

Producción de *Pycnoporus spp.* y sus metabolitos secundarios: Una revisión

Julio Amilcar Pineda-Insuasti^{1*}, William Edison Gómez-Andrade¹, Astrid Stefanía Duarte-Trujillo², Claudia Patricia Soto-Arroyave³, Camilo Alejandro Pineda-Soto⁴, Fernando Javier Fierro-Ramos⁵, Elsa Sulay Mora-Muñoz⁵, Sandra Elizabeth Álvarez-Ramos⁵

1 Centro Ecuatoriano de Biotecnología y Ambiente (CEBA). Periférico Sur s/n, Fincas San Agustín (San Antonio), Cel. 0995797813, Ibarra, Ecuador.

*cebaecuador@gmail.com

2 Universidad de los Llanos (UNILLANOS). Km 12 vía Puerto López, Vereda Barcelona, Villavicencio, Colombia.

3 Universidad Católica de Oriente (UCO). Sector 3, cra. 46 No. 40B 50, Rionegro, Colombia.

4 Escuela Politécnica Nacional (EPN). Ladrón de Guevara E11-253, Quito, Ecuador.

5 Universidad Técnica del Norte (UTN). Av 17 de Julio 5-21, Ibarra, Ecuador.

RESUMEN

El género *Pycnoporus spp.* posee un gran potencial para la producción de pigmentos naturales, especialmente cinnabarina, que junto con otras sustancias producidas por el hongo presenta actividades biológicas antivirales, antioxidantes, antifúngicas, antibacterianas y antiparasitarias. Sin embargo, la característica más sobresaliente de este género es su capacidad para producir lacasa extracelular con alto potencial redox, lo que le confiere diversas aplicaciones en sectores de la biotecnología verde y blanca. El objetivo de esta revisión fue describir los estudios más relevantes realizados a la producción de especies del género *Pycnoporus spp.* y sus metabolitos, para identificar limitaciones tecnológicas y potencial industrial. Se encontró que la producción de metabolitos fúngicos por Fermentación en Estado Líquido (FEL) es más eficiente en contraste con la Fermentación en Estado Sólido (FES) y puede optimizarse mediante la adición de inductores al medio de cultivo. Sin embargo existen problemas de escalado que limitan el aprovechamiento industrial de este hongo.

PALABRAS CLAVE: FES, FEL, metabolitos fúngicos, limitación tecnológica, escalado.

ABSTRACT

The *Pycnoporus spp.* genre has great potential for the production of natural pigments, especially cinnabarina; which together with other substances produced by the fungus exhibit antiviral, antioxidants, antifungal, antibacterial and antiparasitic biological activities. However, the most outstanding feature of this genre is its ability to produce extracellular laccase of high redox potential, which confers it various applications in sectors of the green and white biotechnology. The objective of this review was to describe the most relevant studies about the production of the *Pycnoporus spp.* genre and its metabolites to identify technological limitations and industrial potential. It was found that the production of fungal metabolites by Submerged Fermentation (SmF) is more efficient in contrast to Solid State Fermentation (SSF), and can be optimized by adding inducers to the culture medium. However, there are scaling problems that limit the industrial use of this fungus.

KEYWORDS: SSF, SmF, fungal metabolites, technological limitation, scaling.

INTRODUCCIÓN

A principios de 1990 el género *Pycnoporus* se perfiló como una alternativa para la consecución de compuestos enzimáticos viables en la degradación eficiente de biomasa y la obtención de metabolitos secundarios de interés, como antioxidantes (1), antibacterianos (2) y antiparasitarios (3). Este género de hongos filamentosos pertenece al orden de los Polyporales, y se encuentra ampliamente distribuido a nivel mundial en zonas templadas y tropicales, donde tiene gran importancia en la regulación del ciclo de carbono (4).

Pese a que los hongos del género *Pycnoporus* spp. no son especies comestibles, su importancia radica en la capacidad de degradar eficientemente compuestos lignocelulósicos (5), lo que les confiere un gran potencial para ser usados en procesos biotecnológicos de degradación de residuos agrícolas hasta azúcares fermentables, útiles en la producción de etanol y otros productos biotecnológicos de alto valor comercial (4, 6). Diversas investigaciones han estudiado las condiciones óptimas para la obtención de compuestos sintetizados por este género y la influencia de diversos factores, logrando un mejor control del bioproceso y una mejor comprensión del metabolismo de *Pycnoporus* spp. (7-12).

Bajo este contexto, el objetivo de este trabajo es describir los estudios más relevantes realizados a la producción de especies del género *Pycnoporus* spp. y sus metabolitos mediante una amplia revisión de la literatura para identificar limitaciones tecnológicas y potencial industrial.

PRODUCCIÓN DE BIOMASA

La obtención de compuestos derivados de la producción de *Pycnoporus* spp. se realiza mediante procesos fermentativos, que pueden llevarse a cabo en medios de crecimiento líquidos (Fermentación en Estado Líquido; FEL) o sólidos (Fermentación en Estado Sólido; FES). Investigaciones efectuadas por Acosta-Urdapilleta *et al.* (14), indican que los metabolitos primarios y secundarios producidos por el género *Pycnoporus* dependen de la especie y las condiciones de cultivo del mismo.

Parámetros de operación

El nivel de humedad del sustrato ejerce un efecto significativo en el proceso de FES, recomendándose una humedad del 70 % (15). Así mismo, el aumento del oxígeno en el ambiente favorece la tasa y la extensión de la degradación de la biomasa por parte de *Pycnoporus* spp (16), lo que se tra-

duce en un aumento de la bioconversión. Por otro lado, el pH del medio de cultivo está directamente relacionado con el crecimiento del micelio, dándose un mayor descenso de pH en medios que presentan mayor crecimiento micelial (17). No obstante, la mayoría de estos estudios han sido realizados en condiciones *in vitro*, no contemplando la influencia de factores que pueden modificar los resultados en procesos a mayor escala (13).

