

DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA

INFLUENCIA DEL NO_3K EN LA FORMACION DE CRISTALES
DE CO_3Ca POR BACTERIAS

M. A. RIVADENEYRA y A. RAMOS-CORMENZANA

RESUMEN

En el presente trabajo se estudia la influencia del KNO_3 en la formación de cristales de CaCO_3 por 96 cepas de microorganismos aislados del suelo.

Esta influencia es nula o muy débil, por lo que el KNO_3 puede excluirse de los medios para la investigación de formación de cristales sin grandes consecuencias para la misma.

SUMMARY

In the present work, it was studied the influence of KNO_3 in crystals formation of CaCO_3 by 96 bacterial strains isolated from soil.

This influence is null or very weak, so the KNO_3 could be excluded of the culture media to investigate crystals formation, without great consequences for it.

RESUME

Dans ce travail on étudie l'influence du KNO_3 dans la formation de cristaux de CO_3Ca par 96 microorganismes isolés du sol.

Nous trouvons que cette influence est inexistante ou bien très faible, ce qui mène à la conclusion que le KNO_3 pourrait être éliminé des milieux de formation des cristaux sans qu'il en résulte des conséquences importantes.

INTRODUCCION

Las bacterias, en determinadas condiciones de desarrollo, dan origen a la formación de compuestos cristalinos.

Se ha descrito la precipitación de tartrato cálcico hidratado (7), hidroxiapatito (2), estroncionita (8), estruvita (10), aunque la formación de carbonato cálcico ha sido la mejor estudiada hasta el momento actual, tanto en la forma de aragonito (3) como en la de calcita (1).

Drew en 1913 llegó a la conclusión de que la presencia de nitrato potásico en el medio de cultivo era un requisito indispensable para que la precipitación del carbonato cálcico se llevara a cabo. Posteriormente numerosos autores (4), (5), (6), (8), comprobaron que esta sal no era imprescindible para la formación de cristales de carbonato cálcico.

Sin embargo, la posible influencia que ejerce el nitrato potásico en esta formación no ha sido aún abordada.

MATERIAL Y METODOS

Microorganismos: Se estudiaron 96 cepas, seleccionadas entre 300 microorganismos aislados del suelo, con capacidad de precipitar CO_3Ca en un medio adecuado.

Como criterios de selección se utilizaron: (a) formación de cristales macroscópicos, (b) tiempo de precipitación inferior a siete días, (c) persistencia de la capacidad formadora tras varias resiembras.

Medios de cultivo: Se utilizaron los medios B-4 y B-5 (8), cuya única diferencia radica en la presencia de NO_3K en el B-4 y la ausencia en el B-5.

Métodos: Se sembraron tres placas por microorganismo, repitiendo la experiencia tres veces. Se utilizaron controles de medio sin inocular e inoculado con células bacterianas muertas.

Todas las placas se incubaron a 27°C introducidas en bolsas de plástico para evitar la desecación. Las lecturas se realizaron el segundo día después de la siembra y prosiguiéndose hasta los treinta días.

Aislamiento, purificación e identificación de los cristales: El aislamiento y purificación de los cristales se realizó según la técnica descrita por Ramos-Comenzana (8).

La identificación se hizo por difracción de rayos X, para lo que se utilizó un aparato Philips, modelo P.W. 1010 y P.W. 1050 con contador de centelleo P.W. 1964/20 y proporcional P.W. 1965/10.

Como fuente de rayos X se utilizó un tubo de difracción P.W. 2253/00, con ánodo de cobre y filtro de níquel.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados obtenidos se expresan en la tabla I donde se indican las cepas que van formando cristales a lo largo del tiempo.

Como referimos anteriormente, existe una polémica a cerca de la necesidad del NO_3K en los medios de cultivo de formación de cristales, y aunque la mayoría de los autores coinciden en que esta sustancia no es imprescindible, ha existido siempre una gran tendencia a utilizar el NO_3K como un componente de estos medios.

Sin embargo, como podemos observar en la tabla I, todas las cepas ensayadas producen cristales tanto en ausencia como en presencia de nitrato potásico, y la cantidad de cristales formados es similar en ambos medios, así como el tamaño y la morfología de los mismos. La identificación de los cristales producidos en los medios B-4 y B-5 ha dado calcita en todos los casos ensayados.

En lo referente al tiempo que tardan en producir los cristales es similar en 65 cepas de las 96 ensayadas, en 27 cepas se produce retraso de un día en el inicio de aparición de los cristales y en las cuatro cepas restantes el retraso es de cinco días. Este retraso producido en la formación de cristales, pensamos que podía deberse a que éstas redujeran los nitratos hasta amoníaco, contribuyendo de esta forma a la alcalinización del medio y por tanto

TABLA I
FORMACION DE CRISTALES EN LOS MEDIOS B-4 Y B-5

<i>Tiempo (en días)</i>	<i>N.º de cepas +</i>	
	<i>Medio B-4</i>	<i>Medio B-5</i>
2	40	35
3	28	24
4	20	17
5	7	9
6	1	6
7	0	1
10	0	4

Cepas + = número de cepas que comienzan a formar cristales en el tiempo indicado.

