

# AISLAMIENTO DE MICROORGANISMOS FUNGICOS PRODUCTORES DE CELULASAS

Lilianha Malfavón Domínguez, Baltazar Gutiérrez Rodríguez, Anna Ilyiná

Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila

Blvd. V. Carranza e Ing. J. Cárdenas Valdés, Col. República, C.P. 25280, Saltillo, Coahuila

Tel: 01-844-4155752 Ext.22, Fax: 01-844-4159534, Correo electrónico: [ailina@mail.uadec.mx](mailto:ailina@mail.uadec.mx); [batazar31@yahoo.com](mailto:batazar31@yahoo.com)

*Palabras clave: celulasas, hongos, aislamiento*

**Introducción.** Las celulasas son las enzimas que poseen capacidad de hidrolizar la celulosa como sustrato. Las perspectivas de aplicación de estas enzimas son muy amplias ya que el producto de hidrólisis es la glucosa que puede ser utilizada en diferentes procesos de fermentación o como alimento, además de que estas enzimas pueden tener un papel importante en la resolución de los problemas ecológicos y problemas de tratamiento de los materiales celulolíticos (papel, textil, etc.). Es decir, existe un gran interés por utilizar los desechos de celulosa como sustancias nutrientes en procesos de fermentación, lo que permitiría convertir materias primas de costo muy reducido en productos de gran valor.

Actualmente la mayor parte de las celulasas industriales se obtienen por fermentación sumergida del hongo *Trichoderma reesei*. La búsqueda de microorganismos productores de las enzimas celulolíticas es de gran importancia para desarrollo de nuevas tecnologías que implican el uso de celulosa como materia prima a tratar (1).

En el presente trabajo se propuso aislar microorganismos fúngicos probables productores de celulasas, comprobar la producción de las enzimas de interés, evaluando la capacidad de éstos para crecer en los medios de cultivo que en calidad de fuente de carbono contienen la carboximetilcelulosa (CMC) o papel filtro y describir sus características microscópicas y macroscópicas.

**Metodología.** El aislamiento de los microorganismos de interés se realizó a partir de las muestras que contenían las esporas de los microorganismos fúngicos y mostraban las señales de degradación de celulosa. Aislamiento primario se realizó en el agar Sabouraud aplicando la técnica de diluciones seriadas. La descripción de la morfología macroscópica de las colonias se efectuó después de 96 h de incubación. Después de resiembra de los hongos que mostraron la morfología diferente se realizó la técnica de microcultivo y caracterización microscópica de los microorganismos. La capacidad de producir la celulasas se evaluó mediante las técnicas microbiológicas utilizando agar-CMC y papel filtro como fuentes de carbono. En las pruebas con agar – CMC la producción de celulasas se verificó mediante la observación de la presencia de las áreas no teñidas lo que indica que el CMC se ha hidrolizado (1).

**Resultados y discusión.** Inicialmente se logró aislar 9 cepas que mostraban las diferencias en la morfología de las

colonias de color crema, blanco, naranja, amarillo limón, amarillo con el borde de color azulado y colonias de coloración azulada. La técnica de microcultivo permitió revelar que dos de estas cepas se presentan las características microscópicas similares. Las resiembras de los microorganismos en agar Sabouraud confirmaron la semejanza en las propiedades de macrocultivo. Con respecto a otras 3 cepas que mostraban las características de microcultivo muy similares para dos de éstas no se confirmó la semejanza ya que morfología de colonias y comportamiento de crecimiento en agar selectivo y agar-CMC no eran similares. De esta manera, se logró el aislamiento de 7 diferentes cepas de los microorganismos fúngicos.

Finalmente se realizó la selección de las 6 cepas con actividad celulolítica mediante el ensayo en placa con agar-CMC, en el cual se observó después de teñir con rojo congo que todas las cepas presentaron zonas claras, debido a la hidrólisis de la fuente de carbono.

Para confirmar la producción de celulasas se realizó un segundo ensayo resembrando las cepas en el papel filtro utilizado en calidad del medio sólido colocándolo en las cajas petri y manteniendo la humedad con el medio mineral. Para evitar la presencia de los compuestos de bajo peso molecular el papel filtro fue previamente lavado con el medio mineral y esterilizado. El crecimiento de 6 cepas (de las 7 seleccionadas) se observó solo después de 10-14 días de incubación. La morfología de los cultivos en el papel filtro fue distinta a la observada en agar Sabouraud. Los resultados obtenidos demuestran que las cepas aisladas poseen la capacidad para aprovechar los compuestos celulolíticos en calidad de fuente de carbono lo que indica la producción de las enzimas de interés.

**Conclusiones.** Se obtuvo la colección de 6 microorganismos fúngicos, el crecimiento de los cuales en los medios que en calidad de única fuente de carbono contenían los sustratos celulolíticos demostró la producción de las enzimas celulolíticas. Se requiere un estudio más profundo en tanto a la caracterización de las propiedades de las enzimas y definición de las condiciones adecuadas para su producción.

## **Bibliografía.**

I. Sinicin A.P., Chernoglasov V.M., Gisakov A.B. (1993). *Métodos de estudio y propiedades de las enzimas celulolíticas*. Moscú, 150 p. (Ruso)