



## CARACTERIZACIÓN DE UNA CEPA NATIVA COLOMBIANA DE *Amauroderma coffeatum* EN CULTIVO SUMERGIDO

Sandra Marcela Porras-Arboleda<sup>1,2</sup>, Benjamín Rojano<sup>2</sup>, Luz Deisy Marín-Palacio<sup>1,2</sup>, Alex Armando Sáez Vega<sup>1</sup>, Mauricio A. Trujillo-Roldán<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Universidad EAFIT. Cra 49 #7 sur 50. AA3300. Medellín Colombia.

<sup>2</sup> Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, Cra. 80 #65-221, Medellín, Colombia.

<sup>3</sup> PROBIOMED S.A. de C.V., Planta Tenancingo. Cruce de Carret. Acatzingo-Zumpahuacan SN, C.P. 52400, Tenancingo Edo. de México. Tel 0155-11662279. mauricio.trujillo@probiomed.com.mx, maurotru@gmail.com

Palabras clave: *Amauroderma coffeatum*, Cultivo sumergido, Polisacáridos

**Introducción.** Tradicionalmente el uso de los hongos como fuente de tratamiento medicinal ha marcado pauta para el desarrollo de investigaciones con propósito farmacéutico de acuerdo con sus características terapéuticas para la salud (1). Por ejemplo, *Ganoderma lucidum* es usado en países orientales por ser fuente de polisacáridos con actividad antitumoral y carcinostático. *Amauroderma coffeatum*, es un hongo superior nativo de Colombia, basidiomiceto perteneciente a la familia *Ganodermataceae*, y del que sólo se reporta en la literatura su clasificación taxonómica. Esta es la primera vez en la literatura que se reporta el crecimiento en cultivo sumergido de una cepa de *A. coffeatum*. y una estimación biológica mediante evaluación citotóxica y genotóxica, como también la capacidad antioxidante de sus extractos.

**Metodología.** El cuerpo fructífero de *A. coffeatum* fue recolectado en Tierra Alta (Córdoba, Colombia) y adaptado en Agar Papa-Dextrosa. En cultivo sumergido, se utilizó el medio propuesto por Fang (1) (g/L): glucosa 35.0; peptona (PEP) 5.0; extracto de levadura (EXL) 2.5;  $\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  1.0;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.5 y vitamina B1 0.05. Los inóculos se llevaron en Erlenmeyers de 250 ml a un pH inicial de 5.5 por 7 días, 30°C y 120 rpm, en oscuridad. Inicialmente, se evaluó la capacidad de crecer en glucosa, lactosa y sacarosa, a la misma concentración inicial (35 g/L). Posteriormente, se realizó un diseño factorial 3x3, donde la concentración de lactosa (20, 35, 50 g/l), el pH (4.5, 5.5 y 6.5) y la relación de fuente de nitrógeno (en g/l, PEP-EXL 5.0-2.5; 5.0-5.0 y 5.0-10) fueron evaluados, en cultivos de 14 días con las condiciones similares a los inóculos. Se midió biomasa (gravimetría), consumo de sustrato (DNS), proteína extracelular (Lowry) y contenido de exopolisacáridos (Dubois). Los extractos de los cultivos con mayor contenido de exopolisacáridos, se sometieron a pruebas de citotoxicidad (exclusión de azul de tripano), genotoxicidad (prueba cometa) y actividad antioxidante.

**Resultados y Discusión.** Se obtuvo mayor concentración de biomasa usando lactosa (11.9 g/L), que glucosa (10.8 g/L) y sacarosa (3.0 g/L). Del diseño factorial, se obtiene que la mayor concentración de biomasa (12.2 g/L) y exopolisacáridos (6.84 g/L) se obtiene a en lactosa 50 g/L, con relación PEP-EXL 5.0-10.0 g/L y pH de 4.5 (figura 1). Usando las mejores condiciones de cultivo de cultivo, se generaron muestras de extracto de *A. coffeatum* para los ensayos de cito y genotoxicidad. Para extractos con

concentraciones superiores a 1000 mg/ml, se observó daño del ADN de células Jukart. Estos resultados sugieren que los exo-polisacáridos de extractos miceliales de *A. coffeatum* contienen actividad antitumoral. Finalmente, la captura de radicales superóxido, mediante el sistema el Sistema Fenazina Metasulfato (PMS)/NADH mostró una muy buena respuesta al alcanzar el IC50 (concentración de muestra requerida para disminuir en un 50% el contenido inicial del radical superóxido), correspondiente al día 12 de crecimiento en el cultivo celular, día que inicia la fase estacionaria.

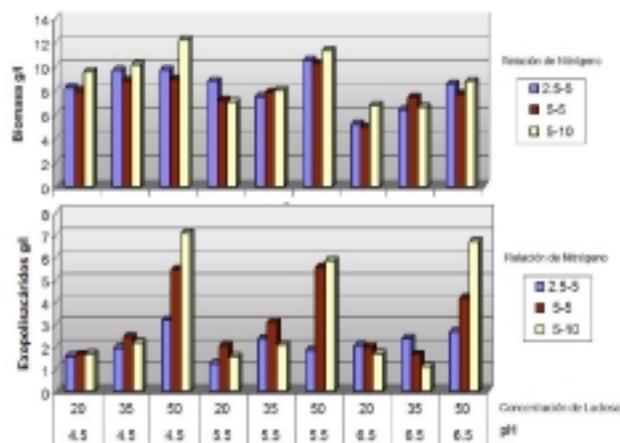


Figura 1. Biomasa y exopolisacáridos finales obtenidos en cultivos de *A. coffeatum* bajo las condiciones de cultivo del diseño factorial para lactosa, pH y relación PEP-EXL.

**Conclusiones.** Se logró cultivar *A. coffeatum* en cultivo sumergido en matraces convencionales, encontrando las mejores condiciones de cultivo con lactosa 50 g/L, con relación PEP-EXL 5.0-10.0 g/L y pH de 4.5. Además, se encontró actividad geno y citotóxica en los extractos de tiempos finales de cultivo, como capacidad antioxidante.

**Agradecimientos.** Universidad EAFIT, a través del proyecto PY0519 "Evaluación de una cepa nativa de *Amauroderma sp.* 2006". Grupo de investigación GIPAB y Laboratorio de Biotecnología, Universidad EAFIT. Grupos de Ciencia de los Alimentos y Biotecnología Animal. Universidad Nacional De Colombia.

### Bibliografía

1.- Fang QH, Zhong JJ (2002) Submerged fermentation of higher fungus *Ganoderma lucidum* for production of valuable bioactive metabolites-ganoderic acid and polysaccharide. *Biochemical Eng J* 10:61-65