



Acta Agronómica

ISSN: 0120-2812

actaagronomica@palmira.unal.edu.co

Universidad Nacional de Colombia

Colombia

Viteri Florez, Paola Andrea; Castillo Guerra, David Arturo; Viteri Rosero, Silvio Edgar
Capacidad y diversidad de bacterias celulolíticas aisladas de tres hábitats tropicales en

Boyacá, Colombia

Acta Agronómica, vol. 65, núm. 4, 2016, pp. 362-367

Universidad Nacional de Colombia

Palmira, Colombia

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=169945826007>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto



Capacidad y diversidad de bacterias celulolíticas aisladas de tres hábitats tropicales en Boyacá, Colombia

Capability and diversity of Cellulolytic bacteria isolated from three tropical habitats in Boyaca, Colombia

Paola Andrea Viteri Florez*, David Arturo Castillo Guerra y Silvio Edgar Viteri Rosero

Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Avenida Central del Norte. Tunja, Boyacá -Colombia.

*Autora para correspondencia: paovit@gmail.com

Rec.: 14.04.2015 Acep.: 17.11.2015

Resumen

En la mayoría de países en vía de desarrollo, la investigación con microorganismos celulolíticos, se ha orientado escasamente a la transformación de residuos sólidos orgánicos en compost, ignorando su enorme potencial industrial. El principal objetivo de esta investigación fue generar información sobre la capacidad y diversidad de bacterias celulolíticas aisladas de tres hábitats diferentes. El estudio incluyó muestras de suelo de bosques nativos y fincas productoras de cereales y de composteras. De cada muestra, se prepararon diluciones hasta 10^{-4} y de cada dilución, se inocularon tubos que contenían medio líquido mineral y una tira de papel filtro, como fuente de celulosa. A las tres semanas de incubación se estimó la densidad de población de microorganismos celulolíticos y de las tiras de papel, se realizaron cultivos en medio agar nutritivo y luego en medio sólido mineral, suplementado con celulosa. Los crecimientos bacterianos se sometieron a la prueba del Rojo Congo y los de mayor potencial fueron identificados. En comparación con los suelos, las composteras albergan mayor población de microorganismos celulolíticos. Respecto a las bacterias celulolíticas, en total se obtuvieron 20 aislamientos, 19 de los bosques nativos y 1 aislamiento de una compostera. Los aislamientos 1, 2, 6, 7 y 14 mostraron mayor capacidad celulolítica al producir halos de hidrólisis con una amplitud entre 0.65 y 0.30 cm. El aislamiento 1 fue identificado como *Bacillus* sp, el aislamiento 7 como *Pseudomonas* sp y el aislamiento 6 como *Erwinia* sp. Esta información es útil para explorar con seguridad el potencial de las bacterias celulolíticas en la industria.

Palabras clave: Celulosa, densidad de población, muestras de compost, potencial industrial, residuos sólidos orgánicos.

Abstract

In the majority of developing countries the research on the cellulolytic microorganisms has been scarcely oriented to the transformation of organic solid waste into compost, ignoring their enormous industrial potential. The main objective of the present investigation was to generate information on the capacity and diversity of the cellulolytic bacteria isolated from three different habitats. The study included soil samples from native forests and cereal producing farms as well as from compost piles. From each sample, a serial dilution until 10^{-4} was prepared and from each dilution test tubes containing liquid mineral medium and a strip of filter paper as a source of cellulose were inoculated. After three weeks of incubation, the population density of the cellulolytic microorganisms was estimated and from the filter paper strips streaks were made on nutrient agar medium and then on solid mineral medium, supplemented with cellulose. The bacterial growths were submitted to the Congo Red test and the ones with the greater potential were identified. In comparison to the soils the compost piles harbor a higher population density of cellulolytic microorganisms. In respect to the cellulolytic bacteria, in total were obtained 20 isolates, 19 from the native forests and 1 from a compost pile. Isolates 1, 2, 6, 7 and 14 showed a higher cellulolytic capacity with halos of hydrolysis between 0.65 and 0.30 cm. Isolate 1 was identified as *Bacillus* sp, isolate 7 as *Pseudomonas* sp, and isolate 6 as *Erwinia* sp. This information is useful to explore with confidence the potential of the cellulolytic bacteria in the industry.

