

Consortios biológicos diseñados para la producción de lacasas y eliminación de colorantes

Roberto González¹, Roberto Villagómez¹, Alfredo Madariaga², Javier Castro¹ y Cesar González^{1*}
Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería¹, Instituto de Ciencias Agropecuarias²
Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo^{1,2}
Mineral de la Reforma¹, Tulancingo²; Hgo.¹; México.¹
*Autor de correspondencia: ccr_gonzalez@yahoo.com

Abstract— Biological consortiums designed to produce laccases and the treatment with dyes are analyzed in this review. To avoid low yields in discoloration and laccase production, a frequent problem in monocultures during the treatment of textile effluents, consortium systems are suggested. Reports in literature provide evidence about of consortiums advantages in decolorization of a wide range of toxic dyes and in enzymatic production, however there are few reports related to the design of consortiums that consider the coupling of the degradation properties and the interspecific relationships between organisms. The consortia designed could innovate the treatments available for textile effluents.

Keyword— *designed consortium, textile effluents, biological induction, azo dyes, decoloration, degradation.*

Resumen— Los consorcios biológicos diseñados para la producción de lacasas y el tratamiento con colorantes se analizan en esta revisión. Para evitar los bajos rendimientos en la decoloración y la producción de lacasas, un problema frecuente en monocultivos durante el tratamiento de efluentes textiles, se sugieren sistemas en consorcio. Los reportes en literatura dan evidencia de las ventajas de los consorcios en la decoloración de una amplia gama de colorantes tóxicos y en la producción enzimática, sin embargo, son escasos los reportes relacionados con el diseño de consorcios que consideren el acoplamiento de las propiedades degradativas y las relaciones interespecificas entre los organismos. Los consorcios diseñados podrían innovar los tratamientos disponibles para efluentes textiles.

Palabras claves— *consorcios, efluentes textiles, simbiosis, decoloración, degradación*

I. INTRODUCCIÓN

La aplicación de legislaciones es cada vez más estricta en materia ambiental, tal es el caso del manejo de efluentes textiles que ha impulsado el desarrollo de las biotecnologías para el tratamiento y la remediación de agua contaminada [1, 2], especialmente porque las biotecnologías basan su acción en procesos enzimáticos y, por lo tanto, se consideran como tecnologías “ambientalmente amigables”. Estas biotecnológicas se basan en vegetales [3], líquenes [4], algas [5], bacterias [6], hongos filamentosos [6], consorcios microbianos [7, 8] y consorcios diseñados [9]. Un rasgo común en estos organismos es la producción de lacasas, una enzima clave capaz de degradar colorantes. La producción de lacasas depende de inductores químicos [10] o inductores naturales como lo son los consorcios biológicos [11]. Varios estudios han demostrado que los consorcios permiten mayores rendimientos de lacasas que con los monocultivos [12], con la ventaja adicional de generar diferentes isoformas de enzimas [13]. En estudios de tratamiento de colorantes, los consorcios biológicos han incrementado las tasas de eliminación de colorantes porque son menos susceptibles a la contaminación orgánica [14] y exhiben mayores niveles de producción de enzimas [15, 16], mayor resistencia a condiciones abióticas [17] y menores tasas de inactivación de enzimas [18]. El primer tipo de consorcios, estudiados para producción de lacasas y eliminación de colorante fueron los que se extraían de ambientes contaminados; a pesar de su eficiencia, su crecimiento y propiedades como degradadores son difíciles de controlar [19], por lo que su aplicación está limitada. Por otro lado, los consorcios diseñados son sistemas donde el crecimiento de dos o más organismos es inducido en el mismo medio; mientras los organismos son elegidos específicamente para mejorar un bioproceso dado, hay pocos informes en la literatura sobre el

uso de consorcios para la producción de lacasas y la eliminación de colorantes en aguas residuales. Por lo tanto, este artículo trata sobre los consorcios diseñados en la producción de lacasas y la eliminación de colorante, así como su uso una biotecnológica útil para reducir la contaminación causada por los efluentes textiles.

II. MÉTODOS BIOTECNOLÓGICOS PARA EL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES TEXTILES

A. Contaminación por efluentes textiles

La industria textil impacta negativamente sobre el medio ambiente, debido a la toxicidad de sus efluentes [20]. Se estima que las descargas de aguas residuales tienen una DQO (demanda química de oxígeno) de 115-175 kg por tonelada de acabado textil [21]. Los procesos de teñido y acabado son las principales fuentes de contaminación en las aguas residuales textiles [22].

Se han reportado que 80 000 toneladas de colorantes se descargan en cuerpos naturales de agua por año en todo el mundo, y alrededor del 70% son colorantes azoicos [23]. Los colorantes azoicos inhiben la fotosíntesis acuática, reducen el oxígeno disuelto, y son tóxicos para flora, fauna, y los seres humanos [24]. Algunos colorantes azoicos son carcinógenos categoría 3, de acuerdo con la Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer [25]. Durante el tratamiento de agua los colorantes azoicos son transformados en compuestos tóxicos, incluidas aminas aromáticas sulfonadas, fenol, y naftaleno [8].

La legislación Europea [1] y de América del norte [2] sugieren un tratamiento eficiente de los efluentes de la industria textil, evitando la descarga de compuestos que son perjudiciales para la salud humana y el medio ambiente. Una breve descripción de los tratamientos fisicoquímicos y biotecnológicos disponibles para efluentes textiles mostrará que estos últimos se están desarrollando rápidamente, sobre todo porque son eficientes.

B. Tratamientos fisicoquímicos

Los efluentes textiles pueden tratarse de dos maneras: el primero es eliminar los colorantes sin modificaciones; transfiriéndolos del efluente a una matriz diferente. El segundo enfoque es degradarlo en un compuesto con menor peso molecular [24].

La coagulación / floculación es un método básico para la eliminación de colorantes, en el cual se agregan sales inorgánicas para aglutinar partículas suspendidas en el medio acuoso, seguido de la adición de un polímero que captura los coágulos producidos, aumentando su peso para promover la sedimentación [26]. La electrocoagulación consiste en una serie de reacciones electrolíticas en las superficies de los electrodos que forman aglomeraciones en la fase acuosa, que adsorben contaminantes y luego se eliminan por sedimentación [22].

Otras tecnologías se basan en la absorción de colorantes en materiales sintéticos o naturales específicos, como el carbón de leña, el carbón sulfonado, el carbón activado en polvo, la cáscara de naranja, los sólidos de aguas residuales pasteurizadas y los macro-hongos pulverizados [27].

Con respecto a la degradación del colorante, un método de tratamiento utiliza ozono para oxidar contaminantes no susceptibles a la biodegradación [28]. Otra opción es la oxidación por fisión homolítica de peróxido de hidrógeno (H_2O_2), en el que el medio se irradia con luz ultravioleta para generar radicales OH^* y este último oxida los colorantes [28]. Finalmente, la oxidación con el reactivo de Fenton consiste en el uso de H_2O_2 activado con una sal de Fe (II) [24].

A pesar de la aplicación generalizada de tecnologías fisicoquímicas, estas tienen la desventaja de producir altas cantidades de lodo residual, tienen altos costos de operación y generan problemas de

contaminación secundaria, lo que limita su implementación en plantas para el tratamiento de efluentes textiles [22].

C. Tratamientos biotecnológicos

Los métodos biotecnológicos para el tratamiento del agua residual textil se basan en la capacidad de las plantas, algas, hongos, bacterias, líquenes, y consorcios de degradar contaminantes. Los microorganismos usan diversos mecanismos para eliminar los colorantes, tales como la producción de enzimas (biodegradación) [8, 12] y biosorción [29]. En biosorción, heteropolisacáridos y lípidos en la pared celular de algunos organismos son responsables de la eliminación de colorantes [30]. Con respecto a la biodegradación, varias enzimas microbianas son conocidas por ser capaces de reducir u oxidar colorantes.

Las bacterias metanogénicas y acetogénicas han sido reportadas para producir reductasas-azoicas, las cuales transforman los colorantes azoicos en aminas aromáticas [8]. Bajo condiciones anaerobias, las enzimas bacterianas reductasas dependientes de flavina mononucleótido (FMN), reductasa libre de FMN, reductasa dependiente de nicotinamida adenina dinucleótido (NADH), reductasa dependiente de nicotinamida adenina dinucleótido-fosfato (NADPH), y reductasa dependiente de nicotinamida adenina dinucleótido- dicloroindofenol (NADH-DCIP), son capaces de degradar colorantes. Por el contrario, la mayor producción de enzimas bacterianas es producidas bajo condiciones aeróbicas algunas de estas son las siguientes: manganeso peroxidasa, lignina peroxidasa, lacasas, tirosinasa, n-dimetilasa, y celobiosa deshidrogenasa [30].

