

Géneros Bacterianos Extremófilos con Potencial Aplicación Biotecnológica: Caso de Estudio

¹Reyes Méndez Alma Sofía, ¹Noriega Luna Berenice*, ¹Serafín Muñoz Alma Hortensia, ¹Sánchez Cadena Lorena Eugenia, ²Puy Y Alquiza María Jesús, ¹Mendoza Puga Luis Enrique

¹Departamento de Ingenierías Civil y Ambiental, División de Ingenierías, Universidad de Guanajuato, Campus Guanajuato, México.

²Departamento de Minas, Metalurgia y Geología, División de Ingenierías, Universidad de Guanajuato, Campus Guanajuato, México.

*Correo electrónico: berenice.noriega@ugto.mx

Resumen

El estudio de microorganismos extremófilos actualmente es de interés científico por diversos aspectos entre los que destacan: a) comprender el desarrollo de seres vivos en ambientes extremos, b) conocer los factores que permiten el desarrollo de la vida en ambientes extremos y c) la aplicación biotecnológica de microorganismos aislados de ambientes extremos. Un gran número de microorganismos extremófilos han sido aislados, sin embargo, aún se desconoce los mecanismos de adaptación y/o resistencia que estos microorganismos han desarrollado para sobrevivir en condiciones de temperatura, pH y concentraciones salinas extremas. No obstante, estos microorganismos y sus biomoléculas han mostrado potencial aplicación industrial. Las biomoléculas de interés son principalmente enzimas. Uno de los grupos enzimáticos más importantes con relevancia biotecnológica son las amilasas, las cuales representan entre el 25 - 30% del mercado de las enzimas a nivel mundial, con especial atención en aplicaciones industriales tales como alimentos, curtiduría, detergentes, textiles y farmacéuticas. Recientemente en el laboratorio de Ingeniería Sanitaria e Innovación tecnológica se aislaron cepas bacterianas del género *Bacillus* con capacidad para producir enzimas termoestables como las amilasas. En este trabajo, se evaluó la producción de amilasas extracelulares en cultivos de cepas bacterianas termófilas de los géneros *Brevibacillus* y *Paenibacillus* aisladas de la zona geotérmica de Comanjilla, Guanajuato.

1. Introducción

En el estado de Guanajuato se han reportado varias fuentes termales potencialmente explotables desde el punto de vista energético, medicinal y recreativo. Los manantiales termales son numerosos (173) y se distribuyen con frecuencia en varios lugares del estado de Guanajuato, como resultado de la actividad tectónica y de los fenómenos posteriores al intenso volcanismo de que ha sido objeto el territorio, ya que pertenece a las provincias fisiográficas de la Mesa del Centro, la Sierra Madre Oriental y el Eje Neovolcánico. Particularmente, Comanjilla se encuentra a 32 kilómetros de la ciudad de Guanajuato, México dentro

de los municipios de Silao, Guanajuato y León. Debido a las propiedades curativas de sus aguas termales, el Parque Acuático de Comanjilla es muy conocido y apreciado. Esta fuente termal corresponde a la zona geotérmica de Comanjilla en donde se encuentran 25 manantiales hidrotermales, algunos como calderas con deposición de azufre y sales, con temperaturas entre 70°C y 92°C, distribuidos en un área de 1.2 km².

En este contexto, los estudios sobre la biodiversidad de ambientes extremos han incrementado notablemente en los últimos años, por ejemplo, en las aguas minerales, como cualquier ambiente acuático natural, se ha demostrado que poseen una población microbiana autóctona que suele ser característica del tipo de agua y que depende de sus propiedades fisicoquímicas. Actualmente, se han aislado un gran número de microorganismos termófilos de fuentes hidrotermales y la aplicación de éstos y sus biomoléculas en el ámbito biotecnológico ha incrementado (Stetter, 1996). En este sentido, las enzimas, son las biomoléculas más importantes que producen los microorganismos termófilos a nivel biotecnológico ya que éstas representan una alternativa para el desarrollo industrial sustentable haciéndolo más rentable económicamente y amigable con el ambiente respecto a los procesos químicos y físicos actualmente empleados (Singleton & Amelunxen 1973, Stellwagen 1978).

