



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



CRECIMIENTO Y ACTIVIDAD QUITINOLITICA *Lecanicillium lecanii* EN MEDIO DE CULTIVO ADICIONADO CON QUITINA Y N-HEXADECANO.

Gabriel Vigueras, Keiko Shirai, Zaizy Rocha-Pino Sergio Revah,

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

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

Palabras clave: *Lecanicillium lecanii*, n-hexadecano, quitina, quitinasas

Introducción.

El hongo entomopatógeno *Lecanicillium lecanii* ha sido utilizado para el control biológico de insectos del orden Coleoptera, pulgones, cigarras, cochinillas y mosca blanca. Por degradación enzimática el hongo penetra la cutícula del huésped, la cual contiene ceras, entre ellas hexadecano [1]. Reportes muestran que las quitinasas de *L. lecanii* pueden ser inducidas por la adición de quitina al medio de cultivo. Por otro lado se ha propuesto la posible recuperación de productos de interés (biosurfactantes, enzimas, esporas entre otros) de procesos de tratamiento de contaminantes [2].

De ahí que este estudio estuvo dirigido a determinar la actividad respiratoria y quitinolítica de *L. Lecanii* cuando crece con quitina coloidal (CCH), n-hexadecano (HXD) y la mezcla de ambos (CCH-HXD), dentro de un cultivo líquido.

Metodología.

Los experimentos se realizaron en cultivo líquido con medio mineral definido con HXD (36.5 g/L) emulsionado con 0.1% de Tween 80, CCH (10g/L), y la mezcla CCH-HXD, inoculados con 2×10^7 esporas/mL. Se prepararon controles con medio mineral. Las botellas se muestrearon cada 24 h, obteniendo los extractos enzimáticos por centrifugación. Las actividades N-acetil hexosaminidasas (NHasa) y endoquitinasas (Endo) se determinaron mediante los métodos reportados por Tronsmo y Harman [3]. 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. Muestras del micelio producido fueron examinadas por microscopía electrónica de barrido.

Resultados.

En la figura 1 se muestra la cinética de actividad quitinasa, donde se observa que la actividad NHasa determinada con la mezcla CCH-HXD (1.9 mU/ml) fue similar a la obtenida con HXD (2.1 mU/ml). Y en la figura 2 se observa que la actividad Endo con la mezcla (4.5 U/ml) fue casi cuatro veces mayor que la obtenida con el hidrocarburo (1.2 U/ml). Sin embargo las más altas actividades de NHasa y Endo, fueron obtenidas utilizando solo CCH como sustrato, 4.6 mU/ml y 5.8 U/ml respectivamente.

La mayor actividad respiratoria fue determinada en el cultivo adicionado con HXD, obteniendo una V_{max} 2.0×10^{-3} mmol CO₂/h. En las microscopías se observó una mayor formación de exopolímero en HXD y CC-HXD.

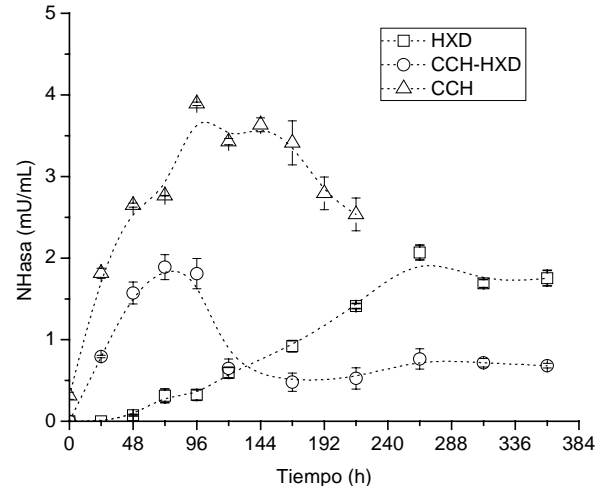


Fig. 1. Actividad NHasa de *L. lecanii* al crecer con HXD, CCH y la mezcla CCH-HXD en medio líquido.

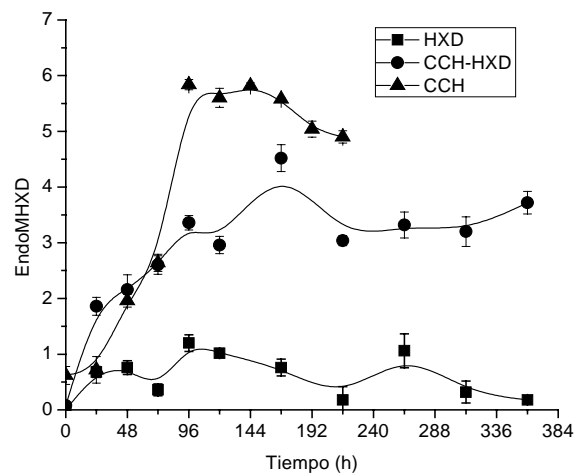


Fig. 2. Actividad Endo de *L. lecanii* al crecer HXD, CCH y la mezcla CCH-HXD en medio líquido.

Conclusiones. Este estudio mostró que *L. lecanii* fue capaz de crecer con CCH o HXD como única fuente de carbono. La quitina coloidal permitió la mayor expresión de enzimas quitinasas lo cual puede ser importante para aplicaciones de biocontrol.

Agradecimiento. Los autores de este estudio agradecen a CONACyT No. 105628 por el financiamiento otorgado.

Bibliografía. [1] Shirai, K. In: Adv Agric Food Biotech, Guevara G. R., Torres P. I. Research SignPost India, 2006:289-304. [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. [3] Tronsmo A. y Harman, G.E. 1993. Anal Biochem 208: 74-79.