

CARACTERIZACIÓN ENZIMÁTICA DE TRICHODERMA SPP AISLADAS DE RASTROJO AGRÍCOLA

A. GUTIÉRREZ MORAGA¹, G. CABRERA², C.
CALDERÓN², V. ACEVEDO¹, M. GIDKEL².

¹ Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales,
Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.
hgutier@ufro.cl

² VentureL@b, Escuela de Negocios, Universidad
Adolfo Ibáñez, Santiago de Chile, Chile.

En los suelos de Chile existe una microflora muy diversa adaptada a diferentes ecosistemas, entre los que se encuentra el rastrojo generado como desecho de la industria agrícola. En dicho ecosistema existen microorganismos capaces de degradar el material lignocelulolítico presente en la pared celular del rastrojo debido al sistema enzimático que presentan, como es el caso de los hongos del género *Trichoderma*; estos hongos son capaces de producir diferentes tipos de enzimas extracelulares, entre las que se encuentran aquellas que le proporcionan la capacidad para controlar fitopatógenos, como son quitinasas, β -1,3 glucanasa y proteinasas (Carsolio et al, 1998). Por otro lado, dentro del mismo género *Trichoderma*, algunas cepas producen otras enzimas que le permiten degradar celulosa tanto amorfa como microcristalina, como es el caso de las celulasas, cuya excreción se induce en presencia de sustratos celulolíticos, lo cual se ha correlacionado directamente con la capacidad de degradación del tejido vegetal muerto (Vlaev et al., 1997).

En la presente investigación, se realizó una búsqueda de microorganismos en rastrojo de trigo, entre los cuales se lograron aislar 12 del género *Trichoderma* spp., capaces de degradar en forma significativa dicho rastrojo *in vitro* comparado con otros hongos saprófitos seleccionados. De cada uno de estos aislados de *Trichoderma* spp. se realizó la inducción y medición de la actividad de quitinasa a las 24, 48, 72 y 96 horas utilizando como sustrato quitina coloidal 0,5%, la actividad de quitinasa se determinó por la cantidad de enzima que produce 1 μ mol de azúcares reductores por minuto, como se muestra en la **Figura 1a**.

Así mismo, se realizó la inducción y medición de la actividad de celulasa a las 24, 48, 72 y 96 horas, con 5 g/l de celulosa (Zaldivar et al., 2001), para medir la actividad celulolítica del sobrenadante se utilizó 0,5 ml de tampón acetato, de sodio 0,04 M

pH: 5,0, más carboximetilcelulosa (1%). Se cuantificó la liberación de azúcares reductores en condiciones alcalinas. Como se muestra en la **Figura 1b**. Paralelamente, se cuantificó la concentración de proteínas totales por el método de Bradford.

De acuerdo a los resultados obtenidos podemos concluir que ambos parámetros de actividad enzimática, quitinasa y celulasa, nos permiten seleccionar entre los distintos aislados de *Trichoderma* como posibles microorganismos para ser utilizados en este tipo de desecho agrícola para su degradación, en forma aislada o de acuerdo al sinergismo que dichos microorganismos sean capaces de establecer.

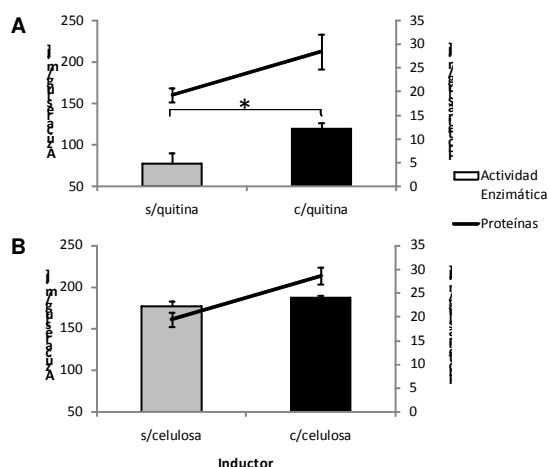


Figura 1. Actividad enzimática a las 48 horas de A) celulasas, B) quitinasas y liberación de proteínas al medio de *Trichoderma* (cepa 43-2B). (*) $p \leq 0,05$

AGRADECIMIENTOS

A. Gutiérrez Moraga agradece el financiamiento del Proyecto DIUFRO DI090081, Dirección de Investigación, Universidad de La Frontera.

REFERENCIAS

1. Carsolio C., Benhamou N., Haran S., Cortés C., Gutiérrez A., Chet I. and Herrera-Estrella A. Role of the *Trichoderma harzianum* endochitinase gene *each2* is involved mycoparasitism. *Applied and Environmental Microbiology* 65, 3: 929-935 (1999).
2. Vlaev S., Djejeva G., Raykovsha V. and Schugerl K. Cellulase production by *Trichoderma* sp. grown on corn fibre substrate. *Process Biochemistry* 32(7) 561-565.
3. Zaldivar, S., Velasquez, J. C., Contreras I and Perez L.M (2001). *Trichoderma aureoviridae* 7-121, a mutant with enhanced production of lytic enzymes: its potential use in waste cellulose degradation and/or biocontrol. *EJB Electronic J. Biotechnology* ISSN:0717-3458, 4, 10 pages.