Las amilasas son de las enzimas más importantes y de gran importancia para la biotecnología y constituyen aproximadamente el 25% del mercado mundial de las enzimas (Rajagopalan, y Krishnan, 2008; Reddy, Nimmagadda, Sambasiva, 2003). Pueden obtenerse de varias fuentes, como plantas, animales y microorganismos. Hoy en día un gran número de las amilasas microbianas están disponibles comercialmente y han reemplazado casi completamente la hidrólisis química del almidón en la industria del procesamiento de almidón. Las amilasas de los microorganismos tienen un amplio espectro de aplicaciones industriales ya que son más estables en comparación con las que producen los animales y las plantas (Tanyildizi, Ozer, Elibol, 2005). La principal ventaja de utilizar microorganismos para la producción de amilasas es la rentabilidad de la capacidad de producción a granel y el hecho de que los microorganismos son fáciles de manipular para obtener enzimas de las características deseadas. Las amilasas se han obtenido a partir de hongos, levaduras y bacterias. Sin embargo, las enzimas de fuentes fúngicas y bacterianas han dominado en las aplicaciones de los sectores industriales (Gupta et al., 2003).

Las amilasas tienen aplicación potencial en un amplio número de los procesos industriales como alimentos, fermentación, textil, papel, detergentes y farmacéutica. Las amilasas de origen fúngico y bacteriano son potencialmente útiles en las industrias farmacéuticas y química, sin embargo, con los avances en la biotecnología, la aplicación de las amilasas se ha expandido en muchos campos como el clínico, el medicinal y en química analítica, así como su amplia aplicación en sacarificación del almidón y en la industria textil, alimentaria, cervecera y destilación (Gupta et al., 2003; Kandra, 2003; Pandey et al., 2000). Las amilasas son una de las formas más populares e importantes de enzimas industriales y en el

presente estudio se evaluó la capacidad de dos géneros bacterianos, *Brevibacillus* y *Paenibacillus* para producir amilasas. Las cepas bacterianas empleadas se aislaron de las fuentes hidrotermales de la zona geotérmica de Comanjilla, Guanajuato.

2. Metodología

2.1 Crecimiento Bacteriano

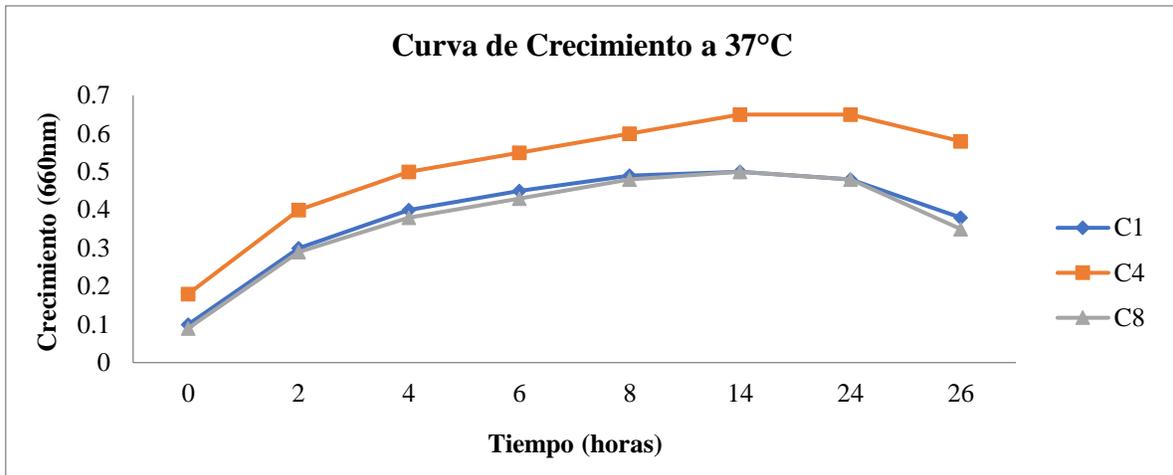
Se evaluó el crecimiento de las cepas bacterianas en diferentes condiciones de pH (7.5, 8.0, 8.5, 9.0 y 9.5) y temperatura (37, 45, 50 y 55 °C) a través de lecturas de absorbancia en muestras de cultivo tomadas a las 0, 2, 4, 6, 8, 14, 24 y 26 horas de cultivo a una longitud de onda de 600 nm; con estos datos se establecieron las condiciones óptimas de crecimiento para cada cepa bacteriana.

