

# HONGOS MACROMICETOS DE PUDRICIÓN CAFÉ Y SU IMPORTANCIA BIOTECNOLÓGICA

## MACROMYCETES FUNGI OF COFFEE ROT AND ITS BIOTECHNOLOGICAL IMPORTANCE

Por:

Diana Marcela López Velasco<sup>1</sup>, Clarena Quintero Ocampo<sup>2</sup>, María Berenice Ocampo<sup>3</sup>

### Resumen

Los basidiomicetos degradadores de la madera son algunos de los bioconvertidores más eficaces de lignocelulosa en la naturaleza, sin embargo, la forma en la que alteran la celulosa cristalina en la madera a nivel molecular aún no es bien comprendida. Por lo tanto, el objetivo de esta revisión fue presentar algunas características importantes de este tipo de hongos, exponer algunas hipótesis relativas a los mecanismos de degradación utilizados: Específicamente se revisó la hipótesis de un sistema que emplea la producción de quelantes fúngicos y su función en la química de Fenton, este sistema permitirá la producción de radicales hidroxilo dentro de la pared celular de la madera y en parte imita la acción de los hongos de pudrición café. Adicional a esto, se dan a conocer aplicaciones biotecnológicas de algunos hongos que generan este tipo de pudrición.

**Palabras clave:** Basidiomicetos, degradación, biotecnología, bioconversión.

### Introducción

La pudrición café, también conocida en español como pudrición morena, pudrición parda, pudrición marrón o pudrición cúbica (Tuset y Durán, 1975; Torres, 1993; Vignote y Jiménez, 1996), es causada por basidiomicetos. Los hongos de la pudrición café y blanca son los únicos organismos que poseen el complejo enzimático que permite degradar la lignina; sin embargo, los primeros sólo desdoblan la estructura de la lignina, sin lograr su total degradación, no obstante liberan celulosa y hemicelulosa, los cuales asimilan para su nutrición (Guzmán et al., 1993). Entre las principales categorías de los hongos que pudren la madera, los hongos de pudrición blanca y café y sus enzimas se están utilizando cada vez más en una variedad de aplicaciones biotecnológicas, algunas de las cuales incluyen la madera y la pulpa, los textiles, la bioenergía, los biocombustibles y la biorremediación (Adya P. Singh, 2014).

### Abstract

Wood-degrading basidiomycetes are some of the most effective bioconverters of lignocellulose in nature, however, the way in which they alter crystalline cellulose in wood at the molecular level is still not well understood. To face this, the objective of this review is to present some important characteristics of this type of fungi, to present some hypotheses regarding the mechanisms of degradation used: Specifically, we review the hypothesis of a system that uses the production of fungal chelators and their function in the chemistry of Fenton. This system will allow the production of hydroxyl radicals within the cell wall of the wood and partly mimics the action of brown rot fungi. In addition to this, biotechnological applications of some fungi that generate this type of rot are disclosed.

**Key words:** Basidiomycetes, degradation, biotechnology, bioconversion.

### Características generales de los hongos de pudrición café

Los hongos de pudrición café son muy comunes en la naturaleza, atacan árboles vivos y muertos. Los hongos causales son principalmente Basidiomicetos de la familia Coniophoraceae y del orden Boletales (Carlile et al., 1993).

El tipo más grave de deterioro microbiológico de la madera es causado por hongos debido a que pueden ocasionar una falla estructural rápida. El hongo de pudrición café es el más común y destructivo de descomposición de la madera en uso. Este tipo de hongo utiliza las hemicelulosas y la celulosa de la pared celular, dejando la lignina esencialmente sin digerir, aunque modificada por desmetilación y oxidación. La madera se oscurece, se encoge y se rompe en pedazos en forma de ladrillo que se desmoronan fácilmente en un polvo de color marrón (Cowling, 1961).