El uso de las plantas para eliminar los contaminantes se conoce como fitoremediación; los colorantes pueden ser tomados, acumulados, transformados, y/o volatilizados en contacto, principalmente por las raíces de las plantas [31]. Plantas con raíces largas y crecimiento rápido, tales como *Aster amellus* Linn, son buenos candidatos para el tratamiento de agua que contiene los colorantes azoicos [3]. Por otro lado, las algas, están siendo resistentes a las condiciones encontradas en los efluentes textiles, también se utilizan para eliminar colorantes. El colorante verde de malaquita se ha eliminado por la macroalga *Chara sp.* a través de la degradación y mecanismos de sorción [32], y por la microalga *Comarium sp.* [5]. Sin embargo, una desventaja del uso de plantas o algas para eliminar colorantes es que ambos requieren de un tiempo prolongado [32].

Hongos filamentosos puede degradar colorantes gracias a su alta capacidad para adaptar su metabolismo para explotar varias fuentes de carbono y nitrógeno [30]. El hongo filamentosos de podredumbre blanca, *T. versicolor*, degrada el colorante rojo ácido 27 a través de enzimas tipo lignina peroxidasa [33]. Otros organismos filamentosos como *Aspergillus niger* y *A. terreus* degradan y adsorben al colorante rojo azoicos MX-5b, reduciendo su toxicidad [29].

La decoloración y mineralización bacteriana de compuestos azoicos sucede por la combinación de procesos aeróbicos y anaeróbico. Los compuestos azoicos son primero reducidos (anaeróbicamente) para formar aminas aromáticas, y esas aminas posteriormente desaminadas o deshidrogenadas (aeróbicamente) [6, 8].

Varios reportes sobre la decoloración de compuestos azoicos con monocultivos de plantas, hongos y bacterias han demostrado sus limitaciones, en cuanto a la baja producción enzimática o a la degradación incompleta del colorante [8, 12]. Un enfoque biotecnológico poco estudiado consiste en la combinación de dos o más organismos para complementar sus capacidades de degradación, lo cual a menudo genera un sinergismo. Un caso claro de sinergismo es la interacción de *A. ochraceus* NCIM-1146 (hongo) con *Pseudomonas sp.* Suk1 (bacterias), que resultó en tasas con una mayor biodegradación y desintoxicación del colorante Rubine GFL azoico [7]. En la interacción entre *Glandularia pulchella* tronc. (Planta) y *P. monteilli* ANK (bacteria), el 100% de las tasas de degradación de colorante escarlata RR fueron alcanzados, debido al acoplamiento enzimático [9].

Los consorcios diseñados "hecho por el hombre", son sistemas que soportan el crecimiento de dos o más organismos, elegidos para mejorar un bioproceso [19]. Hay algunos reportes en la literatura sobre el diseño de consorcios aplicado en el tratamiento de aguas residuales para eliminar colorantes [14, 15, 16, 29, 34, 35].

Los estudios pioneros sobre consorcios fueron realizados con organismos obtenidos de los sitios contaminados con efluentes textiles. Presentan amplia disponibilidad y elevadas tasas de eficacia en comparación con los monocultivos (probados en laboratorios y a escala). Sin embargo, debido a su complejidad, son considerados como sistemas "caja negra" porque con frecuencia no están identificados a sus integrantes, su interacción (mutualismo, comensalismo, amensalismo, o la competencia) [36] y su tipo participación en el proceso de eliminación de los colorantes [37]. Algunos de los inconvenientes antes mencionados, se presentaron en el estudio sobre una biopelícula hongo-bacteria que trabajó continuamente durante cuatro meses bajo condiciones no estériles. Los resultados mostraron que *C. tropicalis* y *Candida sp.* prevalecieron hasta el final de la eliminación del colorante, mientras que el resto de los microorganismos fueron suprimidos o no presentan actividad decolorante [37].

Entre las enzimas que participan en el tratamiento biotecnológico de efluentes textiles, las lacasas son las más recurrentes [38]. Se ha reportado que las lacasas son sobreproducidas en consorcios, por lo que su producción puede servir como un indicador de las ventajas de los consorcios sobre los monocultivos. En este sentido, la siguiente sección describe brevemente los factores que afectan la producción de lacasas en los monocultivos y consorcios.

III. MONOCULTIVOS Y CONSORCIOS EN LA PRODUCCIÓN DE LACASAS

A. Distribución biológica

La producción de lacasas está muy extendida entre insectos [13], plantas, hongos, bacterias [39] y cianobacterias [40]. Debido a su ubicación extracelular (plantas y hongos) o intracelular (bacterias) [41], se han sugerido diversas funciones fisiológicas [42]. En insectos, participan en la síntesis de la cutícula epidérmica. En las plantas, contribuyen a la síntesis de lignina [43], mientras que en los hongos participan en la degradación de lignina, la patogénesis de las plantas y las interacciones competitivas [13]. En bacterias, están relacionados con la biosíntesis del pigmento [10].

B. Características generales

En general, las lacasas son glicoproteínas diméricas o tetraméricas [40], glicoproteínas N-glicosiladas [11] del tipo oxidasa (bencenodiol: reductasa de oxígeno, EC 1.10.3.2), con un peso molecular de 40-100 kDa [44, 13]. Tanto las lacasas de plantas como las de hongos están glicosiladas [45]. Las lacasas se pueden clasificar en azules, amarillas y blancas de acuerdo con la cantidad de átomos de cobre en sus centros catalíticos [39]. Las lacasas azules son las más abundantes; tienen cuatro centros tipo 1 de cobre (T1Cu), donde ocurre la oxidación de sustratos reducidos [45]. Los centros de cobre tipo 2 (T2Cu) y tipo 3 (T3Cu) forman el grupo trinuclear, en el que una molécula de oxígeno se reduce a dos moléculas de agua [46]. De esta forma, una molécula de lacasas cataliza cuatro reacciones de reducción de un solo electrón, utilizando sustratos fenólicos como donantes de hidrógeno [11] y oxígeno molecular como cosustrato [47].

Los valores óptimos de pH y temperaturas de reacción para las lacasas varían de 2 a 10 y de 40 a 65 ° C, respectivamente [39]; esta notable estabilidad en amplios rangos de pH y temperatura es debida a la N-glicosilación [46]. Los puntos isoeléctricos de las lacasas oscilan entre 2.6 y 6.9 [47]. Con respecto al potencial redox (E°), que se refiere a la energía que requieren las enzimas para eliminar un electrón del sustrato, de esta manera valores más altos de T1Cu E° indican un mayor poder de oxidación de las

lacasas en los sustratos [48]. En aquellos casos en que el valor de E° es mayor para el sustrato que para las lacasas, la adición de un mediador puede superar la barrera energética [49], extendiendo la actividad catalítica de las lacasas a sustratos no fenólicos. Si bien recientemente se informó que hay más de 100 mediadores de lacasas diferentes, los más estudiados son ABTS (ácido 2,2'-azino-bis (3-etil benzotiazolin-6-sulfónico)) y HBT (1-hidroxibenzotriazol) [50].

C. Producción de lacasas fúngicas

1) Determinación de la actividad de lacasas

- La producción de lacasas se mide indirectamente a través de la actividad de lacasas, determinada por técnicas espectrofotométricas; una unidad de actividad de lacasas se define como el número de micromoles de la enzima que oxida un micromol de sustrato por minuto por unidad de volumen o masa, en condiciones estándar. Entre los principales sustratos utilizados para determinar la actividad de lacasas están ABTS [51], DMP (2,6-dimetoxifenol) [39], catecol [52], guayacol [53] y 3,3-diaminobenzidina [14].

2) Factores que afectan la producción de lacasas

- Las fuentes de carbono y nitrógeno controlan la producción de lacasas [46, 51], aunque en menor medida que los mediadores químicos [10], los mediadores derivados de la lignina natural [54] y los inductores biológicos [11].

3) Microorganismos productores de lacasas

- La Tabla I muestra los factores que afectan la producción de lacasas para varios microorganismos, ya sea en monocultivos o consorcios. Las tasas de producción de lacasas variaron de 57 a 8 533 000 UI^{-1} según lo determinado por el método ABTS, y de 1100 a 72 000 UI^{-1} como se determinó con el método DMP. El hongo *Pleurotus ostreatus* (ACCC52857) tiene la mayor tasa de actividad de lacasas reportada (8 533 000 UI^{-1}) [51]; es importante mencionar que *P. ostreatus*, un saprófito de madera, produce 12 isoformas de lacasas [55]. Siguiendo el orden de la Tabla I, la levadura *Cryptococcus albidus* FIST3 produce 832 200 UI^{-1} de actividad de lacasas; este organismo se aisló de efluentes de la industria de fabricación de pasta y papel [38]. Existen pocos reportes sobre la producción de lacasas por *C. albidus*, probablemente porque es un agente patógeno, que causa encefalitis en pacientes con VIH [56]. El hongo filamentoso *Corioliopsis gallica* 1184 produjo 200 900 UI^{-1} de actividad de lacasas [47]; este hongo se aisló del material vegetal en descomposición y se ha utilizado para la eliminación de compuestos fenólicos [57]. Se producen 143 000 UI^{-1} de actividad lacasa con el hongo *Pycnoporus sanguineus* (CS43) [46]. Las lacasas producidas por *Pycnoporus sp.* han sido objeto de estudio en la última década [58] para el tratamiento de efluentes textiles [59], la biotransformación de microcontaminantes farmacéuticos [60] y la degradación de los disruptores endocrinos [46].

