

Artículo

Aprovechamiento de residuos agroindustriales para la obtención de enzimas termoestables degradadoras de pared celular vegetal utilizando un co-cultivo de basidiomicetos

Iosvany López-Sandín¹, Guadalupe Gutiérrez-Soto^{1*}, Joel Horacio Elizondo Luevano¹, Roberto Parra Saldívar¹, Monserrat Franco Flores¹, Diana Castillo Martínez¹, Denisse Melissa Garza Hernández².

¹ Facultad de Agronomía, Campus Ciencias Agropecuarias; Universidad Autónoma de Nuevo León; C.P. 66050, General Escobedo, Nuevo León; iosvany.lopezs@uanl.edu.mx (ILS); ggutierrez0402@gmail.com (GGS); joel.elizondolv@uanl.edu.mx (JHEL); ibqrps@gmail.com (RPS),

² Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Nuevo León, cisco Villa S/N, Col. Ex Hacienda el Canadá, C.P. 66050, General Escobedo, Nuevo León, México, dgarzahr@uanl.edu.mx (DMGH).

* Correspondencia ggutierrez0402@gmail.com

Abstract: La producción enzimática de CMCasas, avicelasas, xilanasas, amilasas y lacasa un co-cultivo de *Trametes maxima* CU1 y *Pycnoporus sanguineus* CS2 fue evaluada en medios de cultivo sumergidos a base de residuos agroindustriales. Los resultados mostraron una sinergia en la producción de diversas enzimas, incluyendo CMCasas, avicelasas, xilanasas, amilasas y lacasas, cuando se utilizaron diferentes combinaciones de sustratos y suplementos. Si bien, se esperaba encontrar una solo condición para la máxima producción enzimática, en el tratamiento 4 se cuantificaron los mayores títulos de amilasas (445 UI⁻¹) y β-D-glicosidasa (1249 UI⁻¹). Los mayores títulos de CMCasas (1983 UI⁻¹) se presentaron en el medio Tx 5, mientras que los máximos niveles de avicelasas se detectaron en en medio Tx1(890 UI⁻¹). En el tratamiento Tx8 se presentó la mejor producción de xilanasas (837 UI⁻¹). Con respecto a la producción de lacasa, el mejor medio fue Tx9 con 142 UI⁻¹. Todas las hidrolasas mostraron una máxima actividad a 70 °C, que retienen a los 90 °C. Estos resultados nos permiten concluir que el co-cultivo de *Trametes maxima* CU1 y *Pycnoporus sanguineus* CS2 es una alternativa en la obtención de adyuvantes enzimáticos de bajo costo, con aplicaciones prometedoras en diversas industrias.

Palabras clave: bioeconomía circular; cáscaras de cítricos; valorización

1. Introducción

Los co-cultivos de basidiomicetos han emergido como una estrategia prometedora para la valorización de residuos agrícolas, tal como lo evidencian diversos estudios (Sarris et al., 2020). Bajo estas condiciones de crecimiento, la degradación y metabolización de los sustratos se ven potenciadas por la actividad metabólica conjunta de diferentes microorganismos dentro del mismo cultivo (Bader et al., 2010). A diferencia de los mono-cultivos, los co-cultivos de hongos de distintas especies se consideran una alternativa para potenciar la producción de metabolitos y enzimas, estimándose que pueden aumentar el rendimiento y la eficacia en la obtención de enzimas (Brijwani, et al., 2010).

El cultivo conjunto de dos especies de hongos en un entorno con limitación de nutrientes y condiciones ambientales específicas favorece su interacción, la cual puede ser de tipo antagonista o sinergista dependiendo de su naturaleza. En el antagonismo, los hongos producen metabolitos que inhiben el crecimiento de la otra especie presente en el co-cultivo. En contraste, el sinergismo se caracteriza por una interacción positiva en la que ambos hongos se benefician mutuamente (Intasit et al., 2021).

Las evidencias sobre la efectividad de los co-cultivos destacan su simplicidad y eficiencia, ya que no requieren de manipulaciones genéticas complejas ni del uso de reactivos químicos inductores costosos (Reyes et al., 2020). Además, el uso de diversas especies de hongos en un único cultivo permite la obtención de extractos enzimáticos ricos en diferentes tipos de enzimas, tales como celulasas, xilanasas y enzimas modificadoras de lignina (da Silva et al., 2022).

Las fermentaciones con cultivos mixtos también permiten aprovechar sustratos económicos e impuros. En la práctica industrial, se opta por el sustrato económico, que frecuentemente es una mezcla de varios materiales lignocelulósicos. En el procesamiento de biomasa, un cultivo mixto que degrade tanto la celulosa como el almidón y el azúcar es más eficiente. La combinación de hongos celulolíticos y levaduras que consumen almidón y azúcar conlleva a un proceso más efectivo, produciendo una mayor cantidad de producto en menos tiempo (Harrison et al., 1978).

El uso de diferentes especies fúngicas en co-cultivos puede potenciar la actividad de diversas enzimas lignocelulósicas, resultando en una mayor producción. Gutiérrez et al. (1999) demostraron que la combinación de especies de *Trichoderma* y *Aspergillus* incrementa la velocidad y el grado de hidrólisis de los sustratos en los que se cultivan, mejorando así la capacidad celulolítica. Hongos como *Pleurotus ostreatus* han demostrado tener buen sinergismo con otros hongos basidiomicetos aumentando la producción de lacasas en el co-cultivo (Velma y Madamwar, 2002; Baldrian, 2004; Dwivedi et al., 2011).

Con base en lo anterior, la presente investigación evalúa el efecto del co-cultivo de *Trametes maxima* CI 1 y *Pycnoporus sanguineus* CS2 en la producción enzimática utilizando residuos agroindustriales, así como el efecto de la temperatura sobre la actividad enzimática.