Keywords: Cellulose, compost samples, population density, industry potential, solid organic waste.

Introducción

La alta producción unida al manejo inapropiado de residuos sólidos urbanos, continúa generando serios problemas ambientales en la mayoría de países en vía de desarrollo. Particularmente en Colombia, la producción diaria de residuos asciende a 28,800 toneladas, representadas por una fracción orgánica (65%) y una inorgánica (35%). El polímero más común en la fracción orgánica es la celulosa (15 a 60%) constituida por una cadena lineal de hasta 10,000 moléculas de glucosa; por lo cual el proceso de su degradación comienza con su fraccionamiento en unidades más pequeñas que pueden penetrar en las células microbianas y ser metabolizadas (Sylvia *et al.* 2005). Las enzimas responsables de dicho proceso son las celulasas (β -1,4-endoglucanasas, β -1,4-exoglucanasas y β -glucosidasas) producidas por bacterias, hongos, actinomicetos y protozoarios (Khokhar *et al.* 2012; Gupta *et al.* 2012). El grupo de bacterias incluye los géneros *Bacillus*, *Cellulomonas*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Cytophaga*, *Polyangium*, *Pseudomonas*, *Sporocytophaga*, *Vibrio*, *Micromonospora*, *Nocardia*, *Streptomyces* y *Streptosporangium* (Sylvia *et al.* 2005).

Además de la degradación de la celulosa en los residuos sólidos orgánicos, las celulasas han sido utilizadas en la producción de alimentos, ácidos orgánicos, azúcares fermentables, etanol, bebidas, textiles, detergentes, papel, pulpa y tintas para papel (González-González & Nungaray, 2005; Gupta *et al.* 2012). Aunque la fuente de celulasas utilizadas en la industria está representada principalmente por hongos (Martínez *et al.* 2008), se han realizado muchos estudios con el fin de aislar y caracterizar bacterias productoras de celulasas con un mayor grado de especificidad y efectividad (Kim *et al.* 2012; Trujillo *et al.* 2013).

En la mayoría de países en vías de desarrollo, el potencial industrial de los microorganismos celulolíticos ha pasado desapercibido y pese a la gravedad de los problemas ambientales la investigación con estos microorganismos escasamente se ha dirigido a la transformación de residuos orgánicos en compost (Cariello *et al.* 2007; Guzmán *et al.* 2015). El principal objetivo de esta investigación fue aislar bacterias celulolíticas de tres hábitats tropicales, evaluar su capacidad para degradar celulosa e identificar las de mayor capacidad. Esta información es relevante a la pregunta si la capacidad de las bacterias celulolíticas de los hábitats tropicales es similar al de las aisladas en las regiones templadas.

Materiales y métodos

Se colectaron muestras de suelo en cinco bosques de especies nativas y cinco fincas productoras de

