

Estudio del efecto de algunos nutrientes sobre la producción de celulasas por hongos filamentosos

L. ABÍN, G. GUERRA Y A. HERRERA

Fac. de Biología, Universidad de La Habana, Cuba

Recibido: 21 de mayo de 1982

Recibido: 10 de noviembre de 1982

ABSTRACT. Several cellulolytic fungi as belonging to the species and genera: *Aspergillus sp.*, *Cladosporium sp.*, *Chaetomium globosum*, *Fusarium sp.*, *Penicillium sp.*, *Trichoderma viride* and *T. lignorum* were tested in relation to some nitrogen sources and cellulase excretion, principally C_x . The nitrogen sources: ammonium sulphate, urea, glutamic acid, casein and peptone were tested, resulting peptone the best when was added to the medium of Reese and Mandels. The strain of *Penicillium sp.*, was selected for its better excretion of cellulase and an experimental design was realized with it, in order to shows the influence of peptone and casein on cellulase C_x and C_1 .

RESUMEN. Se presenta un estudio realizado con hongos filamentosos celulolíticos, pertenecientes a las especies y géneros: *Aspergillus sp.*, *Cladosporium sp.*, *Chaetomium globosum*, *Fusarium sp.*, *Penicillium sp.*, *Trichoderma viride* y *T. lignorum*, en relación con el efecto de algunas fuentes de nitrógeno y la producción de celulasas, principalmente C_x . De las fuentes de nitrógeno ensayadas: sulfato de amonio, urea, ácido glutámico, caseína y peptona, resultó esta última la mejor, en el medio de Reese y Mandels, obteniéndose niveles de actividad celulolítica apreciablemente superiores. Fue elegida la cepa de *Penicillium sp.*, por su mayor actividad celulolítica C_x para la realización de un diseño experimental que comprobara definitivamente la influencia de la peptona y la caseína sobre la excreción de celulasas C_x y C_1 en el medio de cultivo.

INTRODUCCION

Las enzimas que hidrolizan la celulosa reciben el nombre común de celulasas siendo su nombre sistemático el de β 1-4 glucan 4-glucanohidrolasas; la primera parte del nombre sistemático indica el sustrato, en este caso β 1-4 polímero de glucosa; la segunda parte designa una reacción que es catalizada por la enzima.

Reese, Siu y Levinson¹, sugirieron la existencia del componente C_1 en el sistema enzimático de las celulasas; esto lo hicieron en base a que ciertos

microorganismos podían crecer en un medio con celulosa como única fuente de carbono; mientras que otros requerían fuentes de carbono más fácilmente asimilables como la carboximetilcelulosa o celobiosa. Se ha reportado por la literatura la existencia de hongos que presentan su máxima actividad celulolítica a pH 6,5. Taspulation y Teslinova², plantearon que la mayor actividad mostrada por *T. lignorum* fue a pH 5,5. Kim y cols.³, plantearon que el pH óptimo para la producción de celulasas en *P. notatum* era de 4 y en *T. viride* de 5. Miyauchi y cols.⁴, reportaron que varias especies de *Fusarium* presentaban un pH óptimo de 5. Se sabe que filtrados de *M. verrucaria* actuando sobre carboximetilcelulosa requieren una temperatura óptima de 50°C. Toyama y Ogama⁵ reportan que a 45°C es mejor la actividad celulolítica con cultivos de *T. viride*. Kim y cols.³ reportan que la temperatura óptima para la actividad celulolítica en *P. notatum* era de 60°C, mientras que con *T. viride* era de 50°C. Miyau-chi y cols.⁴ plantearon que ciertas especies de *Fusarium* presentaban temperatura óptima de actividad celulolítica de 40°C.

El presente trabajo, se orientó desde su inicio, hacia el estudio de las condiciones nutricionales de 8 hongos ya caracterizados como celulolíticos; con vista a obtener de ellos una mejor producción de celulasas, considerando como fuente de carbono a materiales celulósicos químicamente puros; estudiándose el efecto de varias fuentes de nitrógeno, determinándose la actividad celulolítica C_x y C_1 .