2. Materiales y Métodos

2.1. Reactivos

Todos los reactivos y sustratos empleados en la presente investigación fueron adquiridos a la empresa Sigma-Aldrich (USA). Los medios de cultivo utilizados fueron de la marca MC de Lab (México).

2.2. Material biológico e inóculo

Las cepas fúngicas utilizadas en este estudio fueron *Trametes maxima* CU1 y *Pycnoporus sanguineus* CS2. Estas cepas son conservadas mediante resiembras periódicas en medio papa dextrosa agar (PDA) en el laboratorio de Ciencias Naturales de la Facultad de Agronomía.

Para la preparación del inóculo, se cultivaron las cepas en 100 ml de medio caldo papa dextrosa a 28 °C durante siete días. La siembra se realizó con dos discos de 0.5 cm de diámetro provenientes de un cultivo de 5 días de crecimiento. En el caso de los tratamientos con co-cultivo, se adicionó un disco de cada cepa. Los cultivos se homogenizaron utilizando una licuadora Oster® (México) durante tres ciclos de 30 segundos.

2.3. Material vegetal y medio de producción

Los residuos agroindustriales utilizados fueron obtenidos de comercios e industrias del área metropolitana de Monterrey. Los tratamientos se establecieron en 100 ml de una solución amortiguadora de fosfato de potasio 60 mM a pH 6.0, suplementada con un mililitro de solución de elementos traza 100x (FeSO₄ 1.0 g/l, ZnSO₄ 2.8 g/l y CaCl₂ 3.3 g/l). Los sustratos agroindustriales o combinaciones de ellos (Tabla 1) fueron agregados a la solución amortiguadora. Los medios se esterilizaron a 121 °C durante 30 minutos durante tres días consecutivos. Finalmente, fueron inoculados con 1 ml del inóculo homogeneizado obtenido de un cultivo de 5 días, como se describe en la sección 2.2.

2.4. Actividades enzimáticas

2.4.1. Actividad lacasa fue determinada siguiendo el método de Abadulla et al. (2000), utilizando 2,6-dimetoxifenol (DMP) como sustrato. La mezcla de reacción consistió en 2 mM de DMP en acetato de sodio 200 mM ajustado a pH 3.5. La absorbancia fue medida a 468 nm en un espectrofotómetro UV-Vis Shimadzu 1800 (Japón).

2.4.2. Actividad carbohidrolasa

La actividad de las carbohidrolasas se determinó mediante el método de azúcares reductores reportado por Miller (1959). La mezcla de reacción consistió en 500 µl de buffer citrato de sodio 50 mM ajustado a pH 5.0, 300 µl del sustrato correspondiente al 1% (p/v) y 200 µl de la muestra. Los sustratos utilizados fueron almidón, Avicel®, carboximetilcelulosa (CMC), D-(+)-celobiosa, xilano y pectina para determinar las actividades enzimáticas amilasas, avicelasas, carboximetilcelulasas (CMCasas), β-D-glucosidasas, xilanasas y pectinasas, respectivamente. La mezcla de reacción se incubó a 60 °C durante 15 minutos.

Para el cálculo de las unidades de enzima, fueron tomados 100 µl de la mezcla de reacción al tiempo 0 y al final de la incubación. Estas alícuotas se colocaron en tubos con 100 µl del reactivo de ácido dinitrosalicílico (DNS) para la

determinación de azúcares reductores. Las mezclas fueron hervidas durante 5 minutos y luego se colocaron en un baño de hielo durante 5 minutos. Fue agregado 1 ml de agua bidestilada antes de la lectura espectrofotométrica a 517 nm. Las curvas de calibración utilizadas fueron de glucosa, xilosa y ácido D-galacturónico en un rango de 0 a 1 mg. Una unidad de enzima (U) fue definida como la cantidad de enzima requerida para liberar 1 μmol de glucosa, xilano o ácido D-galacturónico por minuto. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado a 25 °C.

Tabla 1. Sustratos utilizados en mono y co-cultivo

Tratamiento	Sustrato(s)
Tx1	Paja de trigo (0.5%)
Tx2	Paja de trigo (0.5 %) + Cáscara de Naranja (5 %)
Tx3	Cáscara de Naranja (5 %)
Tx4	Paja de trigo (0.5 %) + Cáscara de Toronja (5 %)
Tx5	Cáscara de Toronja (5 %)
Tx6	Paja de trigo (0.5 %) + Cáscara de Mandarina (5 %)
Tx7	Cáscara de Mandarina (5 %)
Tx8	Paja de trigo (0.5 %) + Cáscara de Cacahuete (5 %)
Tx9	Cáscara de Cacahuete (5 %)

2.5 Efecto de la temperatura sobre la actividad enzimática.

Para evaluar el efecto de la temperatura sobre la actividad de las carbohidrolasas fue utilizada la reacción de azúcares reductores descrita en la sección 2.2, la cual fue incubada a 25, 50, 60, 70 y 80 °C. Todos los ensayos fueron realizados por triplicado. Los sobrenadantes utilizados aquellos que mostraron el mayor número de actividades enzimáticas.

2.6 Análisis estadístico

Se utilizó la prueba de ANOVA para evaluar las diferencias estadísticas en la producción de enzimas al día 18 de crecimiento, con un nivel de confianza del 5%, utilizando el paquete estadístico SPSS Statistics. La prueba de comparación de medias se aplicó mediante el método de Tukey con una probabilidad del 5%.

3. Resultados

3.1. Producción enzimática

Las curvas de producción enzimática para el co-cultivo de *Trametes maxima* CU1 y *Pycnoporus sanguineus* CS2 y el mono-cultivo de *Trametes maxima* CU1 se muestran en la Figura 1. El co-cultivo exhibió la mayor actividad amilolítica en los medios Tx1, Tx2, Tx3, Tx4, Tx5 al día 18, alcanzando valores cercanos a las 400 U/l. En contraste, el mono-cultivo de *Trametes maxima* CU1 alcanzó su máxima producción en el medio Tx4 al día 20, con niveles inferiores a los 300 U/l (Figura 1A y 1B).

