



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



Producción de ácido oxálico y clonación de la oxaloacetasa de hongo aislado del café.

¹Díaz-Fonseca A., ²Martínez Pérez F., ³Kameyama-Kawabe L., ⁴González-Barrios J. A., ¹Rodríguez-Vazquez R.

1: Depto. de Biotecnología y Bioingeniería; 3: Depto. de Genética y Biología Molecular CINVESTAV IPN., 4: Medicina Genómica, Hospital Regional 1º de Octubre, ISSSTE México 2: Lab. De Microbiología y Mutagenesis Ambiental, U.I.S. Colombia. correo electrónico alidifos@hotmail.com

Palabras clave: radicales libres, ácido oxálico, oxaloacetasa.

Introducción. Los hongos filamentosos son reconocidos por sus capacidad para producir diversos ácidos orgánicos, proteínas extracelulares y otros metabolitos que ayudan a su adaptación a condiciones ambientales extremas. Dichos metabolitos pueden ser útiles en la biodegradación de contaminantes, la cual es por la formación de radicales libres, como es el caso del ácido oxálico que puede formar hidroxilo y formiato. Sin embargo existe poca información acerca de la producción de ácido oxálico aso como el ARNm que codifica para la oxalacetasa con diferentes medios de cultivo. Por lo cual se muestra los cambios en la producción de ácido oxálico y la clonación parcial del ADN complementario en un hongo obtenido de semillas de café.

Metodología. Metodología.

El hongo se creció en diferentes medios y se cuantificó la producción de ácido oxálico por HPLC. A partir del mejor medio productor se extrajo el RNA total del cultivo con trizol y para la construcción de una librería tipo RACE cuyo tamizaje se realizó por PCR con cebadores para la oxaloactasa de *A. niger*.

Resultados.

La producción de ácido oxálico estuvo en función de la fuente de carbono, nitrógeno, metales traza y pH (figura 1) la cual se incremento con sacarosa, nitrato de sodio, Mn, Fe, Co, Cu, Zn y Mo a pH 6. (tabla 1). Esta actividad pudiera asociarse con el amplicón de 350 pb obtenido del tamizaje (Fig.2).

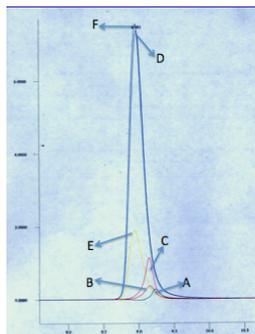


Fig. 1. Perfil cromatográfico de ácido oxálico producido en diferentes medios de cultivo.

Tabla 1. Cantidad de ácido oxálico obtenido en los diferentes medios de cultivo.

Medio	g/L	Desv. Std.	Ref
A	0.065	0.045	1
B	0.054	0.004	2
C	0.269	0.030	3
D	21.841	0.606	4
E	4.379	0.952	5
F	27.818	0.239	6

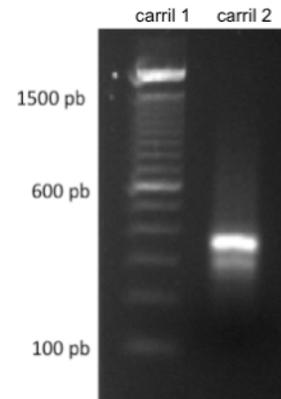


Fig 2. Patrón electroforético en gel de agarosa. Carril 1: marcadores de peso molecular, carril 2: Producto de amplificación obtenido a partir de la librería de ADNc del hongo con oligos para el gen de la oxaloacetasa.

Conclusiones. La presencia del amplicón obtenido en la librería de ADNc así como los cambios en la producción de ácido oxálico dependientes de la composición de medio de cultivo sugieren que la oxaloacetasa participa en la síntesis de ácido oxálico (figura 2).

Agradecimientos. Presupuesto del depto de Biotecnología y Bioingeniería CINVESTAV, IPN.

Bibliografía.

- Meléndez-Estrada J, et al. (2006) *Environ. Technol.* 27(10): 1073-1080.
- Lenz H, et al (1976) *Eur. J. Biochem.* 65: 225- 236 (1976).
- Pedersen H, et al (2000) *Mol. Gen. Genet.* 263: 281-286.
- Czapek. (1902-1903). *Beitr. Chem. Physiol. Pathol.* 1:540.
- George et al (1999). *Microbiology* 145: 2569-2576.
- Cunningham J, Kuyack C. (May 1992) *Appl. Environ. Microbiol.* 58(5): 1451-1458.