



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



IDENTIFICACIÓN FILOGENÉTICA DEL HONGO TERMOTOLERANTE *Corynascus sepedonium* Co3Bag1 AISLADO DE BAGAZO DE CAÑA Y CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA DE SU ACTIVIDAD DE LACASA

Nydia López-Olguín, Karla Nallely Rivera, Alejandro Santiago-Hernández, Sergio Trejo Estrada, María Eugenia Hidalgo Lara. CINVESTAV Departamento de Biotecnología y Bioingeniería, México, D.F. C.P. 07360. CIBA ExHacienda San Juan Molino Carretera Estatal Tecuexcomac-Tepetitla Km 1.5, Tlaxcala C.P. 90700
nydiambj@hotmail.com, ehidalgo@cinvestav.mx

Palabras clave: lacasas, *Corynascus sepedonium*, hongo termotolerante.

Introducción. Las lacasas (benzenodiol: oxígeno oxidoreductasas, E.C. 1.10.3.2) son glicoproteínas que pertenecen al subgrupo más numeroso de las multicobre azules oxidasas (MCO) con PM entre 50 y 100 kDa. Las lacasas termoestables son consideradas como enzimas de interés industrial debido a que tienen gran potencial en diferentes aplicaciones (1). Dentro del grupo de los ascomicetos, se han aislado lacasas termoestables de hongos termotolerantes, como: *Melanocarpus albomyces* (2), *Myceliophthora thermophila* (3) y *Chaetomium thermophilum* (4). Rivera *et al.* (2010) aislaron cepas de hongos termotolerantes a partir de composta de bagazo de caña. De este grupo de cepas, la Co3Bag1 fue elegida por su destacada actividad de lacasa y un crecimiento óptimo a 45°C.

El objetivo de este trabajo es identificar taxonómicamente la cepa Co3Bag1; así como, caracterizar bioquímicamente la actividad de lacasa producida por este microorganismo.

Metodología. La determinación taxonómica se realizó mediante el análisis de secuencias del 28S rDNA, ITS y por características morfológicas. Los ensayos de actividad de lacasa se realizaron a partir de fermentación líquida del hongo Co3Bag1 en el medio reportado por Mechichi (5), adicionando $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (300 μM) como inductor. Los matraces se inocularon con fragmentos de micelio desarrollado sobre agar PDA y se colocaron en agitación orbital a 120 rpm a 45°C. El sobrenadante de cultivo libre de células se utilizó como extracto enzimático crudo que posteriormente fue sometido a una purificación parcial mediante los siguientes pasos: precipitación con $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ al 80%, diálisis con buffer Tris-HCl pH 7.5 y cromatografía de intercambio aniónico. La actividad de lacasa se evaluó siguiendo la oxidación del ABTS 5 mM a 420 nm y por zimograma.

Resultados. Mediante el posicionamiento filogenético, similitud entre secuencias; así como, por características morfológicas, se encontró que la cepa Co3Bag1 corresponde a *Corynascus sepedonium* (Fig. 1).

A partir del extracto crudo se realizó una purificación parcial por intercambio aniónico obteniéndose una proteína de aproximadamente 97.3 kDa, la cual presenta actividad de lacasa (Fig. 2a y 2b).

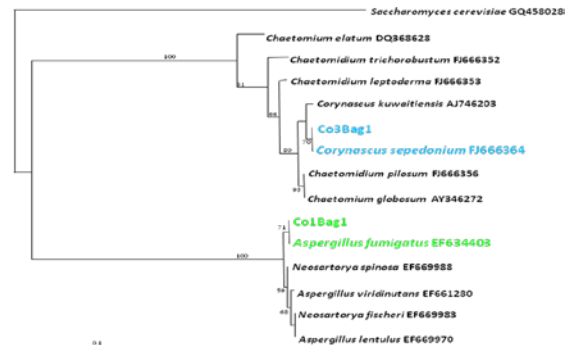


Fig. 1. Árbol filogenético construido por el método de Máxima verosimilitud mediante el D1/D2 del 28S rDNA.

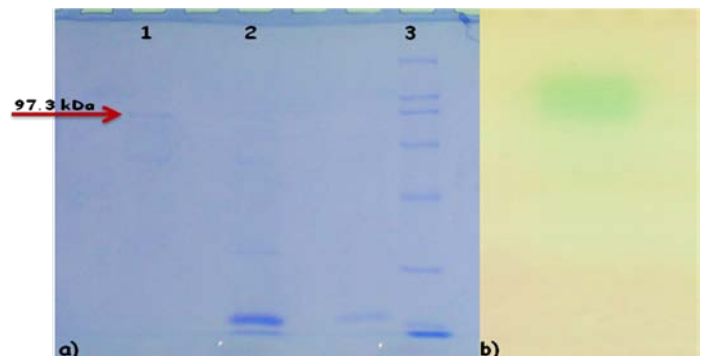


Fig. 2a. Lacasa parcialmente purificada por intercambio aniónico. Carril 1: Fracción purificada, Carril 2: Extracto enzimático crudo, Carril 3: Marcadores de PM. Fig. 2b. Zimograma de la lacasa parcialmente purificada por intercambio aniónico.

Conclusiones. La cepa Co3Bag1 corresponde a *Corynascus sepedonium*. Se obtuvo una lacasa activa parcialmente purificada de aproximadamente 97.3 kDa.

Agradecimiento. Al CINVESTAV por el financiamiento de esta investigación y a la beca otorgada a NLO por el CONACYT para estudios de maestría.

Bibliografía.

1. Myasoedova et al. 2008. *Applied Biochemistry and Microbiology*. Vol 44. p. 73-77
2. Kiiskinen et al. 2002. *Appl Microb Biotechnol*. Vol 59. p. 198-204
3. Berka et al. 1997. *App Environ Microbiol*. Vol 63. p. 3151-3157
4. Chefetz et al. 1998. *App Environ Microbiol*. Vol 64. p. 3175-3179
5. Mechichi et al. 2006. *Enzyme and Microbial Technology*. Vol 39. p. 141-148