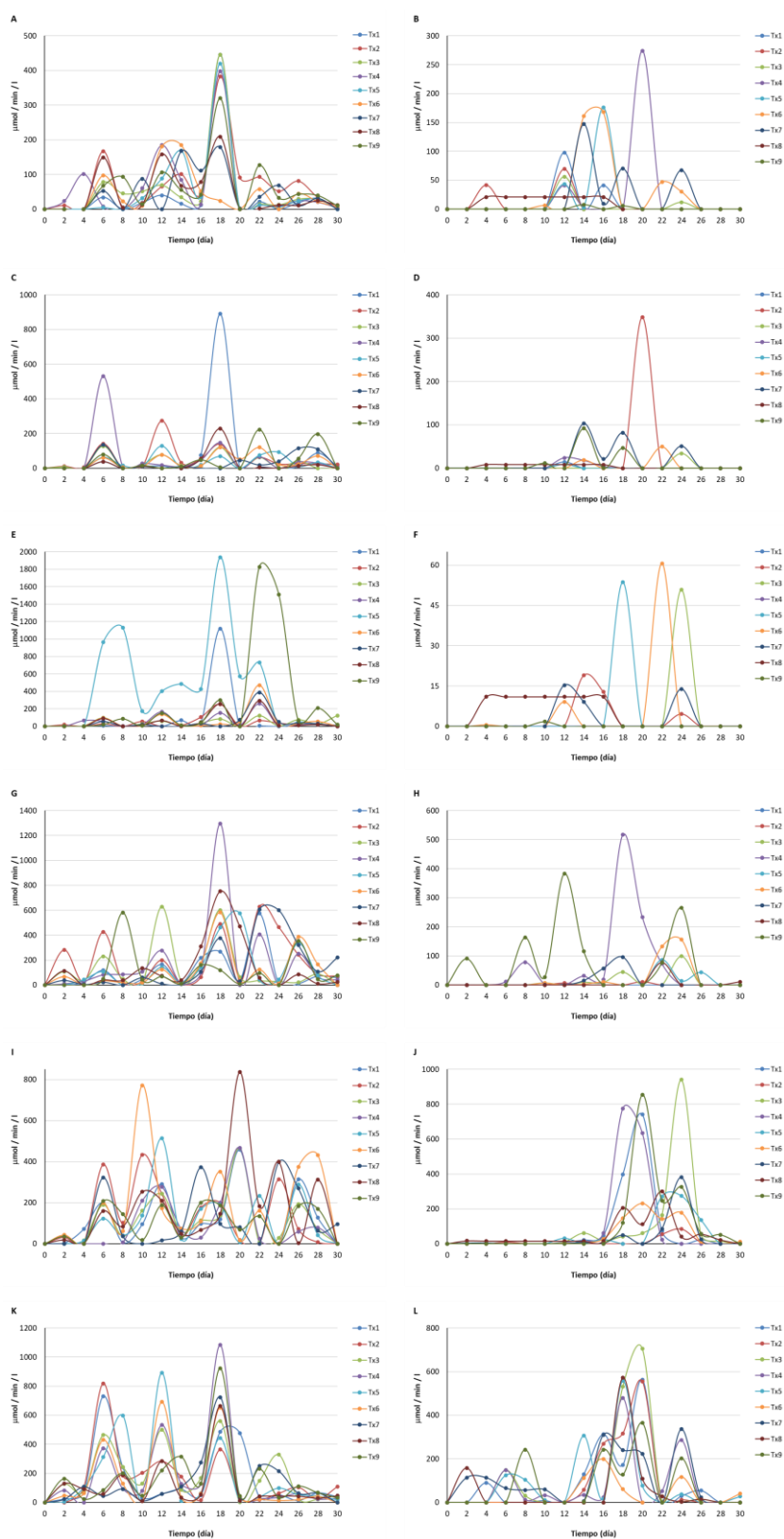


Figure 1. Producción enzimática en residuos agroindustriales. Donde A) corresponde a amilasas, C) Avicelases, E) CM cases, G) β -D-glucosidasas, I) xilanasas y K) pectinasas bajo condiciones de co-cultivo, mientras que B) corresponde a amilasas, D) Avicelases, F) CM Casas, H) β -D-glucosidasas, J) xilanasas y L) pectinasas de *Trametes maxima* CU1 en mono-cultivo. Los ensayos fueron realizados por triplicado y la desviación estándar fue menor al 5% entre las replicar.

En cuanto a la actividad celulásica, las avicelasas presentaron sus mayores títulos en el co-cultivo en el medio Tx1 al día 18, mientras que el mono-cultivo alcanzó su máximo en el medio Tx4 al día 20 (Figura 1C y 1D). Las CMCasas mostraron la mayor actividad en el co-cultivo en el medio Tx1, mientras que el medio Tx2 fue el mejor para el mono-cultivo (Figura 1E y 1F). La β -D-glucosidasa presentó un comportamiento similar al de las otras celulasas, con el co-cultivo alcanzando su máximo al día 18 y el mono-cultivo al día 20, ambos en el medio Tx4 (Figura 1G y 1H). Las xilanasas en el co-cultivo se detectaron principalmente en los medios Tx6 y Tx8 a los días 10 y 20, respectivamente. Por su parte, el mono-cultivo exhibió la mayor actividad en los medios Tx1, Tx3, Tx4 y Tx9 a los días 16, 20 y 24, respectivamente (Figura 1I y 1J). Los medios Tx4 y Tx3 mostraron las mayores actividades de pectinasas en el co-cultivo y el mono-cultivo a los días 18 y 20, respectivamente (Figura 1K y 1L).