Considerado como un inductor natural, el consorcio formado por *Phelebia radiata* con *Dichomitus squalens* y *P. radiata* con *Ceriporiopsis subvemispota* (todos ellos hongos de podredumbre blanca) produjeron 118 000 UI^{-1} de actividad de lacasas. Cabe señalar que el aumento en la tasa de producción es considerado como una respuesta sinérgica del consorcio [61]. Los monocultivos de *Ganoderma lucidum* [10], *Pycnoporus sp.* SYBC-L3 [39], *Anthrospira maxima* (SAE-25780) [40], *T. versicolor* ATCC 42530 [43], *T. versicolor* CICC 14001 [52], *Xylaria sp.* [62], *Cerrena consors* [11], *T. versicolor/Candida sp.* HSD07A [63], y *Rhodotorula mucilaginosa/Pleurotus ferulae* JM301 [54] mostraron tasas de producción por debajo de 100 000 UI^{-1} de la actividad de lacasas.

En general, los hongos de pudrición blanca son productores primarios de lacasas [61], probablemente porque la multiplicidad genética les permite secretar diferentes isoformas [13]. Una revisión sobre los inductores que estimulan la producción de lacasas proporcionará evidencia de que los consorcios son inductores biológicos eficientes y podrían reemplazar a los inductores químicos.

4) *Inductores en la producción de lacasas*

- Dos tipos de compuestos aumentan los rendimientos de lacasas: mediadores e inductores. Los mediadores son moléculas de bajo peso molecular que se oxidan fácilmente mediante lacasas; actúan donando electrones a una molécula compleja que las lacasas no pueden oxidar [11]. Por otro lado, los inductores son moléculas u organismos complejos que afectan el metabolismo del organismo productor de lacasas [64] impactándolo a nivel genético [65].

La Tabla I muestra varios mediadores e inductores usados en la producción de lacasas. Estos mediadores incluyen CuSO_4 [51], vainillina [47], etanol [10], ácido gálico [10], tween 80 [64] 2,4,6-trinitrotolueno, ácido ferúlico, hidroquinona [65], así como los colorantes lanaset [66], escarlata RR [14] y verde de malaquita [16].

El inductor químico paraquat en contacto con *T. versicolor* propicio estrés oxidativo; lo cual generó un aumento en la producción de las enzimas antioxidantes lacasas, superóxido dismutasa y peroxidasa [64]. Sin embargo, el uso de inductores químicos se ha relacionado con casos de toxicidad; por ejemplo, es necesario el uso racional de CuSO_4 para prevenir riesgos ambientales ampliamente reportados [11]. Como opción están los mediadores naturales basados en materiales lignocelulósicos, paja de arroz [61], cascara de tamarindo [10], aserrín y semillas y tallos de uva [67]. También se han usado compuestos derivados de lignina como guayacol [40], 2,5-xilidina [62] y compuestos fenólicos obtenidos de amurca [11], aunque un inconveniente con este tipo de inductores es el tiempo de producción de lacasas [61].

Dadas las desventajas de los métodos antes mencionados, un enfoque biotecnológicamente viable es el uso de inductores biológicos, que consisten en consorcios de hongos/hongos [16], hongos/levaduras [54] y hongos/bacterias [14], entre otros tipos. Los consorcios tienen menos efectos tóxicos y permiten tiempos de producción de lacasas más cortos. El aumento en la producción de lacasas con consorcios está relacionado con los siguientes aspectos: a) cambios morfológicos y alteraciones en los patrones de crecimiento de los organismos cultivados; b) la producción de isoformas de lacasas; c) estrés debido a la competencia por el sustrato; y c) generación de metabolitos secundarios. Los siguientes ejemplos, muestran los aspectos antes mencionados.

El cocultivo de *R. mucilaginosa* con el hongo *P. ferula* aumento la producción de lacasas además de generar nuevas isoformas de lacasas, en respuesta a una competencia por los sustratos [54]. Del mismo modo, el consorcio formado por *T. versicolor* y *Candida sp.* HSD07A mostró un aumento de 1,18 veces la producción de lacasas (con respecto al monocultivo) porque la cepa HSD07A consumió el 99% de la glucosa en el medio de cultivo en 10 h, dejando al hongo en inanición, esta última condición provocó el aumento en la producción de lacasas [63]. Además, existen pruebas de que los metabolitos antifúngicos producidos por *Pseudomonas fluorescens* cuando se cocultivaron con *R. solani* provocaron que estos últimos aumentaran la producción de lacasas [68].

Sin embargo, algunos consorcios pueden reducir la producción de lacasas, tal como lo reportado para el consorcio formado por *Pleurotus ostreatus* y *P. citrinopileatus* (ambos degradadores de lignina) en los cuales se presentó evidencia de la disminución de lacasas y Mn-peroxidasa, los

autores atribuyeron el decremento en la producción a fenómenos que afectaron el crecimiento y desarrollo de cada uno, causados por compartir espacio sobre el mismo sustrato [69].

La modificación en el patrón de producción de enzimas en los consorcios es visto como un atributo positivo para la eliminación de colorantes. En este sentido, es de esperarse que las tasas de decoloración sean diferentes en monocultivos y en consorcios.

Tabla I. Factores que afectan la producción de lacasas (parte 1).

Microorganismo	Fuente de carbono	Fuente de nitrógeno	Mediador / inductor	Actividad de lacasas (UI ⁻¹)	Tiempo (d)	Referencia	
<i>Pleurotus ostreatus</i> (ACCC52857)	Glucosa	Extracto de papa	CuSO ₄	8 533 000	13	[51]	
<i>Cryptococcus albidus</i>		Peptona de carne	CuSO ₄ and bagazo	832 200	11	[70, 71]	
<i>Corioloopsis gallica</i> 1184		Peptona Bacto	Vanilina	200 900	7	[47]	
<i>Pycnoporus sanguineus</i> (CS43)	Jugo de tomate		CuSO ₄	143 000	15	[46]	
<i>Phelebia radiata</i> / <i>Dichomitus squalens</i>	Glucosa y maicena	Peptona	Lignocelulósico consorcio compuesto y hongo / hongo	95 000	9	[61]	
	Glucosa y maíz			110 000	9		
	<i>Phelebia radiata</i> / <i>Ceriporiopsis subvemispora</i>			Glucosa y paja de trigo	88 000		12
	Glucosa y paja de arroz			118 000	12		
<i>Ganoderma lucidum</i>	Glucosa	Extracto de Soya	Cascara de tamarindo, etanol and CuSO ₄ , ácido gálico	74 840	15	[10]	
<i>Pycnoporus sp.</i> SYBC-L3		NaNO ₃	CuSO ₄	72 000	6	[39]	
<i>Anthrospira maxima</i> (SAE-25780) (cyanobacterium)	Sacarosa	NaNO ₃	CuSO ₄ and guayacol	56 894	4	[40]	
<i>Trametes versicolor</i> ATCC 42530	Glucosa	NH ₄ Cl	Sin inducción	50 660 (UI ⁻¹ h ⁻¹)	100 h	[43]	
<i>Trametes versicolor</i> CICC 14001			Ondas de ultrasonido	23 140	3	[52]	
<i>Xylaria sp.</i>	Salvado de trigo	(NH ₄) ₂ SO ₄	2,5-xilidina	20 535	16	[62]	
<i>Cerrena consors</i>	Amurca	Agar extracto de malta	Amurca	1350	30	[11]	
			CuSO ₄ + Amurca	13 055	25		
			Consortios de hongos / hongos	2831	25		
2865	25						

Tabla I. Factores que afectan la producción de lacasas (parte 2).

