

NATURALEZA FRACTAL DE LAS COLONIAS DE BACTERIAS SULFUROSAS

M.G. Bertoluzzo, S. M. Bertoluzzo, R. Rigatuso, F. Quattrin, J. Luisetti, C. Gatti.

Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. UNR.
Suipacha 531- (2000) Rosario-Argentina
e-mail:gbertol@cablenet.com.ar

El objetivo de este trabajo es el estudio de las colonias de bacterias azufrosas y su posible agregación fractal semejante a la obtenida con las bacterias *Escherichia Coli*. La importancia de las bacterias sulfurosas radica en la posible utilización de las mismas para controlar la emisión de compuestos gaseosos tóxicos de los desechos industriales expulsados a la atmósfera. Para lograr los objetivos se procedió primeramente a encontrar las bacterias a partir de la recolección de diversas muestras de agua tomadas en sitios donde se consideró más probable la existencia de dichos microorganismos (lagunas). Luego se procedió a la purificación del cultivo empleando métodos tradicionales y se investigó acerca de las condiciones más favorables para el desarrollo de las bacterias sulfurosas (pH, nutrientes, temperatura, etc.). Posteriormente se realizaron siembras de bacterias inoculando en un punto en el agar contenido en cajas de petri y se siguió el crecimiento durante varios días. Se observó que estas bacterias son de crecimiento más lento que la *Escherichia coli*, pero las colonias presentan una geometría fractal semejante por lo que se podría deducir que las bacterias sulfurosas responderían también a un crecimiento limitado por difusión si la humedad y la concentración de nutrientes es adecuada.

FRACTAL NATURE OF SULFURIC BACTERIA COLONIES

M.G. Bertoluzzo, S. M. Bertoluzzo, R. Rigatuso, F. Quattrin, J. Luisetti, C. Gatti.

Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. UNR.
Suipacha 531- (2000) Rosario-Argentina
e-mail:gbertol@cablenet.com.ar

In this work we study colonies of sulfuric bacteria and their growth patterns on the surface of agar (gel containing nutrient). We compare them with the ones obtained for *Escherichia Coli* and some others micro organisms like fungi colonies (*Microsporum gypseum*). We first look for sulfuric bacteria in water samples taken from places where it was probable these micro organisms live, (lagoons). Then, the surface of the agar was inoculated at a point and the plates were incubated in a thermostatic room regulated at $(32 \pm 2) ^\circ\text{C}$. After several days of incubation a diffusion limited aggregation (DLA) pattern developed on the agar surface similar to those observed in non-living systems. One reason for these patterns is assumed to be the ability of many bacteria to swarm in an active manner on a substrate surface in response to a gradient in the concentration of nutrients and communicate each other by means of a chemotactic feedback.

LINTRODUCCIÓN

Las teorías sobre crecimiento microbiano y su fisiología se han formulado exclusivamente en términos de microorganismos aislados, especialmente en bacterias. Esto es, sin embargo una simplificación ya que es obvio que la organización de las poblaciones siguen ciertas reglas generales. Las colonias de bacterias son capaces de generar patrones de crecimiento interfacial complejo similar a los observados durante los procesos de agregación limitado por difusión en sistemas físicos. Tales patrones fueron observados en las colonias de bacterias como por ejemplo, la *Escherichia Coli*¹.

El flujo de moléculas a la célula está controlado por el tamaño de la célula y la constante de difusión. La velocidad a la cual los receptores de la superficie celular adsorben moléculas desde el fluido circundante está también limitado por difusión pero la velocidad total se acerca al máximo cuando solo una pequeña

fracción de la superficie de la célula está cubierto por receptores^{2,3}.

Patrones similares a los de las bacterias se observaron en el crecimiento de colonias de hongos tales como *Microsporum nanum* y *Microsporum gypseum* en diferentes medios de cultivo. Tales crecimientos fueron de tipo compacto, crecimiento fractal y crecimiento ramificado denso⁴.

Una explicación de estos patrones característicos de algunas colonias se fundamenta en el hecho de que el crecimiento de colonias bacterianas incorpora "caminantes aleatorios" que se mueven activamente en respuesta a un gradiente en la concentración de nutrientes⁵.