En general, el co-cultivo de *Trametes maxima* CU1 y *Pycnoporus sanguineus* CS2 presentó mayores niveles de actividad enzimática, principalmente a los 18 días de crecimiento, mientras que el mono-cultivo alcanzó sus picos de producción al día 20 en la mayoría de las actividades. Sin embargo, no se observó un medio en particular donde se expresaran todas las actividades enzimáticas tanto en condiciones de mono-cultivo como en el co-cultivo. Además, el comportamiento de la cinética fue diferente en todos los medios para cada actividad.

Al analizar los niveles máximos de las enzimas determinadas en el co-cultivo y el mono-cultivo, fueron observadas diferencias entre ambos tratamientos en los diferentes medios de cultivo. En el caso de la amilasa, los medios Tx1, Tx3 y Tx5 mostraron títulos superiores a las 400 U/l en el co-cultivo, mientras que el mono-cultivo no superó las 300 U/l (Figura 2A). Esta diferencia en la producción enzimática representa un incremento significativo en el co-cultivo en comparación con el mono-cultivo.

La mayor actividad celulásica del co-cultivo se observó con la CMCasa, alcanzando 1938 U/l en el medio Tx5. Le siguieron la β -D-glucosidasa en el medio Tx5 (1294 U/l) y las avicelasas en el medio Tx1 (890 U/l). Estos niveles representaron un incremento en el co-cultivo en comparación con el mono-cultivo: 36 veces para la CMCasa (niveles máximos en Tx6), 2.5 veces para la β -D-glucosidasa (Tx4) y 2.3 veces para las avicelasas (Tx2) (Figura 2B-D).

A diferencia de las actividades amilásica y celulásica, la actividad xilanasas mostró mayores niveles en el mono-cultivo en comparación con el co-cultivo. Los medios Tx1, Tx3, Tx4 y Tx9 del mono-cultivo exhibieron una producción promedio de 830 U/l (Figura 2E), similar a los niveles promedios en ambos medios del co-cultivo (802 U/l). La mayor actividad pectinolítica se observó en el medio Tx4 del co-cultivo, con 1082 U/l, en comparación con las 705 U/l del medio Tx3 del mono-cultivo (Figura 2F). Esta diferencia también representa aumento en la producción enzimática del co-cultivo.

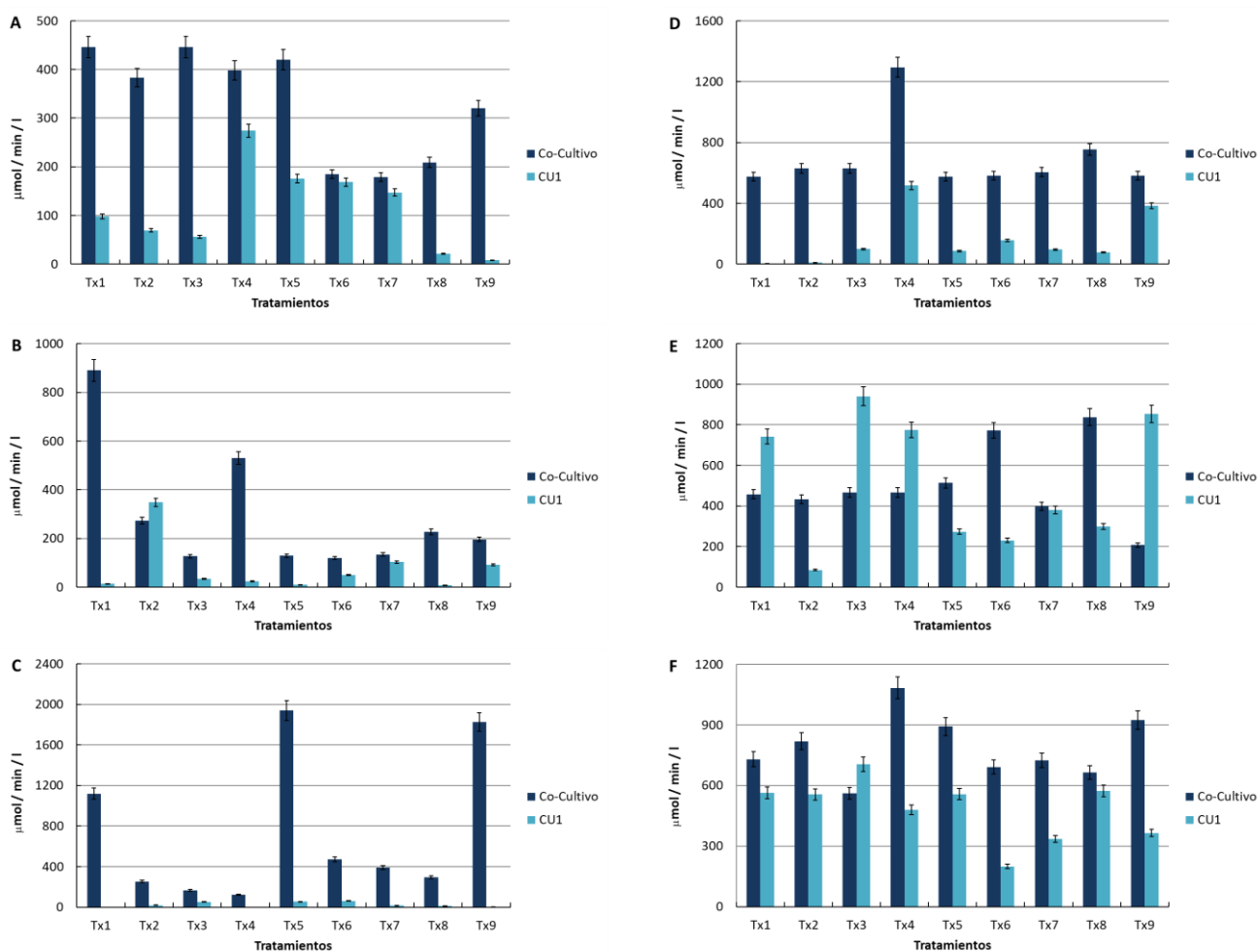


Figura 2. Producción enzimática. Donde A) corresponde amilasas, B) Avicelases, C) CM cases, D) β -D-glucosidasas, E) xilanasas y F) pectinasas.