MATERIALES Y METODOS

Microorganismos. Los microorganismos utilizados fueron aislados y caracterizados como celulolíticos, pertenecientes al grupo de hongos filamentosos. Se seleccionaron las especies *Aspergillus sp.*, *Chaetomiium globosum*, *Cladosporium sp.*, *Fusarium sp.*, *Mucor sp.*, *Penicillium sp.*, *Trichoderma lignorum* y *T. viride*.

Conservación de los microorganismos. Los microorganismos fueron sembrados con asa en medio extracto de malta-agar, incubándose a 30°C durante 96 horas, guardándose en refrigeración a 4°C y sembrándose cada 45 días.

Medios de cultivo. Fueron en su origen dos, el medio Czapek y el de Reese y Mandels⁶. Ambos sufrieron modificaciones durante el curso de las investigaciones manteniéndose algunos de los nutrientes constantes, constituyendo éstos el medio basal. Las modificaciones efectuadas fueron las siguientes: Para la fuente de carbono, se empleó papel Whatman No. 1 (10 g/l), o carboximetilcelulosa (sal sódica, con grado de sustitución 0,7-0,8 B.D.H.) y para la fuente de nitrógeno, se hicieron varias modificaciones en los medios de cultivo como son: NO_3Na 3 g/l; $\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$ 1 g/l y 1,4 g/l; urea 0,3 g/l y 1 g/l; ácido glutámico 1 g/l; peptona micológica Oxoid L-40 1 g/l, 5 g/l y 10 g/l, hidrolizado ácido de caseína Oxoid 1 g/l, 5 g/l, y 10 g/l.

Inoculación de los frascos de cultivo. Los hongos, con 72 horas de sembrados, se resuspenden sus esporas en 5 ml de agua destilada estéril, inoculándose una alícuota de la suspensión de esporas en los frascos para experimentación.

Condiciones de cultivo para los frascos de experimentación. Se emplearon erlenmeyers de 500 ml de capacidad con 100 ml de medio de cultivo e incubaron a 30°C en zaranda giratoria a 120 r.p.m. En la mayoría de los casos se cultivaron durante 7 días, al cabo de los cuales se les determinó la actividad celolítica. En otros casos se tomaron alícuotas de los cultivos a diferentes horas y asépticamente.

Toma de muestras. La toma de muestras se efectuó mediante extracción aséptica de 10 ml del cultivo a diferentes tiempos de incubación. Se aplicó el método de aleatorización del muestreo mediante el uso de tablas de permutación al azar, según Cochran y Cox⁷.

Determinación de la actividad enzimática C_s . Se empleó una modificación que consistió en la adición de 4 ml de una solución tampón de citrato, 1 ml del líquido de la fermentación libre de células, a pH 5 y 50°C, incubándose por una hora y determinando azúcares reductores producidos.

Determinación de azúcares reductores. Se siguió el método del ácido dinitrosalicílico, de Summer y Somers⁹, modificado por Miller¹⁰.

Determinación de la actividad enzimática C_1 . Se empleó una combinación de los métodos de Mandels y Weber¹¹ y Gupta y cols.⁸, a pH 5 y 50°C. Después de una hora de incubación, se determina la producción de carbohidratos totales solubles.

Determinación de carbohidratos totales solubles. Fue utilizado el método del fenol-sulfúrico reportado por Dubois y cols.¹².

TABLA I

Determinación de celulasa C_x en varias especies de hongos celulolíticos en medio Czapek con 1% de celulosa y diferentes fuentes de nitrógeno

| Microorganismos | Fuentes de Nitrógeno | | | | | |
|-------------------------|-----------------------------|--|---------------|------------------|------------------|--------------------|
| | NO ₃ Na 3 g/l | SO ₄ (NH ₄) ₂ 1 g/l | Urea 1 g/l | Peptona 1 g/l | Peptona 5 g/l | Glutámico 1 g/l |
| <i>Aspergillus sp.</i> | 1.54 | 0.00 | 1.54 | 2.14 | 2.62 | 0.00 |
| <i>C. globosum</i> | 0.00 | 0.00 | 1.54 | 2.14 | 2.62 | 1.54 |
| <i>Cladosporium sp.</i> | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| <i>Fusarium sp.</i> | 3.86 | 1.54 | 3.86 | 1.54 | 4.29 | 3.86 |
| <i>Mucor sp.</i> | 1.43 | 2.83 | 1.43 | 3.57 | 0.00 | 0.00 |
| <i>Penicillium sp.</i> | 6.20 | 2.98 | 0.00 | 0.00 | 13.48 | 6.20 |
| <i>T. lignorum</i> | 1.54 | 0.00 | 0.00 | 3.93 | 5.60 | 1.54 |
| <i>T. viride</i> | 11.81 | 2.86 | 0.00 | 12.76 | 0.00 | 4.41 |

