

ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD LACASA DEL BASIDIOMICETO *Trametes* sp. EUM1 BAJO DIFERENTES CONDICIONES DE CULTIVO

Ruth Torres-Barajas, Alejandro Téllez-Jurado, Octavio Loera, Gustavo Viniegra-González, Ainhoa Arana-Cuenca
Dpto. Biotecnología. UAM-Iztapalapa. San Rafael Atlixco 186, Col. Vicentina. Iztapalapa. CP. 09360. México, D.F.
Fax. (55) 5804 6407 e-mail: aino@xanum.uam.mx

Palabras claves: *lacasa*, *nitrógeno*, *aireación*

Introducción Las lacasas son enzimas fenoloxidasas que se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza. Poseen un gran impacto biotecnológico, debido a su capacidad de oxidar distintos sustratos naturales o industriales por lo que han sido ampliamente estudiadas en las últimas décadas (1). Una característica importante de la producción de estas enzimas es su regulación ya que se ha visto que se ven altamente influenciadas por el medio de cultivo y por las condiciones de fermentación (2,3). En nuestro laboratorio se ha aislado y caracterizado un microorganismo termófilo, *Trametes* sp. EUM1, cuya característica principal es que produce lacasas resistentes a solventes, propiedad muy importante para su futura aplicación industrial.

En el presente trabajo se realizó el estudio de la producción de enzima lacasa en 3 medios de cultivo cuya diferencia es la fuente de nitrógeno y dos tipos de fermentación: agitación y estático así como su influencia para la secreción de isoenzimas resistentes a solventes.

Materiales y Métodos.

Condiciones de cultivo. Las cinéticas se realizaron durante 40 días a 40°C, en estático y en agitación a 150 rpm utilizando como medio de cultivo: Medio Kirk cuya fuente de nitrógeno es el Tartrato de amonio, y el mismo medio sustituyendo este compuesto con Sulfato de amonio y Peptona a la misma concentración.

Actividad lacasa. Se determinó por el método espectrofotométrico descrito por Wolfenden y Wilson (5). Se define como una Unidad de Actividad a la cantidad de enzima necesaria para producir 1 μ mol de producto oxidado por minuto. El ensayo de resistencia al solvente se realizó incubando durante 1 hora a 40°C la muestra en presencia de Acetonitrilo al 20%.

Resultado y Discusión. Los resultados (Fig. 1) mostraron que en los primeros días de cinética la mayor actividad se obtuvo con una fuente compleja y rica en nitrógeno tal y como indican Galhaup y col. (2) para otros microorganismos. Del mismo modo, se observó una mayor producción de lacasa en los cultivos realizados en estático, lo cual corresponde a lo reportado por Vasdev y col., (3) ya que parece que las condiciones de estrés (como la agitación) afectan al metabolismo del hongo, provocando entre otras cosas la represión de la expresión de la lacasa. No obstante, se observó una inducción bastante importante en el caso del medio con sulfato en un medio agitado lo cual puede corresponder con la aparición de una nueva isoenzima ya que se ha visto que hay

casos en los que la inducción se produce en medios pobres en nitrógeno como puede ocurrir con el sulfato de amonio, en condiciones de estrés. Esta hipótesis se vió reforzada con los resultados obtenidos de resistencia a acetonitrilo ya que en todos los casos se observa una resistencia de aproximadamente 70% excepto con sulfato de amonio en agitación donde dicha resistencia se reduce a un 35%.

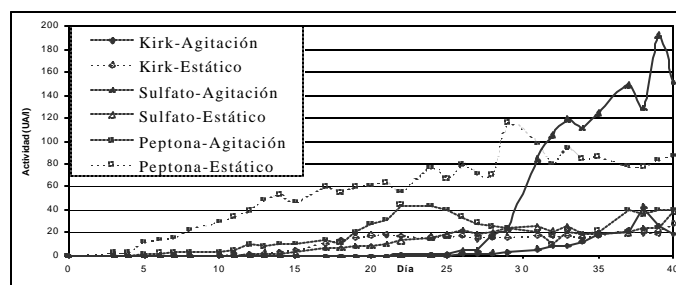


Figura 1. Actividad lacasa en los diferentes medios de cultivo

Conclusiones.

1. La actividad lacasa en los primeros 27 días fue mayor en el medio con peptona y en los cultivos estáticos.
2. A partir del día 27 se observó una fuerte inducción posiblemente de una nueva isoenzima en el cultivo con sulfato de amonio en agitación.
3. En la mayoría de los casos se obtuvo una alta resistencia al solvente, lo cual puede deberse a una resistencia por parte de la enzima o a que en el medio de cultivo exista algún compuesto que estabilice a la misma.

Bibliografía.

1. Arana, A, Téllez, A, González, T y González, A (2003) Aspectos generales de la biodegradación de la madera: aplicaciones industriales de las lacasas. *Biotecnología*. En prensa.
2. Galhaup, C, Wagner, H, Hinterstoisser, B y Haltrich, D (2002) Increased production of laccase by the wood-degrading basidiomycete *Trametes pubescens*. *Enzyme Microbiol. Technol.* 30:529-536.
3. Vasdev, K y Kuhad, RC (1994) Induction of laccase production in *Cyathus bulleri* under shaking and static culture conditions. *Folia Microbiol.* 39:326-330.
4. Kirk, TK, Croan, S, Tien, M, Murtagh, KE y Farrel, RL (1986) Production of multiple ligninase by *Phanerochaete chrysosporium* effect of the select growth conditions and the use of a mutant strain. *Enzyme Microbiol. Technol.* 8:27
5. Wolfenden, RS y Wilson, DL (1982) Radical cation as reference chromogens in the kinetic studies of one electron transfer reaction. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* Vol. II:805-812.