



Universidad Tecnológica Metropolitana
Facultad de Ciencias Naturales, Matemática y del Medio Ambiente
Escuela de Industria Alimentaria y Biotecnología

Construcción de una genoteca plurigenómica a partir de microorganismos tolerantes a inhibidores derivados de material lignocelulósico y selección funcional de genes de tolerancia

Trabajo de titulación para optar al título profesional de
Ingeniero en Biotecnología con Licenciatura en
Biotecnología

Profesor Guía: Danilo Pérez Pantoja, PhD

MARCELO IGNACIO ARAYA NAIL

Santiago, Chile
Mayo, 2020

RESUMEN

Los crecientes problemas energéticos y ambientales han impulsado a la sociedad a buscar nuevas fuentes de energía renovables y sustentables. Uno de los recursos naturales con mayor potencial de ser empleado en la producción sustentable de biocombustibles es el material lignocelulósico derivado de la biomasa vegetal. Sin embargo en las etapas de elaboración del biocombustible se generan como subproductos compuestos tóxicos denominados inhibidores derivados de lignocelulosa (LDIs, por sus siglas en inglés), los que afectan el rendimiento del bioproceso. Los LDIs resultan nocivos para la fisiología de los microorganismos fermentativos utilizados en la producción de biocombustibles. Particularmente, ciertos compuestos fenólicos como el guaiacol, la vanillina y el 4-hidroxibenzaldehído resultan ser LDIs muy relevantes de ser estudiados debido a que presentan un alto nivel de toxicidad incluso en bajas concentraciones y se generan permanentemente durante la hidrólisis de la que forma parte de la lignocelulosa. En este trabajo se aislaron microorganismos tolerantes a vanillina, guaiacol y 4-hidroxibenzaldehído provenientes de tres tipos de ambientes: i) suelos de jardín, ii) lodos activados del tratamiento de efluentes del pulpaje de la celulosa, y iii) lagunas de acumulación de desechos olivícolas. Cada muestra ambiental fue sometida a técnicas clásicas de enriquecimiento en caldo R2A en presencia de concentraciones crecientes de cada uno de los LDIs de estudio. Cada una de las cepas aisladas por su tolerancia fue identificada mediante amplificación y secuenciación parcial del gen 16S ribosomal. Posteriormente los genomas de cinco cepas tolerantes seleccionadas por su taxonomía y grado de tolerancia fueron utilizados para construir una genoteca plurigenómica empleando a la cepa modelo *E. coli* DH10B como hospedero. Esta librería plurigenómica fue utilizada para identificar genes con capacidad de conferir tolerancia a los LDIs estudiados mediante un proceso de selección funcional. Se identificaron 4 fragmentos cromosómicos funcionalmente activos que codifican un total de 14 productos génicos entre los cuales hay: i) dos proteínas hipotéticas con funciones no descritas, ii) una proteína RecA previamente asociada a la tolerancia a LDIs, y iii) once proteínas con funciones ya descritas, pero que nunca antes han sido asociadas a tolerancia a LDIs. Se espera que los determinantes genéticos descritos en este trabajo permitan desarrollar en el futuro estudios de ingeniería metabólica a fin de proyectar su utilidad biotecnológica en la industria de biocombustibles.