



ANÁLISIS RESPIROMÉTRICO Y MOLECULAR DE LA PRODUCCIÓN DE ENZIMAS HIDROLÍTICAS POR CULTIVO EN MEDIO SÓLIDO UTILIZANDO COMPOSTA COMO SOPORTE.

Martínez-Montiel Laura⁽¹⁾, Fernández-Perrino Francisco⁽¹⁾, Tovar-Gálvez Raúl⁽²⁾ y Saucedo-Castañeda Gerardo⁽¹⁾;
(1) Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Departamento de Biotecnología, México, D.F., CP 09340;
(2) Centro Interdisciplinario de Investigaciones y Estudios sobre Medio Ambiente y Desarrollo (CIIEMAD-IPN),
México, D.F. C.P. 07340 Correo electrónico: laurammontiel@gmail.com

Palabras clave: Cultivo en Medio Sólido, Producción enzimática, PCR-DGGE.

Introducción. La generación de residuos sólidos orgánicos (RSO) en la Ciudad de México se estima diariamente en 12,500 toneladas, de las cuales solamente 2,500 reciben tratamiento en la Planta de Compostaje del Bordo Poniente (PCBP) (1). El compostaje es la mineralización aeróbica de RSO en donde una amplia variedad de microorganismos transforman la materia orgánica en CO₂, H₂O y composta (2). Por otra parte, la técnica PCR-DGGE es ampliamente usada como herramienta para obtener la huella molecular y comparar la estructura de comunidades microbianas evaluando cambios temporales en esas comunidades o caracterizando el impacto del ambiente en la estructura de la comunidad (3). El objetivo de este trabajo es analizar molecularmente y por respirometría, las comunidades microbianas presentes durante la producción de enzimas hidrolíticas extracelulares utilizando composta como soporte y fuente de microorganismos.

Metodología. Se midió la tasa de producción de CO₂ de composta madura de la PCBP adicionada de inductores enzimáticos: almidón, xilano, ácido poligalacturónico, carboximetilcelulosa y una mezcla de los 4 inductores (20 mg/gMS). Se tomaron muestras en 4 momentos del proceso. Las actividades celulasa, xilanasa, pectinasa y amilasa se determinaron por el método de azúcares reductores; se analizaron pH, humedad (%) y relación C/N. El ADN de las muestras se extrajo con el Kit PowerSoil® DNA isolation de MoBio Laboratories. Se amplificó el gen 16S rDNA con los iniciadores 8F-1492R para después amplificar la región hipervariable V8 con los iniciadores 1070F-1392R. Se utilizó la técnica DGGE con un gradiente desnaturante del 45-70% de urea.

Resultados. En la figura 1 se observa la tasa de producción de CO₂ durante 65 h. La adición de inductores y el ajuste de humedad al 50% estimularon la producción de CO₂ hasta alcanzar un máximo de 1.9 mg CO₂/gMSI*h en la composta adicionada con la mezcla de inductores. Para este mismo tratamiento, las actividades máximas para celulasa, xilanasa, pectinasa y amilasa fueron de 2.28, 5.14, 2.96 y 2.75 U/gMSI, respectivamente.

En la figura 2, se observan los amplificados del gen 16S rDNA utilizando el par 8F-1492R de diferentes muestras de composta que se han obtenido durante este estudio.

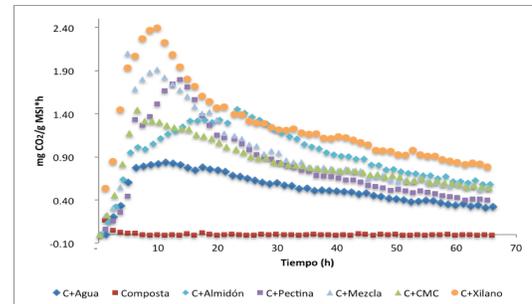


Fig. 1. Tasa de producción de CO₂ de composta madura adicionada con diferentes inductores para la producción de enzimas

Los productos amplificados, estuvieron entre 1000 y 1500pb lo cual coincide con el tamaño esperado resultante de la amplificación con los iniciadores seleccionados.

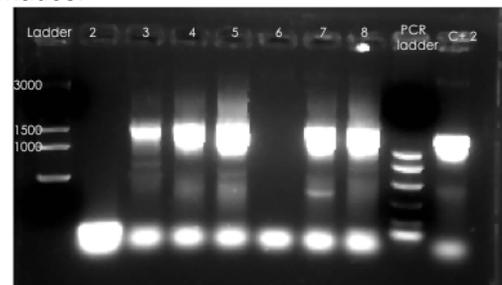


Fig. 1. Electroforesis en gel de la PCR con los iniciadores 1492R y 8F. Carril 1 y 9: Marcadores de peso molecular, 2: Control negativo, 3 y 10: Control positivo, 4: Mezcla de RSO y composta, 5: RSO, 6: Composta Junio 2014, 7: RSO y composta, 8: Composta Julio 2014.

Conclusiones. Los niveles de CO₂ producidos están en los intervalos establecidos por la norma vigente en el DF (NADF-020-AMBT-2011). La respirometría es una medida indirecta de la estimulación de la síntesis de enzimas hidrolíticas extracelulares. El par de iniciadores 1492R-8F resulta adecuado para la amplificación del gen 16S rDNA en nuestras muestras.

Agradecimiento. Agradecemos al CONACyT por la beca de Doctorado otorgada a LMM.

Bibliografía.

- Compendio de estadísticas ambientales. Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales, 2011. www.semarnat.gob.mx
- Martínez-Valdéz F, Martínez-Ramírez C, Martínez-Montiel L, Favela-Torres E, Soto-Cruz N, Ramírez-Vives F, Saucedo-Castañeda G. (2015). *Bioresource Technology*. 180(2015): 112–118.
- Neilson J, Jordan F, Maiera R. *J Microbiol Methods*. 92(3): 256–263.