

PRODUCCION DE LACASAS DE *Pleurotus ostreatus* POR FERMENTACION SÓLIDA Y SUMERGIDA

S. Alonso-Bozada^{1,2}, AM. Montiel-González¹, A. Tomasini³, C. Sánchez y G. Díaz-Godínez¹

¹Laboratorio de Biotecnología, Centro de Investigaciones en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala.

Tel/Fax (52)2484815482. E-mail: diazgdo@hotmail.com

²Maestría en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala. ³UAM Iztapalapa.

Palabras clave: lacasas, fermentación sólida, fermentación sumergida

Introducción. Las lacasas (ρ -difenol: oxígeno óxido 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 utilizan para degradar a la lignina. Los hongos del género *Pleurotus* son basidiomicetos de pudrición blanca, con un alto valor nutricional, propiedades terapéuticas y variadas aplicaciones biotecnológicas. En diversos estudios se ha encontrado que las lacasas degradan colorantes provenientes de la industria textil los cuales son xenobióticos y recalcitrantes (1).

En este trabajo se estudió la producción de lacasas extracelulares de una misma cepa de *P. ostreatus* en fermentación líquida (FML) y en fermentación sólida (FMS) sobre espuma de poliuretano (PUF) utilizando el mismo medio de cultivo para conocer el patrón de expresión de las lacasas y determinar cual sistema produce más y mejores isoformas en cuanto a su actividad enzimática.

Metodología. Se usó la cepa de *P. ostreatus* (ATCC-201218). Para la FML se utilizaron matraces erlenmeyer de 125 ml conteniendo 50 ml de medio estéril (minerales y 10 g/L de glucosa y 0.25 g/L de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), los cuales fueron inoculados con tres fragmentos de 4 mm de diámetro de micelio desarrollado sobre agar extracto de malta en cajas de Petri durante 7 días a 25°C. Los matraces se colocaron en agitación orbital a 120 rpm a 25°C. En la FMS se utilizaron matraces erlenmeyer de 125 ml conteniendo 0.5 g de PUF limpia y seca a los cuales se adicionaron 15 ml del medio de cultivo y se incubaron a 25°C. En ambas fermentaciones las muestras fueron tomadas cada 24 h. En la FML se utilizó el caldo de cultivo libre de células como extracto enzimático y en la FMS se obtuvo por prensado de la PUF. La actividad de lacasas se evaluó *in vitro* e *in situ* (zimogramas) a lo largo de la fermentación, utilizando como sustrato al 2,6 dimetoxifenol (DMP) (2). Una unidad de actividad de lacasas (U) se definió como la cantidad de enzima que aumentó en una unidad la absorbancia en la mezcla de reacción a 468 nm por minuto y se reportó como actividad específica (U/mg proteína) (2).

Resultados y Discusión. En la figura 1 se muestra la actividad de lacasas extracelulares de *P. ostreatus* en ambas fermentaciones. Se observó que la actividad de lacasas extracelulares fue aproximadamente 4.5 veces mayor en la FML (242.3 U/mg de proteína) en comparación con la FMS (52.8 U/mg de proteína). En la figura 2 se muestran los zimogramas de lacasas producidas en ambos sistemas de fermentación, se puede observar que los perfiles son diferentes.

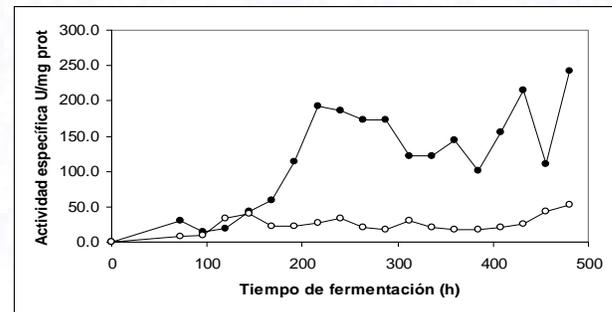


Fig 1. Actividad de lacasas extracelulares de *P. ostreatus* en FML (◆) y en FMS (○)

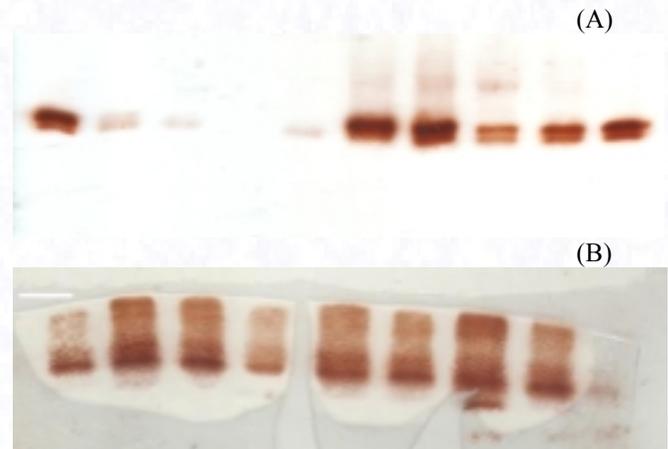


Fig 2. Zimograma de actividad de lacasas de la cepa ATCC 201218 por FML (A) y FMS (B)

Conclusiones. La actividad de lacasas y el patrón de expresión se modifican dependiendo del sistema de producción que se utilice. Por otro lado, se sugiere realizar estudios en FML modificando las condiciones de desarrollo para tratar de incrementar la actividad.

Agradecimientos. Al CONACYT por el financiamiento de esta investigación con el proyecto No. 47396 y la beca para Susana Alonso Bozada para estudios de maestría.

Bibliografía.

1. Palmieri G, Giardina P, Bianco C, Scaloni A, Capasso A & Sanna G (1977) A novel laccase from *Pleurotus ostreatus*. *J. Biol. Chem.* 272: 31301-31307.
2. Tellez-Tellez M, Sanchez C, Loera O, Diaz-Godínez G. (2005) Differential patterns of constitutive intracellular laccases of the vegetative phase of *Pleurotus* species. *Biotechnology Letters.* 27 (18): 1391-4.