

Contribución de los microorganismos en la génesis de los minerales del azufre y su ciclo biogeoquímico. Estudio en un laboratorio de educación secundaria

Contribution of microorganisms in the mineral genesis of sulfur and its biogeochemical cycle. Study in a compulsory education secondary laboratory

JOSÉ PEDRO LÓPEZ PÉREZ¹ Y RAQUEL BORONAT GIL²

¹ IES Ricardo Ortega. 30320. Fuente Álamo. Murcia. E-mail: josepedro.lopez@murciaeduca.es

² IES Antonio Menárguez Costa. 30710. Los Alcázares. Murcia. E-mail: raquel.boronat@murciaeduca.es

Resumen El azufre presente en sedimentos miocénicos tiene su origen en reacciones sucesivas de reducción y oxidación de sulfatos en ocasiones, mediadas por metabolismo anaeróbico bacteriano. Este complejo sistema microbiano puede ser estudiado a través de un ecosistema de laboratorio, la columna de Winogradsky. La evolución microbiana en su interior nos permite comprender muchas de las situaciones que pueden observarse en sedimentos con presencia de azufre. La analogía entre el desarrollo de bacterias fotosintéticas y los nódulos de mineral localizados en frentes mineros de extracción son el objeto del estudio de este trabajo.

Palabras clave: Azufre sedimentario, columna de Winogradsky, laboratorio de Educación secundaria, microbiología, origen.

Abstract *Sulfur in Miocene sediments is produced by sequential redox reactions of sulfates reduction frequently mediated by bacterial anaerobic metabolism. This microbial system complex can be studied through an laboratory ecosystem, the Winogradsky column. The microbial evolution inside would enable us to understand many of the situations that can be observed in sulfur bearing sediments. This paper focuses mainly on the analogy between the development of photosynthetic bacteria and mineral nodules located in mining fronts.*

Keywords: *Sedimentary sulfur, Winogradsky column, compulsory secondary Education laboratory, microbiology, genesis.*

INTRODUCCIÓN

El azufre es uno de los minerales elemento mejor reconocidos por los alumnos de enseñanza media y superior. De coloración amarilla, idiocromática (Hurlbut y Klein, 1992: 242-244; ver propiedades en la tabla I), tiene origen y localización geológica variopintos: (1) como producto hidrotermal surgido en fumarolas, (2) como residuo de la actividad microbiana presente en sedimentos, (3) procedente de la desintegración de sulfuros, así como (4) resultado de reacciones químicas ácidas (Korbel y Novák, 2004).

En la península Ibérica, según el trabajo clásico llevado a cabo por Calderón (1910), y más recientemente por Calvo (2003, pp. 168-183), la presencia más notable de este mineral radica en rocas sedimentarias, las margas yesíferas y bituminosas de

edad miocénica (Tortoniense, 11.6 m.a.), destacando las cuencas de Libros (Teruel), Hellín (Albacete) y Lorca (Murcia). Los primeros estudios llevados a cabo en estos materiales argumentaban que su origen podría estar ligado a la descomposición de la materia orgánica en presencia de sulfato (Calderón, 1910), es decir, algunos depósitos de azufre elemento parecen tener un origen biogénico (Atlas y Bartha, 2002; Ruckmick *et al.*, 1979) como respuesta a un diverso metabolismo llevado a cabo por microorganismos.

Trabajos de relevancia mundial, tales como los de Al-Sawaf (1977), Pawlowsky *et al.* (1979), Youssef (1989), Tekin *et al.* (1999) o Davis y Kirkland (1970), pusieron de manifiesto la importancia del estudio de la génesis de este mineral en cuencas miocénicas con claras similitudes estructurales y de composición: presencia de sulfato, materia orgánica y activi-

Dureza:	1.5-2	Exfoliación:	Imperfecta según (001), (110) y (111).
Raya:	Blanca, si bien puede mostrarse también amarilla clara.	Fractura:	Concoidea a irregular.
Color:	Amarilla	Morfología:	Cristalina, si bien también puede mostrarse en agregados granulares, terrosos y pulverulentos sobre rocas.
Transparencia:	Transparente a Translúcido	Densidad:	2.05-2.08 g/cm ³ .
Brillo:	Adamantino en superficie y mate en fractura.	Sistema cristalográfico:	Ortorrómico.
Forma de los cristales:	Se presentan en numerosas facetas, caso de cristales bipiramidales, disfenoidales y en tablillas gruesas. A veces pueden mostrarse con maclas.		

Tabla I. Propiedades físicoquímicas del mineral azufre (compilación basada en Dud'a y Rejl, 2005, p. 23; Korbel y Novák, 2004, pp. 16-17).

dad microbiana. Estos últimos autores argumentan el empobrecimiento del azufre de origen sedimentario en S³⁴, con respecto al mismo hallado en el sulfato del agua de la cuenca originaria, como consecuencia de una importante actividad microbiana responsable de la reducción.

CICLO DEL AZUFRE

El azufre es uno de los diez elementos químicos más abundantes de la corteza terrestre y de la biosfera. La actividad microbiana responsable del ciclo del azufre ha sido definida, clásicamente, por Butlin (1953) y, de manera más discutida por Pfenning y Widdel (1982) y Canfield y Farquhar (2012). En la figura 1 se muestra el conjunto de transformaciones biogeoquímicas que configuran el ciclo del azufre, mediadas por la actividad bacteriana presente en sedimentos y masas de agua que han sido remarcadas en este trabajo. Se destacan en el mismo dos vías de formación del azufre elemental (S⁰) a partir de sulfuro de hidrógeno (H₂S): (1) la vía aeróbica (rama 1), mediada por la oxidación de este gas y llevada a cabo por bacterias oxidantes de sulfuro, caso de los géneros *Beggiatoa*, *Thioplaca* o *Thiotrix* (Nelson, 1990; Ramos, 1975) y otra, la vida anaeróbica (rama 6), generada por la oxidación fototrófica y generada por las bacterias fotosintéticas rojas (cromatiáceas) o verdes (ectotiorrodospiriláceas y clorobiáceas) del azufre (Atlas y Bartha, 2002).

