

# SEBBM DIVULGACIÓN

## LA CIENCIA AL ALCANCE DE LA MANO



### Asimilación de cianuro por bacterias. “Lo que no mata, engorda”

Conrado Moreno Vivián

Dpto. de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Córdoba

#### Biografía

Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad de Córdoba desde 2009. Licenciado en Biología por la Universidad de Sevilla (1981) y Doctor por la Universidad de Córdoba (1985). Becario de la Fundación Alexander von Humboldt durante una estancia posdoctoral de dos años (1987-88) en la Universidad de Bielefeld, Alemania. Tras su reincorporación a la Universidad de Córdoba, obtuvo una plaza de Profesor Titular de Universidad en 1993. Profesor visitante del Departamento de Bioquímica de la Universidad de Oxford (Inglaterra) con un contrato de la Comunidad Europea entre 1997 y 1998. Coautor del libro “Biotecnología Ambiental” (Ed. Tébar, Madrid) y de más de 80 publicaciones científicas, la mayoría sobre los mecanismos moleculares de la reducción del nitrato, la fijación del nitrógeno, la degradación de compuestos nitroaromáticos y la asimilación del cianuro en bacterias. Actualmente es el Director del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad de Córdoba.

<http://www.sebbm.es/>

#### HEMEROTECA:

[http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos\\_10/la-ciencia-al-alcance-de-la-mano-articulos-de-divulgacion\\_29](http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/la-ciencia-al-alcance-de-la-mano-articulos-de-divulgacion_29)

#### Resumen

**Muchas industrias generan residuos con cianuro, un compuesto muy tóxico. Sin embargo, el cianuro puede ser utilizado por algunos microorganismos como una fuente de nitrógeno.**

***Pseudomonas pseudoalcaligenes CECT5344 es una bacteria que crece a pH alcalino con cianuro y compuestos relacionados. La secuenciación de su genoma ha confirmado el potencial biotecnológico de esta bacteria.***

#### Summary

**Many industries produce wastewaters containing cyanide, a highly toxic compound. However, some microorganisms are able to use cyanide as a nitrogen source. *Pseudomonas pseudoalcaligenes CECT5344 is an alkaliphilic bacterium that grows with cyanide and related compounds. Complete genome sequence of this bacterium has confirmed its great biotechnological potential.***

Las actividades industriales suelen ir acompañadas en muchas ocasiones por la producción de una gran cantidad de residuos o contaminantes, por lo que una de las preocupaciones de la sociedad actual es la búsqueda de soluciones para compatibilizar el desarrollo con la conservación del medio ambiente, minimizando los riesgos sobre la salud pública. La minería y la industria joyera utilizan cianuro en los procesos de extracción, recuperación y limpieza de oro y

metales preciosos, generando residuos tóxicos que deben ser tratados convenientemente antes de su liberación al ambiente. En particular, la industria joyera de Córdoba, un sector económico de gran importancia en esta ciudad, produce al año más de cinco toneladas de un residuo alcalino que contiene unos 40 g l<sup>-1</sup> de cianuro (aproximadamente 1,5 M), incluyendo cianuro libre y unido a metales en forma de complejos. La toxicidad del cianuro se debe principalmente a su capacidad para unirse a los metales, lo que causa la inhibición de muchas enzimas y transportadores que contienen cofactores metálicos. Por esta razón, el cianuro inhibe la respiración aeróbica a nivel de la citocromo oxidasa. A pesar de su elevada toxicidad, el cianuro es un compuesto natural que es producido por diversos organismos, incluyendo algunas bacterias, algas, hongos, plantas (es conocido el ejemplo de las almendras), e incluso animales (ciempiés, milpiés, mariposas) que lo utilizan como mecanismo de defensa frente a depredadores. Además, curiosamente, el cianuro desempeñó un importante papel en la evolución química prebiótica que permitió el origen de la vida en la Tierra. Las bacterias son microorganismos muy versátiles que pueden degradar una gran variedad de compuestos naturales y xenobióticos, y el cianuro no es una excepción ya que puede ser utilizado por algunas estirpes bacterianas como una fuente de nitrógeno para el crecimiento. Para que un organismo pueda asimilar cianuro, convirtiendo esta sustancia

