



## Efecto de la concentración del sulfato de cobre ( $\text{CuSO}_4$ ) como inductor de lacasas y en el crecimiento de *Pycnoporus* HEMIM-53.

Elizabeth Cuevas-Reyes, Elba Villegas-Villarreal.

Centro de Investigación en Biotecnología (CEIB – UAEM), Av. Universidad No. 1001, Col Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México. C.P. 62209.

cure9314@gmail.com; elbav@uaem.mx

Palabras clave: bioprospección, actividad enzimática, basidiomiceto.

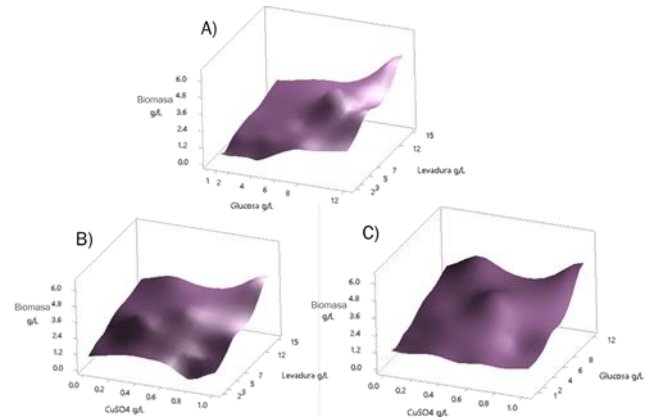
**Introducción.** *Pycnoporus* es un hongo de color rojo intenso, crece sobre madera muerta en climas tropicales y subtropicales alrededor de todo el mundo (1). Produce metabolitos con actividad antibacteriana como el ácido cinabarrínico en una diversa gama de medios de cultivo. Este ácido se puede sintetizar a partir de una condensación de dos moléculas del ácido 3-hidroxiantranílico mediada por una lacasa (2). Se ha demostrado que *Pycnoporus* cultivado en diversos medios de cultivo líquido en diferentes sistemas matraz o reactores produce lacasas, las cuales son secretadas al medio, sin embargo altas concentraciones de los componentes pueden inhibir la producción de enzimas o ser tóxicos para el organismo (3). En éste trabajo se determinó el efecto de la concentración del  $\text{CuSO}_4$  sobre la producción de lacasas y en el crecimiento del hongo en cultivo líquido.

**Metodología.** Se llevó a cabo el cultivo líquido durante 15 días en matraz con un volumen de 50 mL de medio de cultivo con glucosa como fuente de carbono, extracto de levadura como fuente de nitrógeno y  $\text{CuSO}_4$  como inductor de lacasas. De acuerdo a un diseño factorial  $2^k$  se variaron las concentraciones de los componentes como se muestran en la tabla 1. El crecimiento del hongo se determinó por diferencia de peso seco. La actividad enzimática de lacasas se realizó usando como sustrato 2,6-dimetoxifenol (2,6-DMP) a pH 4.5 y se determinación por espectrofotometría (4).

**Tabla 1.** Concentraciones de Glucosa, extracto de levadura y sulfato de cobre en los medios de cultivo.

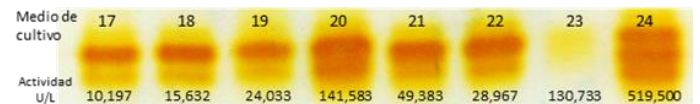
Fermentación	Nivel	Glucosa	Ext. Levadura	$\text{CuSO}_4$
		g/L		
1	+	4	5	0.80
	-	2	2	0.01
2	+	8	10	0.5
	-	1	3	0.1
3	+	12	15	1
	-	6	7	0.25

**Resultados.** Se obtuvieron 24 medios de cultivo de acuerdo al diseño  $2^k$ , de los cuales 4 medios registraron las actividades enzimáticas más altas por arriba de las  $\geq 100,000$  U/L. En la mayoría de los casos concentraciones altas de  $\text{CuSO}_4$  presentó una mayor actividad de lacasas, sin ser tóxico para el crecimiento del micelio, siendo la concentración de glucosa y extracto de levadura crucial para contrarrestar la toxicidad del cobre y para una mayor producción de biomasa (Fig. 1a, b y c), siendo de mayor importancia el extracto de levadura, ya que es un componente rico en vitaminas, aminoácidos, entre otros factores que favorecen al hongo.



**Fig. 1.** Gráfico de superficie de respuesta de la producción de biomasa contra A) Glucosa y extracto de levadura B)  $\text{CuSO}_4$  y Extracto de levadura C)  $\text{CuSO}_4$  y Glucosa.

En el zimograma se observa que algunos extractos crudos de los medios de cultivo presentan 1, 2 y hasta 3 bandas con actividad (Fig. 2). El medio 23 demostró actividad de lacasa alta aunque no se distinguió claramente una banda. Por otro lado en el 24 se muestra un patrón de tres bandas y registró la actividad de lacasas más alta. La actividad enzimática registrada en cada sobrenadante no se puede relacionar directamente con el número de bandas (Tabla 2).



**Fig. 2.** Perfil de zimograma de lacasas a pH 4.5, extractos crudos de los medios 16 al 24 correspondiente solo a los 8 mejores medios de cultivo.

**Conclusiones.** Los resultados proporcionaron bases para identificar las concentraciones ideales para la obtención de un mayor rendimiento de lacasas sin afectar el crecimiento del micelio.

**Agradecimientos.** A CONACYT por la beca asignada a E. Cuevas-Reyes para estudios de Doctorado (No. 712923).

### Bibliografía.

- Acosta L, Alonso G, Rodríguez A, Adame M, Salgado, D, Salgado J, Montiel M, Medrano F, Villegas E, (2010) Capítulo 28, 531-562
- Subba Rao PV, Jegannathan NS & Vaidyanathan CS. (1965) Biochem J, 95, 628-632.
- Bertrand B, Martínez-Morales F, & Trejo-Hernández MR. (2013). Rev Mex Ing Quim. 12(3).
- Téllez-Téllez M, Sánchez C, Loera O, and Díaz-Godínez G. (2005). Biotechnol. Lett. 27, 1391-1394.

