



Inducción de la degradación de lignina de paja de trigo en aromáticos por *Aspergillus* spp. y *Penicillium chrysogenum*

Wheat straw lignin degradation induction to aromatics by por *Aspergillus* spp. and *Penicillium chrysogenum*

Baltierra-Trejo Eduardo^{1,2}, Silva-Espino Eliseo¹, Márquez-Benavides Liliana¹, Sánchez-Yáñez Juan Manuel^{2*}

Datos del Artículo

¹Manejo de Residuos Sólidos y Medio Ambiente, Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (IIAF) de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
Av. San Juanito Itzicuaro S/N. Col. San Juanito Itzicuaro Morelia, Mich., 58302 México. Tel. +52(443)334-04-75 ext. 116.

²Microbiología Ambiental, Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas (IIQB) de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH). Edif. B-3 Ciudad Universitaria, Av. Francisco J. Mujica S/N Col. Felicitas del Río, Morelia Mich., 58040 México. Tel. +52 (443) 3223500 ext. 4240.

***Dirección de contacto:**

Laboratorio de Microbiología Ambiental del Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas (IIQB) de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH). Edif. B-3 Ciudad Universitaria, Av. Francisco J. Mujica S/N Col. Felicitas del Río, Morelia Mich., 58040 México. Tel. +52 (443) 3223500 ext. 4240.

Juan Manuel Sánchez-Yáñez
E-mail address :syanez@umich.mx

Palabras clave:

Residuo – agrícola,
lacasa,
aromático.

J. Selva Andina Res. Soc.
2016; 7(1):10-19.

Historial del artículo.

Recibido junio, 2015.
Devuelto enero 2016
Aceptado enero, 2016.
Disponible en línea, febrero, 2016.

Editado por:
Selva Andina
Research Society

Resumen

La paja de trigo es un desecho agrícola recalcitrante, su eliminación por incineración contamina el ambiente. Se ha investigado el aprovechamiento de sus componentes estructurales: celulosa, hemicelulosa a excepción de la lignina por ser la porción recalcitrante. La lignina residual de paja de trigo (LIREPATO) tiene valor potencial biotecnológico si es degradada en aromáticos. Como alternativa, los hongos mitospóricos ligninolíticos poco se han investigado, a pesar de que degradan la LIREPATO en medio de cultivo mineral en un tiempo relativamente corto comparado con lo reportado con los basidiomicetos. El objetivo de esta investigación fue analizar en *Aspergillus* spp y *Penicillium* spp en la degradación de LIREPATO como única fuente de carbono en la generación de aromáticos. La degradación de la LIREPATO en aromáticos se realizó lacasa, lignina peroxidasa y manganoso peroxidasa. Los aromáticos generados se identificaron por cromatografía de gases. Los resultados señalan que *Penicillium chrysogenum* degradó la LIREPATO con hasta un 34.8% en 28 días de incubación. La actividad lacasa fue la mayor con 111 U L⁻¹ en 7 días, menor tiempo a lo reportado en basidiomicetos y sin la adición una fuente de carbono adicional para inducirlo. *Aspergillus* spp y *Penicillium* spp generaron guayacol, vainillina, ácidos hidroxibenzoico, vainillínico, siríngico, y férulico con producción máxima por semana de 3.5, 3.3, 3.2, 3.3, 10.1 y 21.9 mg mL⁻¹ respectivamente

© 2016. Journal of the Selva Andina Research Society. Bolivia. Todos los derechos reservados.

Abstract

Wheat straw is a recalcitrant agricultural waste; incineration of this material represents an important environmental impact. Different reports have been made regarding the use of the structural components of wheat straw, i.e. cellulose, hemicellulose and lignin; however, lignin has been less exploited because it is largely considered the recalcitrant part. Residual wheat straw lignin (REWSLI) has a potential biotechnological value if depolymerization is attained to produce aromatics. Lignolytic mitosporic fungus represent an alternative where very little research has been done, even though they are capable of depolymerize REWSLI in simple nutritional conditions in relatively short periods, when compared to basidiomycetes. The aim of this research was to study the depolymerization activity of *Aspergillus* spp and *Penicillium* spp on semipurified REWSLI as the sole carbon source to produce aromatics. The depolymerization capacity was determined by the activity of the laccase, lignin peroxidase and manganese peroxidase enzymes. The generated aromatics derived from the REWSLI depolymerization were

Key words:

Phenolic,
Lacasa,
Enzyme,
waste-agricultural.

identified by gas chromatography. Obtained results revealed that *Penicillium chrysogenum* depolymerized the lignin material by 34.8% during the 28-day experimentation period. Laccase activity showed the largest activity with 111 U L⁻¹ in a seven-day period, this enzyme induction was detected in a smaller period than that required by basidiomycetes to induce it. Moreover, the enzymatic activity was produced without the addition of an extra carbon source as metabolic inductor. *Aspergillus* spp and *Penicillium* spp generated guaiacol, vanillin, and hydroxybenzoic, vanillic, syringic and ferulic acid with a maximum weekly production of 3.5, 3.3, 3.2, 3.3, 10.1 and 21.9 mg mL⁻¹, respectively.