cereales y de compost en tres composteras tradicionales del departamento de Boyacá, Colombia. Los bosques fueron ubicados en el Páramo El Malmo, el Páramo El Horizonte, la Reserva Natural de Iguaque, el trayecto Iguaque- Arcabuco y la hoya del río Pómea del Departamento de Boyacá, Colombia. Las fincas, fueron ubicadas en la vereda Pirgua, Tunja- Boyacá. En cada bosque, se seleccionó un trayecto de 2 km y se tomaron diez muestras de suelo a una distancia entre ellas de 200 m; cada muestra era a su vez, representativa de cinco sub-muestras. La muestra de suelo de cada finca fue representativa de cinco lotes. Las composteras fueron ubicadas en los municipios de Arcabuco y Miraflores, Boyacá y en el Vivero Coraflor, propiedad de FUNDASES (Fundación de Asesorías para el Sector Rural), en Puente Piedra, Cundinamarca. En la compostera de Arcabuco, Boyacá; se procesaban residuos orgánicos de plaza de mercado, en la de Miraflores, residuos de flores y café y en la de Puente Piedra, residuos de flores y hortalizas. Las muestras de compost también fueron representativas de cinco submuestras, tomadas en la etapa de maduración. En total se recolectaron 58 muestras. De cada muestra se preparó una serie de dilución, hasta 10^{-4} . De cada dilución se tomaron cuatro alícuotas de 1 mL y se inocularon cuatro tubos de ensayo, cada uno con cinco mL de medio mineral líquido (NaNO_3 2.5, KH_2PO_4 2.0, MgSO_4 0.2, NaCl 0.2, $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.1, g L^{-1}) y una tira de papel filtro (Watman No. 1) de 1 x 5 cm (Gupta *et al.* 2012). En cada dilución se dejó un tubo sin inoculación como control. Los tubos fueron incubados a 30°C, durante tres semanas. Después de la primera semana, diariamente se realizaron observaciones con el fin de detectar la aparición de signos de degradación en las tiras de papel. Finalizada la tercera semana, los tubos en los cuales la tira de papel mostró signos de degradación se registraron como positivos y los otros como negativos. Con base en el número de tubos positivos se estimó la densidad de población de microorganismos celulolíticos por el Método del Número Más Probable (NMP). De las tiras de papel filtro que mostraron síntomas de degradación, se realizaron estriados para crecimiento en medio agar nutritivo (AN) (Asimel LTDA®). Luego, a partir de una colonia pura, cada crecimiento fue subcultivado en medio mineral sólido (Agar 15 g L^{-1}), suplementado con celulosa pulverizada (20 g L^{-1}), como única fuente de C y energía (Gupta *et al.* 2012). Las cajas fueron llevadas a incubación a 30°C. A las bacterias que crecieron, en el medio suplementado con celulosa, se les determinó la morfología de la célula y además se las sometió a la prueba de Tinción de Gram. Posteriormente, cada crecimiento fue subcultivado en medio CMC (Carboximetilcelulosa) (NaNO_3 1, Na_2HPO_4 1.2, K_2HPO_4 0.9, MgSO_4 0.5, KCl 0.5, Extracto de

levadura 0.5, Caseína hidrolizada 0.5, CMC 5; Agar 15, g L⁻¹) (IGAC, 2006). Una vez obtenido el crecimiento, de cada aislamiento se preparó una suspensión de células en una solución salina (NaCl 0.85 g L⁻¹). Después de realizar el conteo de las células (Cámara Petroff Hauser), de cada suspensión se distribuyeron cuatro alícuotas de 10 µL sobre la superficie de una caja Petri con medio CMC, a una distancia entre ellas de 2 cm. Después de media hora de reposo, las cajas se incubaron para crecimiento a 30°C, durante tres días. Siguiendo el protocolo descrito por el IGAC (2006), en cada caja los crecimientos fueron cubiertos con solución de Rojo Congo al 0.05%. Al término de 10 minutos, se retiró el Rojo Congo y se cubrieron con solución salina 1M. Después de 1 hora, se retiró la solución salina y se cubrieron con ácido acético al 2% por 10 segundos. Después de retirar el ácido acético se procedió a medir el diámetro de la colonia y la amplitud del halo formado a su alrededor, como indicativo de la hidrólisis de celulosa. Los aislamientos que mostraron los halos de mayor amplitud fueron identificados con base en sus características morfológicas y bioquímicas, siguiendo pruebas convencionales descritas en el Bergey's Manual of Systematic Bacteriology y las pruebas bioquímicas de Macfaddin (2003).

Resultados y discusión

Abundancia de microorganismos celulolíticos

La abundancia de microorganismos celulolíticos, mostró una mayor tendencia en las composteras que en los suelos (Tabla 1). Mientras en las composteras el número de UFC g⁻¹ oscilaba entre 10³ y 7 x 10³, en los suelos de bosque fluctuaba entre 6 y 6.9 x 10³ y finalmente, en los suelos cultivados con cereales, entre 17 y 10³.

