

CRECIMIENTO DE *Paecilomyces lilacinus* CON N-HEXADECANO Y DETERMINACIÓN DE SU HIDROFOBINA PLHYD.

Gabriel Vigueras¹, Keiko Shirai¹, Marcia Morales², Sergio Revah²

¹Biotecnología, UAM-I Av. San Rafael Atlixco No.186, 09340 México D.F., México.

²Procesos y Tecnología, UAM-C, c/o IPH, UAM-I, srevah@xanum.uam.mx

Palabras clave: Paecilomyces lilacinus, n-hexadecano, hidrofobinas

Introducción. *Paecilomyces lilacinus* es utilizado para el biocontrol de nematodos, la infección del huésped inicia con la adhesión, proceso donde están implicadas las hidrofobinas, pequeñas proteínas anfipáticas (~100 amino ácidos). La actividad superficial de estas proteínas es de interés para aplicaciones biotecnológicas tal como la inmovilización de biosensores en superficies sólidas y como surfactante en sistemas líquidos de dos fases [1]. Por degradación enzimática el hongo penetra la cutícula, la cual contiene ceras, entre ellas hexadecano. De ahí resulta importante investigar el crecimiento de *P. lilacinus* con este hidrocarburo y determinar la presencia de su hidrofobina PLHYD en medio sólido y líquido.

Metodología. *P. lilacinus* fue cultivado en medio líquido y sólido (sobre perlita) con medio mineral y n-hexadecano (36.5 g L⁻¹) emulsionado con 0.1% de Tween 80, inoculando con 2x10⁷ esporas mL⁻¹. La producción de CO₂ se midió por cromatografía de gases y ajustando los datos al modelo de Gompertz se obtuvo la velocidad máxima (V_{max}) como medida indirecta del crecimiento. Del micelio producido en los cultivos se extrajeron y purificaron las hidrofobinas. La proteína se determinó por Bradford. Las muestras fueron analizadas por SDS-PAGE y HPLC-SEC. La actividad superficial de la hidrofobina fue evaluada sobre una superficie hidrofóbica de politetrafluoroetileno (Teflón).

Resultados y discusión. *P. lilacinus* fue capaz de utilizar el hidrocarburo alifático n-hexadecano para crecer. La figura 1 muestra la cinética de producción de CO₂, la V_{max} determinada en medio líquido (1.16 g m⁻³ h⁻¹) fue dos veces mayor que la obtenida en medio sólido (0.57 g m⁻³ h⁻¹). Existen reportes sobre degradación de hidrocarburos aromáticos con este hongo lo cual muestra su diversidad metabólica. En la muestra obtenida del micelio producido en medio sólido (figura 2) se encontró una proteína de 10 kDa que corresponde al peso molecular de la hidrofobina PLHYD, identificada previamente en un biofiltro fase-gas alimentado con tolueno e inoculado con esta cepa [2]. La prueba de actividad superficial mostró que esta proteína es capaz de modificar la hidrofobicidad del Teflón al disminuir el ángulo de contacto de 130.1 (±2)° a 60.0 (±5)° soportando lavados con SDS caliente. En el micelio producido en medio líquido no se encontró la PLHYD lo cual sugiere que se encuentra en muy baja concentración o el hongo no la produce bajo esta condición.

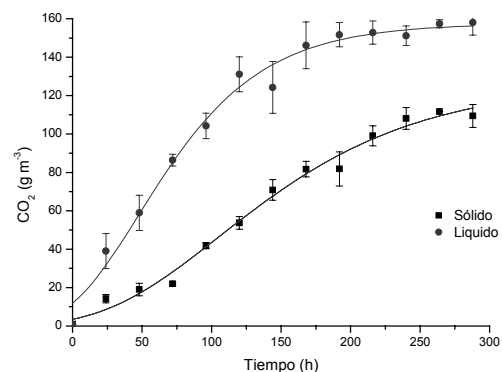


Fig. 1. Cinética de CO₂ producido por *P. lilacinus* al crecer con n-hexadecano en medio líquido y sólido

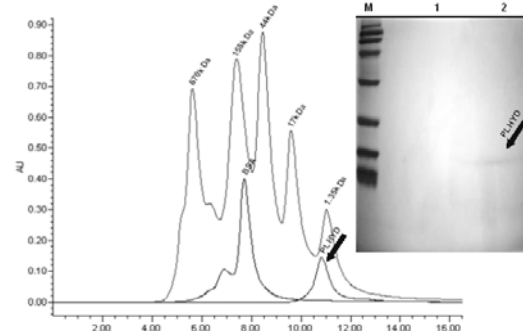


Fig. 2. Análisis de proteínas por HPLC-SEC y SDS-PAGE. Línea M estándar. Línea 1 medio líquido. Línea 2 medio sólido.

Conclusiones. *P. lilacinus* fue capaz de utilizar n-hexadecano como única fuente de carbono. El crecimiento del hongo fue mayor en medio líquido sin embargo la hidrofobina PLHYD de clase I solo se encontró en medio sólido, sugiriendo que esta proteína se induce con el crecimiento aéreo del hongo.

Agradecimiento. A CONACYT por el financiamiento otorgado (No. 46173) y por la beca de doctorado otorgada a Gabriel Vigueras.

Bibliografía. 1. Wösten H (2001) Hydrophobins: multipurpose proteins. *Annu Rev Microbiol* 55:625–646
2. G. Vigueras, K. Shirai, D. Martins, T. Franco, L. Fleuri and S. Revah. (2008). Toluene gas phase biofiltration by *Paecilomyces lilacinus* and isolation and identification of a hydrophobin protein produced thereof. *Appl Microbiol Biotechnol.* 80: 147-154.