



INCREMENTO DE LA ACTIVIDAD DE LACASAS DE *Pleurotus ostreatus* POR COBRE EN FERMENTACIÓN SUMERGIDA

J. Juárez-Hernández^{1,2}, C. Sánchez¹, AM. Montiel-González¹, M. Bibbins³ y G. Díaz-Godínez¹

¹Laboratorio de Biotecnología, Centro de Investigación en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala. Tel./Fax +(52)2484815482. E-mail: gdg@cci.uatx.mx.

²Maestría en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala. ³CIBA, IPN

Palabras clave: *Pleurotus*, lacasas, Fermentación sumergida, actividad enzimática extracelular

Introducción. Las lacasas (ρ -difenoil: oxígeno oxido-reductasas E.C. 1.10.3.2) son glicoproteínas con peso molecular entre 60-80 KDa, forman parte de las enzimas ligninolíticas que los hongos de pudrición blanca usan para degradar a la lignina. Requieren cobre y oxígeno para oxidar fenoles, polifenoles, aminas aromáticas y diferentes sustratos no fenólicos, lo que permite que se lleve a cabo la polimerización, dipolimerización, metilación y/o dimetilación de compuestos fenólicos (1). Se encuentran en plantas, hongos, bacterias y en algunos insectos, sin embargo, las más estudiadas son de hongos. Son enzimas constitutivas, sin embargo pueden ser inducidas por cobre, o-tolidina, p-anisidina, ácido ferúlico, alcohol veratrílico, etc., dando en algunos casos la biosíntesis de nuevas isoformas (2). Los hongos del género *Pleurotus* son basidiomicetos de pudrición blanca, con un alto valor nutricional, propiedades terapéuticas y variadas aplicaciones biotecnológicas. En este trabajo se estudió el efecto del sulfato de cobre en la producción de lacasas de *P. ostreatus* por fermentación sumergida.

Metodología. Se usó la cepa de *P. ostreatus* (ATCC-32783). Las fermentaciones se desarrollaron en matraces de 125 ml que contenían 50 ml de medio de cultivo estéril (minerales y 10 g/l de glucosa con y sin 0.25 g/L de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) inoculados con 3 fragmentos de 4 mm de diámetro de micelio desarrollado sobre agar extracto de malta en cajas de Petri durante 5 días a 25°C. Se incubaron a 25°C por 25 días con agitación orbital a 120 rpm. Se tomaron muestras cada 24 h, se cuantificó la biomasa seca (g/L) y la actividad de lacasas extracelulares reportada en unidades por litro (U/L); una U se definió como la cantidad de enzima que aumentó en una unidad la absorbancia en la mezcla de reacción a 468 nm, usando 2,6-dimetoxifenol como sustrato (3).

Resultados y Discusión. En la Figura 1 se muestra el crecimiento de *P. ostreatus* en ambas fermentaciones.

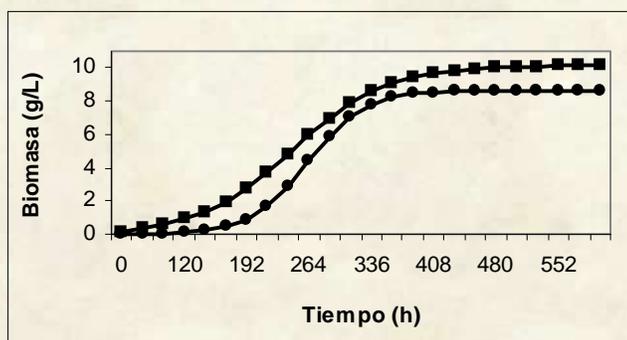


Figura 1. Crecimiento de *P. ostreatus* en fermentación sumergida con (●) y sin inductor de lacasas (■).

Se observó que el cobre retrazó dos días la fase exponencial de crecimiento, así como también disminuyó aproximadamente un 13% la cantidad de biomasa producida. En la Figura 2 se observa que la actividad en presencia de inductor es mucho mayor en comparación con la obtenida en la fermentación sin cobre. Existe una correlación negativa entre la producción de biomasa y la actividad de lacasas producidas.

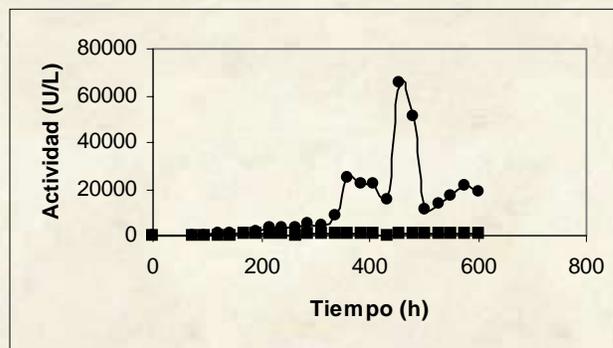


Figura 2. Actividad de lacasas extracelulares de *Pleurotus ostreatus* obtenidas por fermentación sumergida con (●) y sin inductor (■).

La fermentación sin inductor presentó una pequeña actividad de lacasa, siendo la máxima de 1000 U/L a las 456 h, mientras que en la fermentación con inductor la actividad máxima fue de 67500 U/L al mismo tiempo de fermentación, la cual representa un incremento de 67.5 veces.

Conclusiones. La actividad de lacasas de la cepa de *P. ostreatus*, se presentó con carácter de constitutiva, sin embargo, la presencia de cobre incrementó la actividad más de 67 veces. Se sugiere realizar una caracterización de los extractos enzimáticos para ver si hay incremento de la producción de las mismas enzimas o también la aparición de otras isoformas.

Agradecimientos. A CONACYT por la beca otorgada para estudios de maestría de Juvenal Juárez y a la UAT por el financiamiento de esta investigación.

Bibliografía.

- Galhaup C., Wagner H., Hinterstoisser B. & Haltrech D. (2002). Increased production of laccase by the wood-degrading basidiomycete *Trametes pubescens*. *Enzyme and Microbial Technology* 30 :529-536.
- Palmieri G. Giardina P., Bianco C., Scaloni, A., Capasso A. & Sanna G. (1997). A novel white laccase from *Pleurotus ostreatus*. *J. Biol. Chem.* 272: 31301-31307.
- Téllez-Téllez M, Sánchez C, Montiel-González AM & Díaz-Godínez G. (2005). Laccase activities of the peripheral and central zones of the vegetative mycelium of colonies of *Pleurotus* species. *Agro Food Industry Hi-Tech*. (In press).