Microorganismo	Fuente de carbono	Fuente de nitrógeno	Mediador / inductor	Actividad de lacasas (U ⁻¹)	Tiempo (d)	Referencia
<i>Trametes versicolor</i> /Candida sp. HSD07A	Glucosa	(NH ₄) ₂ C ₄ H ₄ O ₆	Tween 80 y consorcios de hongos / hongos	10 500	6	[63]
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> /Pleurotus <i>ferulae</i> JM301	Glucosa, salvado de trigo y harina de maíz	Salvado de trigo y harina de maíz	Compuestos de Lignocelulosa y consorcio de hongos / levadura	10 055	8	[54]
<i>Trametes</i> sp. AH28-2/ <i>Trichoderma</i> sp. ZH1	Xilosa	Triptona	Conorcios de hongos / hongos	6210	8	[53]
<i>Trametes versicolor</i> ATCC 42530	Glucosa	NH ₄ Cl	Lanaset G	1700	4	[72]
				2000	20	
<i>Trametes trogii</i> LK13	Paja de arroz, bagazo, aserrín y fragmentos de algodón	Peptona y extracto de malta	Material lignocelulósico y CuSO ₄	1263 U _g ⁻¹	7	[75]
<i>Trametes versicolor</i> ATCC 42530	Glucosa	NH ₄ Cl	Lanaset G	1100	6	[66]
<i>Trametes versicolor</i> HEMIM-9	Harina de trigo blanca y hojuelas de cereales		Aserrín	800	48 h	[44]
<i>Trametes versicolor</i> (CBS100.29)	Glucosa	Material lignocelulósico	Semillas de uva	250	35	[67]
			Tallos de uva	400		
			Salvado de cebada	650		
<i>Trametes versicolor</i> CICC 14001		NH ₄ Cl	Ondas de ultrasonido	588.9	5	[52]
<i>Streptomyces cyaneus</i>	Harina de soya	(NH ₄) ₂ SO ₄	CuSO ₄	57	20	[76]
<i>Trametes versicolor</i> BAFC 42FC/ <i>Ganoderma lucidum</i> E47	Semillas de avena		Material lignocelulósico y consorcios de hongos / hongos	7.93 U _g ⁻¹	14	[16]
<i>Trametes versicolor</i> G3 (DMS 11269)	Glucosa	(NH ₄) ₂ C ₄ H ₄ O ₆	Compuestos lignocelulósicos	0.3 U _g ⁻¹ biomasa	12	[77]
	Paja de trigo			14 U _g ⁻¹ biomasa	7	
	Astillas de madera			13.5 U _g ⁻¹ biomasa	6	
<i>Galactomyces geotrichum</i> MTCC 1360/ <i>Brevibacillus laterosporus</i> MTCC 2298	Extracto de malta y caldo nutritivo		Conorcio de colorantes y hongos / bacterias	0.372 U _{mg} ⁻¹ de proteína	18 h	[14]

IV. MONOCULTIVOS Y CONSORCIOS EN LA PRODUCCIÓN DE LACASAS

A. Diferencia entre decoloración y biodegradación

La decoloración se define como la eliminación o transformación del grupo cromóforo en un compuesto [29]. La biodegradación, por otro lado, consiste en descomponer el colorante por medios biológicos, al tiempo que reduce su peso molecular y la complejidad de su estructura química [35].

B. Decoloración / biodegradación del colorante

Se han reportado diferentes enfoques para decolorar y biodegradar los colorantes; entre ellos se encuentran: 1) extractos enzimáticos, 2) enzimas inmovilizadas en matrices poliméricas, 3) sistemas enzimático-mediadores (libres o inmovilizados), y 4) monocultivos y consorcios en crecimiento (Tabla 2).

En una comparación entre la decoloración enzimática de 150 mg l⁻¹ de Gris Lanaset G (GLG) en medios con y sin siembra de *T. versicolor*, se obtuvo la decoloración del 90% y del 35%, respectivamente. Las células fúngicas podrían metabolizar los derivados del colorante para aumentar la producción enzimática [66]. Por otro lado, fue tratado un efluente de aguas residuales de una planta de celulosa, utilizando células de *T. versicolor* libres e inmovilizadas en nylon [43]; las células inmovilizadas fueron más eficientes para tratar aguas residuales, reduciendo el color (36%), la concentración de compuestos aromáticos (54%) y la toxicidad. En otro estudio, las lacasas de *T. versicolor* se inmovilizaron en carbón de cáscara de nuez mesoporoso para eliminar colorantes; este método fue capaz de decolorar tanto los colorantes ácidos como los reactivos [46].

Los sistemas de mediadores de lacasas son eficientes en la decoloración de colorantes azoicos. El colorante rojo ácido 27 se decoloró en un 90% en tres minutos con 500 UI⁻¹ de lacasas de *T. histurina* en presencia de ácido violúrico, mientras que la decoloración fue del 30% en 1.5 h en ausencia del mediador [74]. La actividad de la lacasas aumenta con los mediadores debido a la presencia de sustituyentes donadores de electrones en el anillo de benceno, que reducen el E ° [78]. Los sistemas de mediador-lacasas se han utilizado para el tratamiento de aguas residuales en la industria de fabricación de papel y blanqueo [79], en la biorremediación de PHA, colorantes azoicos [49] y antibióticos de sulfonamida [80], entre otros. Aunque existen mediadores baratos, como N-hidroxiacetanilida (HNA) [79], su alta toxicidad y nuestra falta de conocimiento sobre sus efectos limitan el uso de los sistemas de mediador químico de lacasas.

C. Decoloración/biodegradación con consorcios

Se han reportado pocas aplicaciones prácticas de monocultivos de hongos o bacterias para la eliminación de colorantes azoicos. Sus desventajas son consecuencia de su susceptibilidad a la contaminación biológica [14], la baja producción de enzimas decolorantes [15], la escasa adaptación a las condiciones abióticas complejas y variables de los efluentes textiles [16], la desestabilización enzimática [17], el hecho de que pocos hongos utilizan colorantes como fuente de carbono y energía [81], y bajas tasas de eficiencia para la degradación bacteriana en condiciones aeróbicas [17]. Los consorcios microbianos muestran claras ventajas sobre los monocultivos para la eliminación de colorantes [14], como se analizará a continuación.

Algunos estudios sobre el tratamiento con colorantes con consorcios se muestran en la Tabla II. El aumento en la eficiencia de la decoloración se puede ejemplificar en el estudio del consorcio formado por *Galactomyces geotrichum* MTCC 1360 y *Bacillus sp.* VUS, para el cual se obtuvo una decoloración del 100% del compuesto azoico Café 3REL en 2 h; en cambio, se obtuvieron tasas de decoloración significativamente menores (39% en 24 h) y un mayor tiempo de decoloración (100% en 5 h) con *G. geotrichum* MTCC 1360 y *Bacillus sp.* VUS monocultivos, respectivamente [14]. De forma similar, el consorcio formado por *G. lacidum* y *T. versicolor* fue más eficiente en la decoloración de verde de malaquita en comparación con el comportamiento obtenido con los monocultivos, las nuevas isoformas de lacasas se relacionaron con el aumento en la eficiencia de decoloración [15]. Se determinó una nueva ruta metabólica para degradar el colorante Escarlata RR por el consorcio formado por *G. geotrichum* MTCC 1360 y *Brevibacillus laterosporus* MTCC 2298; se observaron cambios en los niveles de producción de alcohol oxidasa versátil, lacasas, tirosinasa y NADH-DCIP reductasa con respecto a los monocultivos [14].

Por lo general, en los consorcios diseñados se conoce el papel de cada miembro de los consorcios en la transformación del colorante. Este es el caso del consorcio bacteriano NAR-2, formado por *Citrobacter freundii* A1, *Enterococcus casseliflavus* C1 y *Enterobacter cloacae* L17, que degradaron al colorante rojo ácido 27. En el estudio con el consorcio NAR-2 se exploró el destino de los sustratos y metabolitos intermedios, y se demostró que el ácido rojo 27 se somete a un proceso de aminación y desulfonación durante una etapa de biodegradación microaerófila, seguido de una reducción azoica (la etapa de decoloración real, que dura 2 h). Posteriormente, se produjo una fase de mineralización en condiciones aeróbicas (que duraron 48 h) [34].

Tabla II. Estudios sobre tratamiento de efluentes con monocultivos y consorcios (parte 1).

Microorganismos	Colorantes en efluente	Condiciones de tratamiento	Resultados	Agente decolorante	Referencia
<i>Cryptococcus albidus</i>	1.0% efluente textil y 0.1% colorantes: azul de anilina, xileno cianol, azul de bromotimol, carmín, violeta cristal, azul brillante Coomassie R-250 y azul tripán. A 0.1%: tetraclorohidroquinona, ácido 4-clorosalisílico, 3-metilcatecol, 2,4-diclorofenol e hidroquinona.	Tartrato de sodio (85 mM, pH = 3), plus 2 UI ⁻¹ de actividad de lacasas a 3 °C por 1 h.	Eliminación de carmín, violeta cristal y anilina azul en un 40%; todos los demás compuestos en <30%.	Extracto de lacasas	[70]
<i>Ganoderma lucidum</i>	Violeta de metilo 2B (MV), Amarillo Remazol G (RY) y ácido rojo rápido (AFR) 50 mM	20 Uml ⁻¹ de la actividad de lacasas en acetato de sodio 100 mM (pH = 5) durante 24 h.	Eliminación de MV en un 78%, RY en un 83%, AFR en un 92%.	Extracto de lacasas	[10]
	Efluente de la industria del colorante	Medio de cultivo (pH = 5,5) durante 21 días.	97% de decoloración, eliminación de DBO y DQO en un 75% y un 70%, respectivamente.	Lacasas producidas por crecimiento fúngico	

Tabla III. Estudios sobre tratamiento de efluentes con monocultivos y consorcios (parte 2).