Medios de cultivo

Las fuentes de carbono comúnmente usadas en los procesos de FEL son lactosa, maltosa, glucosa, fructuosa, extracto de levadura y harinas de algunos cereales, entre otros (18, 19). La glucosa y la fructosa permiten obtener una alta densidad de biomasa pues son más fáciles de asimilar que la maltosa; no obstante pueden ser inhibidores de reacciones metabólicas secundarias del hongo (20). Los suplementos de medios de cultivo más utilizados son tartrato de diamonio, tartrato disódico, KH_2PO_4 , $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y extracto de levadura (9, 21-23).

Pycnoporus spp. puede cultivarse fácilmente a escala de laboratorio y en planta piloto, obteniendo altos rendimientos de producción a partir del uso de sustratos como: almidón, extracto de malta, maltosa, metilcelulosa, sacarosa, dextrosa, caldos suplementados con extracto de levadura y/o fosfolípidos (24, 17), salvado de maíz, salvado de trigo y salvado de arroz (9, 25, 26); también se reporta el uso de residuos agroindustriales como el bagazo de la caña de azúcar, residuos de cultivo de plátano, virutas de madera, cáñamo, cáscaras de algodón, hojas de palma de aceite y residuos de frutas (15, 27).

Existe una estrecha relación entre el aumento del crecimiento micelial del hongo con el carbono total disponible en el medio de cultivo (17). El rápido crecimiento del hongo en medios pobres, sobre todo cuando no se añade ninguna fuente de carbono, puede ser causado por la expansión de su micelio como estrategia para evitar la inanición (9). Levasseur *et al.* (9) sugieren que un alto contenido de lignina en el medio de cultivo inhibe el crecimiento de *P. cinnabarinus* en condiciones de cultivo donde la lignina es la única fuente de carbono disponible.

Incubación

La mayoría de los estudios de estimación de la velocidad de crecimiento micelial, se realiza midiendo el diámetro del micelio del hongo en las placas de Petri, sin embargo, el crecimiento también se relaciona con la densidad de micelio en el medio (28).

XieFuQuan (26) estudió el crecimiento de *P.cinnabarinus* por FES en bolsas con 0,75 kg de salvado de trigo y aserrín suplementado con sacarosa y CaCO_3 , a una temperatura de crecimiento de 25 a 30 °C, un pH 7,0 y una humedad del sustrato del 60 al 65 %; logró una colonización completa del micelio después de los 26 a los 30 días, y la obtención de carpóforos transcurridos 32 días después de la aparición de los primordios.

Holler y Brooks (17) estudiaron el crecimiento del micelio de *P. cinnabarinus* por FEL utilizando extracto de malta suplementado con NaNO_3 , K_2HPO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KCL y $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y sacarosa, a partir de una suspensión de esporas y tacos de agar con micelio; se cultivó a 28 °C por un intervalo de 4 días. El medio de levadura-extracto de almidón mostró el mayor aumento de peso seco del micelio (10,638 mg), en comparación con el medio extracto de madera (0,336 mg),

PRODUCCIÓN DE METABOLITOS

Cinnabarina

La producción de cinnabarina, puede realizarse *in vitro* en medios sólidos y líquidos, o en vivo a partir de los basidiocarpos, cuya obtención es más fácil. Las mayores concentraciones de este pigmento se obtienen en Agar Papa Dextrosa (PDA, por sus siglas en inglés) y Agar Extracto de Malta (MEA, por sus siglas en inglés), mientras el mayor crecimiento micelial se obtiene en medios conformados por los extractos de los materiales lignocelulósicos de donde las cepas fueron aisladas (29). Baumer *et al.* (30), indican que la velocidad de crecimiento del hongo, no implica necesariamente una mayor producción de cinnabarina. Investigaciones efectuadas por Acosta-Urdapilleta *et al.* (14), sugieren que el mejor sustrato para producir cinnabarina en primordios de *P. sanguineus* es el aserrín de pino, seguido por el de encino y el de cedro sin importar la cepa utilizada. En dichos experimentos, el contenido promedio del cinnabarina en cajas de Petri fue de 6-9 mg/ g de micelio, mientras en primordios del hongo fue de 56 mg/g de micelio y en cuerpos fructíferos bien desarrollados de 68 mg/g de carpóforo. La ventaja de usar basidiocarpos en vez de primordios para la extracción de cinnabarina es la posibilidad de realizar hasta dos o más cosechas del hongo, lo que requiere de 242 a 356 días. Sin embargo, el cultivo en caja de Petri permite obtener cinnabarina mucho más rápido (entre 7 a 15 días), con una mayor actividad antioxidante (14). Hay que evaluar la situación, si la cinnabarina es requerida para investigaciones conviene producir el hongo en cajas de Petri, pero si es requerida para uso industrial, conviene

más producir primordios o cuerpos fructíferos.

Vainillina

El hongo *P. cinnabarinus* fue cultivado por Falconnier *et al.* (7) utilizando un medio que contenía maltosa como fuente de carbono, tartrato de diamonio como fuente de nitrógeno y suplementos como KH_2PO_4 , CaCl_2 , MgSO_4 y extracto de levadura, obteniendo una concentración en el medio de cultivo de 64 mg/L de vainillina. En comparación, Oddou *et al.* (24) demostraron que este hongo basidiomiceto presenta una mayor producción de vainillina (760 mg/L), usando una mezcla compuesta por fosfolípidos y glucosa, obteniendo además una gran densidad de biomasa fúngica. El proceso fermentativo se llevó a cabo en un biorreactor agitado a una velocidad de 120 rpm, con un flujo de aire de 0,93 vvm (volúmenes de aire / unidad de volumen de medio por minuto) al principio del proceso fermentativo y 0,28 vvm posterior a los tres días, manteniendo una temperatura constante de 30 °C. Lo anterior respalda lo dicho por Lestan *et al.* (27), quienes demostraron que la combinación de lípidos y glucosa induce el crecimiento del micelio de algunos basidiomicetos (20).