II. MATERIALES Y MÉTODO

Bacterias sulfurosas

Las denominadas bacterias azufrosas o sulfurosas tienen un metabolismo especial que les permite fabricar carbohidratos a partir de una sustancia carbonada (dador de carbono) y una sustancia oxidable capaz de ceder hidrógeno tal como el ácido sulfídrico. Las bacterias sulfurosas pueden emplear sulfuro, azufre elemental, sulfato, sulfito, tiosulfato como dador de electrones, pero en todos los casos reducen el azufre a ácido sulfídrico mediante procesos enzimáticos de reducción.

La principal reacción por la cual se asimila el azufre es catalizada por la enzima *o*-acetilserinasulfahidrolasa. Esta enzima reacciona con el ácido sulfídrico para producir L-cisteína, iones de acetato y agua; la L-cisteína es la fuente directa o indirecta de azufre para la mayoría de los compuestos sulfurados de la célula. También necesitan como el resto de los seres vivos, sales minerales, por ejemplo: fosfato, potasio, hierro, magnesio, manganeso, etc.; indispensable para su crecimiento.

III. RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Después de varios días de incubación se observaron colonias de bacterias de aproximadamente 5 mm de diámetro, en la superficie del agar. En las zonas donde la humedad y la concentración del nutriente fueron apropiadas se observa un patrón tipo agregación limitada por difusión (DLA).

Suelen tener color verde, rojo o púrpura. El color rojo y púrpura se debe a la acumulación de gránulos de azufre en el interior de las células.

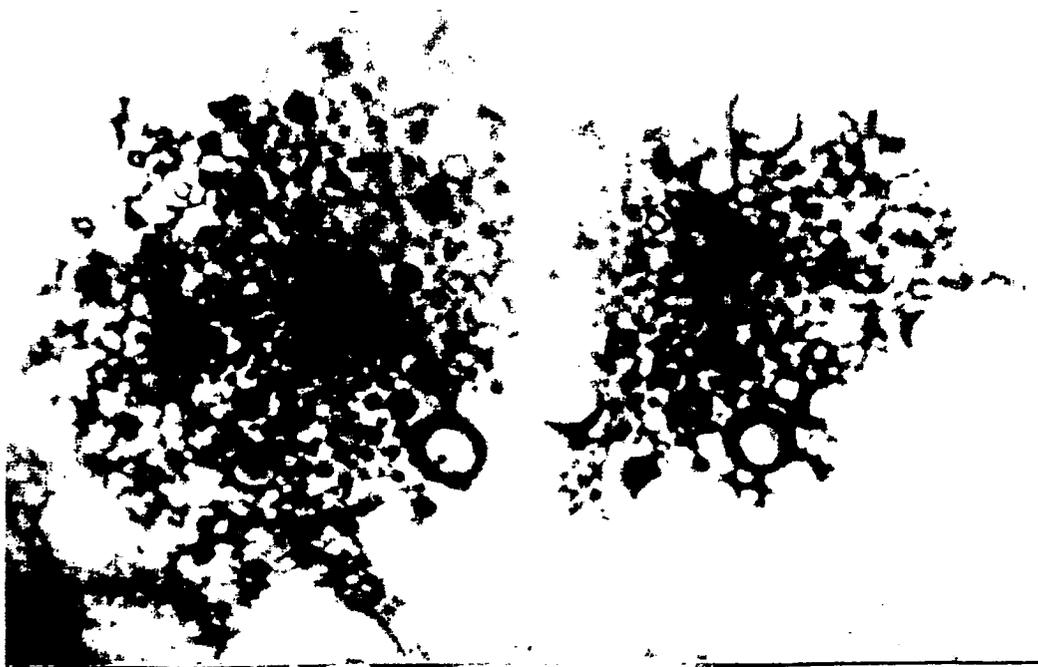
Obtención

Se tomaron muestras procedentes de una zanja frente a una fábrica de ácido sulfúrico (en la localidad de Fray Luis Beltrán, cercana a la ciudad de Rosario), donde se sospechaba la presencia de bacterias sulfurosas. Para ello se utilizaron frascos previamente esterilizados en autoclave durante 20 minutos a 120°C, para destruir posibles microorganismos indeseables.

