

Los hongos filamentosos, su importancia de estudio y de aplicación industrial

Dra. Araceli TOMASINI CAMPOCOSIO
Departamento de Biotecnología, División de Ciencias Biológicas
UAM – Iztapalapa
atc@xanum.uam.mx

El estudio de la microbiología es de suma importancia desde que los microorganismos son parte de nuestra naturaleza. Los microorganismos han sido de utilidad para el hombre aun desde antes del conocimiento de su existencia, el estudio de los microorganismos y el conocimiento sobre ellos ha sido aplicado en el ámbito médico, industrial, económico y ambiental.

El conocimiento de los microorganismos ha servido para evitar pérdidas económicas en cosechas de productos agrícolas, al conocer los microorganismos patógenos que infectan y dañan los cultivos y poder saber como controlar o evitar que estos microorganismos ataquen los cultivos.

Desde el punto de vista médico su aportación es indescriptible, en la actualidad no nos imaginamos un mundo sin antibióticos y también es difícil pensar en la cantidad de personas que podrían morir sin no tendríamos disponible este medicamento. Como sabemos muchas de las enfermedades infecciosas que nos atacan son causadas por microorganismos, bacterias, hongos y virus principalmente. Pero también es importante recordar que los antibióticos son producidos por ellos mismos, bacterias del tipo actinomiceto y hongos filamentosos. Así que el conocimiento y comprensión del metabolismo de estos seres vivos nos ha dado herramientas para conocer y curar muchas enfermedades que antiguamente eran mortales. También es posible formular las vacunas, con las cuales las personas y animales quedan protegidos de ciertos microorganismos evitando así que puedan contraer la o las enfermedades causadas por ellos.

Además de los antibióticos, conocidos por todos nosotros y ya mencionados, los microorganismos producen una amplia variedad de metabolitos con capacidad farmacéutica y por lo tanto con aplicación en la medicina, entre ellos podemos mencionar a manera de ejemplo, los anicolesterolémicos metabolitos que disminuyen la cantidad de colesterol en sangre, el grupo de pavarstatinas como la lovastatina. Productos ampliamente utilizados en la

actualidad, por el gran número de personas que sufren padecimientos cardiacos. Otros de los metabolitos de gran importancia médica son los utilizados en el tratamiento de la quimioterapia, para combatir el cáncer, como el taxol. También podemos mencionar a los inmunosopresores como el micofenolato y la ciclosporina, medicamento prescrito a personas que han sufrido implantes como de riñón, etc. El ácido hialurónico que se utiliza en cosméticos, para tratamiento de la piel.

Desde el punto de vista industrial también podemos mencionar gran variedad de aplicaciones que tienen los microorganismos y los metabolitos producidos por ellos mismos. El primer ejemplo es en la fabricación de bebidas alcohólicas como la cerveza, el vino y el pulque. En la fabricación de pan y gran variedad de alimentos fermentados tradicionales del oriente como koji, tempeh, y mexicanos como el pozol, etc. En carnes, para la conservación de éstas, en forma de embutidos, lácteos como los quesos, yogurt, etc. También es importante mencionar los metabolitos producidos por microorganismos y que tienen gran aplicación industrial como el ácido glutámico, el ácido cítrico, gran variedad de enzimas como proteasas, lipasas, pectinasas, etc. Actualmente se está estudiando la producción de biopolímeros producidos por microorganismos, con capacidades parecidas a los polímeros sintéticos, pero que son completamente biodegradables.

Por último y no por eso menos importante debemos mencionar la importancia de los microorganismos desde el punto de vista ambiental. Estos han sido los degradadores naturales de sustancias y compuestos de desecho, produciendo compuestos no tóxicos y de fácil asimilación por las plantas y otros animales. Sin embargo la gran actividad industrial y la forma de vida actual del hombre, así como debido al número de pobladores en todo el mundo, la cantidad y variedad de compuestos de desechos tanto naturales como xenobióticos y muchas veces tóxicos ha rebasado por mucho la capacidad de los microorganismos de transformarlos naturalmente. Esto ha ocasionado la acumulación de dichos compuestos en mantos acuíferos y suelos y por lo tanto el rompimiento del equilibrio de los ecosistemas, aunado a que muchos de estos compuestos son tóxicos, lo que ha afectado en mayor grado la vida de los seres que se desarrollan en dichos ecosistemas. Por esta razón se han estudiado la forma de poder eliminar o degradar estos compuestos del medio ambiente a través de procesos químicos, físicos y biológicos. Dentro de los biológicos, el papel de los microorganismos es importante, ya que por su metabolismo y/o a través de sus sistemas

enzimáticos son capaces de modificar, degradar y en el mejor de los casos mineralizar, llevar a su forma más simple como CO₂, N₂ y H₂O a estos compuestos tóxicos.