Aislamientos de bacterias celulolíticas

De 97 aislamientos obtenidos inicialmente en medio AN, 20 crecieron en medio sólido mineral, utilizando celulosa como única fuente de carbono y energía. De dichos aislamientos, seis procedieron del bosque El Malmo, seis del bosque El Horizonte, tres de la Reserva Natural de Iguaque, uno del trayecto Iguaque – Arcabuco, tres de la hoya del Río Pómea y uno de la compostera del vivero Coraflor (Tabla 2). La gran mayoría de

Tabla 2. Origen y características de las bacterias celulolíticas aisladas

Aislamiento	Origen	Morfología de la célula	Respuesta a la Tinción de Gram
1	Bosque nativo El Malmo	Bacilos	+
2		Bacilos	-
6		Bacilos	-
7		Streptobacilos	-
8		Bacilos	+
9		Bacilos	+
11	Bosque nativo El Horizonte	Bacilos	+
12		Bacilos	-
13		Cocos y Diplococos	+
14		Bacilos	+
17		Bacilos	-
20		Bacilos Esporulados	+
31	Reserva Natural de Iguaque	Bacilos	-
32		Diplococos	+
33		Bacilos	-
41	Trayecto Iguaque – Arcabuco	Bacilos	-
51	Hoya del Río Pómea	Bacilos	-
53		Bacilos	+
54		Bacilos	-
71	Compostera (Puente Piedra)	Bacilos	-

Tabla 1. Abundancia de microorganismos celulolíticos (UFC g⁻¹) en los sitios de muestreo, estimada por el Método del Número Más Probable (NMP).

Muestra No.	Bosque nativo El Malmo	Bosque nativo El Horizonte	Reserva Natural de Iguaque	Trayecto Iguaque – Arcabuco	Hoya del Río Pómea	Fincas productoras de cereales	Composteras
1	6	17	6	6	6	1 x 10 ³	1 x 10 ³
2	17	31	31	31	6	31	7 x 10 ³
3	1.7 x 10 ²	31	5.9 x 10 ²	5.9 x 10 ²	31	17	7 x 10 ³
4	17	10	6	6	6	31	-
5	31	58	17	17	6.9 x 10 ³	3.1 x 10 ²	-
6	6	1 x 10 ³	6	6	10	-	-
7	6	6	6	6	17	-	-
8	6	17	6	6	6	-	-
9	6	6	10	10	6	-	-
10	58	10	6	6	31	-	-

las bacterias celulolíticas aisladas presentaron forma bacilar y en cuanto a la Tinción de Gram, aproximadamente la mitad mostró ser Gram⁺ y la mitad Gram⁻ (Tabla 2). La existencia de bacterias celulolíticas Gram⁺ y Gram⁻ se encuentra indicado en la literatura (Hatami *et al.* 2008).

Capacidad celulolítica de los aislamientos

Los resultados de la prueba del Rojo Congo se reportan en la Tabla 3, ordenados de mayor a menor según la amplitud del halo de hidrólisis de celulosa producido. El número de células de cada aislamiento utilizado en la prueba indica que su crecimiento utilizando celulosa fue similar al generalmente obtenido para bacterias con otras fuentes de Carbono. Al tercer día de crecimiento, el diámetro de la colonia fluctuó entre 1.75 (Aislamiento No. 7) y 0.7 cm (Aislamiento 17) y la amplitud del halo entre 0.65 (Aislamiento No.1) y 0.1 cm (Aislamiento 51). Independientemente del diámetro de la colonia, en cinco aislamientos no se produjo halo de hidrólisis de celulosa y en los otros 15 la amplitud del halo varió entre 0.65 y 0.1 cm. Entre los aislamientos sobresalieron el número uno con halo de 0.65 cm, el dos con halo de 0.54 cm, el siete con halo de 0.33 cm, así como el seis y 14 con halo de 0.3 cm. En la Figura 1,

se ilustra la amplitud del halo producido en tres de los aislamientos.