1-2Grupo de Investigación SENAGROQUIN. Centro Agroindustrial. SENA Regional Quindío (Colombia).Email:dmlopezv@sena.edu.co

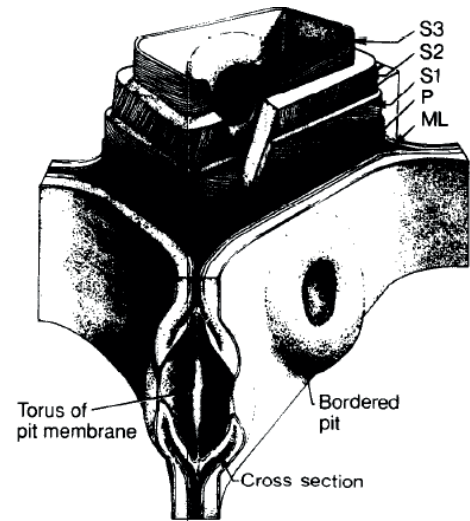
1-3Grupo de Investigación en Alimentos y Agroindustria. Universidad de Caldas. (Colombia).

Algunos hongos de pudrición café producen cantidades apreciables de ácidos orgánicos (Findlay, 1967; citado por Gonzales, 2003).

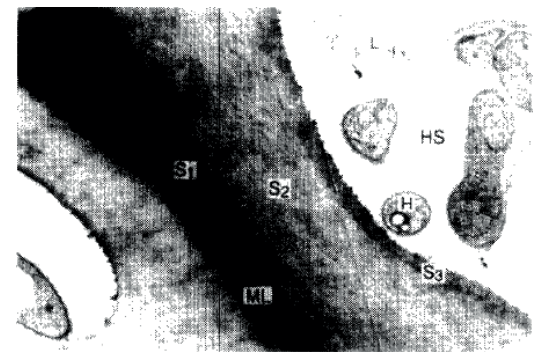
Las habilidades de bioconversión características de los hongos que pudren la madera son potencialmente adecuadas para el tratamiento previo de materiales lignocelulósicos, para mejorar la producción de bioetanol (Dashtban et al., 2009; citado por Kenji et al., 2012).

### Mecanismos de degradación de los hongos de pudrición café

En el ataque visto a nivel microscópico la capa S3 de la pared celular de la madera compuesta por lignina principalmente (Highley y Murmans, 1987; citado por Green y Highley, 1996), permanece intacta durante el ataque (Kuo et al., 1988; citado por Green y Highley, 1996). El ataque de forma selectiva por tanto se concentra en la capa S2, compuesta por celulosa en mayor proporción (Figura 1 y 2) (Green y Highley, 1996). Así mismo en investigaciones de finales del siglo XX se ha constatado que la porosidad de la capa S3 permanece relativamente inalterada tras el ataque selectivo de los hongos, excluyendo a los polisacáridos (Flournoy et al., 1991). En estudio bajo microscopio electrónico se ha llegado a comprobar como las hifas del hongo permanecen en la zona del lumen mientras la capa S2 es desintegrada, y se forma una vaina o matriz de hifas extracelulares cubriendo la capa S3 (Larsen y Green, 1992; Green et al., 1989, 1992a; citado por Green y Highley, 1996). La formación de la matriz de hifas llegan a obstruir la pared celular, incrementando el grado de depolimerización, o rotura de polímeros de celulosa en las capas interiores gracias a la acción de agentes químicos de bajo peso molecular liberados desde la matriz de hifas en la capa S3, y por azúcares de bajo peso molecular transportados por difusión desde la interfase de la matriz y la capa S3, todo esto en beneficio y desarrollo del hongo.



**Figura 1.** Vista esquemática de la pared celular de la madera. Capas de la pared celular: Lámina media (ML), pared primaria (P), S1, S2 y S3. Se observa la punteadura areolar (Fuente: Green y Highley, 1996).

