

6. PHYSIOLOGIC CHARACTERIZATION OF ANAEROBIC STRAINS ISOLATED FROM EXTREME SITES

*Pérez-Bernal, María-Fernanda*¹✉; *Souza-Brito, Elcia-Margareth*¹; *Cuevas-Rodríguez, Germán*¹; *Hirschler-Réa, Agnès*²; *Guyoneaud, Rémy*³

¹Universidad de Guanajuato, Guanajuato, México, ²Aix Marseille Université, Marsella, Francia, ³Université de Pau et des Pays de l'Adour, Pau, Francia.
e-mail: ¹✉mfernanda9eros@gmail.com

ABSTRACT

Soda lakes are highly alkaline and saline habitats containing sodium carbonate at great concentrations with extremely high pH, sediments at soda lakes usually contain abundant concentrations of sulfide indicating active sulfate reduction activity [1]. Sulfate-reducing bacteria (SRB) are obligate anaerobes characterized by their ability to reduce sulfates to sulfides with simultaneous oxidation of organic substrates [2]. The SRB play an important role in the development of bioremediation technologies for wastewater treatment, which has been studied extensively in the last decades [3,4]. 12 strains were isolated from the Parangueo Soda Lake, located in Valle de Santiago, Guanajuato, México. All Parangueo strains, were identified and belongs to the Deltaproteobacteria class from the phylum Proteobacteria, 11 strains belongs more specifically to the genera *Desulfonatronum* with 7 species described, most of them are close to *D. Thiodismutans* and *D. Lacustre*. The other strain is close to the genera *Desulfobotulus* with only 2 species described. After the construction of the phylogenetic 16S based tree, 2 interesting clusters were observed. Strains 18O_PAR, and 19O_PAR form an interesting cluster which could represent a new specie in the *Desulfonatronum* genera, while P1_PAR also forms an interesting cluster which also could be a new specie into the *Desulfobotulus* genera.

The aim of this research was to characterize the strain 18O_PAR which could represent a new specie, as well as to evaluate the sulfide production of the other SRB isolated as a potential tool for bioremediation of metal and metalloid contaminated water.

Keywords: *Anaerobic technology, sulfate reducing bacteria, alkaliphiles, bioremediation.*

RESUMEN

Los lagos de soda son hábitats con una alcalinidad y salinidad muy altas, los cuales contienen elevadas concentraciones de carbonato de sodio y valores de pH extremadamente altos. Los sedimentos de estos lagos usualmente contienen grandes concentraciones de sulfuros, lo cual indica actividad sulfato reductora [1]. Las bacterias sulfato reductoras (BSR) son anaerobias estrictas, caracterizadas por su habilidad de reducir sulfatos a sulfuros con oxidación simultánea de sustratos orgánicos [2]. Las BSR juegan un papel muy importante en el desarrollo de tecnologías de bio-remediación para el tratamiento de aguas residuales, lo cual ha sido estudiado ampliamente durante las últimas décadas [3, 4]. En esta investigación se aislaron 12 cepas del lago alcalino de Parangueo, localizado en Valle de Santiago, Gto., México. Las cepas fueron identificadas y se encontró que éstas pertenecen a la clase Deltaproteobacteria del filo Proteobacteria; 11 de los aislados pertenecen más

específicamente al género *Desulfonatronum*, el cual tiene 7 especies descritas, la mayoría se encuentran muy cercanas a *D. Thiodismutans* y *D. Lacustre*. La otra cepa, se encuentra dentro del género *Desulfobotulus* con solo 2 especies descritas. Las cepas 18O_PAR y 19O_PAR forman un clúster interesante, el cual puede representar una nueva especie dentro del género *Desulfonatronum*, mientras que la cepa 22N_PAR también puede ser una nueva especie dentro del género *Desulfobotulus*.

