

# OXIDACION BIOCATALITICA DE PESTICIDAS ORGANOFOSFORADOS POR HONGOS LIGNINOLITICOS.

Juan Jauregui, Rafael Vázquez-Duhalt, Brenda Valderrama, av. Universidad # 2001, col. Chamilpa, Cuernavaca, Mor., fax (7) 3-17-23-88, jjaureg@ibt.unam.mx

Palabras clave: organofosforados, hongos ligninolíticos, oxidación

**Introducción.** Los pesticidas organofosforados (OF), son ampliamente usados en la agricultura para el combate de plagas. Estas sustancias químicas han sustituido a los pesticidas organoclorados desde los 70's. La toxicidad de los OF es no específica y afecta a distintas especies animales (1), afectando el sistema nervioso, mediante la inhibición de la acetilcolinesterasa. Algunos pesticidas OF son degradados por las bacterias: *Pseudomonadas*, *Flavobacterium*, *Altermonas* y *Bacillus*, por medio de la enzima paration hidrolasa, que rompe el enlace P-O de los OF (2), teniendo una capacidad limitada para romper el enlace tioeter de otros OF. En el caso de los hongos ligninolíticos (HL) se sabe que *Phanerocheate chrysosporium*, *in vivo* puede mineralizar clorpirifos, fonofos y terbufos(3).

En este trabajo el objetivo es identificar el sistema enzimático responsable de la degradación de los pesticidas organofosforados en hongos ligninolíticos.

**Metodología.** Se estudió la capacidad de degradación *in vivo* de 17 cepas de HL contra paration como pesticida modelo y usando un medio líquido, de los resultados obtenidos se seleccionaron a las tres mejores; estas se ensayaron para degradar terbufos, azinfos metilico, fosmet y DEF. Primero se buscó la actividad degradativa en el líquido extracelular, midiendo las actividades de las enzimas ligninolíticas y la actividad contra los OF. Se ensayó la actividad en la biomasa y se separaron distintas fracciones celulares, para localizar la actividad degradativa de OF. La actividad fue medida por la desaparición del OF por HPLC.

**Resultados y Discusión.** Las 17 cepas estudiadas de HL lograron metabolizar del 10-97% del paration en 96 h. Las tres cepas que mostraron las más altas más altas actividades (*Phanerocheate chrysosporium* 3641, *Pleurotus ostreatus* 7989 y *Bjerkandera adusta* 8258), se usaron para degradar otros pesticidas, con metabolización entre el 50-97% de los compuestos en 96 hrs. (cuadro 1). Para identificar el origen de la actividad degradativa, se evaluaron las enzimas ligninolíticas extracelulares de estos hongos, no encontrándose degradación de los OF con estas enzimas. Dicha actividad se encontró en el micelio de los hongos, específicamente en los microsomas. Para el caso de *B. adusta* 8258 la velocidad de degradación fue de 10  $\mu\text{mol mg prot}^{-1} \text{h}^{-1}$  para fosmet, 5.7  $\mu\text{mol mg prot}^{-1} \text{h}^{-1}$ , para terbufos y 2.2  $\mu\text{mol mg prot}^{-1} \text{h}^{-1}$  para azinfos metilico, requiriendo  $\beta$ -NADPH (fig. 1).

Cuadro 1. Velocidad de metabolización específica ( $\text{mmol g biomasa seca}^{-1} \text{h}^{-1}$ )

Hongo	Pesticidas				
	Paration	Azinfos metilico	Fosmet	Terbufos	DEF
<i>B. adusta</i> 8258	217 ( $\pm 10$ )	223 ( $\pm 8$ )	220 ( $\pm 2$ )	232 ( $\pm 9$ )	84 ( $\pm 8$ )
<i>P. ostreatus</i> 7989	169 ( $\pm 4$ )	106 ( $\pm 6$ )	103 ( $\pm 4$ )	589 ( $\pm 5$ )	45 ( $\pm 5$ )
<i>P. chrysosporium</i> 3641	145 ( $\pm 6$ )	203 ( $\pm 8$ )	45 ( $\pm 3$ )	174 ( $\pm 7$ )	25 ( $\pm 2$ )

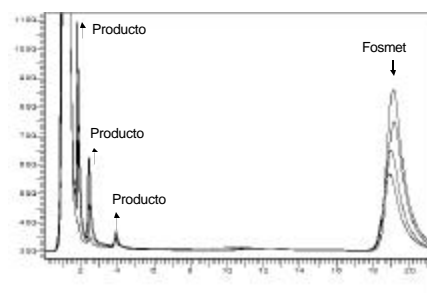


Fig. 1 Degradación de fosmet por la fracc. microsomal de *P. ostreatus* 7989 con adiciones sucesivas de  $\beta$ -NADPH.

**Conclusiones.** Los resultados presentados indican que la actividad degradativa de los pesticidas organofosforado en hongos ligninolíticos es microsomal. El requerimiento de  $\beta$ -NADPH durante la degradación sugiere que el citocromo P450 podría estar involucrado en el proceso de degradación.

**Agradecimiento.** Gracias por el apoyo financiero otorgado por el CONACYT (33611-U).

## Bibliografía.

1. Grue, C.E., Fleming, W.J., Busby, D.G. and Hill, E.F. (1983). Assessing hazards of organophosphate pesticides to wildlife. *in Transactions of the 48th North American Wildlife and Natural Resources Conference*. pp. 200-220. The Wildlife Management Institute, Washington, DC.
2. Amitai G., Adani R., Sod-Moriah G., Rabinovitz I., Vincze A., Leader B., Leibovitz-Persky L., Friesem D., and Kadar Y. 1998 "Oxidative biodegradation of phosphotriolates by fungal laccase". *FEBS Letters*. 438: 195-200.
3. Bumpus J.A., Kakar S.N., and Coleman R.D. 1993 "Fungal Degradation of Organophosphorus Insecticides". *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 39/40: 715-726.