



Fecha de recibido: 22-12-2022

Fecha de aceptado: 15-05-2023

DOI: 10.22490/21456453.6594

BACTERIAS FILAMENTOSAS PRODUCTORAS DE ENZIMAS HIDROLÍTICAS AISLADAS DE RIZOSFERAS Y UN SISTEMA DE COMPOSTAJE

HYDROLYTIC ENZYME PRODUCING FILAMENTOUS BACTERIA ISOLATED FROM RHIZOSPHERES AND A COMPOSTING SYSTEM

Víctor Manuel Osorio-Echeverri ¹

Jessica Johanna Obando-García ²

Elizabeth Castrillón-Duque ³

José Gregorio Martínez ⁴

¹ Magíster en Biotecnología, I.U. Colegio Mayor de Antioquia, Medellín, Colombia.
victor.osorio@colmayor.edu.co

² Biotecnóloga, I.U. Colegio Mayor de Antioquia, Medellín, Colombia.
jessica_obando@yahoo.es

³ Biotecnóloga, I.U. Colegio Mayor de Antioquia, Medellín, Colombia.
lizxim68@gmail.com

⁴ Doctor en Biotecnología, I.U. Colegio Mayor de Antioquia, Medellín, Colombia.
jose.martinez@colmayor.edu.co

Citación: Osorio-Echeverri, V., Obando-García, J., Castrillón-Duque, E. y Martínez, J. (2024). Bacterias filamentosas productoras de enzimas hidrolíticas aisladas de rizosferas y un sistema de compostaje. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental* 15(1), 229-249. <https://doi.org/10.22490/21456453.6594>

RESUMEN

Contextualización: las hidrolasas son algunas de las enzimas que más se usan en diferentes procesos industriales, estas pueden ser obtenidas a partir de microorganismos como bacterias y hongos. Las bacterias filamentosas son un grupo de microorganismos presentes en diversos ambientes, y muchas de estas especies producen hidrolasas extracelulares que catalizan la descomposición de compuestos como proteínas y polisacáridos. El género más representativo es *Streptomyces*, un grupo bacteriano que se encuentra en la mayoría de los suelos, el cual sintetiza enzimas de interés y los principales antibióticos de origen microbiano.

Vacío de conocimiento: la alta diversidad de suelos en el país representa una oportunidad para la bioprospección de microorganismos nativos con potencial enzimático; estos se pueden encontrar en diferentes agroecosistemas poco estudiados, además, sus capacidades bioquímicas podrían estar asociadas con las condiciones ambientales y nutricionales de los sitios en los que se encuentran.

Objetivo: verificar la presencia de bacterias filamentosas productoras de enzimas hidrolíticas, con potencial aplicación industrial, en diferentes tipos de suelo y en un sistema de compostaje.

Metodología: se tomaron muestras de un sistema de compostaje, del suelo de un sendero en un bosque nativo, y de las rizosferas de un cerco vivo y de cultivos de hortensias, aguacate, mora y coles. Se aislaron bacterias filamentosas a partir de colonias que presentaran la morfología correspondiente. Las actividades enzimáticas fueron determinadas usando el método de difusión en disco para cuantificar los halos de hidrólisis en medios con almidón, carboximetilcelulosa, gelatina y aceite de oliva.

Resultados y conclusiones: se obtuvieron 43 aislados de bacterias filamentosas de las cuales 36, 42, 39 y 30, presentaron actividad amilasa, celulasa, gelatinasa y lipasa, respectivamente. En todas las muestras se encontró al menos un aislado con alguna actividad hidrolítica. El sistema de compostaje y la rizosfera del cerco vivo fueron los sitios a partir de los cuales se obtuvieron más aislados bacterianos con mayor actividad, posiblemente relacionados con características como la humedad y la materia orgánica de los suelos de los cuales fueron recuperados.

Palabras clave: actinomicetales, bacterias del suelo, bioprospección, hidrolasas, *Streptomyces*

ABSTRACT

Contextualization: Hydrolases are some of the most used enzymes in different industrial processes and can be obtained from microorganisms such as bacteria and fungi. Filamentous bacteria are a group of microorganisms present in various environments, and many of these species produce extracellular hydrolases catalyzing the decomposition of compounds such as proteins and polysaccharides. The most representative genus is *Streptomyces*, a bacterial group found in most soils. It synthesizes enzymes of interest and main antibiotics of microbial origin.

Knowledge gap: The high soil diversity in the country is an opportunity for the bioprospecting of native microorganisms with enzymatic potential, which can be found in different understudied agroecosystems and their biochemical capacities could be associated with the environmental and nutritional conditions of the sites where they are found.

Objective: To verify the presence of filamentous bacteria producers of hydrolytic enzymes with potential industrial application in different soil types and a composting system.

Methodology: Samples were taken from a composting system, from the floor of a path in a native forest, from the rhizospheres of a live fence, and hydrangeas, avocado, blackberry, and Cole crops. Filamentous bacteria were isolated based on the colonies with the corresponding morphology. Enzyme activities were determined using the disk diffusion method to quantify the halos of hydrolysis in starch, carboxymethyl cellulose, gelatin, and olive oil mediums.

Results and conclusions: 43 isolates of filamentous bacteria were obtained, of which 36, 42, 39, and 30 had amylase, cellulase, gelatinase, and lipase activity, respectively. At least one isolated with some hydrolytic activity was found in all samples. The composting system and the rhizosphere of the live fence were the sites from which more bacterial isolates were obtained with higher activity. It is likely related to characteristics such as humidity and organic matter from the soils from which they were recovered.

Keywords: actinomycetales, soil bacteria, bioprospecting, hydrolases, *Streptomyces*

RESUMEN GRÁFICO



Fuente: autores.

1. INTRODUCCIÓN

Las enzimas hidrolíticas extracelulares de origen microbiano son de uso común en la industria de alimentos, en la formulación de detergentes, en la industria textil, y además, en el tratamiento de pieles y de la pulpa de madera (Fasim *et al.*, 2021; Waites *et al.*, 2001). Se espera que el mercado global de enzimas como las proteasas, amilasas, pectinasas, xilanasas,

ligninasas, celulasas y lipasas, crezca de USD 6600 millones en 2021 a 9100 millones en 2026; de estas, las proteasas y las amilasas dan cuenta de cerca del 60% y el 30% del mercado enzimático global respectivamente, aunque las carbohidrasas en general han empezado a dominar el mercado desde 2017 (BBC Publishing, 2021; Business Wire, 2019; Singh *et al.*, 2016).

Las enzimas conocidas como hidrolasas catalizan el rompimiento de enlaces glucosídicos, peptídicos, entre otros, con la adición de moléculas de agua y, aunque la mayoría de las hidrolasas microbianas utilizadas en la industria son producidas por bacterias del género *Bacillus*, se ha demostrado potencial en algunas actinobacterias como también en especies de géneros como *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Rhizopus*, *Kluyveromyces* y *Lactobacillus* (Singh *et al.*, 2016; Waites *et al.*, 2001).

Las actinobacterias están ampliamente distribuidas en ecosistemas terrestres y acuáticos, incluso en hábitats extremos, cumpliendo un importante rol en el reciclaje de nutrientes en el suelo gracias a su alta producción de enzimas extracelulares que les permite degradar polímeros complejos como la celulosa y la lignina. A este grupo bacteriano pertenecen géneros como *Arthrobacter*, *Brevibacterium*, *Rhodococcus* y *Streptomyces*, siendo este último el más común con alrededor del 70% de las especies reportadas para este grupo (Goodfellow, 2012; Lamilla, 2017).

