

PRODUCCIÓN Y ACTIVIDAD DE QUITINASAS E HIDROFOBINAS OBTENIDAS DE CULTIVOS SÓLIDOS Y LÍQUIDOS DE *Lecanicillium lecanii*

ZAIZY ROCHA Y KEIKO SHIRAI

Universidad Autónoma Metropolitana, Dpto. de Biotecnología, Laboratorio de Biopolímeros, México, D.F. C.P. 09340 smk@xanum.uam.mx.

Los hongos entomopatógenos como *Lecanicillium lecanii* excretan proteínas y enzimas como las hidrofobinas (hfb) y quitinasas durante su proceso de patogénesis y factores extrínsecos afectan su producción [1]. Debido a las diversas aplicaciones biotecnológicas de las hfb y quitinasas este trabajo propone analizar el efecto de la fuente de carbono y tipo de cultivo sobre su producción y actividad.

Metodología. *L. lecanii* fue cultivado en medio sólido (SSC), utilizando poliuretano como soporte y líquido (SmC), las fuentes de carbono fueron (g/L): Q- quitina (30); F- fructosa (22); FQ- quitina (10) con fructosa (10) y SAQ- quitina (10) con sacarosa (10), ambos sistemas fueron inoculados con una suspensión de 5×10^7 esporas/g de sustrato e incubados a 25°C por 7 días. Se determinó la actividad quitinolítica del extracto enzimático de 144h en geles SDS-PAGE adicionados con quitooligosacáridos (N-acetilglucosamina (NGIn)_n con n=5,4,2). Las hidrofobinas se extrajeron del micelio obtenido a las 144 h del cultivo con ácido fórmico concentrado y solubilizadas con ácido trifluoroacético (TFA).

Resultados y Discusión. El tipo de cultivo SSC o SmC afectó la producción de quitinasas e hfb. El cultivo SSC incremento 10 veces la producción de hfb, por lo que solo de este cultivo se realizaron las pruebas de actividad superficial de hfb. Las hidrofobinas al ser proteínas anfipáticas pueden cambiar el ángulo de contacto de las superficies (Fig. 1).

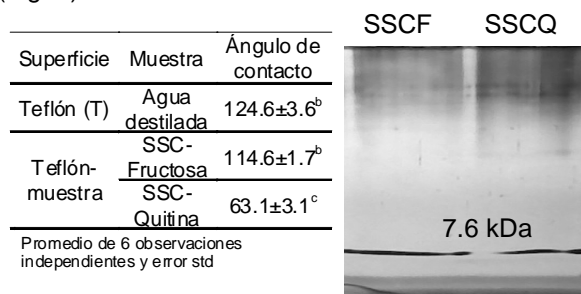


Fig. 1. Actividad superficial y peso molecular (M_w) de hfb de *L. lecanii* en SSC con fructosa y quitina.

La presencia de quitina muestra la producción de más de una hidrofobina (Fig. 1), además de presentar actividad superficial al reducir ca 50% el ángulo de contacto del teflón a diferencia del cultivo con fructosa que no muestra actividad (Fig. 1). El peso molecular de las hfb tanto en presencia de fructosa como de quitina se encuentra dentro de los reportados por otros autores [2].

Asimismo el cultivo SSC incremento el número de bandas con actividad quitinolítica a diferencia del cultivo SmF, esto podría ser debido a que en este tipo de cultivo se favorece la aireación y toma de nutrientes [3]. Los geles de actividad quitinolítica mostraron la presencia de actividad exoquitinasa, quitobiasa y N-acetilhexosaminidasa (Nhasa). La fuente de carbono mostró efectos de represión catabólica principalmente en los cultivos con fructosa como única fuente de carbono, mientras que en el caso del cultivo con sacarosa provocó la disminución del peso molecular de la actividad enzimática presente (Fig. 2).

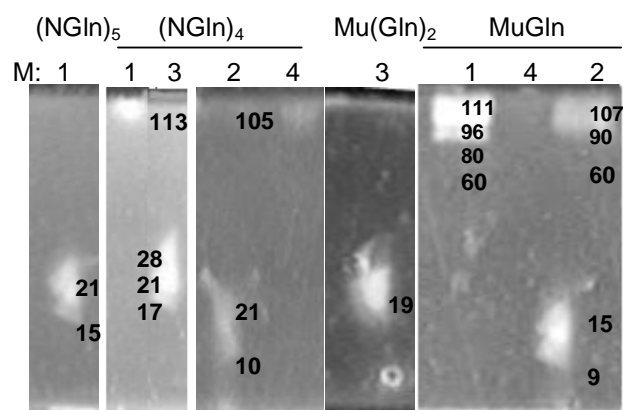


Fig. 2. Actividad quitinolítica en SDS-PAGE de *L. lecanii* con quitooligosacáridos como sustrato; extracto enzimático de 144h: 1)SSCQ, 2)SmCQ, 3)SmCFQ, 4)SmCSAQ

Conclusiones. El cultivo sólido con quitina coloidal favoreció la producción de quitinasas y de hidrofobinas, las cuales mostraron mayor actividad hidrofóbica sobre superficies en comparación de aquellas obtenidas con cultivos con fructosa.

Agradecimientos. Los autores agradecen a CONACyT (No. 105628) por el financiamiento otorgado. Asimismo Zaizy Rocha agradece al CONACyT por la beca otorgada.

Referencias

1. St. Leger RJ, Joshi I and Roberts D, 1998. Appl Environ Microbiol. 64(2): 709.
2. Calonje M., Bernardo D., Novaes-Ledieu M., García M. C., 2002. Can. J. Microbiol. 48: 1030-1034.
3. Marin-Cervantes MC., Matsumoto Y., Ramírez-Coutino L., Rocha-Pino Z., Viniegra G., Shirai K. 2008. Proc Biochem 43 (2008):24-32.