Identificación de los aislamientos

Los aislamientos cuya amplitud del halo fluctuó entre 0.3 y 0.65 cm (Tabla 3) fueron catalogados, en este estudio, como los mejores. Entre ellos se identificaron el 1, el 6 y el 7, obteniéndose los resultados siguientes: **Aislamiento 1:** Colonia de color blanco, borde irregular, consistencia cerosa y elevación plana, anaeróbica facultativa, catalasa positiva, tolerante al cloruro de sodio (5%) e hidroliza urea. Pertenece al género *Bacillus* sp. **Aislamiento 6:** Colonia de color beige, borde regular, consistencia mucosa y elevación convexa, anaeróbica facultativa, catalasa positiva, tolerante al cloruro de sodio (5 %) y reacción positiva a enzimas pectinolíticas. Pertenece al género *Erwinia* sp. **Aislamiento 7:** Colonia de color beige translucido, borde irregular, consistencia dura y elevación plana, aeróbica estricta, oxidasa y catalasa positiva y con producción de piocianina. Pertenece al género *Pseudomonas* sp.

La mayor abundancia de microorganismos celulolíticos en las pilas de compostaje en comparación con los suelos (Tabla 1), concuerda con muchos estudios que evidencian que la ocurrencia y abundancia de microorganismos en su

Tabla 3. Capacidad celulolítica de los aislamientos bacterianos, indicada por la amplitud del halo de hidrólisis producido alrededor de la colonia

Aislamiento	Densidad de la suspensión utilizada en la prueba (Células mL ⁻¹)	Diámetro de la colonia, al tercer día de crecimiento (cm)*	Amplitud del halo producido, al tercer día de crecimiento (cm)*
1	3 x 10 ⁷	1.68 (0.31)	0.65 (0.03)
2	1.2 x 10 ⁷	1.88 (0.15)	0.54 (0.34)
7	2.8 x 10 ⁷	2.08 (0.07)	0.33 (0.05)
6	9.5 x 10 ⁶	1.18 (0.05)	0.30 (0.00)
14	7.5 x 10 ⁶	1.35 (0.03)	0.30 (0.00)
12	3 x 10 ⁷	1.15 (0.03)	0.25 (0.03)
17	3 x 10 ⁸	0.95 (0.03)	0.25 (0.03)
20	1.3 x 10 ⁷	1.55 (0.03)	0.25 (0.03)
31	1.2 x 10 ⁸	1.10 (0.00)	0.20 (0.00)
32	6.9 x 10 ⁷	1.03 (0.02)	0.20 (0.00)
41	1.4 x 10 ⁸	1.00 (0.00)	0.20 (0.03)
53	1.7 x 10 ⁷	1.08 (0.02)	0.20 (0.00)
54	1.8 x 10 ⁸	1.03 (0.02)	0.20 (0.00)
11	5.6 x 10 ⁷	0.98 (0.05)	0.18 (0.02)
51	6.6 x 10 ⁷	1.25 (0.03)	0.10 (0.00)
8	6.3 x 10 ⁶	0.75 (0.03)	0.00 (0.00)
9	1.9 x 10 ⁷	0.80 (0.00)	0.00 (0.00)
13	3.8 x 10 ⁶	0.88 (0.02)	0.00 (0.00)
33	1.7 x 10 ⁸	1.20 (0.00)	0.00 (0.00)
71	1.6 x 10 ⁷	1.13 (0.05)	0.00 (0.00)

*Los datos son presentados como promedios de cuatro repeticiones con el error estándar entre paréntesis