Muchas especies de *Streptomyces* aisladas del suelo como *S. erumpens*, *S. fragilis*, *S. limosus* y *S. atacamensis* producen α -amilasas extracelulares bajo diferentes condiciones de cultivo (Ayuningrum *et al.*, 2021; Hormoznejad *et al.*, 2022; Nithya *et al.*, 2017; Vaijyanthi *et al.*, 2016). Estas enzimas se usan para la producción de jabones y jugos de frutas, la elaboración de cerveza y pan, el desengomado de las telas, entre otras (Nigam, 2013; Sundarram y Krishna Murthy, 2014) y pueden obte-

nerse incluso usando residuos agroindustriales como fuente de carbono (Ousaadi *et al.*, 2021).

De igual manera, otros aislados de este género producen celulasas usando sustratos como carboximetilcelulosa (CMC), papel, y subproductos agroindustriales como la paja de trigo y de arroz, bagazo de caña y residuos de frutas (Celaya-Herrera *et al.*, 2021). Estas enzimas se utilizan durante el procesamiento de jugos de frutas además de telas, y constituyen una estrategia para reciclar el papel utilizado como también otros materiales agroindustriales, con el fin de obtener azúcares fermentables (Danso *et al.*, 2022; Nigam, 2013).

Por su parte, algunas proteasas que se pueden utilizar en la preparación de detergentes, el procesamiento del cuero y la elaboración de quesos (Nigam, 2013; Singh *et al.*, 2016), también se han obtenido de diferentes actinobacterias aisladas de suelos y sedimentos marinos (Haritha *et al.*, 2010; Suthindhiran *et al.*, 2014). Otras hidrolasas que se incorporan en detergentes, y que además se usan en la biorremediación de ambientes contaminados con hidrocarburos, y en la elaboración de alimentos, cosméticos y biodiesel, son las lipasas; y algunas especies como *S. clavuligerus* y *S. coelicolor*, producen estas enzimas usando grasas y aceites como fuente de carbono (dos Santos *et al.*, 2017; Mohamed y Awad, 2021; Ugur *et al.*, 2014).

Debido a que muchas de estas enzimas extracelulares son elaboradas según las necesidades nutricionales de las bacterias, su producción puede estar asociada con

la cantidad y el tipo de materia orgánica presente en el sitio en que se encuentran estos microorganismos. Se ha demostrado, por ejemplo, que suplementar los suelos con diferentes fuentes de nitrógeno y aplicar distintas prácticas de manejo en suelos destinados a la agricultura, afecta la diversidad microbiana y su actividad hidrolítica (Gajda *et al.*, 2018; Shi *et al.*,

2018). Por esto, el objetivo de este trabajo fue describir la actividad enzimática de diferentes aislados nativos de actinobacterias, obtenidos a partir de diferentes suelos y de un sistema de compostaje, con el fin de demostrar la presencia de microorganismos potenciales productores de hidrolasas en ecosistemas locales poco explorados.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección de las muestras: se tomaron entre 100 y 200 g de suelo en diferentes zonas del corregimiento de Santa Elena, municipio de Medellín, Colombia (latitud 6°13'N, longitud 75°29'W, altitud 2200 m). Para el muestreo se seleccionaron rizosferas de: un cerco vivo de limoncillo (*Swinglea glutinosa* (Blanco) Merr.); de un bosque nativo muy húmedo montano bajo con cobertura natural; de cultivos artesanales de hortensias (*Hydrangea macrophylla* (Thunb.) Ser.), aguacate criollo (*Persea americana* Mill), mora andina (*Rubus glaucus* Benth.) y coles (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.); además del suelo de un sendero en el mismo bosque nativo. Todas las muestras se tomaron a una profundidad entre 10 a 20 cm, y se transportaron refrigeradas en bolsas con cierre hermético. De igual manera, se tomó una muestra de un sistema de compostaje con cinco días de maduración, establecido para el tratamiento de residuos orgánicos obtenidos en una cafetería universitaria. El pH de cada muestra se midió por el

método potenciométrico en agua 1:1 volumen: volumen.

Aislamiento y conservación de microorganismos: se resuspendieron 10g de cada muestra en 100 mL de solución salina al 0.9 % p/v, y se agitaron por 30 minutos a 150 rpm, a 28 °C. Las mezclas se dejaron sedimentar, se realizaron diluciones seriadas hasta 10⁻⁵, y se sembraron por duplicado 100 µL de las diluciones 10⁻⁴ y 10⁻⁵ por superficie de manera homogénea en agar *Streptomyces* y en agar almidón caseína nitrato (Atlas, 2010), ambos medios suplementados con 2,5 mg/L de rifampicina. Las placas fueron incubadas a 28 °C durante al menos siete días. Se seleccionaron colonias con morfologías correspondientes a bacterias filamentosas Gram-positivas y se subcultivaron en agar *Streptomyces* hasta obtener aislados puros; cada aislado se conservó en caldo infusión cerebro corazón con 15% v/v de glicerol a -20 °C.

Evaluación de la actividad hidrolítica: se utilizó el método de difusión en agar, para lo cual se adicionaron 10 μL de inóculo bacteriano a un disco de papel filtro estéril de 5mm de diámetro ubicado sobre un medio de cultivo sólido con un pH de 7.0. Cada actividad se determinó según los halos de hidrólisis calculados como la mitad de la diferencia entre el diámetro de la zona de hidrólisis y el diámetro de la colonia (en mm). Los inóculos se prepararon en agua destilada con 0.05 % v/v de Tween 80, re-suspendiendo colonias obtenidas en agar *Streptomyces* hasta alcanzar una densidad óptica de 1.4 - 1.5 a 600 nm.

La actividad amilolítica se evaluó en un medio de cultivo constituido (en g/L) por: almidón soluble, 10.0; extracto de levadura, 1.0; NaNO_3 , 1.2; K_2HPO_4 , 3.0; KH_2PO_4 , 6.0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.2; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.03; $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.01; agar, 12.0; se usó lugol como solución reveladora. La actividad celulolítica se determinó en un medio preparado (en g/L) con CMC, 5.0; extracto de levadura, 0.5; NaNO_3 , 1.0; K_2HPO_4 , 1.0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.5; agar, 15.0; los halos se revelaron con rojo congo al 0.1 % p/v y cloruro de sodio. Para medir la actividad

proteolítica se usó un medio compuesto (en g/L) por gelatina, 10.0; peptona, 10.0; NaCl , 5.0; extracto de carne, 10.0; agar, 15; se usó una solución de cloruro de mercurio al 15 % p/v para revelar los halos. La actividad lipolítica se evaluó en un medio con (en g/L) caldo nutritivo, 9.0; extracto de levadura, 2.5; agar, 12.0, suplementado con aceite de oliva al 3 % v/v, Tween 80 al 0.025 % v/v y rodamina B al 0.02 % v/v.

