

INDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Justificación	3
1.2. Objetivos	4
1.2.1. Objetivo general	4
1.2.2. Objetivos particulares	4
2. REVISIÓN DE LA LITERATURA	5
2.1 Los hongos	5
2.1.1 Hongos ligninolíticos	5
2.2 Biocombustibles	7
2.3 Lignina	10
2.4 Celulosa	12
2.5 Microorganismos asociados a la descomposición de residuos	12
2.6 Hongos como modelo de estudio	13
2.7 Enzimas ligninolíticas	17
2.8 Enzimas celulolíticas	18
3. MATERIALES Y MÉTODOS	20
3.1 Material Biológico	21
3.2 Cultivo y manipulación de los hongos	21
3.2.1 Conservación de las cepas fúngicas	21
3.2.2 Propagación	21
3.2.3 Obtención de inóculos fúngicos para la detección de ligninasas	22
3.3 Medio de cultivo e inducción de actividad ligninolítica	23
3.4 Pruebas cualitativas de actividad ligninolítica	23
a) Detección de actividad Lacasa	24
b) Detección de actividad Lignina Peroxidasa	25
c) Detección de actividad Manganese Peroxidasa	25
3.5 Pruebas cuantitativas de actividad ligninolítica	25
3.5.1 Inducción enzimática ligninolítica	25

3.5.2 Obtención del extracto enzimático ligninolítico	25
3.5.3 Determinación de actividad ligninolítica por espectrofotometría	26
a) Ensayo de actividad Lac	28
b) Ensayos para actividad LiP	29
b) Ensayos para la actividad MnP	29
3.6 Escrutinio de la actividad celulolítica sobre CMC y Avicel	31
3.6.1 Inóculo fúngico y detección de actividad celulolítica	31
3.6.2 Construcción de la curva de glucosa	32
3.6.3 Ensayo para determinar actividad celulolítica	32
3.6.4 Cuantificación de azúcares reductores	32
4. RESULTADOS	34
4.1 Hongos utilizados	34
4.2 Medio de cultivo e inducción de actividad ligninolítica	34
4.3 Pruebas cualitativas de actividad ligninolítica	35
a) Detección de actividad Lac	35
b) Detección de actividad LiP	36
c) Detección de actividad MnP	36
4.4 Pruebas cuantitativas de actividad ligninolítica por espectrofotometría	37
a) Cuantificación de actividad Lacasa	37
b) Cuantificación de actividad Lignina peroxidasa	38
c) Cuantificación de actividad Manganeso peroxidasa	40
4.5 Escrutinio de la actividad celulolítica sobre CMC y Avicel.	43
4.5.1 Detección de actividad celulolítica	44
4.5.2 Cuantificación de azúcares reductores	44
5. DISCUSIÓN	46
6. CONCLUSIONES	50
7. REFERENCIAS	51
8. ANEXOS	67