Enzimas ligninolíticas

Zimbardi *et al.* (25) indicaron que las fuentes de nitrógeno más efectivas para la producción de lacasas de *P. sanguineus* por FES, son en orden descendente: NH_4Cl , peptona, extracto de malta, caseína, urea, extracto de levadura, asparagina, KNO_3 , NH_4NO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NaNO_3 . Siendo la mejor fuente de carbono para la producción de lacasa el salvado de trigo. Eugenio *et al.* (31), concluyeron que la producción de lacasa por hongos no sólo depende de las fuentes de carbono y nitrógeno, sino también de la concentración de nitrógeno del medio de cultivo.

La obtención de celulasa a partir de este hongo fue estudiada por Onofre *et al.* (32), quienes reportaron que *P. sanguineus* fue cultivado en bagazo de caña enriquecido con carboximetilcelulosa, glucosa, NaNO_3 , KH_2PO_4 , MgSO_4 , KCL, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, ZnSO_4 y urea, a una temperatura de 30 °C y pH 5,5, presentando una actividad enzimática de la celulasa de $16,32 \pm 2,65 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$. Las tablas 1 y 2 especifican las condiciones de cultivo para la producción de lacasa por *Pycnoporus spp.* y sus respectivos rendimientos.

INDUCTORES DE PRODUCCIÓN

Inductores de actividad enzimática

La adición de inductores enzimáticos constituye una estrategia para aumentar la producción de

compuestos metabólicos mediante la optimización de las condiciones de cultivo (33).

Según Lomascolo *et al.* (34), la producción de lacasa fúngica es influenciada por la presencia de inductores, que regulan la síntesis de la enzima a nivel transcripcional, empero, el efecto de cada compuesto y la concentración óptima para la producción de lacasa varía según las diferentes cepas fúngicas. Compuestos fenólicos como 2,5-xilidina, se adicionan al medio de cultivo para incrementar la producción de lacasa (33); también se reporta el uso de ácido ferúlico (9,34), etanol (21), alcohol veratrílico e iones Cu^{2+} . Estos dos últimos son los inductores más comunes de actividad lacasa, su efecto en la producción enzimática por FEL ha sido más estudiada que por FES (11,12). Por su parte, el etanol, a pesar de tener un efecto inhibidor inicial en el crecimiento del micelio, es un fuerte inductor de la expresión de lacasa en *P. cinnabarinus*, permitiendo obtener altos rendimientos. Meza *et al.* (35), estudiaron el efecto del etanol en la producción de lacasas de *P. cinnabarinus* en bagazo de caña de azúcar y encontraron que la adición de etanol al inicio de la fermentación incrementa rápidamente la actividad enzimática, 215 veces más que el sustrato que no contenía etanol, alcanzando niveles máximos de 129 U L^{-1} después de 15 días, los cuales se mantienen constantes hasta el final de la fermentación. Por otro

lado, el alcohol veratrílico estimula la producción de peroxidasa total (11), mientras los compuestos que aportan iones de manganeso como MnSO_4 son específicos para manganeso peroxidasa (MnP) (36).

Inductores de tirosinasa

Duarte *et al.* (37) estudiaron el efecto de distintos compuestos inductores en la producción de tirosinasa por *P. sanguineus* en condiciones de luminosidad como estrategia para disminuir la producción de lacasa (la cual aumenta en la oscuridad), demostrando que sustancias como azida de sodio, ácido salicilhidroxámico y feniltiourea, poseían una actividad inhibitoria, mientras que L-tirosina, fue el mejor inductor para la producción de esta enzima, seguido de L-dopa (L-dihidroxifenilalanina 3,4), ácido cafeico (ácido 3,4 dihidroxicinámico), ácido 2-(4-Hydroxyphenyl)propanoico y guayacol. Las tablas 1 y 2, muestran la influencia de algunas sustancias inductoras en la producción de lacasa fúngica a través de procesos FEL y FES, respectivamente.

IMPORTANCIA INDUSTRIAL

En la tabla 3 se resumen los principales metabolitos producidos por *Pynoporus spp.* y su uso.

Tabla 1. Producción de lacasa por *Pycnoporus spp.* con inductores por FEL

Especie/Cepa	Inductor	Rendimiento obtenido	Condiciones fermentación	Ref.
<i>P. sanguineus</i>	Sin inductor	5 117 U L ⁻¹	pH 5,0; 28 °C; 150 rpm	(38)
<i>P. sanguineus</i> CY788	2,5-xilidina	1 368 U L ⁻¹	pH 4,5; 25 °C; 125 rpm	(39)
<i>P. cinnabarinus</i>	2,5-xilidina	9 600 U L ⁻¹	pH 4,5; 30 °C; 60 rpm	(21)
<i>P. cinnabarinus</i> I-937	ácido ferúlico	29 000 U L ⁻¹	30 °C; 120 rpm	(23)
<i>P. sanguineus</i> B-84	sacarosa-asparagina	820 000 U L ⁻¹	28°C; 200 rpm	(31)
<i>P. cinnabarinus</i> ss3	etanol	266 600 U L ⁻¹	30 °C; 120 rpm	(34)

*Los valores con unidades en rpm, hacen referencia a la velocidad de agitación en el biorreactor

Tabla 2. Producción de lacasas de *Pycnoporus spp.* por FES

Especie/Cepa	Componentes principales del sustrato	Rendimiento obtenido	Condiciones de fermentación	Ref.
<i>P. sanguineus</i> CY788	Hojas de palma de aceite, urea, CaCO_3	46,6 U g ⁻¹	Humedad 75-85 %; 25 °C; densidad del inóculo 30%.	(40)
<i>P. sanguineus</i> RP15	Mazorca de maíz, CuSO_4 , NH_4Cl	138,6 U g ⁻¹	Humedad 4,1 mL g ⁻¹ sustrato; 26 °C	(25)
<i>P. cinnabarinus</i> ss3	Bagazo de caña, alcohol veratrílico	85,0 U g ⁻¹	Humedad: 70 %, 25 °C	(41)
<i>P. cinnabarinus</i> ss3	Bagazo de caña, etanol gaseoso	90,0 U g ⁻¹	24 °C; Flujo suministro etanol: 40 mL min ⁻¹	(42)

Tabla 3. Principales compuestos bioactivos obtenidos de *Pycnoporus* spp.