Análisis estadístico: para analizar la actividad hidrolítica según el halo de inhibición generado por las bacterias, se empleó un diseño completamente aleatorio (DCA) con tres réplicas. Para determinar las diferencias significativas de la actividad hidrolítica entre los 44 aislados evaluados, y según los sitios de muestreo, se implementó una prueba de Kruskal-Wallis con comparación entre parejas, para determinar los aislados con actividades significativamente diferentes. Se utilizó $p < 0.05$ como criterio estadístico para revelar diferencias significativas entre los aislados, teniendo en cuenta una confianza de la prueba del 95 %. Todos los datos se analizaron mediante el programa estadístico SPSS® versión 24.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se demostró en este estudio la capacidad enzimática que poseen 43 aislados nativos de bacterias filamentosas obtenidos a partir de un sistema de compostaje y de diferentes suelos bien drenados y ligeramente ácidos (Tabla 1). Además, se analizó

la actividad de la cepa de *Streptomyces griseus* subsp. *griseus* ATCC®10137™ (S.G.). Las rizosferas del bosque nativo y de los cultivos de hortensias, aguacate, mora y coles, correspondieron a suelos franco-arcillosos y de color en húmedo pardo muy

oscuro, aspectos similares a los reportados por Pérez *et al.* (2017) para un suelo tomado en una ubicación geográfica cercana. No obstante, la rizosfera del cerco vivo de limoncillo y el suelo del sendero eran de

color pardo oliva, no presentaron una capa de material orgánico fresco abundante, y aunque su textura fue similar a las demás muestras, estas dos presentaron una apariencia menos húmeda.

Tabla 1. Aislados compatibles con *Streptomyces* productores de hidrolasas obtenidos de diferentes suelos y de un sistema de compostaje.

Sitio de muestreo	Características del suelo			Número de aislados	Códigos
	pH	Material orgánico fresco	Color		
Rizosfera de bosque nativo muy húmedo montano bajo	5.22	6 – 8 cm	Pardo muy oscuro	3	S1A, S2A, SH3A
Rizosfera de cultivo de hortensias (<i>Hydrangea macrophylla</i> (Thunb.) Ser.)	5.71	2 – 4 cm	Pardo muy oscuro	5	S1B, S2B, S3B2-a, S3B2-b, S5B
Sendero en bosque nativo	6.20	0 – 0.5 cm	Pardo oliva	1	S2D
Rizosfera de cultivo de aguacate criollo (<i>Persea americana</i> Mill.)	5.78	3 – 5 cm	Pardo muy oscuro	12	S1E, S2E, S3E, S4E, S5E, S6E, S7E, S8E, S10E, S11E, S12E, S13E

Rizosfera de cultivo de mora andina (<i>Rubus glaucus</i> Benth.)	5.87	3 – 5 cm	Pardo muy oscuro	5	S2F, S3F, S4F, S4F-b, S7F
Rizosfera de cultivo de coles (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i> L.)	5.99	3 – 5 cm	Pardo muy oscuro	2	S1G-a, S1G-b
Rizosfera de cerco vivo de limoncillo (<i>Swinglea glutinosa</i> (Blanco) Merr.)	6.12	0 – 0.5 cm	Pardo oliva	12	S1H, S2H, S3H, S4H, S5H, S6H, S7H, S8H, S10H, S11H, S13H, S17H
Sistema de compostaje	6.98	NA	Pardo grisáceo muy oscuro	3	S34, S40, S41

Fuente: autores.

Todos los aislados produjeron al menos una hidrolasa extracelular, encontrándose diferencias significativas ($p < 0.05$) para cada actividad por lo menos en uno de ellos; en general, el 52% mostraron las cuatro actividades enzimáticas evaluadas, mientras que en estudios similares realizados por Do *et al.* (2021) y Kumar *et al.* (2012), menos del 20 % del total de los microorganismos recuperados presentaron simultáneamente estas cuatro actividades hidrolíticas (Do *et al.*, 2021; Kumar *et al.*, 2012). En estudios como el realizado por Bentley *et al.* (2002) se ha demostra-

do la presencia de genes codificantes para amilasas, proteasas, celulasas, lipasas y otras hidrolasas extracelulares en algunas especies de bacterias filamentosas como *S. coelicolor* y *S. avermitilis*, lo que confirma que es posible que algunos de los aislados obtenidos en este trabajo presenten esta diversidad enzimática.

De los 44 aislados evaluados, el 84% presentó actividad amilolítica (Figura 1); el aislado S17H fue el que presentó mayor actividad, pero no fue estadísticamente diferente a la registrada por otros como S13H, S41, S7F, S40 y S3F, con un nivel de

confianza del 95% (Tabla A1, ver anexo). A pesar de que la presencia de amilasas en actinobacterias mesófilas es un fenómeno común, 7 aislados obtenidos no mostraron degradación del almidón presente en el medio. Entre los trabajos que han recuperado microorganismos con actividad amilolítica a partir de sistemas de compostaje, Do *et al.* (2021) obtuvieron 47 aislados de actinobacterias de un compost, aunque solo 5 mostraron actividad amilolítica con halos entre 13 y 25 mm, un valor similar para 1 de los aislados obtenidos

en este estudio. Por su parte, Santos *et al.* (2012) encontraron que de 150 aislados de actinobacterias recuperadas a partir de un suelo de una zona desértica, 21 (14%) generaron halos de hidrólisis de almidón de más de 1.5 cm, al igual que dos de los 15 encontrados en un bosque tropical (13%) y 82 de los 121 obtenidos en un área montañosa (68%); esta proporción de aislados con actividad amilolítica con respecto al total de bacterias recuperadas fue menor que la obtenida en el presente estudio.

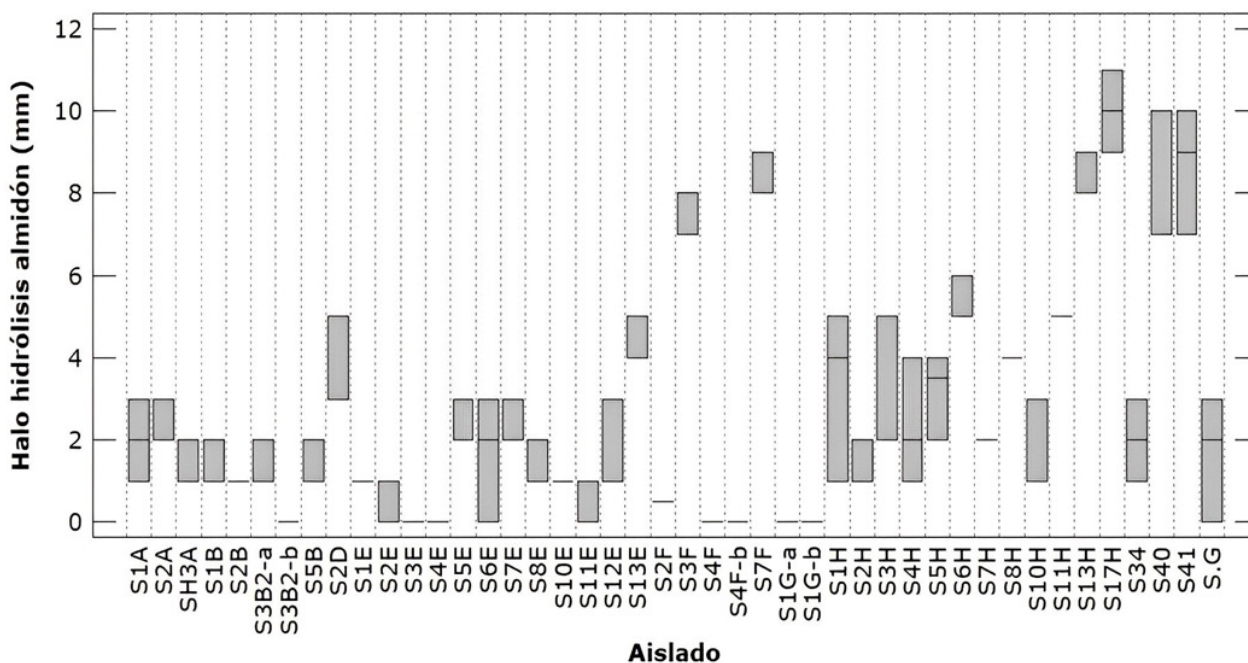


Figura 1. Actividad amilolítica de los aislados, representada en halos de hidrólisis de almidón revelados con lugol. Se muestran las medianas e intervalos de los datos.

