



## CRIBADO SIMULTÁNEO EN PLACA DE CEPAS FÚNGICAS PARA LA PRODUCCIÓN DE ENZIMAS CELULASAS, XILANASAS, QUITINASAS Y PROTEASAS

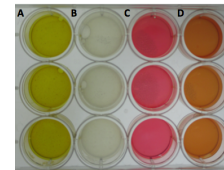
Neydeli Adriana Ayala-Mendivil, Lorena Amaya Delgado, Leticia Casas Godoy, Georgina Sandoval<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Unidad de Biotecnología Industrial, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, Guadalajara, Jalisco, 44270, México. gsandoval@ciatej.mx.

**Palabras clave:** Cribado, enzimas, hongos.

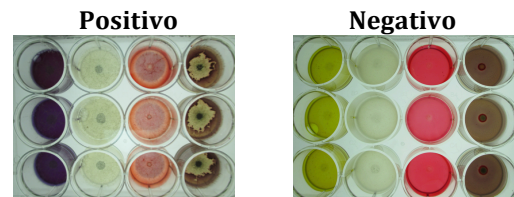
**Introducción.** Actualmente las enzimas hidrolíticas están ganando gran importancia en aplicaciones tecnológicas. Particularmente celulasas y xilanasas en la producción de hidrolizados de residuos agroindustriales para la producción de biocombustibles y algunas quitinasas utilizadas en el control de plagas por mencionar algunas [1]. Debido a esto es necesario crear fuentes sustentables de estas enzimas. Existen tecnologías de bajo costo para la producción de enzimas a partir de fermentaciones con hongos, aproximadamente 90% de las enzimas que se utilizan a nivel industrial se producen por fermentación en medio sólido y de estas la mayoría se utilizan hongos [2]. En la naturaleza hay una gran diversidad de especies de fúngicas productoras de enzimas que aún no han sido explotadas, por lo tanto, es de gran importancia contar con métodos rápidos y sencillos de cribado para la selección de estos hongos. El objetivo de este trabajo es desarrollar un método de cribado rápido en placa de hongos con posible actividad enzimática de interés.

**Metodología.** Se analizaron 25 cepas fúngicas aisladas de residuos agave. Se prepararon 4 medios de cultivo selectivos para la detección de actividad enzimática, los cuales contenían agar, sales minerales y como única fuente de carbono carboximetilcelulosa, xilana de abedul, quitina coloidal y proteína respectivamente. Al medio de quitina coloidal se le agregó purpura de bromocresol para poder observar la hidrólisis del sustrato con un cambio de color de amarillo a morado [3]. Los medios de cultivo de carboximetilcelulosa y xilana de abedul, fueron teñidos con rojo congo al finalizar el tiempo de incubación (Figura 1). El cribado se realizó en microplaca de 12 pozos en la cual se colocaron los 4 medios de cultivo selectivos por triplicado. Se inocularon los 12 pozos con  $1 \times 10^4$  esporas de cada hongo respectivamente, se inoculó también una caja de agar dextrosa de papa como control positivo y otra que se componía de agar únicamente como control negativo. Los cultivos se mantuvieron a 30°C durante 48 horas. Transcurrido este tiempo se tomó la medición del tamaño radial del micelio y del halo de hidrólisis para la comparación de las 25 cepas.



**Fig 1.** Medios de cultivo selectivo (A) Quitinasa, (B) Proteasa, (C) Celulasa y (D) Xilanasas.

**Resultados.** En la comparación de las 25 cepas fúngicas se logró diferenciar dos cepas con mayor actividad en los cuatro sustratos. En la Figura 2 se muestran de manera representativa la cepa 2 como positiva, la cual presentó las 4 actividades y la cepa 8 como negativa o con poca actividad. Las cepas positivas son candidatas potenciales a utilizar en un proceso de fermentación para la producción de enzimas o cocteles enzimáticos.



**Fig. 2.** Medios de cultivo selectivo para cribado de actividades enzimáticas Cepa 2 (Positiva) y Cepa 8 (Negativa) transcurridas 48 horas.

**Conclusiones.** Se logró obtener un método de cribado rápido y sencillo de 4 actividades enzimáticas hidrolíticas simultáneamente para cepas fúngicas, este método es una herramienta muy útil para evaluar rápidamente nuevos aislamientos fúngicos antes de pasar a la etapa de producción de enzimas.

**Agradecimiento.** Se agradece al proyecto CONACYT-CDTI 188920 y a la RED TEMÁTICA BIOCATEM por los apoyos brindado en la elaboración de este trabajo.

### Bibliografía.

1. Haki G.D., Rakshit S.K. (2003). "Developments in industrially important thermostable enzymes: a review", *Bioresource Technology*, Vol. 89, p. 17-34.
2. Holker U., Hofer M., Lenz J. (2004). "Biotechnological advantages of laboratory-scale solid-state fermentation with fungi", *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 64, p. 175-186.
3. Agrawal, T. Kotasthane S. A. (2012). "Chitinolytic assay of indigenous *Trichoderma* isolates collected from different geographical locations of Chhattisgarh in Central India", *Springer Plus*, Vol. 1, No. 73, p. 1-10.