La Figura 3 muestra las cinéticas de producción de lacasa en el co-cultivo de *Trametes maxima* CU1 y *Pycnoporus sanguineus* CS2 y el mono-cultivo de *Trametes maxima* CU1. Durante los primeros 16 días fue observado un comportamiento similar en ambos tratamientos, aunque los niveles de producción fueron mayores en el co-cultivo. A partir del día 18, los tratamientos de mono-cultivo experimentaron un descenso gradual en la actividad lacasa, mientras que el co-cultivo continuó produciendo la enzima a un ritmo constante. En ambos casos, la producción de lacasa se mantuvo después del día 20 y no se observaron cambios significativos al final del experimento.

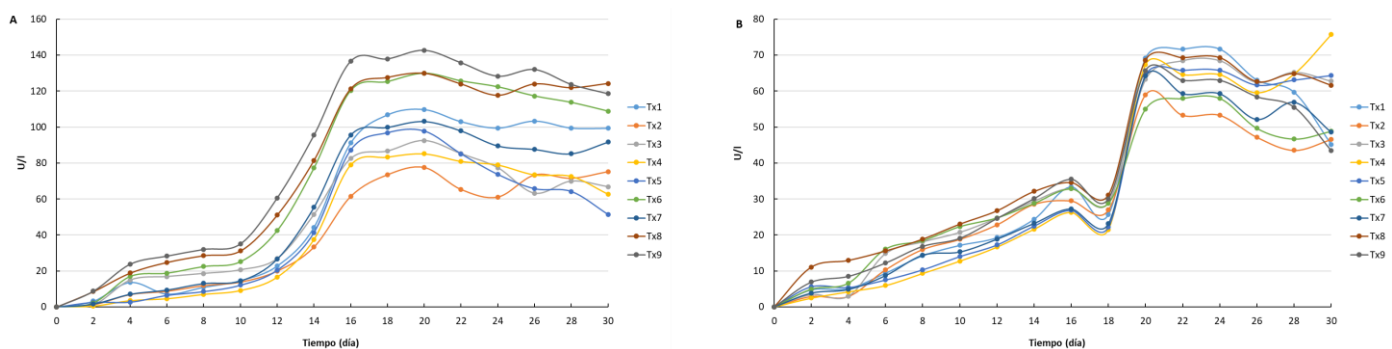


Figura 3. Cinética de producción de lacasa en co-cultivo (A) y en mono-cultivo (B).

3.2. Efecto de la temperatura sobre la actividad enzimática de carbohidrolasas.

Trametes maxima CU1 ha mostrado un potencial significativo en varias aplicaciones biotecnológicas debido a su robusto perfil enzimático. Como se mencionó anteriormente, bajo las condiciones de estudio, fue capaz de producir amilasas, celulasas, xilanasas, pectinasas y lacasas. Esta última ha sido reportada como una enzima termotolerante (Gutiérrez Soto. 2009). Por lo tanto, fue evaluado el efecto de la temperatura sobre las actividades carbohidrolasas detectadas, dado que la lacasa y carbohidrolasas producida por *Pycnoporus sanguineus* CS2 son consideradas termoestables (Martínez-Salcedo et al., 2015; Gutiérrez Soto et al., 2015).

Para determinar el efecto de la temperatura sobre las enzimas presentes, fueron seleccionados los sobrenadantes de los medios Tx1, Tx2 y Tx3, ya que presentaban la mayoría de las enzimas en altos títulos. En la Figura 4 se observa que los sobrenadantes del co-cultivo mostraron un mayor cambio de absorbancia, lo cual podría explicarse por la mayor concentración de enzimas. Sin embargo, las xilanasas, aunque mostraron los títulos más altos en el monocultivo en comparación con el co-cultivo, no presentaron un aumento significativo en la absorbancia. Por lo tanto, el incremento de la actividad con el aumento de la temperatura podría atribuirse a la producción de enzimas termoestables por *Pycnoporus sanguineus* CS2.

Cabe destacar que el sobrenadante del co-cultivo Tx2 mostró la mayor actividad enzimática a 70°C, mientras que el sobrenadante del mono-cultivo Tx3 presentó el mayor cambio de absorbancia (aunque menor que el co-cultivo) también a 70°C, demostrando la termotolerancia de las enzimas de *Trametes maxima* CU1. En consecuencia, la combinación de estas cepas para la recuperación de cócteles de amilasas, celulasas, xilanasas, pectinasas y lacasas termoestables tiene un gran potencial para aplicaciones industriales.