Nota: Los resultados obtenidos están expresados en microgramos de azúcares reductores dados como glucosa, por mililitro del extracto enzimático en 1 hora de incubación

RESULTADOS Y DISCUSION

Influencia de diferentes fuentes de nitrógeno en la excreción de celulasa C_x. Como puede apreciarse en las Tablas I y II se exponen los resultados obtenidos en relación con la actividad celulolítica C_x, empleando celulosa como fuente de carbono, así como los medios Czapek y de Reese y Mandels⁶, además de variantes donde se añadieron diferentes fuentes de nitrógeno. El cultivo de estos hongos filamentosos en ambos medios, mostraron valores de actividad C_x bajos, sobre todo por los hongos *Aspergillus sp.*, *C. globosum*, *Fusarium sp.*, *Mucor sp.*, *T. Lignorum* y *T.*

viride, observándose un aumento relativo en las cepas *Cladosporium sp.*, y *Penicillium sp.*, características similares han sido reportadas por Siu¹³, así como por Chabal y Dhaliwa¹⁴ respecto a la fuente de carbono. Si se observan los valores en su conjunto se ve que fueron superiores en el medio de Reese y Mandels (Tabla II), en comparación con los obtenidos en el medio Czapek (Tabla I).

TABLA II

Determinación de celulasa C_x en varias especies de hongos celulolíticos en medio Reese y Mandels, con 1% de celulosa y diferentes fuentes de nitrógeno

| Microorganismos | NO ₃ Na 3 g/l | SO ₄ (NH ₄) ₂ 1 g/l | Fuentes de nitrógeno | | | |
|-------------------------|-----------------------------|--|----------------------|------------------|------------------|--------------------|
| | | | Urea 1 g/l | Peptona 1 g/l | Peptona 5 g/l | Glutámico 1 g/l |
| <i>Aspergillus sp.</i> | 2.36 | 1.93 | 0.00 | 2.36 | 1.39 | 0.00 |
| <i>C. globosum</i> | 1.39 | 0.00 | 3.44 | 1.39 | 1.93 | 1.39 |
| <i>Cladosporium sp.</i> | 8.70 | 13.00 | 0.00 | 6.44 | 0.00 | 0.00 |
| <i>Fusarium sp.</i> | 0.00 | 0.00 | 2.14 | 1.54 | 1.54 | 0.00 |
| <i>Mucor sp.</i> | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 3.21 | 1.55 |
| <i>Penicillium sp.</i> | 26.48 | 11.57 | 26.48 | 9.06 | 11.81 | 6.44 |
| <i>T. lignorum</i> | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 1.54 | 2.14 | 0.00 |
| <i>T. viride</i> | 6.68 | 0.00 | 2.62 | 4.29 | 0.00 | 4.29 |

Cuando se combinaron 3 fuentes de nitrógeno, de las ya probadas por separado, (SO₄(NH₄)₂ 0,1%, urea 0,1%, peptona 0,1%), en los medios salinos antes señalados, con celulosa al 1%, se obtuvieron en general notables mejorías en la excreción de celulasas C_x por las 8 especies en estudio, comportándose la cepa de *Penicillium sp.*, como la de mayor actividad presentada (Tabla III). Estos resultados concuerdan con lo reportado por Chabal y Dhaliwa¹⁴ en lo que respecta la urea y con sulfato de amonio según Kalunyants y cols.¹⁵.

viride, observándose un aumento relativo en las cepas *Cladosporium sp.*, y *Penicillium sp.*, características similares han sido reportadas por Siu¹³, así como por Chabal y Dhaliwa¹⁴ respecto a la fuente de carbono. Si se observan los valores en su conjunto se ve que fueron superiores en el medio de Reese y Mandels (Tabla II), en comparación con los obtenidos en el medio Czapek (Tabla I).