Palabras clave: *Tecnología anaerobia, bacterias sulfato-reductoras, alcalófilos, biorremediación*

INTRODUCCIÓN

Normalmente, la vida en ambientes anóxicos es procariota en gran medida. Los procariontes han evolucionado no solo en cuanto al desarrollo de varias rutas fermentativas, sino también en la capacidad de acoplar la oxidación de sustratos orgánicos a la reducción de compuestos inorgánicos (diferentes al O₂), para conservar energía para crecimiento anaerobio [5].

Los lagos alcalinos son hábitats naturales altamente alcalinos y salinos, los cuales contienen carbonato de sodio en altas concentraciones, esto asegura un pH estable y extremadamente alto. A pesar de estas condiciones extremas, los lagos alcalinos son usualmente altamente productivos en cuanto al desarrollo de comunidades microbianas. Las altas concentraciones de sulfato y la represión de las metanogénicas por altas concentraciones de sal, son la base de un ciclo del azufre muy activo [1].

Las BSR aisladas de estos lagos, son representadas por tres géneros de litotróficos *Desulfonatronum*, *Desulfonatronovibrio* y *Desulfonatronospira* (hasta ahora son los únicos géneros representativos de los *Desulfovibrionales* obtenidos en cultivos puros) y varias BSR utilizadoras de AGV's [1, 6].

El desarrollo de procesos biotecnológicos utilizando BSR para la remoción de

sulfatos y metales, ha sido estudiado ampliamente, obteniéndose altas tasas de sulfato reducción, sin embargo, estos procesos se han llevado a cabo sobre todo en condiciones con valores de pH neutros [6]. Es por esto, que el aislamiento y aplicación de BSR de sitios con condiciones de pH extremos resulta de particular interés, sobre todo para el tratamiento de efluentes ácidos de minería o corrientes con altas concentraciones de sales.

OBJETIVO

Caracterizar fisiológicamente y evaluar la producción de sulfuro de cepas de BSR aisladas del lago alcalino del Rincón de Parangueo en Valle de Santiago, Guanajuato.

METODOLOGÍA

Identificación filogenética

La identificación filogenética se realizó mediante la amplificación del gen ADN_r 16S de los aislados, posteriormente la secuenciación de los segmentos amplificados y su análisis y comparación con secuencias depositadas en una base de datos. La amplificación se realizó mediante la reacción de polimerasa en cadena (PCR), para lo cual se utilizaron los primers 63F y 1387R en una termocicladora bajo las siguientes condiciones de

amplificación: una iniciación de 10 minutos a 94 °C, seguido por 35 ciclos consistentes de una desnaturalización (45 s a 94 °C), alineamiento (45 s a 58 °C), extensión (1 min a 72 °C); y una extensión final de 10 min a a 72 °C. Los fragmentos amplificados fueron enviados a secuenciar por el método Sanger. Para el análisis de las secuencias, éstas fueron limpiadas con el programa BioEdith, y posteriormente comparadas con las secuencias depositadas en la base de datos de NCBI, en la cual se recuperaron secuencias de las especies más cercanas. Finalmente, se llevó a cabo el alineamiento de las secuencias de los aislados y de las especies cercanas y la construcción del árbol filogenético con el programa MEGA versión 6.06.

Medio de cultivo

Una vez realizada la identificación de los aislados, se utilizó el siguiente medio, basado en el medio Desulfonatronum 813 de la DSMZ, el cual fue formulado con: KH_2PO_4 (0.2 g/L), $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0.1 g/L), NH_4Cl (0.25 g/L), Na_2SO_4 (4 g/L), KCl (0.2 g/L), NaCl (15g/L), Na_2CO_3 (3.5 g/L), extracto de levadura (0.2 g/L), solución de oligoelementos de Widdel (1ml/L), solución de metales traza (1ml/L), resarzurina 0.1% (1ml/L). Se ajustó el pH del medio a 9 y se llevó a ebullición para remover el oxígeno disuelto, se enfrió en nitrógeno gas, y se dispensó en tubos Hungate con nitrógeno gas, finalmente se esterilizó durante 20 min a 121 °C. Antes de inocular se agregó solución de vitaminas V7 (100 μl /5mL), $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ y lactato hasta alcanzar una concentración final de 0.4 g/L y 20 mM respectivamente.