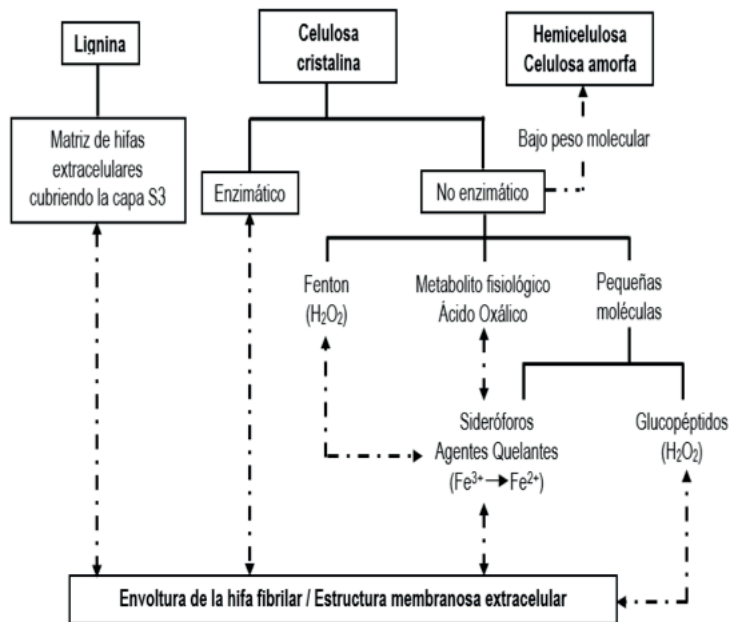


**Figura 2.** Etapa temprana de la degradación de hongos de pudrición café de cicuta. Envoltura de la hifa (HS), una hifa (H), creciendo en el lumen (L) que está unida a la pared celular (Fuente: Green y Highley, 1996).

La depolimerización de la celulosa y de la hemicelulosa por hidrólisis (Green et al., 1999; citado por Green y Highley, 1996) podría ocurrir por acumulación de ácido oxálico (realizado durante el desarrollo del hongo) y de otros ácidos orgánicos; los ácidos diluidos también ha demostrado la capacidad de abrir la porosidad de la pared celular de la madera (Grethlein, 1985; Beck-Anderson, 1987; Ucar, 1990; citado por Green y Highley, 1996).

En la actualidad, a pesar de muchas investigaciones, el mecanismo preciso de degradación de los hongos de pudrición café sigue siendo poco clara (Figura 3).

### Mecanismos de degradación de hongos de pudrición café



**Figura 3.** Mecanismos propuestos de degradación de hongos de pudrición café. Estructura membranosa extracelular.

Cowling y Brown (1969), reconocen que incluso las celulosas más pequeñas son demasiado grandes para penetrar en los poros de la madera. Además, las celulosas no imitan la acción de los hongos de pudrición café en la generación de los cristales de celulosa (Chang et al., 1981; Phillip et al., 1981, citado por Green y Highley, 1996). Estos autores, en consecuencia proponen que un agente oxidativo no enzimático podría estar involucrado en la depolimerización de la celulosa causada por los hongos de pudrición café. Basándose en diversas observaciones, Halliwell (1965) citado por Green y Highley (1996), fue el primero a proponer la posibilidad de la existencia de un sistema no enzimático celulolítico involucrando peróxido y hierro. Posteriormente, Koenigs en varios estudios demostró que la celulosa en la madera podría ser depolimerizada por un sistema tipo Fenton, que los hongos de pudrición marrón producen peróxido de hidrógeno extracelular y que la madera contiene suficiente hierro para hacer la hipótesis de Halliwell razonable (Green y Highley, 1996).

Los primeros trabajos exploraron que algunos hongos basidiomicetos producen pequeñas moléculas, no ribosomales muchas de ellas, de alta afinidad por el hierro llamadas sideróforos que actúan de manera específica como agente quelante para secuestrar el hierro en presencia de otros metales y lo reducen a Fe<sup>2+</sup> (Goodell et al., 2002).

Estas investigaciones indicaron que los bioquelantes fúngicos sirven para reducir los metales, particularmente el hierro, fuera de las hifas de hongos y que esta reducción permite las reacciones químicas tipo Fenton como había sido mostrado por Koenigs (1974) y otras que se produzcan en los procesos de pardeamiento café.