No obstante, además de este reservorio objeto de estudio en este trabajo, en el ciclo del azufre se encuentran tres reservorios más de este elemento: el anión sulfato (SO₄²⁻), el sulfuro de hidrógeno y el combinado en la materia orgánica (que hemos llamado R-SH, radical sulfhidrilo). En este último caso, el azufre forma parte de los aminoácidos (cisteína, cistina o metionina) y sus formas poliméricas, las proteínas (Voet y Voet, 1992). Su formación es debida al proceso de reducción asimilatoria de sulfato que realizan bacterias, plantas y algas. La asimilación de azufre en forma de sulfato, hasta formar el radical sulfhidrilo presente en algunos de los aminoácidos proteicos (rama 4), requiere de un paso intermedio, su transformación a sulfuro. No obstante, si bien el proceso bioquímico equivale a una reducción de sulfato propiamente dicha (valencia

del azufre +6 en el anión hasta -2 en el sulfuro), los mecanismos enzimáticos en el proceso son diferentes a una respiración anaeróbica (donde el sulfato puede utilizarse como aceptor final de electrones). Es decir, cuando la reducción de sulfato tiene como fin ser utilizado como fuente de azufre, se habla de reducción asimilatoria de sulfato; en contraposición con la disimilatoria del anión, que es la utilización del sulfato como aceptor final de electrones (Stanier *et al.*, 1992).

La formación de sulfuro de hidrógeno puede llegar a través de tres vías importantes (Atlas y Bartha, 2002; Stanier *et al.*, 1992; Brock y Madigan, 1993): (1) a partir de la descomposición de la materia orgánica, proceso llamado **desulfuración** (rama 3) y que es causante de los malos olores que recuerdan

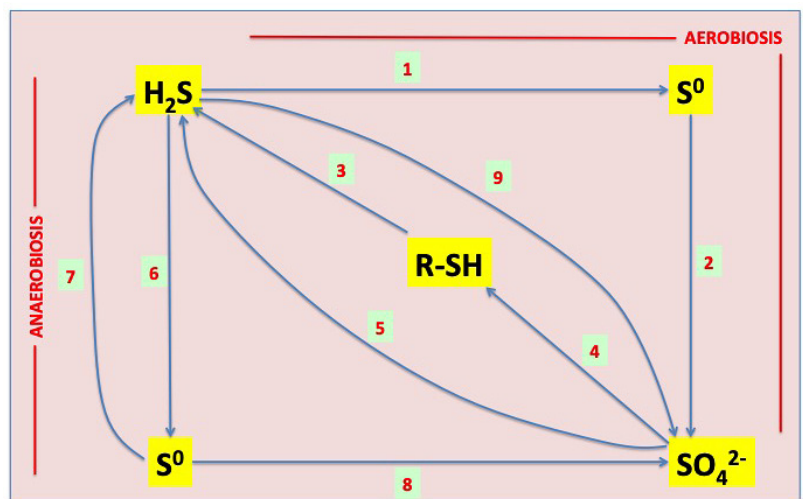


Fig. 1. Ciclo del azufre. (1) Oxidación del sulfuro de hidrógeno hasta azufre elemental por bacterias aeróbicas oxidadoras de sulfuro. (2) La deficiencia de sulfuro en el sistema y una elevada concentración de protones puede determinar el paso de azufre elemental a sulfato y/o ácido sulfúrico. (3) Desulfuración o proceso de liberación de sulfuro de hidrógeno, caso de la producida en la descomposición de los cadáveres por la actividad microbiana. (4) Reducción asimilatoria de sulfato, exclusiva en el mundo microbiano. (5) Reducción disimilatoria del sulfato, también llamada respiración anaeróbica de sulfato. (6) Oxidación fototrófica llevada a cabo por bacterias fotosintéticas rojas y verdes del azufre. (7) Respiración con azufre. (8) La deficiencia de sulfuro en el ambiente permite a las bacterias rojas y verdes del azufre pasar las trazas de este compuesto hasta sulfato. (9) Oxidación, vía aeróbica, de paso de sulfuro de ciertos metales pesados a sulfato, para la liberación del elemento de interés en minería. R-SH (azufre conjugado formado parte de la materia orgánica). Fuente: Modificado de los autores a partir de Atlas y Bartha (2002).

a huevos podridos o a la putrefacción de verduras enriquecidas en isotiocianatos, como las coles; (2) a través de la **reducción del azufre elemental** que se lleva a cabo en ambientes anaeróbicos por bacterias integrantes de los géneros *Desulfomonas* sp. o *Desulfurococcus* sp., la llamada respiración con azufre (rama 7); o (3) mediante la **reducción disimilatoria del sulfato** o respiración anaeróbica del sulfato (proceso que no requiere de intermediarios de reacción, como el azufre elemental), cuyos responsables principales son algunos de los integrantes del género *Desulfovibrio* (rama 5).

La presencia de ión sulfato en las cuencas marinas o lacustres salinas es muy importante debido a la disolución de depósitos evaporíticos previos que generan importantes aportes al medio sedimentario marino. Además, tres procesos químicos y biológicos que ocurren en el medio pueden dar lugar a la formación de sulfatos (Atlas y Bartha, 2002; Stanier *et al.*, 1992; Brock y Madigan, 1993): (1) cuando existen notables deficiencias de sulfuro de hidrógeno en el sistema fototrófico, bacterias rojas y verdes del azufre pueden pasar las trazas de azufre elemental, generado dentro del proceso fotosintético, hasta sulfato (rama 8), con el objetivo de recuperar mediante la reducción disimilatoria o reducción anaeróbica de este anión, el sulfuro perdido y necesario para la fotosíntesis anoxigénica generada por los géneros de las *Chromatiaceae* y *Chlorobiaceae*; (2) también vía aeróbica, algunas especies de *Thiobacillus* sp. pueden oxidar el azufre elemental y de otros compuestos dando lugar a sulfato (rama 2). Este género microbiano es acidófilo (quimiolitotrofo obligado), es decir, crecen muy bien a pH ácido, obteniendo la energía únicamente de la oxidación del azufre inorgánico y el carbono procedente de la reducción del dióxido de carbono. Finalmente, (3) puede existir una oxidación de sulfuro de metales pesados, bajo condiciones de aerobiosis (rama 9) y que resulta de interés en minería, para dar lugar a sales solubles de sulfato.