Metabolito	Uso/tipo	Especie	Ref.
Lacasas	Enzima ligninolítica	<i>P. cinnabarinus</i> ,	(21, 43–45)
		<i>P. sanguineus</i>	(46)
	Antiinflamatoria	<i>P. cinnabarinus</i>	(47)
	Biorremediación de aguas residuales	<i>P. coccineus</i>	(48,49)
		<i>P. cinnabarinus</i>	(50)
	Degradación de colorantes sintéticos	<i>P. cinnabarinus</i>	(51)
		<i>P. sanguineus</i>	(52,53)
	Blanqueo de pulpa para papel	<i>P. cinnabarinus</i>	(54,55)
		<i>P. sanguineus</i>	(56)
Peroxidasas totales	Enzima ligninolítica	<i>P. coccineus</i>	(43)
Lignin peroxidasa	Enzima ligninolítica	<i>P. cinnabarinus</i>	(9)
Manganeso peroxidasa	Enzima ligninolítica	<i>P. cinnabarinus</i>	(9)
Versátil peroxidasa	Enzima ligninolítica	<i>P. cinnabarinus</i>	(9)
â-glucosidasas	Enzimas celulasas	<i>P. coccineus</i>	(43)
		<i>P. cinnabarinus</i>	(57)
Xilanasas	Enzimas celulasas	<i>P. cinnabarinus</i>	(44,57)
		<i>P. coccineus</i>	(43)
Celobiosa deshidrogenasa	Enzima oxidasa	<i>P. cinnabarinus</i>	(44,57)
Galactosidasa	Enzima hidrolasa	<i>P. cinnabarinus</i>	(57,58)
DDMP	Antifúngico	<i>P. sanguineus</i>	(59)
Poliporina	Anmicrobiano	<i>P. sanguineus</i>	(60,61)
Cinabarina (3-fenoxacina)	Pigmento	<i>P. sanguineus</i>	(62–64)
	Antimicrobiana	<i>P. sanguineus</i>	(65)
	Antiviral	<i>P. sanguineus</i>	(66)
	Antitumoral	<i>P. cinnabarinus</i>	(67)
O-acetyl-cinabarina	Pigmento	<i>P. sanguineus</i>	(64)
Ácido cinabarínico	Pigmento	<i>P. sanguineus</i>	(62,64)
	Antibacterial	<i>P. cinnabarinus</i>	(22)
	Antitumoral	<i>P. cinnabarinus</i>	(67)
Tramesanguina	Pigmento	<i>P. sanguineus</i>	(62)
Pycnoporina	Antitumoral	<i>P. cinnabarinus</i>	(67)
3-1 fenoxacina	Pigmento	<i>P. sanguineus</i>	(63)
2-amino-fenoxazin-3-ona	Pigmento	<i>P. sanguineus</i>	(64)
pycnosanguin éter fenoxazina	Pigmento	<i>P. sanguineus</i>	(64)
Ergosterol	Esterol	<i>P. sanguineus</i>	(64)
	Antitumoral	<i>P. cinnabarinus</i>	(67)
	Antimicrobiano	<i>P. cinnabarinus</i>	(67)
	Antiviral	<i>P. cinnabarinus</i>	(67)
5-6- dihidroergosterol	Esterol	<i>P. sanguineus</i>	(64)
Ergosterol peróxido	Esterol	<i>P. sanguineus</i>	(64)
Vainillina	Saborizante, aromatizante	<i>P. cinnabarinus</i>	(7, 68, 69)

Producción de enzimas

Estudios de caracterización del conjunto de enzimas extracelulares del hongo *P. cinnabarinus* indican que la lacasa es la enzima extracelular predominante producida por esta especie, la cual poseen un alto potencial redox, siendo mínima la cantidad producida de peroxidasas (lignina peroxidasa y manganeso peroxidasa),

lo cual permite realizar su purificación de forma más sencilla y económica (9,21,23,33). Hatakka y Uusi-Rauva (16) demostraron que *P. cinnabarinus* degrada la madera tan eficientemente como la especie fúngica *Pycnoporus chrysosporium*, por lo que las lacasas producidas presentan aplicaciones en la industria textil para el biopulpeo y/o blanqueo de la pulpa para el papel (6).

Degradación de compuestos xenobióticos

Los hongos de pudrición blanca pueden degradar compuestos de estructura polifenólica semejante a la lignina como los compuestos xenobióticos, gracias a la acción de enzimas extracelulares ligninolíticas producidas por estas especies que actúan despolimerizando unidades no repetitivas de fenilpropanoide ligadas por varios enlaces carbono-carbono (70, 71). Compuestos xenobióticos como los colorantes industriales constituyen contaminantes persistentes debido a su origen sintético, por lo que pueden dársele a las lacasas de *Pycnoporus spp.* aplicaciones en biorremediación (72). Schliephake *et al.* (33) realizaron ensayos exitosos de decoloración de efluentes textiles (con contenido de colorantes sintéticos) dentro de un biorreactor de lecho empaquetado inmovilizando el hongo *P. cinnabarinus* en una membrana de nylon para que produjera lacasas; demostrando la capacidad del hongo para tolerar residuos potencialmente tóxicos y degradarlos.

