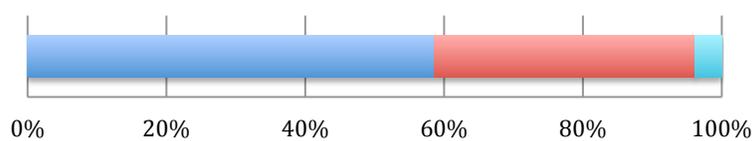
Proteobacteria	
Alfa	85
Beta	5
Gamma	0
Delta	1
Epsilon	9

Estación 8 (2500 m)



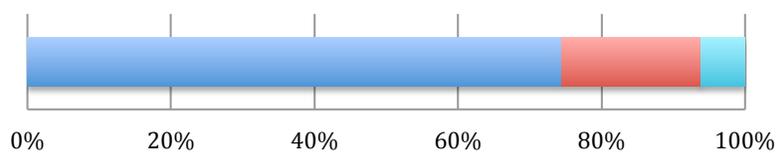
Proteobacteria	
Alfa	71
Beta	4
Gamma	3
Delta	2
Epsilon	21

Estación 10 (150 m)



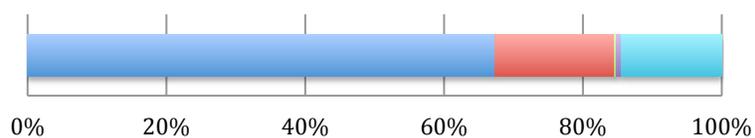
Proteobacteria	
Alfa	59
Beta	37
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	4

Estación 10 (400 m)



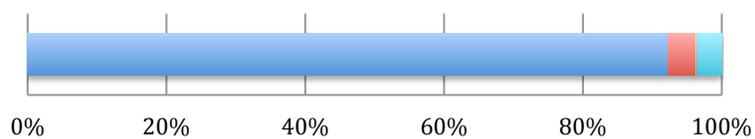
Proteobacteria	
Alfa	74
Beta	19
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	6

Estación 10 (600 m)



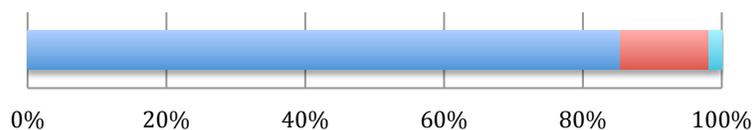
Proteobacteria	
Alfa	67
Beta	17
Gamma	0
Delta	1
Epsilon	14

Estación 10 (800 m)



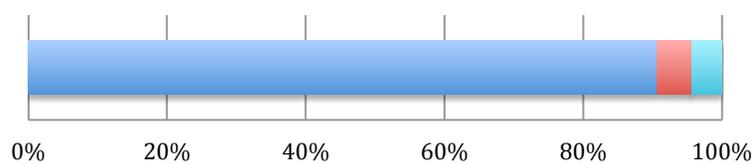
Proteobacteria	
Alfa	92
Beta	4
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	3

Estación 10 (1000 m)



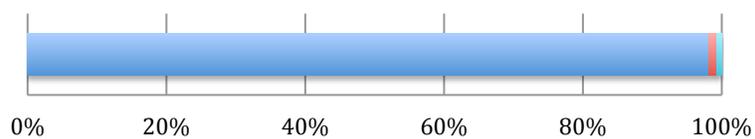
Proteobacteria	
Alfa	85
Beta	13
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	2

Estación 10 (1200 m)



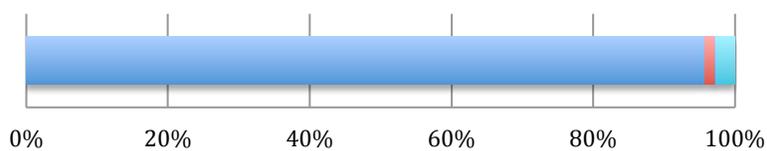
Proteobacteria	
Alfa	91
Beta	5
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	4

Estación 10 (1500 m)



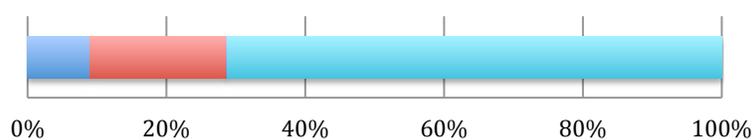
Proteobacteria	
Alfa	98
Beta	1
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	1

Estación 10 (2000 m)



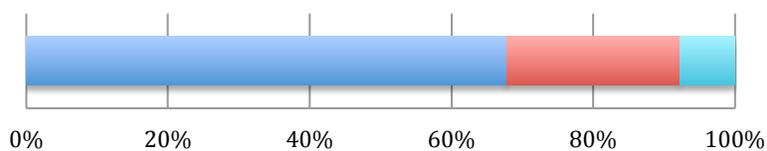
Proteobacteria	
Alfa	96
Beta	1
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	3

Estación 10 (2500 m)



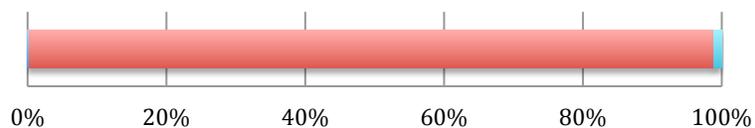
Proteobacteria	
Alfa	9
Beta	20
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	71

Estación 10 (Fondo)



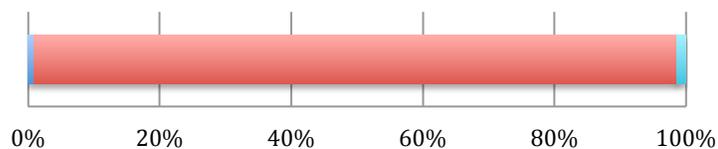
Proteobacteria	
Alfa	68
Beta	24
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	8

Estación 11 (150 m)



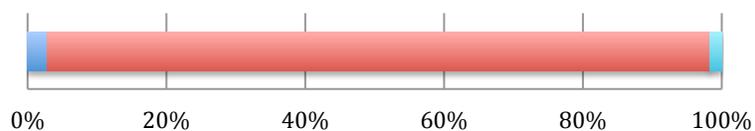
	Proteobacteria
Alfa	0
Beta	99
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	1

Estación 11 (400 m)



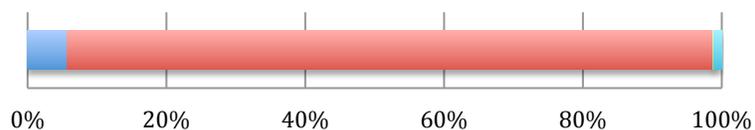
	Proteobacteria
Alfa	1
Beta	98
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	1

Estación 11 (600 m)



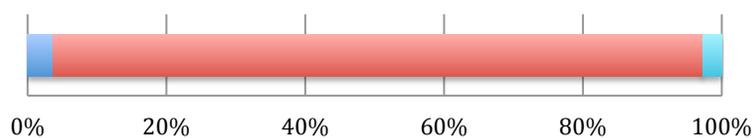
	Proteobacteria
Alfa	3
Beta	95
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	2

Estación 11 (800 m)



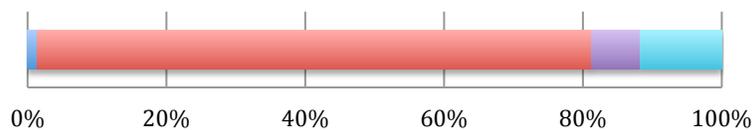
	Proteobacteria
Alfa	6
Beta	93
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	1

Estación 11 (1000 m)



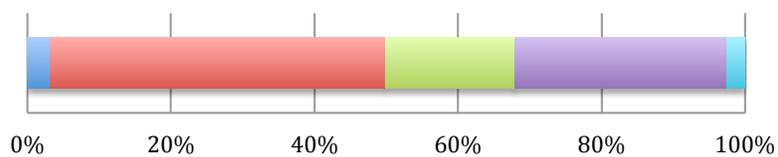
	proteobacteria
Alfa	4
Beta	94
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	3

Estación 12 (150 m)



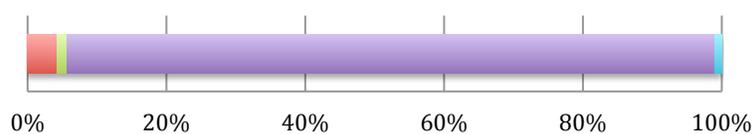
	Proteobacteria
Alfa	1
Beta	80
Gamma	0
Delta	7
Epsilon	12

Estación 12 (400 m)



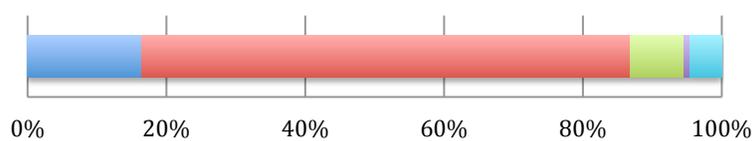
Proteobacteria	
Alfa	3
Beta	47
Gamma	18
Delta	29
Epsilon	3

Estación 12 (600 m)



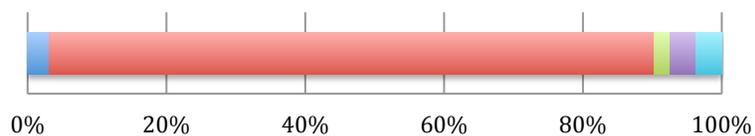
Proteobacteria	
Alfa	0
Beta	4
Gamma	2
Delta	93
Epsilon	1

Estación 12 (800 m)



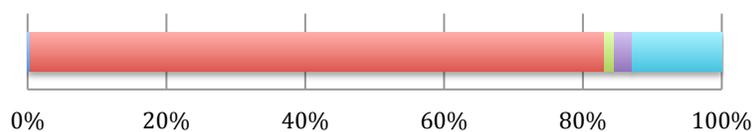
Proteobacteria	
Alfa	16
Beta	71
Gamma	8
Delta	1
Epsilon	5

Estación 12 (1000 m)



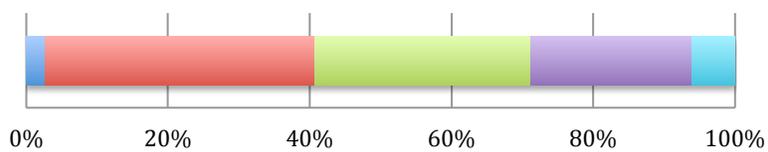
	Proteobacteria
Alfa	3
Beta	87
Gamma	2
Delta	4
Epsilon	4

Estación 12 (1500 m)



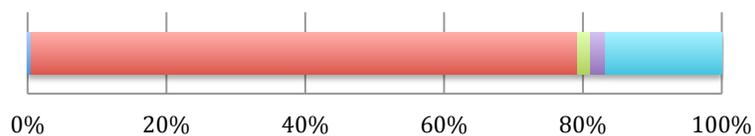
	Proteobacteria
Alfa	0
Beta	83
Gamma	1
Delta	3
Epsilon	13

Estación 12 (2000 m)



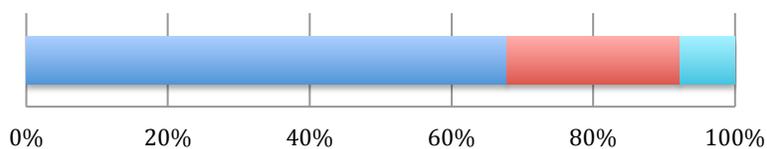
	Proteobacteria
Alfa	3
Beta	38
Gamma	30
Delta	23
Epsilon	6

Estación 12 (2500 m)



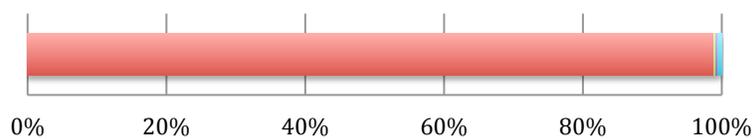
Proteobacteria	
Alfa	1
Beta	79
Gamma	2
Delta	2
Epsilon	17

Estación 12 (Fondo)



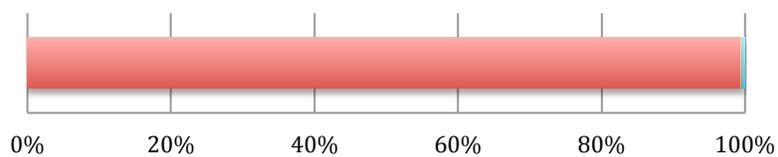
Proteobacteria	
Alfa	68
Beta	24
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	8

Estación 15 (150 m)



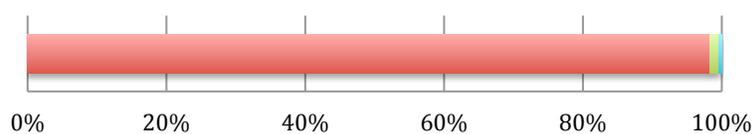
Proteobacteria	
Alfa	0
Beta	99
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	1

Estación 15 (400 m)



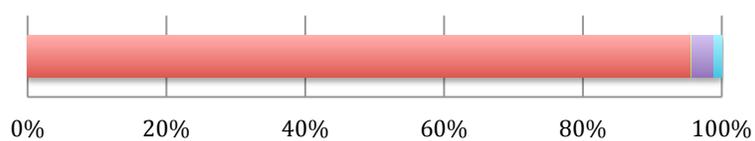
Proteobacteria	
Alfa	0
Beta	99
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	0

Estación 15 (600 m)



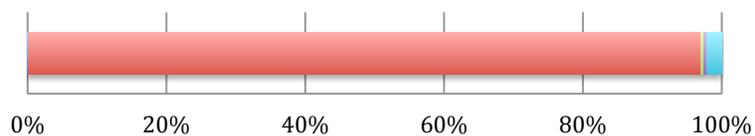
Proteobacteria	
Alfa	0
Beta	98
Gamma	1
Delta	0
Epsilon	0

Estación 15 (800 m)



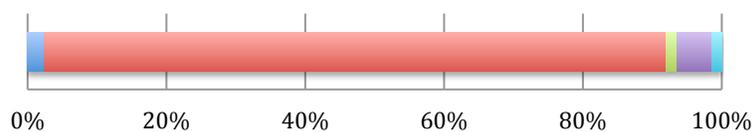
Proteobacteria	
Alfa	0
Beta	96
Gamma	0
Delta	3
Epsilon	1

Estación 15 (1000 m)



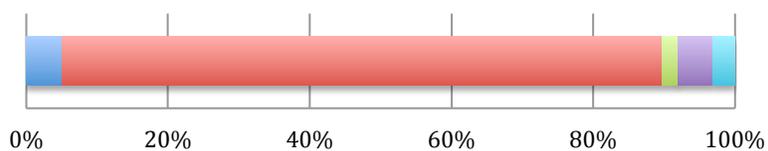
	Proteobacteria
Alfa	0
Beta	97
Gamma	0
Delta	1
Epsilon	2

Estación 15 (1500 m)



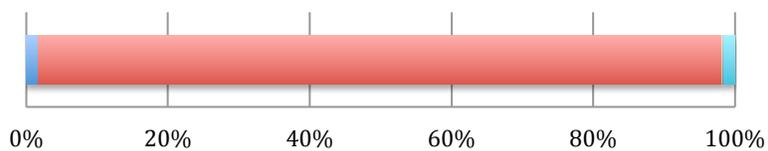
	Proteobacteria
Alfa	2
Beta	90
Gamma	2
Delta	5
Epsilon	1

Estación 15 (2000 m)