LA COLUMNA DE WINOGRADSKY

Este complejo sistema microbiano y su posible relación con la geología puede visualizarse mediante el uso de la columna diseñada por Sergei Winogradsky (1856-1953). Se trata de un ejemplo de ecosistema de laboratorio que modeliza el estudio de los microorganismos acuáticos y los sedimentos que los albergan (Eveleigh y Davis, 1996; Atlas y Bartha, 2002; López y Boronat, 2018). El desarrollo en la columna de bacterias fotosintéticas capaces de utilizar el sulfuro de hidrógeno como donador electrónico, bajo la influencia de la luz (metabolismo fotoautótrofo), permite explicar una parte del ciclo del azufre y de los microorganismos responsables (tras su estudio bajo el microscopio óptico).

Una columna de Winogradsky consiste en un boro colocado en el interior de un cilindro de plástico o cristal transparente que permita el paso directo de la luz. En el fango humedecido se genera una zonación interna característica. Por un lado, una zona aeróbica, próxima a la superficie, en pleno contacto con el aire atmosférico, que permite el desarro-

llo de bacterias y algas fotosintéticas oxigénicas; a continuación, una zona de microaerofilia, donde se reduce la concentración de oxígeno sin llegar a desaparecer del todo y, por último, una zona anaeróbica, carente de este gas, donde se genera sulfuro de hidrógeno a partir de la respiración anaeróbica de sulfato. Al lodo se le añade una fuente de energía y materia orgánica (carbono de liberación lenta mediante procesos fermentativos, por ejemplo, celulosa o lignina), además de un regulador del pH del sistema, tamponador de los hidrogeniones generados durante las fermentaciones microbianas, como es la caliza. Como fuente de azufre oxidado, al conjunto se le adiciona sulfato de calcio (yeso o anhidrita), permitiendo con ello la generación de sulfuro de hidrógeno que pondrá en marcha todo el sistema microbiológico (López y Boronat, 2018; Atlas y Bartha, 2002; Brock y Madigan, 1993).

La columna de Winogradsky es, por tanto, un modelo de ecosistema que imita la situación de una columna de agua o fango que recibe la luz sin penetrar completamente en su interior (Grau *et al.*, 1991). Es un sistema similar a las sulfuretas naturales halladas en aguas salobres, dulces o aguas marinas someras, en las que la reducción de sulfato por parte de las bacterias genera sulfuro de hidrógeno (López, 2008; Duró y Urmeneta, 2007; Rogan *et al.*, 2005). Los sulfuros son fuente electrónica para el metabolismo de una gran variedad de bacterias rojas y verdes fotosintéticas del azufre, tales como *Chromatium*, *Thiocapsa* o *Thiospirillum*. El desarrollo masivo de estos microorganismos generará manchas de colores rojos y verdes en las paredes de la columna, la arena clara que cubre el fango y en el agua que cubre todo el sistema (López, 2008; Esteban *et al.*, 2015). A partir de estas zonas de acumulación masiva de bacterias pigmentadas es posible recoger y analizar muestras que faciliten la observación de las comunidades microbianas dominantes.

OBJETIVOS

El presente trabajo intenta, adecuado a las limitaciones metodológicas disponibles en un laboratorio de enseñanza media, analizar (1) la visualización del papel de los microorganismos en la formación de minerales del azufre a través de un sencillo diseño experimental, la columna de Winogradsky, y (2) extrapolar los resultados obtenidos a situaciones observadas en materiales geológicos, caso de los presentes en la cuenca neógena de Las Minas (Hellín, Albacete).

MATERIAL Y MÉTODOS

Área de estudio y recogida de muestras

El lugar escogido para estudiar la analogía del posible origen sedimentario del azufre nativo con el desarrollo de una columna de Winogradsky en un laboratorio, se localiza a unos 30 km al sur del municipio albaceteño de Hellín (Castilla la Mancha, España), en la confluencia de los ríos Mundo y Segura, en la pedanía de Las Minas. El área se caracteriza por la presencia de margas blancas del Mioceno superior,



Fig. 2. Lentejones de azufre nativo en una de las capas margosas limitadas por evaporitas en el paraje de Las Minas (Hellín). Imagen tomada por los autores en junio de 2013, como motivo de una excursión encuadrada dentro de la XXXIII Reunión de la Sociedad Española de Mineralogía. Caravaca de la Cruz (Murcia, España). 25 de junio de 2013. Barra dimensional: 2 cm.

intercaladas con yeso a modo de hojas de libro, en las que pueden hallarse enclaves de azufre (Fig. 2). Gallego *et al.* (1984) determinan la potencia de esta cuenca en 150 metros y citan la presencia de Globigerinas, atribuyéndolas a la una posible relación de esta cuenca con el mar, o bien a una sedimentación en el citado período geológico marino, depositándose como fragmentos de rocas calcáreas.