TABLA II

Determinación de celulasa C_x en varias especies de hongos celulolíticos en medio Reese y Mandels, con 1% de celulosa y diferentes fuentes de nitrógeno

| Microorganismos | NO ₃ Na 3 g/l | SO ₄ (NH ₄) ₂ 1 g/l | Fuentes de nitrógeno | | | |
|-------------------------|-----------------------------|--|----------------------|------------------|------------------|--------------------|
| | | | Urea 1 g/l | Peptona 1 g/l | Peptona 5 g/l | Glutámico 1 g/l |
| <i>Aspergillus sp.</i> | 2.36 | 1.93 | 0.00 | 2.36 | 1.39 | 0.00 |
| <i>C. globosum</i> | 1.39 | 0.00 | 3.44 | 1.39 | 1.93 | 1.39 |
| <i>Cladosporium sp.</i> | 8.70 | 13.00 | 0.00 | 6.44 | 0.00 | 0.00 |
| <i>Fusarium sp.</i> | 0.00 | 0.00 | 2.14 | 1.54 | 1.54 | 0.00 |
| <i>Mucor sp.</i> | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 3.21 | 1.55 |
| <i>Penicillium sp.</i> | 26.48 | 11.57 | 26.48 | 9.06 | 11.81 | 6.44 |
| <i>T. lignorum</i> | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 1.54 | 2.14 | 0.00 |
| <i>T. viride</i> | 6.68 | 0.00 | 2.62 | 4.29 | 0.00 | 4.29 |

Cuando se combinaron 3 fuentes de nitrógeno, de las ya probadas por separado, (SO₄(NH₄)₂ 0,1%, urea 0,1%, peptona 0,1%), en los medios salinos antes señalados, con celulosa al 1%, se obtuvieron en general notables mejorías en la excreción de celulasas C_x por las 8 especies en estudio, comportándose la cepa de *Penicillium sp.*, como la de mayor actividad presentada (Tabla III). Estos resultados concuerdan con lo reportado por Chabal y Dhaliwa¹⁴ en lo que respecta la urea y con sulfato de amonio según Kalunyants y cols.¹⁵.

TABLA III

Determinación de celulasa C_x de varias especies de hongos celulolíticos crecidos en medio Czapek y de Reese y Mandels, con 1% de celulosa, como fuentes de nitrógeno: $SO_4(NH_4)_2$ 0 1% y peptona 0,1%

| Microorganismos | Actividad celulolítica C_x | |
|-------------------------|------------------------------|-----------------|
| | Czapek | Reese y Mandels |
| <i>Aspergillus sp.</i> | 1.93 | 1.93 |
| <i>C. globosum</i> | 2.90 | 2.90 |
| <i>Cladosporium sp.</i> | 1.93 | 2.90 |
| <i>Fusarium sp.</i> | 2.90 | 5.48 |
| <i>Mucor sp.</i> | 2.90 | 4.94 |
| <i>Penicillium sp.</i> | 14.08 | 17.95 |
| <i>T. lignorum</i> | 2.36 | 3.44 |
| <i>T. viride</i> | 2.36 | 2.90 |

Excreción de celulasa C_x empleando como fuente de carbono carboximetilcelulosa en presencia de diferentes fuentes de nitrógeno. Cuando se empleó carboximetilcelulosa al 1% como única fuente de carbono, empleando las mismas condiciones nutricionales y de cultivo citadas en el experimento anterior, se puede apreciar un aumento en la actividad enzimática C_x , que en sentido general abarcó a todos los hongos ensayados (Tabla IV); mientras que con las mismas condiciones y nutrientes pero con la adición de extracto de levaduras al 0,1% se obtuvo una excreción de celulasa C_x aún más notable en la cepa de *Penicillium sp.*, y en menor cantidad con *Fusarium sp.*, y *Mucor sp.*, respectivamente (Tabla V), aportando el medio basal de Reese y Mandels mejores niveles de excreción celulolítica, que el medio salino basal de Czapek. Cuando se sustituyó la peptona por la caseína, a la misma concentración, se encontraron también buenos resultados con respecto a C_x , volviéndose a destacar la cepa de *Penicillium sp.* (Tabla VI). De todas las fuentes de nitrógeno ensayadas, la peptona y la caseína fueron las que mostraron mayor estimulación