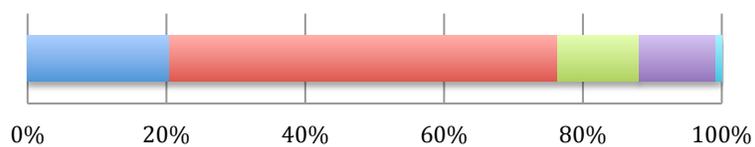
	Proteobacteria
Alfa	5
Beta	85
Gamma	2
Delta	5
Epsilon	3

Estación 15 (Fondo)



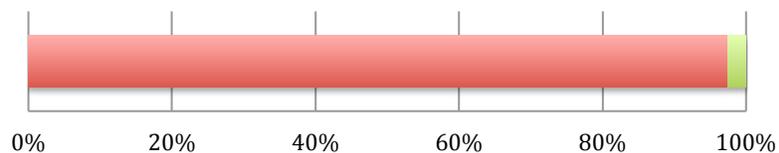
Proteobacteria	
Alfa	2
Beta	96
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	2

Estación 16 (150 m)



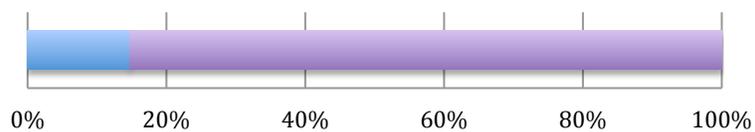
Proteobacteria	
Alfa	21
Beta	56
Gamma	12
Delta	11
Epsilon	1

Estación 16 (400 m)



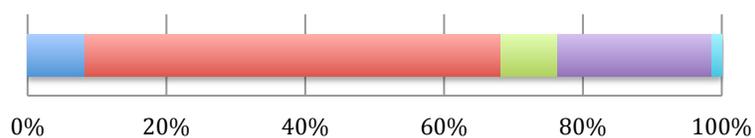
Proteobacteria	
Alfa	0
Beta	97
Gamma	3
Delta	0
Epsilon	0

Estación 16 (600 m)



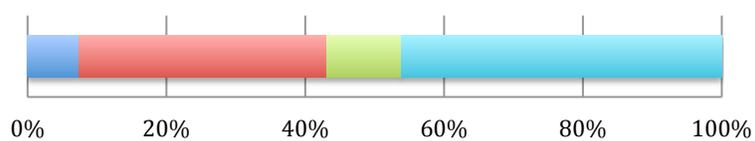
	Proteobacteria
Alfa	15
Beta	0
Gamma	0
Delta	85
Epsilon	0

Estación 16 (800 m)



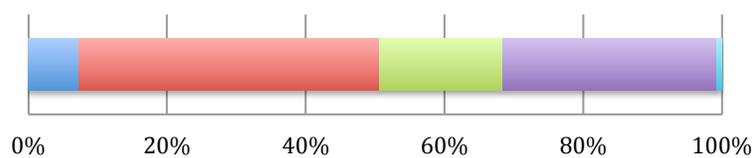
	Proteobacteria
Alfa	8
Beta	60
Gamma	8
Delta	22
Epsilon	1

Estación 16 (1000 m)



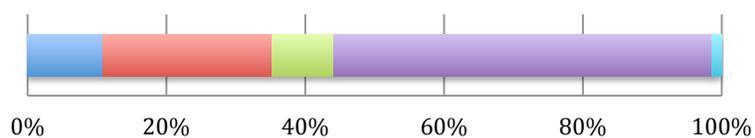
	Proteobacteria
Alfa	7
Beta	36
Gamma	11
Delta	0
Epsilon	46

Estación 16 (1200 m)



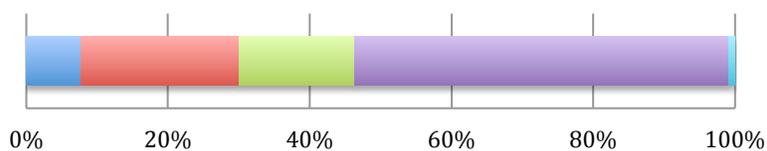
Proteobacteria	
Alfa	7
Beta	43
Gamma	18
Delta	31
Epsilon	1

Estación 16 (1500 m)



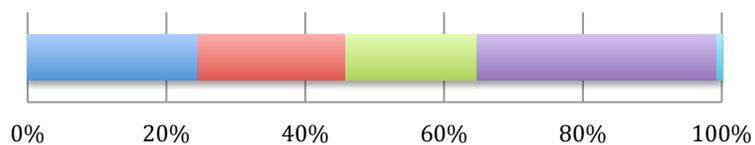
Proteobacteria	
Alfa	11
Beta	24
Gamma	9
Delta	54
Epsilon	1

Estación 16 (2000 m)



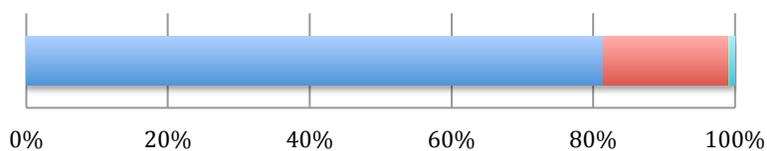
Proteobacteria	
Alfa	8
Beta	22
Gamma	16
Delta	53
Epsilon	1

Estación 16 (2500 m)



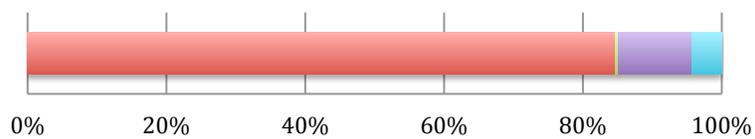
	Proteobacteria
Alfa	24
Beta	21
Gamma	19
Delta	35
Epsilon	1

Estación 16 (Fondo)



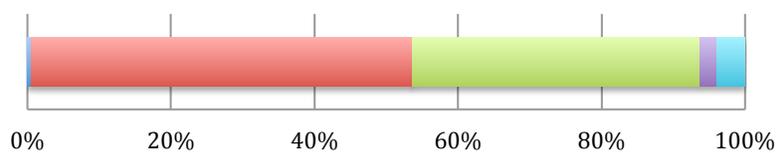
	Proteobacteria
Alfa	81
Beta	18
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	1

Estación 17 (150 m)



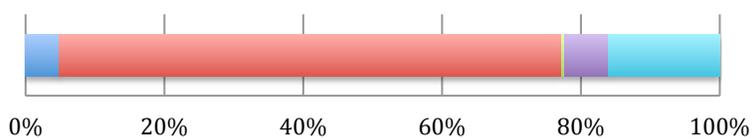
	Proteobacteria
Alfa	0
Beta	85
Gamma	0
Delta	11
Epsilon	4

Estación 17 (400 m)



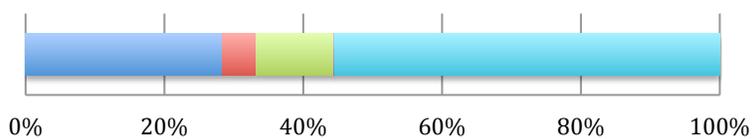
Proteobacteria	
Alfa	1
Beta	53
Gamma	40
Delta	2
Epsilon	4

Estación 17 (600 m)



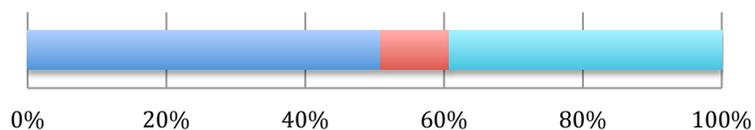
Proteobacteria	
Alfa	5
Beta	72
Gamma	0
Delta	6
Epsilon	16

Estación 17 (800 m)



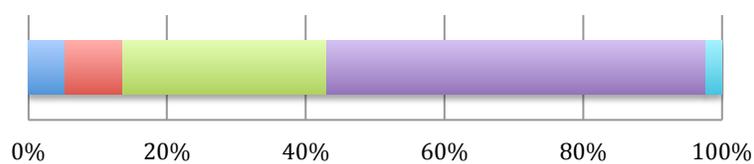
Proteobacteria	
Alfa	28
Beta	5
Gamma	11
Delta	0
Epsilon	56

Estación 17 (1000 m)



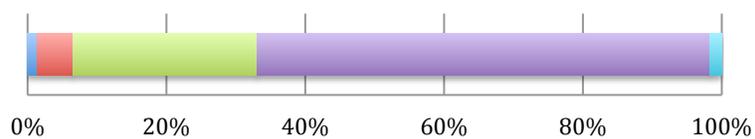
Proteobacteria	
Alfa	51
Beta	10
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	39

Estación 17 (1200 m)



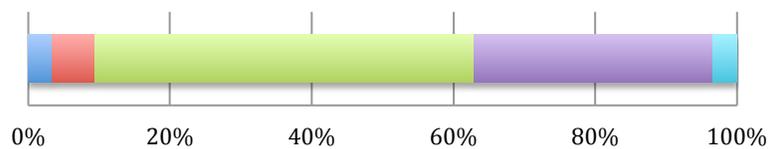
Proteobacteria	
Alfa	5
Beta	8
Gamma	29
Delta	55
Epsilon	2

Estación 17 (1500 m)



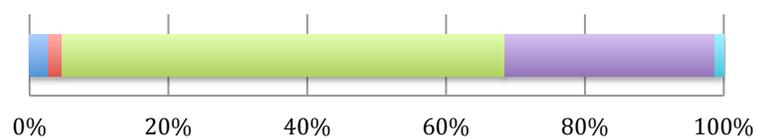
Proteobacteria	
Alfa	1
Beta	5
Gamma	27
Delta	65
Epsilon	2

Estación 17 (2000 m)



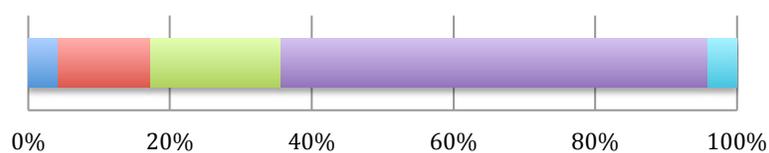
Proteobacteria	
Alfa	3
Beta	6
Gamma	54
Delta	34
Epsilon	3

Estación 17 (2500 m)



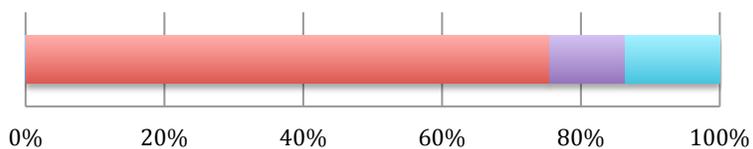
Proteobacteria	
Alfa	3
Beta	2
Gamma	64
Delta	30
Epsilon	1

Estación 17 (Fondo)



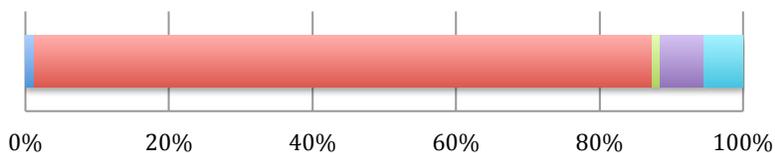
Proteobacteria	
Alfa	4
Beta	13
Gamma	18
Delta	60
Epsilon	4

Estación 18 (150 m)



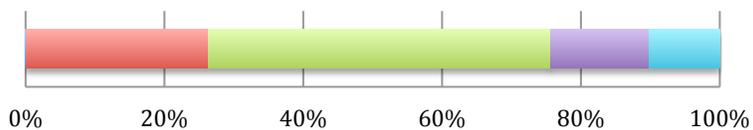
Proteobacteria	
Alfa	0
Beta	75
Gamma	0
Delta	11
Epsilon	14

Estacion 18 (400 m)



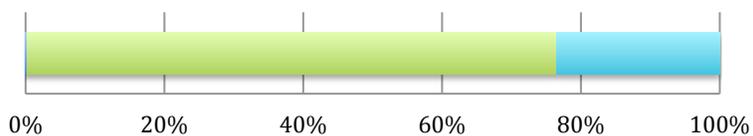
Proteobacteria	
Alfa	1
Beta	86
Gamma	1
Delta	6
Epsilon	5

Estación 18 (600 m)



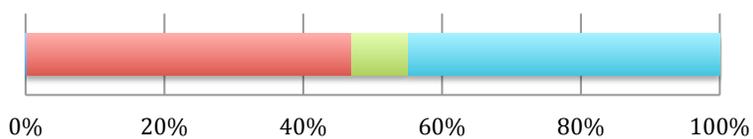
Proteobacteria	
Alfa	0
Beta	26
Gamma	49
Delta	14
Epsilon	10

Estación 18 (800 m)



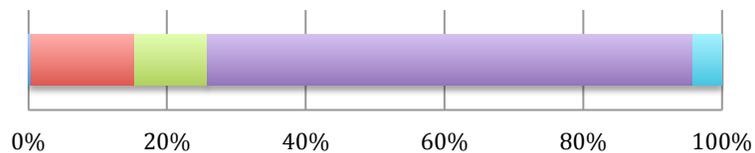
	Proteobacteria
Alfa	0
Beta	0
Gamma	76
Delta	0
Epsilon	23

Estación 18 (1000 m)



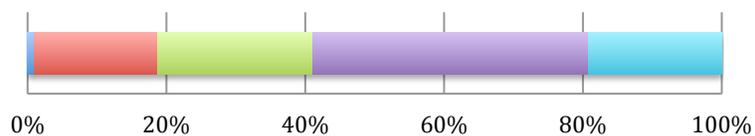
	Proteobacteria
Alfa	0
Beta	47
Gamma	8
Delta	0
Epsilon	45

Estación 18 (1200 m)



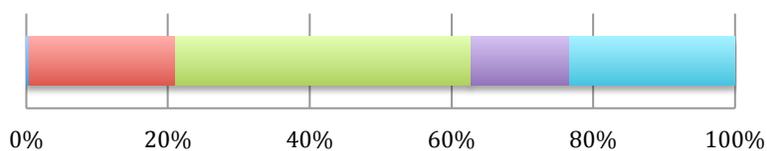
	Proteobacteria
Alfa	0
Beta	15
Gamma	10
Delta	70
Epsilon	4

Estación 18 (1500 m)



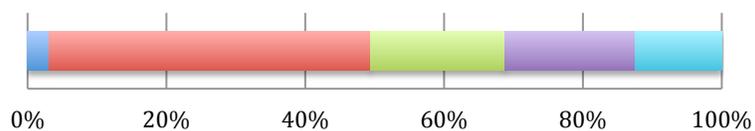
Proteobacteria	
Alfa	1
Beta	18
Gamma	22
Delta	40
Epsilon	19

Estación 18 (2000 m)



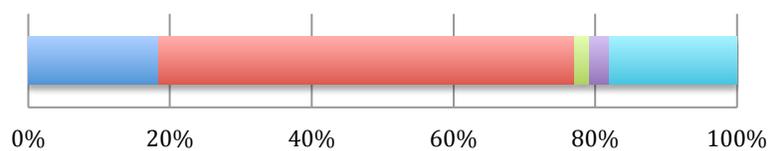
Proteobacteria	
Alfa	0
Beta	21
Gamma	42
Delta	14
Epsilon	23

Estación 18 (2500 m)



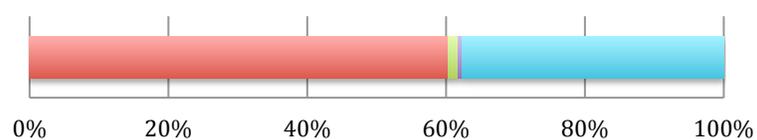
Proteobacteria	
Alfa	3
Beta	46
Gamma	19
Delta	19
Epsilon	12