Control biológico

El uso de hongos antagonistas ha demostrado ser una eficiente opción para el control biológico de fitopatógenos causantes de diversas enfermedades en cultivos vegetales (73, 74). Estudios realizados en *P. sanguineus* revelan su actividad antifúngica frente a *Mycena citricolor*, hongo promotor de la enfermedad "ojo de gallo" en cultivos de café, causándole parasitosis y destrucción hifal (75). Viecelli *et al.* (76) obtuvieron resultados similares contra *Pseudocercospora griseola*, causante de la enfermedad "mancha angular" en cultivos de frijol, tras rociar la superficie de las hojas de la planta con el extracto acuoso obtenido del micelio de *P. sanguineus*.

Obtención de compuestos de interés farmacéutico

Algunas especies de hongos de la familia *Polyporaceae*, producen pigmentos rojos o anaranjados derivados de ácidos polipóricos y terpenilquinones, los cuales son causales de la coloración naranja de los hongos *Pycnoporus spp.* (77). Los principales compuestos producidos por *P. sanguineus* son poliporin, cinnabarina, ácido cinabarínico y tramesanguina (60). Smânia *et al.* (2) demostraron que la cinnabarina tiene propiedades antibacterianas (22), capaces de inhibir el crecimiento de bacterias como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* y miembros del género *Streptococcus*; siendo más efectiva para el control de cocos grampositivos que de bacilos Gram-negativos (65). Ensayos utilizando *P. sanguineus* evidenciaron la efectividad del ergosterol-5,8-endoperoxido producido contra amasti-

gotes de *Leishmania (Viannia) panamensis* (3).

Es necesario saber, que los metabolitos secundarios producidos por esta especie presentan un gran potencial antioxidante, y que su eficiencia de producción no necesariamente está relacionada con la velocidad de crecimiento micelial (1).

Producción de aditivos alimentarios

El ácido ferúlico es un producto de la degradación de la lignina por hongos de podredumbre blanca (78). Falconnier *et al.* (7) demostraron que el ácido ferúlico de *P. cinnabarinus* se puede biotransformar en vainillina y alcohol vainílico a través de una vía reductora, o formar metoxihidroquinona a través de la descarboxilación oxidativa. La vainillina es una molécula de alto valor comercial aislada comúnmente de vainas de vainilla, responsable del aroma y sabor de la vainilla (79). La demanda actual de alimentos producidos de forma natural ha estimulado la búsqueda de medios alternativos de producción de vainillina, convirtiendo a los hongos del género *Pycnoporus spp.* en una excelente opción para la obtención de este aditivo alimentario (7).

CONCLUSIONES

La capacidad del género *Pycnoporus spp.* de producir diversas enzimas degradadoras de la madera y sustancias de alto valor comercial a través de distintas vías metabólicas, hacen de este hongo un recurso biotecnológico sumamente importante. La Fermentación en Estado Líquido (FEL) permite la obtención de altos niveles de metabolitos en contraste con los procesos de Fermentación en Estado Sólido (FES); su eficiencia se puede optimizar mediante la adición de inductores al medio de cultivo. Sin embargo estos parámetros de operación sólo son efectivos a escala laboratorio, ya que a mayor escala aparecen nuevas variables que afectan el proceso productivo. Es importante y necesario el estudio de técnicas de escalado, que abarquen parámetros operacionales, diseño de planta y equipo, análisis de procesos, entre otros, y permitan mantener u optimizar la eficiencia de extracción de los metabolitos.