© 2016. Journal of the Selva Andina Research Society. Bolivia. All rights reserved.

Introducción

El *Triticum aestivum* (trigo) es el cultivo más extendido a nivel mundial, sembrado en 115 países con una producción de 675 x 10⁹ kg año⁻¹ (Kim & Dale 2004, FAO 2012). Como resultado se genera como subproducto un estimado de 877 x 10⁹ kg de paja residual (Talebnia *et al.* 2010), cuya disposición final es comúnmente la incineración “*in situ*”, con un impacto ambiental negativo, por la emisión de partículas en suspensión (PM₁₀) y gases CO, CO₂, NO₂, SO₂, O₃ (Li *et al.* 2008, Quintero-Núñez & Moncada-Aguilar 2008). La paja de trigo está constituida por remanentes estructurales de la pared celular vegetal: celulosa (39%), hemicelulosa (38.7%) lignina (17%) (Xu *et al.* 2006). La celulosa, hemicelulosa son polímeros de azúcares aprovechados en la producción de bioetanol (Dashtban *et al.* 2010), biohidrógeno (Quémeñeur *et al.* 2012) y alimento para rumiantes (Tuyen *et al.* 2012), sin embargo la lignina es un componente recalcitrante y residual para la explotación de la paja de trigo.

La lignina es un polímero heterogéneo constituido por 3 unidades de aromáticos derivados del alcohol *p*-hidroxicinámico: el coniferílico, el sinapílico y el *p*-coumarílico, precursores a su vez del guayacol, el siringol y el hidroxifenol, unidas por enlaces aril-eter (-O-4), aril-aril y carbono-carbono (C -C)

principalmente (Dekker *et al.* 2002, Martínez *et al.* 2005).

No existen reportes en la literatura para la explotación biotecnológica de la lignina residual de paja de trigo (LIREPATO), sin embargo es aprovechable si se degrada en aromáticos de valor biotecnológico. Una alternativa para la degradación de la LIREPATO son los métodos químicos, con la desventaja de que son costosos y contaminantes. Una opción ambientalmente segura, reportada en la literatura en otros residuos lignocelulósicos, son los basidiomicetos, que si bien son efectivos en la degradación de lignina, su tiempo de generación es relativamente lento (semanas). Una alternativa menos explorada son *Aspergillus* spp. y *Penicillium* spp. ejemplo de hongos mitospóricos ligninolíticos (HML) cuya investigación preliminar reportó que tienen una capacidad similar a los basidiomicetos, pero con tiempo de generación menor (días) (Safari-Sinegani *et al.* 2005, Zeng *et al.* 2006, Chang *et al.* 2012).

Aspergillus spp y *Penicillium* spp. inducen tres enzimas para la degradación de la lignina: la lacasa (Lac), la lignina peroxidasa (LiP) y la manganeso peroxidasa (MnP) (Dashtban *et al.* 2010). Estas participan en la ruptura de las uniones C -C y -O-4 con la formación de monómeros aromáticos, seguido por la oxidación de los grupos funcionales y

finalmente de la ruptura de los anillos aromáticos (Ferraz & Durán 1995). Los aromáticos de la LIREPATO son útiles para usarse como fuente de materia prima para la obtención de combustibles como bioetanol y biogás (Sánchez 2009) o en aromáticos de interés para la industria alimenticia y farmacéutica como la vainillina, guayacol, tirosina, ácido ferúlico, gallico, hidroxibenzoico, siríngico, vainillínico, etc., (Buranov & Mazza, 2008, Widsten & Kandelbauer 2008). Con base a lo anterior el objetivo de esta investigación fue analizar en *Aspergillus* spp y *Penicillium chrysogenum* en la degradación de la LIREPATO como única fuente de carbono en la generación de aromáticos.

Materiales y métodos

Selección y activación de Aspergillus y Penicillium.