Estación 18 (Fondo)



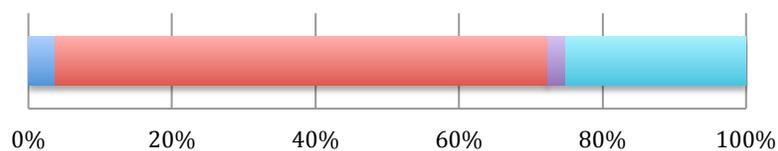
Proteobacteria	
Alfa	18
Beta	59
Gamma	2
Delta	3
Epsilon	18

Estación 19 (150 m)



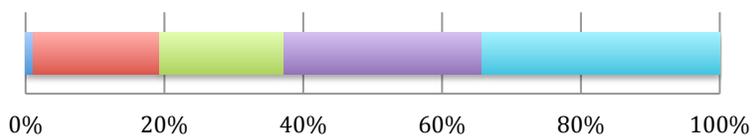
Proteobacteria	
Alfa	0
Beta	60
Gamma	1
Delta	1
Epsilon	38

Estación 19 (400 m)



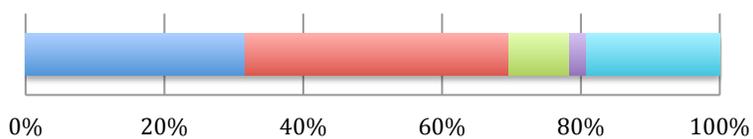
Proteobacteria	
Alfa	4
Beta	69
Gamma	0
Delta	3
Epsilon	25

Estación 19 (600 m)



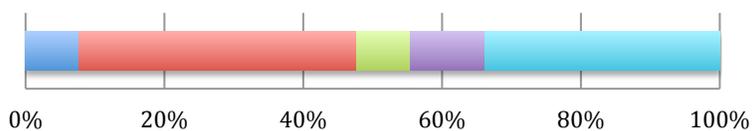
Proteobacteria	
Alfa	1
Beta	18
Gamma	18
Delta	28
Epsilon	34

Estación 19 (800 m)



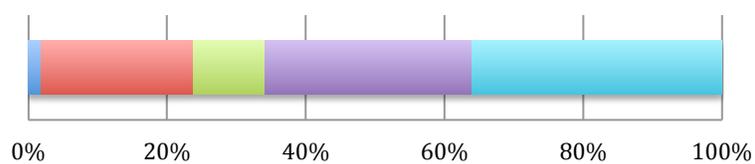
Proteobacteria	
Alfa	32
Beta	38
Gamma	9
Delta	2
Epsilon	19

Estación 19 (1000 m)



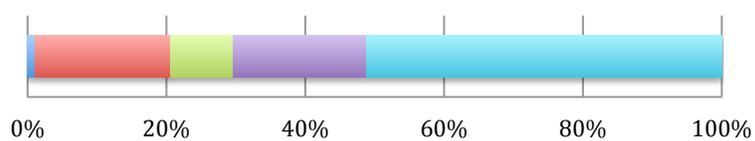
Proteobacteria	
Alfa	8
Beta	40
Gamma	8
Delta	11
Epsilon	34

Estación 19 (1200 m)



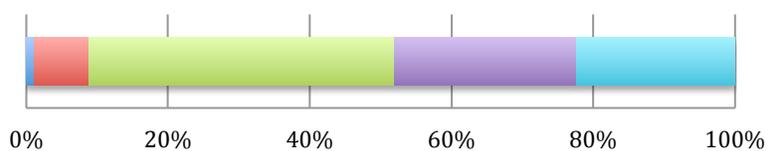
Proteobacteria	
Alfa	2
Beta	22
Gamma	10
Delta	30
Epsilon	36

Estación 19 (1500 m)



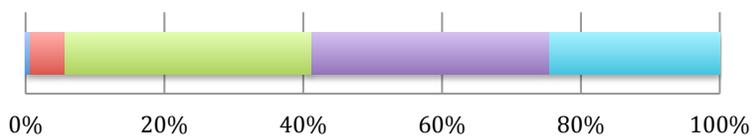
Proteobacteria	
Alfa	1
Beta	20
Gamma	9
Delta	19
Epsilon	51

Estación 19 (2000 m)



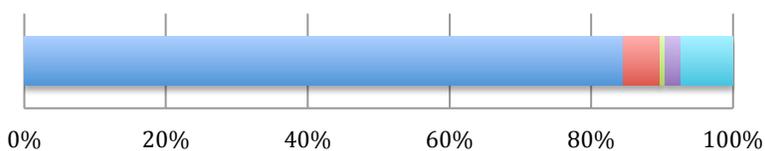
Proteobacteria	
Alfa	1
Beta	8
Gamma	43
Delta	26
Epsilon	22

Estación 19 (2500 m)



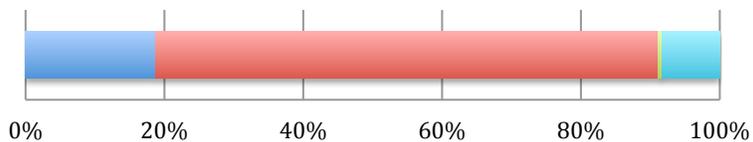
Proteobacteria	
Alfa	1
Beta	5
Gamma	36
Delta	34
Epsilon	25

Estación 19 (Fondo)



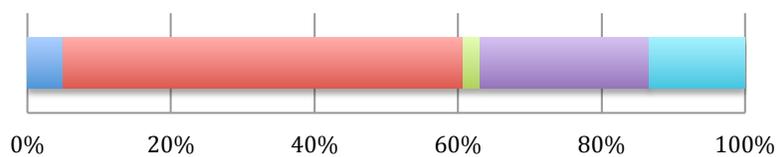
Proteobacteria	
Alfa	84
Beta	5
Gamma	1
Delta	2
Epsilon	7

Estación 20 (150 m)



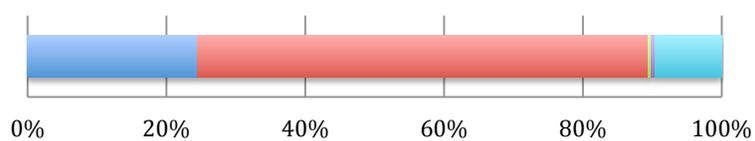
Proteobacteria	
Alfa	19
Beta	72
Gamma	1
Delta	0
Epsilon	8

Estación 20 (400 m)



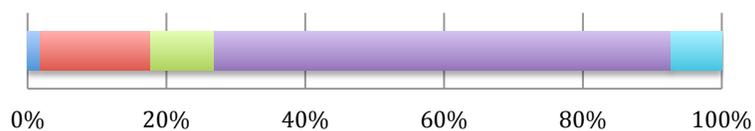
Proteobacteria	
Alfa	5
Beta	56
Gamma	2
Delta	24
Epsilon	13

Estación 20 (600 m)



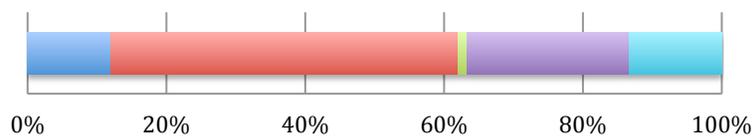
Proteobacteria	
Alfa	25
Beta	65
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	10

Estación 20 (800 m)



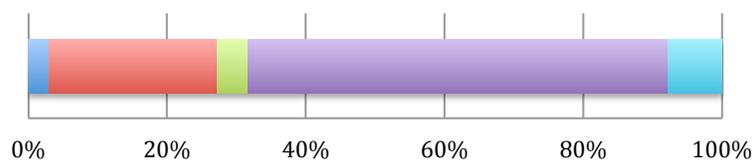
Proteobacteria	
Alfa	2
Beta	16
Gamma	9
Delta	66
Epsilon	7

Estación 20 (1000 m)



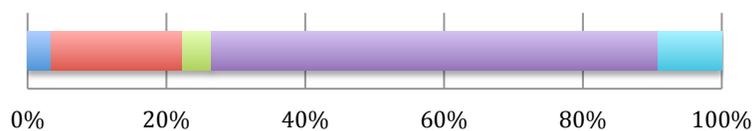
Proteobacteria	
Alfa	12
Beta	50
Gamma	1
Delta	23
Epsilon	13

Estación 20 (1200 m)



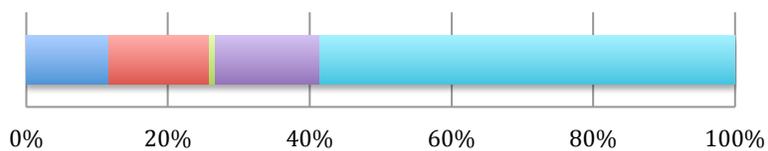
Proteobacteria	
Alfa	3
Beta	24
Gamma	4
Delta	61
Epsilon	8

Estación 20 (1500 m)



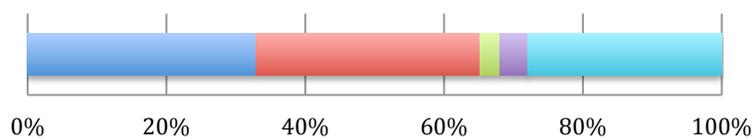
Proteobacteria	
Alfa	3
Beta	19
Gamma	4
Delta	64
Epsilon	9

Estación 20 (2000 m)



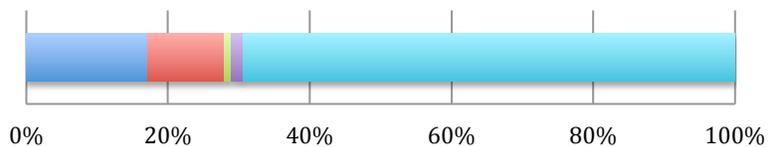
Proteobacteria	
Alfa	12
Beta	14
Gamma	1
Delta	15
Epsilon	59

Estación 20 (2500 m)



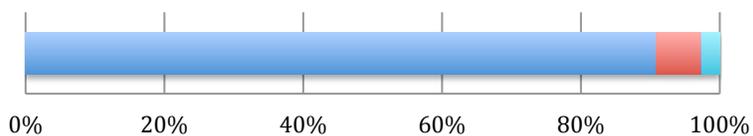
Proteobacteria	
Alfa	33
Beta	32
Gamma	3
Delta	4
Epsilon	28

Estación 20 (Fondo)



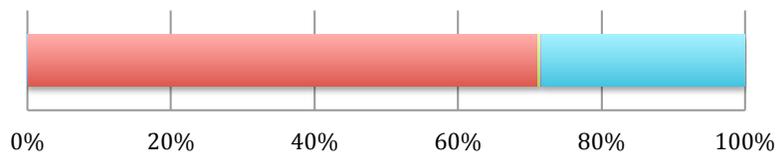
Proteobacteria	
Alfa	17
Beta	11
Gamma	1
Delta	2
Epsilon	69

Estación 21 (150 m)



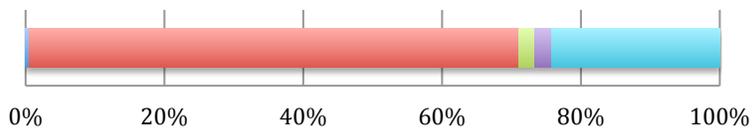
Proteobacteria	
Alfa	91
Beta	6
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	3

Estación 21 (400 m)



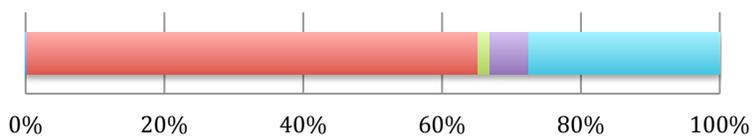
Proteobacteria	
Alfa	0
Beta	71
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	28

Estación 21 (800 m)



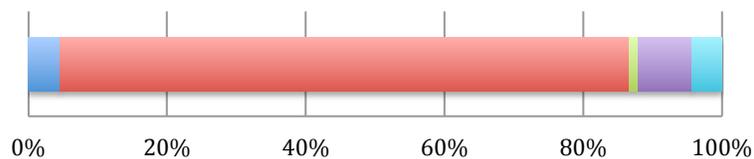
Proteobacteria	
Alfa	0
Beta	71
Gamma	2
Delta	2
Epsilon	24

Estación 21 (1000 m)



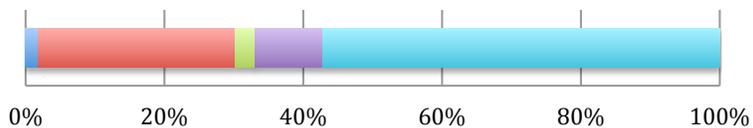
Proteobacteria	
Alfa	0
Beta	65
Gamma	2
Delta	6
Epsilon	28

Estación 21 (1200 m)



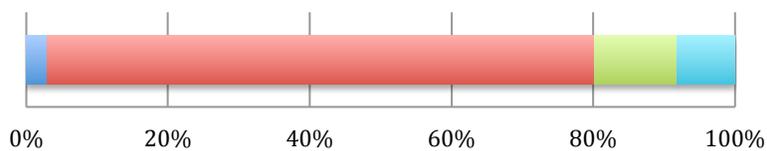
Proteobacteria	
Alfa	5
Beta	82
Gamma	1
Delta	8
Epsilon	4

Estación 21 (1500 m)



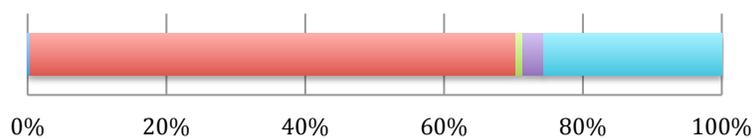
Proteobacteria	
Alfa	2
Beta	28
Gamma	3
Delta	10
Epsilon	57

Estación 21 (2000 m)



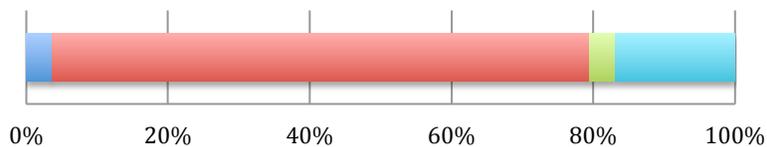
Proteobacteria	
Alfa	3
Beta	77
Gamma	12
Delta	0
Epsilon	8

Estación 21 (2500 m)



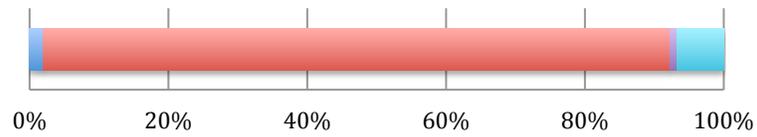
Proteobacteria	
Alfa	0
Beta	70
Gamma	1
Delta	3
Epsilon	26

Estación 21 (Fondo)



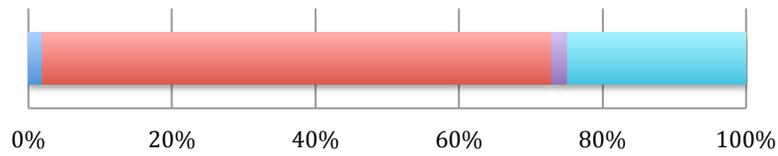
Proteobacteria	
Alfa	4
Beta	76
Gamma	4
Delta	0
Epsilon	17

Estación 22 (150 m)



