

ESTUDIOS BIOQUÍMICOS DE *Mucor circinelloides*, UN HONGO BIODEGRADADOR DE HIDROCARBUROS.

Hortencia Silva Jiménez, Félix Gutiérrez-Corona y Roberto Zazueta-Sandoval. Instituto de Investigación en Biología Experimental, Facultad de Química, Universidad de Guanajuato. Noria Alta s/n. C.P. 36050, Guanajuato, Gto. Tel. (4) 73 2 00 06, ext. 8148. Fax (4) 73 2 00 06. E-mail zazueta@quijote.ugto.mx.

Introducción. Existe escaso conocimiento acerca de los mecanismos metabólicos involucrados en la biodegradación de hidrocarburos en hongos filamentosos, los cuales pueden ser potenciales biorremediadores de sitios contaminados, en base a su capacidad de penetración en suelos (1). *Mucor circinelloides*, es un hongo filamentoso aislado de un suelo contaminado con petróleo, el cual utiliza, entre otros, a los hidrocarburos alifáticos como única fuente de carbono. Nuestro estudio está dirigido a la detección de las monooxigenasas involucradas en la biodegradación de hidrocarburos alifáticos.

Metodología. El microorganismo se aisló de suelo contaminado con petróleo. Se obtuvo biomasa haciéndolo crecer en medio mínimo de sales suplementado con 1% de decano como sustrato, se sometió a rompimiento balístico, se sometió a centrifugación de alta velocidad (40,000rpm) y se obtuvo extracto crudo. A partir de éste se realizaron las detecciones enzimáticas espectrofotométricamente, así como la obtención de proteína total de extractos crudos a diferentes horas (6, 12, 18, 24 y 30 h). Se detectó la actividad de monooxigenasa a través de un zimograma, en un gel de poliacrilamida al 10%, en condiciones nativas, y por inmunodetección heterológica utilizando anticuerpos policlonales contra lipoxigenasa, tanto en condiciones nativas como en condiciones desnaturizantes utilizando la técnica de Western-blot.

Resultados y discusión. La actividad de monooxigenasa manifiesta un máximo a las 22h de incubación en un medio suplementado con decano como una fuente de carbono, con una $\mu = 0.17h^{-1}$ y una $t_g = 4.07h$. Una banda bien definida se pudo detectar en el zimograma, el cual fue revelado con decano como sustrato, lo cual indica la presencia de la monooxigenasa. Se lograron inmunodetectar, en condiciones nativas,

tres bandas. En condiciones desnaturizantes se inmunodetectan cuatro bandas.

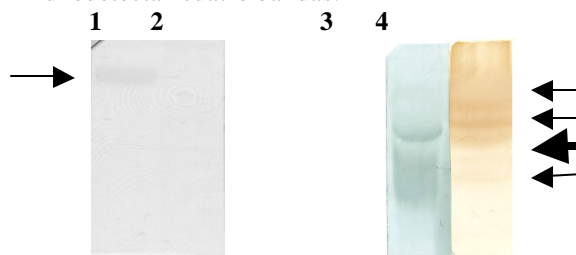


Fig. 1 En el carril 1 y 2 pertenecen al zimograma, en el carril 1 se puede observar la banda de actividad, el carril 2 es el extracto calentado, que sirve como control. El carril 3 y 4 corresponden a la inmunodetección en condiciones desnaturizantes, el carril 3 son marcadores de peso molecular (66, 45 y 29kDa) y el carril 4 son las bandas inmunodetectadas (85, 75, 61 y 37, respectivamente).

Conclusiones. Al menos una de las bandas inmunodetectadas en condiciones nativas corresponde con la banda de actividad antes mencionada y en condiciones desnaturizantes, al menos una de las cuatro bandas detectadas debe corresponder a la monooxigenasa de interés. Al utilizarse anticuerpos policlonales, es posible detectar aquellos antígenos con epítopes similares, de ahí la gran cantidad de bandas detectadas que podrían corresponder a algunas otras oxigenasas distintas a las involucradas en la biodegradación de hidrocarburos.

Agradecimientos. Trabajo con apoyo financiero del I.M.P. FIES-96-F-48-VI.

Bibliografía. Cacciatore, D.A. y McNeil, M.A. 1995. Principles of soil bioremediation. Biocycle. **36:** 61-64.