Fuente: autores.

Por su parte, Mansour *et al.* (2015) aislaron 35 actinobacterias a partir de diferentes muestras de suelo, y todas presentaron actividad amilolítica; sin embargo, ninguno de estos aislados mostró actividad celulolítica,

a diferencia del presente estudio en el que el 98% de los aislamientos evaluados indicaron algún grado de hidrólisis de la CMC del medio de cultivo (Figura 2).

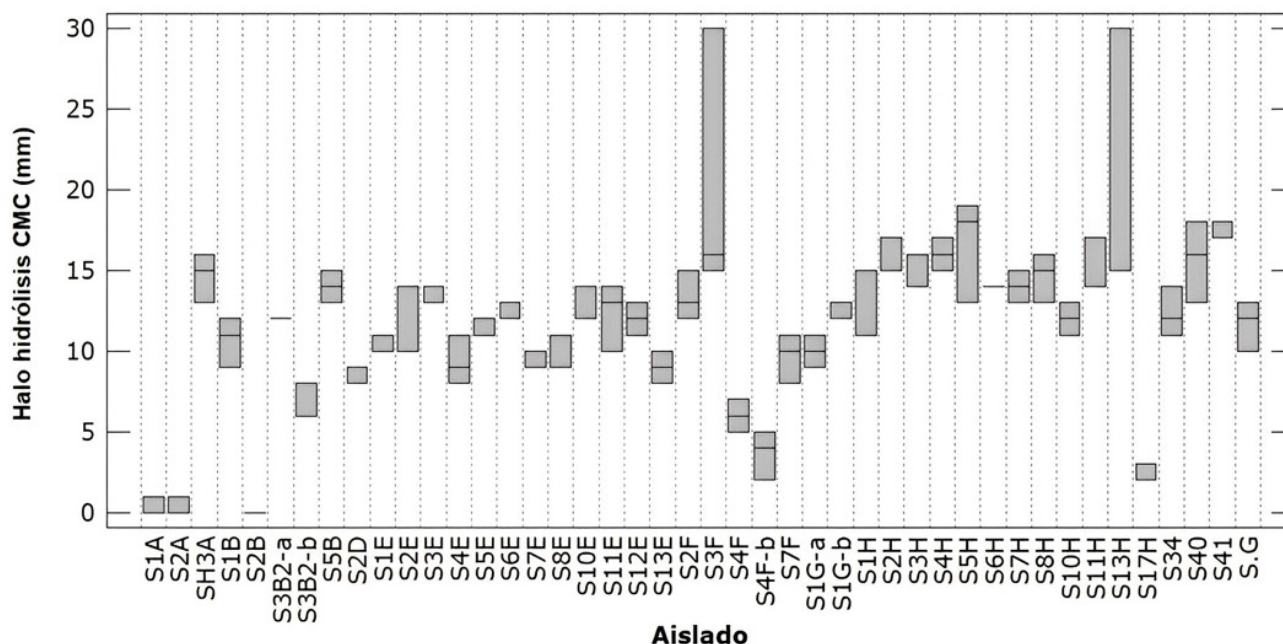


Figura 2. Actividad celulolítica de los aislados, representada en halos de hidrólisis de CMC revelados con rojo congo. Se muestran las medianas e intervalos de los datos.

Fuente: autores.

Los aislados con mayor actividad celulolítica en este estudio fueron S13H y S3F, aunque sin diferencias significativas con otros como S41, S5H, S4H, S11H, S2H y S40 (Tabla A1). Estos resultados son similares a los reportados por Das *et al.* (2014), quienes encontraron que entre 80–90% de las actinobacterias aisladas en su estudio, a partir de suelos agrícolas hidrolizaron la celulosa del medio de cultivo. Se han encontrado especies productoras de ce-

lulasas como *S. griseorubens* en un suelo contaminado con residuos municipales (Prasad *et al.*, 2013), y *S. flavogriseus*, *S. virginiae* y *S. griseoaurantiacus* en la rizosfera de suelos con cultivos de cereales (Castañeda-Cisneros *et al.*, 2020).

Do *et al.* (2021) también recuperaron 7 aislados del género *Streptomyces* a partir de un compost preparado principalmente con estiércol de vaca, pasto fresco y aserrín; 1 de sus aislados presentó un halo de

hidrólisis de CMC de 27 mm, similar al obtenido en este estudio con los de mayor actividad celulolítica. Cabe anotar que la proporción de aislados productores de celulasas fue la más alta debido a la presencia de material celulósico en los sitios de muestreo.

De igual manera, se evaluó la actividad proteolítica representada por la hidrólisis de la gelatina (Figura 3). En este caso, el 91% de los aislados mostró actividad, y S8H fue el de mayor capacidad de hidrolizar proteínas sin presentar diferencias significativas con otros como S17H, S6H, S4H, S7F, SH3A, S40, S41 y S1H (Tabla A1).