Construcción de la columna de Winogradsky en el laboratorio y observación al microscopio óptico de campo claro

En un cuenco de plástico se adicionaron 100 mL de lodo procedente de una acequia (observándose en el mismo la presencia de restos de material vegetal, de coloración oscura y olor nauseabundo por el sulfuro de hidrógeno), una base de sulfato (1 g de sulfato de calcio hidratado, yeso pulverizado) y un agente tamponador de pH (1 g de carbonato de calcio, caliza pulverizada). Como fuente de carbono y energía se trocearon y vertieron 5 tiras de papel periódico de 1x20 cm que no llevaran tinta. Tras mezclar, se dispuso el preparado en el interior de una botella de plástico transparente de 2 litros a la que se le cortó la parte superior y se cubrió con arena de color claro hasta llenar 1/3 del volumen de la misma. Finalmente, se adicionó el agua que cubría el lodo en la acequia hasta completar el volumen total de la botella (Fig. 3), cubriéndose con papel de aluminio para prevenir la evaporación. La botella con su contenido se expuso a la luz continua procedente de una bombilla con filamento de tungsteno y 40W de potencia (López, 2008; López y Boronat, 2018) durante 2 meses. Tras la presencia de las primeras coloraciones procedentes de crecimientos de cianobacterias y bacterias fotosintéticas del azufre, con la ayuda de una pipeta Pasteur se fueron tomando alícuotas de las zonas pigmentadas para observar los agentes responsables. Las muestras se disponían entre portaobjetos y cubreobjetos y su exploración se llevaba a cabo a través de un microscopio de campo claro (Optika B290) provisto de objetivo 100x e inmersión en aceite. Las

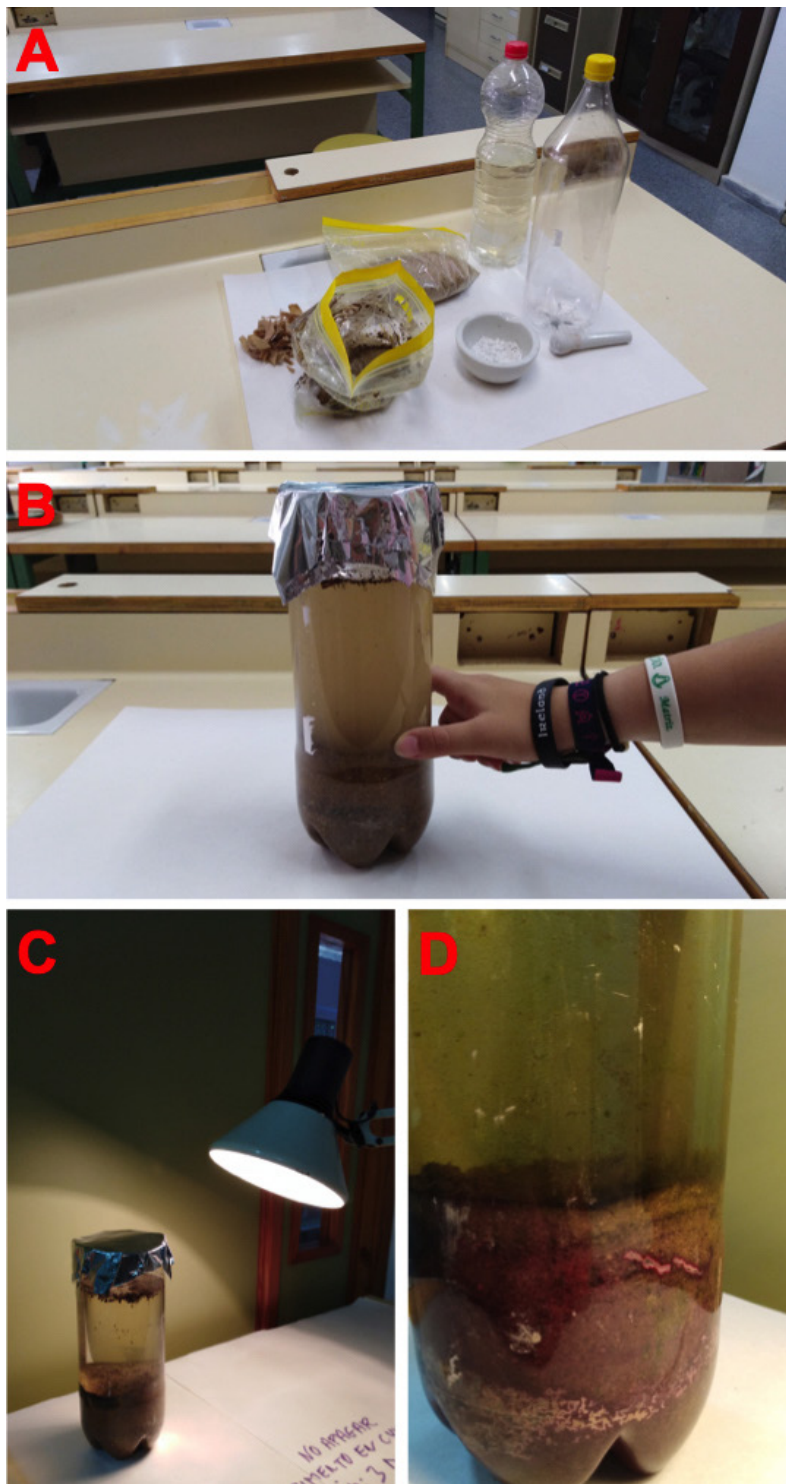


Fig. 3. Montaje de una columna de Winogradsky y resultado final tras la incubación a temperatura ambiente durante mes y medio. (A) Materiales necesarios para el montaje: Fango de acequia, agua de acequia, arena clara de construcción, trozos de papel, carbonato de calcio, sulfato de calcio y botella de refresco. (B) Montaje de la columna en la botella de plástico transparente y apreciación de las dos fases, acuosa y sólido-fangosa de mayor densidad. (C) Puesta en marcha de la columna con la exposición a la luz de una bombilla de tungsteno de 40 W de potencia. (D) Resultado tras la incubación durante mes y medio a temperatura ambiente. Denótese los lentejones rosáceos que aparecen en el fango de la misma. Ver análisis en Resultados y Discusión.

imágenes fueron tomadas a través de una cámara digital (Scope) acoplada al equipo óptico y su posterior tratamiento con el software informático adjunto a la misma (Scope-Photo).