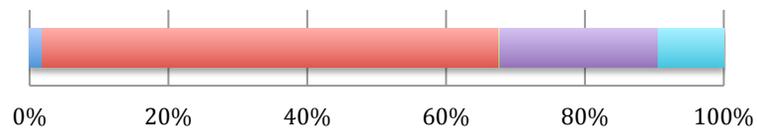
	Proteobacteria
Alfa	2
Beta	90
Gamma	0
Delta	1
Epsilon	7

Estación 22 (400 m)



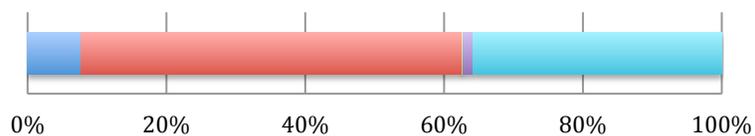
	Proteobacteria
Alfa	2
Beta	71
Gamma	0
Delta	2
Epsilon	25

Estación 22 (800 m)



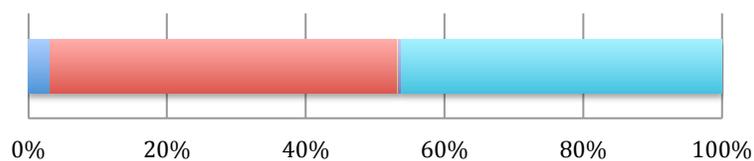
	Proteobacteria
Alfa	2
Beta	66
Gamma	0
Delta	23
Epsilon	9

Estación 22 (1000 m)



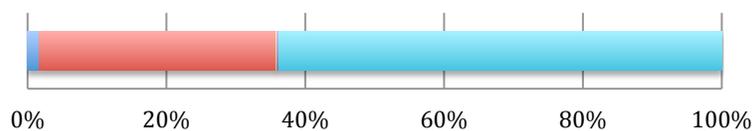
Proteobacteria	
Alfa	8
Beta	55
Gamma	0
Delta	2
Epsilon	36

Estación 22 (1200 m)



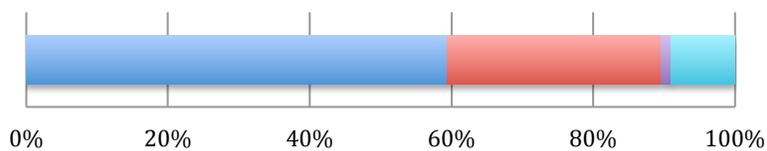
Proteobacteria	
Alfa	3
Beta	50
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	46

Estación 22 (1500 m)



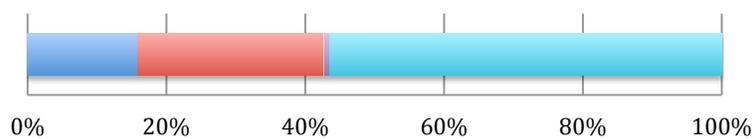
Proteobacteria	
Alfa	2
Beta	34
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	64

Estación 22 (2000 m)



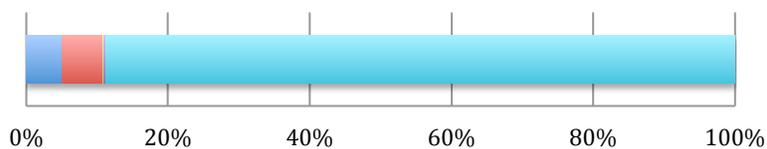
Proteobacteria	
Alfa	59
Beta	30
Gamma	0
Delta	1
Epsilon	9

Estación 22 (2500 m)



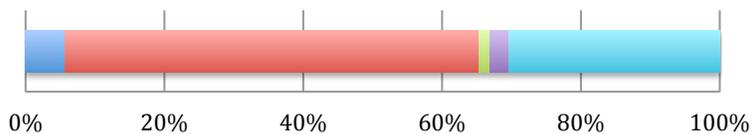
Proteobacteria	
Alfa	16
Beta	27
Gamma	0
Delta	1
Epsilon	57

Estación 22 (Fondo)



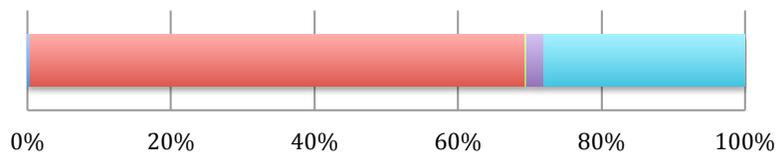
Proteobacteria	
Alfa	5
Beta	6
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	89

Estación 23 (150 m)



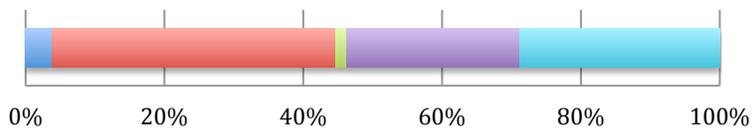
Proteobacteria	
Alfa	6
Beta	60
Gamma	2
Delta	3
Epsilon	30

Estación 23 (400 m)



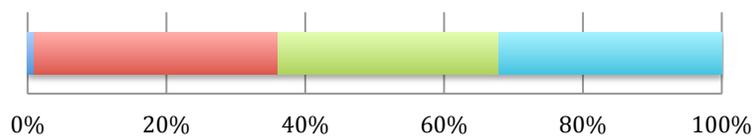
Proteobacteria	
Alfa	0
Beta	69
Gamma	0
Delta	2
Epsilon	28

Estación 23 (600 m)



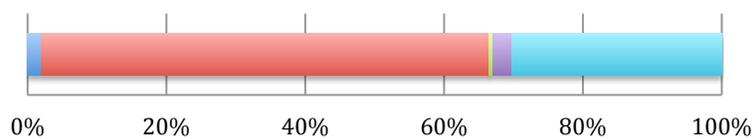
Proteobacteria	
Alfa	4
Beta	41
Gamma	2
Delta	25
Epsilon	29

Estación 23 (800 m)



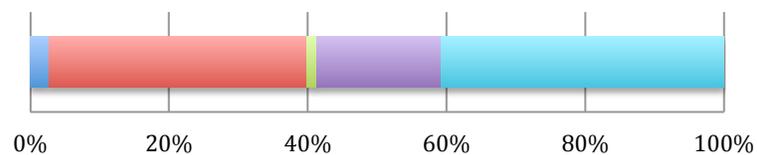
	Proteobacteria
Alfa	1
Beta	35
Gamma	32
Delta	0
Epsilon	32

Estación 23 (1000 m)



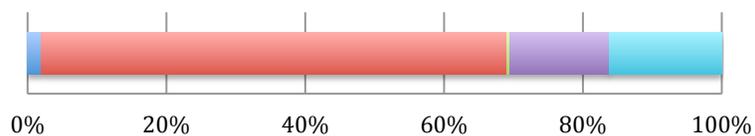
	Proteobacteria
Alfa	2
Beta	65
Gamma	1
Delta	3
Epsilon	30

Estación 23 (1200 m)



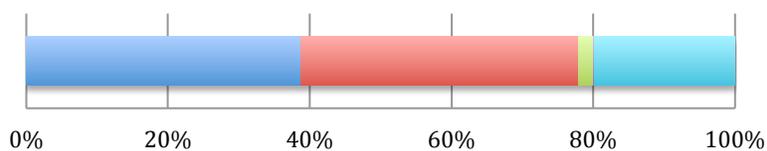
	Proteobacteria
Alfa	3
Beta	37
Gamma	1
Delta	18
Epsilon	41

Estación 23 (1500 m)



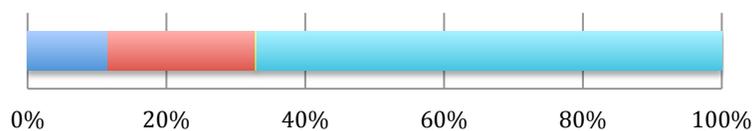
	Proteobacteria
Alfa	2
Beta	67
Gamma	0
Delta	14
Epsilon	16

Estación 23 (2000 m)



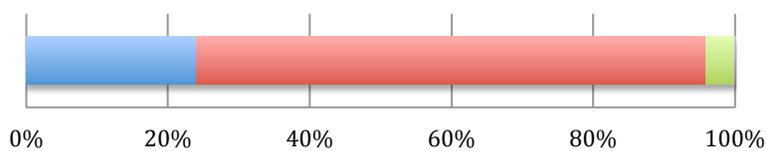
	Proteobacteria
Alfa	39
Beta	39
Gamma	2
Delta	0
Epsilon	20

Estación 23 (2500 m)



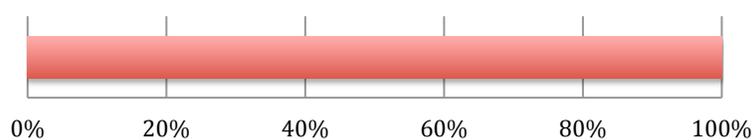
	Proteobacteria
Alfa	12
Beta	21
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	67

Estación 23 (Fondo)



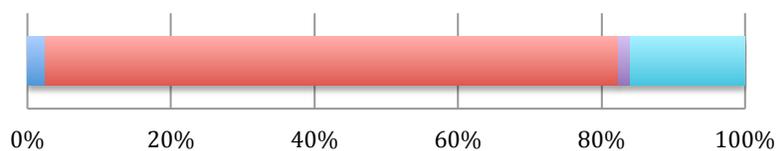
Proteobacteria	
Alfa	24
Beta	72
Gamma	4
Delta	0
Epsilon	0

Estación 24 (150 m)



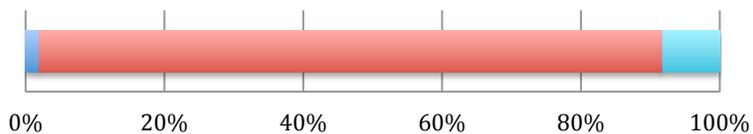
Proteobacteria	
Alfa	0
Beta	100
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	0

Estación 24 (400 m)



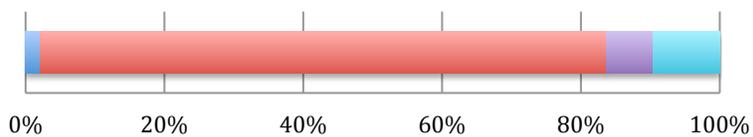
Proteobacteria	
Alfa	3
Beta	80
Gamma	0
Delta	2
Epsilon	16

Estación 24 (600 m)



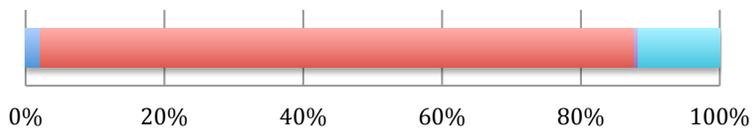
	Proteobacteria
Alfa	2
Beta	90
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	8

Estación 24 (800 m)



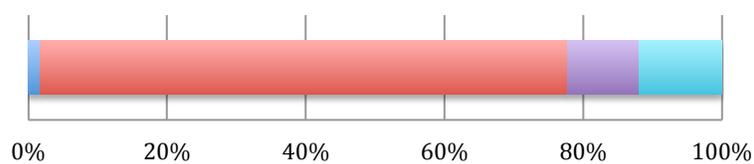
	Proteobacteria
Alfa	2
Beta	82
Gamma	0
Delta	7
Epsilon	10

Estación 24 (1000 m)



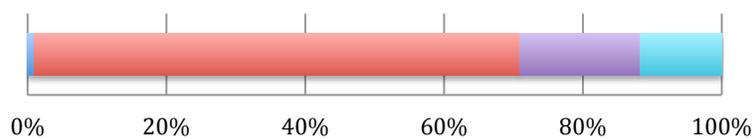
	Proteobacteria
Alfa	2
Beta	86
Gamma	0
Delta	1
Epsilon	12

Estación 24 (1200 m)



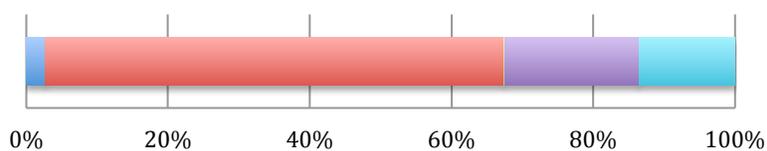
Proteobacteria	
Alfa	2
Beta	76
Gamma	0
Delta	10
Epsilon	12

Estación 24 (1500 m)



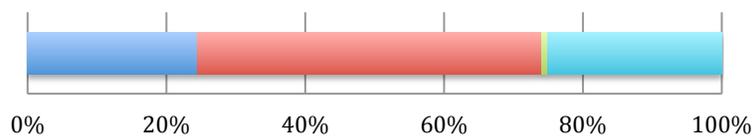
Proteobacteria	
Alfa	1
Beta	70
Gamma	0
Delta	17
Epsilon	12

Estación 24 (2000 m)



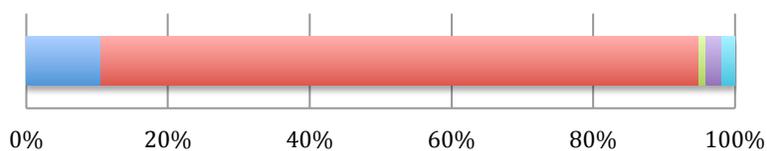
Proteobacteria	
Alfa	3
Beta	65
Gamma	0
Delta	19
Epsilon	13

Estación 24 (2500 m)



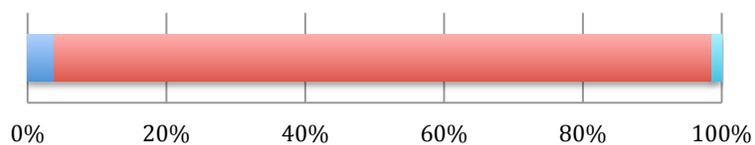
	Proteobacteria
Alfa	24
Beta	50
Gamma	1
Delta	0
Epsilon	25

Estación 24 (Fondo)



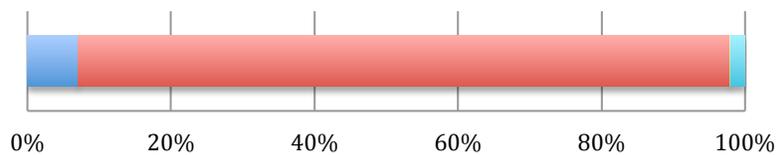
	Proteobacteria
Alfa	11
Beta	84
Gamma	1
Delta	2
Epsilon	2

Estación 25 (150 m)



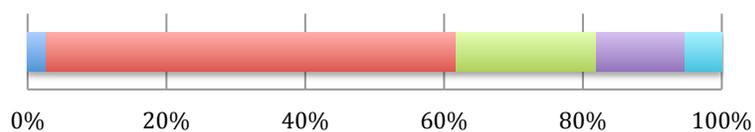
	Proteobacteria
Alfa	4
Beta	95
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	1

Estación 25 (400 m)



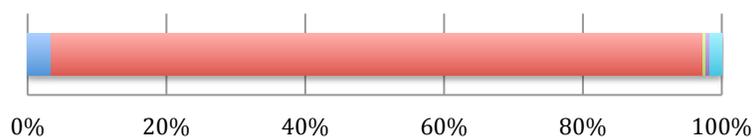
Proteobacteria	
Alfa	7
Beta	91
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	2

Estación 25 (800 m)



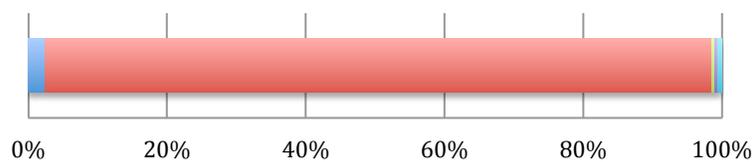
Proteobacteria	
Alfa	3
Beta	59
Gamma	20
Delta	13
Epsilon	5