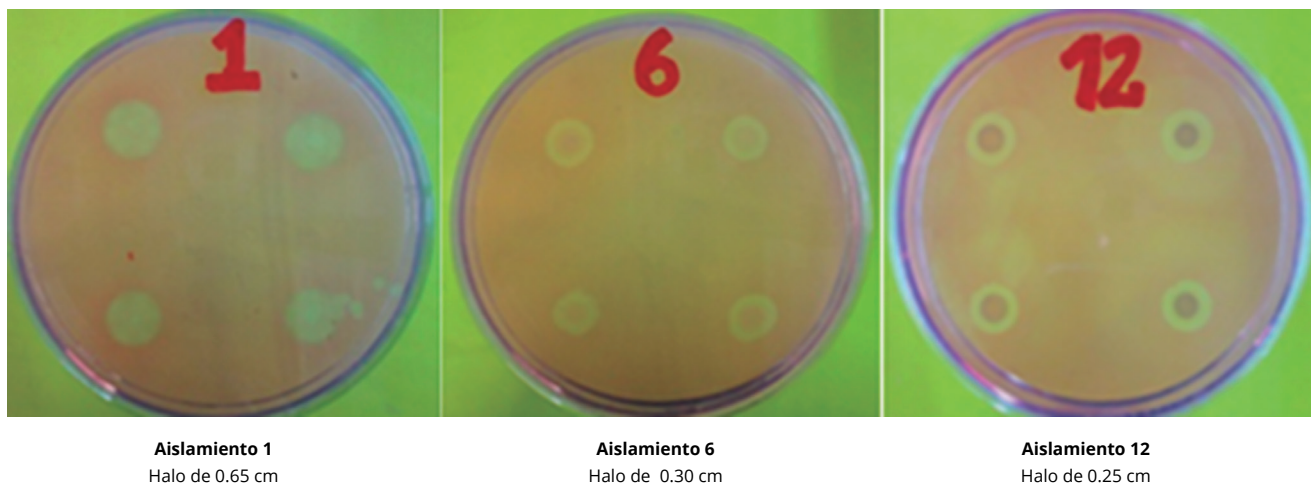


Figura 1. Halo de hidrólisis de celulosa en tres de los aislamientos.

hábitat natural, está determinada por factores físicos, químicos y ambientales (Sylvia *et al.* 2005). Estos conceptos permiten suponer que la más alta población de microorganismos celulolíticos en las composteras se debió principalmente a la mayor disponibilidad celulosa (C) y de N y P, que entre los elementos que componen los sustratos son los macronutrientes fundamentales para el desarrollo microbiano. En contraste, el contenido de celulosa en los bosques depende de la clase de vegetación y época del año, y en los suelos agrícolas, de la incorporación de los residuos de cosecha, práctica que puede ser muy esporádica o simplemente no efectuarse. Luque *et al.* (2005), afirman que el manejo agronómico es un factor en la abundancia y diversidad biológica de los suelos, por lo tanto es claro que en el caso de los suelos cultivados con cereales las prácticas propias del modelo de la Revolución Verde, adoptadas generalmente por los agricultores, entre ellas la aplicación de fertilizantes químicos (Fan *et al.* 2012); y pesticidas, han conducido a la reducción gradual y en casos extremos hasta la completa eliminación del componente biológico del suelo, del cual hace parte el grupo específico de microorganismos celulolíticos.

La obtención de casi la totalidad de los aislamientos de bacterias celulolíticas de los suelos de los bosques de especies nativas concuerda con las afirmaciones de Hatami *et al.* (2008), quienes encontraron que en suelos forestales y agrícolas del promedio del total de bacterias (138.66 y 145.2 ufc. g⁻¹) el 52.4% y 34.7%, correspondió al promedio de bacterias celulolíticas. En conexión con lo anterior, Guzmán *et al.* (2015), obtuvieron aislamientos de bacterias con alta actividad celulolítica de ambientes dedicados a agricultura orgánica, agricultura convencional, bosques y a producción de caña excepto de pilas de compost. En relación a la capacidad celulolítica (Tabla 3), la aparición de un halo alrededor de la colonia