De la colección del Laboratorio de Microbiología Ambiental del Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas de la UMSNH se analizaron las cepas de *Penicillium chrysogenum* AT3 y AT4, así como *Aspergillus fumigatus* AT11 y *A. tubigensis* AT12. Para semipurificar la LIREPATO e hidrolizar una fracción de la celulosa y las hemicelulosas se sometió la paja de trigo a tratamiento ácido-térmico. Para ello se molió y tamizó en malla de 0.0841 mm, se le adicionó por aspersión ácido acético ($\text{CH}_3\text{-COOH}$) al 10% (v/v)/30 min en proporción 1:2 (p/v), se neutralizó con hidróxido de sodio (NaOH) al 10% (p/v), se sometió a 120 °C por 60 min, se lavó con agua destilada y se secó a 70 °C por 24 h. Los HML se activaron en medio agar-LIREPATO cuya composición fue (g L^{-1}): LIREPATO 10, peptona de caseína 5, extracto de levadura 1.3, K_2HPO_4 0.17, KH_2PO_4 2.61, MgSO_4 1.5, NaCl 0.9, CuSO_4 0.05, se adicionó azul de bromotimol 10 ppm, 2.5 mL de solución detergente al 10% (p/v), agar 18 g L^{-1} y 1

mL L^{-1} de solución de oligoelementos que se preparó con (g L^{-1}): H_3BO_3 2.86, $\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.22, $\text{MnCl}_2\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.81, KMnO_4 0.09. Finalmente se ajustó el pH del agar LIREPATO a 5.5 y se esterilizó a 121 °C durante 20 min. Los HML se incubaron a 30 °C por 5 días (Sánchez-Yáñez 2007).

Cinética de la degradación de LIREPATO por Aspergillus spp. y Penicillium spp.

Para la cinética, del agar-LIREPATO se tomó el micelio de cada HML después de 5 días de incubación, para separar el micelio se añadió 15 mL de solución salina-detergente estéril (12 mL NaCl 0.85% y 3.0 mL detergente 0.01%), luego se removió con asa y se recuperó la suspensión con pipeta estéril. Posteriormente se inocularon 12.5 mL de micelio de cada HML en matraces Erlenmeyer de 500 mL con 250 mL de caldo LIREPATO cuya composición (g L^{-1}) fue: LIREPATO 10, peptona de caseína 5, extracto de levadura 1.3, K_2HPO_4 0.17, KH_2PO_4 2.61, MgSO_4 1.5, NaCl 0.9, CuSO_4 0.05, se adicionó azul de bromotimol 10 ppm, 2.5 mL de solución detergente al 10% (p/v), y 1 mL L^{-1} de solución de oligoelementos (g L^{-1}): H_3BO_3 2.86, $\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.22, $\text{MnCl}_2\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.81, KMnO_4 0.09, se ajustó el pH a 5.5 y se esterilizó a 121 °C durante 20 min (Sánchez-Yáñez, 2007). Estos matraces se incubaron en aerobiosis en un agitador rotatorio por 28 días a 30 °C y 150 rpm. Se tomaron muestras a los 7, 14, 21, 28 días para medir la actividad Lac, LiP, MnP, se incluyó un control con LIREPATO sin inocular con los HML.

Determinación del porcentaje de degradación de la LIREPATO por *Aspergillus* spp. y *Penicillium* spp.

El porcentaje de degradación de LIREPATO por *Aspergillus* spp. y *Penicillium* spp. se determinó a los 28 días de incubación del caldo LIREPATO, para ello se separó el remanente o fase sólida por filtración con vacío, se lavó con agua destilada y se

secó a 70 °C por 24 h, se calculó el porcentaje de degradación de LIREPATO por pérdida de masa a peso constante.

Determinación de la actividad enzimática de la degradación de la LIREPATO por Aspergillus y Penicillium. El caldo LIREPATO degradado por las cepas de *Aspergillus* y *Penicillium* se centrifugó a 8000 rpm a 4 °C por 15 min para eliminar el micelio. La actividad Lac se midió en espectrofotómetro (Hach DR 2500) mediante la oxidación del ácido 2.2'-acino-bis-(3-etil benzotiazolin-6-sulfónico) (A BTS) a 420 nm, 25 °C, con un coeficiente de extinción molar de $420=36000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, se preparó una mezcla de reacción con 2.4 mL de buffer acetato de sodio 25 mM, pH 3.0, 300 µL de ABTS 10 mM y 300 µL de la muestra (Palmieri *et al.* 1997, Ibrahim *et al.* 2011). La LiP se midió en espectrofotómetro (UV-Vis Thermo Scientific Evolution 60S) mediante la oxidación de alcohol veratrílico a veratrilaldehído a 310 nm, 25 °C y coeficiente de extinción molar de $310=9300 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, se preparó la mezcla de la reacción con 2.5 mL de buffer tartrato de sodio 100 mM, pH 3.0, 1 mL de alcohol veratrílico 10 mM, 400 µL de la muestra centrifugada y 100 µL de H₂O₂ 10 mM. La MnP se midió por la formación de tartrato Mn⁺³ a 240 nm, 25 °C y un coeficiente de extinción molar del $240=6500 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, se preparó la mezcla de reacción con 3.4 mL de buffer malonato de sodio 50 mM, pH 4.5, 0.1 mL de MnSO₄ 15 mM, 400 µL de la muestra centrifugada y 100 µL H₂O₂ 10 mM (Gao *et al.* 2011).