Microorganismos	Colorantes en efluente	Condiciones de tratamiento	Resultados	Agente decolorante	Referencia
<i>Trametes versicolor</i> (CBS100.29)	Fenol rojo (75 μ M)	72 UI ⁻¹ de actividad de lacasas con rojo de fenol más acetato de sodio 10 mM (pH = 4.5) a 30 ° C.	61% Decoloración en 72 h.	Extracto de lacasas	[66]
<i>Trametes versicolor</i> ATCC 42530	Efluente de la planta de celulosa	Medio de cultivo con efluente (pH = 4.5), succinato de 2,2-dimetilo e inóculo inmovilizado en espuma de poliuretano.	Reducción del color en un 36%, compuesto aromáticos en un 54% y reducción de la toxicidad en 3.15 veces.	Microorganismos inmovilizados y enzimas decolorantes producidas por el crecimiento fúngico	[44]
<i>Trametes versicolor</i> ATCC 42530	Gris Lanaset (GLG)	100 ml de solución de lacasas (2500 UI ⁻¹) a 25 ° C, 135 rpm, 150 mg l ⁻¹ de GLG (pH = 4,5).	Decoloración en un 90%.	Extracto de lacasas	[67]
	Efluente sintético con GLG	Agua residual sintética estéril inoculada con 3.2 gl ⁻¹ de hongos de peso seco.		Crecimiento producido por hongos y lacasas	[71]
<i>Trametes versicolor</i>	Naranja ácida 7 (AO7), azul ácido 74 (AB74), rojo reactivo 2 (RR2) y negro reactivo 5 (RB5)	Lotes a 150 rpm, 25 ° C, 3 mg ml ⁻¹ de enzima disuelta en tampón de fosfato (100 mM, pH 6), 200 mg l ⁻¹ de colorante.	AO7 and AB74 decoloración en un 90%.	Lacasas purificadas	[45]

Tabla IV. Estudios sobre tratamiento de efluentes con monocultivos y consorcios (parte 3).

Microorganismos	Colorantes en efluente	Condiciones de tratamiento	Resultados	Agente decolorante	Referencia
<i>Trametes versicolor</i> CNPR 8107	Remazol azul RR y Remazol rojo RR	Colorante (1.8 gl ⁻¹) en medio Kirk incubado durante seis días a 30 ° C.	Remazol azul RR y Remazol rojo RR decoloración en un 96%.	Biomasa fúngica producida por crecimiento, lacasas y Mn-peroxidadas.	[72]
<i>Trametes versicolor</i> ATCC 20869	Rojo ácido 27	Medio de cultivo añadido con 1 gl ⁻¹ de ácido rojo 27, incubado durante 4 días.	100% de decoloración.	Biomasa fúngica producida por crecimiento, lacasas y Mn-peroxidadas.	[34]
<i>Trametes hirsuta</i> (BT 2566)	Mezcla al 9,2% de rojo ácido 97 (AR 97), verde ácido 26 (AG 26) y ftalocianina de cobre.	Ácido violúrico añadido con 500 ul ⁻¹ de actividad de lacasa en tampón de fosfato; pH = 5 para AR 97 (40 mgl ⁻¹); pH = 4 para AG 26 (130 mgl ⁻¹). Temperatura ambiente, sin incubación	AR 97 decolorado en un 90% a los 3 minutos con ácido violúrico 2 mM, y para AG 26 en un 6,2% a las 24 h.	Sistema mediador de lacasas	[73]
<i>Aspergillus niger</i>	Procion rojo MX-5B	Etapa 1, biosorción: colorante 200 µg ml ⁻¹ , pH 4, biomasa 3 mg ml ⁻¹	Eliminación de grupos cromóforos y disminución de la toxicidad.	Biomasa fúngica	[28]
<i>Aspergillus terreus</i>		Etapa 2, biodegradación: colorante 200 µg ml ⁻¹ , pH 4, 3 mg ml ⁻¹ de biomasa.	Biodegradación en un 98% a 336 h.		
<i>Aspergillus lentulus</i> , <i>Aspergillus terreus</i> , and <i>Rhizopus oryzae</i>	Cu ²⁺ , Cr ⁶⁺ , azul ácido 161 (AB) y naranja pigmentada 34 (PO)	Culture medium added with 100 mgl ⁻¹ of metals or dyes plus spore suspension 1% at 30 °C, 150 rpm, for 48 h.	Cr ⁶⁺ removal by 100%, Cu ²⁺ by 81.6%, AB by 98% and PO by 100%.	Crecimiento producido consorcio microorganismos y enzimas	[35]
<i>Trametes versicolor</i> BAFC42FC/ <i>Ganoderma Lucidum</i>	Verde malaquita	50 µM colorante en tampón de acetato (pH = 3.6)	Remoción en un 80% en 3 h.	Crecimiento producido consorcio microorganismos y enzimas	[15]

Tabla II. Estudios sobre tratamiento de efluentes con monocultivos y consorcios (parte 4).

Microorganismos	Colorantes en efluente	Condiciones de tratamiento	Resultados	Agente decolorante	Referencia
<i>Galactomyces geotrichum</i> MTCC 1360/ <i>Brevibacillus laterosporus</i> MTCC 2298	Colorantes sulfónicos, azoicos, reactivos y dispersos	20 ml of pre-crecimiento <i>B. laterosporus</i> cultivo y 2 g de biomasa de <i>G. geotrichum</i> , 80 ml de efluente.	DBO and DQO eliminación en un 68% y 74%, respectivamente, en 48 h.	Consortio crecimiento produce biomasa y enzimas	[14]
<i>Galactomyces geotrichum</i> MTCC 1360/ <i>Brevibacillus laterosporus</i> MTCC 2298	Escarlata RR	Cultura del consorcio añadida con 50 mg l ⁻¹ de colorante	Reducción del color en un 98% en 16 h.	Aumento de la producción de veratril alcohol oxidasa, tirosinasa, lacasa y NADH-DCIP	[14]
<i>Citrobacter freundii</i> A1, <i>Enterococcus casseliflavus</i> C1, and <i>Enterobacter cloacae</i> L17 (bacteria/bacteria/bacteria)	Rojo ácido 27	Cultura del consorcio añadida con 0,1 gl ⁻¹ de colorante a 45 ° C para decolorar y 37 ° C, 200 rpm, para degradarse.	100% de eliminación: decoloración / degradación: 20 min / 48 h.	Microorganismos del consorcio	[34]
<i>Galactomyces geotrichum</i> MTCC 1360/ <i>Bacillus</i> sp. VUS	Café 3REL, G azul brillante, azul marino, marrón amarillo y rojo de Remazol, 50 mg l ⁻¹ cada uno.	Culturas estáticas en 50 ° C, pH = 7.	100% de decoloración en 24, 9 y 8 h para azul brillante G, azul marino, y café 3REL, respectivamente.	Consortio de enzimas producidas por crecimiento	[14]
	Café 3REL	Culturas en 150 rpm, 50 °C, pH = 7.	100% de decoloración en 2 d.	Lignina peroxidasa, tirosinasa y riboflavina reductasa	

Es interesante resaltar que la capacidad de los organismos para producir enzimas decolorantes en condiciones aeróbicas o anaeróbicas cambia cuando se forma el consorcio [81]. En este sentido, un estudio reportó que *Pseudomonas* sp. SUK1 decolora el compuesto rojo BLI [82] y al colorante RNB HE2R en consorcio con *Aspergillus ochraceus* NCIM-1146 bajo condiciones anaeróbicas [83]. Sin embargo, en consorcio de *A. ochraceus* NCIM-1146 con *Pseudomonas* sp. SUK1 fue capaz de degradar el colorante Rubine GFL de un efluente textil en un sistema aeróbico [7].

En los consorcios cada microorganismo puede adaptar su metabolismo para cumplir con el objetivo principal del consorcio. En el sistema biológico formado con *Escherichia coli* DH5 α y *Pseudomonas luteola*, la decoloración de rojo ácido 22 se debió a las enzimas producidas por *P. luteola*, mientras que el papel de *E. coli* DH5 α fue liberar metabolitos extracelulares que actuaban como mediadores. Dado que los organismos están bajo estrés en presencia de contaminantes, ambos producen metabolitos secundarios para desintoxicar su medio ambiente y promover su supervivencia [80].

Es bien sabido que los productos de la degradación del colorante pueden ser tóxicos y por lo tanto requieren ser tratados hasta convertirse en compuestos inocuos [84]. Cabe señalar que después de la degradación de ácido rojo 27 por *T. versicolor*, el análisis FTIR mostró la desaparición de las señales del grupo azo del colorante, mientras que los picos relacionados con compuestos tales como naftaleno y anillos de benceno sustituidos aparecieron [32]. Las aminas aromáticas resultantes de la descomposición de los colorantes azoicos sulfonados son más difíciles de degradar debido a la naturaleza hidrófila de los grupos sulfonato, que dificultan su transporte a través de la membrana celular [85]. Los informes en la literatura sobre consorcios diseñados para la eliminación de derivados de decoloración son escasos.