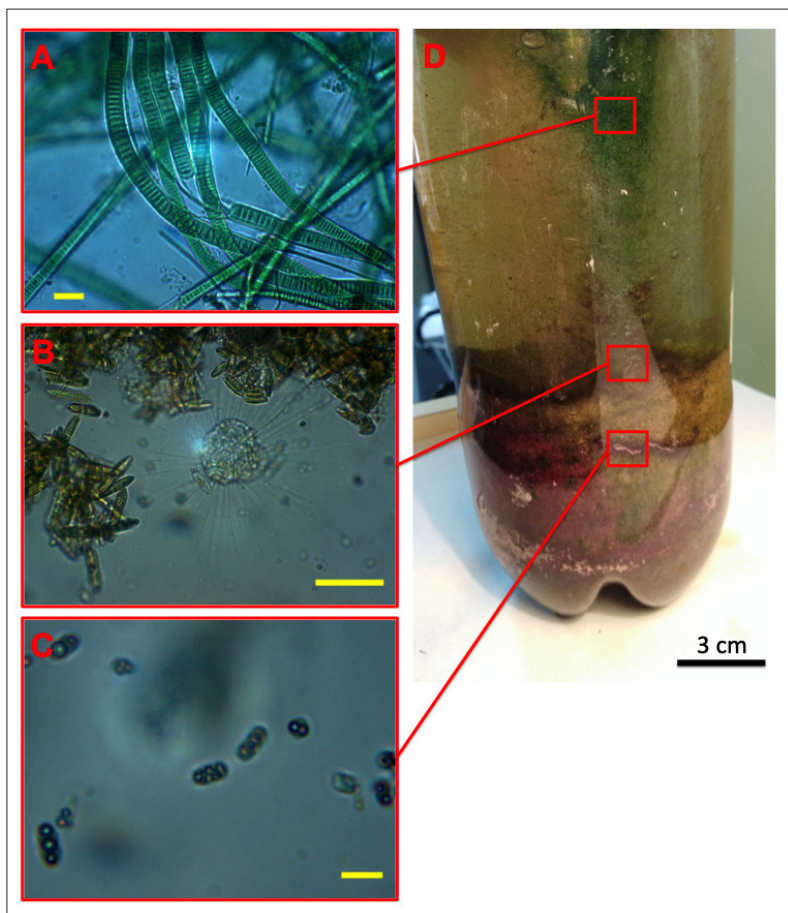


Fig. 4. Columna de Winogradsky formada a partir de un sedimento de lodo y agua de acequia. Tras el montaje, la incubación se llevó a cabo a temperatura ambiente y con iluminación continua mediante una lámpara de tungsteno de 40W de potencia. (A) Comunidades de procariotas fotosintéticos, cianobacterias, crecidas en la zona aeróbica de la columna de agua. (B) Comunidades de algas diatomeas y protozoos (heliozoos) en la zona más apical, aeróbica, del fango. (C) Poblaciones de bacterias fotosintéticas del azufre, integrantes del género *Chromatium* en la zona anaeróbica. En su interior destacan los gránulos refringentes de azufre elemental. Barras dimensionales: (A) 20 μm , (B) 100 μm , (C) 4 μm .

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

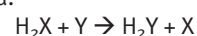
La incubación durante mes y medio, a temperatura ambiente y bajo la luz continua proporcionada por una bombilla de tungsteno de 40W de potencia, ofreció unos cambios de coloración importantes en la columna, tanto en la masa de agua como en el fango (ver contraste entre la figura 3B y las figuras 3D y 4). Lo que parecía al principio de la experiencia un agua sucia, terrosa, pasó a tornarse verde, y el fango marrón oscuro al comienzo de la experiencia, negro en profundidad y portador de lentejones de coloración rosada.

Actividad oxigénica

La actividad fotosintética oxigénica puso de manifiesto en las paredes de la botella, por las tonalidades verdes que definían el dominio de las clorofilas y bacterioclorofilas (Stanier *et al.*, 1992; Brock y Madigan, 1993; López y Boronat, 2018), así como por la acumulación de bolsas de gas entre la pared de plástico y el biofilm formado por algas y bacterias

fotosintéticas, junto al mucílago viscoso excretado. Observaciones al microscopio de campo claro ofrecieron la presencia de poblaciones de algas filamentosas y un claro dominio de cianobacterias (Fig. 4A). Las poblaciones de este tipo de organismos constituyen la arquitectura de una pirámide trófica jerarquizada en un macroecosistema, como pueden ser los fondos lacustres y marinos de poca profundidad.

La fotosíntesis puede definirse como un proceso anabólico autotrófico, por el que algunas bacterias, células vegetales o algas utilizan sustancias inorgánicas y energía luminosa (absorbida por medio de pigmentos), para su transformación en sustancias orgánicas (Rawn, 1989; Brock y Madigan, 1993; Barceló *et al.*, 1995). Teniendo en cuenta esta definición, la reacción bioquímica que gobierna la fotosíntesis podría representarse como una reacción de oxidorreducción, en la que una molécula inorgánica, llámese Y, es reducida hasta moléculas orgánicas del tipo H_2Y , al tiempo que otras (H_2X) se oxidan a X, según el esquema:



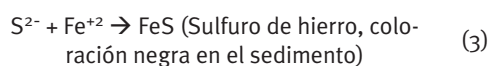
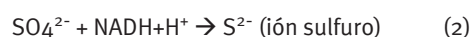
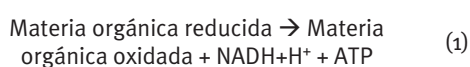
En el caso de la fotosíntesis oxigénica, X es el oxígeno molecular (O_2), por lo que el reactivo inicial es el agua (H_2O). La molécula Y pasa a ser el dióxido de carbono (CO_2) o sales minerales, caso de nitratos (NO_3^-), que podrán reducirse con los hidrógenos del agua para constituir moléculas orgánicas (H_2Y). La molécula de oxígeno será responsable de las bolsas de gas que se alojan entre la pared de plástico y el biofilm microbiano (Voet y Voet, 1992).

