



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



AISLAMIENTO, CARACTERIZACIÓN E IDENTIFICACION DE CEPAS BACTERIANAS PRODUCTORAS DE AMILASAS Y CELULASAS DE SUELOS DE ALTO RENDIMIENTO DE LA CUENCA DEL PAPALOAPAN

Juan José Montor Antonio¹, Pablo Vinuesa², Bernardo Sachman Ruiz², Clarita Olvera Carranza³, Sandra Trinidad del Moral Ventura¹, Universidad del Papaloapan, Instituto de Biotecnología, Circuito Central #200, Col. Parque Industrial, Tuxtpec, Oax., México C.P. 68301, ²Centro de Ciencias Genómicas, UNAM. Av. Universidad 2001, Col. Chamilpa, Cuernavaca, Mor. ³Instituto de Biotecnología, UNAM, Av. Universidad 2001, Col. Chamilpa, Cuernavaca, Mor. smoral@unpa.edu.mx

Palabras clave: *bacterias, amilasas, celulasas.*

Introducción. Los procesos catalizados por enzimas en la industria presentan una serie de ventajas frente a los catalizadores convencionales no biológicos [1]. Dentro de las enzimas más explotadas se encuentran las celulasas y amilasas; estas actualmente representan cerca del 20 y 25% del mercado mundial de las enzimas, respectivamente [2,3] y son producidas por una gran variedad de bacterias. La industria está demandando continuamente procesos más limpios y económicos, por lo que surge la necesidad de cubrir esta necesidad. Los suelos poseen una inmensa diversidad microbiana, por lo que resulta atractivo escrutar los suelos de la Cuenca del Papaloapan en búsqueda de enzimas novedosas con mejores actividades.

El objetivo de este trabajo es aislar y caracterizar nuevas cepas bacterianas productoras de celulasas y amilasas con potencial aplicación industrial. En este trabajo se aislaron, caracterizaron bioquímicamente y clasificaron diversas cepas bacterianas con actividad celulasa y amilasa a partir de suelos cultivados con caña de azúcar de la Cuenca del Papaloapan, encontrándose siete especies no reportadas previamente. Es posible que una de las cepas aisladas represente un nuevo género.

Metodología. Se colectaron muestras de suelo de plantíos de caña, plátano y piña ubicados en la Cuenca del Papaloapan, a profundidades de 0-15 y 15-30cm. La tierra se disolvió a una concentración de 1g/L, posteriormente se hicieron diluciones seriales (10^{-1} hasta 10^{-6}) e inoculando 100µl de cada dilución en medio sólido nutritivo, se incubaron a 30°C por 48h. Las cepas de bacterias mejor definidas se sembraron en cajas de petri con medio enriquecido con almidón o CMC 1% dependiendo de la actividad que se quisiera buscar. Se incubaron a 37°C por 48h. El revelado de la actividad celulasa y amilasa se realizó *in situ* siguiendo lo reportado por Kim S.J. et.al (2008) y con lugol respectivamente. Las cepas positivas mostraron un halo transparente alrededor. Se utilizaron pruebas API20A Biomerieux para su caracterización bioquímica. Se aisló y purificó el ADN genómico utilizando el Kit MOBIO

UltraClean™ Microbial DNA Isolation y se amplificó el gen 16S ADN ribosomal con los cebadores rD1 y fD1 para su clasificación taxonómica.

Resultados. Los suelos de plantíos de caña fueron de donde se obtuvo la mayor cantidad de cepas productoras de amilasas y celulasas. Se caracterizaron bioquímicamente y se clasificaron parcialmente con las pruebas API20A para bacterias Gram positivas y API20E para bacterias Gram negativas. Entre las bacterias aisladas, se identificaron cepas principalmente del género *Bacillus*, *Arthrobacter* y *Pseudomonas*. De acuerdo a análisis filogenéticos por medio del gen 16S DNA, las cepas NM25, NM21, NM33, NM27, NM19 y NM35 del género *Bacillus* no son próximas a ninguna especie antes reportada. Además la cepa NM17 podría representar a un género nuevo. Actualmente se están realizando más experimentos para confirmar estos datos. Se detectó actividad *in situ*, y se seleccionaron las dos cepas con mayor actividad amilasa *Bacillus amyloliquefaciens* JJ31 y *Bacillus spp.* NM21 y celulasa *Bacillus spp.* NM25 y *Bacillus spp.* NM33. Actualmente se está realizando una optimización de medio de cultivo para la producción de dichas enzimas.

Conclusiones. Se aislaron 21 cepas de suelos cultivados de la Cuenca del Papaloapan. Se identificaron por medios moleculares y bioquímicos. Es posible que se hayan aislado nuevas especies del género *Bacillus* que no han sido reportadas previamente. Posteriormente se caracterizarán bioquímicamente las amilasas de *Bacillus amyloliquefaciens* JJ31 y *Bacillus spp.* NM21 y las celulasas de *Bacillus spp.* NM25 y *Bacillus spp.* NM33.

Agradecimientos. Este trabajo fue financiado con el apoyo otorgado por PROMEP 103.5/09/4225.

Bibliografía.

1. Arroyo, M. (1998). Inmovilización de enzimas. *Fundamentos, métodos y aplicaciones de la inmovilización enzimática.* ArsPharmaceutica. España. Pag 318-323.
2. Ponce, N. T. y Pérez, A. O. (2002). *Celulasas y Xilanasas en la Industria Avance y Perspectiva.* México. Pág 273-277.
3. Asgher, M., Javaid, A. M., Rahman, S.U., Legge, R.L. (2006) .*JFE.*