Cultivo

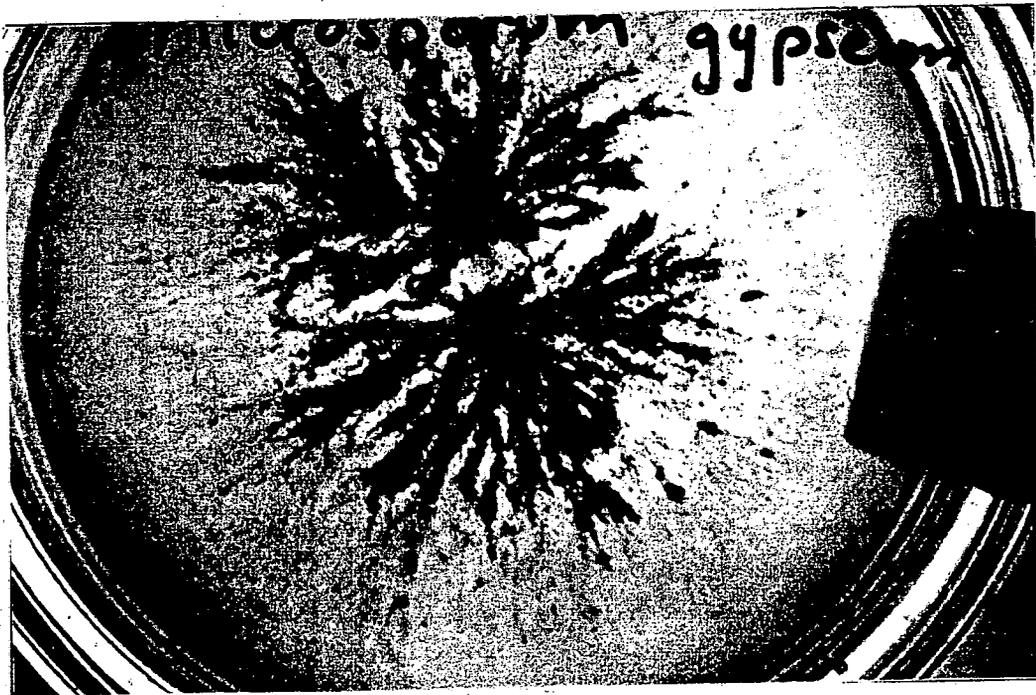
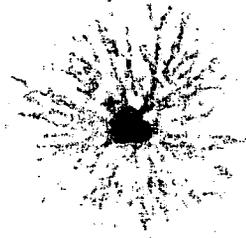
Se realizó un cultivo en un caldo nutritivo para bacterias en general, y se las incubó en una estufa a 32°C durante una semana. Posteriormente se realizó una siembra en medio sólido (agar-agar) en cajas de Petri inoculando en puntos cercanos a la superficie del mismo.

Las fotografías muestran una repulsión efectiva entre dos colonias de bacterias. Este apantallamiento se debe probablemente a que las partes más salientes de las colonias usan el nutriente en el régimen de agregación limitada por difusión y que las partes que están más atrás no tienen acceso a alimento en cantidad suficientes para poder crecer.



Un patrón similar se obtiene en la simulación de la agregación limitada por difusión con dos semillas.

Esta sorprendente evidencia para crecimiento de tipo DLA en un sistema biológico se ha observado en las colonias de bacterias, como ejemplo *Escherichia Coli*, así como también en colonias de hongos.



Microsporium gypseum (hongo) en medio lactrimel.

Por lo tanto, sobre la base de la forma del patrón de crecimiento podríamos considerar que probablemente un mecanismo de agregación limitado por difusión sería el responsable de su morfología.

Surgen entonces algunas preguntas: ¿Hay una vinculación directa entre procesos físicos comunes y las morfologías observadas en el mundo viviente?

Referencias

- 1-Boschke, E., Bley, Th. *Acta Biotechnol.* 18 (1998) 1, 17-27.
- 2- Berg, H. C. 1975-*Ann. Rev. Biophys. Bioeng.* 4:119.
- 3-Berg, H.C., Purcell, E.M. 1977. *Biophys. J.* 20: 193.

¿En qué fenómenos son dominantes los aspectos físicos sobre los genéticos?

Los resultados descriptos no contestan estas preguntas pero proveen datos relevantes para futuras investigaciones.

- 4-IIIrd Iberoamerican Congress of Biophysics-Why Nature Makes Fractals?. M.G. Bertoluzzo, S.M. Bertoluzzo, M.Biasoli..Bs. As. Argentina. Septiembre 1997.

- 5-Ben-Jacob, E., Levine H.-*Scientific American.*(1998), 56-61.