

## 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 desasimilataiva 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  $\mu$ m, las cuales se colocaron en el medio sólido utilizando goma gelán y  $\text{HCO}_3^-$  y  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$  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 quimiolitautótrofo. 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  $\text{g}_{\text{biomasa}}/\text{mol}_{\text{tiosulfato}}$  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  $\text{SO}_4^{2-}$  de la cepa aislada (MM, medio mineral; Fuente de carbono, 1g/l)

| Medio         | pH  | Prot (mg/l) | $\text{SO}_4^{2-}$ (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 $\text{O}_2$ /mg prot min) |
|-----------------------------|---------|-------------------------------------|
| $\text{HS}^-$               | 1.8     | 8.2                                 |
| $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ | 1.9     | 60.2                                |
| $\text{S}_4\text{O}_6^{2-}$ | 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. Method.* (23): 205-218.