

EFFECTO DE LA ADICION DE METALES EN EL CRECIMIENTO DE LA LEVADURA MARINA *Debaryomyces hansenii* Y SU POSIBLE USO EN BIORREMEDIACION.

Rogelio Ramírez-Serrano, Norma Y. Hernández-Saavedra.
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. Unidad de Patología Marina.
Apdo. Postal 128. La Paz, BCS 23000, México. Fax:(01) (112) 5-36-25
rramirez@cibnor.mx.

Palabras clave: *SOD, metales, biorremediación.*

Introducción. Las metalotioneínas son consideradas por jugar un papel central en la protección contra la toxicidad de metales pesados y homeostasis celular (1). Los componentes del sistema regulador de metalotioneínas son comparables en todos los eucariotas. La adición de cobre a células de levaduras conduce a la inducción de una proteína rica en cisteínas, de bajo peso molecular, que enlaza cobre llamada cobretioneína que esta relacionada a la familia de la metalotioneínas (2). Cu,Zn SOD ha sido reportada por incrementar su actividad sobre cambios de la concentración de cobre en el medio. Además, el cobre puede modular la Cu,Zn SOD de levadura a nivel transcripcional vía ACE1, un factor de transcripción el cual, sobre el enlace de Cu(I) activa el promotor de CUP1, el gen que codifica para cobretioneína. Un sitio de enlace ACE1 ha sido localizado en el promotor de Cu,Zn SOD y su capacidad para enlazar ACE1 *in vitro* ha sido demostrada (3). Esta información señala un posible papel de Cu,Zn SOD en compartir una función secuestrante de metales con metalotioneínas en levadura, lo que permite su sobrevivencia bajo altas concentraciones de metales pesados.

El objetivo de este trabajo es determinar el efecto de la adición de metales en el crecimiento de la levadura marina *D. hansenii* y el posible papel de la Cu,Zn SOD en la inmovilización de los mismos para el mantenimiento de la homeostasis celular.

Metodología. La biomasa se produjo en un fermentador con volumen de 2 L. Los metales se adicionaron por pulsos en la fase exponencial media (7 hr), a una concentración final de: 80µM (CuSO₄) y 50µM (AgNO₃, Pb(NO₃)₂, Co(NO₃)₂) monitoreando su efecto en el crecimiento (por espectrofotometría a 580 nm) cada hora antes del pulso y cada 30 minutos durante las siguientes 3 horas hasta completar 10. Como control se realizó una cinética basal sin la adición de metales, bajo las mismas condiciones de cultivo.

Resultados y Discusión. El tratamiento de *D. hansenii* con Pb(NO₃)₂ y Co(NO₃)₂, no produjo un cambio significativo en la velocidad específica de crecimiento (μ), el efecto toxico tuvo una duración menor a 30 minutos, CuSO₄ presento un efecto ligeramente mayor en un tiempo cercano a los 30 minutos, por ultimo el tratamiento con AgNO₃ presentó un efecto de mayor tiempo, pero esto no inhibió por completo el crecimiento celular de *D. hansenii* produciendo un cambio en la velocidad especifica de crecimiento y manteniéndose constante a partir de este tiempo.

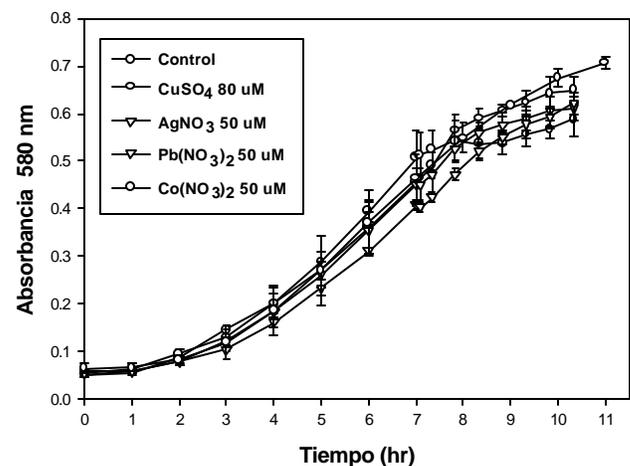


Fig. 1. Efecto de metales sobre el crecimiento de *D. hansenii*, cinéticas desarrolladas en fermentador.

Conclusiones. De acuerdo a los resultados podemos concluir que el periodo corto de efecto toxico durante el crecimiento celular, se debió a la rápida activación del factor de transcripción ACE1 que enciende el sistema de los genes CUP1 y SOD1 que codifican para las metalotioneínas y Cu,Zn SOD respectivamente, estas proteínas son capaces de detoxificar la célula y poder mantener la homeostasis celular, por lo anterior podríamos considerar a *D. hansenii* como una posible herramienta en biorremediación.

Agradecimientos. Beca CONACYT. Cuenta 144425.

Bibliografía.

- Butt, T., Sternberg, E., Gorman, J., Clark, P., Hamer, D., Rosenberg, M., Crooke, S. (1984). Copper metallothionein of yeast, structure of the gene, and regulation of expression. *Proc. Natl. Acad. Sci.* vol (81):3332-3336.
- Cousins, R. (1994). Metal elements and gene expression. *Annu. Rev. Nutr.* Vol (14):449-469.
- Ciriolo, M., Civitareale, P., Carri, M., De Martino, A., Galiazzo, F., Rotilio, G. (1994). Purification and characterization of Ag,Zn-Superoxide dismutase from *Saccharomyces cerevisiae* exposed to silver. *J. Biol. Chem.* Vol (269):25783-25787.