



ANÁLISIS POR DGGE DEL EFECTO DEL METANOL SOBRE UNA COMUNIDAD MICROBIANA SULFOXIDANTE EN UN REACTOR EN CULTIVO CONTINUO Y CARACTERIZACIÓN DE AISLADOS.

Beatriz Mónica Pérez Ibarra, Sergio Julián Alcántara Pérez, Hugo Ramírez Saad y Sergio Revah Moiseev
UAM-Xochimilco Calz. del Hueso 1100, Col. Villa Quietud A.P.23-181, Tlalpan, 04960 México, D.F., fax:(55)594-63-15, niquis@yahoo.com

Palabras clave: Sulfoxidantes, DGGE, gen 16S rRNA

Introducción. En los ecosistemas como sedimentos marinos, tapetes microbianos y ventanas hidrotermales, ocurren transformaciones del azufre sulfato reducción y sulfuro oxidación (1, 2). La oxidación de HS⁻ puede llevarse a cabo tanto por microorganismos aerobios como anaerobios fotótrofos. Los compuestos reducidos de azufre tienen gran relevancia mundial debido al impacto ambiental adverso que provocan en la naturaleza. Estos ecosistemas han cobrado interés científico por la presencia de microorganismos únicos y específicos, aplicables para combatir la contaminación ambiental. Tal es el caso del empleo de biofiltros para el control de diversos compuestos volátiles halogenados, no halogenados, H₂S, NO₂, NH₃, alcoholes como metanol, isopropanol, alcanos, metil terbutil eter (MTBE), etc. La tendencia actual en el diseño de biofiltros consiste en perfeccionar equipos y seleccionar microorganismos previamente adaptados a cargas de contaminantes (3).

En esta investigación se pretende aportar información que pueda servir para hacer un manejo más eficiente de los procesos biotecnológicos relacionado con el tratamiento de emisiones gaseosas ricas en compuestos contaminantes como sulfuros y tiosulfatos.

En este trabajo se estudia por DGGE el efecto de metanol sobre una comunidad microbiana sulfoxidante en un reactor de cultivo continuo y se caracteriza a las bacterias aisladas.

Metodología. A partir de tres reactores con diferentes condiciones de operación se aislaron tres cepas sulfoxidante (AIMP, AR3 y UAM) por siembra en medio selectivo y, mediante el método de enriquecimiento, se incrementó la biomasa. La identificación y caracterización de los microorganismos sulfoxidantes se realizaron por técnicas microbiológicas tradicionales, fisiológicas, composición de ácidos grasos así como también técnicas de biología molecular (extracción de DNA, tipificación PCR-REA del espacio intergénico (ITS), amplificación del gen 16S rRNA por la reacción en cadena de polimerasa (PCR) para tipificación por PCR-REA de dicho gen, tipificación por DGGE, PCR-RAPD y por último, secuenciación (previa clonación) del gen 16S rRNA comparando con la base de datos GENBANK. Además, se analizó, por DGGE el efecto de metanol sobre la comunidad sulfoxidante en un reactor.

Resultados y discusión. Se aislaron tres cepas sulfoxidantes (AIMP, UAM, y AR3) y se compararon con la cepa de referencia *Thiobacillus sp.*, Tales aislados, fueron caracterizados mediante técnicas microbiológicas tradicionales cuyos resultados indicaban bacterias del género *Thiobacillus*. Diferentes técnicas moleculares permitieron señalar que la cepa, AIMP y AR3 corresponden a *Thiobacillus neapolitanus*. En cuanto a la cepa UAM, se

trata de un *Bacillus sp.* Por otro lado, en la figura 1 se muestra el efecto de metanol sobre la comunidad sulfoxidante. Entre el T1 y T2, la biomasa sufre un decremento drástico como consecuencia de la adición del metanol para mantenerse después que el metanol acumulado (T4) es consumido. Tales observaciones se hacen evidentes mediante el patrón de bandas obtenido por DGGE.

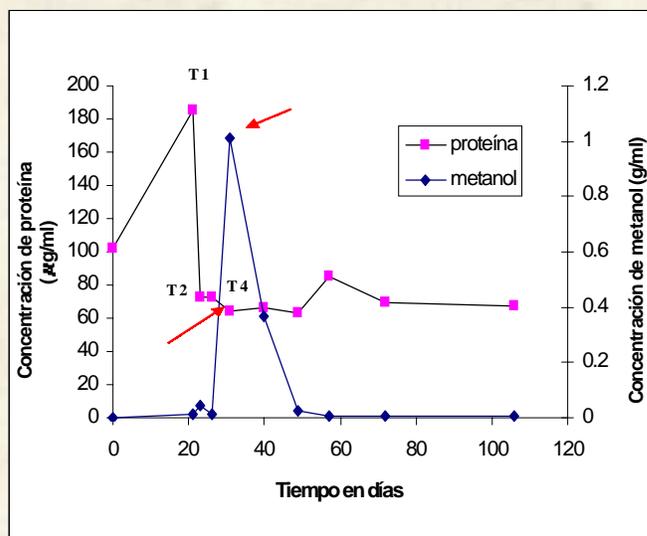


Fig. 1 Efecto de metanol sobre la comunidad sulfoxidante a diferentes tiempos.

Conclusiones AIMP y AR3 corresponden a *Thiobacillus neapolitanus* y UAM es un *Bacillus sp PL7*. Con la técnica de DGGE se tuvo un patrón de tres bandas que corresponden a una comunidad integrada por tres microorganismos. La banda predominante en cada una de las muestras corresponde a la de los aislados.

Agradecimiento. A CONACYT proyecto Z 019 por el financiamiento a esta investigación. Beatriz Mónica Pérez Ibarra es becaria CONACYT.

Bibliografía. 1. Jorgensen, B. B. 1982 Ecology of bacteria of the sulfur cycle with special reference to anoxic-oxic interface environments. *Phil. Trans. R. Soc. Lond* (B 298): pp.543-561.
2. Van den Ende, F. P., Meier, J. y Van Gernerden, H. 1997 Syntrophic growth of sulfate-reducing bacteria and colorless sulfur during oxygen limitation. *Fems Microbiol. Eco.* (23): pp. 65-80.
3. Revah S, Hugler W 1998. A air biodesulfuration from viscose plants: carbon disulfide elimination, *Conference on Biofiltration (an Air Pollution Control Technology)*, Los Angeles, California