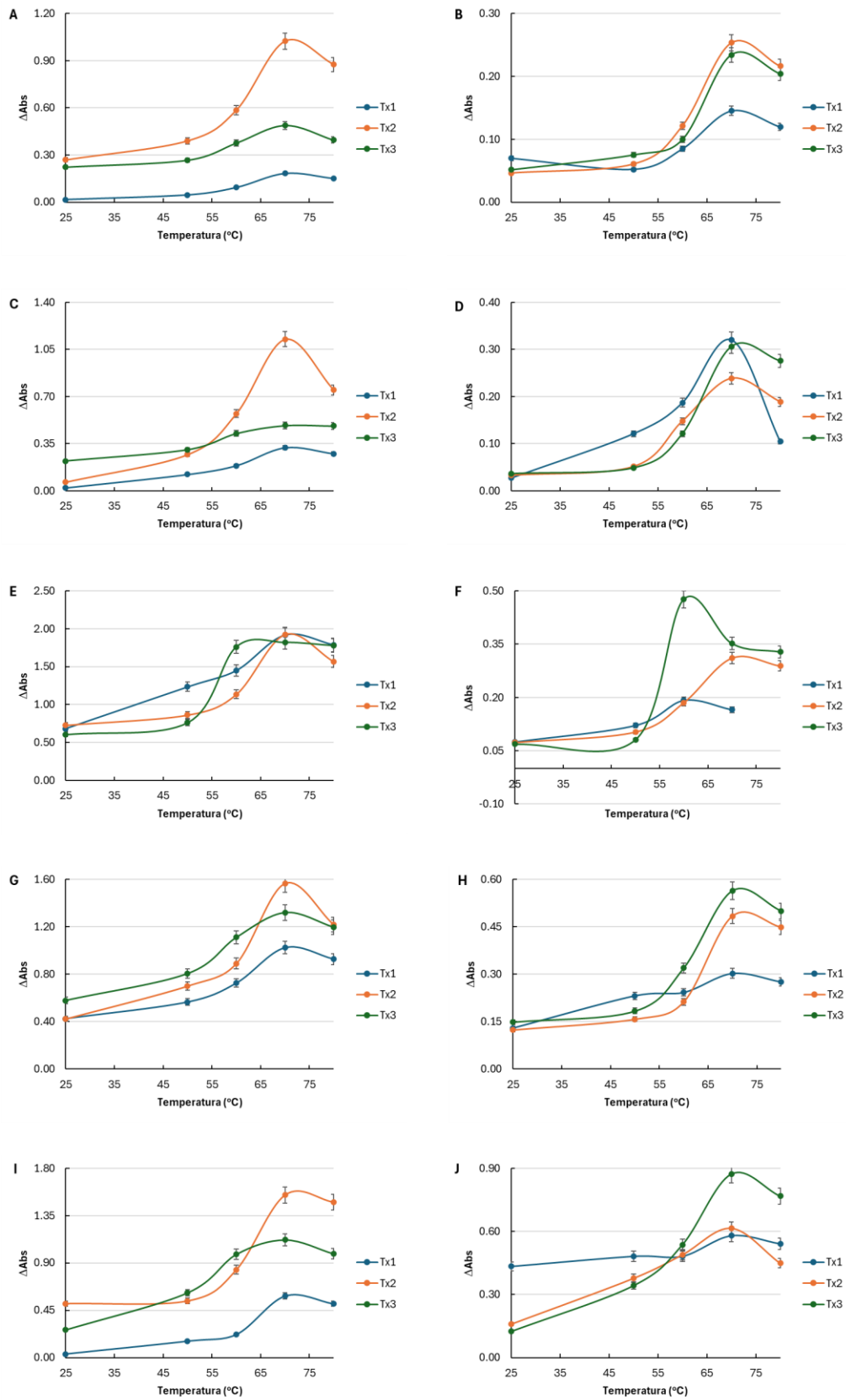


Figura 4. Efecto de la temperatura sobre las carbohidrolasas. Donde A, C, E, G e I corresponden a amilasas, Avicelastas, CMCAsas, β -D-glucosidasas, xilanasas y pectinasas del co-cultivo respectivamente, mientras que B, D, F, H y J corresponden a las actividades del mono-cultivo. Todos los tratamientos mostraron diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$).

4. Discusión

La evaluación del co-cultivo de *Trametes maxima* CU1 y *Pycnoporus sanguineus* CS2 frente al mono-cultivo de *T. maxima* CU1 para la producción enzimática en sustratos agroindustriales de bajo costo reveló resultados prometedores. El co-cultivo indujo una mayor actividad celulolítica en diversos tipos de sustratos, incluyendo cáscara de naranja, paja de trigo y cáscara de cacahuate. Este enfoque sinérgico condujo a una mayor producción de enzimas celulasas, xilanasas y lacasas. La actividad enzimática observada en el co-cultivo fue significativamente superior a la del mono-cultivo en la mayoría de los sustratos evaluados. La sinergia observada en el co-cultivo podría atribuirse a diversos mecanismos (Zhang et al., 2020b). La interacción entre las cepas fúngicas podría estimular la producción de enzimas a través de la secreción de metabolitos inductores o la competencia por nutrientes (Dullah et al., 2021). Además, el co-cultivo podría favorecer la degradación de la lignina, un componente recalcitrante de la biomasa, permitiendo un mayor acceso a la celulosa y hemicelulosa para las enzimas celulolíticas (Asiegbu et al., 1996). Cabe mencionar que, la producción enzimática en el co-cultivo se vio afectada por diversos factores como el tipo de sustrato, la humedad, la temperatura, el pH, la concentración de nutrientes adicionales y el tiempo de fermentación (Borchers et al., 2013; Fang y Xia, 2013; Abdu et al., 2022). Con respecto a la compatibilidad del co-cultivo también puede depender del tiempo y la cantidad de inóculo, considerados factores críticos (Hibbing et al., 2010). Mientras que, la elección del sustrato tuvo un impacto significativo en la producción enzimática. En este sentido, la cáscara de naranja, con su bajo contenido de lignina, resultó ser un sustrato favorable para la producción de pectinasas. En contraste, la paja de trigo, con su alto contenido de celulosa, indujo una mayor producción de celulasas.

En general las cinéticas de producción de enzimas revelaron patrones distintivos para cada enzima y tratamiento. En el caso de la producción de amilasas y celulasas alcanzó su máximo durante los primeros 20 días, seguido de una disminución gradual. Este comportamiento se ha atribuido al agotamiento inicial de azúcares solubles y a la represión de los genes promotores de la producción de enzimas (Quintero, 2021; Gutiérrez-Rojas et al., 2015; Nazir et al., 2010). Por otro lado, la producción de lacasa mostró un aumento continuo durante los primeros 16 días, seguido de una meseta en el co-cultivo y una ligera disminución en el mono-cultivo. Este comportamiento podría estar relacionado con la degradación gradual de la lignina y la liberación de compuestos aromáticos que inducen la producción de lacasa (Valmaseda et al., 1991; Sharma y Arora, 2010).