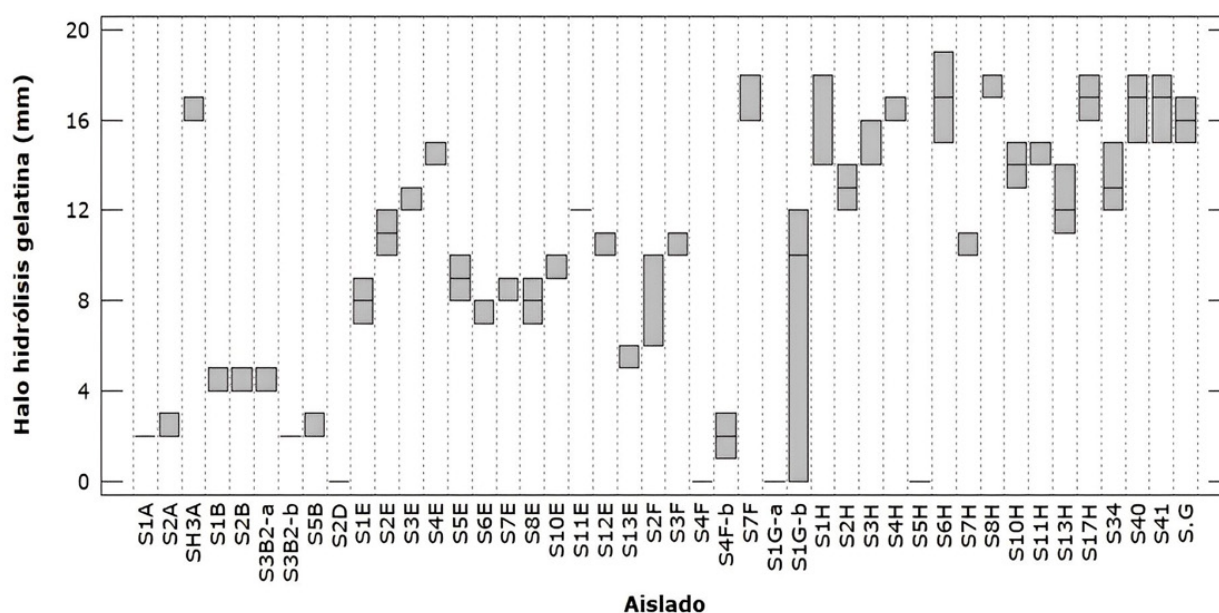


Figura 3. Actividad proteolítica de los aislados, representada en halos de hidrólisis de gelatina revelados con cloruro de mercurio. Se muestran las medianas e intervalos de los datos.

Fuente: autores.

Varias proteasas usadas en la industria como la pronasa y la fradiasa se obtienen a partir de bacterias filamentosas como *S. griseus* y *S. fradiae*, cuya presencia en diferentes suelos ya ha sido reportada (Arora *et al.*, 2005; El-Naggar *et al.*, 2016; Vaijayanthi *et al.*, 2016). Asimismo, Boughachiche *et al.* (2021) obtuvieron 5 aislados de actinobacterias, de las cuales solo 1 (20%)

mostró actividad proteolítica, un porcentaje inferior al obtenido en este trabajo (81%). De igual manera, Palaniyandi *et al.* (2013) colectaron 40 aislados consistentes con *Streptomyces* a partir de la rizosfera de un cultivo de ñame de los cuales solo 11 (28%) hidrolizaron la gelatina, y Kumar *et al.* (2012) obtuvieron 48 aislados de este

género a partir de humus de lombriz, 20 de ellos (42%) con actividad proteolítica.

También se evaluó la actividad lipolítica, y el 70% de los aislados mostraron algún grado de hidrólisis, estos fueron mayores para SH3A y S17H, aunque sin presentar diferencias estadísticas con otros como S3F, S3H y S4H (Figura 4, Tabla A1). Algunas especies de *Streptomyces* que pueden encontrarse en el suelo, por ejemplo *S. clavuligerus*, presentan actividad lipolítica (dos Santos *et al.* 2017). Además, Ugur *et al.* (2014) confirmaron la producción de lipasas para 270 aislados consistentes con este género usando medios de cultivo con

Rodamina-B como indicador de la hidrólisis de aceite de oliva. En otros trabajos, la proporción de aislados lipolíticos con respecto al total de los obtenidos a partir de muestras de suelo no superan el 15%, valores inferiores al alcanzado en este estudio (70%) (Do *et al.*, 2021; Mansour *et al.*, 2015). En comparación con las otras enzimas evaluadas, la producción de lipasas ligada a la disponibilidad de sustrato se ve limitada, considerando la poca cantidad de aceites y grasas presentes en las rizosferas, de la misma forma que en los suelos seleccionados para el aislamiento de actinobacterias.

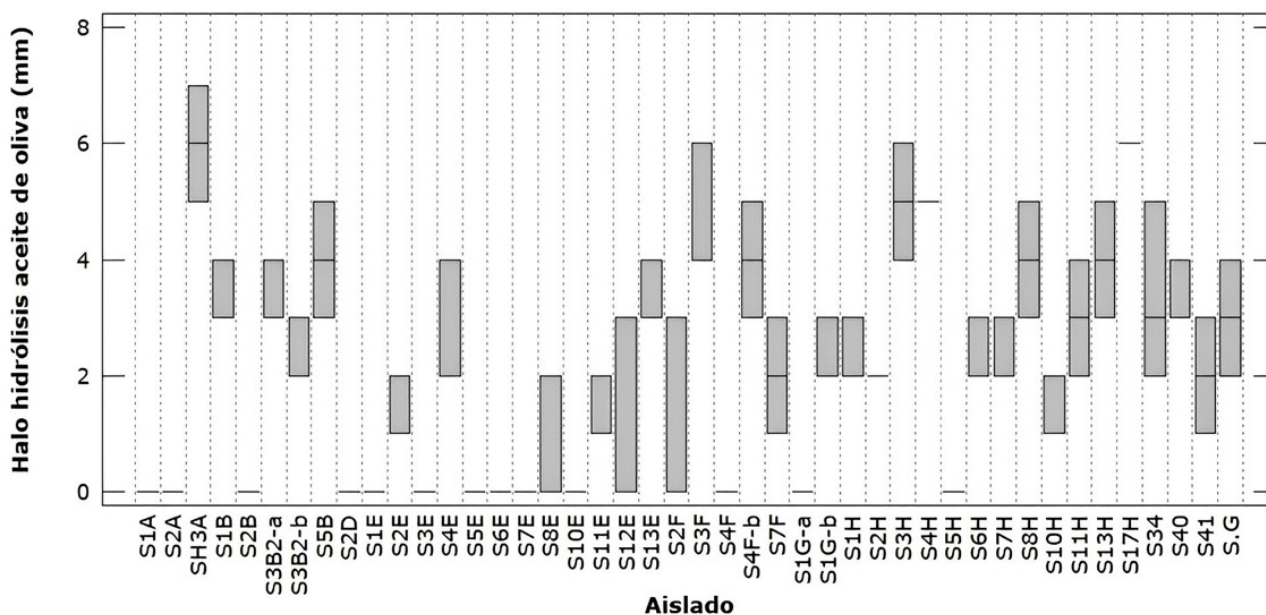


Figura 4. Actividad lipolítica de los aislados, representada en halos de hidrólisis de aceite de oliva revelados con Rodamina-B. Se muestran las medianas e intervalos de los datos.

Fuente: autores.

Finalmente, en todos los sitios de muestreo evaluados se encontró al menos un aislado productor de hidrolasas, y se encontraron

diferencias significativas para cada actividad según el origen de los aislados ($p < 0.05$) (Figura 5, Tabla A2, ver anexo).