2.2 Producción de amilasas

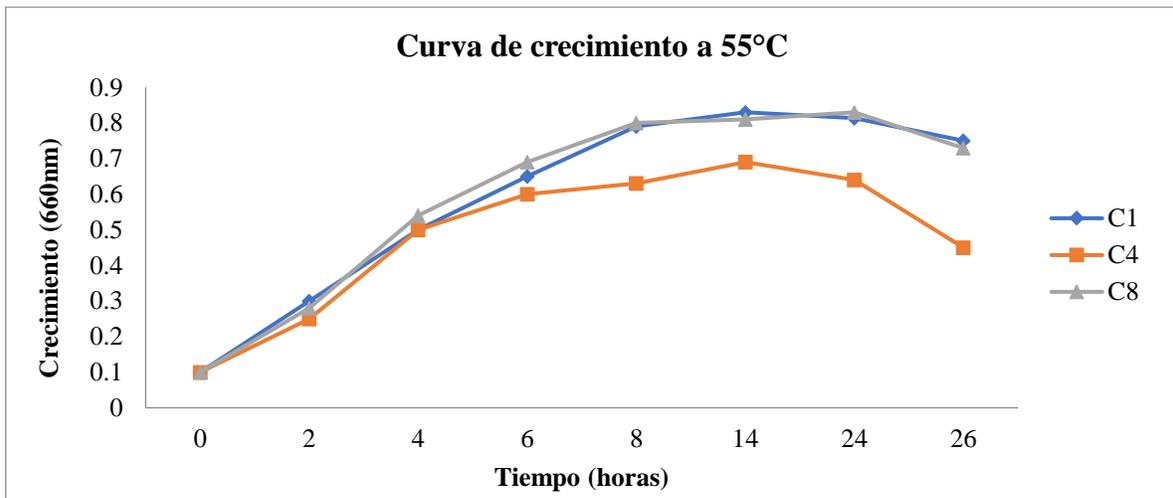
Se determinó la capacidad de hidrólisis de almidón de las cepas bacterianas en agar nutritivo enriquecido con 30% de almidón a diferentes valores de pH (7.5, 8.0, 8.5, 9.0 y 9.5) durante 24 y 48 horas de incubación a las temperaturas de 37°C y 50°C. Una vez transcurrido cada periodo de incubación el cultivo se cubrió con solución acuosa de yodo-KI al 1% durante 15 minutos. La aparición de un halo claro alrededor del cultivo se interpretó como un resultado positivo (Mohammad et al, 2017). Para cada valor de pH y temperatura de incubación el procedimiento se realizó por duplicado.

3. Discusión de Resultados

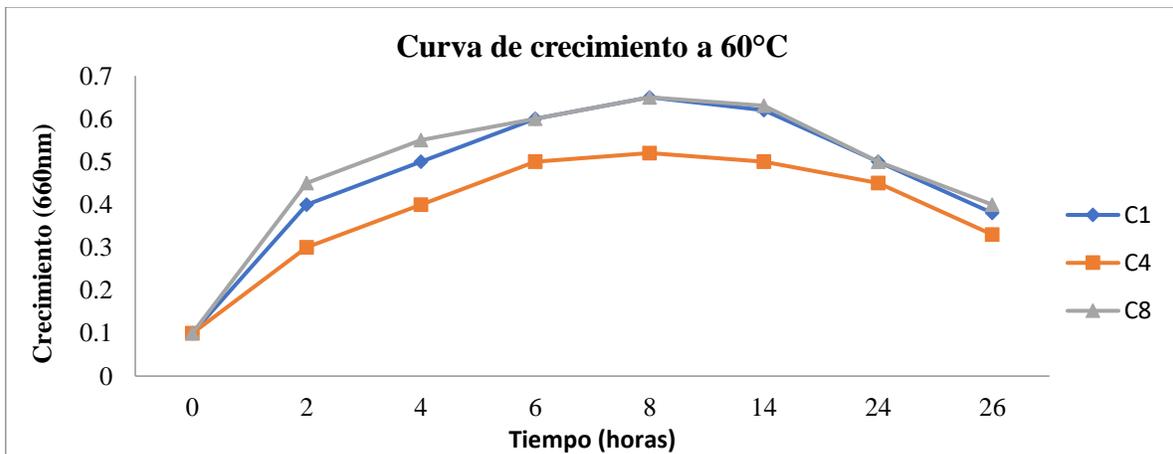
El crecimiento óptimo del género *Paenibacillus* se registró a las siguientes condiciones temperatura de 37°C, pH 7.0 y a una concentración de NaCl de 1% (p/v) (Gráfica 1). Por el contrario, las cepas del género *Brevibacillus* mostraron crecimiento óptimo a una temperatura de 55°C, pH 7.0 y a una concentración de NaCl de 1% (p/v) (Gráfica 2). No obstante, también se observa que las cepas del género *Brevibacillus* crecen bien a la temperatura de 60°C, pH 7.0 y a una concentración de NaCl de 1% (p/v) (Gráfica 3). Asimismo, se determinaron las condiciones óptimas de las cepas del género *Brevibacillus* para la producción de amilasas, temperatura de 50°C y pH 7.5 (Figuras 1a,1b). Por otro lado, la cepa del género *Paenibacillus* mostró mayor actividad de amilasas a la temperatura de 37°C y pH 9.0 (Figura 2a,2b). Estos microorganismos muestran capacidad para adaptarse para sobrevivir en condiciones ambientales extremas probablemente por sus modificaciones moleculares celulares y subcelulares, además muestran capacidad para producir amilasas lo cual es coincidentes por especies del mismo género reportadas en otros estudios (Sudip, 2010; Adigüzel, et al. 2009).