evidenció la hidrólisis de celulosa de manera similar a los resultados obtenidos por Mikan & Castellanos (2004), y con los de Gupta *et al.* (2011). Todos los aislamientos crecieron en medio CMC, pero solo en 15 de ellos, se visualizó el halo de hidrólisis con una amplitud variable, demostrando así que las bacterias celulolíticas de los hábitats tropicales, al igual que las aisladas en las regiones templadas (Hatami *et al.* 2008; Gupta *et al.* 2012; Kim *et al.* 2012), difieren en su capacidad para degradar celulosa. Estos resultados son importantes por cuanto abren las posibilidades de investigación en los países en vías de desarrollo con relación a la búsqueda de recursos que sean efectivos para su desarrollo no solo ambiental sino también industrial. Entre los aislamientos de mayor capacidad celulolítica obtenidos en este estudio se encuentran representados los géneros *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., y *Erwinia* sp. Además de su capacidad celulolítica (Sylvia *et al.* 2005; Kim *et al.* 2011; Trujillo *et al.* 2013 y Faraco, 2013), especies de los géneros *Bacillus* y *Pseudomonas*, han sido ampliamente reportadas como efectivos agentes biocontrol de hongos causantes de enfermedades en varios cultivos (Najar, Sheir & Soberanis, 2001; Avendaño y Arbeláez, 2006; Melnick *et al.* 2008; Amézquita, Velandia & Viteri, 2010). Queda aún por resolver el interrogante de si las especies de los géneros bacterianos catalogadas como celulolíticas, son las mismas que actúan como agentes efectivos de control biológico o si son diferentes especies. En relación al género *Erwinia*, las especies conocidas como fitopatógenas, han sido evaluadas por su capacidad de producir además de celulasas, otras enzimas de degradación como proteasas y pectinasas (Rocha, 2006). Mediante el desarrollo de esta investigación, se estimó la densidad de población de microorganismos celulolíticos en tres hábitats tropicales diferentes, se evidenció que las bacterias de dichos hábitats difieren también

en su capacidad celulolítica, se corroboró que los géneros *Bacillus* y *Pseudomonas*, forman parte del grupo específico de bacterias celulolíticas y se adicionó el género *Erwinia*; que generalmente no había sido reportado como celulolítico. En adición a lo anterior, los resultados de esta investigación revelan que en los países tropicales si es posible aislar y seleccionar bacterias que de acuerdo con su capacidad celulolítica, podrían ser utilizadas no solo para la transformación de residuos sólidos orgánicos sino también para el sector industrial.

Conclusiones

Los bosques nativos representan la mayor fuente de bacterias celulolíticas. La capacidad celulolítica de dichas bacterias es muy variable y entre las de mayor potencial se destacaron los aislamientos 1 (*Bacillus* sp.), 6 (*Erwinia* sp.) y 7 (*Pseudomonas* sp.).

Agradecimientos

Los autores expresan un agradecimiento muy sincero al profesor Jorge Orlando Blanco, por sus valiosos aportes en la identificación de bacterias celulolíticas y a la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, por el apoyo brindado en el desarrollo de la presente investigación.

