



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



INDUCCIÓN DIFERENCIAL DE LACASAS POR EXTRACTOS DE LA MADERA EN *Trametes versicolor*

Brandt Bertrand¹, Fernando Martínez¹, María del Refugio Trejo¹, Leobardo Serrano², Raunel Tinoco²

¹Centro de Investigación en Biotecnología. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Av. Universidad 1001, Col. Chamilpa. C.P. 62209. Cuernavaca, Morelos. ²Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, A. P. 510-3, 62250 Cuernavaca, Morelos, México Fax +52 (777) 3297030. brandt.bertrand@uaem.mx

Palabras clave: *Trametes versicolor*, lacasa, inducción.

Introducción. *Trametes versicolor* es un hongo basidiomiceto, que se caracteriza por la producción de lacasas. Las lacasas, E.C.1.10.3.2, son oxido-reductasas de mutlicobre que catalizan la oxidación unielectrónica de orto y para difenoles, aminas aromáticas, por remoción de un electrón y un protón de un grupo hidroxilo para formar un radical libre (2). Son muy útiles en procesos biotecnológicos industriales, ya que oxidan un amplio rango de compuestos aromáticos y no aromáticos. Los genes de muchas lacasas de hongos lignolíticos han sido clonados y caracterizados, y se ha postulado que los genes que codifican para varias de sus isoenzimas están reguladas diferencialmente (1). En esta investigación se estudió el efecto de diferentes extractos crudos de la madera sobre la expresión de lacasas en *Trametes versicolor* HEMIM-9-(CIB, UAEM).

Metodología. Se prepararon 25mL de medio de harina de trigo al 1% en buffer de fosfatos pH6. Se inoculó 1mL hongo homogenizado a cada matraz y se agregaron 100µL de cada extracto crudo. Se realizaron curvas de producción de lacasa dejando los cultivos en agitación a 150rpm a 29°C por 20 días. Se realizaron zimogramas de actividad lacasa (2,6-DMP) para analizar los perfiles de lacasas inducidas con los diferentes extractos. Se realizó un análisis de pl de las bandas superiores de lacasas en presencia de los diferentes extractos.

Resultados. Se determinó mediante curvas de producción de lacasas que el extracto de cedro es el mejor inductor produciendo 3 veces más que el experimento control (2100 U/L), seguido por el extracto de pino 2000U/L y encino 1600U/L. Se examinaron los perfiles de las lacasas en presencia de los distintos extractos. Se determinó que los perfiles de lacasas varía dependiendo extracto usado.

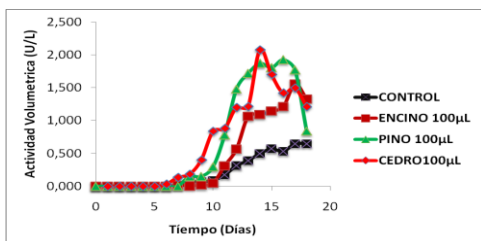


Fig. 1. Efecto del extracto crudo de encino, pino y cedro sobre la producción de lacasas en *Trametes versicolor* HEMIM-9.

Se aislaron las bandas de actividad superiores expresadas en presencia de los diferentes extractos y se sometieron a un análisis de pl. Se encontraron 6, 5 y 3 bandas de actividad distintas en presencia de cedro, encino y pino respectivamente. Posteriormente, se hizo una búsqueda de lacasas reportadas para *T. versicolor* y se compararon los valores de pl. Los extractos de las maderas indujeron isoenzimas de lacasa con valores de pl diferentes a los que se reportan en la literatura.

Tabla.1. Comparaciones de los valores teóricos de pl de las lacasas reportadas para *T. versicolor* con los valores obtenidos experimentalmente.

Lacasas reportadas en <i>T. versicolor</i>	pl teórico de lacasas reportadas en <i>T.versicolor</i>	pl estimado Cedro	pl estimado Pino	pl estimado Encino
				3.5
		4		
AM422387	4.31			
AB212734	4.34			
TVU44431	4.34			
AB212733	4.38			
		4.55		4.55
				4.8
		5.2	5.2	
		5.5		
AB212731	5.62			
X84683	5.62			
AB212732	5.87	5.85	5.8	5.8
AY693776	5.94			
AY049725	6.18			
		6.55	6.55	

Conclusiones. Los extractos crudos de cedro, encino y pino tiene un efecto directo sobre la producción de lacasas y la expresión diferencial de lacasas en *T. versicolor* HEMIM-9.

Agradecimientos. Beca CONACYT. Técnico del laboratorio M en B. Daniel Morales Guzmán (CEIB). Técnico académico Sonia Rojas Trejo (IBT-UNAM). Cepa donada por M en C. Lourdes Urdepilleta Acosta.

Bibliografía

- Collins P. J y Dobson A. D. W (1997). Regulation of Laccase Gene Transcription in *Trametes versicolor*. *Applied and Environmental Microbiology*. 63(9): 3444-3450.
- Rodríguez S. (2006). Laccase activity from the fungus *Trametes hirsuta* using an air-lift bioreactor. *Letters in Applied Microbiology*. 42(6): 612-616.