Determinación de aromáticos de la degradación de la LIREPATO por Aspergillus spp. y Penicillium spp. A partir de caldo LIREPATO donde crecieron los HML se tomaron 5 mL que se centrifugaron a 8000 rpm/15 min, el sobrenadante se ajustó a pH 2

con HCl concentrado (37% p/p), se agregó NaCl a saturación y 5 mL de acetato de etilo concentrado para la extracción de los aromáticos. Entonces se inyectó 1 µl de muestra en el cromatógrafo de gases (Varian CP-3800), equipado con una columna capilar de fenil-metilpolisiloxano de 30 m x 0.53 mm, el gas acarreador N₂ se mantuvo con un flujo de 35 mL/min; la temperatura del horno, inyector y detector FID fueron de 90, 270 y 300 °C, respectivamente. Se usó como patrón una mezcla estándar de los ácidos hidroxibenzoico, vainillínico, ferúlico y siríngico, así como de vainillina y guayacol en concentración de 1 mg/mL disueltos en acetato de etilo (Wu *et al.* 1987, Valenciana *et al.* 2009).

El diseño experimental fue completamente aleatorio y empleo 5 tratamientos: cuatro hongos más un control sin inocular, con tres replicas por tratamiento. Los datos experimentales se analizaron por Tukey con un nivel de significancia del 5% con el software de estadística JMP 11.0 Statistical Analysis System SAS®.

Resultados

Porcentaje de degradación de la LIREPATO por Aspergillus y Penicillium. La cepa de *P. chrysogenum* AT4 en concentración de 10 g L⁻¹ de LIREPATO mostró el mayor por ciento de degradación con un rendimiento de 34.8% a 28 días de incubación, en tanto *A. fumigatus* AT11 en la misma condición alcanzó un 29.1%, ambos porcentajes de degradación fueron estadísticamente diferentes con una significancia del 5%, comparados con los valores de *P. chrysogenum* AT3 y *A. tubigensis* AT12 (Tabla 1).

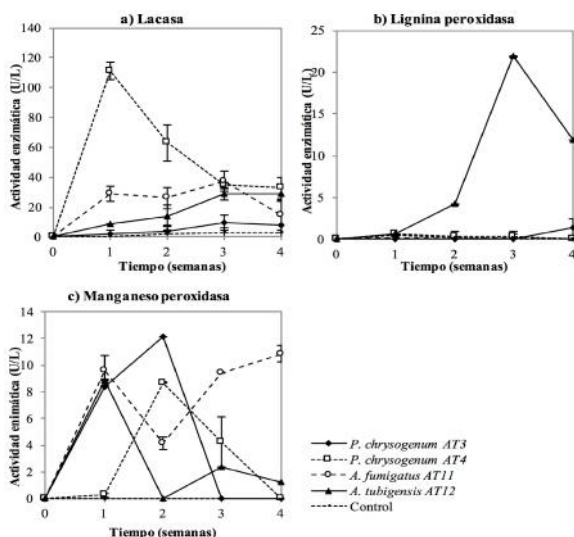
Tabla 1. Porcentaje de degradación de lignina residual de paja de trigo por cepas de *Aspergillus* y *Penicillium*

Ascomiceto	Degradación (%)	Análisis estadístico
<i>Penicillium chrysogenum</i> AT4	34.8 ± 2.26	a
<i>Aspergillus fumigatus</i> AT11	29.1 ± 0.74	ab
<i>Penicillium chrysogenum</i> AT3	23.3 ± 0.92	b
<i>Aspergillus tubigensis</i> AT12	16.1 ± 1.36	c
Control	0.0 ± 0.00	d

Las letras indican diferencia estadísticamente significativa para la actividad enzimática para cada semana de medición con un nivel de significancia =0.05.

Actividad enzimática de Aspergillus y Penicillium en la degradación de LIREPATO. La cepa de *P. chrysogenum* AT4 indujo la Lac desde la primera semana con una máxima de actividad de 111 U L⁻¹, valor estadísticamente superior a las cepas de *Aspergillus* con un nivel de significancia del 5 %.