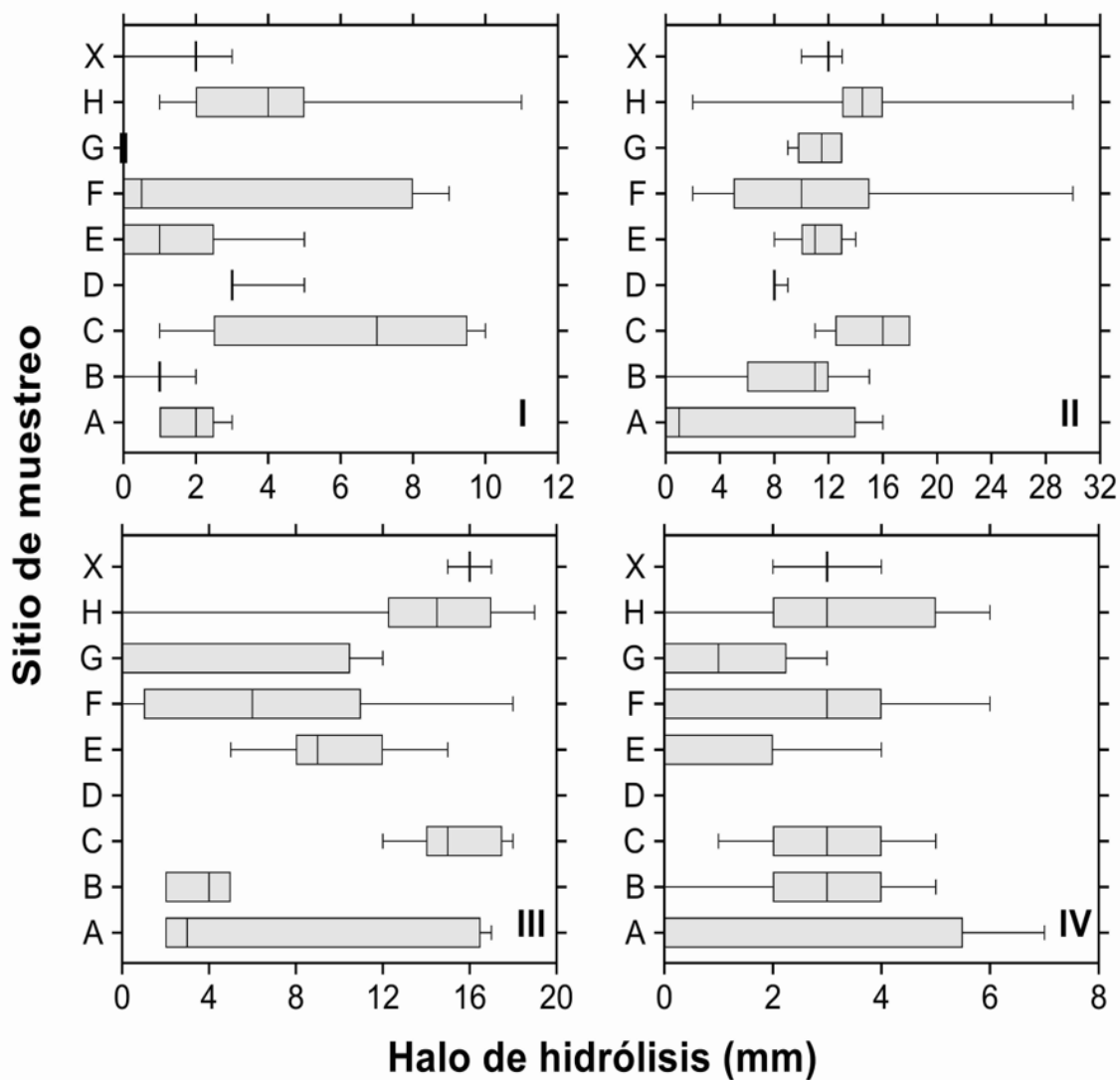


Figura 5. Actividades hidrolíticas evaluadas según el origen de los aislados: I. Amilasas; II. Celulasas; III. Proteasas; IV. Lipasas. Se muestran las medianas e intervalos de los datos para cada sitio de muestreo: A. Rizosfera de bosque nativo; B. Rizosfera de cultivo de hortensias; C. Sistema de compostaje; D. Sendero de bosque nativo; E. Rizosfera de cultivo de aguacate; F. Rizosfera de cultivo de mora andina; G. Rizosfera de cultivo de coles; H. Rizosfera de cerco vivo; X. *Streptomyces griseus* subsp. *griseus* ATCC®10137™.

Fuente: autores.

En general, es posible encontrar actinobacterias en diversos ecosistemas como suelos, sedimentos marinos y de agua dulce, sistemas de compostaje, materia orgánica en descomposición, entre otros. Muchas de las especies de este grupo microbiano, especialmente del género *Streptomyces* que son aisladas de suelos y rizosferas, producen enzimas extracelulares que les permiten utilizar sustratos complejos como almidón, celulosa, hemicelulosa, lignina o incluso gomas, y su actividad enzimática puede ser diferente según el sitio donde se encuentren, pues muchas de sus enzimas son inducibles según los sustratos que tengan disponibles (Quinn *et al.*, 2020; Shivilata y Satyanarayana, 2015).

En este estudio no se aislaron microorganismos amilolíticos a partir de la rizosfera del cultivo de coles, y la mayor actividad se encontró para los obtenidos del sistema de compostaje y las rizosferas del bosque y del cerco vivo. De igual forma, la actividad celulolítica fue mayor para los aislados obtenidos del sistema de compostaje y de la rizosfera del cerco vivo. No se obtuvieron aislados, en la muestra tomada del sendero de bosque nativo, que hidrolizaran gelatina; y la mayor actividad proteolítica la presentaron los aislados obtenidos de la rizosfera del cerco vivo y del sistema de compostaje. El único aislado obtenido a partir del sendero del bosque tampoco mostró actividad lipolítica; los demás sitios de muestreo presentaron aislados con actividades lipolíticas sin diferencias significativas. Se comprobó, además, la capacidad hidrolítica de

la cepa *Streptomyces griseus* subsp. *griseus* ATCC®10137™, la cual no fue diferente, con una confianza del 95%, de las mayores productoras de amilasas, celulasas, proteasas y lipasas encontradas en este estudio.

Los sitios de muestreo que permitieron recuperar una mayor proporción de aislados con actividad hidrolítica fueron la rizosfera del cerco vivo y el sistema de compostaje. La rizosfera del cerco vivo de *Swinglea glutinosa* (Blanco) Merr. es un ambiente con alteraciones antropogénicas debido al suministro de fertilizantes que representan fuentes de nitrógeno adicionales para la microbiota asociada con las raíces de estos arbustos; este suelo en el momento del muestreo, presentó menores niveles de humedad que las demás muestras, y esto puede dar ventajas competitivas a algunas bacterias filamentosas sobre otro tipo de bacterias (Radha *et al.*, 2017).

Por otro lado, el sistema de compostaje, del cual fueron obtenidos los aislados S34, S40 y S41, fue implementado con el fin de realizar el tratamiento de residuos orgánicos con alto contenido de almidón y celulosa, al igual que de proteínas y lípidos en menor medida. La presencia de bacterias filamentosas es un indicador de la madurez del sistema de compostaje, y en este estudio, aunque se encontraron pocos aislados, estos sí presentaron un potencial enzimático importante. En otro trabajo similar, se reportó la recuperación de 90 aislados a partir de un sistema de compostaje establecido a partir de residuos agroindustriales y vegetales, aun-

que solo cuatro de ellos mostraron potencial celulolítico superior a los obtenidos en este estudio (Amore *et al.*, 2012).

Según los resultados de esta investigación, las rizosferas y los sistemas de compostaje son sitios potenciales para encontrar aislados de bacterias filamentosas productoras de enzimas hidrolíticas con múl-

tiples aplicaciones en la industria, siendo posible que haya una relación entre las actividades enzimáticas de los aislados obtenidos y las propiedades fisicoquímicas del lugar de muestreo, sin embargo, el número de bacterias recuperadas en algunos suelos fue muy bajo y no confirmó dicha relación.

