



# XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



## IDENTIFICACIÓN FILOGENÉTICA DE UN ASCOMICETO TERMOTOLERANTE, CEPA C05-B4, AISLADO A PARTIR DE RESIDUOS LIGNOCELULÓSICOS. CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA DE SU ACTIVIDAD DE LIGNINO PEROXIDASA

Marina Gutiérrez Antón<sup>a</sup>, Karla Nallely Rivera Hernández<sup>b</sup>, Alejandro Santiago Hernández<sup>a</sup>, Sergio Trejo Estrada<sup>b</sup>, María Eugenia Hidalgo Lara<sup>a</sup>. Departamento de Biotecnología y Bioingeniería CINVESTAV. Av. Instituto Politécnico Nacional No. 2508. México, D.F. C.P. 07360. Tel. 5747-3800 ext. 4360<sup>a</sup>. Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada CIBA-IPN, Ex-Hda. San Juan Molino, Tlaxcala C.P. 90700. Tel. (0155) 55 72 96 000 ext. 87803<sup>b</sup>. e-mail [ehidalgo@cinvestav.mx](mailto:ehidalgo@cinvestav.mx)

*ascomiceto, Chaetomium, lignino peroxidasa.*

**Introducción.** La lignina se caracteriza por ser un complejo aromático, es el segundo polímero en abundancia después de la celulosa. La capacidad que tienen los hongos en su mayoría basidiomicetos y en menor cantidad ascomicetos para degradar compuestos aromáticos como parte de su metabolismo natural, es debido a la capacidad de producir enzimas ligninolíticas. La lignina peroxidasa (LiP., EC:1.11.1.14) es una hemo peroxidasa extracelular. Estas enzimas son de importancia por poseer numerosas aplicaciones en diversas áreas de la biotecnología. LiP, fue descrita por primera vez en *P. chrysosporium* (1). Trabajos anteriores han aislado diferentes hongos termotolerantes a partir de residuos ligninolulósicos, que comparten la habilidad de producir enzimas ligninolíticas.

El presente trabajo tiene como objetivo identificar filogenéticamente la cepa C05-B4; así como, caracterizar bioquímicamente la actividad LiP de la cepa C05-B4.

**Metodología.** Identificación filogenética. C05-B4 se inoculó en placas de papa-dextrosa-agar (PDA) a 45 °C por una semana. El DNA genómico de C05-B4 se obtuvo mediante el protocolo del Kit ZR soil microbe DNA. Para amplificar la región D1/D2 de 28S rDNA, se ocuparon oligos universales NL-1 y NL-4 (2). Las secuencias obtenidas fueron comparadas en BLAST GeneBank. Estas secuencias fueron utilizadas para la predicción del árbol filogenético (3).

**Análisis cualitativo de lignina peroxidasa.** La reacción de azul de metileno determina la actividad de LiP, que desmetila al azul de metileno en presencia de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (4). La mezcla de reacción es el sobrenadante de cultivo., azul de metileno, (1mM), tartrato de sodio, (500mM, pH 4.0) y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, (4.5mM). El color que desarrolló en presencia de LiP, se comparó con el blanco.

**Resultados.** Las características de C05-B4 observadas, son de aspecto pulverulento a granuloso, de color amarillo pálido. Crecen muy lentamente a temperaturas por debajo de los 30°C, sus conidios son de puntas angulares e hifas septadas (figura 1-A). A partir del fragmento amplificado (600 pb) (figura 1-B), su secuencia fue utilizada para la construcción del árbol filogenético basado en la región ADN<sub>r</sub> 28S (figura 1-C), se seleccionaron 5 secuencias con similitud del 96%, de las cuales 3 especies pertenecen al género de *Chaetomium*.

Los resultados evidencian una agrupación de la cepa C05-B4 con *Farrowia seminuda*. Estudios moleculares señalaron que *Farrowia* se encuentra actualmente sinonimizado como *Chaetomium* (5), ya que ambos pertenecen al mismo grupo monofilético.

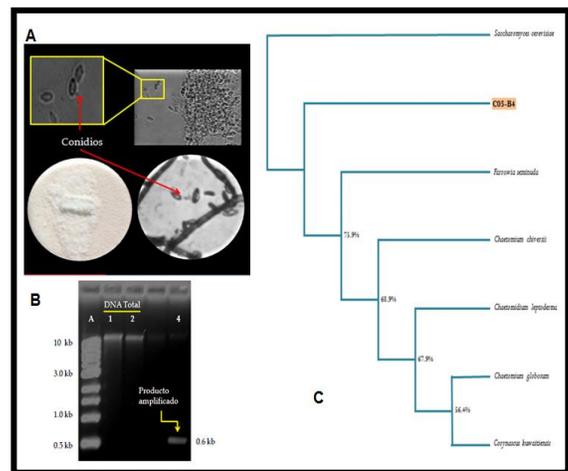


Fig. 1. A. Características macro y microscópicas de la cepa C05-B4. B. Fragmento de ADN amplificado de la región D1/D2 28S. C. Árbol filogenético de C05-B4

Para el ensayo cualitativo (figura 2), se muestra un cambio brusco de color en el azul de metileno a azul verdoso, esta decoloración fue observada a las 24 h de cultivo.

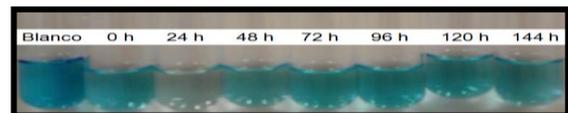


Fig. 2. Cinética de remoción biológica del colorante azul de metileno por C05-B4. (144 h)

**Conclusiones.** La cepa C05-B4 pertenece al género de *Chaetomium*, y es capaz de producir enzimas ligninolíticas como la lignina peroxidasa.

### Bibliografía.

1. Tien M. y Kirk T. (1983) Burds. Science. Vol (221):661-663.
2. Redecke D. (2000) Mycorrhiza. Vol (10):73-80.
3. Guindon S. y Gascuel O. (2003) Syst Biol. Vol (52):696-704.
4. Kling S. y Neto J. (1991) J. Biotechnol. Vol (21):295-300.
5. Untereiner W., Debois V. y Naveau F. (2001) Can JBot. Vol (3):321-333.