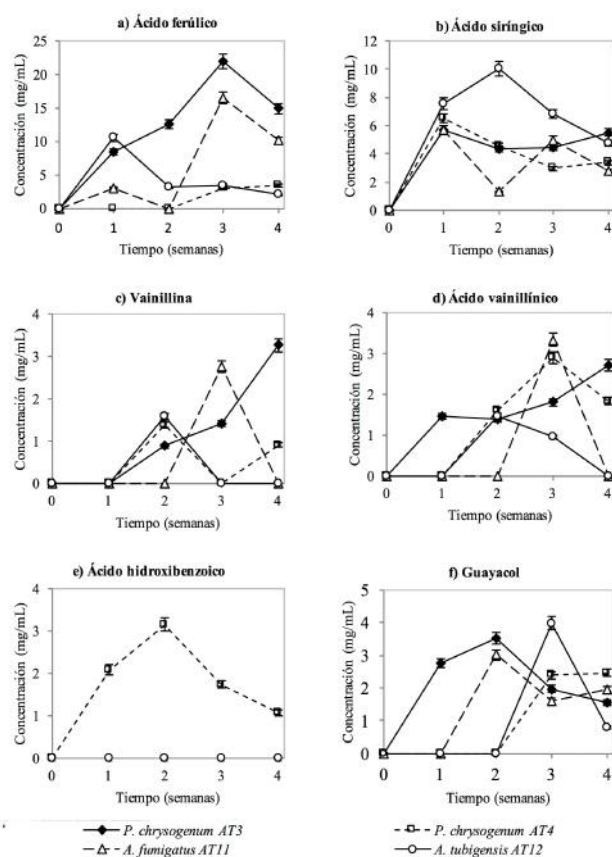
Figura 1 Cinética de la actividad enzimática de *Aspergillus* spp y *Penicillium* spp en la degradación de lignina residual de paja de trigo (LIREPATO). Las líneas verticales corresponden a la desviación estándar de tres mediciones. Nivel significancia =0.05.



En tanto que sólo *A. tubigensis* AT12 generó la LiP entre la semana 2 a la 4 con un valor máximo de 21.9 U L⁻¹ a los 21 días de incubación. Entre tanto las cepas de *Aspergillus* spp. como *Penicillium* spp.

synetizaron la MnP con un tiempo de inducción de una semana; mientras que *A. fumigatus* AT11 alcanzó una máxima actividad de 10.9 U L⁻¹ con un tiempo de generación de la enzima entre la segunda y tercera semana de incubación (Figura 1).

Figura 2 Cinética de la síntesis de aromáticos por *Aspergillus* spp. y *Penicillium* spp. en la degradación de LIREPATO. No se detectaron aromáticos en los matraces control sin inocular. Nivel significancia =0.05.



Síntesis de aromáticos por Aspergillus y Penicillium a partir de LIREPATO. Las cepas de *Aspergillus* y *Penicillium* degradaron la LIREPATO para la síntesis de aromáticos, de los cuales se identificaron 6 monómeros: *P. chrysogenum* AT3 generó hasta 21.9 mg/mL de ácido ferúlico en la semana 3, fue el aromático que se produjo en mayor concentración. *A. tubigensis* AT12 generó 10.1 mg/mL de ácido

siríngico en la semana 2, *A. fumigatus* AT11 3.3 mg/mL de ácido vainillínico en la semana 3, mientras que *P. chrysogenum* AT3 hasta 3.3 mg/mL de vainillina en la semana 4. *P. chrysogenum* AT4 fue el único que produjo ácido hidroxibenzoico con 3.2 mg/mL de en la semana 2 mientras que *P. chrysogenum* AT3 hasta 3.5 mg/mL de guayacol en la semana 3 (Figura 2).

Discusión

En relación al por ciento de degradación de la LI-REPATO por las cepas *Aspergillus* y *Penicillium* se registró un valor similar a lo reportado en basidiomicetos, en una concentración relativamente alta de LI-REPATO de 10 g L⁻¹ en un periodo de tiempo relativamente corto de 28 días, lo que les constituye como una alternativa interesante para explotación de residuos agrícolas ricos en lignina. Por ejemplo *P. chrysogenum* AT4 degradó el 34.8% de la LI-REPATO, en contraste con lo reportado en *Phlebia brevispora* y *Ceriporiopsis subvermispora* con 20 g L⁻¹ de paja de trigo y 25 mL de extracto de malta 0.05% alcanzaron un 30.5 y 23% degradación respectivamente en 30 días (Arora & Sharma 2009, Arora *et al.* 2011), así como con *Phanerochaete chrysosporium* que con 20 g L⁻¹ de paja de trigo y 25 mL de extracto de malta 0.05% registró un por ciento de degradación del 30% en 21 días (Singh *et al.* 2011), Sin embargo el mismo basidiomiceto con 2 g L⁻¹ de paja de trigo, 0.1 % de polisorbato alcanzó un 25% en 7 días (Zeng *et al.* 2011) mientras que *Trametes versicolor* con 2 g L⁻¹ de paja de trigo más 40 de glucosa, 2.8 mL L⁻¹ de aceite de soya, se registró un 46% en 21 días de cultivo (Salvachúa *et al.* 2011). Aunque las pajas utilizadas en estos experimentos no sometieron a tratamiento previo para eliminar celulosas y hemicelulosas.