De otro lado, el ácido oxálico es un importante metabolito fisiológico de los hongos de pudrición café, puede ser producido en concentraciones inhibitorias para la reacción de Fenton. El ácido oxálico fue propuesto por Schmidt et al. (1981) para jugar un rol en la reducción de Fe<sup>3+</sup> a Fe<sup>2+</sup>, lo cual incrementa la descomposición de la celulosa por una reacción similar a la de Fenton. Schmidt et al., (1981) reportaron que la oxidación del ácido oxálico por Fe<sup>3+</sup> libera dos iones hidronio. Es cada vez más evidente que la producción de ácidos orgánicos, tales como ácido oxálico, son importantes en el inicio de la pudrición. Verde et al., (1995; citado por Green y Highley, 1996) proponen que el ácido oxálico participa en la incipiente pudrición por el quelante de hierro, facilitando de este modo la utilización de pectina en las cavidades de las membranas, lo que ayuda a iniciar el metabolismo de estos hongos y promover la difusión de las hifas de los hongos en la madera.

La producción y regulación de oxalato (sales o ésteres del ácido oxálico) también es importante en los hongos de pudrición café. El oxalato funciona en el control del pH del entorno de los hongos, pero puede servir de otras maneras. Los hongos pueden utilizar el oxalato para crear un gradiente de pH que permita secuestrar al hierro en un entorno de pH bajo que rodea las hifas de los hongos pero permite la transferencia de fase del hierro a los sideróforos con un entorno de pH más alto que el de la pared celular de la madera (Goodell et al., 2002).

También se ha propuesto que un agente bioquímico de bajo peso molecular puede estar involucrado y es capaz de penetrar en los poros de la pared celular, depolimerizar la celulosa, por lo que es accesible a una mayor degradación. La búsqueda de estos pequeños agentes activos ha sido objeto de estudio en los últimos años. Enoki (1992; citado por Wang y Gao, 2003), sustancias extracelulares aisladas y parcialmente purificadas causaron la oxidación de un electrón a partir de cultivos que contenían madera; estas sustancias se caracterizan por ser glucopéptidos de bajo peso molecular. Pero a partir de entonces, no se han presentado casi reportes acerca del rol de estos glucopéptidos en la descomposición de la celulosa (Wang y Gao, 2003).

Con mucha frecuencia todas estas hipótesis se basan en la investigación de una sola especie de hongo de pudrición café. No obstante, los hongos de pudrición marrón no son monolíticos, y algunas ideas generalmente aceptadas no son aplicables a otras especies de pudrición parda (Green y Highley, 1996).

### Aplicaciones biotecnológicas de algunos hongos de pudrición café

#### Pretratamiento para la producción de etanol

Desarrollos muy recientes incluyen la exploración del potencial de los hongos de pudrición café y sus enzimas para el pretratamiento de la biomasa lignocelulósica (Vaidya y Singh, 2012). Ray et al., (2010) encontraron que la exposición de la albura de *Pinus radiata* a *Coniophora puteana* y *Postia placenta* resultó en un aumento significativo en el rendimiento de glucosa después de la sacarificación enzimática. Kenji et al., (2011) examinaron el potencial del hongo de pudrición café *Fomitopsis palustris* e investigaron sus características de bioconversión, encontrando que este hongo fue capaz de fermentar de manera eficiente las hexosas en etanol, presentándose la correspondiente disminución de la cantidad de azúcar en cada medio de cultivo analizado. Curiosamente, *F. palustris* produce etanol directamente a partir de almidón y salvado de trigo sin llevarse a cabo una hidrólisis enzimática. Kenji et al., (2012) aisló un hongo de pudrición marrón basidiomiceto *Neolentinus lepideus* como un nuevo biocatalizador con fermentabilidad sin precedentes, ya que era capaz de convertir no sólo los azúcares de 6 carbonos que constituyen la celulosa, sino también el principal azúcar de 5 carbonos en hemicelulosas (xilosa), a etanol.