Por otro lado, algunos reportes describen la degradación de compuestos aromáticos por monocultivos. Por ejemplo, las eubacterias anaeróbicas halófilas prevalentes *Haloanaerobium* DMS 2228 y *Sporohalobacter marismortui* ATCC 35420 degradan compuestos aromáticos nitro-sustituidos a las aminas correspondientes, como nitrobenzeno, o-nitrofenol, m-nitrofenol, p-nitrofenol, nitroanilinas, 2, 4-dinitrofenol y 2,4-dinitroanilina [86]. Análogamente, *Pseudomonas putida* B2 degrada el o-nitrofenol y el m-nitrofenol con la posterior liberación de nitrito y amonio, respectivamente. La cepa de *P. putida* B2 emplea una vía oxidativa para degradar el o-nitrofenol y una vía reductiva para el m-nitrofenol [87]. Por consiguiente, la inclusión de cepas que producen enzimas decolorantes y bacterias capaces de degradar compuestos aromáticos debe considerarse en el diseño de nuevos consorcios.

V. CONCLUSIONES

A causa de las limitaciones que presentan los mediadores químicos y naturales en la producción de lacasas, hay una tendencia por reemplazarlos por los cultivos en consorcio, como inductores biológicos, puesto que esta clase de sistemas proporcionan mejoras en la productividad y la formación de nuevas isoformas de lacasas, estas últimas son objeto de estudio para nuevas aplicaciones. El aumento del rendimiento de lacasas en cultivos con consorcios está relacionado con cambios morfológicos y alteraciones en los patrones de crecimiento de sus miembros, una competencia por el sustrato y la generación de metabolitos secundarios que estimulan el crecimiento de los hongos productores. Además, los consorcios mejoran la eliminación de colorantes de las aguas residuales mediante la producción de enzimas que actúan sinérgicamente. El crecimiento en consorcios permite una adaptación metabólica que cambia los patrones de producción enzimática, promoviendo diferentes formas de degradación del colorante. La mayoría de los reportes considerados en esta revisión discute el uso de consorcios sin un análisis previo para la formación del mismo, de tal manera que las evidencias mostraron que hubo consorcios que no mejoraron el bioproceso aquí discutido. Es necesario un enfoque en el diseño de consorcios para el tratamiento de aguas residuales que considere las propiedades degradativas de los microorganismos en monocultivo, la adaptación de sus rutas metabólicas, la reutilización de los metabolitos producidos durante la degradación de un colorante y la factibilidad para crecer compartiendo espacio y recursos nutrimentales. Una posibilidad en el diseño debería tomar en cuenta a los hongos como productores de enzimas decolorantes y a las bacterias como degradadores de los compuestos derivados de decoloración. Por lo tanto, el diseño del consorcio podría mejorar las tecnologías disponibles para el tratamiento de efluentes textiles.

REFERENCIAS

- [1] T. Cattoor, "European legislation relating to textile dyeing. In T. Institute, In Environmental aspects of textile dyeing," Centexbel Belgium: R. Christie, 2007, pp. 1-29.
- [2] H. Boyter, "Environmental legislation USA. In I. o. Textile, In Environmental aspects of textile dyeing," edited by the USA: R. Christie, 2007, pp. 30-43.
- [3] R. Khandare, A. Kabra, D. Tamboli, and S. Govindwar, "The role of *Aster amellus* Linn. in the degradation of sulfonated azo dye Remazol Red: A phytoremediation strategy," *Chemosphere*, vol.82, 2011, pp.1147-1154.
- [4] A. N. Kulkarni, A. A. Kadam, M. S. Kachole, and S. P. Govindwar, "*Lichen perlata*: A novel system for biodegradation and detoxification of disperse dye Solvent Red 24," *J. Hazard. Mater*, vol. 276, 2014, pp.461-468.
- [5] N. Daneshvar, M. Ayazloo, A. R. Khataee, and M. Pourhassan, "Biological decolorization of dye solution containing Malachite Green by microalgae *Cosmarium sp.*," *Bioresour. Technol*, vol.98, 2007, pp.1176-1182.
- [6] S. K. Garg, M. Tripathi, S. K. Singh, and J. Tiwari, "Bio Decolorization of textile dye effluent by *Pseudomonas putida* SKG-1 (MTCC 10510) under the conditions optimized for monoazo dye orange II color removal in a simulated minimal salt medium," *Int. Biodeterior. Biodegrad*, vol.74, 2012, pp.24-35.
- [7] H. S. Lade, T. R. Waghmode, A. A. Kadam, and S. P. Govindwar, "Enhanced biodegradation and detoxification of disperse azo dye Rubine GFL and textile industry by a defined fungal-bacterial consortium," *Int. Biodeterior. Biodegrad*, vol.72, 2012, pp.94-107.
- [8] A. Pandey, P. Singh, and L. Iyengar, "Bacterial decolorization and degradation of azo dyes," *Int. Biodeterior. Biodegrad*, vol.59, 2007, pp.73-84.
- [9] A. N. Kabra, R. V. Khandare, and S. P. Govindwar, "Development of a bioreactor for remediation of textile effluent and dye mixture: A plant-bacterial synergistic strategy," *Water Res.*, vol.47, 2013, pp.1035-1048.
- [10] T. Manavalan, A. Manavalan, K. P. Thangavelu, and K. Heese, "Characterization of optimized production, purification, and application of laccase from *Ganoderma Lucidum*," *Biochem. Eng. J.*, vol.70, 2013, pp.106-114.
- [11] J. Mann, J. L. Markham, P. Peiris, R. N. Spooner-Hart, P. Holford, and N. G. Nair, "Use of olive mill wastewater as a suitable substrate for the production of laccase by *Cerrena consors*," *Int. Biodeterior. Biodegrad*, vol.99, 2015, pp.138-145.
- [12] P. Baldrian, "An increase of laccase activity during an interspecific interaction of white-rot fungi," *FEMS Microbiol. Ecol.*, vol.50, 2004, pp.245-253.
- [13] C. M. Rivera-Hoyos, E. D. Morales-Álvarez, R. A. Poutou-Pinales, and A. M. Pedroza-Rodríguez, R. Rodríguez-Vázquez, and J. M. Delgado-Boada, "Fungal laccases," *Fungal Biol. Rev.*, vol.27, 2013, pp.67-82.
- [14] M. B. Kurade, T. R. Waghmode, A. N. Kagalkar, and S. P. Govindwar, "Decoloration of textile industry effluent containing disperse dye Scarlet RR by a newly developed bacterial-yeast consortium BL-GG," *Chem. Eng. J.*, vol.184, 2012, pp.33-41.
- [15] S. U. Jadhav, U. U. Jadhav, V. V. Dawkar, and S. P. Govindwar, "Biodegradation of Disperse Dye Brown 3REL by Microbial Consortium of *Galactomyces geotrichum* MTCC 1360 and *Bacillus sp.*," *VUS. Biotech. Bioprocess Eng.*, vol.13, 2008, pp.232-239.
- [16] F. Kuhar, V. Castiglia, and . Levin, "Enhancement of laccase production and malachite green decolorization by co-culturing *Ganoderma Lucidum* and *Trametes versicolor* in solid-state fermentation," *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, vol.104, 2015, pp.238-243.