Determinación de sulfato

La determinación de sulfato y tiosulfato se realizó por cromatografía iónica con el cromatógrafo 761 Compact IC Metrohm y el 838 Advanced Sample Processor, con una solución de Na_2CO_3 3 mM como eluyente y una solución de H_2SO_4 75 mM como regenerante.

Determinación de sulfuro

Este análisis se llevó a cabo con el método Cord-Ruwish (1985), el cual es un método turbidimétrico basado en la formación de CuS . Esto se realizó agregando 0.1 ml de muestra a 4 ml del reactivo de Cord-Ruwish (compuesto de 50 mM de HCl y de 5mM de CuSO_4) y se procedió a leer inmediatamente en un espectrofotómetro UV-Visible Cary 50 a 480 nm.

Caracterización fisiológica

La determinación de los óptimos de crecimiento para temperatura, salinidad y pH, se llevó a cabo realizando cinéticas con diferentes temperaturas, concentraciones de NaCl y valores de pH respectivamente. Para encontrar los óptimos para cada parámetro se determinaron las μ de crecimiento para cada valor estudiado, lo cual se obtuvo graficando el tiempo contra el logaritmo natural de las curvas de crecimiento ($\text{DO}_{600\text{nm}}$) y determinando la ecuación de la recta en la fase de crecimiento exponencial, la pendiente de la recta corresponde a la μ de crecimiento. Todas las pruebas se realizaron por duplicado y 2 réplicas.

Ensayos de dismutación

El ensayo de dismutación se llevó a cabo como parte de la caracterización de la cepa 18O_PAR, ya que se ha reportado que varias especies del género *Desulfonatronum* tienen esta capacidad metabólica única de ciertas BSR. La dismutación, que puede ser formalmente descrita como una fermentación inorgánica, consiste en la desprotonación del sulfito o tiosulfato [5]. Para esta prueba el inóculo fue lavado por centrifugación y resuspensión en medio libre de lactato y sulfato, bajo condiciones de esterilidad y con nitrógeno. Las bacterias lavadas, fueron inoculadas por duplicado bajo las siguientes condiciones: con tiosulfato/acetato; tiosulfato/CO₂; lactato/sulfato (control para comprobar que las células se encontraban en buen estado después del estrés al que fueron sometidas); lactato (para descartar presencia de sulfato) y sulfato solamente para descartar presencia de lactato remanente en el inóculo).

Caracterización fisiológica de la cepa 18O_PAR

El estudio de la eco-fisiología consiste en determinar los extremos y óptimos de crecimiento de una cepa (pH, temperatura y concentración de cloruro de sodio). La cepa 18O_PAR fue seleccionada para su caracterización y en su caso ser propuesta como cepa tipo en caso de representar una nueva especie. La composición del medio utilizado para llevar a cabo los estudios de caracterización se

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Identificación filogenética

En la Figura 6.1 se muestra el árbol filogenético de los aislados del lago de Paranguero, todas las cepas de Paranguero pertenecen a la clase Deltaproteobacteria del filo Proteobacteria. La gran mayoría se encuentra dentro de la familia Desulfonatronaceae del orden de los desulfovibrionales, el cual cuenta con un único género que es *Desulfonatronum* y 7 especies descritas.

El grupo mayor se encuentra muy cerca de *D. Thiodismutans* y *D. Lacustre* y las cepas 18O_PAR y 19O_PAR forman un clúster interesante que podrían ser nuevas especies dentro del género. PAR_22N y PAR_P1, por otro lado se encuentran dentro de la familia Desulfobacteraceae del orden de los Desulfobacterales, la especie más cercana pertenece al género *Desulfobotulus* con solamente 2 especies descritas. Este clúster se encuentra relativamente lejos de *D. Sapovorans* por lo cual también podría pertenecer a una nueva especie dentro del género *Desulfobotulus*.

basó en el medio de la DSMZ *Desulfonatronum* 813.