potencialmente letal en un nutriente o alimento ("cianotrofia"), tienen que darse una serie de requerimientos previos. En primer lugar, el organismo cianotrofo debe tener una respiración insensible al cianuro, lo que requiere una oxidasa alternativa a la citocromo c oxidasa. En segundo lugar, debe producir sideróforos o sistemas de captación de hierro, ya que la biodisponibilidad de este metal es muy baja en medios con cianuro debido a su elevada afinidad por los metales, con los que forma complejos muy estables. Finalmente, se requiere una ruta bioquímica que permita la transformación del cianuro en amonio, un compuesto nitrogenado fácilmente asimilable. Se han descrito varias rutas con diferentes enzimas implicadas en la degradación de cianuro, que pueden agruparse en cuatro categorías: hidrolíticas (cianidasa, cianuro hidratasa/formamidasa), reductivas (nitrogenasa), oxidativas (cianuro dioxigenasa, cianuro monooxigenasa/cianasa), y de sustitución/adición (rodanasa/tiocianato hidrolasa, nitrilasas, nitrilo hidratasa/amidasa). Además, es necesario que el organismo sea alcalófilo, ya que a un pH inferior a 9 el cianuro volatiliza como ácido cianhídrico (HCN). *Pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT5344 es una bacteria aislada a partir de lodos del río Guadalquivir a su paso por Córdoba que crece en condiciones alcalinas (pH 9-10) utilizando cianuro, cianato, diferentes nitrilos (cianuros

orgánicos) y algunos complejos cianuro-metálicos como única fuente de nitrógeno (1). La caracterización molecular del proceso de asimilación del cianuro ha revelado que en esta bacteria la tolerancia al cianuro está directamente relacionada con el mecanismo bioquímico de degradación. La oxidasa alternativa que permite la respiración insensible a cianuro está asociada a una malato:quinona oxidorreductasa que convierte el malato en oxalacetato, y éste reacciona químicamente con el cianuro para formar una cianhidrina (nitrilo) que finalmente produce amonio por la acción de la nitrilasa NitC (2,3). Los estudios proteómicos han demostrado que esta bacteria responde al cianuro induciendo una serie de proteínas implicadas en los mecanismos de adquisición de hierro, de regulación del metabolismo por carencia de nitrógeno y de defensa frente a estrés oxidativo (4). Recientemente se ha secuenciado el genoma de esta estirpe, el primero que se completa en organismos cianotróficos, lo que ha confirmado el gran potencial biotecnológico de esta bacteria para la destoxificación de cianuro y residuos industriales cianurados, y también para la degradación de otros contaminantes o la producción de plásticos biodegradables (5). Los estudios preliminares en biorreactores de 5 y 10 litros de capacidad permiten concluir que *P. pseudoalcaligenes* CECT5344 puede destoxificar completamente a pH 9,5 tanto el cianuro añadido al medio de cultivo

(6) como el cianuro libre o complejado a metales presente en los residuos industriales de la joyería, incluso a concentraciones elevadas (10-12 mM). Además, como en ciertas condiciones nutricionales el crecimiento bacteriano va acompañado de la acumulación de polihidroxialcanoatos de cadena media y corta, la biomasa obtenida en estos reactores podría ser potencialmente utilizada para la obtención de plásticos biodegradables, lo que conferiría un valor añadido al proceso de degradación de los residuos.

Referencias

1. Luque-Almagro V.M. et al. (2005) Bacterial degradation of cyanide and its metal complexes under alkaline conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* 71: 940-947.
2. Luque-Almagro V.M. et al. (2011) Cyanide degradation by *Pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT5344 involves a malate:quinone oxidoreductase and an associated cyanide insensitive electron transfer chain. *Microbiology* 157: 739-746.
3. Estepa J. et al. (2012) The nit1C gene cluster of *Pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT5344 involved in assimilation of nitriles is essential for growth on cyanide. *Environ. Microbiol. Rep.* 4: 326-334.
4. Luque-Almagro V.M. et al. (2007) The cyanotrophic bacterium *Pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT5344 responds to cyanide by defence mechanisms against iron deprivation, oxidative damage and nitrogen stress. *Environ. Microbiol.* 9: 1541-1549.
5. Luque-Almagro V.M. et al. (2013) Draft whole genome sequence of the cyanide-degrading bacterium *Pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT5344. *Environ. Microbiol.* 15: 253-270.
6. Huertas M.J. et al. (2010) Alkaline cyanide degradation by *Pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT5344 in a batch reactor: Influence of pH. *J. Hazard. Mat.* 179: 72-78.

**Figura. Respuestas al cianuro en *P. pseudoalcaligenes* CECT5344. El cianuro inhibe la citocromo c oxidasa (CcO), lo que genera estrés oxidativo y desencadena mecanismos de defensa frente a las especies reactivas de oxígeno (ROS), pero induce la oxidasa alternativa (AOX) y la malato:quinona oxidorreductasa (MQO) para mantener la respiración aeróbica (NDH, NADH deshidrogenasa; UQ, ubiquinona). El oxalacetato generado por la MQO se une al cianuro formando una cianhidrina, que es asimilada mediante una nitrilasa. Esto permite utilizar el cianuro como fuente de nitrógeno para el crecimiento. El cianato es asimilado por la cianasa, enzima que también se induce por cianuro. Otras respuestas son la inducción de sistemas de incorporación de hierro y/o complejos cianuro-Fe y la activación del sistema de regulación metabólica por deficiencia de nitrógeno. Además, durante el crecimiento con cianuro la bacteria puede acumular polihidroxialcanoatos (PHA), polímero utilizable para fabricar bioplásticos.**