para la excreción de celulasas C_x . La influencia de la peptona y la caseína en los cultivos de *Penicillium sp.*, en la excreción de celulasas C_x y C_1 . Lizak¹⁶, obtuvo que para la producción de celulasas en hongos, la peptona y la caseína eran las mejores fuentes de nitrógeno orgánico; además comprobó que la adición de extracto de levadura estimulaba la formación de celulasa C_x . Gupta y cols.⁸ obtuvieron los mejores resultados al combinar como fuentes de nitrógeno al sulfato de amonio, peptona y urea.

TABLA IV

Determinación de celulasa C_x de varias especies de hongos celulolíticos crecidos en medio Czapek y de Reese y Mandels, con 1% de carboximetilcelulosa y como fuentes de nitrógeno: $SO_4(NH_4)_2$ 0.1%, urea 0.1% y peptona 0.1%

| Microorganismos | Actividad celulolítica C_x | |
|-------------------------|------------------------------|-----------------|
| | Czapek | Reese y Mandels |
| <i>Aspergillus sp.</i> | 5.48 | 10.96 |
| <i>C. globosum</i> | 10.96 | 8.17 |
| <i>Cladosporium sp.</i> | 7.09 | 12.79 |
| <i>Fusarium sp.</i> | 12.25 | 14.72 |
| <i>Mucor sp.</i> | 13.43 | 13.43 |
| <i>Penicillium sp.</i> | 1.39 | 15.02 |
| <i>T. lignorum</i> | 0.00 | 8.17 |
| <i>T. viride</i> | 14.08 | 20.10 |

Según Mandels y Weber¹¹, la peptona es un aditivo satisfactorio, siendo su concentración óptima entre 0,1% y 0,2%.

Como se ha dicho, quedó en evidencia que la cepa *Penicillium sp.* mostró mayor actividad celulolítica, bajo las condiciones ya reportadas, eligiéndose a ésta para la realización de un diseño experimental completamente al azar, con el objetivo de observar si la peptona podía suministrar ver-

daderamente un efectivo y eficaz aumento en la excreción de celulasas. Los niveles de actividad celololítica registrados, pueden observarse en las Tablas VII y VIII, donde se reportan 4 réplicas de cultivo para diferentes concentraciones de peptona micológica (Oxoid L-40).

TABLA V

Determinación de celulasa C_x de varias especies de hongos celololíticos crecidos en medio Czapek y de Reese y Mandels, con un 1% de carboximetilcelulosa, como fuentes de nitrógeno: SO₄(NH₄)₂ 0.1%, peptona 0.1%, urea 0.1%, extracto de levaduras 0.1%

| Microorganismos | Actividad celololítica C _x | |
|-------------------------|---------------------------------------|-----------------|
| | Czapek | Reese y Mandels |
| <i>Aspergillus sp.</i> | 4.94 | 8.17 |
| <i>C. globosum</i> | 21.60 | 10.42 |
| <i>Cladosporium sp.</i> | 6.02 | 2.36 |
| <i>Fusarium sp.</i> | 16.66 | 36.19 |
| <i>Mucor sp.</i> | 9.89 | 9.89 |
| <i>Penicillium sp.</i> | 32.35 | 66.65 |
| <i>T. lignorum</i> | 17.30 | 16.66 |
| <i>T. viride</i> | 3.86 | 40.52 |

El análisis estadístico demostró que la presencia y concentración de peptona eran significativas en un 99%, arrojando un valor para F = 35.61, en los cultivos con diferente concentración de esa sustancia nitrogenada, comprobándose que la adición de peptona al 0.5% era significativa en un 99% en la excreción de celulasa C_x, con respecto a los cultivos que contenían peptona al 1%. Pero a su vez, los cultivos con 1% de peptona mostraron niveles de significación de un 95% con respecto a aquellos que contenían 0.1% mientras que estos últimos lo eran a su vez en un 95% con respecto a los que contenían peptona (Tabla VII). El mismo tratamiento efectuado en relación con los valores de actividad C₁ pueden apreciarse en la Tabla VIII, encontrándose también diferencias en con-

to a la concentración de peptona y la excreción de celulasa C_1 , pero no de un modo tan marcado como en C_x arrojando un valor para $F = 3.71$, con un 95% de probabilidad.