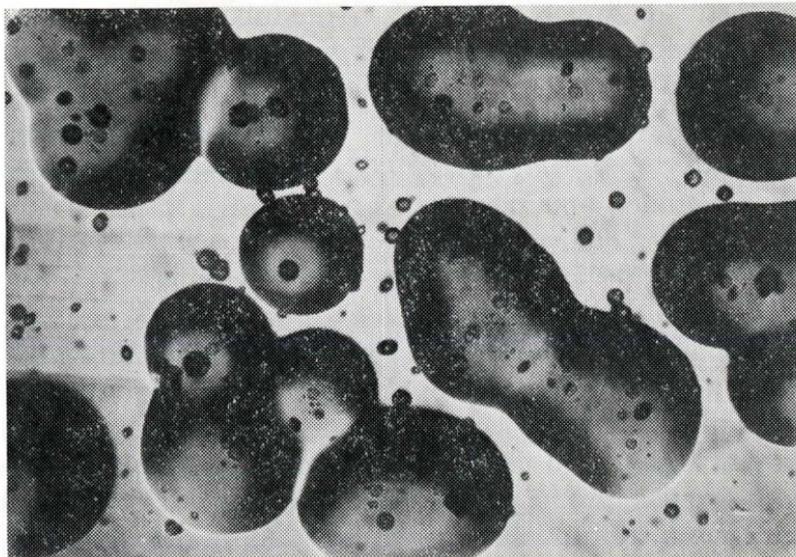


Fig. 1.—Cristales formados por la cepa T45 en el medio B-4.

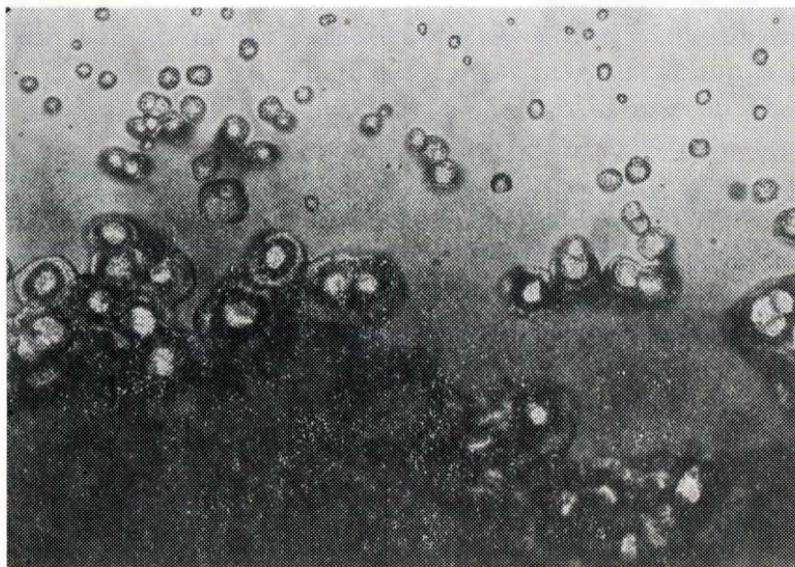


Fig. 2.—Cristales producidos por la cepa R1 en el medio B-4.

a conseguir más rápidamente el pH óptimo para la precipitación del CO_3Ca ; pero cuando ensayamos en dichas cepas su actuación sobre los nitratos encontramos comportamientos diferentes entre ellas y ninguna de las 31 cepas liberaba amoníaco.

A pesar de estas pequeñas diferencias, nosotros opinamos que la influencia del NO_3K en la formación de cristales de CO_3Ca por bacterias es tan pequeña (y además no se produce de una forma general) que podría ser eliminado sin grandes consecuencias de los medios de cultivo utilizados para estos fines.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—BOQUET, E.; BORONAT, A.; RAMOS-CORMEZANA, A. (1973): *Nature*, 246, 527-529.
- 2.—ENNEVER, J.; VOGEL, J. J.; STRECKUSS, J. L. (1971): *J. Dent. Res.*, 50, 1327-1330.
- 3.—GREENFIELD, L. J. (1963): *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 109, 23-45.
- 4.—KELLERMAN, K. F.; SMITH, N. R. (1914): *J. Wash. Acad. Sci.*, 4, 400-402.
- 5.—LIPMAN, C. B. (1929): *Carnegie Inst. Washington Publ.*, 391, 233-248.
- 6.—MCALLUM, M. F.; GUHATHAKURTA, K. (1970): *J. Appl. Bact.*, 33, 649-655.
- 7.—RAMOS-CORMENZANA, A. (1971): *Proc. V. Cong. Lat. Am. Microbiol.* A-5, 13.
- 8.—RAMOS-CORMENZANA, A. (1975): *Microbios*, 13, 61-70.
- 9.—RAMOS-CORMENZANA, A.; PEREZ-MIRANDA, M. C.; BOQUET, E. (1975): *Ars Pharm.*, 3, 335-343.
- 10.—SHINANO, H.; SAKAI, M. (1975): *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 41, 913.