

## SELECCIÓN DE UNA CEPA CRISTALÍFERA DE *BACILLUS THURINGIENSIS* DEGRADADORA DE DESECHOS AVÍCOLAS RICOS EN QUERATINA.

Germán Pérez G., Ramón Cruz C. y Luz Irene Rojas A. Carpio y Plan de Ayala, Col. Santo Tomás, Delegación Miguel Hidalgo, México, D.F. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN, C.P. 11340, Fax 01(5)7296207, perez\_garcia\_german@hotmail.com.

Palabras clave: plumas, queratinasa, *B. thuringiensis*.

**Introducción.** La queratina es una proteína insoluble con gran cantidad de residuos de cistina, y es el mayor constituyente de las estructuras epidérmicas de los vertebrados, tales como piel, uñas, pezuñas, plumas, cabello y lana. La producción de carne de aves, genera millones de toneladas de plumas anualmente en el mundo, y éstas contienen 90 % de queratina, por lo que este desecho avícola representa un sustrato potencial para la obtención de compuestos de utilidad práctica. Recientemente en nuestro laboratorio se han hecho investigaciones acerca del aprovechamiento de estos desechos avícolas, utilizando a *B. thuringiensis* para la producción de cristales insecticidas y queratinasas. Al respecto se desarrolló un método para teñir lana, con la cual evaluar la actividad queratinolítica. Este sustrato también es útil para seleccionar microorganismos queratinolíticos. Además, se realizó un estudio comparativo de la producción de queratinasa de 80 cepas de *B. thuringiensis* productoras de cristales con potencial insecticida, sembrándolas en un medio con plumas (1).

El presente trabajo es una continuación de esta línea de investigación.

**Metodología.** El presente estudio se inició con las siguientes 8 cepas cristalíferas de *B. thuringiensis*: Bt-33, Bt-38, Bt-58, Bt-105, Bt-106, Bt-107, Bt-121 y Bt-139. Además se incluyó la cepa HD-225, que es entomotóxica contra el díptero *Aedes aegypti*. Todas ellas se sembraron en un medio con plumas molidas como única fuente de carbono y nitrógeno y se investigaron durante 108 h las cinéticas de producción de queratinasa. Al evaluar la actividad específica de queratinasa, y emplear métodos estadísticos se escogieron las cepas de mayor producción de queratinasa. La enzima se evaluó por el método del sustrato teñido, desarrollado en nuestro laboratorio, siendo una unidad de queratinasa (UQ/ml), la cantidad de enzima necesaria para solubilizar el sustrato teñido, y producir un incremento de 0.01 en la  $AS_{590}$  bajo las condiciones de reacción: 20 mg/ml de sustrato, pH 9.0, 37 °C y 1 h. La proteína soluble se determinó por el método de Lowry.

**Resultados y discusión.** En una primera etapa las cepas Bt-33, Bt-38, Bt-58, Bt-105, Bt-121 y Bt-139, produjeron entre 40 y 53 UQ/ml. Sin embargo, no quedó manifiesta la superioridad de alguna de las cepas en estudio, aunque sí pudieron descartarse tres de ellas, por lo que fue necesario efectuar una segunda etapa experimental, en la cual las 6 cepas promisorias se sembraron en medios con plumas

molidas, se disminuyó el tiempo de las cinéticas a 48 h, y se aplicó a los datos el análisis de varianza. En esta etapa, las actividades de alcanzaron de 40 a 61 UQ/ml entre las 36 y 48 h. Finalmente, se seleccionó la cepa Bt-121, que mostró una actividad de queratinasa mayor de 60 UQ/ml a las 48 h (Fig. 1), y una actividad específica de 130 UQ/mg de proteína.

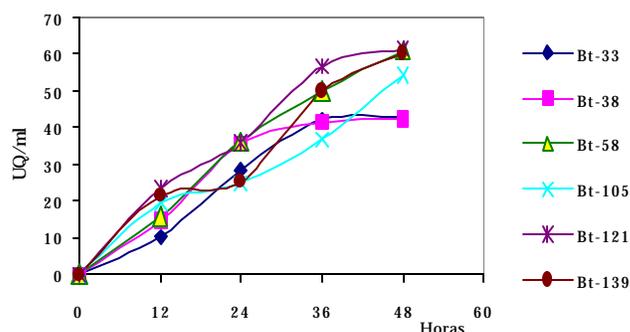


Fig. 1 Cinéticas de producción de queratinasa de seis cepas de *B. thuringiensis* cultivadas en un medio con plumas molidas, suspendidas al 1% en agua. Las condiciones de cultivo fueron pH inicial 7, a  $29 \pm 1^\circ\text{C}$  y 180 rpm.

**Conclusiones.** De las 9 cepas cristalíferas de *B. thuringiensis* estudiadas, fue la Bt-121 la que produjo la mayor actividad específica de queratinasa, al cultivarse en un medio con plumas molidas.

**Agradecimiento.** Este trabajo fue parcialmente apoyado por la Coordinación General del Posgrado e Investigación del IPN (proyecto 200405), así como por el CONACYT.

### Bibliografía.

I. Cedillo-Robles, M.S. (2001). Aprovechamiento de desechos avícolas en la producción de queratinasas y cristales proteicos intracelulares por *Bacillus thuringiensis*. Tesis de maestría en Ciencias Químico Biológicas, ENCB del IPN.