En la Figura 6.2 se muestran los perfiles de crecimiento de la cepa 18O_PAR, para temperatura, salinidad y pH. La cepa crece en un rango de temperatura de 10 a 45 °C, con un óptimo de 35 °C; en cuanto a salinidad (g/L NaCl), ésta crece incluso en ausencia de NaCl, con rango de crecimiento de 0 hasta 90 g/L de NaCl, con un óptimo de entre 1 y 5 g/L. Aunque el gráfico da la impresión que la velocidad de es muy parecida de 1 a 25, la fase

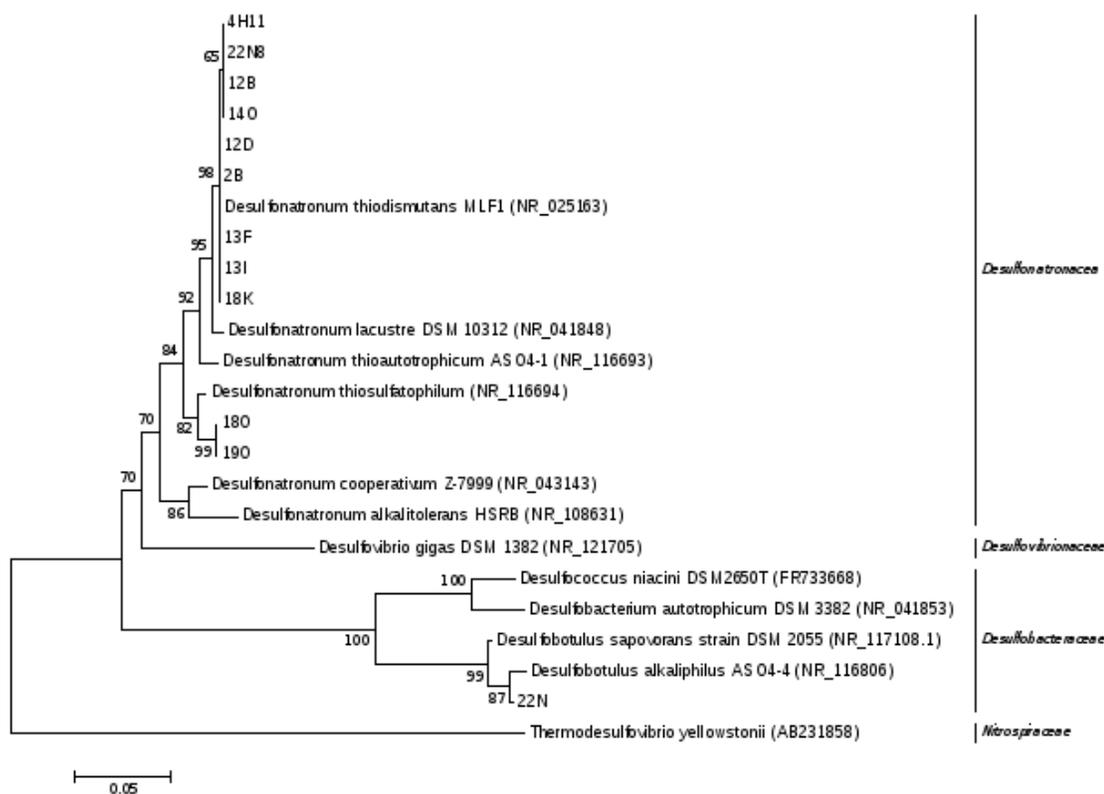


Figura 6.1: Árbol filogenético 16S de los aislados de Paranguero.

exponencial comienza más rápido de 0 a 5 g/L (60 h), mientras que conforme aumenta la concentración de sal, también lo hace el tiempo de inicio de la fase exponencial. Sorokin et al. (2011) han reportado que es típico que las alcalófilas de lagos de soda no requieran NaCl para crecimiento y, por lo tanto deben ser descritas como natronófilas más que como halófilas.