TABLA VI

Determinación de celulasa C_x en varias especies de hongos celulolíticos crecidos en medio Czapek y de Reese y Mandels, con carboximetilcelulosa al 1%, como fuentes de nitrógeno: $SO_4(NH_4)_2$ 0.1%, urea 0.1%, caseína, 0.1% y extracto de levadura 0.1%

| Microorganismos | Actividad celulolítica C_x | |
|-------------------------|------------------------------|-----------------|
| | Czapek | Reese y Mandels |
| <i>Aspergillus sp.</i> | 2.36 | 59.40 |
| <i>C. globosum</i> | 4.41 | 20.91 |
| <i>Cladosporium sp.</i> | 2.36 | 18.00 |
| <i>Fusarium sp.</i> | 1.93 | 42.82 |
| <i>Mucor sp.</i> | 2.90 | 20.10 |
| <i>Penicillium sp.</i> | 3.44 | 112.40 |
| <i>T. lignorum</i> | 6.55 | 26.21 |
| <i>T. viride</i> | 1.93 | 34.20 |

Los valores de actividad C_x y C_1 , obtenidos empleando el mismo diseño experimental, pero utilizando como variable al hidrolizado ácido de caseína (Oxoid), en vez de peptona, pueden apreciarse en las Tablas IX y X. Los valores estadísticos arrojaron una $F = 2.69$ demostrando ello que no hay diferencias al nivel del 95% de probabilidad, para la excreción de celulasa C_x , aunque los observados en los cultivos con 0.5% de caseína son los mayores en la excreción de celulasas. Con respecto a la excreción de celulasa C_1 sí se obtuvo que la influencia de la caseína era importante, con una $F = 24.09$ para un 99% de probabilidad, siendo el cultivo con 1% de caseína significativo con respecto a todos los demás.

TABLA VII

Determinación de celulasa C_x en el medio de Reese y Mandels variando las concentraciones de peptona, en cultivos de Penicillium sp

| Peptona | 0.00 g/l | 1.00 g/l | 5.00 g/l | 10.00 g/l |
|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|
| | 73.1 | 88.1 | 129.0 | 98.9 |
| | 73.1 | 88.1 | 129.0 | 118.2 |
| | 86.0 | 91.4 | 118.0 | 91.4 |
| | 73.1 | 88.1 | 129.0 | 98.9 |
| \bar{x} | 76.3 | 88.9 | 126.3 | 101.9 |
| DS | ± 6.2 | ± 2.7 | ± 5.4 | ± 11.4 |

TABLA VIII

Determinación de celulasa C₁ en el medio de Reese y Mandels variando las concentraciones de peptona, en cultivos de Penicillium sp

| Peptona | 0.00 g/l | 1.00 g/l | 5.00 g/l |
|-----------|----------|----------|----------|
| | 244 | 387 | 222 |
| | 244 | 187 | 244 |
| | 215 | 215 | 260 |
| | 237 | 252 | 222 |
| \bar{x} | 235 | 260 | 237 |

TABLA IX

Determinación de celulasa C_x en el medio de Reese y Mandels variando las concentraciones de hidrolizado ácido de caseína, en cultivos de Penicillium sp

| Caseína | 0.00 g/l | 1.00 g/l | 5.00 g/l | 10.00 g/l |
|-----------|----------|----------|----------|-----------|
| | 72.9 | 74.9 | 76.7 | 80.1 |
| | 66.7 | 81.3 | 91.2 | 82.8 |
| | 60.2 | 80.1 | 91.2 | 73.9 |
| | 71.5 | 80.1 | 95.4 | 77.4 |
| \bar{x} | 67.8 | 79.1 | 88.6 | 78.6 |
| DS | ± 5.7 | ± 2.9 | ± 8.2 | ± 3.8 |