Las cianobacterias, organismos dominantes en la masa acuosa de la columna, son un claro ejemplo de organismos fototróficos, capaces de utilizar la luz como fuente de energía. Clásicamente han sido llamadas algas verdeazuladas (Margulis y Schwartz, 1988; Margulis, 2001), si bien esa terminología es incorrecta, ya que no disponen de núcleo en su ultraestructura celular, como sí la presentan, en cambio, las algas que forman parte del reino Protocistas (que también hacen acto de presencia en la columna generada para el estudio). Las dimensiones de las cianobacterias que se muestran en la figura 4A corresponden a integrantes del género *Oscillatoria*, pudiendo llegar a los 60 micrómetros de diámetro. La pared de estos microorganismos es tintorialmente adscrita a las bacterias gramnegativas, además de producir grandes envolturas mucilaginosas, como se describen en las observaciones llevadas a cabo tras el raspado de la pared. Presentan clorofila *a*, que les da el clásico color verde dominante, así como algunos pigmentos accesorios, las ficobilinas, con el objetivo de absorber más rango de longitud de onda visible (Brock y Madigan, 1993; López y Boronat, 2018). Aun no disponiendo de flagelos, se observa movilidad deslizante en estos organismos, apoyándose entre el portaobjetos y el cubreobjetos.

Actividad anoxigénica

Este distintivo metabólico dominó en la columna diseñada en la estratificación correspondiente con el fango. La ausencia de oxígeno se mostró, inicialmente, por la aparición de colores negros en el fondo de la botella. El metabolismo microbiano llevado a cabo en condiciones de anaerobiosis determinó la oxidación parcial de la materia orgánica presente en

el barro, liberándose con ello energía en forma de ATP y poder reductor. Este último, el $\text{NADH} + \text{H}^+$, es una molécula muy inestable que debe ser eliminada con prontitud por la bacteria. Para esto, el poder reductor puede sufrir dos vías: (1) acoplamiento a una cadena de transporte de electrones, actuando el ion sulfato presente en el medio el aceptor final de los mismos o (2), provocar una fosforilación a nivel de sustrato, caso de las fermentaciones, ya que ciertos grupos microbianos anaeróbicos estrictos pueden carecer de los mecanismos propios de una fosforilación oxidativa acoplada a una cadena electrónica (Brock y Madigan, 1993). En cualquiera de los casos, la molécula de sulfato pasará a sulfuro (sulfuro de hidrógeno) gracias al complejo enzimático sulfito reductasa citoplasmático (López, 2008; López y Boronat, 2018). Si en el medio hace presencia cualquier sal de hierro, se provocará la precipitación de sulfuro de hierro (responsable del color negro):



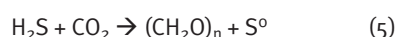
Este conjunto de reacciones bioquímicas llevadas a cabo en el fondo del fango, la llamada reducción disimilatoria de sulfato, son llevadas a cabo por integrantes del género *Desulfovibrio*, *Desulfomonas* o *Desulfotomaculum* (Brock y Madigan, 1993). Todos estos grupos se caracterizan por habitar ambientes acuáticos ricos en materia orgánica, tienen morfología bacilar o cocobacilar, son no endosporulados, gramnegativos y móviles (mediante flagelación polar o peritrica). Para Ruckmic *et al.* (1979), Al-Sawaf (1977) estos grupos microbianos, en especial la especie *Desulfovibrio desulfuricans*, pueden ser responsables de la génesis de este tipo de yacimientos de azufre, derivados de una reducción de sulfatos presentes en las grandes cuencas sedimentarias. Para estos investigadores, los yacimientos de este tipo producidos por una diagénesis tardía del sedimento requerirían: (1) la presencia de un flujo acuoso con capacidad de migrar por el sedimento y arrastrar materia orgánica, con el objetivo de potenciar el desarrollo de reacciones de reducción bacteriana de sedimentos, (2) el crecimiento de estos microorganismos con capacidad de reducción de aquellos niveles de alta concentración de sulfato, (3) la generación de sulfuro de hidrógeno, con capacidad de ser arrastrado hacia niveles superficiales por la masa de agua y (4) la oxidación del ácido sulfhídrico en el medio diagénético más superficial. Esta última reacción, llamada de Bunsen, en honor a su descubridor, requiere altas concentraciones de sulfuro de hidrógeno para combinarse con oxígeno atmosférico:



Si bien esta reacción ha sido discutida por Davis y Kirkland (1979) y por Jassin *et al.* (1999) para la génesis de algunos depósitos de azufre, esta situación puede modelizarse en la columna de Winogradsky

cuando la concentración de sulfuro de hidrógeno producida por las bacterias reductoras del sulfato es elevadísima, llegando a visualizarse en la zona más superficial de la masa acuosa el precipitado de azufre elemental (López, 2008). Esta disposición generaría depósitos en la cuenca sedimentaria de azufre estratiforme; si bien no corresponde con lo que en el campo se ha podido comprobar.

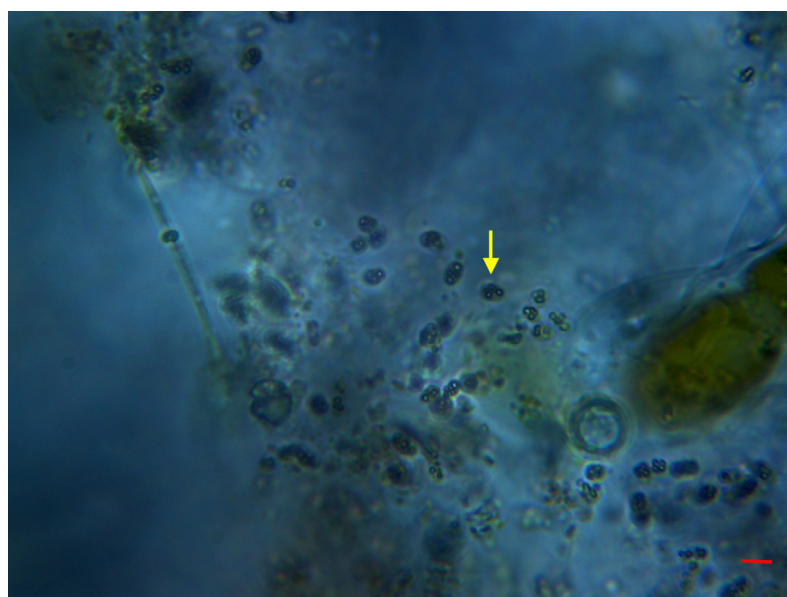
No obstante, el exceso de ácido sulfhídrico generado por la reducción de sulfato genera un gradiente decreciente desde el fondo de la columna hasta la superficie, dominando su presencia en el fango de la botella. Este exceso de gas es utilizado por otros grupos microbianos, las bacterias fotosintéticas rojas y verdes de azufre, que llevan a cabo la siguiente reacción:



