

## AISLAMIENTO Y CARACTERIZACION DE UN MICROORGANISMO SULFOXIDANTE

Sergio Alcántara Pérez<sup>1,2</sup>; Mónica Ríos<sup>2</sup>; Elías Razo Flores<sup>1</sup>, Sergio Revah Moiseev<sup>2</sup>, (1) IMP, Programa de Biotecnología del Petróleo, Eje Central Lázaro Cárdenas N° 152 Col. Sn. Bartolo Atepehuacan C.P. 07730, México D.F. Fax: 53681400, e-mail: erazo@imp.mx. (2) UAM-Iztapalapa, Depto. IPH, Av. San Rafael Atlixco No. 186; México, D. F., CP 09340.

**Introducción.** El ciclo del azufre, uno de los tiene mayor desequilibrio ambiental debido a las elevadas emisiones antropogénicas, consta de una etapa oxidativa y una reductiva. En la primera los compuestos reducidos de azufre se oxidan a sulfato, en la segunda, el sulfato se reduce vía desasimilativa a sulfuro o bien se incorpora a los seres vivos. El presente trabajo se enfoca a la parte oxidativa del ciclo, estudiando la oxidación de tiosulfato por una bacteria y un consorcio sulfoxidante y comparando sus parámetros de crecimiento y oxidación. Esto con el objetivo de estudiar la fisiología y la bioquímica de los organismos que utilizan como fuente de energía a los compuestos reducidos de azufre y de esta manera profundizar el entendimiento de los procesos de eliminación biológica de dichos compuestos.

**Metodología.** En el aislamiento se evaluaron técnicas tradicionales. Asimismo se probaron diferentes medios gelificantes de acuerdo a lo reportado por Johnson<sup>1</sup>. Por otro lado, en un quimiostato se cultivó al consorcio utilizando al azufre "biológico" como única fuente de energía. Se tomaron muestras, se filtraron utilizando membranas de 0.45 µm, las cuales se colocaron en el medio sólido utilizando goma gelán y HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> y S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup> como fuentes de carbono y energía respectivamente. Se incubaron a 30 C y se picaron colonias que formaron azufre en las placas y se cultivaron en medio líquido. Por métodos respirométricos se determinaron los parámetros cinéticos de interés y se evaluaron algunas características nutricionales de la cepa aislada. La proteína se determinó por Lowry y el sulfato por HPLC.

**Resultados y Discusión.** En este trabajo, por técnicas de dilución no fue posible aislar un organismo quimiolitotrofo. Esto muy posiblemente debido a los bajos rendimientos en crecimiento de estos microorganismos (Kelly, 1982), por ejemplo en el consorcio bajo adecuadas condiciones de cultivo el rendimiento es de 2.5 g biomasa/mol tiosulfato y por otro lado a la sensibilidad de los mismos. Esto explica la dificultad de conservarlos y cultivarlos en el laboratorio. Cuando se evaluaron diferentes medios gelificantes se observó que la goma gelán al 1% permitió un mejor crecimiento de bacterias. Por lo cual se utilizó para el aislamiento por placa. Los resultados no fueron satisfactorios debido a que sí bien se observaron bacterias en el medio sólido, al transferirlas al medio líquido se perdía su viabilidad. Sin embargo, a partir de las membranas con azufre y células del quimiostato, se logró aislar un microorganismo que forma azufre elemental en el medio sólido. Se transfirió a medio líquido y se observó crecimiento. Una primera aproximación al conocimiento de las características nutricionales de la cepa muestra que es una bacteria gram-negativa, probablemente mixotrófica es decir, que crece en presencia de compuestos orgánicos y

utiliza al tiosulfato como fuente de energía de acuerdo a la Tabla 1.

**Tabla 1.** pH, crecimiento y producción de SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> de la cepa aislada (MM, medio mineral; Fuente de carbono, 1g/l)

Medio	pH	Prot (mg/l)	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (g/l)
MM	3.3	244.2	12.3
MM+ glucosa	3.5	233.6	9.6
MM + acetato	4.0	265.0	9.9
MM + formiato	6.5	0	0
MM + citrato	3.5	210.5	9.6
MM + sacarosa	3.4	221.0	9.7

Los parámetros cinéticos de oxidación hacia diferentes compuestos reducidos de azufre fueron determinados para el consorcio sulfoxidante. Los resultados (Tabla 2) muestran una mayor afinidad por tiosulfato y una menor hacia el azufre elemental. Esto debido a que el consorcio está adaptado a utilizar al tiosulfato y por otro lado a que con azufre elemental las células deben adherirse a la superficie para su oxidación. La continuación del trabajo permitirá comparar los parámetros de interés entre la cepa aislada y el consorcio y determinar de esta manera, si es un microorganismo representativo del sistema. Se trabaja en este momento en la identificación de la especie.

**Tabla 2.** Parámetros cinéticos de oxidación del consorcio sulfoxidante.

Compuesto	Km (mM)	Vmax (mg O <sub>2</sub> /mg prot min)
HS <sup>-</sup>	1.8	8.2
S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	1.9	60.2
S <sub>4</sub> O <sub>6</sub> <sup>2-</sup>	5.2	4.13
S biológico	25.1	3.01
S comercial	230	1.05

**Conclusiones.** Se logró aislar una bacteria sulfoxidante que presenta características de crecimiento mixotróficas. La evaluación de sus parámetros cinéticos y su identificación y caracterización permitirán obtener información relevante en relación al consorcio de donde fue aislada.

**Agradecimientos.** IMP Proyecto FIES 98-90-V

### Bibliografía.

- Kelly (1982). *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* Biochemistry of the chemolithotrophic oxidation of inorganic sulfur. (238): 499-528.
- Johnson (1995). Selective soil media for isolating and enumerating acidophilic bacteria. *J. Microbiol. Methods.* (23): 205-218.