Estación 25 (1000 m)



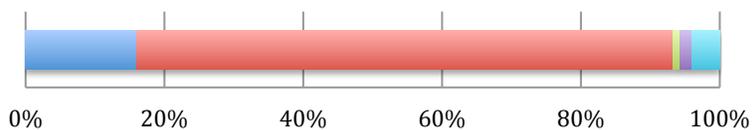
Proteobacteria	
Alfa	3
Beta	94
Gamma	0
Delta	1
Epsilon	2

Estación 25 (1200 m)



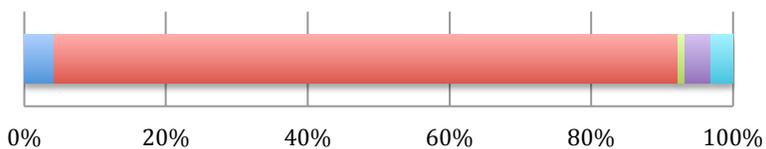
Proteobacteria	
Alfa	2
Beta	96
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	1

Estación 25 (1500 m)



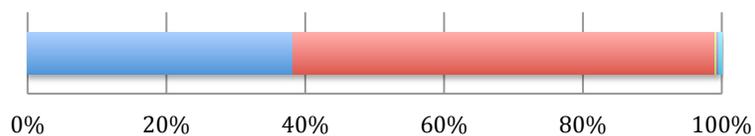
Proteobacteria	
Alfa	16
Beta	77
Gamma	1
Delta	2
Epsilon	4

Estación 25 (2000 m)



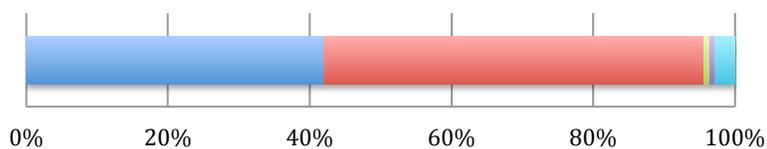
Proteobacteria	
Alfa	4
Beta	88
Gamma	1
Delta	4
Epsilon	3

Estación 25 (2500 m)



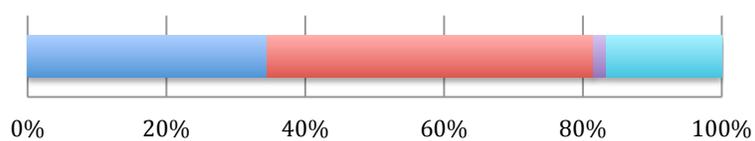
Proteobacteria	
Alfa	38
Beta	61
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	0

Estación 25 (Fondo)



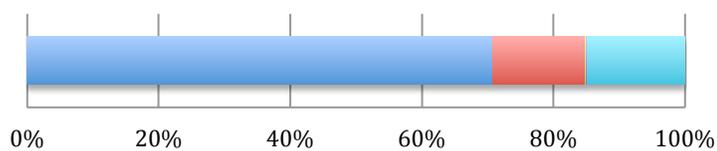
Proteobacteria	
Alfa	42
Beta	54
Gamma	1
Delta	1
Epsilon	3

Estación 27 (150 m)



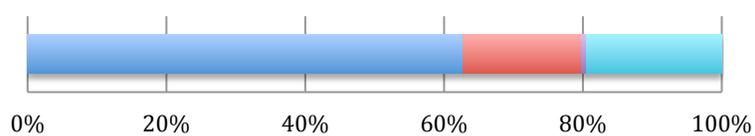
Proteobacteria	
Alfa	34
Beta	47
Gamma	0
Delta	2
Epsilon	17

Estación 27 (400 m)



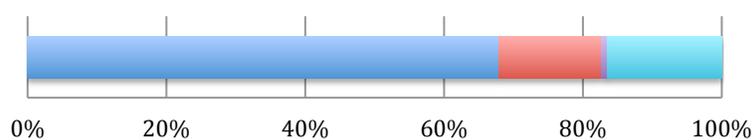
Proteobacteria	
Alfa	71
Beta	14
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	15

Estación 27 (600 m)



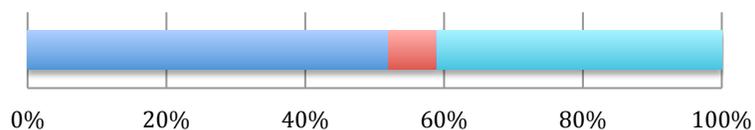
Proteobacteria	
Alfa	63
Beta	17
Gamma	0
Delta	1
Epsilon	19

Estación 27 (800 m)



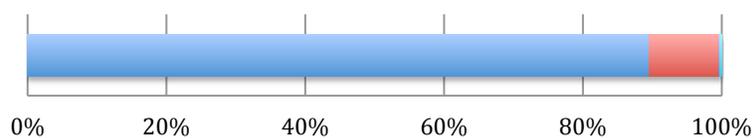
Proteobacteria	
Alfa	68
Beta	15
Gamma	0
Delta	1
Epsilon	17

Estación 27 (1000 m)



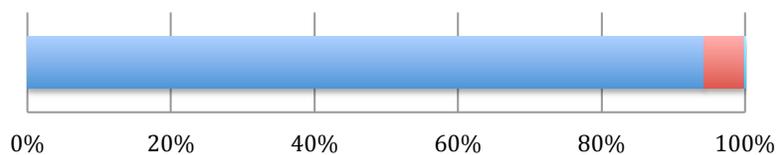
	proteobacteria
Alfa	52
Beta	7
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	41

Estación 30 (150 m)



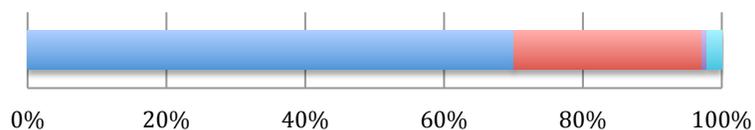
	Proteobacteria
Alfa	90
Beta	10
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	0

Estación 30 (400 m)



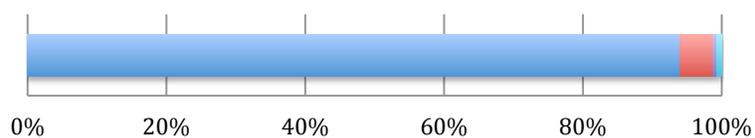
	Proteobacteria
Alfa	94
Beta	6
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	0

Estación 30 (600 m)



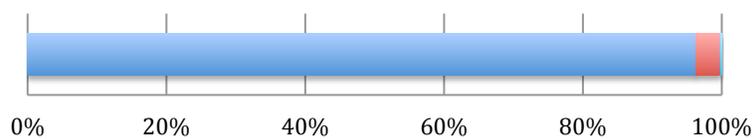
Proteobacteria	
Alfa	70
Beta	27
Gamma	0
Delta	1
Epsilon	2

Estación 30 (800 m)



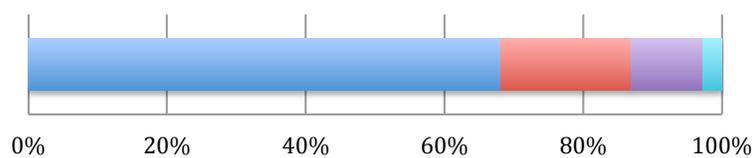
Proteobacteria	
Alfa	94
Beta	5
Gamma	0
Delta	1
Epsilon	1

Estación 30 (1000 m)



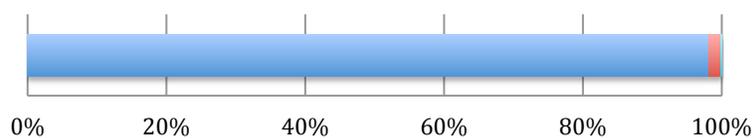
Proteobacteria	
Alfa	96
Beta	3
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	0

Estación 30 (1200 m)



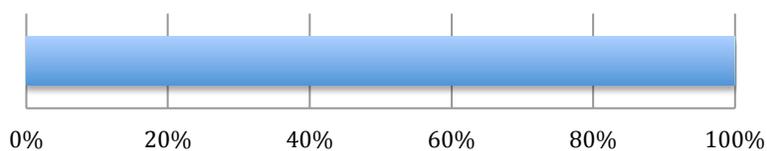
Proteobacteria	
Alfa	68
Beta	19
Gamma	0
Delta	10
Epsilon	3

Estación 30 (1500 m)



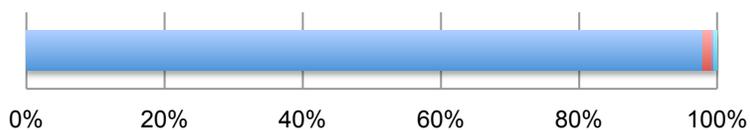
Proteobacteria	
Alfa	98
Beta	2
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	0

Estación 30 (2000 m)



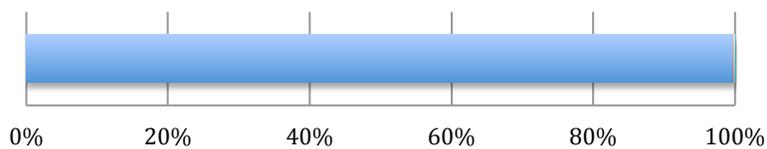
Proteobacteria	
Alfa	100
Beta	0
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	0

Estación 30(2500 m)



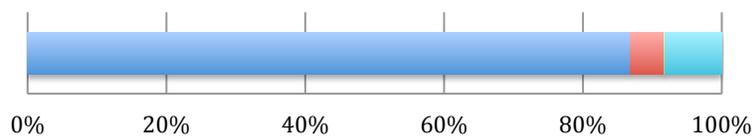
Proteobacteria	
Alfa	98
Beta	1
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	1

Estación 30 (Fondo)



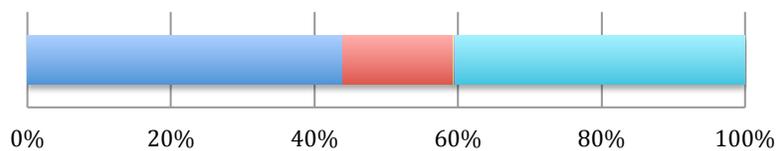
Proteobacteria	
Alfa	100
Beta	0
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	0

Estación 31 (150 m)



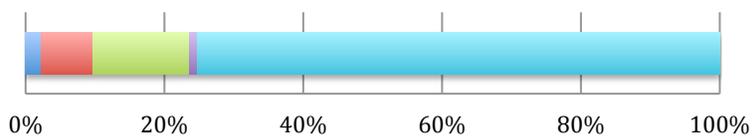
Proteobacteria	
Alfa	87
Beta	5
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	8

Estación 31 (400 m)



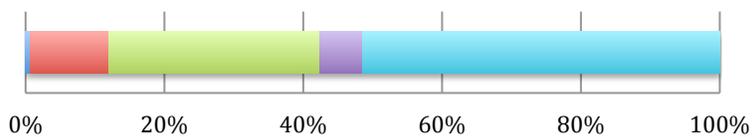
Proteobacteria	
Alfa	44
Beta	15
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	40

Estación 31 (600 m)



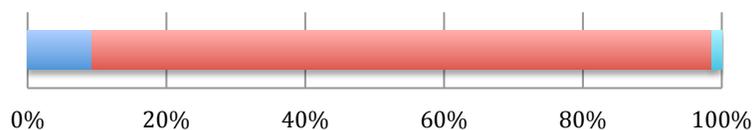
Proteobacteria	
Alfa	2
Beta	7
Gamma	14
Delta	1
Epsilon	75

Estación 31 (800 m)



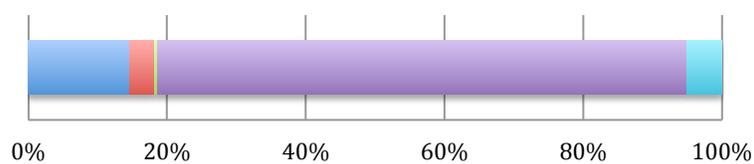
Proteobacteria	
Alfa	1
Beta	11
Gamma	30
Delta	6
Epsilon	51

Estación 31 (1000 m)



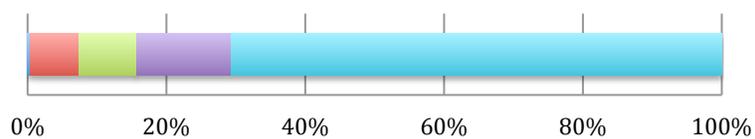
Proteobacteria	
Alfa	9
Beta	89
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	1

Estación 31 (1200 m)



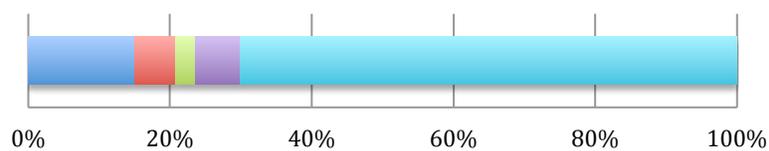
Proteobacteria	
Alfa	15
Beta	4
Gamma	1
Delta	76
Epsilon	5

Estación 31 (1500 m)



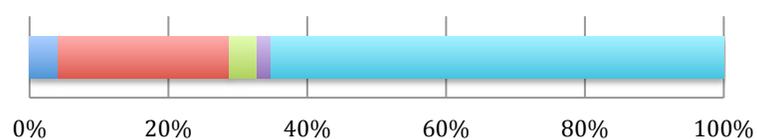
Proteobacteria	
Alfa	0
Beta	7
Gamma	8
Delta	14
Epsilon	71

Estación 31 (2000 m)



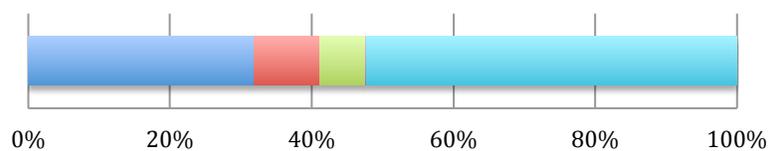
Proteobacteria	
Alfa	15
Beta	6
Gamma	3
Delta	6
Epsilon	70

Estación 31 (2500 m)



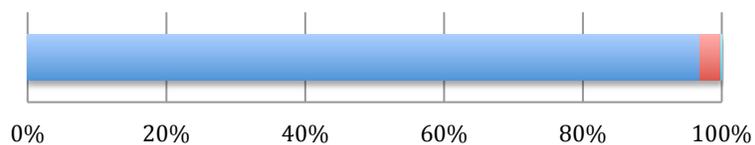
Proteobacteria	
Alfa	4
Beta	25
Gamma	4
Delta	2
Epsilon	65

Estación 31 (Fondo)



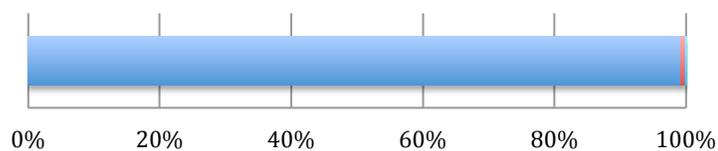
Proteobacteria	
Alfa	32
Beta	9
Gamma	7
Delta	0
Epsilon	52

Estación 32 (150 m)



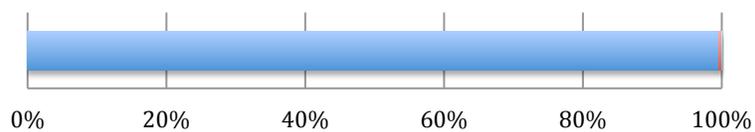
Proteobacteria	
Alfa	97
Beta	3
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	0