Para las pruebas de pH se utilizó el mismo medio, pero basándose en los resultados de salinidad; se utilizó el medio

con una salinidad menor (5 g/L). El medio se preparó sin buffer (Na_2CO_3) con un pH de 6. El ajuste de pH se realizó posterior a la esterilización con soluciones estériles y anaerobias de NaHCO_3 (10%) y Na_2CO_3 (8%). La cepa crece en un rango de 7.5 a 9.3, con un óptimo de 9. Lo cual difiere de *D. Thioautotrophicum* y *D. Thiosulfatophilum* 8.3–10.5 (9.3) 8.0–10.4 (9.5) respectivamente, las cuales son las especies más cercanas, dentro del género *Desulfonatronum*.

Ensayos de dismutación

En la Tabla 6.1, se muestran los resultados de dismutación utilizando Tiosulfato/Acetato y Tiosulfato/ CO_2 . Las

pruebas de dismutación realizadas bajo las siguientes condiciones:

- Tiosulfato + Acetato: (+).

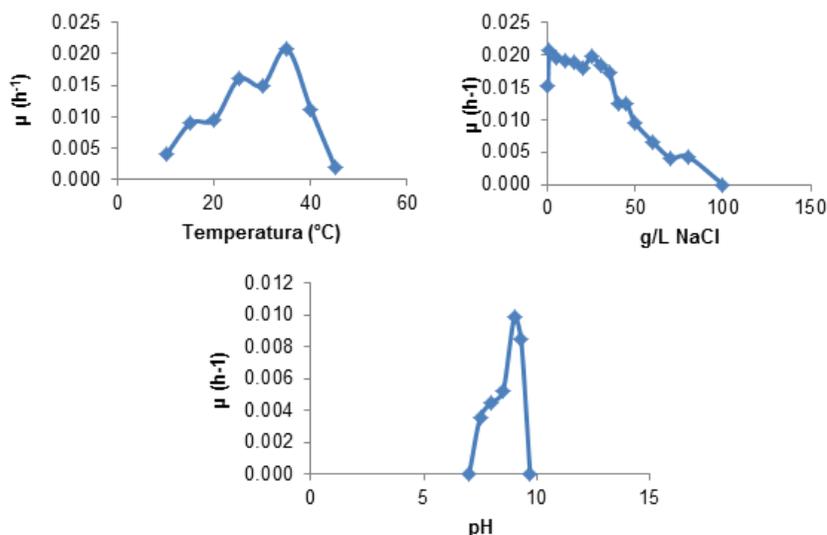


Figura 6.2: Caracterización fisiológica de cepa 180_PAR.

- Tiosulfato + CO₂: (++)
- Lactato + SO₄²⁻ :(+++)
- Lactato: prácticamente ausencia de crecimiento
- Sulfato: (-)

Entre paréntesis se muestra el crecimiento observado (nulo (-), poco (+), medio (++) , alto (+++). Aunque aparentemente hubo más de crecimiento con tiosulfato/ CO₂ que con tiosulfato/acetato; solamente hubo dismutación con acetato como fuente de carbono, ya que prácticamente todo el tiosulfato fue consumido para producción de sulfato y sulfuro, no así con CO₂. El buen crecimiento observado en las condiciones usuales de cultivo (lactato/sulfato), demostró que el inóculo estaba en buenas condiciones y soportó en estrés de lavado.

Por otro lado, la presencia de lactato y sulfato se descartó al no observarse crecimiento.