#### Biorremediación y reciclaje de la madera tratada

Los hongos de pudrición café producen altos niveles de ácido oxálico y otros ácidos policarboxílicos. Puesto que estos ácidos son quelantes, agentes reductores y se pueden oxidar fácilmente como un producto fúngico durante la fermentación, estos pueden ser utilizados para la eliminación de elementos metálicos tóxicos a través de bioquelación o biolixiviación (Kartal y Kose, 2003). Kartal et al., (2004) evaluaron la biorremediación de la madera tratada con CCA por tres diferentes hongos de pudrición café: *Fomitopsis palustris*, *Coniophora puteana* y *Laetiporus sulphureus* y encontraron que la medida de CCA de lixiviación puede variar, pero en todos los casos el proceso fue mediada por la producción de ácido oxálico fúngico, que aumenta la acidez del sustrato y la solubilidad de los metales.

*Gloeophyllum trabeum*, *Fomitopsis pinicola* y *Daedalea dickinsii* mostraron la capacidad de eliminar el DDT en suelos contaminados artificialmente esterilizados y no esterilizados. En este estudio realizado por Purnomo et al., (2011) se identificó que *G. trabeum* es el hongo de pudrición café más prometedor para su uso en la biorremediación de suelos contaminados con DDT.

#### Modificación de la lignina para promover los puentes entre pulpas

Entre las pulpas de más alto rendimiento, la pulpa termomecánica TMP utilizada como componente principal en la fabricación de papel prensa representa el segundo proceso con mayor requerimiento de energía. Este tipo de fibras son preferidas para una gama de productos, y son ampliamente utilizadas para la fabricación de materiales compuestos de fibra de madera como base, debido a que son menos modificadas que otros tipos de fibras en lo que referente a la composición y estructura, y en particular el despulpado de las fibras es químico y su producción es más económica. En preparaciones TMP, las astillas de madera se calientan a alta temperatura y presión antes de la refinación, lo que facilita la separación de las pulpas, debido a que la lignina se plastifica bajo estas condiciones. La composición química de las fibras despulpadas mecánica y termomecánicamente depende del sitio donde se producen las fracturas dentro de la pared celular de los tejidos de madera durante el procesamiento. Por esta razón, los hongos de pudrición café son potencialmente prometedores, pues durante la degradación de las paredes celulares lignocelulósicas estos hongos pueden degradar la celulosa y los componentes de la hemicelulosa, pero la lignina no es completamente degradada pero si modificada (Enoki et al., 1988; citado por Adya P. Singh, 2014).

#### Conclusión

Los hongos de pudrición café se caracterizan por causar el tipo más destructivo de degradación en las estructuras de madera. Sin embargo, los mecanismos no enzimáticos que emplean para degradarla no han sido estudiados en su totalidad; pero claramente, este tipo de hongos producen metabolitos de bajo peso molecular y pueden participar en las reacciones de generación de radicales dentro de la matriz de las células de la madera. El objetivo final de esta investigación se centró en mejorar la comprensión de estos mecanismos de degradación para entender los procesos que intervienen y la aplicación final a un interés bioindustrial.

