

FICHA TÉCNICA

Cultivo Ultrammox 4C (Bacterias Anammox de agua salada)

Información de la cepa

Nomenclatura interna	Ultrammox 4C
Especie	A secuenciar
Lugar de aislamiento	Bahía de Talcahuano, Chile
Grupo microorganismo	Las bacterias oxidadoras de amonio anaeróbicas poseen un anammoxosoma unido a una membrana de bicapa lipídica dentro del citoplasma, en el que tiene lugar el proceso anammox. En este proceso se transforman el NO_2^- y NH_4^+ en N_2 .

Condiciones de cultivo

Medio de cultivo	Medio de cultivo para bacterias Anammox de agua salada, descrito en Anexo (Vuyokaziet al., 2016; Zhang et al. 2017).
Temperatura	4 – 25 °C
Atmósfera:	Anaerobia ($\text{N}_2 + \text{CO}_2$)
Agitación recomendada:	150 rpm

Condiciones de almacenamiento

Formato	Criotubo de 2 mL a -80 °C o vial de 60 mL conteniendo 20 mL de cultivo activo.
Reactivación de la cepa	Vaciar el contenido del criotubo en un frasco de vidrio con tapa de goma o teflón y sello de aluminio, y completar a 30 mL de medio de cultivo para bacterias Anammox de agua salada. Generar anaerobiosis gaseando la cabeza de aire con una mezcla de N ₂ /CO ₂ , en proporción 80:20 (pasado por filtro de tamaño de poro 0,22 µm, para evitar contaminación desde el gas) durante 5 min e incubar por 20-30 días, en las condiciones descritas en el punto 2, hasta aparición de leve turbidez o formación de pequeños gránulos de color naranja a rojo.

Anexo

Medio mineral general para ANAMMOX de agua salada (Vuyokaziet al., 2016; Zhang et al., 2017)

Compuesto	Agua salada (mg L ⁻¹)
KNO ₃	(200)
KHCO ₃	500
KH ₂ PO ₄	24,4
CaCl ₂ * 2H ₂ O	114
MgSO ₄ * 7H ₂ O	99
FeSO ₄ * 7H ₂ O	9
EDTA	----
NaNO ₂	(345)
(NH ₄) ₂ SO ₄	(330)
NaCl	----
KCl	----

Anexo

Medio mineral general para ANAMMOX de agua salada (Vuyokaziet al., 2016; Zhang et al., 2017)

Compuesto	Agua salada (mg L ⁻¹)
Solución traza I	0,5 mL
Solución traza II	0,5 mL
Solución marina artificial	25.000
Ajustar a pH 7 y autoclavar	
Solución de elementos traza I (g L ⁻¹) (van deGraafet al., 1996)	
EDTA	5
FeSO ₄	5
Autoclavar	
Solución de elementos traza II (g L ⁻¹) (van de Graafet al., 1996)	
EDTA	15
ZnSO ₄ * 7H ₂ O	0,43
CoCl ₂ * 6H ₂ O	0,24
MnCl ₂ * 4H ₂ O	0,99
CuSO ₄ * 5H ₂ O	0,25
NaMoO ₄ * 2H ₂ O	0,22
NiCl ₂ * 6H ₂ O	0,19
NaSeO ₄ * 10H ₂ O	0,21
H ₃ BO ₄	0,014
Autoclavar	

Anexo

Solución de sales marinas artificiales (SEALIFE; Kindaichi et al., 2011).

Compuesto	Cantidad (g L ⁻¹)
Na	9,14
Mg	1,23
K	0,35
Cl	16,89
SO ₄ ⁻²	2,3
Sr	0,007
Br	0,055
F	0,0002
B	0,0009
Li	0,00016
V	0,000003
Rb	0,00011
Mo	0,012
Ba	0,000016