

Aislamiento y Caracterización parcial de una Lipasa presente en Raíces Primarias de *Gossypium hirsutum* L. cv. *Guazuncho 2* (*Malvaceae*)

Nora S. PRIOLO, María C. ARRIBÉRE¹ y Néstor O. CAFFINI²

LIPROVE, Departamento de Ciencias Biológicas,
Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata,
Casilla de Correo 711, 1900 La Plata, Argentina.

RESUMEN. Los extractos crudos de raíces de plántulas de algodón (*Gossypium hirsutum* L. cv. *Guazuncho 2*) de 1-2 días de crecimiento manifiestan actividad lipolítica cuando se utiliza aceite de algodón como sustrato. La actividad lipolítica está asociada al pellet obtenido por centrifugación del extracto crudo a 11.000 g a 4 °C durante 30 minutos. La lipasa fue solubilizada a partir del pellet mediante tratamiento con Tritón X-100 1% (v/v) en buffer Tris-HCl 20 mM de pH 8,5 conteniendo DTT 1 mM y EDTA 0,5 mM. Luego de dos centrifugaciones sucesivas a 50.000 g durante 30 minutos y a 100.000 g durante 1 hora la enzima se recupera en el sobrenadante de la última centrifugación. La lipasa manifiesta máxima actividad en un rango de pH entre 8,0 y 8,5 y a temperaturas comprendidas entre 55 °C y 60 °C, siendo estimulada por la presencia de ion calcio. El análisis por HPLC de los triacilglicéridos (TAG) residuales de aceite de algodón luego de la acción de la lipasa revela una mayor afinidad de la misma hacia TAG que contienen ácido oleico. El fraccionamiento por cromatografía de exclusión molecular (Sephacryl S-300) muestra la presencia de dos fracciones con actividad lipolítica.

SUMMARY. "Isolation and partial characterization of a lipase from primary roots of *Gossypium hirsutum* L. cv. *Guazuncho 2* (*Malvaceae*)". Crude extracts of cotton seedling roots (*Gossypium hirsutum* L. cv. *Guazuncho 2*) exhibit lipolytic activity on cotton seed oil. When the crude extract is centrifuged for 30 min at 4 °C and 11.000 g lipolytic activity is recovered from the pellet by adding 20 mM Tris-HCl buffer (pH 8.5) containing 1% Triton X-100, 1 mM DTT and 0,5 mM EDTA. After centrifugation for 30 min at 50.000 g and for 1 h at 100.000 g the enzyme is recovered in the supernatant. The lipase shows maximum activity at pH 8.0-8.5 and at 55 °C - 65 °C and is stimulated by calcium. HPLC analysis of the remanent triacylglycerols (TAG) after the action of the lipase on cotton seed oil reveals higher affinity for TAG containing oleic acid. Fractionation of the soluble enzyme preparation by gel chromatography (Sephacryl S-300) reveals the presence of two active fractions.

PALABRAS CLAVE: Lipasas, Algodón, *Gossypium hirsutum*, *Malvaceae*, Hidrolasas vegetales

KEY WORDS: Lipases, Cotton, *Gossypium hirsutum*, *Malvaceae*, Plant hidrolases

¹ Becaria de la Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires (CIC).

² Miembro de la Carrera del Investigador de la CIC