- [17] C. O'Neill, F. R. Hawkes, D. L. Hawkes, N. D. Lourenco, H. M. Pinheiro, and W. Delée, "Colour in textile effluents-sources, measurements, discharge consents, and simulation: a review," *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, vol.74, 1999, pp.1009-1018.
- [18] L.Ayed, E. Khelifi, J. H. Ben, H. Miladi, A. Cheref, and S. Achour, "Response surface methodology for decolorization of azo Methyl Orange by the bacterial consortium: Produced enzymes and metabolites characterization," *Chem. Eng. J.*, vol.165, 2010, pp.200-208.
- [19] C. D. Nadell, K. R. Foster, and J. B. Xavier, "The emergence of spatial structure in cell groups and the evolution of cooperation," *PLOS Computational Biology*, vol.6(3), 2010, e1000716. doi:10.1371/journal.pcbi.1000716.
- [20] T. Robinson, G. McMullan, R. Marchant, and P. Nigam, "Remediation of dyes in textile effluent: a critical review of current treatment technologies with a proposed alternative," *Bioresour. Technol.*, vol.77, 2001, pp.247-255.
- [21] I. I. Savin, and R. Butnaru, "Wastewater characteristics in textile finishing mills," *Environ. Eng.Manag. J.*, vol.6, 2008, pp.278-285.
- [22] M. Bayramoglu, M. Kobya, O. T. Can, and M. Sozbir, "Operating cost of electrocoagulation of textile dye wastewater," *Sep. Purif. Technol.*, vol.37, 2004, pp.117-125.
- [23] H. B. Mansour, D. Corroler, D. Barillier, and K. Ghedia, "Evaluation of genotoxicity and pro-oxidant effect of azo dyes: Acids yellow 17, violet y and orange 52, and of their degradation products by *Pseudomonas putida* mt-2," *Food Chem. Toxicol.*, vol.47, 2007, pp.1670-1677.
- [24] S. P. Slokar, and M. L. Marechal, "Methods of Decoloration of Textile Wastewaters" *Dyes Pigments*, vol. 37(4), 1998, pp.335-356.
- [25] Y. Q. Wang, H. M. Zhang, and B. P. Tang, "The interaction of C.I. acid red 27 with human hemoglobin in solution," *J. Photochem. Photobiol., B*, vol.100, 2010, pp.76-83.
- [26] G. R. Bidhendi, A. Torabian, H. Ehsani, and N. Razmkhah, "Evaluation of industrial dyeing wastewater treatment with coagulants and polyelectrolyte as a coagulant aid," *Iran. J. Environ. Health. Sci. Eng.*, vol. 4(1), 2006, pp.29-36.
- [27] E. Forgacs, T. Cserháti, and G. Oras, "Removal of synthetic dyes from wastewaters: a review," *Environ. Int.*, vol.30, 2004, pp.953-971.
- [28] I. Arslan-Alaton, and I. Alaton, "Degradation of xenobiotics originating from the textile preparation, dyeing, and finishing industry using ozonation and advanced oxidation," *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, vol.68, 2006, pp.98-107.
- [29] E. J. Almeida, and C. R. Corso, "Comparative study of toxicity of azo dye Procion Red MX-5B following biosorption and biodegradation treatments with the fungi *Aspergillus niger* and *Aspergillus terreus*," *Chemosphere*, vol.112, 2014, pp.317-322.
- [30] M. Solís, A. Solís, P. H. Inés, N. Manjarrez, and M. Flores, "Microbial decolourization of azo dyes: A review," *Process Biochem.*, vol.47, 2012, pp.1723-1748.
- [31] A. E. Delgadillo-López, C. A. González-Ramírez, F. Prieto-García, J. R. Villagómez-Ibarra, and O. Acevedo-Saldoval, "Phytoremediation: an alternative to eliminate pollution," *Trop. Subtrop. Agroecosyst.*, vol.14, 2011, pp.597-612.
- [32] A. R. Khataee, G. Dehghan, A. Ebadi, M. Zarei, and M. Pourhassan, "Biological treatment of a dye solution by Macroalgae *Chara sp.*: Effect of operational parameters, intermediates identification and artificial neural network modeling," *Bioresour.Technol.*, 2010, pp.2252-2258.
- [33] M. Gavril, and P. V. Hodson, "Chemical evidence for mechanism of biodecoloration of Amaranth by *Trametes versicolor*," *World J. Microbiol. Biotechnol.*, vol.23, 2007, pp.103-124.
- [34] M. Gavril, and P. V. Hodson, "Chemical evidence for mechanism of biodecoloration of Amaranth by *Trametes versicolor*," *World J Microbiol Biotechnol.*, vol.23, 2007, pp.103-124.

- [35] G. F. Chan, N. A. Rashid, L. S. Chua, N. Abllah, R. Nasiri, and M. R. Ikubar, "Communal microaerophilic-aerobic biodegradation of amaranth by novel NAR-2 bacterial consortium," *Bioresour. Technol.*, vol.105, 2012, pp.48-59.
- [36] S. Ghrosh, R. Chowdhury, and P. Bhattacharya, "Mixed consortia in bioprocesses: role of microbial interactions," *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2016, DOI 10.1007/s00253-016-7448-1.
- [37] D. Cui, G. Li, D. Zhao, X. Gu, C. Wang, and M. Zhao, "Microbial community structures in mixed bacterial consortia for azo dye treatment under aerobic and anaerobic conditions," *J. Hazard. Mater.*, 2012, (221-222), pp.185-192.
- [38] R. L. Singh, P. K. Singh, and R. P. Singh, "Enzymatic decolorization and dedradation of azo dyes- A review," *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, vol.104, 2015, pp. 21-31.
- [39] J. Liu, Y. Cai, X. Lioa, Q. Huang, Z. Hao, and M. Hu, "Efficiency of laccase production in 65-L air-lift reactor for potential green industrial and environmental application," *J. Clean Prod.*, vol. 39, 2013, pp. 154-160.
- [40] S. Afreen, R. Anwer, R.K. Singh, and T. Fatma, "Extracellular laccase production and its optimization from *Arthrospira maxima* catalyzed decolorization of synthetic dyes," *Saudi J. Biol. Sci.*, 2016, <http://dx.doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.01.015>.
- [41] G. Diamantidis, A. Effosse, P. Potier, and R. Bally, "Purification and characterization of the first bacterial laccase in the rhizospheric bacterium *Azospirillum lipoferum*," *Soil Biol. Biochem.*, vol. 32, 2000, pp. 919-927.
- [42] M. Asgher, H. N. Bhatti, M. Ashraf, and R. L. Legge, "Recent developments in biodegradation of industrial pollutants by white rot fungi and their enzyme system," *Biodegradation*, vol. 19, 2008, pp.771-783.
- [43] X. Font, G. Caminal, X. Gabarrelí, and T. Vicent, "Treatment of toxic industrial wastewater in fluidized and fixed-bed batch reactors with *Trametes versicolor*: influence of immobilisation. *Environ. Technol.*, 2006, pp. 845-854.
- [44] B. Bertrand, F. Martínez-Morales, R. Tinoco-Valencia, S. Rojas, L. Acosta-Urdapilleta, and M. R. Trejo-Hernández, "Biochemical and molecular characterization of laccase isoforms produced by the white-rot fungus *Trametes versicolor* under submerged culture conditions," *J. Mol. Catal. B: Enzym.*, vol. 122, 2015, pp. 339-347.
- [45] U. N. Dwivedi, P. Singh, V. P. Pandey, and A. Kumar, "Structure-function relationship among bacterial, fungal and plant laccases," *J. Mol. Catal. B: Enzym.*, 2011, pp. 117-128.
- [46] L. I. Ramírez-Cavazos, C. Junghanns, R. Nair, D. L. Cárdenas-Chávez, and C. Hernández-Luna, and S. N. Agathos, "Enhanced production of thermostable laccase from a native strain of *Pycnoporus sanguineus* using central composite design," *J Zhejiang Univ-Sci B. Biomed. and Biotechnol.*, vol. 15(4), 2014, pp. 343-352.
- [47] G. Songulashuili, S. Flahaut, M. Demarez, C. Tricot, C. Bauvoris, and F. Debaste, "High yield production in seven days of *Coriolopsis gallica* 1184 laccase at 50 L scale; enzyme purification and molecular characterization," *Fungal Biol.*, vol. 102, 2016, pp. 481-488.
- [48] M. Frascioni, G. Favero, H. Boer, A. Koivula, and F. Mazzei, "Kinetic and biochemical properties of high and low redox potential laccases from fungal and plant origin," *Biochim. Biophys., Acta* 1804, 2010, pp. 899-908.
- [49] P. Baldrian, "Fungal laccases-occurrence and properties" *FEMS Microbiol. Rev.*, vol. 30, 2005, pp. 215-242.
- [50] R. Bourbonnais, and M. G. Paice, "Oxidation of non-phenolic substrates," *FEMS*, vol. 267(1), 1990, pp. 99-102.
- [51] C. Zhu, G. Bao, and S. Huang, "Optimization of laccase production in the white-rot fungus *Pleurotus ostreatus* (ACCC52857) induced through yeast extract and copper," *Biotechnol. Biotechnol. Equip.*, vol. 30(2), 2016, pp. 270-276.