# Bibliografía

- Adya P., & Singh, (2014).** Biotechnological applications of wood-rotting fungi: A review. *Biomass and Bioenergy*. Vol. 62, p. 198-206.
- Carlile, M., Watkinson, S. & Goodar, G. (1993)** *The Fungi*. Segunda edición. ISBN: 978-0-12-738445-0, p. 311.
- Cowling, B.** (1961). Comparative biochemistry of the decay of sweetgum sapwood by white-rot and brown-rot fungi, *Tech. Bull. No. 1258*, U.S. Department of Agriculture, Washington, D.C., p. 79.
- Cowling, B. & Brown, W.** (1969). Structural features of cellulosic materials in relation to enzymatic hydrolysis. In *Cellulases and Their Applications*, eds G. J. Hajny & E. T. Reese, Vol. 95, p. 152-187.
- Flournoy, D., Kent Kirk, T. & Highley, T. (1991).** Changes in pore size and pore volume in wood decayed by the brown-rot fungus *Postia placenta*. *Holzfoischeng*. Vol. 45, No 5, p. 383-388.
- Goodel, B., Quian, Y., Jellison, J., Richard, M. & Qi, W. (2002).** Lignocellulose oxidation by low molecular weight metal-binding compounds isolated from wood degrading fungi: A comparison of brown rot and white rot systems and the potential application of chelator-mediated Fenton reactions. *Biotechnology in the Pulp and Paper Industry*, p: 37-47.
- González, M. (2003).** El efecto de la piridina como catalizador en la resistencia a la pudrición y estabilidad dimensional de madera acetilada. Universidad Autónoma Chapingo.
- Green, F. y Highley, T. (1996).** Mechanism of Brown – Rot Decay: Paradigm or Paradox. *International Biodeterioration & Biodegradation*. Vol. 39, No 2 -3, p. 113-124.
- Guzmán, G.; Mata, G.; Salmones, D. Soto, V.; Guzmán, D. (1993).** El Cultivo de los Hongos comestibles con atención especial a especies tropicales y subtropicales en esquilmos y residuos agroindustriales. Instituto Politécnico Nacional. ISBN: 978-968-29-4492-9, p. 245.
- Kartal, N. y Kose, C. (2003).** Remediation of CCA-C treated Wood using chelating agents. *Holz Roh Werst*. Vol. 61 No 5, p. 382-387.
- Kartal, N., Munir, E., Kakitani, T. e Imamura, Y. (2004).** Bioremediation of CCA-treated wood by brown rot fungi *Fomitopsis palustris*, *Coniophora puteana*, and *Laetiporus sulphureus*. *J Wood Sci*. Vol. 50 No 2, p. 182-188.
- Kenji, O., Yuko, S., Natsumi, N., Yasuyuki, N. y Hideshi, Y. (2011).** Characterization of two acidic  $\beta$ -glucosidases and ethanol fermentation in the brown rot fungus *Fomitopsis palustris*. *Enzyme and Microbial Technology*. Vol. 48, p. 359–364.
- Kenji, O., Ryuichi, K., Masaru, M. y Hideshi, Y. (2012).** Efficient xylose fermentation by the brown rot fungus *Neolentinus lepideus*. *Enzyme and Microbial Technology*. Vol. 50, p. 96– 100.
- Koenigs, W. (1974).** Hydrogen peroxide and iron: A proposed system for decomposition of wood by brown-rot basidiomycetes. *Wood and Fiber Science*, Vol. 6 No 1, p. 66-80.
- Purnomo, A., Mori, T., Takagi, K. y Kondo, R. (2011).** Bioremediation of DDT contaminated soil using brown-rot fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation*. Vol 65, p. 691-695.
- Ray, J., Leak, J., Spanu, D. y Murphy, J. (2010).** Brown rot fungal early stage decay mechanism as a biological pretreatment for softwood biomass in biofuel production. *Biomass Bioenergy*. Vol. 34 No. 8, p. 1257-1262.
- Schmidt, J., Whitten, K. y Nicholas, D. (1981).** A proposed role for oxalic acid in nonenzymatic wood decay by brown-rot fungi. *Proceedings American Wood Preservation Association*, Vol 77, p. 157-164.
- Steenkjaer, A., Howell, C., Hofmann, F., Sathitsuksanoh, N., Goodell, B. y Jellison, J. (2012).** Differences in crystalline cellulose modification due to degradation by brown and white rot fungi. *Fungal Biology*. Vol. 116 No 10, p. 1052-1063.
- Torres, J. (1993).** *Patología Forestal*. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa, p. 270.
- Tuset, R. y Durán, F. (1975).** *Manual de maderas comerciales, equipos y procesos de utilización*. Montevideo: Hemisferio Sur, S. A, p. 688.
- Vaidya A, Singh T. (2012).** Pre-treatment of *Pinus radiata* substrates by basidiomycetes fungi to enhance enzymatic hydrolysis. *Biotechnol Lett*. Vol. 34 No. 7, p. 1263-1267.
- Vignote, S. & Jimenez, F. (1996).** *Tecnología de la madera*. Madrid: Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, p. 108-192.
- Wang, W. & Gao, P. J. (2003).** Function and mechanism of a low-molecular-weight peptide produced by “*Gloeophyllum trabeum*” in biodegradation of cellulose. *Journal of Biotechnology*. Vol. 101 No. 2, p. 119-130.