AGRADECIMIENTOS

El proyecto de investigación que abarca esta publicación ha contado con la cooperación del Ingenio Azucarero del Norte (IAN) y del Centro Ecuatoriano de Biotecnología y Ambiente (CEBA).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Borderes J, Costa A, Guedes A, Tavares LBB. Antioxidant activity of the extracts from *Pycnoporus sanguineus* mycelium. *Brazilian Arch Biol Technol*. Tecpar; 2011; 54(6):1167-74.
2. Smânia A, Monache FD, Smânia EFA, Gil ML, Benchetrit LC, Cruz FS, et al. Antibacterial activity of a substance produced by the fungus *Pycnoporus sanguineus* (Fr.) Murr. *J Ethnopharmacol*. 1995;45(3):177-81.
3. Correa E, Quiñones W, Torres F, Cardona D, Franco AE, Robledo S, et al. Actividad leishmanicida de *pycnoporos sanguineus*. *Actual Biol*. 2005;27(1):39-42.
4. Zeikus JG. Lignin metabolism and the carbon cycle: Polymer Biosynthesis, Biodegradation, and Environmental Recalcitrance. *Adv Microb Ecol*. 1981;5:211-43.
5. Asociación Micológica Fungipedia. *Pycnoporus cinnabarinus* [Internet]. 2016 [citado 3 de agosto de 2016]. Recuperado a partir de: <https://www.fungipedia.org/hongos/pycnoporos-cinnabarinus.html>
6. Call H-P. Process for modifying, breaking down or bleaching lignin, materials containing lignin or like substances. World patent application WO 94/29510, 1994. p. 29510.
7. Falconnier B, Lapierre C, Lesage-Meessen L, Yonnet G, Brunerie P, Colonna-Ceccaldi B, et al. Vanillin as a product of ferulic acid biotransformation by the white-rot fungus *Pycnoporus cinnabarinus* I-937: Identification of metabolic pathways. *J Biotechnol*. 1994;37(2):123-32.
8. Lesage-Meessen L, Haon M, Uzan E, Levasseur A, Piumi F, Navarro D, et al. Phylogeographic relationships in the polypore fungus *Pycnoporus* inferred from molecular data. *FEMS Microbiol Lett*. 2011;325(1):37-48.
9. Levasseur A, Lomascolo A, Chabrol O, Ruiz-Dueñas FJ, Boukhris-Uzan E, Piumi F, et al. The genome of the white-rot fungus *Pycnoporus cinnabarinus*: a basidiomycete model with a versatile arsenal for lignocellulosic biomass breakdown. *BMC Genomics*. 2014; 15(1):486.
10. Liu J, Yu Z, Liao X, Liu J, Mao F, Huang Q. Scalable production, fast purification, and spray drying of native *Pycnoporus* laccase and circular dichroism characterization. *J Clean Prod*. Elsevier Ltd; 2015;
11. Piscitelli A, Giardina P, Lettera V, Pezzella C, Sannia G, Faraco V. Induction and transcriptional regulation of laccases in fungi. *Curr Genomics*. 2011;12(2):104-12.
12. Rivera-Hoyos CM, Morales-Álvarez ED, Poutou-Piñales RA, Pedroza-Rodríguez AM, Rodríguez-Vázquez R, Delgado-Boada JM. Fungal laccases. *Fungal Biol Rev*. 2013; 27(3-4):67-82.
13. Behrentz E, Giraldo E. Modelación a escala del proceso de compostaje aerobio, en pila estática y con aireación forzada desarrollo teórico e implementación de laboratorio. Universidad de los Andes, editor. Centro de Investigaciones en Ingeniería Ambiental. Santa Fe de Bogotá; 1993. 51-59 p.
14. Acosta-Urdapilleta L, Alonso-Paz GA, Rodríguez A, M. Adame D, Salgado M, Montiel-Peña F, et al. *Pycnoporus sanguineus*, un hongo con potencial biotecnológico. En: COLPOS-UNS-CONACYT-AMC-UAEM-UPAEP-IMINAP. pp; editor. Hacia un desarrollo sostenible del sistema de producción-consumo de los hongos comestibles y medicinales en Latinoamérica: Avances y perspectivas en el siglo XXI. Puebla; 2010. p. 531-62.
15. Annur MSM, Sammantha S, Murthy, Sabanatham V. Laccase production from oil palm industry solid waste: Statistical optimization of selected process parameters. *Eng Life Sci*. 2010;10(1):40-8.
16. Hatakka AI, Uusi-Rauva AK. Degradation of ¹⁴C-labelled poplar wood lignin by selected white-rot fungi. *Eur J Appl Microbiol Biotechnol*. 1983;17(4):235-42.
17. Holler JR, Brooks JC. Nutritional studies of *pycnoporos cinnabarinus*. *Mycol Soc Am Nutr*. 1980;72(2):329-37.
18. Chegwin A. C, Nieto R. IJ. Influencia del medio de cultivo en la producción de metabolitos secundarios del hongo comestible *Pleurotus ostreatus* cultivado por fermentación en estado líquido empleando harinas de cereales como fuente de carbono. *Rev Mex Micol*. 2013;37:01-9.
19. Suárez Arango C, Nieto IJ. Cultivo biotecnológico de macrohongos comestibles: Una alternativa en la obtención de nutraceuticos. *Rev Iberoam Micol*. Revista Iberoamericana de Micología; 2013;30(1):1-8.
20. Ander P, Eriksson K-E, Yu H. Vanillie acid metabolism by *Sporotrichum pulverulentum*: before ring-cleavage. *Arch Microbiol*. 1983;136:1-6.
21. Eggert C, Temp U, Eriksson K-EEL. The ligninolytic system of the white rot fungus *Pycnoporus cinnabarinus*?: Purification and characterization of the laccase. *Appl Environ Microbiol*. 1996;62(4):1151-8.