TABLA X

Determinación de celulasa C₁ en el medio de Reese y Mandels, variando las concentraciones del hidrolizado ácido de caseína, en cultivos de Penicillium sp

| Caseína | 0.00 g/l | 1.00 g/l | 5.00 g/l | 10.00 g/l |
|-----------|----------|----------|----------|-----------|
| | 97 | 102 | 187 | 244 |
| | 108 | 92 | 268 | 260 |
| | 125 | 114 | 187 | 208 |
| | 131 | 92 | 161 | 260 |
| \bar{x} | 115 | 100 | 200 | 243 |
| DS | ± 15.6 | ± 10.4 | ± 46.5 | ± 24.5 |

CONCLUSIONES

1. Se realizó en un estudio con hongos filamentosos celulolíticos, pertenecientes a las especies y géneros: *Aspergillus sp.*, *Cladosporium sp.*, *Chaetomium globosum*, *Fusarium sp.*, *Penicillium sp.*, *Trichoderma viride* y *T. lignorum*, encontrándose que las fuentes de nitrógeno ensayadas: sulfato de amonio, urea, ácido glutámico, caseína y peptona, resultó esta última la mejor en el medio de Reese y Mandels.
2. Se eligió una cepa del género *Penicillium* por su mayor actividad celulolítica, mostrándose que el cultivo de esta cepa a diferentes concentraciones de peptona micológica I-40, la presencia de ésta era significativa en un 99% en relación con la excreción de celulasas.
3. La presencia de caseína en los cultivos, no fue significativa para la excreción de celulasa C_x, pero sí para celulasa C₁, con un 99% de probabilidad.

RECONOCIMIENTOS

Queremos agradecer a la ATD Gisela Casado su ayuda prestada durante la realización de este trabajo, así como a todos los compañeros del laboratorio de Fermentaciones del departamento de Microbiología de la Universidad de La Habana.

REFERENCIAS

1. REESE E. T., SIU R. G. H. AND LEVINSON H. S. *J. Bacteriol.* 59, 485, 1950.
2. TASPULATION Z. AND TESLINOVA N. A. *Mikrobiologiya*, 43, 609, 1974.
3. KIM W. S., KIM Y. M., LEE I. K. AND CHOI T. J. *Misaengmul Hakhoe Chi*, 13, 85, 1975.
4. MIYAUCHI K., IIDA H. AND KURATA H. *Jap. patent* 69, 08, 068 Fpp, 1969.
5. TOYAMA N. AND OGAMA K. *Ferment. Technol. Today, Proc. Int. Ferment. Technol. Symp. 4th.* 743, 1972.
6. REESE E. T. AND MANDELS M. *Method. Carbohydrate Chem.*, 31, 139, 1963.

7. COCHRAN W.G. Y COX G.N. Diseños Experimentales, Editorial Trilles México 1971.
8. GUPTA J. K., DAS N. B. AND GUPTA Y. P. *Agr. Biol. Chem.*, 36, 1961, 1972.
9. SUMNER J. B. Y SOMMERS G. F. Laboratory experiments in biological chemistry, Academic Press, New York 1944.
10. MILLER G. L. *Analy. Chem.*, 31, 426, 1959.
11. MANDELS M. AND WEBER J. *Adv. Chem. Series*, 95, 391, 1969.
12. DUBOIS M., GUILLES K. A., HAMILTON J. K., REFERS P. A. AND SMITH F. *Anal. Chem.* 28, 350, 1956.
13. SIU R. G. H. Microbial decomposition of cellulose, Reinhold Publishing Corporation, 1951.
14. CHABAL D. S., AND DHALI WAL B. S. *Indian J. Microbiol.*, 13, 191, 1973.
15. KALUNYANTS K. A., VAGUNOVA M. S., SHCHUS C. V., CHUGUNOVA T. A. AND CRACHEW YU P. *Prikl. Biokhim. Mikrobiol.* 12, 269, 1976.
16. LIZAK YU. V. *Mikrobiol. Zn. (Kiev)* 37, 693, 1975.