

PRODUCCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE ACTIVIDAD CELULOLÍTICA EN CÉLULAS BACTERIANAS AISLADAS DEL VALLE DE CUATROCIÉNEGAS, COAHUILA

A. V. Charles-Rodríguez^{2*}, J. E. Mauricio-Benavides¹, N. Robles-Borda², Y. Garza-García¹

¹ Universidad Autónoma de Coahuila, Blvd. Venustiano Carranza y José Cárdenas Valdés S/N
² Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Calzada Antonio Narro 1923 Buenavista, Saltillo,
Coahuila, México, (844)4110337, avecharles@uaaan.mx

Palabras clave: *Bacillus* sp., Cuatrociénegas, celulasa

Introducción. El valle de Cuatrociénegas en el desierto Chihuahuense, es una red de manantiales, ríos, y pozas. Este ecosistema da sostén a más de 70 especies endémicas, abundancia de estromatolitos vivos y otras comunidades microbianas, representando un oasis en el desierto con alta biodiversidad (Souza, 2006). El genero *Bacillus* ha jugado un amplio rol en la industria de los alimentos ya que a partir de éste se han desarrollado un sin número de procesos tecnológicos. Existen alrededor de 48 especies identificadas en el manual de Bergey. (Priest, 1977). Las polisacaridasas son una fuente biocatalítica de muchos procesos industriales, útiles en la producción de papel, procesamiento de alimentos, tratamientos de limpieza o tratamiento de aguas residuales, en la industria textil, y en muchos procesos más. El objetivo de este trabajo fue la producción y cuantificación de la actividad celulasa a partir de microorganismos aislados del Valle de Cuatrociénegas, Coahuila.

Materiales y Métodos. El material biológico fue proporcionado por el Depto. de Biotecnología de la UAdeC; las células fueron aisladas de la Poza Azul del Valle de Cuatrociénegas, Coahuila e identificadas bioquímicamente como *Bacillus* sp (Mauricio-Benavides, 2007). Cinéticas de fermentación empleando como única fuente de carbono la carboximetilcelulosa (CMC) al 1% (Sigma, Aldrich) fueron monitoreadas cada 24 h. El crecimiento celular se monitoreó mediante turbidez y proteína celular (Lowry, 1978). El paquete celular se separó mediante centrifugación a 10,000 rpm por 20 min a 4°C, al sobrenadante o extracto celular se determinó proteína extracelular (Lowry, 1978). Para la determinación de actividad enzimática se colocaron 240 µl de sustrato al 1% disuelto en buffer AAANA 50mM pH 5.0 y se adicionaron 10 µl de extracto enzimático correspondiente a los diferentes tiempos de fermentación monitoreados por tiempos de 0, 5, 10, 15, 30, 45 y 60 min mediante la liberación de azúcares reductores (AR) (Somogyi-Nelson, 1952). Una unidad de actividad celulasa (U) se definió como la cantidad de AR liberados (mg/100mg CMC) al 1% a 40°C en 60 min por cada 10 µl de enzima.

Resultados y Discusión. En la Figura 1 podemos observar el crecimiento celular en medio específico de los *Bacillus* sp. El B4 presenta su máximo crecimiento a las 24 h ($\mu=0.005$ OD/h), B3 a las 72 h ($\mu=0.001$ OD/h) y B5 a las 48 h ($\mu=0.0005$ OD/h). La mayor actividad celulolítica en B3 se presentó en un tiempo de fermentación de 72 h fue de 106 U, en B4 fue en un tiempo de 24 h con 93 U y para B5 a las 48 con un máximo de 37 U.

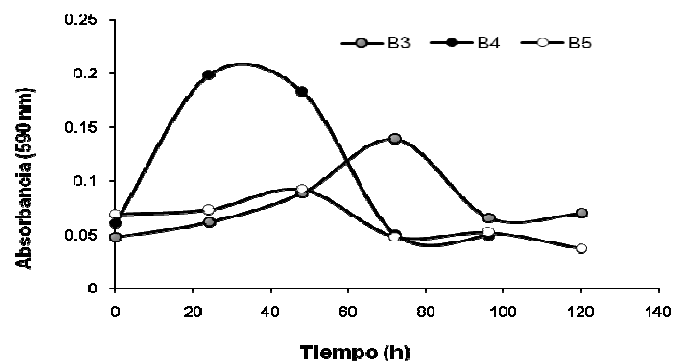


Figura 1. Crecimiento microbiano de células aisladas del valle de Cuatrociénegas, Coahuila.

Actividades celulolíticas de 8 UI/ml han sido reportadas empleando CMC como fuente de carbono a partir de *Trichoderma reesei* (Ramos, 1999).

Conclusión. Las células aisladas del valle de Cuatrociénegas representan una fuente alternativa para la producción de enzimas celulolíticas con alta actividad.

Agradecimientos: Al Departamento de Biotecnología de la UAdeC y al Departamento de Producción Animal de la UAAAN, por el apoyo económico para la realización de este proyecto.

Bibliografía. -Mauricio-Benavides, *et al.*,(2007). Prospectiva biotecnológica de microorganismos extremos aislados del valle de Cuatrociénegas y zonas aledañas. XII congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería 2007, Morelia Michoacán. -Priest, F.(1977). Extracellular enzyme synthesis in the generus *Bacillus*. *Bacteriol. Rev.* 41:711-53. -Ramos, C. (1999). Determinación de patrones electroforéticos de celulasas producidas en FS por *Trichoderma reesei*. *Biota*, XVII:99. -Souza, V. *et al.*,(2006). An endangered oasis of aquatic microbial biodiversity in the Chihuahuan desert. *PNAS* 103:6565-6570.