Tanto *Aspergillus* como *Penicillium* tuvieron tiempos de generación relativamente corto comparados con los basidiomicetos reportados en la literatura, ya que mostraron una rápida inducción de la actividad enzimática para la degradación de la LI-REPATO; en promedio de 7 días, un tiempo menor, a los 14 días reportados en otras investigaciones relacionadas con basidiomicetos (Salvachúa *et al.* 2011, Zeng *et al.* 2011) (Tabla 2).

El menor periodo de tiempo de inducción de la actividad enzimática se detectó a la semana de crecimiento en *P. chrysogenum* AT4 con un valor de la actividad Lac de 111 U l⁻¹ en 7 días, cantidad relativamente alta comparada con *Phanerochaete fascicularia* que con 85 g L⁻¹ de paja de trigo, 10 de glucosa y 5 de extracto de levadura, alcanzó 80 U L⁻¹ en 12 días de incubación (Arora *et al.* 2002), similar a la cepa Euc-1 que con 15 g L⁻¹ de paja de trigo más 0.05 g L⁻¹ de glucosa; registró la máxima actividad Lac de 100 U L⁻¹ en 46 días de incubación (Dias *et al.* 2010), similar a lo reportado en *Phlebia rufa* y *Ganoderma applanatum* que con 15 g L⁻¹ de paja de trigo más 0.05 g L⁻¹ de glucosa mostró 140, 350 U L⁻¹ respectivamente a los 7 días de incubación (Dinis *et al.* 2009). En estas investigaciones el medio de cultivo empleado para la degradación de las pajas se enriqueció con glucosa, factor nutricional considerado necesario para inducir la actividad enzimática en los basidiomicetos, sin embargo esta investigación se demostró que no indispensable enriquecer el medio de cultivo con fuente de carbono adicional a la LI-REPATO para su degradación y formación de aromáticos.

Tabla 2 Comparativo de reportes de actividad enzimática en hongos degradadores de lignina

Basidiomiceto (género especie)	Actividad máxima (U/L)/Tiempo (días)	Fuente de lignina (g/L)	Fuente C adicional (g/l)	Fuente N (g/l)	Factor crecimiento (g/l)	Cobre (Cu) (g/l)	Degradación (%)	Referencia
<i>Phellinus robustus</i>	3.3 U g⁻¹ 7 días	2 paja de trigo	Glucosa (40) Almidón (26.3)	(NH ₄) ₂ SO ₄ (9)	NE	NE	36% en 21 días	Salvachúa <i>et al.</i> (2011)
cepa Euc-T1	100 U l⁻¹ 46 días	15 paja de trigo	Glucosa (0.05)	NE	NE	NE	80%, 46 días	Dias <i>et al.</i> (2010)
<i>Trametes versicolor</i>	140 U l⁻¹ 30 días	5 paja de trigo	NE	NE	NE	NE	ND	Rodrigues <i>et al.</i> (2007)
<i>Ganoderma applanatum</i>	350 U l⁻¹ 7 días	15 paja de trigo	Glucosa (0.05)	NE	NE	NE	ND	Dinis <i>et al.</i> (2009)
<i>Phlebia fascicularia</i>	8500 U l⁻¹ 12 días	8 paja de trigo	Glucosa (10)	Peptona (5)	Extracto de levadura (5)	NE	ND	Arora <i>et al.</i> (2002)
<i>Penicillium chrysogenum</i>	111 U l⁻¹ 7 días	10 lignina semipurificada de paja de trigo	0	Peptona (5)	Extracto de levadura (5)	CuSO ₄ 0.05	34.8% en 28 días	Esta investigación

ND: No determinado, NE: No especificado.

La cepa de *A. tubigenis* AT12 indujo la LiP; enzima ausente en la mayoría de los géneros de HML (Dashtban *et al.* 2010), por lo que su detección en esta cepa, es de interés en la investigación para optimización de la degradación de la LIREPATO. En las cepas de *Aspergillus* y *Penicillium* la actividad MnP no fue importante comparada con la reportada para basidiomicetos (Fujian *et al.* 2001, Dinis *et al.* 2009), lo anterior sugiere que al menos en las cepas de la presente investigación; la MnP podría no ser necesaria para la degradación de la LIREPATO en aromáticos. En contraste, la elevada actividad Lac de las cepas de *Aspergillus* y *Penicillium* comparada con lo reportada para los basidiomicetos, sugiere que esta enzima podría ser fundamental para la degradación de la LIREPATO en aromáticos (Dashtban *et al.* 2010), y que la LiP y la MnP tienen un papel secundario en este proceso, lo que es necesario dilucidar con precisión.

Las cepas de *Aspergillus* y *Penicillium* con actividad Lac alta, mostraron la mayor generación de aromáticos, puesto que se detectó que *A. tubigenis*

AT12 generó la mayor concentración de ácido si-ríngico. En contraste se sugiere que la actividad LiP y MnP podría estar relacionada con la síntesis de una amplia variedad de estos compuestos.

