



# XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



## AISLAMIENTO, CARACTERIZACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE CEPAS BACTERIANAS DEGRADADORAS DE HEMICELULOSA.

Tania Breshkovskaya Ortiz-Escobar, Víctor Olalde-Portugal, Octavio Paredes-López

Departamento de Biotecnología y Bioquímica, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Apdo. Postal 629, 36821 Irapuato, Gto. México, e-mail: oparedes@ira.cinvestav.mx

*Palabras clave: lignocelulósicos, hemicelulosa, xilanasas.*

**Introducción.** Los residuos lignocelulósicos son el recurso renovable más grande que existe y están compuestos de hemicelulosa, celulosa y lignina (1). El xilano es el componente principal de la hemicelulosa, formado por un esqueleto de D-xilosa y es hidrolizado por una gran variedad de enzimas (2). Adicionalmente, los microorganismos productores de estas enzimas tienen una importante aplicación en biotecnología (3).

El objetivo de esta investigación fue aislar, caracterizar e identificar cepas bacterianas degradadoras de hemicelulosa.

**Metodología.** Se aislaron cepas bacterianas a partir de paja de sorgo y estiércol bovino. Los aislados se analizaron mediante morfología colonial y microscópica. Para hacer una preselección de las cepas degradadoras de hemicelulosa se hicieron pruebas cualitativas mediante tinción con Rojo Congo en medio de cultivo con xilano como única fuente de carbono, en esta técnica se tiñen los enlaces  $\beta$ -(1,4) glucosídicos, indicando la producción de enzimas hidrolíticas (4). Se seleccionaron las cepas que presentaron halos de hidrólisis y se hizo la determinación específica de la actividad enzimática de la endo-1,4- $\beta$ -xilanasas mediante SDS-PAGE y zimogramas (5). Además se hizo la identificación genética de las cepas degradadoras de hemicelulosa mediante el método del 16S rDNA.

**Resultados.** Las cepas aisladas presentaron formas bacilares, color beige, bordes irregulares, superficie rugosa o lisa y aspecto húmedo y fueron identificadas como Gram positivas. De acuerdo a los ensayos con Rojo Congo, 10 cepas mostraron halos de hidrólisis con un diámetro entre 2.5 y 3.9 cm y las colonias bacterianas mostraron diámetros de 1.4 a 4 mm (Fig. 1), esto indica que las cepas tienen actividad hemicelulolítica. Con los resultados obtenidos de los zimogramas se comprobó la actividad enzimática de la endo-1,4- $\beta$ -xilanasas en algunas cepas, las bandas presentes están entre 20 y 70 KDa, las cepas L7 y 21 mostraron diferentes bandas de expresión lo que sugiere la posible existencia de diferentes familias de xilanasas (Fig. 2). Mediante secuenciación se identificaron algunas cepas bacterianas degradadoras de hemicelulosa (Tabla 1) pertenecientes al género *Bacillus*.

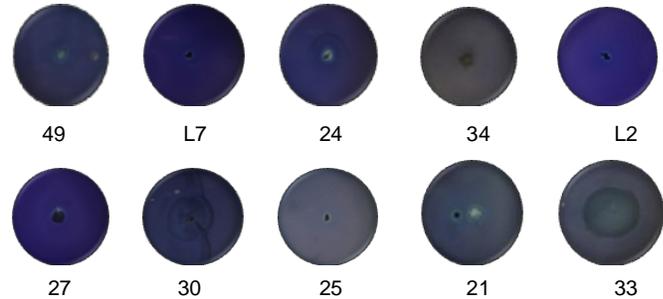


Figura 1. Cepas bacterianas formadoras de halos de hidrólisis.

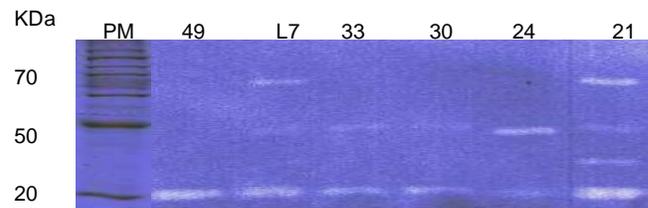


Figura 2. SDS-PAGE de la endo-1,4- $\beta$ -xilanasas de cepas bacterianas.

Tabla 1. Identificación de cepas degradadoras de hemicelulosa

Identificación	Procedencia	Sustrato
L2- <i>Paenibacillus</i> sp.	Paja	xilano
L3- <i>Bacillus cereus</i>	Paja	xilano
33- <i>Bacillus subtilis</i>	Paja	xilano
30- <i>Bacillus amylicuefaciens</i>	Paja	xilano

**Conclusiones.** Se aislaron cepas bacterianas con potencial para degradar hemicelulosa y actividad xilanolítica procedentes de paja de sorgo. Es necesario realizar pruebas cuantitativas para determinar la actividad enzimática y su comportamiento a diferentes condiciones de temperatura y pH.

**Agradecimientos.** Se agradece el apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT-México).

### Bibliografía.

- Mirande, C., Mososni, P., Bera-Moillet, C. y Bernalier-Donadille, E.F. (2010). *Appl Microbiol Biotechnol.* 87: 2097-2105.
- Yin, L.J., Lin, H.H., Chiang, Y.I. y Jiang S.T. (2010). *J Agric Food Chem.* 58: 557-562.
- Knob, A., Terrasan, C.R.F. y Carmona, E.C. (2010). *World J Microbiol Biotechnol.* 26:389-407.
- Teather, R.M. y Wood, P. (1982). *Appl Environ Microbiol.* 43: 777-780.
- Sunna, A., Antranikian, G. (1996). *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 45,671.