

ISOFORMAS DE LACASAS DE *Pleurotus ostreatus* OBTENIDAS EN FERMENTACIÓN SUMERGIDA CON pH 4.5 Y 6.5

Díaz-Godínez R¹, Bibbins-Martínez M², Rojas-López M², Sánchez C¹, Díaz-Godínez G¹.

¹Centro de Investigación en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Km 10. 5 Aut. Tlaxcala-Tezmelucan, Ixtacuixtla Tlaxcala. México. Tel/Fax +52 2484815482, email: diazgdo@hotmail.com

²Centro de Investigación de Biotecnología Aplicada, IPN. Tlaxcala, México.

Palabras clave: *Pleurotus*, *Lacasas*, zimograma

Introducción. Las enzimas lacasas (ρ -difeno: oxígeno oxido-reductasas E.C. 1.10.3.2) son glicoproteínas con peso molecular entre 60-80 Kda (1), su punto isoeléctrico (pI) y su pH óptimo son ácidos. Las enzimas lacasas catalizan la oxidación, polimerización, depolimerización, metilación y/o dimetilación de compuestos fenólicos (2). *Pleurotus ostreatus* es un hongo de pudrición blanca. Se ha sugerido que el número y tipo de isoformas de lacasas dependen de las condiciones de desarrollo del hongo. En este trabajo se produjeron lacasas de *P. ostreatus* (ATCC 32783) por fermentación sumergida (FS) a dos pH's del medio de cultivo (4.5 y 6.5), y se identificaron las isoformas producidas por zimografía.

Metodología. Las fermentaciones se realizaron en matraces Erlenmeyer de 125 ml con 50 ml de medio de cultivo (3). Cada matraz se inoculó con tres fragmentos de micelio de 4 mm de diámetro obtenidos de la periferia de una colonia desarrollada sobre agar extracto de malta por 7 días a 25 °C. Se incubaron a 25 °C por 23 días en agitación orbital de 120 rpm. Se muestreo cada 24 h. La actividad de lacasas se observó a través de zimogramas usando el método modificado de Laemmli (SDS-PAGE) (3). Los geles se incubaron a temperatura ambiente en solución de 2,6 Dimetoxifenol en buffer de acetatos pH 4.5 y por separado en buffer de fosfatos a pH 6.5 (3).

Resultados y discusión. En la Fig. 1 se muestra el perfil zimográfico de las enzimas producidas a pH de 6.5, se observó que existen dos isoformas que presentan actividad a los dos pH evaluados, pero existe una isoforma que solo presentó actividad a pH de 4.5.

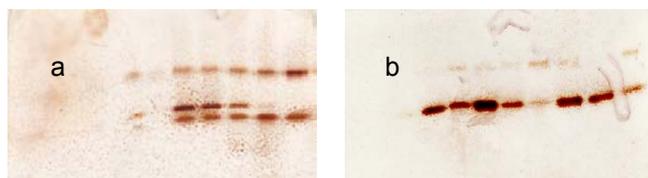


Fig. 1 Zimogramas de lacasas obtenidas por FS a pH de 6.5, incubadas a pH de 4.5 (a) y 6.5 (b).

En la Fig. 2 se puede observar que en la fermentación a pH de 4.5, se producen dos isoformas con actividad a pH de 4.5 y 6.5, sin evidencia de otra isoforma al cambiar el pH de actividad.

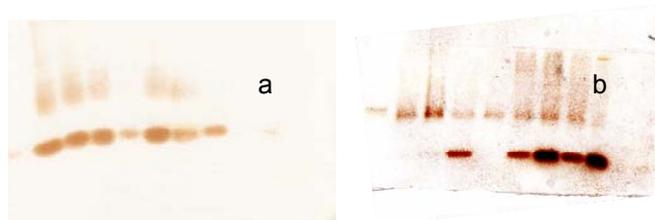


Fig. 2 Zimogramas de lacasas obtenidas por FS a pH de 4.5, incubadas a pH de 4.5 (a) y 6.5 (b).

Conclusión. Estos resultados sugieren que la producción de isoformas de lacasas está influenciada por el pH del medio de cultivo, y que algunas isoformas presentan actividad a distintos pHs. Se observan dos isoformas producidas en ambos pH del medio de cultivo, y una isoforma diferente producida a pH de 6.5 pero evaluada a 4.5. Lo anterior sugiere que dos isoformas son independientes del pH del medio de cultivo y que otra isoforma solo se producirá a pH de 6.5. Estos resultados contribuyen al conocimiento fisiológico y bioquímico de *P. ostreatus* y al manejo de las condiciones de producción de lacasas y de su actividad.

Agradecimientos. Este trabajo fue financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) con el Proyecto No. 47396, así como por la Universidad Autónoma de Tlaxcala y el CIBA-IPN.

Bibliografía.

1. Heinzkill M, Bech L, Halkier T, Schneider P y Anke T. 1998. Characterization of laccase and peroxidases from wood-rotting fungi (family *Coprinaceae*). *Applied and Environmental Microbiology* 64: 1601-1606.
2. Giardina P, Palmieri G, Scaloni A, Fontanella B, Faraco V, Cennamo G y Sannia G. 1999. Protein and gene structure of a blue laccase from *Pleurotus ostreatus*. *Biochemical Journal* 341: 655-663.
3. Tellez-Tellez M, Sanchez C, Loera O, Diaz-Godinez G. 2005. Differential patterns of constitutive intracellular laccases of the vegetative phase of *Pleurotus* species. *Biotechnology Letters*. 27(18):1391-4.