Con respecto a la termotolerancia, los resultados observados en el mono-cultivo de *Trametes maxima* CU1 fueron consistentes con los hallazgos de otros estudios, donde se ha demostrado que las cepas de *Trametes* producen enzimas con alta actividad y estabilidad en un rango de temperaturas y niveles de pH, lo que las hace adecuadas para aplicaciones industriales (Ado et al., 20218). Cabe mencionar que, el análisis del secretoma de *Trametes hirsuta* ha revelado una variedad diversa de enzimas extracelulares, incluidas enzimas ligninolíticas, celulolíticas y hemicelulolíticas, que variaron significativamente con las condiciones de crecimiento, lo que indica la adaptabilidad de las especies de *Trametes* a diferentes sustratos y entornos (Vasina et al., 2016). Además de explicar las diferencias de en los niveles y actividades presentes en los diferentes medios utilizados. Por otro lado, resultados con otro co-cultivos han demostrado mayor termoestabilidad que un monocultivo. Por ejemplo, el co-cultivo de las bacterias halófilas *Marinirhabdus* sp. y *Marinobacterhydrocarbonoclasticus* demostró una actividad de proteasa significativamente mejorada y estabilidad en un amplio rango de condiciones ambientales, incluyendo temperaturas de 25 °C a 60 °C, en comparación con los monocultivos (Anh et al., 2021). Lo que explica la mayor actividad en el co-cultivo *Trametes maxima* CU1 y *Pycnoporus sanguineus* CS2.

Finalmente, los resultados de este estudio demuestran el potencial del co-cultivo de *Trametes maxima* CU1 y *Pycnoporus sanguineus* CS2 para la producción enzimática eficiente y económica a partir de sustratos agroindustriales

de bajo costo. La sinergia observada en el co-cultivo podría conducir a un desarrollo más rápido y robusto de procesos biotecnológicos para la degradación de biomasa y la obtención de bioproductos de alto valor.

5. Conclusiones

Los resultados de este estudio demuestran el potencial sinérgico del co-cultivo de *Trametes maxima* CU1 y *Pycnoporus sanguineus* CS2 para la producción de un amplio espectro de enzimas celulolíticas y hemicelulolíticas. La combinación de ambas cepas resultó en un aumento significativo en la actividad enzimática, especialmente en la degradación de sustratos lignocelulósicos complejos. La termotolerancia de las enzimas producidas en co-cultivo, junto con su capacidad para actuar sobre una variedad de sustratos, sugiere un amplio rango de aplicaciones industriales. Estos hallazgos resaltan la importancia de explorar estrategias de co-cultivo para optimizar la producción de enzimas y promover el desarrollo de procesos biotecnológicos más eficientes y sostenibles para la conversión de biomasa en productos de alto valor agregado

6. Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo recibido por parte de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

7. Conflictos de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Referencias

1. Abadulla, E., Tzanov, T., Costa, S., Robra, K.H., Cavaco-Paulo, A. and Gübitz, G.M., 2000. Decolorization and detoxification of textile dyes with a laccase from *Trametes hirsuta*. *Appl Environ Microbiol*, 66, 3357-3362.
2. Abduh, M.Y., Ramadhan, C., Fadhlilah, A.P., Abdul, S.D., & Burhan, K.H. (2022). Solid-state fermentation of groundnut (*Arachis hypogaea*) shell using *Trichoderma* sp., tape yeast, and tempeh yeast to produce cellulase. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*. Vol. 10(4), pp. 153-160. DOI: 10.7324/JABB.2022.100421.
3. Ado, B. V., Amande, T. J., Ebah, E. E., & Mabitine, D. M. (2018). Screening, production and partial characterization of a thermostable laccase from *Trametes* sp. isolate B7 with biotechnological potentials. *Biotechnology Journal International*, 22(4), 1-16.
4. Anh, H. T. H., Shahsavari, E., Bott, N. J., & Ball, A. S. (2021). Application of co-culture technology to enhance protease production by two halophilic bacteria, *Marinirhabdus* sp. and *Marinobacter hydrocarbonoclasticus*. *Molecules*, 26(11), 3141.
5. Asiegbo, F. O., Paterson, A., & Smith, J. E. (1996). The effects of co-fungal cultures and supplementation with carbohydrate adjuncts on lignin biodegradation and substrate digestibility. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 12, 273-279.
6. Bader, J., Mast-Gerlach, E., Popović, M. K., Bajpai, R., & Stahl, U. (2010). Relevance of microbial coculture fermentations in biotechnology. *Journal of applied microbiology*, 109(2), 371-387.
7. Baldrian, P. (2004). Increase of laccase activity during interspecific interactions of white-rot fungi. *FEMS microbiology ecology*, 50(3), 245-253.
8. Borchers, S., Freund, S., Rath, A., Streif, S., Reichl, U., & Findeisen, R. (2013). Identification of growth phases and influencing factors in cultivations with AGE1. HN cells using set-based methods. *PLoS One*, 8(8), e68124.
9. Brijwani, K., Oberoi, H. S., & Vadlani, P. V. (2010). Production of a cellulolytic enzyme system in mixed-culture solid-state fermentation of soybean hulls supplemented with wheat bran. *Process Biochemistry*, 45(1), 120-128.
10. da Silva, Y. H., de Oliveira, T. B., Lima, M. S., Pasin, T. M., de Almeida Scarcella, A. S., de Moraes, M. D. L. T., ... & de Lucas, R. C. (2022). Co-Culture of *Trichoderma reesei*, *Talaromyces* sp. and *Aspergillus* spp. Produces A Multi-Enzyme Cocktail for the Hydrolysis of Sugarcane Bagasse Pretreated with Piperonic Acid (PIP) and Methylendioxy-cinnamic Acid (MDCA).
11. Dullah, S., Hazarika, D. J., Parveen, A., Kakoti, M., Borgohain, T., Gautam, T., ... & Boro, R. C. (2021). Fungal interactions induce changes in hyphal morphology and enzyme production. *Mycology*, 12(4), 279-295.
12. Dwivedi Brijwani, K., Oberoi, H. S., & Vadlani, P. V. (2010). Production of a cellulolytic enzyme system in mixed-culture solid-state fermentation of soybean hulls supplemented with wheat bran. *Process Biochemistry*, 45(1), 120-128.
13. Fang, H., & Xia, L. (2013). High activity cellulase production by recombinant *Trichoderma reesei* ZU-02 with the enhanced cellobiohydrolase production. *Bioresource technology*, 144, 693-697.
14. Gutiérrez Soto, J. G. (2009). *Purificación y caracterización parcial de las lacasas de Trametes maxima CU1 y su aplicación en la degradación de colorantes textiles* (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma de Nuevo León).