Referencias

- Avendaño, C. & Arbeláez, G. (2006). Control biológico del marchitamiento vascular causado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* en frijol, mediante acción combinada de *Entomosphora* colombiana, *Trichoderma* sp., y *Pseudomonas fluorescens*. *Agron Col*, 24(1), 62-67.
- Cariello, M. Castañeda, L. I. Riobo, I. & González, J. (2007). Inoculante de microorganismos endógenos para acelerar el proceso de compostaje de residuos sólidos urbanos. *R C Suelo Nutr Veg*, 7 (3), 26 – 37.
- Fan, F. Li, Z. Wakelin, S.A. Yu, W. & Liang Y. (2012). Mineral fertilizer alters cellulolytic community structure and suppresses soil cellobiohydrolase activity in a long-term fertilization experiment. *Soil Biol Biochem*, 55, 70-77. doi:10.1016/j.soilbio.2012.06.008.
- Faraco, V. (2013). Cellulolytic *Bacillus* strains from natural habitats. A review. *Chemistry Today*, 31(2), 49-52.
- González, Y. González, O. & Nungaray, J. (2005). Potencial del bagazo de agave tequilero para la producción de biopolímeros y carbohidrasas por bacterias celulolíticas para la obtención de compuestos fenólicos. *e-Gnosis*, 3 (14), 1-18.
- Gupta, P. Samant, K. & Sahu, A. (2012). Isolation of cellulose-degrading bacteria and determination of their cellulolytic potential. *Int J Microbiol*, 2012(6), 1-5. doi: 10.1155/2012/578925.
- Guzmán, A. Zambrano, D. Rivera, R. Rondón, A. Laurencio, M. & Pérez, M. (2015). Aislamiento y selección de bacterias autóctonas de manabí-ecuador con actividad celulolítica. *Cultrop*, 36(1), 7 – 16.
- Hatami, S. Alikhani, H.A. Besharati, H. Salehrastin, N. Afrousheh, M. & Jahromi, Z. Y. (2008). Investigation on aerobic cellulolytic bacteria in some of north forest and farming soils. *Am-Euras J Agric & Environ Sci*, 3 (5), 713-716.
- IGAC (Instituto Geográfico Agustín Codazzi). (2006). Métodos analíticos de laboratorio de suelos. Sexta edición. Imprenta Nacional de Colombia. Bogotá. 648 p.
- Kim, Y. Lee, S. Cho, Y. Oh, H. & Ko, Y. (2012). Isolation of cellulolytic *Bacillus subtilis* strains from agricultural environments. *ISRN Microbiology*, 2012 (2012), 1-9. doi:10.5402/2012/650563.
- Khookhar, I. Haider, M.S. Mushtaq, S. & Mukhtar, I. (2012). Isolation and screening of highly cellulolytic filamentous fungi. *J Appl Sci Environ Manage*, 16 (3), 223-226.
- Luque, A. G. Pioli, R. Bonel, B. & Álvarez, D.P. (2005). Cellulolytic fungi populations in stubble and soil as affected by agricultural management practices. *Biol Agric Hortic*, 23 (2), 121-142. doi:10.1080/01448765.2005.9755316.
- Macfadin, J. (2003). Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Tercera edición. Argentina. Médica Panamericana. 856p.
- Martínez, C. Balcázar, E. Dantán, & Folch, J. (2008). Celulasas fúngicas: aspectos biológicos y aplicaciones en la industria energética. *Rev Latinoam Microbiol*, 50(3-4), 119-131.
- Melnick, R.L. Zidack, N.K. Bailey, B.A. Maximota, S.N. Gultinan, M. & Backman, P.A. (2008). Bacterial endophytes: *Bacillus* spp., from annual crops as potential biological control agents of black pod rot of cacao. *Biol Control*, 46 (1), 46-56. doi:10.1016/j.biocontrol.2008.01.022.
- Mikan, J. & Castellanos, D. (2004). Screening para el aislamiento y caracterización de microorganismos y enzimas potencialmente útiles para la degradación de celulosas y hemicelulosas. *Rev Col Biotec*, 6(1), 58-7.
- Rocha, R. Lozano, P. & Martínez, Y. (2006). Mecanismos de patogenicidad e interacción parásito-hospedero II. Primera edición. Puebla. Universidad Autónoma de Puebla. México. 87p.
- Rodríguez, J.E. Velandia, J. & Viteri, S.E. (2010). Evaluación de microorganismos aislados de gallinaza por su potencial para el biocontrol de *Fusarium* (*F. oxysporum*) en plántulas de uchuva. *Rev Fac Nal Agr Medellín*, 3(2), 5499-5509.
- Sylvia, D.P. Hartel, J. Fuhrmann, & Zuberer, D. (2005). Principles and applications of soil microbiology. Segunda Edición. New Jersey. Prentice Hall-Inc. 640p.
- Trujillo, Y. Ponce, A. Vásquez, M. Rivera, F. Wang. (2013). Diverse cellulolytic bacteria isolated from the high humus, alkaline-saline chinampa soils. *Ann Microbiol*, 63(2), 779-792. doi: 10.1007/s13213-012-0533-5.