

SELECCIÓN DE CEPAS DE HONGOS FILAMENTOSOS PARA LA PRODUCCIÓN DE BETA-GLUCOSIDASA.

Oscar García-Kirchner, Marcela Segura Granados, Rosa Lilia Esteban Martínez..

Departamento de Bioprocesos. Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología del IPN. (UPIBI/IPN).

Av. Acueducto S/N. Col. La Laguna. Ticomán, Zacatenco. México, D.F. C.P. 07340. ogarcia@acei.upibi.ipn.mx

Palabras clave: *celulosa, beta-glucosidasa, p-NPG.*

Introducción La utilización de la celulosa representa un área importante para el aprovechamiento de subproductos agrícolas desde el punto de vista del desarrollo de biotecnologías alternativas, porque a pesar de la gran variedad de microorganismos que pueden utilizar la celulosa como fuente de carbono, sólo unos pocos producen las enzimas con suficiente actividad celulolítica para degradar completamente la celulosa cristalina (1). Esto se debe en parte a que las celulasas son un sistema multienzimático que comprende cuando menos 3 tipos de actividades: las endoglucanasas, las exoglucanasas y las beta-glucosidasas que se encuentran presentes en diferentes cantidades dependiendo del microorganismo del cual provengan (2). La beta-glucosidasa (β -D-glucosil glucohidrolasa, E.C. 3.2.1.21) para los microorganismos celulolíticos juega un papel muy importante en la hidrólisis de la celobiosa y celodextrinas hasta glucosa ya que por lo general las beta-glucanasas se encuentran sujetas a inhibición por producto final por celobiosa producto intermediario de la hidrólisis de la celulosa. Por lo mismo los niveles presentes de beta-glucosidasa en la preparación enzimática utilizada son importantes para lograr una adecuada y completa hidrólisis de esos materiales hasta glucosa.

Por lo general no todos los microorganismos celulolíticos poseen los mismos niveles de esta enzima por lo cual sus celulasas no resultan eficientes en la sacarificación de la celulosa. De hecho, la velocidad y extensión de la hidrólisis enzimática de la celulosa puede ser incrementada mediante la suplementación de las preparaciones de celulasas con beta-glucosidasa de diferentes orígenes. Por lo mismo, recientemente se ha puesto mucha atención en esta enzima y se han iniciado de nuevo la búsqueda de nuevas alternativas para su producción por microorganismos, ya sea aislando productores de diversas fuentes o seleccionando y mejorando genéticamente a los ya reportados como buenos productores. Entre estos se encuentran por lo general los hongos filamentosos y sobresalen los del género *Aspergillus* (3).

Por lo mismo considerando los usos potenciales de esta enzima es recomendable evaluar la actividad de beta-glucosidasa a partir de diferentes cepas microbianas

Con el fin de contar con preparaciones enzimáticas de celulasas mas completas y que resulten eficientes para realizar la completa sacarificación de diferentes materiales lignocelulósicos el objetivo de este trabajo consistió en evaluar la capacidad de producción de actividad de beta-glucosidasa de varias colonias provenientes de cepas de hongos filamentosos obtenidas de diferentes colecciones microbianas .

Metodología. La selección de cepas de hongos filamentosos con actividad celulolítica se realizó en un medio de cultivo sólido con diferentes sustratos como única fuente de carbono

tal y como se indica n la Tabla 1 y la evaluación final de las colonias pre-seleccionadas fue utilizando el p-nitro-fenil-beta-D-glucósido, los otros ingredientes del medio fueron: KH_2PO_4 , K_2HPO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, CaCl_2 , y agar a un pH de 5.0. Las placas petri furon incubadas a 30°C durante 4 días.

Resultados y Discusión. En la tabla 1 se indican los resultados obtenidos con respecto a la selección primaria de las diferentes cepas de hongos filamentosos evaluadas con respecto a la producción de actividad de beta-glucosidasa. Estas cepas fueron previamente elegidas con base a los diferentes perfiles de actividad celulolítica (4).

Tabla 1. Efecto de varias fuentes de carbono sobre la producción de actividad de beta-glucosidasa.

CEPA DE HONGO FILAMENTOSO	FUENTE DE CARBONO			
	FP	SALICINA	CELOBIOSA	p-NPG
<i>Aspergillus niger</i> . F01208	+	+	+	***
<i>Aspergillus niger</i> . F01206	+	+	+	***
<i>Aspergillus niger</i> . F01202	+	+	+	**
<i>Aspergillus oryzae</i> . F01203	+	+	+	*
<i>Aspergillus terreus</i> . F01200	+	+	+	**

+ indica crecimiento miceliar sobre el sustrato.

* indica crecimiento miceliar y la intensidad de color amarillo en la zona circundante a la colonia.

Conclusiones. Fué posible seleccionar tres diferentes cepas de *Aspergillus niger*, una de *Aspergillus oryzae* y una de *Aspergillus terreus* como buenas productoras de actividad de beta-glucosidasa las cuales serán evaluadas por fermentación líquida para determinar los niveles de producción de esta actividad enzimática.

Agradecimientos. A la CGPI/IPN por el financiamiento del proyecto clave 200903.

Bibliografía. 1).- Ryu, D. D. and Mandels, M. (1980). Enzyme Microb. Technol. 2 , pp. 91-101.

2).- Kofod, Dalboege (1995) Patent 5723328. Appl. No. 446-660. Mayo 26.

3).-Kang, S.W., Ko, E.H., Lee, J.S. & Kim, S.W. (1999). Biotechnology Letters 21: 647-650.

4).-García-Kirchner, O., Segura-G, M., Esteban-M., R.L., Muñoz-A. M. (2002). Abstracts of 24th Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals, Gatlinburg, Tennessee, USA.