Cabe mencionar la importancia de la genética e ingeniería genética y su aplicación en la microbiología. Se han logrado obtener cepas sobre-productoras de metabolitos para uso industrial. También, conociendo las rutas biosintéticas de un metabolito específico, se puede, en la actualidad, adicionar los genes de estas rutas a microorganismos, generalmente bacterias, que no los producen y así poder obtenerlos por procesos biotecnológicos como ejemplo se puede mencionar la producción de insulina.

En este trabajo nos enfocaremos a hablar sobre la importancia de los hongos en su aplicación en los procesos de recontaminación ambiental.

Los hongos han tenido un papel muy importante en la descomposición de compuestos en la naturaleza. Los basidiomicetos, hongos que forman cuerpos fructíferos, han sido los más utilizados y los más estudiados con este fin. Esto debido a que estos hongos producen un sistema enzimático formado principalmente por peroxidasas y lacasas. Estas enzimas tienen la capacidad de degradar la lignina, el polímero más abundante y más resistente en la naturaleza, de ahí que se conocen como hongos de la pudrición blanda, blanca y café. Por esta razón surgió la inquietud de estudiar la posibilidad de utilizar a estos hongos en la degradación de compuestos aromáticos tóxicos. El más estudiado de todos es *Phanerochaete chrysosporium*, también es importante mencionar a *Trametes versicolor*, *Pleurotus ostreatus*, *Tyromyces palustris*, *Coniophora puteana*, *Gloeophyllum trabeum*, *Bjerkandera sp.*, *Phlebia radiata*, *Ceriporiopsis subvermispora* entre otros. Entre las enzimas más importantes reportadas para estos procesos se encuentran las peroxidasas como la Lignina y Manganese peroxidasa (LiP y MnP) reportadas desde 1983 y las lacasas.

En el grupo de trabajo se aislaron, a partir de efluentes y suelos contaminados con pentaclorofenol, hongos filamentosos diferentes a los basidiomicetos y se estudió si también tienen la capacidad de degradar compuestos tóxicos. Se planteó en un inicio, la hipótesis de que estos hongos presentan velocidades de crecimiento mayores a las de los basidiomicetos y además diferentes sistemas enzimáticos.

Los clorofenoles son un grupo de compuestos contaminantes encontrados en el aire, suelo, agua y ambientes marinos. Este tipo de compuestos también se encuentran como productos secundarios en las aguas de desecho de diversos efluentes industriales, como el efluente del blanqueo de la pulpa en el proceso de fabricación de papel. Además son ampliamente usados en actividades agrícolas como insecticidas, plaguicidas, herbicidas. Las propiedades físico-químicas que presentan hacen que su persistencia en el ambiente sea durante más tiempo y por ende su eliminación aún más difícil debido a su síntesis química. De los principales compuestos clorofenólicos se pueden mencionar al 2,4,6-triclorofenol, 2,4-diclorofenol, vinilos clorados y al pentaclorofenol. Este último es el compuesto que se seleccionó para estudiar la degradación de compuestos tóxicos en el laboratorio.

El pentaclorofenol fue sintetizado por el hombre, por primera vez en 1936 y empleado como funguicida y herbicida. Su principal uso es como preservador de la madera.

Se ha observado que es tóxico y se acumula en el medio ambiente. Debido a las impurezas que presenta el PCF técnico (clorodibenzo-p-dioxinas, clorodibenzofuranos e hidroxiclorofenilatos) hace que este compuesto sea de mayor toxicidad y peligro.

Su mecanismo principal de acción en las células es mediante el desacoplamiento de la fosforilación oxidativa, además, de perturbar las propiedades de la membrana (Anandarajah *et al.*, 2000).

Como resultado de experimentos con animales de laboratorio, se ha informado que el PCF también tiene efectos fetotóxicos y teratogénicos, debido a que se une a varios receptores hormonales.

Las principales enzimas producidas por hongos (de pudrición blanca y café) que intervienen en la degradación del PCF, son las peroxidasas y las fenoloxidasas .

Peroxidasas, son oxidoreductasas producidas por un gran número de microorganismos y plantas. Catalizan una gran variedad de reacciones pero todas ellas requieren de la presencia de peróxido de hidrógeno (H_2O_2), para su activación. El H_2O_2 primero oxida a la enzima para después oxidar el sustrato en turno. Las peroxidasas (principalmente LiP y MnP) han sido usadas en laboratorios para el tratamiento de contaminantes aromáticos.

