



## AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE BACTERIAS QUIMIOLITOTRÓFICAS ACIDÓFILAS A PARTIR DE LODOS RESIDUALES DE MINAS

Yazmin Hidalgo Rosas<sup>a</sup>, Xóchitl Nicolás Escobar<sup>a</sup>, María Isabel Neria González<sup>a</sup>

<sup>a</sup>División de Ingeniería Química y Bioquímica, Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec, Av. Tecnológico S/N, Col. Valle de Anáhuac, Ecatepec de Morales, Código 55210, MEXICO. ibineria@hotmail.com

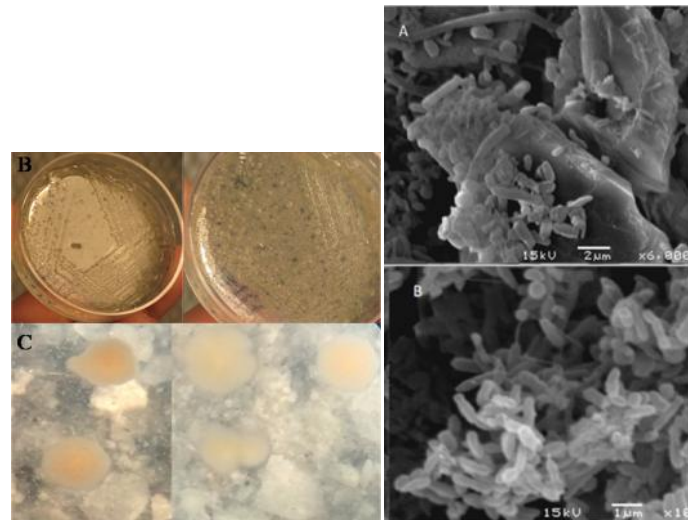
*Palabras clave: Quimiolitotrofia, acidófilos, movilización metálica.*

**Introducción.** El descubrimiento de bacterias quimiolitotróficas y la introducción del concepto a la microbiología fueron atribuidos a Sergei Winogradsky en el año de 1880, él aisló y describió las primeras bacterias quimiolitótroficas [1]. La quimiolitotrofia describe la obtención de energía celular a partir de la oxidación de compuestos inorgánicos, incluyendo los metales, y algunos microorganismos pueden utilizar el CO<sub>2</sub> como fuente de carbono. Los microorganismos quimiolitótroficos se encuentran en ambientes extremos principalmente con muy bajos niveles de pH, altas temperaturas, baja materia orgánica y altas concentraciones de elementos metálicos, un ejemplo de éstos son los drenajes ácidos que se encuentran con frecuencia en los sitios mineros donde se acumulan todos los desechos de las minas. Por esta razón, en el presente trabajo se aislaron bacterias quimiolitótroficas acidófilicas con capacidad de movilizar metales a partir de lodo residual de una mina.

**Metodología.** Se tomaron muestras de lodo residual de la presa de desechos de una mina ubicada en el estado de Guanajuato, México. Las muestras fueron colectadas en frascos estériles y almacenadas a temperatura ambiente. El medio WAYE (washed agarose/extract yeast) [2] suplementado con el 15% de mineral pulverizado y sin la agarosa fue preparado para el aislamiento de bacterias quimiolitótroficas. El medio WAYE fue esterilizado e inoculado con el 10% de la muestra del lodo residual, los cultivos fueron incubados a 37 °C hasta observar crecimiento abundante. Tres cultivos líquidos subsecuentes fueron realizados, el último cultivo fue utilizado para obtener colonias aisladas en medio sólido WAYE. Las características morfológicas de las colonias fue hecha con ayuda de un estereoscopio y la morfología celular se realizó por microscopía óptica y de barrido. Posteriormente se realizó una identificación molecular por análisis del gen 16S rRNA [3].

**Resultados.** Se aislaron dos cepas quimiolitótroficas LR1 y LR2 a un pH 2.5 a partir de muestras de lodos residuales de una mina. La morfología colonial es muy similar ambas son colonias de color amarillo-naranja translúcidas, forma circular-amiboideo y borde liso, ver Fig. 1. El análisis microscópico de las células muestran bacilos Gram positivos, una micrografía muestra que la cepa LR1 son bacilos largos algunos forman cadenas y la cepa LR2 bacilos cortos aislados, ambos aislados no forman esporas, ver Fig. 1. La cepa LR1 solo se logró

identificar a nivel molecular, el análisis de la secuencia del gen 16S rRNA mostró una similitud del 99.32% con la especie *Arsenite oxidizing* lo que la identifica como *Arsenite oxidizing* cepa LR1, el género y especie son considerados como nuevos dentro del orden -Proteobacteria [4]. La especie está relacionada con la movilización de oro en minas australianas.



**Fig. 1.** Cultivos en placas de medio WAYE de las cepas LR1 Y LR2, ambas placas contienen mineral triturado como fuente de energía, Morfología de las colonias: LR1 (izquierda) y LR2 (derecha). Micrografías de barrido de las cepas aisladas: A) LR1, se observan bacilos largos B) LR2, se observan bacilos cortos

**Conclusiones.** Se aislaron dos cepas bacterianas LR1 y LR2 con capacidad quimiolitotrofica acidófilica. La cepa LR1 guarda una relación filogenética con las especies del orden -Proteobacteria, presentando una similitud del 99.32% con la especie *Arsenite oxidizing* lo que la identifica como *Arsenite oxidizing* cepa LR1.

**Agradecimiento.** Yazmin Hidalgo Rosas agradece a CONACYT por la beca No. 481125. También, agradecemos a la central de microscopia de La ENCB-IPN.

### Bibliografía.

- [1] Kelly D. (1982) *Phil. Trans. R. soc. Lond.* 238: 499-528.
- [2] Johnson D.B. (1995) *J. Microbiol. Meth.* 23: 205-218.
- [3] Valenzuela-Encinas C., Neria-Gonzalez I., Alcantara-Hernandez, R.J., et ál. (2009) *Extremophiles* 13:609-621.
- [4] Santini J., Sly L., Wen A., Comrie D., De Wulf-Durand P., Macy J. (2010) *Geomicrobiol. J.* 19: 67-76.