Tabla 6.1: Dismutación de la cepa 180_PAR

| | Sulfato mM | Tiosulfato mM | Sulfuro mM |
|--------------------------------|---------------|------------------|---------------|
| Tiosulfato/ Acetato | 7.7 | 0.3 | 3.6 |
| Tiosulfato +CO ₂ | 0.14 | 7.3 | 0.2 |

Producción de sulfuro

En la Tabla 6.2, se muestran los resultados de producción de sulfuro de las cepas de Parangueo. Las cepas 13F, 4H11, 12B y 13I, fueron seleccionadas para evaluar las condiciones de producción de sulfuro, consumo de sulfato y substrato, ya que presentan mayor producción de sulfuro.

Tabla 6.2: Producción de sulfuro de las cepas de Paragueo

| Cepa | Sulfato mM | Tiosulfato mM | Sulfuro |
|------|------------|---------------|---------|
| 18O | 2.4 | 18K | 7.4 |
| 19O | 3.6 | 12D | 9.4 |
| 22N | 10.1 | 12B | 10.5 |
| P1 | 1.0 | 2B | 8.3 |
| 13F | 11.0 | 9k-11 | 9.4 |
| 14O | 8.0 | 17D | 1.2 |
| 22N8 | 8.3 | 13I | 11.5 |
| 4H11 | 9.9 | 11A-9 | 6.9 |

CONCLUSIONES

La identificación y construcción del árbol filogenético de las cepas aisladas del lago alcalino de Paragueo, muestra 2 posibles especies nuevas; una dentro del género *Desulfonatronum* y otra dentro del género *Desulfobotulus*, la caracterización completa de estos aislados permitirá confirmarlo. Por otro lado, la aplicación de estas cepas es de especial interés, debido a que tienen potencial para tratar efluentes contaminados con sulfatos en condiciones de salinidades altas y con pH alcalinos.

REFERENCIAS

[1] Sorokin *et al* (2011). Culturable diversity of lithotrophic haloalkaliphilic sulfate-reducing bacteria in soda lakes and the description of *Desulfonatronum thioautotrophicum* sp. nov., *Desulfonatronum thio-sulfatophilum* sp. nov., *Desulfonatronovib-*

rio thiodismutans sp. nov., and *Desulfonatronovibrio magnus* sp. nov. *Extremophiles*, 15, 391–401.

[2] Cao *et al.* (2009). Precipitation of valuable metals from bioleaching solution by biogenic sulfides. *Minerals Engineering* 22, 289–295.

[3] Muyzer y Stams (2008). The ecology and biotechnology of sulphate-reducing bacteria. *Nature reviews, Microbiology*. 6, 441- 454.

[4] Hao *et al.* (2014). A Review of Biological Sulfate Conversions in Wastewater Treatment. *Water Research*, doi: 10.1016/j.watres.2014.06.043

[5] Rabus *et al.*, (2013). The prokaryotes: prokaryotic physiology and biochemistry. Chapter: Dissimilatory Sulfate- and Sulfur-Reducing Prokaryotes DOI 10.1007/978-3-642-30141-4. Springer Berlin Heidelberg.

[6] Souza *et al.*, (2015). Sulfate reduction in a hydrogen fed bioreactor operated at haloalkaline conditions. *Water Research* 68, 67-76.



UNIVERSIDAD
DE GUANAJUATO

Campus Guanajuato
División de Ingenierías



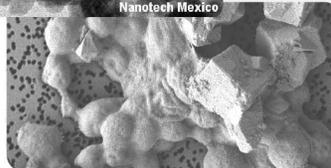
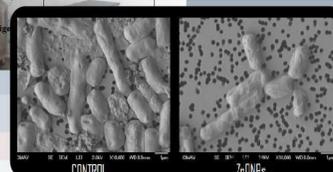
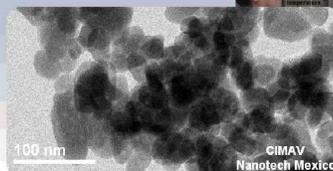
3er. Simposio Internacional de Tecnología y Biotecnología aplicada a la resolución de problemas ambientales

31 de Agosto a 2 de Septiembre de 2015

SIBA, el ambiente de discusión y de intercambio de conocimiento entre expertos, profesores y estudiantes, en el área de procesos aplicados en la Ingeniería Ambiental.