Esta reacción bioquímica es el resultado final de la suma de dos reacciones parciales: (1) una primera, donde hay un traspaso de la energía luminosa a enlaces de alta energía (ATP) y poder reductor ($\text{NADPH} + \text{H}^+$) para, con posterioridad, (2) en una segunda, reducir el dióxido de carbono a nivel celular. La fuente de electrones, al contrario de la fotosíntesis oxigénica descrita anteriormente, no es el agua sino compuestos reducidos del azufre, el H_2S . La captación de luz, además, requiere de pigmentos fotosintéticos que, en estos grupos microbianos tan especiales no son las típicas clorofilas de plantas o algas. Dominan las bacterioclorofilas y los carotenoides de color púrpura, amarillo o café, según el grupo microbiano adscrito al proceso fotosintético (Brock y Madigan, 1993, pp. 610-612).

Estas masas pigmentadas de microorganismos (ver Fig. 4C) concuerdan con la disposición de las formas lenticulares del azufre encontrado en la explotación minera de estudio (Fig. 2). Las observaciones al microscopio óptico (Figs. 4C y 5) denotan la presencia de formas microbianas adscritas al género *Chromatium*. Por la dominancia de pigmentos rosados (okenona), posiblemente constituyan individuos de la especie *C. okenii*. En su interior se ob-

Fig. 5. Microscopía de campo claro de una población de bacterias fotosintéticas rojas del azufre (*Chromatium* sp.). Se denota la presencia de esferas refringentes de azufre en el interior del citoplasma de los microorganismos (flecha). Barra dimensional: 4 μm .



serva las esferas refringentes de azufre elemental, tal y como se desprende de la reacción (5), precipitándose en el interior celular. Otros grupos microbianos no hallados en esta columna de Winogradsky diseñada y trabajada en esta experiencia, depositan el azufre en el exterior celular, las llamadas bacterias verdes de azufre (Brock y Madigan, 1993: 607-611). La muerte microbiana y la diagénesis posteriormente sufrida por el sedimento serían responsables de la precipitación y depósito del azufre sedimentario en lentejones que podemos encontrar en las explotaciones mineras, caso de las Minas (Hellín).

Aportación didáctica a la historia geológica del lugar

Hace 20 millones de años, en un medio de transición poco profundo, favoreciendo con ello la iluminación de un sedimento anóxico, rico en materia orgánica y sulfatos (caso de las evaporitas), se producía en su fondo la reducción bacteriana del sulfato, vía fermentación o respiración anaeróbica de la materia orgánica, hasta sulfuro. La acumulación de este gas y el posterior ascenso por el sedimento hasta la interfase donde había presencia la luz, determinó la proliferación de micronichos o lentejones de bacterias rojas y verdes de azufre, fotosintéticas, que aprovecharían el sulfuro de hidrógeno como aceptor de electrones para la reducción del dióxido de carbono, hasta compuestos orgánicos. Del proceso se acumularía el azufre elemental en dos lugares de la célula: (1) internamente, como inclusión citoplasmática o (2), externamente. El depósito de nuevo fango sobre las comunidades fotosintéticas rojas y verdes de azufre y la posterior diagénesis del sedimento, serían los responsables de la muerte microbiana y oxidación de los pigmentos rosados que darían color a las bolsadas bacterianas, originando las estructuras de sedimentación de azufre elemental observadas en el área de estudio.

Cuando la producción de sulfuro de hidrógeno fuera lo suficientemente importante como para ascender a las capas más superficiales de la cuenca, podría combinarse con el oxígeno atmosférico desarrollándose la reacción química de Bunsen. De esta reacción química podría enriquecerse el sedimento con azufre de distribución tabular.

CONCLUSIÓN

Nuestra experiencia ha permitido modelizar y observar en tiempo real el desarrollo de comunidades microbianas responsables de la precipitación de azufre elemental, favoreciendo con ello un mayor entendimiento del estudio de la distribución de este mineral en los frentes sedimentarios de extracción mineros. Los agregados lenticulares de azufre que han podido observarse en el campo han sido atribuidos a remotos crecimientos masivos de bacterias rojas del azufre, donde el sulfuro de hidrógeno actuaría como donador electrónico en el proceso fotosintético llevado a cabo por las mismas. En la evolución de la cuenca sedimentaria no se descartan los argumentos de otros autores, donde la oxidación masiva del ácido sulfhídrico producido por la actividad bacteriana anaeróbica, generaría mineralizaciones estratificadas o rellenos en cavidades de litofacies primigenias.

AGRADECIMIENTOS

Los autores quieren expresar su más sincero agradecimiento a todos los alumnos, personal docente y PAS del IES Ricardo Ortega del municipio murciano de Fuente Álamo (curso 2017-2018), por el interés tomado ante una “botella” iluminada continuamente y alojada en el laboratorio del centro educativo. Su interés ha favorecido la redacción de este artículo y su difusión a través de esta revista de enseñanza de la geología.