De acuerdo con los resultados señalados, fue evidente que las cepas de *Aspergillus* y *Penicillium* para la degradación de la LIREPATO en aromáticos tuvieron necesidades nutricionales mínimas, comparadas con lo reportado en los basidiomicetos. Por principio las cepas de la presente investigación degradaron una concentración relativamente alta de LIREPATO de 10 g L⁻¹; una ventaja para su explotación como materia prima de bajo costo, para la producción de aromáticos en un medio de cultivo simple sin enriquecer con glucosa como fuente de carbono adicional, en contraste con los basidiomicetos que según la literatura si la requieren. Mientras que el periodo de inducción de la lacasa de estas cepas fue menor al reportado para los basidiomicetos para la degradación de la lignina.

Aunque existen diversas investigaciones sobre el uso de los componentes carbonados de los residuos

agrícolas, la lignina por su recalcitrancia es un compuesto remanente de su degradación, en consecuencia en la literatura existen escasas propuestas para su explotación en biotecnología. Por tanto los resultados obtenidos en esta investigación apoyan la aplicación de cepas de *Aspergillus* y *Penicillium* para la degradación de la LIREPATO en aromáticos de valor biotecnológico, como una alternativa competitiva al empleo convencional de los basidiomicetos.

Conflictos de intereses

Los autores declaran que no existen conflictos de interés.

Agradecimientos

Al Proyecto 150001 SENER-CONACYT, al CONACYT por la BECA 239180 para el primer autor, a los proyectos 2.7 y 5.15 (2016) de la Coordinación de la Investigación Científica de la UMSNH, Morelia, Mich, México.

Literatura citada

- Arora DS, Sharma RK. Comparative ligninolytic potential of *Phlebia* species and their role in improvement of in vitro digestibility of wheat straw. *J Anim Feed Sci.* 2009; 18(2009): 151-161.
- Arora DS, Sharma RK, Chandra P. Biodelignification of wheat straw and its effect on in vitro digestibility and antioxidant properties. *Int Biodeter Biodegr.* 2011; 65(2): 352-358.
- Arora DS, Chander M, Gill PK. Involvement of lignin peroxidase, manganese peroxidase and laccase in degradation and selective ligninolysis of wheat straw. *Int Biodeter Biodegr.* 2002; 50(2): 115-120.
- Buranov AU, Mazza G. Lignin in straw of herbaceous crops. *Ind Crop Prod.* 2008; 28(3): 237-259.
- Chang A, Fan J, Wen X. Screening of fungi capable of highly selective degradation of lignin in rice straw. *Int Biodeter Biodegr.* 2012; 72: 26-30.
- Dashtban M, Schraft H, Syed TA, Qin W. Fungal biodegradation and enzymatic modification of lignin. *Int J Biochem Mol Biol.* 2010; 1(1): 36-50.
- Dekker RFH, Barbosa AM, Sargent K. The effect of lignin-related compounds on the growth and production of laccases by the ascomycete, *Botryosphaeria* sp. *Enzyme Microb Technol.* 2002; 30(3): 374-380.
- Dias AA, Freitas GS, Marques GSM, Sampaio A, Fraga IS, Rodrigues MAM, et al. Enzymatic saccharification of biologically pre-treated wheat straw with white-rot fungi. *Bioresour Technol.* 2010; 101(15): 6045-6050.
- Dinis MJ, Bezerra RMF, Nunes F, Dias AA, Guedes CV, Ferreira LMM, et al. Modification of wheat straw lignin by solid state fermentation with white-rot fungi. *Bioresour Technol.* 2009; 100(20): 4829-4835.
- FAO. FAOSTAT [Database Internet]. Food and Agriculture Organization of the United Nations [2012]. Disponible en: <http://faostat.fao.org>.
- Ferraz A, Durán N. Lignin degradation during softwood decaying by the ascomycete *Chrysosporium sitophilum*. *Biodegradation.* 1995; 6(4): 265-274.
- Fujian X, Hongzhang C, Zuohu L. Solid-state production of lignin peroxidase (LiP) and manganese peroxidase (MnP) by *Phanerochaete chrysosporium* using steam-exploded straw as