- Metodologías Innovadoras aplicadas a Bioprocesos
- Tratamiento de Residuos
- Tecnologías Aerobias y Anarobias
- Energía
- Bioprocesos
- Biorremediación
- Biotecnología
- Nanotecnología
- Tratamiento de Agua



Organización:



Cuerpo Académico de
Bioingeniería, Biotecnología y
Gestión Ambiental

Departamento de Ingeniería Civil
División de Ingenierías
Campus Guanajuato

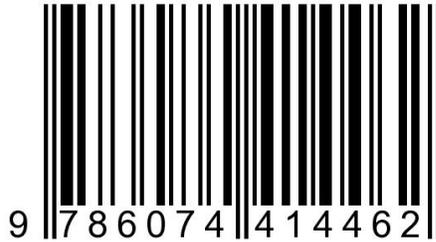
www.ugto.mx

<http://www.di.ugto.mx/SIBA>



“TECNOLOGÍA Y BIOTECNOLOGÍA APLICADA A LA RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS AMBIENTALES”

ISBN: 978-607-441-446-2



D.R. © 2016 Universidad de Guanajuato

Memorias del Tercer Simposio Internacional de Bioingeniería Ambiental,
organizado por el “Grupo de investigación de Bioingeniería, Biotecnología y
Gestión Ambiental”

Guanajuato, Guanajuato. México
31 de Agosto a 2 de Septiembre de 2015

**“TECNOLOGÍA Y BIOTECNOLOGÍA APLICADA A LA
RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS AMBIENTALES”**

Primera edición 2016

D.R. © 2016 Universidad de Guanajuato
Lascuráin de Retana 5, Zona Centro.
Guanajuato, Gto. CP. 3600

Edición: Grupo de Investigación “Bioingeniería, Biotecnología y Gestión Ambiental”
Julio César Valerdi Negreros
Arodi Bernal Martínez
Gemma Cervantes
Germán Cuevas Rodríguez
Sergio Antonio Silva Muñoz
Elcia Margareth Souza Brito

ISBN: 978-607-441-446-2

Índice

- 1** | CAPÍTULO 1
PREFACIO
- 3** | CAPÍTULO 2
LA BIOINFORMÁTICA Y SUS APLICACIONES EN LA ECOLOGÍA MICROBIANA
Bertin, P.
- 9** | CAPÍTULO 3
EFFECT OF CuONPs OVER BACTERIAL COMMUNITIES OF AGRICULTURAL SOIL
Concha-Guerrero, Sandra-I.; Souza-Brito, Elcia-Margareth; Gassie, C.; Bertin, P.; Caretta, César-A.; Durán, Robert; Orrantia-Borunda, Erasmo
- 19** | CAPÍTULO 4
MODELAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE UN BIODIGESTOR ANAEROBIO PARA PRODUCCIÓN DE BIOGÁS A PARTIR DE RESIDUOS DE CABRA Y DE CONEJO
M.-García, Martín-T.; G.-García, Jessica-J.; M.-Ramírez, Jose-L.
- 27** | CAPÍTULO 5
DEGRADACIÓN DE LIGNINA MEDIANTE EL PROCESO FENTON
Olivo-Toledo, Jenifer; Martínez-Herrera, Gabriel
- 33** | CAPÍTULO 6
PHYSIOLOGIC CHARACTERIZATION OF ANAEROBIC STRAINS ISOLATED FROM EXTREME SITES
Pérez-Bernal, María-Fernanda; Souza-Brito, Elcia-Margareth; Cuevas-Rodríguez, Germán; Hirschler-Réa, Agnès; Guyoneaud, Rémy
- 41** | CAPÍTULO 7
AISLMIENTO DE BACTERIAS ANAÉROBICAS DE FUMAROLAS DEL VOLCÁN PARICUTÍN
Romero Nuñez, Victor-Manuel; Souza-Brito, Elcia-Margareth; Caretta, César-Augusto