- [52] F. Wang, G. Chen, and C. Z. Liu, "Immobilization of *Trametes versicolor* cultures for improving laccase production in bubble column reactor intensified by sonication," *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 40, 2013, pp. 141-150.
- [53] H. Zhang, Y. Z. Hong, Y. Z. Xiao, J. Yuan, X. M. Tu, and X. Q. Zhang, "Efficient production of laccases by *Trametes sp.* AH28-2 in cocultivation with a *Trichoderma* strain," *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2006, pp. 89-94.
- [54] H. Wang, L. Peng, Z. Ding, J. Wu, and G. Shi, "Stimulated laccase production of *Pleurotus feulae* JM301 fungus by *Rhodotorula mucilaginosa* yeast in co-culture," *Process Biochem.*, (50), 2015, pp.901-905.
- [55] R. Castanera, G. Pérez, A. Omarini, M. Alfaro, A. G. Pisabarro, and V. Faraco, "Transcriptional and enzymatic profiling of *Pleurotus ostreatus* laccase gene in submerged and solid-state fermentation cultures," *Appl Environ. Microbiol.*, vol. 78(11), 2012, pp. 4037-4045.
- [56] Y. Liu, S. Ma, X. Wang, W. Xu, and J. Tang, "*Cryptococcus albidus* encephalitis in newly diagnosed HIV-patient and literature review," *Med. Mycol. Case Rep.*, vol. 3, 2014, pp.8-10.
- [57] D. Daâssi, L. Belbahri, A. Vallat, S. Woodward, M. Nasri, and T. Mechichi, "Enhanced reduction of phenol content and toxicity in olive mill wastewater by newly isolated strain of *Corioliopsis gallica*," *Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 21, 2014, pp. 1746-1758.
- [58] A. Lomascolo, E. Uzan-Boukhris, I. Herpoel-Gimbert, J.-C. Sigoillot, and L. Lesage-Meessen, "Peculiarities of *Pycnoporus* species for applications in biotechnology," *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 92, 2011, pp.1129-1149.
- [59] M. Trovaslet, E. Enaud, Y. Guiavarc'h, A.-M. Corbisier, and S. Vanhulle, "Potential of a *Pycnoporus sanguineus* laccase in bioremediation of a wastewater and kinetic activation in the presence of an anthraquinonic acid dye," *Enzyme Microb. Technol.*, vol. 41, 2007, pp. 368-376.
- [60] M. Rodríguez-Delgado, C. Orona-Navar, R. García-Morales, C. Hernandez-Luna, R. Parra, and J. Manlknecht, "Biotransformation kinetics of pharmaceutical and industrial micropollutants in groundwater by laccase cocktail from *Pycnoporus sanguineus* CS43 fungi," *Int. Biodeter. Biodegrad.*, vol. 108, 2016, pp. 34-41.
- [61] Y.-C. Dong, W. Wang, Z.-C. Hu, M.-L. Fu, and Q.-H. Chen, "The synergistic effect on production of lignin-modifying enzymes through submerged co-cultivation of *Phlebia radiata*, *Dichomitus squalens* and *Ceriporiopsis subvermispora* using agricultural residues," *Bioprocess Biosyst. Eng.*, vol. 35, 2012, pp. 751-760.
- [62] J. D. Castaño, C. Cruz, and E. Torres, "Optimization of the production, purification and characterization of a laccase from the native fungus *Xylaria sp.*," *Biocatal. Agric. Biotechnol.*, vol. 4, 2015, pp. 710-716.
- [63] W. Hailei, Y. Guangli, L. Ping, G. Yanchang, L. Jun, and L. Guosheng, "Overproduction of *Trametes versicolor* laccase by making glucose starvation using yeast," *Enzyme Microb. Technol.*, vol. 45, 2009, pp. 146-149.
- [64] M. Jaszek, K. Grzywnowicz, E. Malarczyk, and A. Leonowicz, "Enhanced extracellular laccase activity as a part of the response system of white rot fungi: *Trametes versicolor* and *Abortiporus biennis* to paraquat-caused oxidative stress condition," *Pestic. Biochem. Physiol.*, vol. 85, 2006, pp. 147-154.
- [65] V. Elisashvili, E. Kachlishvili, T. Khardziani, and S. N. Agathos, "Effect of aromatic compounds on the production of laccase and manganese peroxidase by white-rot *basidiomycetes*," *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 37, 2010, pp. 1091-1096.
- [66] S. Romero, P. Blánquez, G. Caminal, X. Font, M. Sarrá, and X. Gabarrell, "Different approaches to improving the textile dye degradation capacity of *Trametes versicolor*," *Biochem. Eng. J.*, vol. 31, 2006, pp. 42-47.
- [67] M. Lorenzo, D. Moldes, S. R. Couto, and A. Sanromán, "Improving laccase production by employing different lignocellulosic waste in submerged cultures of *Trametes versicolor*," *Bioresour. Technol.*, vol. 82, 2002, pp. 109-113.

- [68] J. D. Crowe, and S. Olsson, "Induction of laccase activity in *Rhizoctonia solani* by Antagonistic *Pseudomonas fluorescens* Strains and a Range of Chemical Treatments," *Am. Soc. Microbiol*, Vol. 67(5), 2001, pp. 2088-2094.
- [69] M. Carabajal, L. Levin, E. Albertó, and B. Lechner, "Effect of co-cultivation of two *Pleurotus* species on lignocellulolytic enzyme production and mushroom fructification," *Int. Biodeter. Biodegrad*, vol. 66, 2012, pp. 71-76.
- [70] A. Singhal, G. Choudhary, and I. S. Thakur, "Characterization of laccase activity produced by *Cryptococcus albidus*," *Prep. Biochem. Biotechnol*, vol. 42, 2012, pp. 113-124.
- [71] A. Singhal, G. Choudhary, and I. S. Thakur, "Optimization of growth media for enhanced production of laccase by *Cryptococcus albidus* and its application for bioremediation of chemicals," *Can. J. Civ. Eng*, vol. 36, 2009, pp. 1253-1264.
- [72] P. Blázquez, N. Casas, X. Font, X. Gabarrell, M. Sarrá, and G. Caminal, "Mechanism of textile metal dye biotransformation by *Trametes versicolor*," *Water Res*, vol. 38, 2004, pp. 2166-2172.
- [73] Y.-C. Toh, J. Yen, J. P. Obbard, and Y.-P. Ting, "Decoloration of azo dyes by white rot fungi (WRF) isolated in Singapore," *Enzym. Microb. Technol*, (30), 2003, pp. 569-575.
- [74] S. R. Couto, and M. Á. Sanromán, "The effect of violuric acid on the decolourization of recalcitrant dyes by laccase from *Trametes hirsuta*," *Dyes Pigm*, vol. 74, 2007.
- [75] J. Yan, Y. Chen, J. Niu, D. Chen, and I. Chagan, "Laccase produced by thermotolerant strain of *Trametes trogii* LK13," *Braz. J. Microbiol*, vol. 46(1), 2015, pp. 59-65.
- [76] J. Margot, C. Bennati-Granier, J. P. Maillard, D. A. Barry, and C. Holliger, "Bacterias versus fungal laccase: potential for micropollutant degradation," *AMB Express*, vol. 3, 2013, pp. 1-14.
- [77] D. Schlosser, R. Grey, and W. Fritsche, "Patterns of ligninolytic enzymes in *Trametes versicolor* distribution of extra and intracellular enzymes activities during cultivation on glucose, wheat straw and beech wood," *Appl. Microbiol. Biotechnol*, vol. 47, 1997, pp. 412-418.
- [78] A. I. Cañas, and S. Camarero, "Laccases and their natural mediators: Biotechnological tools for sustainable eco-friendly processes," *Biotechnol. Adv*, vol. 28, 2010, pp. 694-705.
- [79] C. Valls, J. F. Colom, C. Baffert, I. Gimbert, M. B. Roncero, and J.-C. Sigoillot, "Comparing the efficiency of the laccase-NHA and laccase-HBT system in eucalyptus pulp bleaching," *Biochem. Eng. J*, vol. 49, 2010, pp. 401-407.
- [80] S. S. Weng, K.-L. Ku, and H.-T. Lai, "The implication of mediators for enhancement of laccase oxidation of sulfonamide antibiotics," *Bioresour. Technol*, vol. 113, 2012, pp. 259-164.
- [81] B.-Y. Chen, S.-Y. Chen, M.-Y. Lin, and J.-S. Chang, "Exploring bioaugmentation strategies for azo-dye decolorization using mixed consortium of *Pseudomonas luteola* and *Escherichia coli*," *Process Biochem.*, 2006, pp. 1574-1581.
- [82] D. C. Kalyani, P.S. Patil, J. P. Jadhav, and S.P. Govindwar, "Biodegradation of reactive textile dye Red BLI by an isolated bacterium *Pseudomonas sp.* SUK1," *Bioresour Technol*, vol. 99, 2007, pp. 4635-4641.
- [83] A. A. Kadam, A. A. Telke, S. S. Jagtap, and S. P. Govindwar, "Decolorization of adsorbed textile dyes by developed consortium of *Pseudomonas sp.* SUK1 and *Aspergillus ochraceus* NCIM-1146 under solid state fermentation," *J. Hazard. Mat*, vol. 189, 2011, pp. 486-494.
- [84] S. S. Phugare, D. C. Kalyani, S. N. Surwase, and J. P. Jadhav, "Ecofriendly degradation, decolorization and detoxification of textile effluent by a developed bacterial consortium," *Ecotoxicol. Environ. Saf*, vol. 74, 2011, pp. 1288-1296.
- [85] P. Barsing, A. Tiwari, T. Joshi, and S. Garg, "Application of a novel bacterial consortium for mineralization of sulphonated aromatic amines," *Bioresour. Technol*, vol. 102, 2011, pp. 765-771.
- [86] A. Oren, P. Gurevich, and Y. Henis, "Reduction of nitrosubstituted aromatic compounds by the halophilic anaerobic eubacteria *Haloanaerobium praevalens* and *Sporohalobacter marismortui*," *Appl. Environ. Microbiol*, vol. 57(11), 1991, pp. 3367-3370.

- [87] J. Zeyer, H. P. Kocher, and K. N. Timmis, "Influence of para-Substituents on the Oxidative Metabolism of O-Nitrophenols by *Pseudomonas putida* B2," *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 52(2), 1986, pp. 334-339.