Estación 32 (400 m)



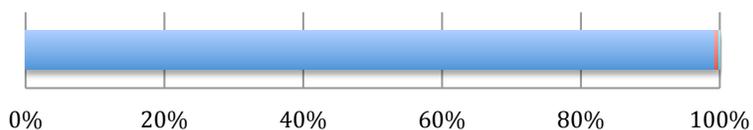
Proteobacteria	
Alfa	99
Beta	1
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	0

Estación 32 (600 m)



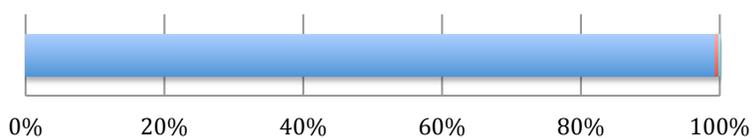
Proteobacteria	
Alfa	100
Beta	0
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	0

Estación 32 (800 m)



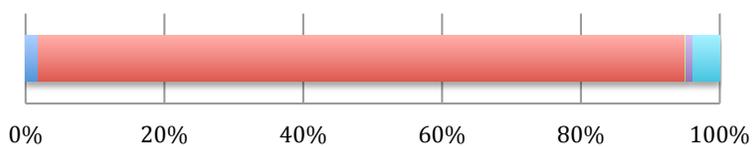
	Proteobacteria
Alfa	99
Beta	1
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	0

Estación 32 (1000 m)



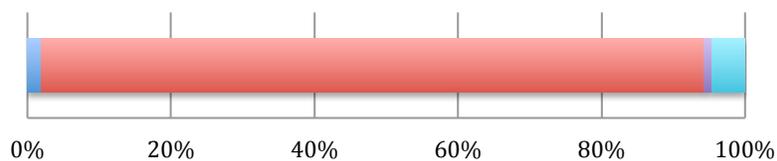
	proteobacteria
Alfa	99
Beta	1
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	0

Estación 33 (150 m)



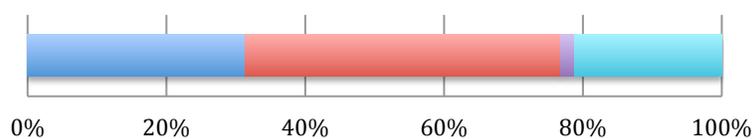
	Proteobacteria
Alfa	2
Beta	93
Gamma	0
Delta	1
Epsilon	4

Estación 33 (400 m)



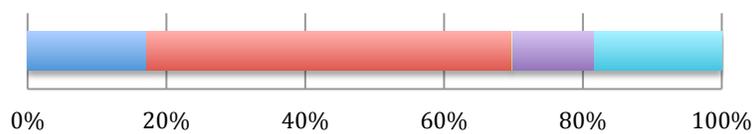
	Proteobacteria
Alfa	2
Beta	92
Gamma	0
Delta	1
Epsilon	5

Estación 33 (600 m)



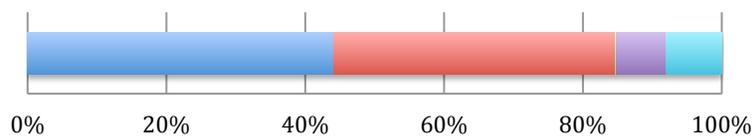
	Proteobacteria
Alfa	31
Beta	45
Gamma	0
Delta	2
Epsilon	21

Estación 33 (800 m)



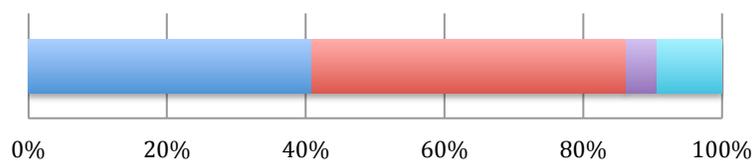
	Proteobacteria
Alfa	17
Beta	53
Gamma	0
Delta	12
Epsilon	18

Estación 33 (1000 m)



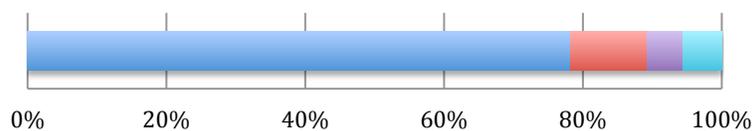
Proteobacteria	
Alfa	44
Beta	41
Gamma	0
Delta	7
Epsilon	8

Estación 33 (1200 m)



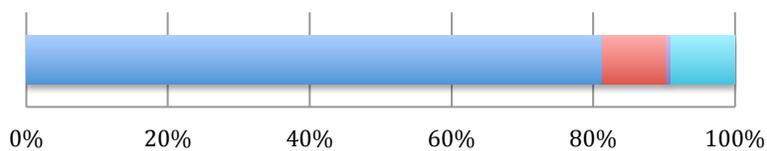
Proteobacteria	
Alfa	41
Beta	45
Gamma	0
Delta	4
Epsilon	9

Estación 33 (1500 m)



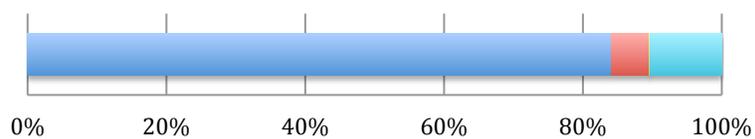
Proteobacteria	
Alfa	78
Beta	11
Gamma	0
Delta	5
Epsilon	6

Estación 33 (2000 m)



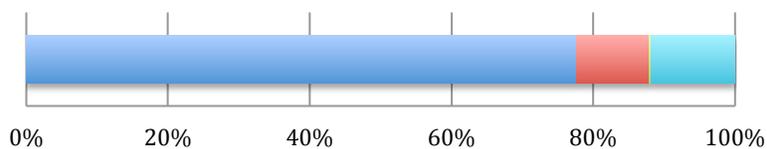
	Proteobacteria
Alfa	81
Beta	9
Gamma	0
Delta	1
Epsilon	9

Estación 33 (2500 m)



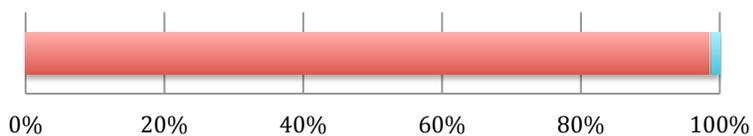
	Proteobacteria
Alfa	84
Beta	5
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	10

Estación 33 (Fondo)



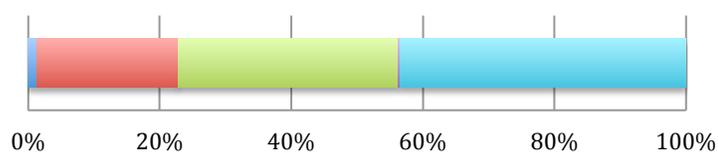
	Proteobacteria
Alfa	78
Beta	10
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	12

Estación 35 (150 m)



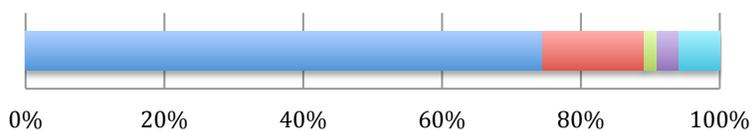
Proteobacteria	
Alfa	0
Beta	99
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	1

Estación 35 (400 m)



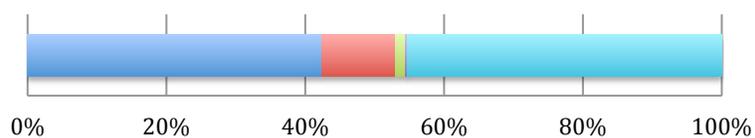
Proteobacteria	
Alfa	1
Beta	21
Gamma	33
Delta	0
Epsilon	43

Estación 35 (600 m)



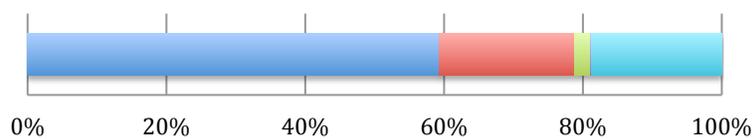
Proteobacteria	
Alfa	74
Beta	15
Gamma	2
Delta	3
Epsilon	6

Estación 35 (800 m)



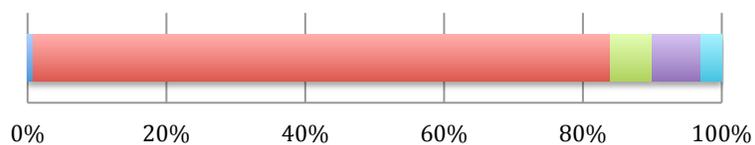
	Proteobacteria
Alfa	42
Beta	11
Gamma	1
Delta	0
Epsilon	45

Estación 35 (1000 m)



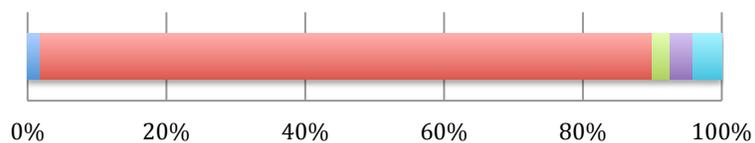
	proteobacteria
Alfa	59
Beta	19
Gamma	2
Delta	0
Epsilon	19

Estación 36 (600 m)



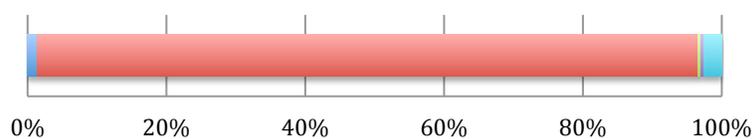
	Proteobacteria
Alfa	1
Beta	83
Gamma	6
Delta	7
Epsilon	3

Estación 36 (800 m)



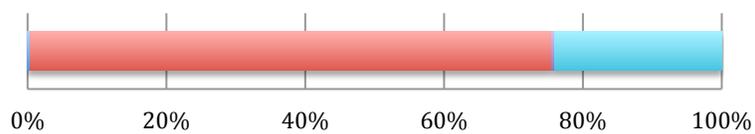
Proteobacteria	
Alfa	2
Beta	88
Gamma	3
Delta	3
Epsilon	4

Estación 36 (1000 m)



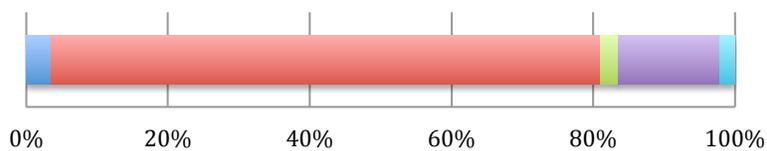
Proteobacteria	
Alfa	1
Beta	95
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	3

Estación 36 (1500 m)



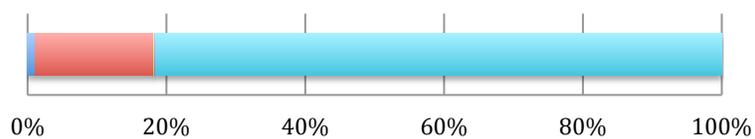
Proteobacteria	
Alfa	0
Beta	75
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	24

Estación 36 (2000 m)



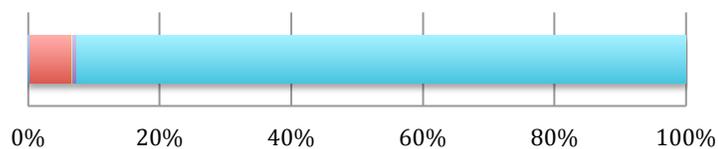
Proteobacteria	
Alfa	3
Beta	77
Gamma	3
Delta	14
Epsilon	2

Estación 37 (150 m)



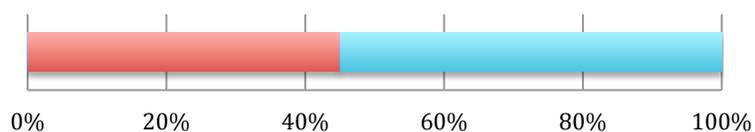
Proteobacteria	
Alfa	1
Beta	17
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	82

Estación 37 (400 m)



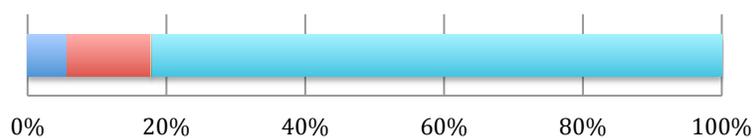
Proteobacteria	
Alfa	0
Beta	6
Gamma	0
Delta	1
Epsilon	93

Estación 37 (600 m)



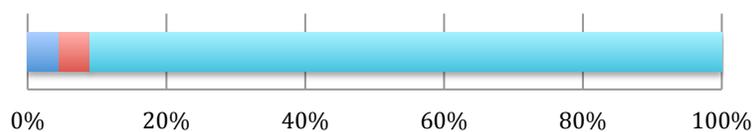
Proteobacteria	
Alfa	0
Beta	45
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	55

Estación 37 (800 m)



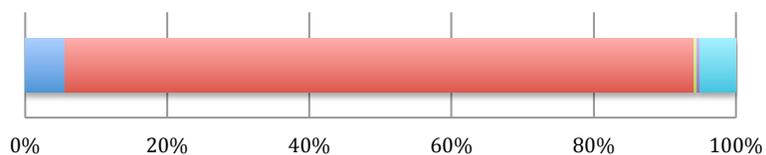
Proteobacteria	
Alfa	6
Beta	12
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	82

Estación 37 (1000 m)



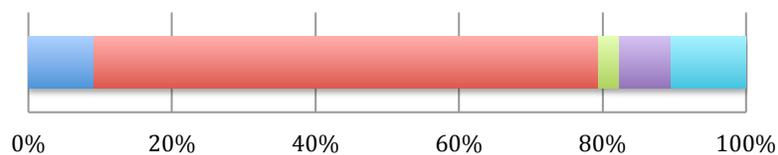
proteobacteria	
Alfa	4
Beta	5
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	91

Estación 38 (150 m)



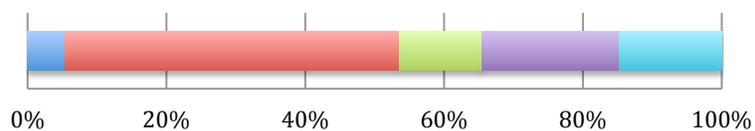
Proteobacteria	
Alfa	6
Beta	88
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	5

Estación 38 (400 m)



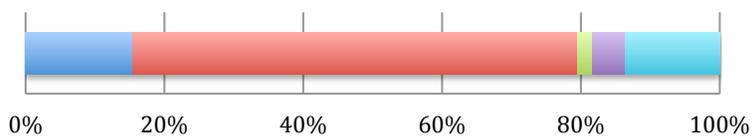
Proteobacteria	
Alfa	9
Beta	70
Gamma	3
Delta	7
Epsilon	10

Estación 38 (600 m)



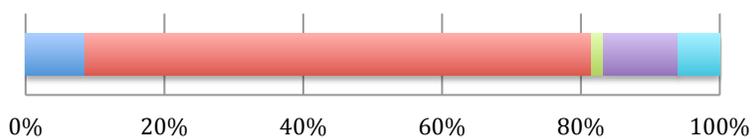
Proteobacteria	
Alfa	5
Beta	48
Gamma	12
Delta	20
Epsilon	15

Estación 38 (800 m)



