



## ACTIVIDAD HIDROLITICA DE BACTERIAS RUMINALES PRODUCTORAS DE CELULOSOMAS

Angeles Sánchez-Contreras, Xermon Ucan H., Laura Ramírez C., Zahaed Evangelista M, e Ingrid Rodríguez-Buenfil, Calle 30 No. 151 por 7 y 7ª, Interior CANACINTRA, Col García Ginerés, Merida Yucatan, México. CP.97070, fax/tel (999)92026271, msanchez@ciatej.net.mx.

*Palabras clave: Celulosomas, Bacterias ruminales, Actividad Hidrolítica*

**Introducción.** Algunas bacterias ruminales son capaces de degradar celulosa, mediante la formación de un sistema complejo de enzimas extracelulares conocido como celulosomas que están adheridas a su membrana plasmática. Estos complejos multienzimáticos agregativos de celulasas, xilanasas y pectinasas, actúan en forma conjunta para catalizar la hidrólisis de residuos celulosicos eficientemente. Sin embargo, el manejo de estos microorganismos resulta complicado debido a su patogenicidad.(1)

El objetivo de este trabajo es determinar la capacidad hidrolítica de lisados membranales liofilizados de dos bacterias aisladas de líquido rumial, capaces de formar celulosomas.

**Metodología.** Dos bacterias previamente aisladas de líquido ruminal se crecieron en medio mínimo líquido con celulosa como única fuente de carbono(2). A fin de visualizar la presencia de celulosomas, se observaron por microscopia electrónica de barrido. Los lisados membranales, se prepararon rompiendo mecánicamente las bacterias por agitación con perlas de vidrio y una solución con twen 80. Se determinó la capacidad hidrolítica de los lisados membranales en soluciones de concentración conocida de celulosa y pectina. La actividad celulolítica se determino, midiendo las concentraciones de azúcares liberados mediante el método de Miller y la actividad de pectinesterasa, en función de la liberación de los grupos carboxilos por titulación potenciométrica con álcali. Para la identificación de las bacterias se realizaron pruebas bioquímicas de rutina y se espera realizar su caracterización molecular mediante el análisis de la secuencia del ADN ribosomal 16S.

**Resultados.** Las dos bacterias formaron agregados multienzimáticos, creciendo en medio mínimo con celulosa como única fuente de carbono en la Fig. 1 se observa la micrografía electrónica de barrido de una de las bacterias aisladas con formación de complejos enzimáticos tipo celulosoma. En la tabla 1 se muestra la actividad celulolítica y pectinolítica de las bacterias medido en unidades específicas, definidas como  $U_{\text{celulasa}} = \Delta \text{ glucosa} / \text{min mg de lisado bacterino}$  y  $U_{\text{pectinesterasa}} = \Delta \text{ acidez} / \text{min mg de lisado bacterino}$

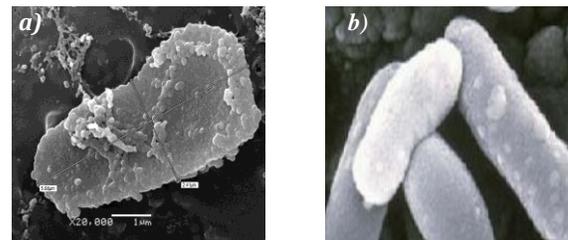


Fig. 1. Micrografía electrónica de barrido de bacterias ruminales formadora de celulosomas a) B-19B b) B-20B .

Tabla 1. Actividades hidrolíticas de los lisados membranales de bacterias ruminales.

Aislado	Fresco		Liofilizado	
	$U_{\text{celulasa}}$	$U_{\text{pectinasa}}$	$U_{\text{celulasa}}$	$U_{\text{pectinasa}}$
B-19B	1.2	0.53	0.9	0.31
B-20B	1.6	1.8	1.1	1.26

**Conclusiones.** Las bacterias ruminales presentaron la formación de celulosomas. Los lisados membranales liofilizados mantuvieron la actividad hidrolítica entre un 75 y 60% comparando con la actividad de lisados frescos. La cepa B-20B fue la que tuvo las más altas actividades enzimáticas y su identificación preliminar indica pertenecer al género *Clostridium* sp.

**Agradecimiento.** Al FOMIX-Yucatan por el apoyo económico al proyecto 109121.

**Bibliografía.** 1. Shoham Y., Lamed R. and Bayer E. A. The cellulosome concept as an efficient microbial strategy for the degradation of insoluble polysaccharides. Trends in microbiology . 1999; 7 (7):275-280.

2. Sánchez A. Ramírez L. Evangelista Z, Rodríguez I. Aislamiento de bacterias ruminales para la bioconversión de residuos cítricos en bioetanol. Memorias del II Congreso de la Sociedad Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal. Cancun, México 5-9 Dic, 2010; 225-31.