



IDENTIFICACIÓN DE ACTIVIDAD FENOL-OXIDASA EN *Beauveria bassiana*

Nalleli Concepción Pérez Pérez¹; Norberto Chavarria Hernández²; Alejandro Téllez-Jurado¹; Ainhoa Arana-Cuenca¹.

¹ Universidad Politécnica de Pachuca UPP, Ex-Hacienda de Sta. Bárbara, Municipio de Zempoala, Hgo Carretera Pachuca-Cd. Sahagún, Km. 20, Rancho Luna. C. P. 43830, Tel: 01 (771) 54 77 510. ainhoa@upp.edu.mx, ²Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

Palabras clave: *fenol-oxidasa*, *Beauveria bassiana*, *entomopatígeno*.

Introducción. En la actualidad las fenol-oxidasas, en especial las del tipo lacasas, son de gran importancia debido a su gran potencial en cuanto a aplicaciones biotecnológicas; esto se ha visto reflejado en el gran número de patentes registradas para esta enzima. Debido a esto se ha enfatizado en el estudio de estas enzimas y sus similares. Tal es el caso en *Beauveria bassiana*, microorganismos entomopatígeno, en el cual aún no hay reportes de que sea productor de una enzima fenol-oxidasa, pero tampoco se ha deslindado que sea capaz de producirla, ya que se ha determinado que los requerimientos de respuesta del insecto y del entomopatígeno están reflejados en la producción de enzimas con características similares (Samuels y Paterson, 1995).

Por la razón anterior es que el objetivo de este proyecto es estudiar la posible capacidad de *B. bassiana* de producir fenol-oxidasa.

Metodología. El estudio de actividad se realizó en medio sólido suplementado con ABTS (0.1mM), sustrato que al oxidarse se torna verde oscuro indicativo de actividad fenol-oxidasa. El medio utilizado contiene peptona de caseína (10g/l) como fuente de nitrógeno, sales (5g/l) y como fuente de carbono se ensayaron 4 diferentes: quitina (0.1g/L), N-acetilglucosamina (0.1g/L), melanina (100 ppm) y hemolinfa (100 ppm) y combinaciones de los mismos. El hongo se sembró por picadura y se incubó a 28°C durante 1 semana. Previo a la incubación se aplicó un choque térmico, variando tiempo y temperatura.

Resultados y discusión. De los ensayos realizados sólo se obtuvieron resultados de activación de fenol-oxidasa en los medios tales como, quitina con melanina con un choque térmico de 50°C por 30 min obteniendo una coloración verde poco visible; N-acetilglucosamina con hemolinfa y N-acetilglucosamina con melanina con una oxidación más perceptible, todo esto con un choque térmico de 50°C por 30 min. Empleando un choque térmico de 50°C por 45 min y 60°C por 30 min también provocó la oxidación del medio de N-acetilglucosamina con melanina con una oxidación menor que en el tratamiento anterior. Esto junto con los resultados de otros autores realizados en insectos (Zufelato y col.,

2004), demuestra que el estrés oxidativo para tener actividad fenol-oxidasa es a 50°C por 30 min.

Cuadro 1. Actividad fenol-oxidasa en *B. bassiana*, empleando diferentes combinaciones de melanina y hemolinfa en medio DL con Quitina y N-acetilglucosamina

Ensayo	Medio de cultivo	Concentración de melanina (ppm)	Concentración de hemolinfa (ppm)	Temperatura para choque térmico (°C)	Tiempo de choque térmico		
					30 min	45 min	60 min
1	DL+Quitina	100	N/A	40	-	-	-
2	DL+Quitina	N/A	100	40	-	-	-
3	DL+N-acetil glucosamina	100	N/A	40	-	-	-
4	DL+N-acetil glucosamina	N/A	100	40	-	-	-
5	DL+Quitina	100	N/A	50	+	-	-
6	DL+Quitina	N/A	100	50	-	-	-
7	DL+N-acetil glucosamina	100	N/A	50	++	+	-
8	DL+N-acetil glucosamina	N/A	100	50	+	-	-
9	DL+Quitina	100	N/A	60	-	-	-
10	DL-Quitina	N/A	100	60	-	-	-
11	DL+N-acetil glucosamina	100	N/A	60	+	-	-
12	DL+N-acetil glucosamina	N/A	100	60	-	-	-

*Todos los medios tienen ABTS.
N/A: No agregado

Conclusiones. *Beauveria bassiana* produce actividad fenol-oxidasa siempre y cuando se realice un choque térmico anterior a la incubación de las placas y utilizando como fuente de carbono: N-acetilglucosamina, N-acetilglucosamina con melanina, N-acetilglucosamina con hemolinfa y Quitina con hemolinfa.

Agradecimiento. A CONACyT por el financiamiento del proyecto con clave CB-2007-01-82396.

Bibliografía.

1. W. Jorge Delgado F. Valencia A. (2004). "Detection of beauvericin in the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* by using polyclonal antibodies". *Colombiana de Entomología* 30(2): 125-130.
2. Zufelato M., P. Lourenc, L.P. Simoes, A. J. Joao, Bitondi M., "Phenoloxidase activity in *Apis mellifera* honey bee pupae, and ecdysteroid-dependent expression of the prophenoloxidase mRNA". *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 34 (2004) 1257-1268.
3. Córdoba J. Roussou S. Baratti J. Nungary J. Loera O. (2003). "Identification of Mexican Thermophilic and Thermotolerant fungal Isolates". *Micología Aplicada Internacional* 15(2):37-44.