15. Gutiérrez Soto, J. G., Medina González, G. E., García Zambrano, E. A., Treviño Ramírez, J. E., & Hernández Luna, C. E. (2015). Selection and characterization of a native *Pycnoporus sanguineus* strain as a lignocellulolytic extract producer from submerged cultures of various agroindustrial wastes. *BioResources*, 10(2).
16. Gutiérrez-Rojas, I., Moreno-Sarmiento, N., & Montoya, D. (2015). Mecanismos y regulación de la hidrólisis enzimática de celulosa en hongos filamentosos: casos clásicos y nuevos modelos. *Revista Iberoamericana de Micología*, 32(1), 1-12
17. Hibbing, M. E., Fuqua, C., Parsek, M. R., & Peterson, S. B. (2010). Bacterial competition: surviving and thriving in the microbial jungle. *Nature reviews microbiology*, 8(1), 15-25.
18. Javed, M. M., & Khan, T. S. (2006). An innovative approach for hyperproduction of cellulolytic and hemicellulolytic enzymes by consortium of *Aspergillus niger* MSK-7 and *Trichoderma viride* MSK-10. *African journal of Biotechnology*, 5(8), 609-614.
19. Martínez, S. M. S., Gutiérrez-Soto, G., Garza, C. F. R., Galván, T. J. V., Cordero, J. F. C., & Luna, C. E. H. (2013). Purification and partial characterization of a thermostable laccase from *Pycnoporus sanguineus* CS-2 with ability to oxidize high redox potential substrates and recalcitrant dyes. *Applied Bioremediation-Active and Passive Approaches*, 351.
20. Nazir, A., Soni, R., Saini, H. S., Kaur, A., & Chadha, B. S. (2010). Profiling differential expression of cellulases and metabolite footprints in *Aspergillus terreus*. *Applied biochemistry and biotechnology*, 162, 538-547
21. Reyes-Calderón, A., Garcia-Luquillas, K. R., Ludeña, Y., Hernández-Macedo, M. L., Villena, G. K., & Samolski, I. (2020). A simple and accurate method for specific quantification of biomass in mixed cultures of filamentous fungi by quantitative PCR. *Revista peruana de biología*, 27(1), 085-090.
22. Sarris, D., Philippoussis, A., Mallouchos, A., & Diamantopoulou, P. (2020). Valorization of low-cost, carbon-rich substrates by edible ascomycetes and basidiomycetes grown on liquid cultures. *FEMS microbiology letters*, 367(20), fnaa168.
23. Sharma, R. K., & Arora, D. S. (2010). Production of lignocellulolytic enzymes and enhancement of in vitro digestibility during solid state fermentation of wheat straw by *Phlebia floridensis*. *Bioresource Technology*, 101(23), 9248-9253.
24. Valmaseda, M., Martínez, M. J., & Martínez, A. T. (1991). Kinetics of wheat straw solid-state fermentation with *Trametes versicolor* and *Pleurotus ostreatus*—lignin and polysaccharide alteration and production of related enzymatic activities. *Applied microbiology and biotechnology*, 35, 817-823.
25. Vasina, D. V., Pavlov, A. R., & Koroleva, O. V. (2016). Extracellular proteins of *Trametes hirsuta* s t. 072 induced by copper ions and a lignocellulose substrate. *BMC microbiology*, 16, 1-14.
26. Zhang, J., Ke, W., & Chen, H. (2020a). Enhancing laccase production by white-rot fungus *Trametes hirsuta* SSM-3 in co-culture with yeast *Sporidiobolus pararoseus* SSM-8. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, 50(1), 10-17.
27. Zhang, Q., Zhao, L., Li, Y., Wang, F., Li, S., Shi, G., & Ding, Z. (2020b). Comparative transcriptomics and transcriptional regulation analysis of enhanced laccase production induced by co-culture of *Pleurotus eryngii* var. *ferulae* with *Rhodotorula mucilaginosus*. *Applied microbiology and biotechnology*, 104, 241-255.

Descargo de responsabilidad/Nota del editor: Las declaraciones, opiniones y datos contenidos en todas las publicaciones son responsabilidad exclusiva de los autores y colaboradores individuales y no de SAV y/o el/lo editor/es declinan toda responsabilidad por daños personales o materiales derivados de ideas, métodos, instrucciones o productos a los que se haga referencia en el contenido.

Cita: López-Sandin, I., Gutiérrez-Soto, G., Elizondo Luevano, J. H., Parra Saldivar, R., Franco Flores, M., Castillo Martínez, D., & Garza Hernández, D. M. (2024). Aprovechamiento de residuos agroindustriales para la obtención de enzimas termoestables degradadoras de pared celular vegetal utilizando un cultivo de basidiomicetos. *Scientia Agricolis Vita*, 1(2), 12–21. <https://doi.org/10.29105/agricolis.v1i2.18>.

Recibido: fecha

Revisado: fecha

Aceptado: fecha

Publicado: 31-05-2024



Copyright: © 2023 por los autores. Presentado para su posible publicación en acceso abierto bajo los términos y condiciones de la licencia Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).