BIBLIOGRAFÍA

- Al-Sawaf, F.D. (1977). Sulfate reduction and sulfur deposition in the lower Fars formation, Northern Iraq. *Economic Geology*, 72, 608-618.
- Atlas, R. y Bartha, R. (2002). *Ecología microbiana y microbiología ambiental*. Prentice Hall-Pearson Educación. 677 p. Madrid.
- Barceló, J., Nicolás, G., Sabater, B. y Sánchez, R. (1995). *Fisiología Vegetal*. Ediciones Pirámide. 662 p. Madrid.
- Brock, T.D. y Madigan, M.T. (1993). *Microbiología*. Prentice Hall. 956 p. México.
- Butlin, K.R. (1953). The bacterial sulphur cycle. *Research*, 6, 184.
- Calderón, S. (1910). *Los minerales de España. Tomo 1*. Junta de Ampliación de Estudios e Investigaciones Científicas. 416 p. Madrid.
- Calvo, M. (2003). *Minerales y minas de España. Volumen I. Elementos*. Museo de Ciencias Naturales de Álava. 217 p. Álava.
- Canfield, D.E. y Farquhar, J. (2012). *The global sulfur cycle. En: Fundamentals of geobiology*. (Eds: A.H. Knoll, D.E. Canfield y K.O. Konhauser). Wiley-Blackwell. 49-64 p. Reino Unido.
- Davis, J.B. y Kirkland, D.W. (1970). Native sulfur deposition in the Castile formation, Culberson county, Texas. *Economic Geology*, 65, 107-121.
- Davis, J.B. y Kirkland, D.W. (1979). Bioepigenetic sulfur deposits. *Economic Geology*, 74, 462-468.
- Dud'a, R. y Reyl, L. (2005). *Atlas ilustrado de los minerales*. Susaeta Ediciones. 277 p. Madrid.
- Duró, A. y Urmeneta, J. (2007). Manchas cromáticas o diversidad de microorganismos. *Investigación y Ciencia*, 366.
- Esteban, D.J., Hysa, B. y Bartow-McKenney, C. (2015). Temporal and spatial distribution of the microbial community of Winogradsky columns. *PLOS ONE*, 6, 1-21.
- Eveleigh, D. y Davis, D. (1996). Whimsical wrinkles with Winogradsky's wonder. *SGM Quarterly (UK)*, 23, 106-107.
- Gallego, I.C., García, A., Jerez, L., López, F., González, L., Arias, C., Vias, L., Gutiérrez, G., Granados, L., González, J. y Elizaga, E. (1984). *Mapa Geológico de España. E. 1:50.000. Hoja 868. Iiso*. IGME-Instituto Geominero de España. Madrid.
- Grau, R.R., Limansky, A.S., Díaz, J.C. y de Mendoza, D. (1991). The Winogradsky columns: a simple and inexpensive approach to teach environmental biochemistry. *Biochemical Education*, 19(3), 143-147.
- Hurlbut, C.S. y Klein, C. (1992). *Manual de mineralogía de Dana*. Editorial Reverté. 564 p. Barcelona.
- Jassin, S.Z., Raiswell, R. y Bottrell, S.H. (1999). Genesis of the middle Miocene stratabound sulphur deposits of northern Iraq. *Journal of the Geological Society*, 156, 25-39.

- Korbel, P. y Novák, M. (2004). *La enciclopedia de los minerales*. Editorial Libsa. 296 p. Madrid.
- López, J.P. (2008). La columna de Winogradsky. Un ejemplo de microbiología básica en un laboratorio de Educación Secundaria. *Revista Eureka sobre Enseñanza y Divulgación de las Ciencias*, 5(3), 373-376.
- López, J.P. y Boronat, R. (2018). *Prácticas de microbiología básica en el laboratorio de educación secundaria. Una experiencia de 12 años de trabajo*. Comunidad Autónoma de la Región de Murcia. Consejería de Educación, Juventud y Deportes. 184 p. Murcia.
- Margulis, L. y Schwartz, K.V. (1988). *Five kingdoms. An illustrated guide to the Phyla of life on Earth*. W.H. Freeman and Company. 376 p. New York.
- Margulis, L. (2001). *El origen de la célula*. Editorial Reverté. 140 p. Barcelona.
- Nelson, D.C. (1990). *Physiology and biochemistry of filamentous sulfur bacteria*. En: Autotrophic Bacteria (Eds: H.G. Schlegel y B. Bowien). Springer-Verlag. 219-238 p. Berlin.
- Pawłowski, S., Pawłowska, K. y Kubica, B. (1979). Geology and genesis of the Polish sulfur deposits. *Economic Geology*, 74, 475-483.
- Pfenning, N. y Widdel, F. (1982). The bacteria of the sulphur cycle. *Philosophical Transactions of The Royal Society B. Biological Sciences*, 298, 433-441.
- Ramos, A. (1975). *Apuntes de taxonomía bacteriana*. Universidad de Granada. 239 p. Granada.
- Rawn, J.D. (1989). *Bioquímica*. Editorial Interamericana-McGraw-Hill. 489-532 p. Madrid.
- Rogan, B., Lemke, M., Levandowsky, M. y Gorrel, T. (2005). Exploring the sulfur nutrient cycle using the Winogradsky column. *The American Biology Teacher*, 67(5), 279-287.
- Ruckmick, J.C., Wimberly, B.H. y Edwards, A.F. (1979). Classification and genesis of biogenic sulfur deposits. *Economic Geology*, 74, 469-474.
- Stanier, R., Ingrahan, J., Wheelis, M. y Painter, P. (1992). *Microbiología*. Editorial Reverté. 753 p. Barcelona.
- Tekin, E., Varol, B., Friedman, G.M. y Dogan, A.U. (1999). Elemental sulfur formation related to celestine reduction: an example of biomineralization of bacterial origin. *Carbonates and evaporites*, 14 (1), 32-40.
- Voet, D. y Voet, J.G. (1992). *Bioquímica*. Editorial Omega. 1315 p. Barcelona.
- Youssef, E. (1989). Geology and génesis of sulfur deposits at Ras Gemsa área, red Sea coast, Egypt. *Geology*, 17 (9), 797-801. ■

Este artículo fue recibido el día 31 de marzo y aceptado definitivamente para su publicación el 7 de junio de 2019.