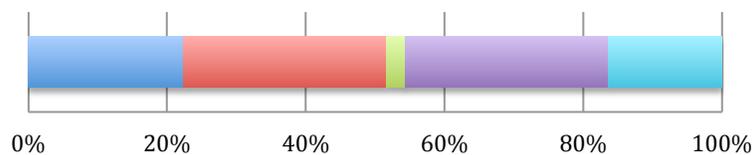
Proteobacteria	
Alfa	15
Beta	64
Gamma	2
Delta	5
Epsilon	14

Estación 38 (1000 m)



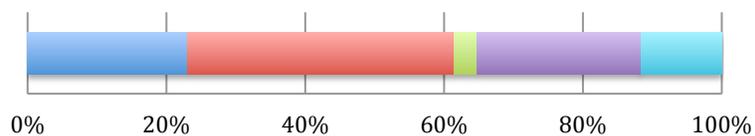
Proteobacteria	
Alfa	9
Beta	73
Gamma	2
Delta	11
Epsilon	6

Estación 38 (1200 m)



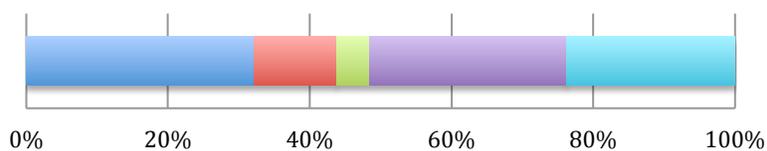
Proteobacteria	
Alfa	22
Beta	29
Gamma	3
Delta	29
Epsilon	16

Estación 38 (1500 m)



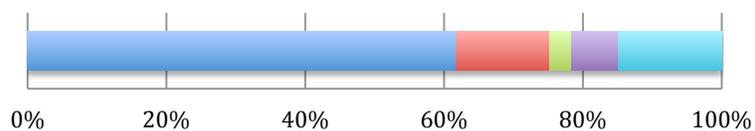
Proteobacteria	
Alfa	23
Beta	38
Gamma	3
Delta	24
Epsilon	12

Estación 38 (2000 m)



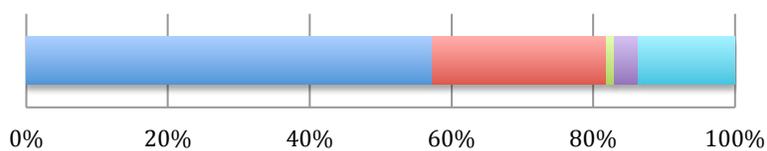
Proteobacteria	
Alfa	32
Beta	12
Gamma	5
Delta	28
Epsilon	24

Estación 38 (2500 m)



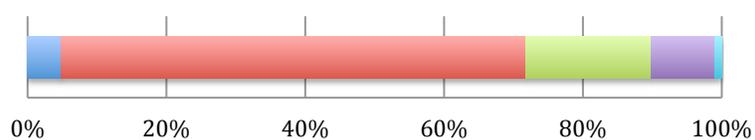
Proteobacteria	
Alfa	62
Beta	13
Gamma	3
Delta	7
Epsilon	15

Estación 38 (Fondo)



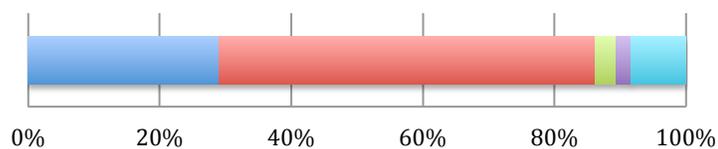
Proteobacteria	
Alfa	57
Beta	25
Gamma	1
Delta	3
Epsilon	14

Estación 39 (150 m)



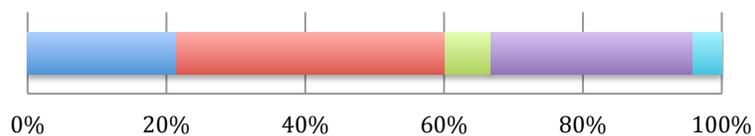
Proteobacteria	
Alfa	5
Beta	67
Gamma	18
Delta	9
Epsilon	1

Estación 39 (400 m)



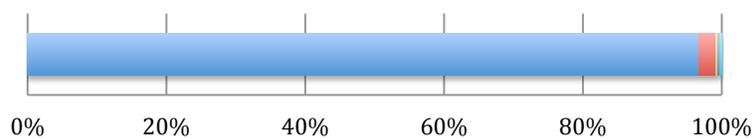
Proteobacteria	
Alfa	29
Beta	57
Gamma	3
Delta	2
Epsilon	8

Estación 39 (600 m)



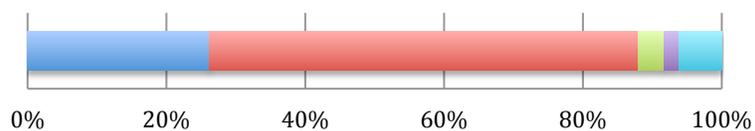
Proteobacteria	
Alfa	21
Beta	39
Gamma	7
Delta	29
Epsilon	4

Estación 39 (800 m)



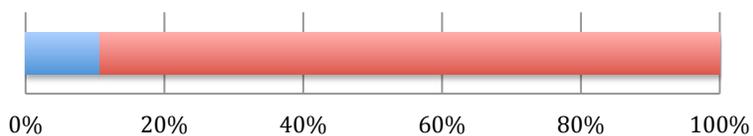
Proteobacteria	
Alfa	97
Beta	3
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	0

Estación 39 (1000 m)



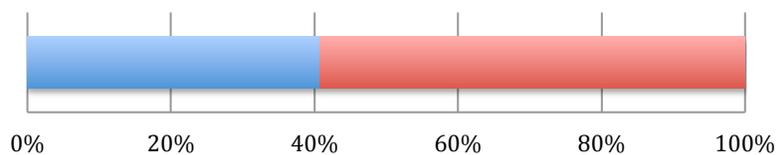
proteobacteria	
Alfa	26
Beta	62
Gamma	4
Delta	2
Epsilon	6

Estación 40 (150 m)



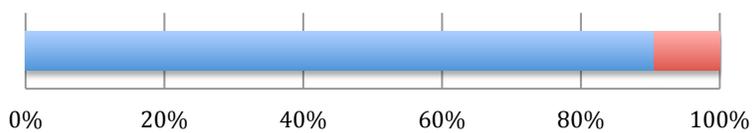
Proteobacteria	
Alfa	11
Beta	89
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	

Estación 40 (400 m)



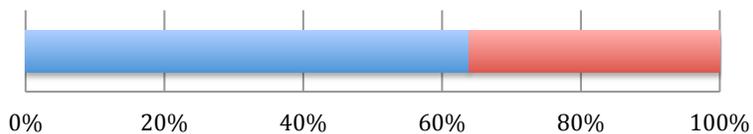
Proteobacteria	
Alfa	41
Beta	59
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	

Estación 40 (600 m)



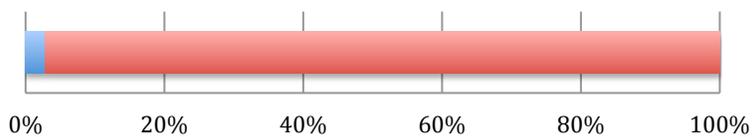
Proteobacteria	
Alfa	91
Beta	9
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	

Estación 40 (800 m)



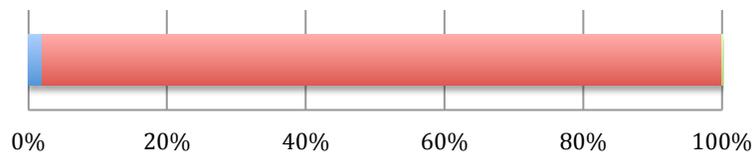
Proteobacteria	
Alfa	64
Beta	36
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	

Estación 40 (1000 m)



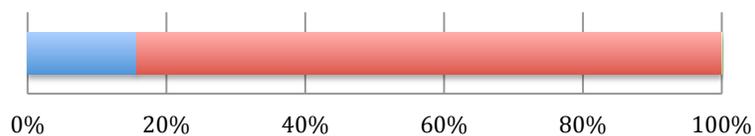
Proteobacteria	
Alfa	3
Beta	97
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	

Estación 40 (1200 m)



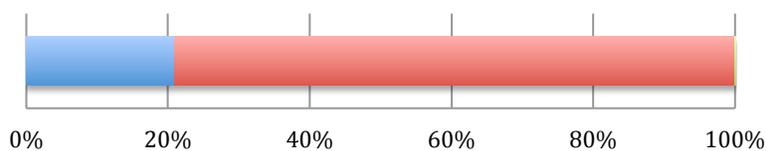
Proteobacteria	
Alfa	2
Beta	98
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	

Estación 40 (1500 m)



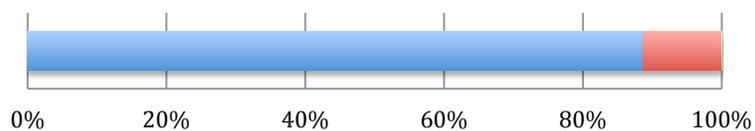
Proteobacteria	
Alfa	16
Beta	84
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	

Estación 40 (2000 m)



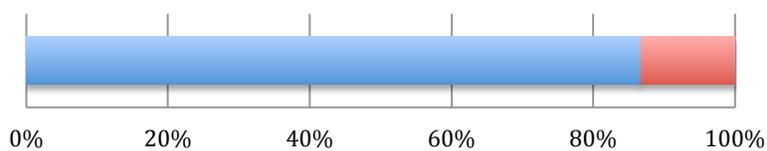
Proteobacteria	
Alfa	21
Beta	79
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	

Estación 40 (2500 m)



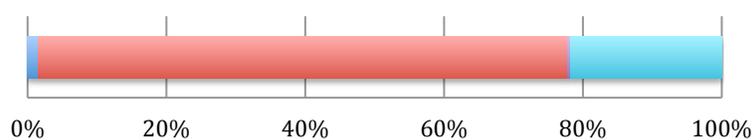
Proteobacteria	
Alfa	89
Beta	11
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	

Estación 40 (Fondo)



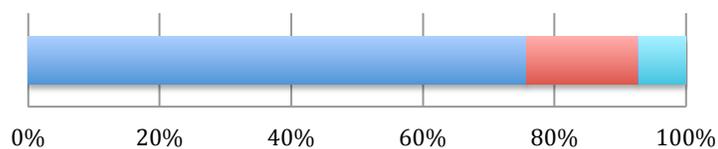
Proteobacteria	
Alfa	87
Beta	13
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	

Estación 41 (150 m)



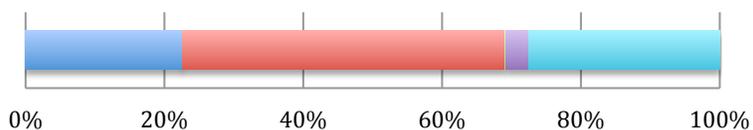
Proteobacteria	
Alfa	2
Beta	76
Gamma	0
Delta	1
Epsilon	22

Estación 41 (400 m)



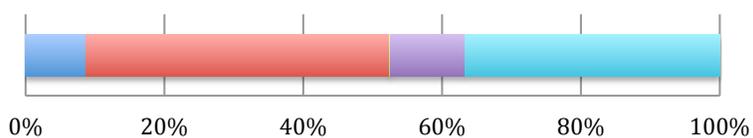
Proteobacteria	
Alfa	76
Beta	17
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	7

Estación 41 (600 m)



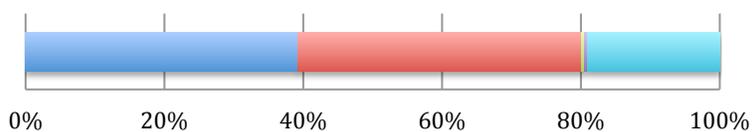
	Proteobacteria
Alfa	23
Beta	46
Gamma	0
Delta	3
Epsilon	27

Estación 41 (800 m)



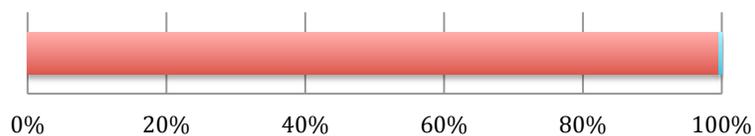
	Proteobacteria
Alfa	9
Beta	44
Gamma	0
Delta	11
Epsilon	37

Estación 41 (1000 m)



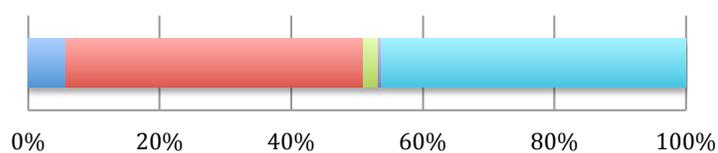
	proteobacteria
Alfa	39
Beta	41
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	19

Estación 42 (150 m)



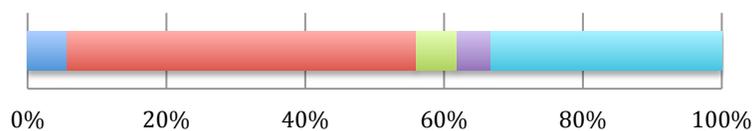
	Proteobacteria
Alfa	0
Beta	100
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	0

Estación 42 (400 m)



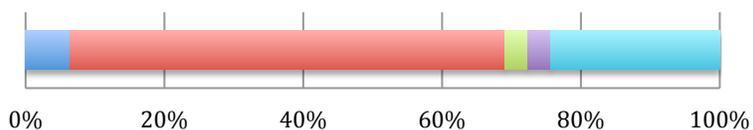
	Proteobacteria
Alfa	6
Beta	45
Gamma	2
Delta	0
Epsilon	46

Estación 42 (600 m)



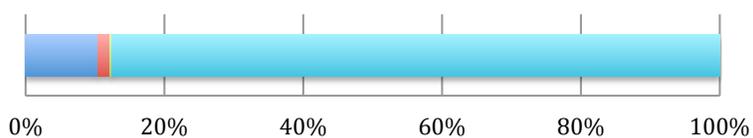
	Proteobacteria
Alfa	6
Beta	50
Gamma	6
Delta	5
Epsilon	33

Estación 42 (800 m)



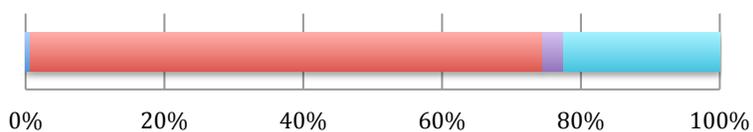
Proteobacteria	
Alfa	6
Beta	63
Gamma	3
Delta	3
Epsilon	24

Estación 42 (1000 m)



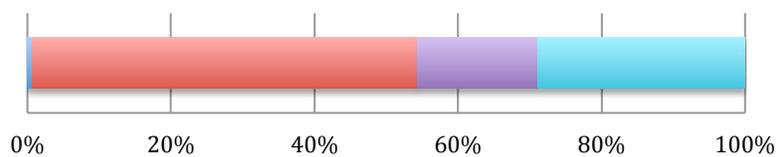
proteobacteria	
Alfa	10
Beta	2
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	87

Estación 43 (150 m)



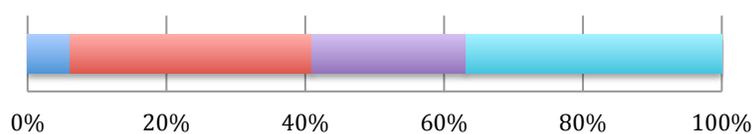
Proteobacteria	
Alfa	1
Beta	74
Gamma	0
Delta	3
Epsilon	23

