

ENSAYO Y SELECCIÓN DE INDUCTORES DE LACASAS EN CEPAS DE *AURICULARIA FUSCOSUCCINEA*

BARUA, Celeste ^{a, b}, CONIGLIO, Romina ^{a, b}, FONSECA, María ^{a, b}.

a) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones “Dra. María Ebe Reca”. Laboratorio de Biotecnología Molecular. Mnes. - Arg.

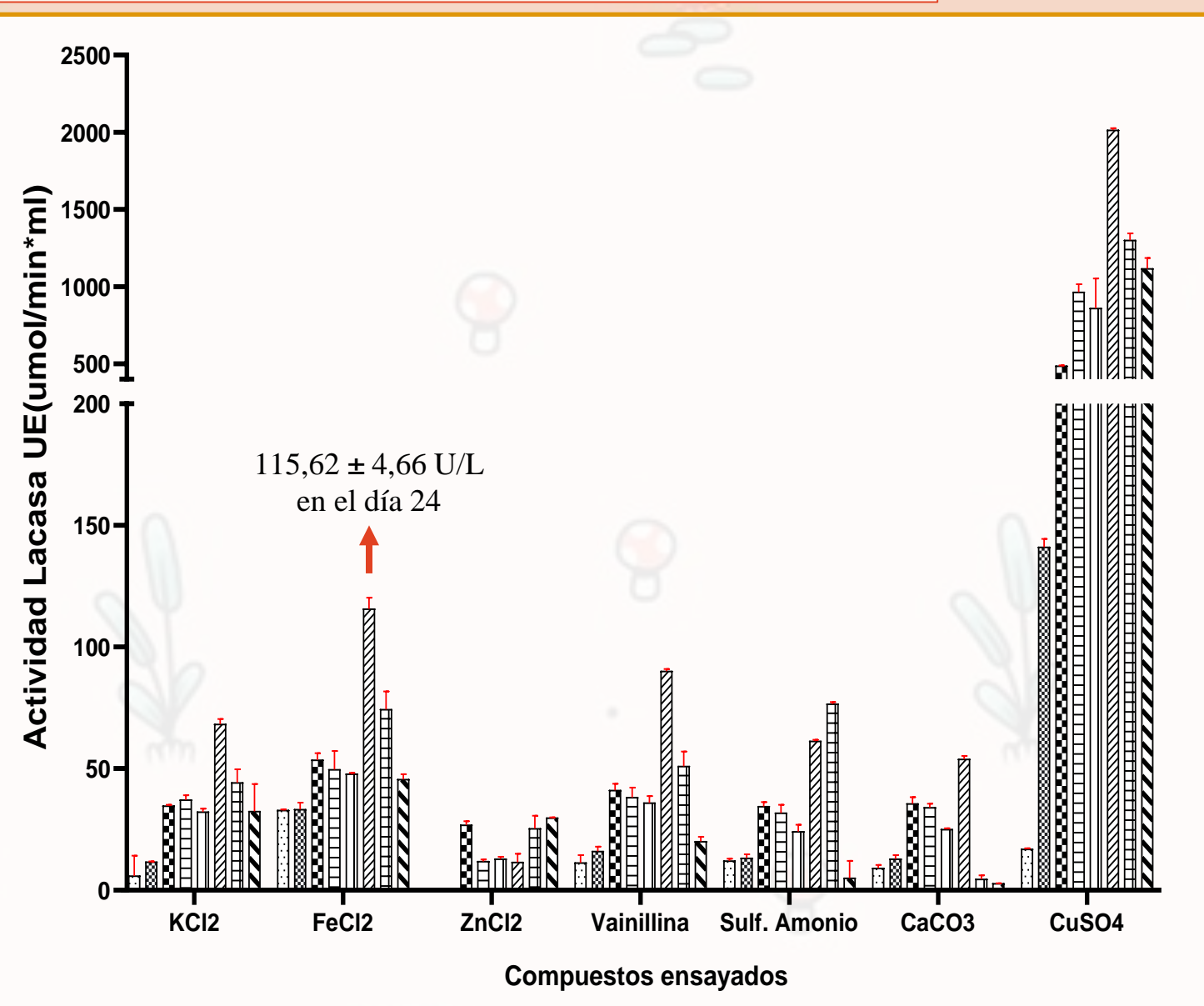
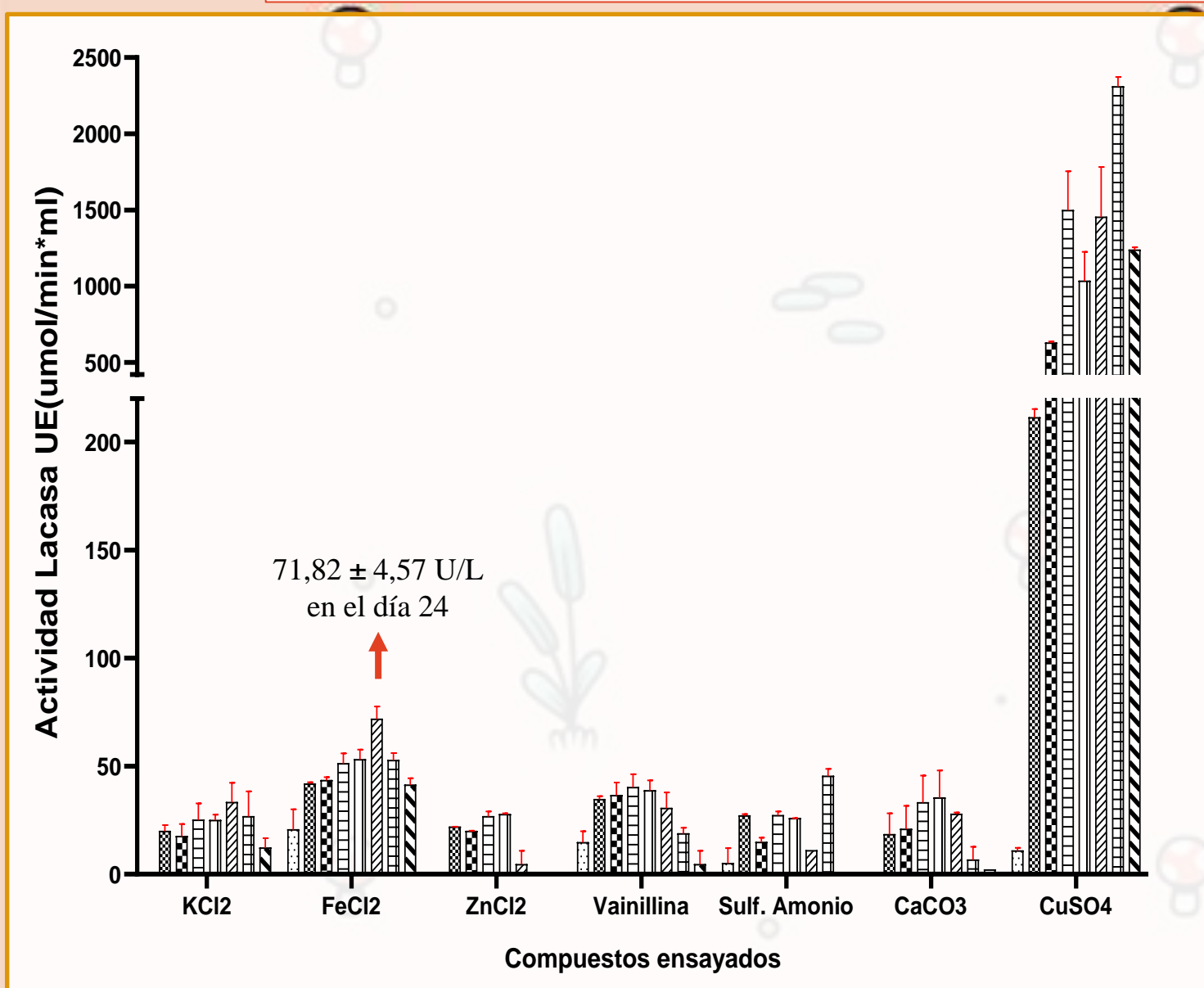
b) CONICET. Buenos Aires. Argentina