- substrate. *Bioresour Technol.* 2001; 80(2): 149-151.
- Gao H, Wang Y, Zhang W, Wang W, Mu Z. Isolation, identification and application in lignin degradation of an ascomycete GHJ4. *Afr J Biotechnol.* 2011; 10(20): 4166-4174.
- Ibrahim V, Mendoza L, Mamo G, Hatti-Kaul R. Blue laccase from *Galerina* sp.: properties and potential for Kraft lignin demethylation. *Process Biochem.* 2011; 46(1): 379-384.
- Kim S, Dale B. Global potential bioethanol production from wasted crops and crop residues. *Biomass Bioenerg.* 2003; 26(4): 361-375.
- Li LJ, Wang Y, Zhang Q, Li JX, Yang XG, Jin J. Wheat straw burning and its associated impacts on Beijing air quality. *Sci China Ser D.* 2008; 51(3): 403-414.
- Martínez ÁT, Speranza M, Ruíz-Dueñas FJ, Ferreira P, Camarero S, Guillén F, et al. Biodegradation of lignocellulosics: microbiological, chemical, and enzymatic aspects of the fungal attack of lignin. *Int Microbiol.* 2005; 8: 195-204.
- Palmieri G, Giardina P, Bianco C, Scaloni A, Capasso A, Sanna G. A Novel White Laccase from *Pleurotus ostreatus*. *J Biol Chem.* 1997; 272(50): 31301-31307.
- Quéméneur M, Bittel M, Trably E, Dumas C, Fourage L, Ravot G, et al. Effect of enzyme addition on fermentative hydrogen production from wheat straw. *Int J Hydrogen Energ.* 2012; 37(14): 10639-10647.
- Quintero-Núñez M, Moncada-Aguilar A. Contaminación y control de las quemas agrícolas en Imperial, California, y Mexicali, Baja California. *Reg Soc.* 2008; 20(43): 3-24.
- Rodrigues MAM, Pinto P, Bezerra RMF, Dias AA, Guedes CVM, Cardoso VMG, et al. Effect of enzyme extracts isolated from white-rot fungi on chemical composition and *in vitro* digestibility of wheat straw. *Anim Feed Sci Technol.* 2007; 141(3-4): 326-338.
- Safari-Sinegani A, Emtiazi G, Hajrasuliha S, Sharia tmadari H. Biodegradation of some agricultural residues by fungi in agitated submerged cultures. *Afr J Biotechnol.* 2005; 4(10): 1058-1061.
- Salvachúa D, Prieto A, López-Abelairas M, Lu-Chau T, Martínez Á, Martínez M. Fungal pretreatment: An alternative in second-generation ethanol from wheat straw. *Bioresour Technol.* 2011; 102(16): 7500-7506.
- Sánchez-Yáñez JM. Breve Tratado de Microbiología Agrícola Teoría y Práctica. Morelia, Michoacán México: Corporativo de Desarrollo Sustentable, Centro de Investigación y Desarrollo de Michoacán, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Secretaria de Desarrollo Rural en Michoacán; 2007. p. 130-133.
- Sánchez C. Lignocellulosic residues: biodegradation and bioconversion by fungi. *Biotechnol Adv.* 2009; 27(2): 185-194.
- Singh D, Zeng J, Laskar DD, Deobald L, Hiscox WC, Chen S. Investigation of wheat straw biodegradation by *Phanerochaete chrysosporium*. *Biomass Bioenerg.* 2011; 35(3): 1030-1040.
- Talebniya F, Karakashev D, Angelidaki I. Production of bioethanol from wheat straw: An overview on pretreatment, hydrolysis and fermentation. *Bioresour Technol.* 2010; 101(13): 4744-4753.
- Tuyen VD, Cone JW, Baars JJB, Sonnenberg ASM, Hendriks WH. Fungal strain and incubation period affect chemical composition and nutrient availability of wheat straw for rumen fermentation. *Bioresour Technol.* 2012; 111: 336-342.
- Valenciaga D, Herrera RS, Simoes EOd, Chongo B, Torres V. Composición monomérica de la lignina de *Pennisetum purpureum* vc. Cuba CT-115

-
- y su variación con la edad de rebrote. *Rev Cubana Cienc Agr.* 2009; 43(3): 315-319.
- Widsten P, Kandelbauer A. Laccase applications in the forest products industry: A review. *Enzyme Microb Tech.* 2008; 42(4):293-307.
- Wu FJ, Moreno J, Vela GR. Growth of *Azotobacter vinelandii* on soil nutrients. *Appl Environ Microbiol.* 1987; 53(3): 489-494.
- Xu F, Sun J-X, Sun RC, Fowler P, Baird MS. Comparative study of organosolv lignins from wheat straw. *Ind Crop Prod.* 2006; 23(2): 180-193.
- Zeng G, Yu H, Huang H, Huang D, Chen Y, Huang G, et al. Laccase activities of a soil fungus *Penicillium simplicissimum* in relation to lignin degradation. *World J Microbiol Biotechnol.* 2006; 22(4): 317-324.
- Zeng J, Singh D, Chen S. Biological pretreatment of wheat straw by *Phanerochaete chrysosporium* supplemented with inorganic salts. *Bioresour Technol.* 2011; 102(3): 3206-3214.
-