



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^a, Karla Nallely Rivera Hernández^b, Alejandro Santiago Hernández^a, Sergio Trejo Estrada^b, María Eugenia Hidalgo Lara^a. Departamento de Biotecnología y Bioingeniería CINVESTAV. Av. Instituto Politécnico Nacional No. 2508. México, D.F. C.P. 07360. Tel. 5747-3800 ext. 4360^a. 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^b. e-mail 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 H₂O₂ (4). La mezcla de reacción es el sobrenadante de cultivo., azul de metileno, (1mM), tartrato de sodio, (500mM, pH 4.0) y H₂O₂, (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_r 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.

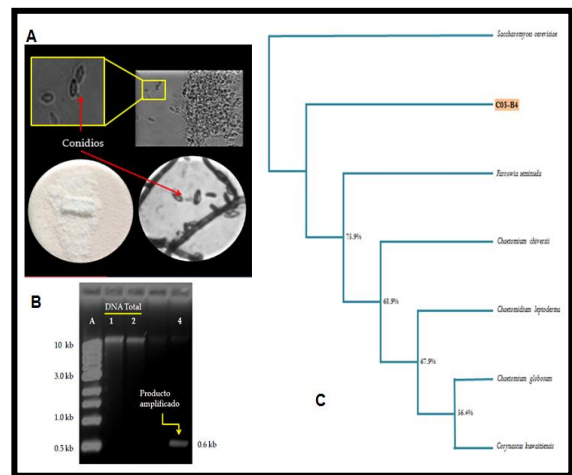


Fig. 1. A. Características macro y microscópicas de la cepa C05-B4. B. Fragmento de ADN amplificado de la región D1/D2 28S. C. Árbol filogenético de C05-B4

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.

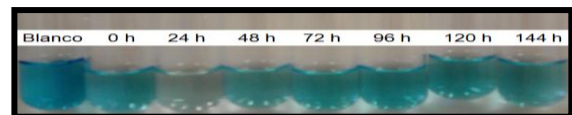


Fig. 2. Cinética de remoción biológica del colorante azul de metileno por C05-B4. (144 h)

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.