Grafica 1. Crecimiento de las cepas *Brevibacillus* (C1, C8) y *Paenibacillus* (C4) a 37°C, pH 7.0 y NaCl de 1% (p/v).



Grafica 2. Crecimiento de las cepas *Brevibacillus* (C1, C8) y *Paenibacillus* (C4) a 55°C, pH 7.0 y NaCl de 1% (p/v).



Grafica 3. Crecimiento de las cepas *Brevibacillus* (C1, C8) y *Paenibacillus* (C4) a 60°C, pH 7.0 y NaCl de 1% (p/v).

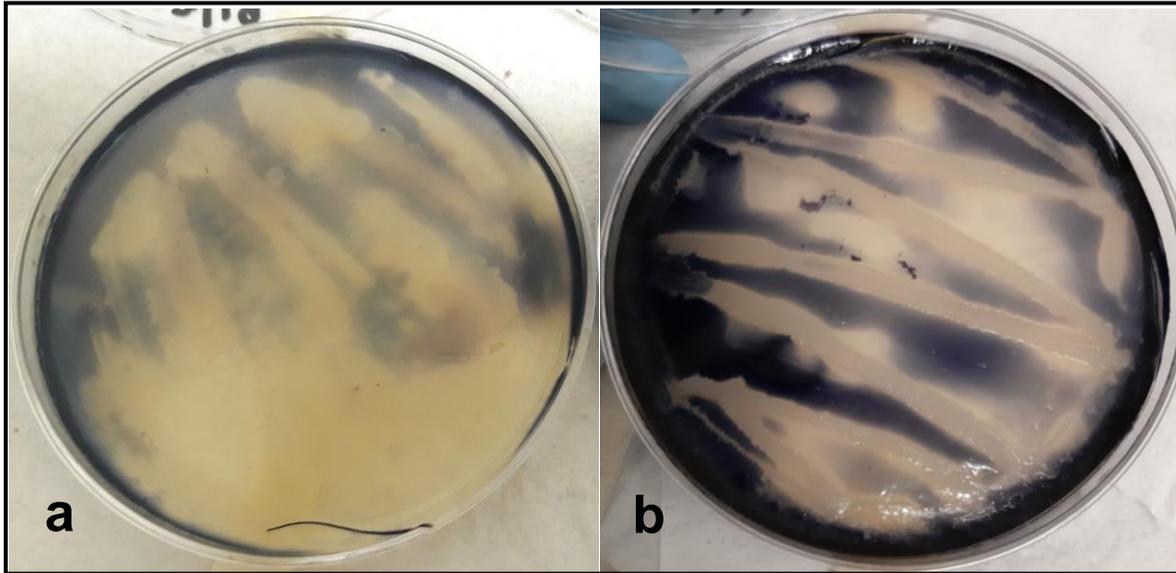


Figura 1. Género *Brevibacillus*, tinción con solución Yodo-KI 1%. a) Actividad de Amilasas Positiva a pH 7.5 y temperatura de 50°C (C1). b) Actividad de Amilasas Positiva a pH de 8.5 y temperatura de 50°C (C8).

