



IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE GENES RELACIONADOS CON LA ACTIVIDAD CELULOLÍTICA DE BACTERIAS DEL GÉNERO *Bacillus* AISLADAS EN EL ESTADO DE SINALOA.

Jiménez-Leyva Manuel F., Beltrán-Arredondo Laura I., Castro-Martínez Claudia, Calderón-Vázquez Carlos L*. Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Sinaloa. Boulevard Juan de Dios Bátiz Paredes 250. Guasave, Sinaloa 81101, *ccalderon@ipn.mx.

Palabras clave: bioetanol, endoglucanasa, *Bacillus*,

Introducción. En la actualidad existe una creciente demanda por enzimas celulolíticas en aplicaciones biotecnológicas, entre las cuales la producción de bioetanol a partir de biomasa lignocelulósica es la más importante. Las enzimas celulolíticas hidrolizan los enlaces β -1,4 de la celulosa, y son tres las actividades necesarias para convertir celulosa a unidades de glucosa: endoglucanasa, exoglucanasa y β -glucosidasa (1). Se ha detectado actividad celulolítica en una gran diversidad de aislados de especies de *Bacillus* crecidos en diferentes fuentes de carbono como carboximetilcelulosa (CMC), avicel y bagazo de caña (2). En un trabajo previo se aislaron bacterias de rastrojo y rizósfera de maíz las cuales presentaron actividad celulolítica comparable con la de otros estudios. Por lo tanto, en este trabajo se pretende caracterizar a nivel molecular los genes implicados en la actividad celulolítica en *Bacillus* para brindar bases moleculares para futuras investigaciones enfocados en el mejoramiento en la producción de éstas enzimas.

Metodología. Se utilizaron 2 bacterias aisladas de rastrojo de maíz (RS351 y RS273) y una aislada de rizósfera de maíz (RZ164). Se identificaron taxonómicamente secuenciando un fragmento del gen 16S y comparando con las bases de datos del NCBI y RDP. Posteriormente se seleccionaron genes modelo de la cepa *B. subtilis* 168 relacionados con la actividad celulolítica (*eglS*, *bglC*, *bglA* y *bglH*) para diseñar oligonucleótidos para obtener la secuencia de dichos genes en los tres aislados de interés. Las secuencias obtenidas fueron comparadas con otras previamente reportadas correspondientes a proteínas con alta actividad y/o versatilidad bioquímica. Se determinó la actividad celulolítica de los aislados de interés bajo el efecto de dos fuentes de carbono (CMC y avicel) mediante las técnicas propuestas (3).

Resultados. Como se observa en la **Tabla 1** los 3 aislados de interés corresponden a la especie *Bacillus subtilis*. Además, las proteínas codificadas por el gen *eglS* fueron muy conservadas entre los aislados de interés y con otras del género *Bacillus* en algunos puntos del sitio activo y dominio de unión a celulosa (4). Para *bglA* se detectó que la secuencia de RS351 presenta una mayor longitud (2000 pb) a la encontrada en los otros aislados y en otras cepas de reportadas (1400 pb).

Tabla 1. Lista del mejor hit arrojado por las bases de datos del NCBI y RDP al comparar los fragmentos del gen 16S de los aislados RS273, RS351 y RZ164.

Aislado	NCBI			RDP		
	Organismo	Query cover	E value	% Ident	Organismo	S a_b Score
RS273	<i>Bacillus subtilis</i>	99	0.0	100	<i>Bacillus subtilis</i>	0.890
RS351	<i>Bacillus sp.</i>	100	0.0	99	<i>Bacillus subtilis</i>	1.000
RZ164	<i>Bacillus subtilis</i>	99	0.0	99	<i>Bacillus subtilis</i>	0.872

Como se muestra en la **Figura 1**, en CMC se detectó actividad a partir de las 24 hrs de incubación, siendo la más alta a partir de las 48 hrs. Es evidente la diferencia de actividad presentada entre CMC y avicel, resultando considerablemente más alta en CMC.

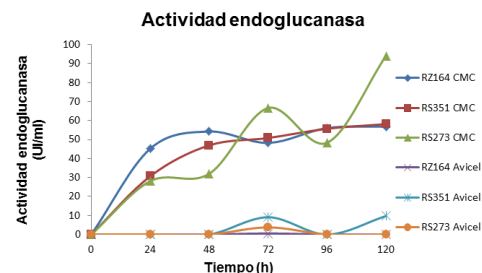


Fig. 1. Actividad endoglucanasa en CMC y avicel como fuentes de carbono de los aislados RS351, RS273 y RZ164 durante un periodo de incubación de 120 h.

Conclusiones. Los aislados de interés corresponden a *Bacillus subtilis*, una cepa de interés biotecnológico. La secuencia de endoglucanasas presentes se encuentra muy conservada mientras que para el gen *bglA* RS351 pudiere presentar una secuencia distinta a las reportadas en *Bacillus*. Además, los resultados sugieren que CMC es un sustrato más accesible catalíticamente y se relaciona con la especificidad de las endoglucanasas.

Agradecimiento. A la secretaría de Investigación y posgrado (SIP 20144369) por el financiamiento otorgado.

Bibliografía.

1. Sukumaran RK, Singhanian RR, Pandey A. (2005) *J Sci Ind Res*. Vol (64):832-44.
2. Bano S, Ul-Qaderb A, Amanb A, Syedc M, Durrania K. (2013). *Carbohydrate Polymers*. Vol (91): 300-304.
3. Ramírez P., Coña J. (2003). *Rev. Perú. Biol.* Vol (1): 67-77.
4. Nurachman Z, Kurniasih S, Puspitawati S, Hadi S, Radjasa, Natalia D. (2010). *AJBB*. Vol (4): 268-274