- 47** | CAPÍTULO 8
ESTUDIO FILOGENÉTICO DE CEPAS AISLADAS DEL LAGO-CRÁTER
"RINCÓN DE PARANGUEO"
Rivera-Martínez, Laura-Guadalupe; Bertin, Pierre; Caretta, César-Augusto;
Guyoneaud, Rémy; Goni, Marisol; Malm, Olaf; Valerdi-Negreros, Julio-
César; Souza-Brito, Elcia-Margareth
- 55** | CAPÍTULO 9
ESTUDIO DE BACTERIAS MAGNETOTÁCTICAS EN LAGOS-CRÁTER:
CÍNTORA Y LA JOYA
Zatarain-P., Eva-Cecilia; Pérez-Vázquez, Miriam-Evelia; Valerdi-Negreros,
Julio-César; Brito-S., Elcia-Margareth
- 63** | CAPÍTULO 10
STUDY OF MAGNETOTACTIC BACTERIA IN ALKALINE ENVIRO-
MENTS OF VOLCANIC CRATER LAKES FROM *LAS SIETE LUMI-
NARIAS*
Pérez-Vázquez, Miriam-Evelia; Zatarain-P., Eva-Cecilia; Valerdi-Negreros,
Julio-César; Souza-Brito, Elcia-Margareth
- 69** | CAPÍTULO 11
TOXICIDAD DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC EN AISLA-
DOS DE SUELOS AGRÍCOLAS
Rico-Herrera, Mauricio-I.; Concha-Guerrero, Sandra-I.; Orrantia, E.; Luna-
Velazco, Antonia; Souza-Brito, Elcia-Margareth
- 77** | CAPÍTULO 12
TOXICIDAD DE LAS NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC (ZnO)
EN LEVADURAS PRESENTES EN UNA PLANTA DE TRATAMIENTO
DE AGUAS RESIDUALES
González-Paniagua, Yutzil; Cervantes-Avilés, Pabel-A.; Concha-Guerrero,
Sandra-I.; Luna-Velazco, Antonia, Souza-Brito, Elcia-Margareth
- 87** | CAPÍTULO 13
CONCRETO HIDRÁULICO CON PET DE BOTELLAS
Chávez-Valencia, L.-E.; Ruiz-Jaime, C.-L.; Sánchez-Cadena, L.-E.

- 91** | CAPÍTULO 14
PAPERCRATE
Chávez-Valencia, L.-E.; Saucedo-Estrada, C.-A.; Mendoza-Puga, L.-E.
- 95** | CAPÍTULO 15
MICROORGANISMOS NATIVOS EN UN PROCESO DE BIOLIXIVIACIÓN
PARA RECUPERACIÓN DE PLATA A PARTIR DE RELAVES MINEROS
CON ALTO CONTENIDO DE MANGANESO
Huerta-Rosas, Brenda; Cano-Rodríguez, I.; Gamiño-Arroyo, Z.; Gómez-
Castro, F.-I.; Carrillo-Pedroza, F.-R.; Romo-Rodríguez, P.; Gutiérrez-
Corona, F.; Santiago-Sernas, P.-I.
- 103** | CAPÍTULO 16
PURIFICATION AND CHARACTERIZATION OF THE SECRETABLE
GOX ENZYME FROM Ed8 STRAIN OF *A. TUBINGENSIS*
Flores-Amaro, Oscar-Abraham; Romo-Rodríguez, Pamela; Corrales-
Escobosa, Alma-Rosa; Wrobel, Kazimierz; Wrobe, Katarzyna; Villagómez-
Castro, Julio-Cesar; Gutiérrez-Corona, Félix