22. Gocenoglu A, Pazarlioglu N. Cinnabarinic acid?: Enhanced production from *Pycnoporus cinnabarinus*, characterization, structural and functional properties. *J Biol Chem Biol Chem*. 2014;42(2):281-90.
23. Herpoël I, Moukha S, Lesage-Meessen L, Sigoillot JC, Asther M. Selection of *Pycnoporus cinnabarinus* strains for laccase production. *FEMS Microbiol Lett*. 2000;183(2):301-6.
24. Oddou J, Stentelaire C, Lesage-Meessen L, Asther M, Colonna Ceccaldi B. Improvement of ferulic acid bioconversion into vanillin by use of high-density cultures of *Pycnoporus cinnabarinus*. *Appl Microbiol Biotechnol*. 1999;53(1):1-6.
25. Zimbardi A, Camargo P, Carli S, Aquino Neto S, Meleiro L, Rosa J, et al. A High Redox Potential Laccase from *Pycnoporus sanguineus* RP15: Potential Application for Dye Decolorization. *Int J Mol Sci*. 2016;17(5):672.
26. FuQuan X, QiJin H. Artificial Cultivation of a *Pycnoporus cinnabarinus* Strain Isolated from the Wild in Fujian Province. *Acta Edulis Fungi*. 2008;1:69-72.
27. Le?tan D, ?trancar A, Perdih A. Influence of some oils and surfactants on ligninolytic activity , growth and lipid fatty acids of *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl Microbiol Biotechnol*. 1990;34:426-8.
28. Royse DJ. Specialty Mushrooms and their Cultivation; Horticulture Review. Solid substrate Cultiv Springer. 1997;19:59-97.
29. Cruz Muñoz R, Piña-Guzmán AB, Yáñez-Fernández J, Valencia-Del Toro G, Bautista-Baños S, Villanueva Arce R. Producción de pigmentos de *Pycnoporus sanguineus* en medio de cultivo sólido. *Agrociencia*. 2015;49(4):347-59.
30. Baumer JD, Mas Diego SM, Pacheco S, Morgado AFM, Furigo AF. Comparative study of mycelial growth and production of cinnabarin by different strains of *Pycnoporus sanguineus*. *Rev Biol e Farm - BioFar*. 2008;2(2):1-5.
31. Eugenio ME, Carbajo JM, Martín JA, González AE, Villar JC. Laccase production by *Pycnoporus sanguineus* under different culture conditions. *J Basic Microbiol*. 2009;49(5):433-40.
32. Onofre SB, Santos ZMQ, Kagimura FY, Mattiello SP. Cellulases produced by the endophytic fungus *Pycnoporus sanguineus* (L .) Murrill. *African J Agric Res*. 2015;10(13):1557-64.
33. Schliephake K, Lonergan GT, Jones CL, Mainwaring DE. Decolourisation of a pigment plant effluent by *Pycnoporus cinnabarinus* in a packed-bed bioreactor. *Biotechnol Lett*. 1993;15(11):1185-8.
34. Lomascolo A, Record E, Herpoël-Gimbert I, Delattre M, Robert JL, Georis J, et al. Overproduction of laccase by a monokaryotic strain of *Pycnoporus cinnabarinus* using ethanol as inducer. *J Appl Microbiol*. 2003;94(4):618-24.
35. Meza JC, Casalot L, Lomascolo A, Sigoillot J, Auria R, Biodépollution IRD De, et al. Inducción de lacasas en *Pycnoporus cinnabarinus*?: Efecto del etanol sobre la expresión enzimática. *Retorno*. 2003;66(2):2003.
36. Pezzella C, Guarino L, Piscitelli A. How to enjoy laccases. *Cell Mol Life Sci*. 2015;72(5):923-40.
37. Duarte LT, Tiba JB, Santiago MF, Garcia TA, Bara MTF. Production and characterization of tyrosinase activity in *Pycnoporus sanguineus* CCT-4518 crude extract. *Brazilian J Microbiol*. 2012;43(1):21-9.
38. Lu L, Zhao M, Zhang BB, Yu SY, Bian XJ, Wang W, et al. Purification and characterization of laccase from *Pycnoporus sanguineus* and decolorization of an anthraquinone dye by the enzyme. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2007;74(6):1232-9.
39. Pointing S, Jones E, Vrijmoed L. Optimization of laccase production by *Pycnoporus sanguineus* in submerged liquid culture. *Mycologia*. 2000;92(1):139-44.
40. Vikineswary S, Abdullah N, Renuvathani M, Sekaran M, Pandey A, Jones EBG. Productivity of laccase in solid substrate fermentation of selected agro-residues by *Pycnoporus sanguineus*. *Bioresour Technol*. 2006;97(1):171-7.
41. Meza JC, Auria R, Lomascolo A, Sigoillot JC, Casalot L. Role of ethanol on growth, laccase production and protease activity in *Pycnoporus cinnabarinus* ss3. *Enzyme Microb Technol*. 2007;41(1-2):162-8.
42. Meza JC, Lomascolo A, Casalot L, Sigoillot JC, Auria R. Laccase production by *Pycnoporus cinnabarinus* grown on sugar-cane bagasse: Influence of ethanol vapours as inducer. *Process Biochem*. 2005;40(10):3365-71.
43. Machuca A, Ferraz A. Hydrolytic and oxidative enzymes produced by white- and brown-rot fungi during *Eucalyptus grandis* decay in solid medium. *Enzyme Microb Technol*. 2001;29(6):386-91.
44. Sigoillot C, Lomascolo A, Record E, Robert J., Asther M, Sigoillot J. Lignocellulolytic and hemicellulolytic system of *Pycnoporus cinnabarinus*: isolation and characterization of a cellobiose dehydroge-