4. CONCLUSIONES

Se encontraron bacterias filamentosas en diferentes tipos de suelo, incluyendo rizosferas de cultivos artesanales y de bosques nativos; y, aunque se reporta en la literatura que el tipo de suelo ideal para el aislamiento de estas bacterias es uno ligeramente alcalino con alta cantidad de materia orgánica además de poca intervención antropogénica, en este estudio fueron encontrados muchos aislados en suelos manipulados para la formación de cercos vivos al lado de una vía pavimentada. De igual forma, se confirmó la presencia de

actinobacterias con alta actividad hidrolítica en un sistema de compostaje casero, la cual puede estar asociada a la alta disponibilidad de moléculas complejas como almidón y celulosa en los sustratos. Aún falta analizar la relación entre la presencia de dichas moléculas en las rizosferas y la actividad enzimática expresada por las actinobacterias nativas. Igualmente, se debe estudiar si las rizosferas de cultivos diferentes permiten establecer interacciones microbianas que potencien la liberación de ciertas enzimas.

CONTRIBUCIÓN DE LA AUTORÍA

Víctor Manuel Osorio-Echeverri: Metodología, investigación, análisis de datos, conceptualización, administración del proyecto, escritura, borrador original.
Jessica Johanna Obando-García: meto-

dología, investigación, análisis de datos.
Elizabeth Castrillón-Duque: metodología, investigación, análisis de datos.
José Gregorio Martínez: análisis de datos, revisión y edición.

AGRADECIMIENTOS

A la Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia por la financiación del proyecto “Potencial enzimático de actinomicetos aislados de suelo y de un proceso de compostaje”, aprobado según ACTA 29 del 17 de diciembre de 2013.

A Juan Alberto Trujillo-Salazar por su tiempo dedicado en el planteamiento del proyecto; a Marcela Mora-López por su

apoyo en algunos análisis estadísticos y en la actualización del manuscrito final; a los estudiantes del Semillero de Investigación de la Facultad de Ciencias de la Salud (SIFACS) que participaron en algunas actividades en el laboratorio; y a las docentes asesoras, por el acompañamiento a los estudiantes en la presentación de la propuesta y de algunos resultados preliminares.

LITERATURA CITADA

- Amore, A., Pepe, O., Ventorino, V., Birollo, L., Giangrande, C., and Faraco, V. (2012). Cloning and recombinant expression of a cellulase from the cellulolytic strain *Streptomyces* sp. G12 isolated from compost. *Microbial Cell Factories*, 11, 164. <http://doi.org/10.1186/1475-2859-11-164>
- Arora, A., Nain, L., and Gupta, J. K. (2005). Solid-state fermentation of wood residues by *Streptomyces griseus* B1, a soil isolate, and solubilization of lignins. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 21, 303-308. <http://doi.org/10.1007/s11274-004-3827-3>
- Atlas, R. M. (2010). *Handbook of Microbiological Media*. [4^a ed.]. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/EBK1439804063>
- Ayuningrum, D., Sabdaningsih, A., and Jati, O. (2021). Screening of actinobacteria-producing amylolytic enzyme in sediment from *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) ponds in Rembang District, Central Java, Indonesia. *Biodiversitas*, 22(4), 1819-1828. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d220427>
- BBC Publishing. (2021). *Global Markets for Enzymes in Industrial Applications. Report Highlights*. <https://www.bccresearch.com/market-research/biotechnology/global-markets-for-enzymes-in-industrial-applications.html>
- Bentley, S. D., Chater, K. F., Cerdeño-Tárraga, A.-M., Challis, G. L., Thomson, N. R., James, K. D., Harris, D. E., Quail, M. A., Kieser, H., Harper, D., Bateman, A., Brown, S., Chandra, G., Chen, C. W., Collins, M., Cronin, A., Fraser, A., Goble, A., Hidalgo, J., and Hopwood, D. A. (2002). Complete genome sequence

- of the model actinomycete *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Nature*, 417, 141-147. <http://doi.org/10.1038/417141a>
- Boughachiche, F., Rachedi, K., Zerizer, H., Duran, R., Karama, S., Biaci, M., Aknouche, Z., Bouchina, S., and Boulahrouf, A. (2021). Production of protease on wheat bran by a newly isolated *Streptomyces* sp. under solid state fermentation. *Journal of Bio-Science*, 29(1), 33-48. <https://doi.org/10.3329/jbs.v29i0.54820>
- Business Wire. (2019). *Industrial enzymes market growth, trends, and forecast 2019-2024: Novozymes, DowDuPont, Royal DSM, AB Enzymes, and BASF Account for 75% of the Total Market*. Author. <https://www.businesswire.com/news/home/20190329005262/en/Industrial-Enzymes-Market-Growth-Trends-Forecast-2019-2024>
- Castañeda-Cisneros, Y. E., Mercado-Flores, Y., Anducho-Reyes, M. A., Álvarez-Cervantes, J., Ponce-Lira, B., Evangelista-Martínez, Z., and Téllez-Jurado, A. (2020). Isolation and selection of *Streptomyces* species from semi-arid agricultural soils and their potential as producers of xylanases and cellulases. *Current Microbiology*, 77, 3460-3472. <https://doi.org/10.1007/s00284-020-02160-7>
- Celaya-Herrera, S., Casados-Vázquez, L. E., Valdez-Vázquez, I., Barona-Gómez, F., Bideshi, D. K., and Barboza-Corona, J. E. (2021). A cellulolytic *Streptomyces* sp. isolated from a highly oligotrophic niche shows potential for hydrolyzing agricultural wastes. *BioEnergy Research*, 14, 333-343. <https://doi.org/10.1007/s12155-020-10174-z>
- Danso, B., Ali, S. S., Xie, R., and Sun, J. (2022). Valorisation of wheat straw and bioethanol production by a novel xylanase- and cellulase-producing *Streptomyces* strain isolated from the wood-feeding termite, *Microcerotermes* species. *Fuel*, 310(PartA), 122333. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2021.122333>
- Das, P., Solanki, R., and Khanna, M. (2014). Isolation and screening of cellulolytic actinomycetes from diverse habitats. *International Journal of Advanced Biotechnology and Research*, 5(3), 438-451
- Do, T. T., Le V. T., Ngo, C. C., Do, T. T. H., and Dang, T. H. P. (2021). Biological characteristics and classification of thermophilic actinomycetes showed extracellular hydrolytic enzymes producing ability isolated from compost. *E3S Web of Conferences*, 265, 04008. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202126504008>
- dos Santos, J. B. C., Da Silva Cruz, R. G., and Tardioli, P. W. (2017). Production of whole-cell lipase from *Streptomyces clavuligerus* in a bench-scale bioreactor and its first evaluation as biocatalyst for synthesis in organic medium. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 183, 218-240. <https://doi.org/10.1007/s12010-017-2440-5>
- El-Naggar, N. E., Deraz, S. F., Soliman, H. D., El-Deeb, N. M., and El-Ewasy, S. M.