Estación 43 (400 m)



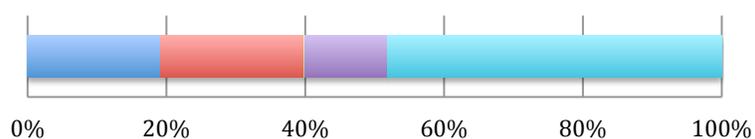
Proteobacteria	
Alfa	1
Beta	54
Gamma	0
Delta	17
Epsilon	29

Estación 43 (600 m)



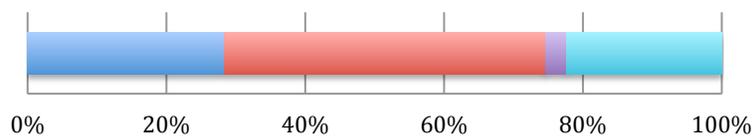
Proteobacteria	
Alfa	6
Beta	35
Gamma	0
Delta	22
Epsilon	37

Estación 43 (800 m)



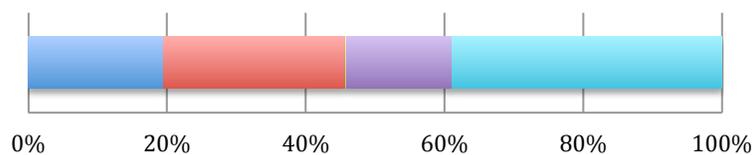
Proteobacteria	
Alfa	19
Beta	21
Gamma	0
Delta	12
Epsilon	48

Estación 43 (1000 m)



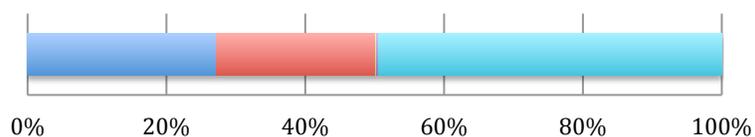
Proteobacteria	
Alfa	28
Beta	46
Gamma	0
Delta	3
Epsilon	22

Estación 43 (1200 m)



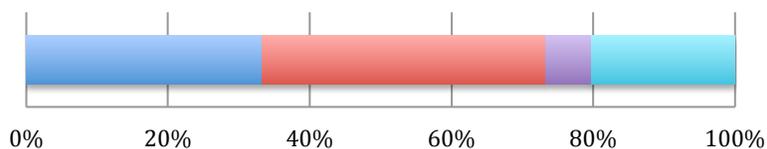
Proteobacteria	
Alfa	20
Beta	26
Gamma	0
Delta	15
Epsilon	39

Estación 43 (1500 m)



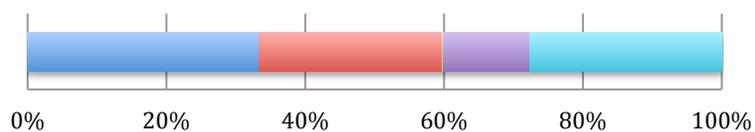
Proteobacteria	
Alfa	27
Beta	23
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	49

Estación 43 (2000 m)



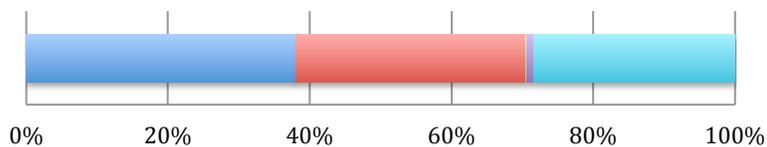
Proteobacteria	
Alfa	33
Beta	40
Gamma	0
Delta	6
Epsilon	20

Estación 43 (2500 m)



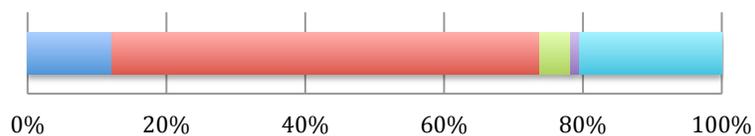
Proteobacteria	
Alfa	33
Beta	26
Gamma	0
Delta	12
Epsilon	28

Estación 43 (Fondo)



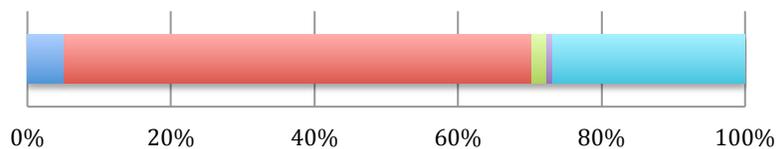
Proteobacteria	
Alfa	38
Beta	32
Gamma	0
Delta	1
Epsilon	28

Estación 44 (150 m)



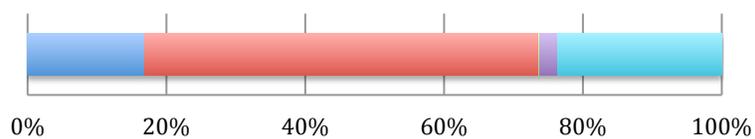
Proteobacteria	
Alfa	12
Beta	62
Gamma	4
Delta	1
Epsilon	20

Estación 44 (400 m)



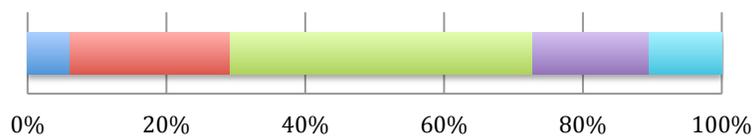
Proteobacteria	
Alfa	5
Beta	65
Gamma	2
Delta	1
Epsilon	27

Estación 44 (600 m)



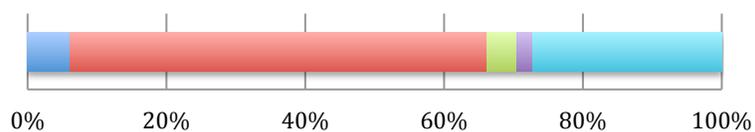
Proteobacteria	
Alfa	17
Beta	57
Gamma	0
Delta	3
Epsilon	24

Estación 44 (800 m)



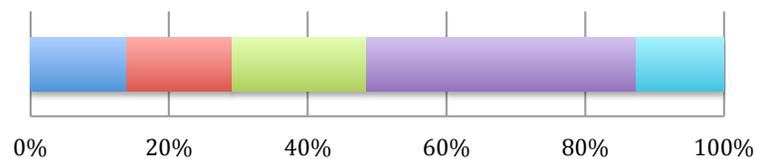
	Proteobacteria
Alfa	6
Beta	23
Gamma	44
Delta	17
Epsilon	10

Estación 44 (1000 m)



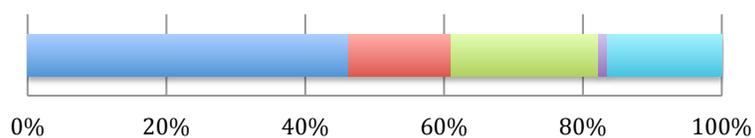
	Proteobacteria
Alfa	6
Beta	60
Gamma	4
Delta	2
Epsilon	27

Estación 44 (1200 m)



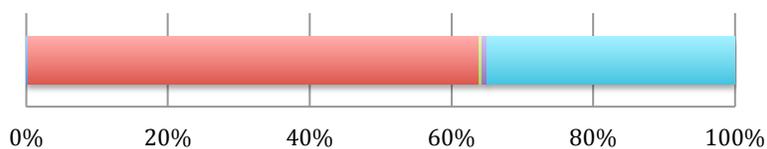
	Proteobacteria
Alfa	14
Beta	15
Gamma	19
Delta	39
Epsilon	13

Estación 44 (1500 m)



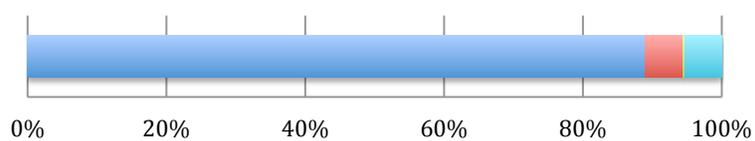
Proteobacteria	
Alfa	46
Beta	15
Gamma	21
Delta	1
Epsilon	16

Estación 44 (2000 m)



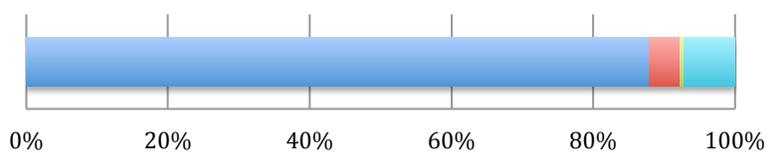
Proteobacteria	
Alfa	0
Beta	64
Gamma	0
Delta	1
Epsilon	35

Estación 44 (2500 m)



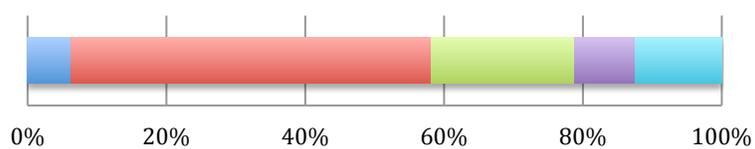
Proteobacteria	
Alfa	89
Beta	5
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	5

Estación 44 (Fondo)



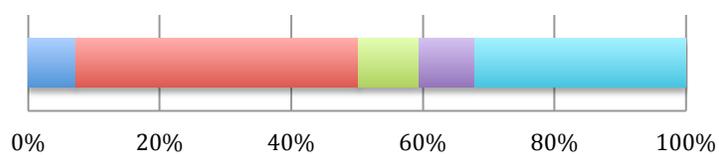
Proteobacteria	
Alfa	88
Beta	4
Gamma	1
Delta	0
Epsilon	7

Estación 45 (150 m)



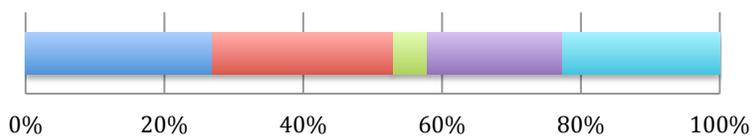
Proteobacteria	
Alfa	6
Beta	52
Gamma	21
Delta	9
Epsilon	12

Estación 45 (400 m)



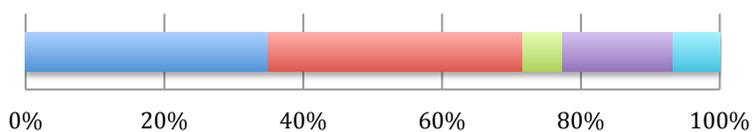
Proteobacteria	
Alfa	7
Beta	43
Gamma	9
Delta	9
Epsilon	32

Estación 45 (600 m)



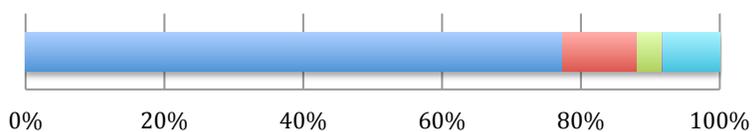
	Proteobacteria
Alfa	27
Beta	26
Gamma	5
Delta	19
Epsilon	23

Estación 45 (800 m)



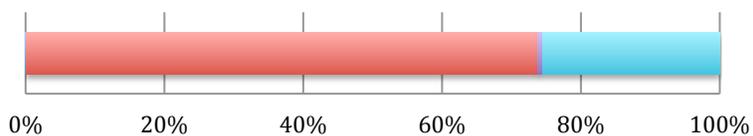
	Proteobacteria
Alfa	35
Beta	37
Gamma	6
Delta	16
Epsilon	7

Estación 45 (1000 m)



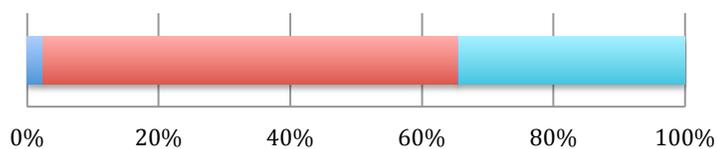
	proteobacteria
Alfa	77
Beta	11
Gamma	4
Delta	0
Epsilon	8

Estación 46 (150 m)



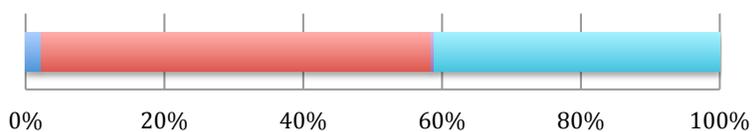
Proteobacteria	
Alfa	0
Beta	74
Gamma	0
Delta	1
Epsilon	26

Estación 46 (400 m)



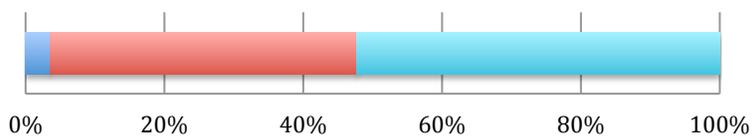
Proteobacteria	
Alfa	2
Beta	63
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	34

Estación 46 (600 m)



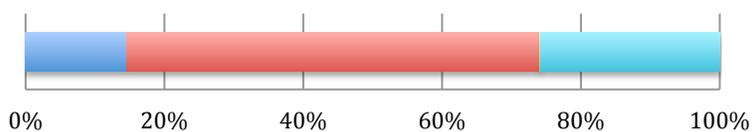
Proteobacteria	
Alfa	2
Beta	56
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	41

Estación 46 (800 m)



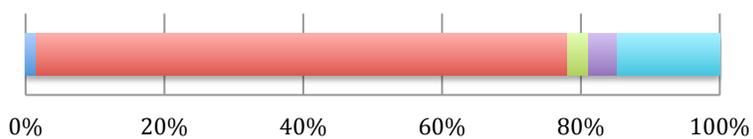
	Proteobacteria
Alfa	4
Beta	44
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	52

Estación 46 (1000 m)



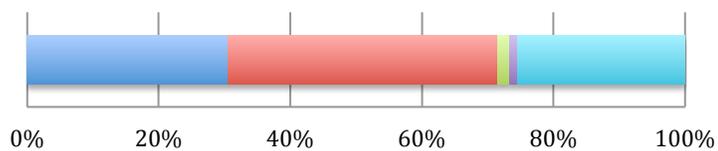
	proteobacteria
Alfa	15
Beta	59
Gamma	0
Delta	0
Epsilon	26

Estación 47 (150 m)



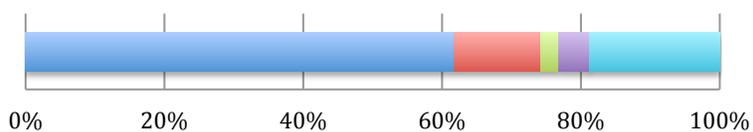
	Proteobacteria
Alfa	2
Beta	77
Gamma	3
Delta	4
Epsilon	15

Estación 47 (400 m)



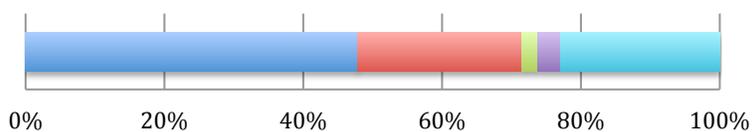
Proteobacteria	
Alfa	31
Beta	41
Gamma	2
Delta	1
Epsilon	25

Estación 47 (600 m)



Proteobacteria	
Alfa	62
Beta	12
Gamma	3
Delta	5
Epsilon	19

Estación 47 (800 m)



Proteobacteria	
Alfa	48
Beta	24
Gamma	2
Delta	3
Epsilon	23