- nase and a new xylanase. *Enzyme Microb Technol*. 2002;31(6):876-83.
45. Xu F, Kulys JJ, Duke K, Li K, Krikstopaitis K, Deussen H-JW, et al. Redox Chemistry in Laccase-Catalyzed Oxidation of N-Hydroxy Compounds. *Appl Envir Microbiol*. 2000;66(5):2052-6.
 46. Ramírez-Cavazos L, Junghanns C, Nair R, Cárdenas-Chávez D, Hernández-Luna C, Agathos S, et al. Enhanced production of thermostable laccases from a native strain of *Pycnoporus sanguineus* using central composite design. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2014;15(4):343-52.
 47. Madhavi V, Lele SS. Laccase: properties and applications. *BioResources*. 2009;4(4):1694-717.
 48. Jaouani A, Guillén F, Penninckx MJ, Martínez AT, Martínez MJ. Role of *Pycnoporus coccineus* laccase in the degradation of aromatic compounds in olive oil mill wastewater. *Enzyme Microb Technol*. 2005;36(4):478-86.
 49. Berrio J, Plou FJ, Ballesteros A, Martínez ÁT, Martínez MJ. Immobilization of *pycnoporus coccineus* laccase on Eupergit C: Stabilization and treatment of olive oil mill wastewaters. *Biocatal Biotransformation*. Taylor & Francis; 2007;25(2-4):130-4.
 50. Munusamy U, Sabaratnam V, Muniandy S, Abdullah N, Pandey A, Jones EBG. Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Laccase of *Pycnoporus sanguineus* and Toxicity Evaluation of Treated PAH. *Biotechnology*. 2008;7(4):669-77.
 51. Camarero S, Ibarra D, Martínez MJ, Martínez AT. Lignin-derived compounds as efficient laccase mediators for decolorization of different types of recalcitrant dyes. *Appl Environ Microbiol*. 2005;71(4):1775-84.
 52. Lu L, Zhao M, Zhang B-B, Yu S-Y, Bian X-J, Wang W, et al. Purification and characterization of laccase from *Pycnoporus sanguineus* and decolorization of an anthraquinone dye by the enzyme. *Biotechnol Relev Enzym Proteins*. 2007;74(6):1232-9.
 53. Atteke C, Mounguengui S, Saha Tchinda J-B, Ndikontar MK, Ibrahim B, Gelhaye E, et al. Biodegradation of Reactive Blue 4 and Orange G by *Pycnoporus sanguineus* Strain Isolated in Gabon. *J Bioremed Biodeg*. 2013;4(206):2155-6.199.
 54. Camarero S, García O, Vidal T, Colom J, del Río JC, Gutiérrez A, et al. Efficient bleaching of non-wood high-quality paper pulp using laccase-mediator system. *Enzyme Microb Technol*. 2004;35(2):113-20.
 55. Sigoillot C, Record E, Belle V, Robert JL, Levasseur A, Punt PJ, et al. Natural and recombinant fungal laccases for paper pulp bleaching. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2004;64(3):346-52.
 56. Eugenio ME, Santos SM, Carbajo JM, Martín JA, Martín-Sampedro R, González AE, et al. Kraft pulp biobleaching using an extracellular enzymatic fluid produced by *Pycnoporus sanguineus*. *Bioresour Technol*. 2010;101(6):1866-70.
 57. Bey M, Berrin J-G, Poidevin L, Sigoillot J-C. Heterologous expression of *Pycnoporus cinnabarinus* cellobiose dehydrogenase in *Pichia pastoris* and involvement in saccharification processes. *Microb Cell Fact*. 2011;10(113).
 58. Ohtakara A, Hayashi N, Mitsutomi M. Purification and Some Properties of Acid β -Galactosidase from *Pycnoporus cinnabarinus*. *J Ferment Technol*. 1981;59(4):325-8.
 59. Teoh YP, Don MM, Ujang S. Media selection for mycelia growth, antifungal activity against wood-degrading fungi, and gc-ms study by *Pycnoporus sanguineus*. *BioResources*. 2011;6(3).
 60. Henrique Rosa L, Gomes Machado KM, Jacob CC, Capelari M, Augusto Rosa C, Leomar Zani C. Screening of Brazilian Basidiomycetes for Antimicrobial Activity. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2003;98(7):967-74.
 61. Böse SR. Antibiotics in a Polyporus (*Polystictus sanguineus*). *Nature*. 1946;158:292-6.
 62. Acosta-Urdapilleta L, Alonso-Paz GA, Rodríguez A, Adame M, Salgado D, Montiel-Peña M, et al. *Pycnoporus sanguineus*, un hongo con potencial biotecnológico. En: Martínez-Carrera D, Cuvetto N, Sobal M, Morales P, Mora VM, editores. *Hacia un Desarrollo sustentable de Producción-Consumo de los Hongos Comestibles y Medicinales en Latinoamérica: Avances y Perspectivas en el siglo XXI*. Puebla: Red Latinoamericana de Hongos Comestibles y Medicinales. COLPOS-UNS-CONACYT-AMC-UAEMUPAEP-IMINAP; 2010. p. 531-62.
 63. Cruz Muñoz R, Piña-Guzmán AB, Yáñez-Fernández J, Valencia-Del Toro G, Bautista-Baños S, Villanueva Arce R. Producción de pigmentos de *Pycnoporus sanguineus* en medio de cultivo sólido. *Agrociencia*. 2015;49(4):347-59.
 64. Achenbach H, Blumm E. Investigation of the Pigments of *Pycnoporus sanguineus* - *Pycnosanguin* and New Phenoxazin-3-ones. *Arch Pharm*. 1991;324(1):3-6.
 65. Smânia E de FA, Smânia Júnior A, Loguercio-Leite C. Cinnabarin synthesis by *Pycnoporus sanguineus* strains and antimicrobial activity against bacteria from food products. *Rev Microbiol. SBM*;

- 1998;29(4):317-20.
66. Smânia A, Marques CJS, Smânia EFA, Zanetti CR, Carobrez SG, Tramonte R, et al. Toxicity and antiviral activity of cinnabarin obtained from *Pycnoporus sanguineus* (Fr.) Murr. *Phyther Res.* 2003;17(9):1069-72.
67. Dias D, Urban S. HPLC and NMR studies of phenoxazone alkaloids from *Pycnoporus cinnabarinus*. *Nat Prod Commun.* 2009;4(4):489-98.
68. Krings U, Pilawa S, Theobald C, Berger RG. Phenyl propenoic side chain degradation of ferulic acid by *Pycnoporus cinnabarinus* - elucidation of metabolic pathways using [5-2H]-ferulic acid. *J Biotechnol.* 2001;85(3):305-14.
69. Stentelaire C, Lesage-Meessen L, Oddou J, Bernard O, Bastin G, Ceccaldi BC, et al. Design of a fungal bioprocess for vanillin production from vanillic acid at scalable level by *Pycnoporus cinnabarinus*. *J Biosci Bioeng. Elsevier;* 2000;89(3):223-30.
70. Pointing SB. Feasibility of bioremediation by white-rot fungi. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2001;57(1-2):20-33.
71. Swamy J, Ramsay JA. The evaluation of white rot fungi in the decoloration of textile dyes. *Enzyme Microb Technol.* 1999;24(3-4):130-7.
72. Bumpus JA, Aust SD. Biodegradation of environmental pollutants by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*: Involvement of the lignin degrading system. *BioEssays.* 1987;6(4):166-70.
73. Infante D, Martínez B, González N, Reyes Y. Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. *Rev Protección Veg.* 2009;24(1):14-21.
74. Fernández-Larrea O. Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. *Manejo Integr Plagas (Costa Rica).* 2001;(62):96-100.
75. Ojeda Gutiérrez KE, Suescum Jaramillo JA. Evaluación de cinco cepas de hongos nativos como controladores biológicos de la enfermedad "Ojo de pollo" (*Mycena citricolor*) en café (*Coffea arabica*) en condiciones in vitro. [Internet]. Universidad Técnica Particular de Loja; 2012.
76. Viecelli CA, Stangarlin JR. Resistance induction in bean plants against angular leaf spot by extracts from *Pycnoporus sanguineus* mycelium. 2010.
77. Velíšek J, Cejpek K. Pigments of higher fungi: A review. *Czech J Food Sci - UZEI (Czech Republic).* 2011;29(2):87-102.
78. Kirk T. K. Effects of Microorganisms on Lignin. *Annu Rev Phytopathol.* 1971;9(1):185-210.
79. Cid-Perez T. Y a. L-M. Extractos de Vainilla- una mezcla de componenetes quimicos de aroma y sabor. *Temas Selectos de Ingenieria de Alimentos.* 2011. p. 51-63.
-