- (2016). Purification, characterization, cytotoxicity and anticancer activities of L-asparaginase, anti-colon cancer protein, from the newly isolated alkaliphilic *Streptomyces fradiae* NEAE-82. *Scientific Reports*, 6, 32926. <https://doi.org/10.1038/srep32926>
- Fasim, A., More, V. S., and More, S. S. (2021). Large-scale production of enzymes for biotechnology uses. *Current Opinion in Biotechnology*, 69, 68-76. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2020.12.002>
- Gajda, A. M., Czyz, E. A., Dexter, A. R., Furtak, K. M., Grządziel, J., and Stanek-Tarkowska, J. (2018). Effects of different soil management practices on soil properties and microbial diversity. *International Agrophysics*, 32, 81-91. <https://doi.org/10.1515/intag-2016-0089>
- Goodfellow, M. (2012). Phylum XXVI. Actinobacteria phyl. nov. En M. Goodfellow, P. Kämpfer, H.-J. Busse, M.E. Trujillo, K. Suzuki, W. Ludwig, and W.B. Whitman (Eds), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: The Actinobacteria* (Vol 5. pp. 33-2028). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-68233-4>
- Haritha, R., Siva Kumar, K., Jagan Mohan, Y. S. Y. V., and Ramana, T. (2010). Amyolytic and protelytic actinobacterial isolated from marine sediments of Bay of Bengal. *International Journal of Microbiology Research*, 1(2), 37-44.
- Hormoznejad, R., Saberi, S., Moridnia, A., Azish, M., and Elyasi Far, B. (2022). Optimization of the alpha-amylase production from microbial source: a systematic review of experimental studies. *Trends in Medical Sciences*, 2(2), e129317. <https://doi.org/10.5812/tms-129317>
- Kumar, V., Bharti, A., Negi, Y. K., Gusain, O., Pandey, P., and Bish, G. S. (2012). Screening of actinomycetes from earthworm castings for their antimicrobial activity and industrial enzymes. *Brazilian Journal of Microbiology*, 43(1), 205-214. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822012000100022>
- Lamilla, C., Pavez, M., Santos, A., Hermosilla, A., Llanquinao, V., and Barrientos, L. (2017). Bioprospecting for extracellular enzymes from culturable Actinobacteria from the South Shetland Islands, Antarctica. *Polar Biology*, 40, 719-726. <https://doi.org/10.1007/s00300-016-1977-z>
- Mansour, S. R., Abdel-Azeem, A. M., and Abo-Deraz, S. S. S. (2015). A new record of actinobacteria isolated from soil in Jerusalem and their enzymatic potential [version 1; peer review: 2 not approved]. *F1000Research*, 4, 11. <https://doi.org/10.12688/f1000research.3257.1>
- Mohamed, M. A., and Awad, H. M. (2021). New lipase-producing *Streptomyces* isolated from halo-alkaline habitat in Wadi El Natrun: polyphasic identification and statistical optimization of enzyme production. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 10, 3. <https://doi.org/10.1186/s43088-020-00090-8>

- Nigam, P. S. (2013). Microbial enzymes with special characteristics for biotechnological applications. *Biomolecules*, 3, 152-166. <https://doi.org/10.3390/biom3030597>
- Nithya, K., Muthukumar, C., Kadaikunnan, S., Alharbi, N. S., Khaled, J. M., and Dhanasekaran, D. (2017). Purification, characterization, and statistical optimization of a thermostable α -amylase from desert actinobacterium *Streptomyces fragilis* DA7-7. *3 Biotech*, 7, 350. <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0981-5>
- Ousaadi, M. I., Merouane, F., Berkani, M., Almomani, F., Vasseghian, Y., and Kitouni, M. (2021). Valorization and optimization of agro-industrial orange waste for the production of enzyme by halophilic *Streptomyces* sp. *Environmental Research*, 201, 111494. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.111494>
- Palaniyandi, S. A., Yang, S. H., and Suh, J.-W. (2013). Extracellular proteases from *Streptomyces phaeopurpureus* ExPro138 inhibit spore adhesion, germination and appressorium formation in *Colletotrichum coccodes*. *Journal of Applied Microbiology*, 115(1), 207-217. <https://doi.org/10.1111/jam.12212>
- Pérez, N., Jaramillo J, D. F., Ruiz, O. S., and Parra, L. N. (2017). Caracterización de un Andisol de la cuenca alta de la quebrada Santa Elena, Oriente Antioqueño, Colombia. *Revista de La Facultad de Ciencias*, 6(1), 24-38. <https://doi.org/10.15446/rev.fac.cienc.v6n1.60628>
- Prasad, P., Singh, T., and Bedi, S. (2013). Characterization of the cellulolytic enzyme produced by *Streptomyces griseorubens* (Accession No. AB184139) isolated from Indian soil. *Journal of King Saud University-Science*, 25, 245-250. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2013.03.003>
- Quinn, G. A., Banat, A. M., Abdelhameed, A. M., and Banat, I. M. (2020). *Streptomyces* from traditional medicine: sources of new innovations in antibiotic discovery. *Journal of Medical Microbiology*, 69(8), 1040-1048. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.001232>
- Radha, T. K., Rao, D. L. N., and Sreeramulu, K. R. (2017). Actinobacteria of arid and semi-arid soils: Antagonism to fungal pathogens and plant growth promoting potential. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 11(2), 1045-1052. <https://doi.org/10.22207/JPAM.11.2.47>
- Santos, É. R., Teles, Z. N. S., Campos, N. M., Souza, D. A. J., Bispo, A. S. R., and Nascimento, R. P. (2012). Production of α -amylase from *Streptomyces* sp. SLBA-08 strain using agro-industrial by-products. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 55(5), 793-800. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132012000500020>
- Shi, B., Zhang, J., Wang, C., Ma, J., and Sun, W. (2018). Responses of hydrolytic enzyme activities in saline-alkaline soil to mixed inorganic and organic nitrogen addition. *Scientific Reports*, 8, 4543.

<https://doi.org/10.1038/s41598-018-22813-9>

Shivlata, L., and Satyanarayana, T. (2015). Thermophilic and alkaliphilic Actinobacteria: biology and potential applications. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1014. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01014>

Singh, R., Kumar, M., Mittal, A., and Mehta, P. K. (2016). Microbial enzymes: industrial progress in 21st century. *3 Biotech*, 6, 174. <http://doi.org/10.1007/s13205-016-0485-8>

Sundarram, A., and Krishna Murthy, T. P. (2014). α -Amylase production and applications: a review. *Journal of Applied & Environmental Microbiology*, 2(4), 166-175. <http://doi.org/10.12691/jaem-2-4-10>

Suthindhiran, K., Jayasri, M. A., Dipali, D., and Prasar, A. (2014). Screening and characterization of protease pro-

ducing actinomycetes from marine saltern. *Journal of Basic Microbiology*, 54, 1098-1109. <https://doi.org/10.1002/jobm.201300563>

Ugur, A., Sarac, N., Boran, R., Ayaz, B., Ceylan, O., and Okmen, G. (2014). New lipase for biodiesel production: partial purification and characterization of LipSB 25-4. *ISRN Biochemistry*, 2014, 289749. <https://doi.org/10.1155/2014/289749>

Vaijayanthi, G., Vijayakumar, R., and Dhanasekaran, D. (2016). Actinobacteria-A biofactory of novel enzymes. En D. Dhanasekaran (Ed), *Actinobacteria-Basics and Biotechnological Applications* (pp. 329-352). Intech. <https://doi.org/10.5772/61436>

Waites, M. J., Morgan, N. L., Rockey, J. S., and Higton, G. (2001). Microbial enzymes. En *Industrial Microbiology: An Introduction* (pp. 133-143). Blackwell Science.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.



Licencia de Creative Commons

Revista de Investigación Agraria y Ambiental is licensed under a Creative Commons Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual 4.0 Internacional License.