Introducción: Las lacasas (EC 1.10.3.2) son enzimas oxidativas versátiles interesantes para la industria cítrica debido a que pueden ser utilizadas en procesos de clarificación de jugos para mejorar el rendimiento y calidad de los mismos. Se puede obtener lacasas a partir de organismos como los hongos comestibles, sobre todo en presencia de CuSO_4 , reconocido por actuar como inductor de esta enzima. Sin embargo, este compuesto no es compatible con aplicaciones relacionadas a la Industria Alimentaria y de esta manera surge la necesidad de encontrar inductores alternativos compatibles con la misma.

Objetivo: investigar distintos compuestos compatibles con la Industria Alimentaria que actúen como inductores de lacasas y permitan obtener una producción enzimática similar a la obtenida en presencia de CuSO_4 .

Materiales y métodos: se realizó la cuantificación de enzimas (U/L) producidas por dos aislados de *A. fuscossuccinea* (LBM 243 y LBM 244) en medio de cultivo líquido extracto de malta (ME) suplementado con 6 compuestos (FeCl_2 , ZnCl_2 , KCl_2 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, CaCO_3 y vainillina) a una concentración de 0,5mM como alternativa al CuSO_4 (control +). Discos cubiertos de micelio se inocularon en matraces conteniendo ME con cada compuesto y fueron incubados en estufa durante 32 días a 28 °C. En este periodo se tomaron alícuotas de sobrenadante cada 4 días. Los ensayos se realizaron por duplicado. La cuantificación de enzimas lacasas se realizó según la técnica descrita por Field y col., (1993) con 2,6- dimetoxifenol 5 mM como sustrato. Se midió la absorbancia de la reacción en espectrofotómetro a 469 nm durante los minutos 1, 3 y 5. La actividad enzimática se expresó en unidades (U) enzimáticas por litro, donde 1 U es equivalente a 1 $\mu\text{M}/\text{min}$ de producto a 30°C. Con los datos obtenidos se realizó un análisis estadístico ANOVA simple y comparación de múltiples muestras mediante el software Statgraphics 19 y de datos agrupados *Two-way* ANOVA y post-test de Bonferroni mediante el software GraphPadPrism 8.

Día 4
 Día 8
 Día 12
 Día 16
 Día 20
 Día 24
 Día 28
 Día 32



Resultados: teniendo en cuenta los compuestos ensayados, la mayor actividad enzimática se obtuvo en presencia del FeCl_2 ($p < 0,001$) para ambos hongos siendo 71,82 U/L producidas por LBM243 y 115,62 U/L producidas por LBM244, sin embargo, no alcanzó la actividad enzimática (2308,9 U/L para LBM243 y 2013,24 U/L para LBM244) obtenida en presencia del CuSO_4 ($p < 0,001$).

Conclusión: Se concluye que si bien en las condiciones ensayadas el FeCl_2 no alcanzó los niveles de actividad obtenidos en presencia de CuSO_4 , puede ser viable su utilización para la optimización del medio de cultivo variando sus concentraciones y adicionando fuentes de carbono y nitrógeno que induzcan de manera sinérgica una mayor producción de enzimas lacasas por los aislados LBM243 y LBM244 de *Auricularia fuscossuccinea*.

Fig. 1: Gráfico de actividad lacasa para el aislado LBM243

Fig. 2: Gráfico de actividad lacasa para el aislado LBM244