Manganeso peroxidasa (MnP), es una hemoproteína glucosilada extracelular que cataliza la oxidación de Mn(II) a Mn(III) dependiente de H₂O₂. (Kirt y Farrell, 1987; Gold y Alic, 1993; Cullen y Kersten, 1992). El compuesto Mn(III) resultante participa en la oxidación de sustratos orgánicos.

Lignina peroxidasa, son también hemoproteínas glucosiladas extracelulares que catalizan la oxidación de un electrón dependiente de H₂O₂, de una variedad de estructuras aromáticas relacionadas con la lignina, resultando la formación de cationes radicales arilos los cuales experimentan varias reacciones no enzimáticas y producen gran variedad de productos finales (Kirt y Farell, 1987; Higuchi, 1993; Rodríguez *et al.*, 1997). Estas enzimas son altamente inespecíficas lo cual posibilita la oxidación de una gran diversidad de compuestos xenobióticos que tienen algunas estructuras similares a las subestructuras de la lignina (Hammel, 1989; Al-kassim *et al.*, 1994).

Fenoloxidasas, representan otra familia de oxido-reductasas que catalizan reacciones de oxidación de compuestos fenólicos (Durán y Esposito, 2002; Husain, 2000). Se conocen dos clases de fenoloxidasas: tirosinasas y lacasas. Estos dos tipos de enzimas requieren de la presencia de oxígeno molecular para su actividad, pero no de cofactores (Jolivet *et al.*, 1998; Steffens *et al.*, 1998; Chevalier *et al.*, 1999; Bollag, 1992; Burton, 1994).

La lacasa pertenece a un pequeño grupo de enzimas denominadas oxidasas azules (Karma y Nicell, 1997). En general esta enzima contiene cuatro átomos de cobre, los cuales juegan un papel importante en su mecanismo catalítico. Los átomos de cobre son distribuidos en diferentes sitios y son clasificados en tres tipos, de acuerdo a su especificidad espectroscópica y características funcionales (Durán *et al.*, 2002; Thurston, 1994; Minussi *et al.*, 1999).

La lacasa de los hongos tiene un papel importante también en la delignificación, ya que puede degradar lignina en ausencia de lignina peroxidasa y manganeso peroxidasa (Mayer, 2002). Esta enzima es capaz de catalizar varios compuestos aromáticos (particularmente fenoles). Hongos de pudrición blanca como *Panus tirinus* y *Coriolus versicolor* demostraron degradar 2,4,6-triclorofenol en cultivos líquidos, en ambos casos al purificar las enzimas se demostró que la reacción se llevó a cabo por lacasa.

La tirosinasa (monofenol monooxigenasa) se caracteriza por catalizar la *orto*-hidroxilación de monofenoles (actividad monofenolasa o cresolasa) y la subsiguiente oxidación de difenoles a quinonas (actividad difenolasa o catecolasa). La reacción es de forma natural, para bacterias, hongos, plantas y mamíferos. La tirosinasa contiene un centro binuclear con tres tipos de cobres, en los cuales 2 iones de cobre están estrechamente espaciados y coordinados para 3 histidinas a través de los átomos nitrógeno. Este tipo de sitio ha sido encontrado y caracterizado estructuralmente también en hemocianinas, los cuales actúan como acarreadores de oxígeno en artrópodos y moluscos y en la catecol oxidasa, las cuales llevan a cabo la oxidación de *o*-difenoles a *o*-quinonas.

Se aislaron dos hongos pertenecientes a los mucorales, *Amylomyces rouxii* y *Rhizopus oryzae* ENHE. Se ha demostrado que estos hongos son capaces de degradar el PCF. Se demostró que *A.rouxii* degrada 80% del PCF inicial en 144 h. mientras que *R. oryzae* ENHE lo hace en 48 h, en cultivos conteniendo 12.5 mg PCF L⁻¹.

También se demostró que en la degradación de PCF por *A. rouxii* está presente la tirosinasa y es una de las enzimas responsables de la degradación. En el caso de *R. oryzae* ENHE se encontró tanto tirosinasa como LiP, ambas tienen un papel en la degradación de PCF. Se determinó que estos hongos producen tanto tirosinasa intra y extracelular.

Amylomyces rouxii fue transformado heterológicamente, con genes que expresan para LiP y MnP y se degradó 90% en 96 h.