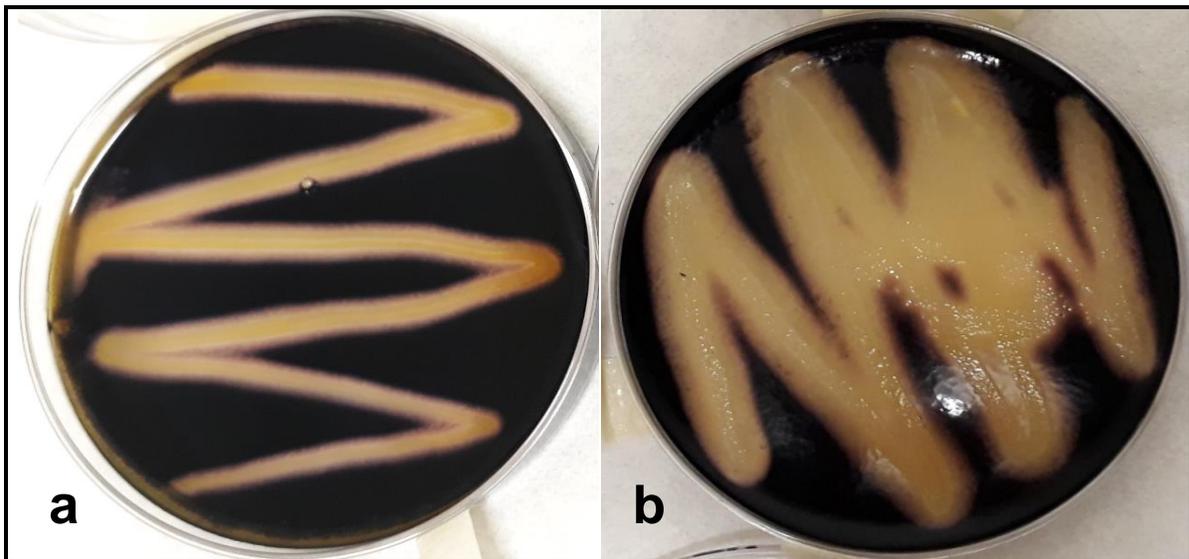


Figura 2. Género *Paenibacillus*, tinción con solución Yodo-KI 1%. a) Actividad de Amilasas Positiva a pH de 8.5 y temperatura de 37°C (C4). b) Actividad de Amilasas Positiva a pH de 9.0 y temperatura de 50°C (C4).

4. Conclusión

Las zonas geotérmicas son una fuente importante de microorganismos y pocos estudios se han encocado a su estudio y por lo tanto se desconoce el potencial biotecnológico que se reserva en estos hábitats. La diversidad de microorganismos termófilos que se encuentran en las fuentes termales de la zona geotérmica de Comanjilla puede ser explotada para el beneficio a gran escala de la humanidad. En este estudio se evaluaron las condiciones óptimas de crecimiento para cepas bacterianas de los géneros *Brevibacillus* (C1,C8) y *Paenibacillus* (C4) aisladas de las fuentes termales de Comanjilla, Guanajuato encontrando un rango óptimo de temperatura de crecimiento entre 37°C – 50°C en donde los microorganismos crecen rápidamente y presentan alta actividad amilolítica, información de interés y con aplicación biotecnológica.

Referencias

Adiguzel, A., Ozkan, H., Baris, O., Inan, K., Gulluce, M., Shain, F., (2009) Identification and characterization of thermophilic bacteria isolated from hot springs in Turkey, *J. Microbiol Methods.*, 79(3), pp.321-328.

Gupta, R.; Gigras, P.; Mohapatra, H.; Goswami, V.K.; Chauhan, B. (2003). Microbial-amylases: a biotechnological perspective. *Process Biochem* 38, 1599 - 1616.

Kandra, L. (2003). α -Amylases of medical and industrial importance. *Journal of Molecular Structure (Theochem)* 666–667, 487–498.

Pandey, A.; Nigam, P.; Soccol, C.R.; Soccol, V.T.; Singh, D.; Mohan, R. (2000). Advances in microbial amylases. *Biotechnol Appl Biochem* 31 (Pt 2), 135-152.

Rajagopalan, G.; Krishnan, C. (2008). Alpha-amylase production from catabolite derepressed *Bacillus subtilis* KCC103 utilizing sugarcane bagasse hydrolysate. *Bioresour Technol* 99, 3044-3050.

Reddy, N.S.; Nimmagadda, A.; Sambasiva Rao, K.R.S. (2003). An overview of the microbial-amylase family. *Afr. J. Biotechnol.* 2, 645- 648.

Stetter, K.O. (1996). Hyperthermophilic procaryotes. *FEMS Microbiol. Rev.* 18, 149-158.

Sudip, K.S., Sudir, K.M., Soumya, S., Gopala Rao, T.V., (2010) Characterization of hot water spring source isolated clones of bacteria and their industrial applicability, *Int J Chem Res.*, 2(1), pp. 01 -07.

Tanyildizi, M.S.; Ozer, D.; Elibol, M. (2005). Optimization of α -amylase production by *Bacillus* sp. using response surface methodology *Process Biochem* 40, 2291–2296.