

### DIRECCIONAMIENTO DEL FLUJO DE CARBONO EN *Paecilomyces fumosoroseus* SEGÚN EL MEDIO DE CULTIVO

Javier Bécame V., Elisa Valenzuela V., Ali Asaff T., Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo CIAD A.C., Km 0.6 carretera a la Victoria, CP 8300, Hermosillo Sonora, Fax (662) 2 800381

[fbacame@estudiantes.ciad.mx](mailto:fbacame@estudiantes.ciad.mx)

Palabras clave: hongos entomopatógenos, metabolitos insecticidas, actividades enzimáticas

**Introducción.** *P. fumosoroseus* es un hongo entomopatógeno utilizado exitosamente para el control de mosquitos blancos *Bemisia* spp. Durante su cultivo sumergido produce biomasa compuesta por estructuras levaduriformes, que son sus propágulos infectivos (PI) y micelio, además de ácido dipicolínico (DPA) y ácido oxálico (OXA) como metabolitos mayoritarios; ambos con propiedades insecticidas<sup>1</sup>. Se ha observado que la relación de los principales productos de fermentación puede cambiar drásticamente de acuerdo a la composición, condiciones y sistema de cultivo.

El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de algunos cationes metálicos y el estrés osmótico sobre el direccionamiento del flujo de carbono hacia los principales productos del hongo.

**Metodología.** Se utilizó la cepa Pfrd de *P. fumosoroseus*, cultivada en matraces de 250 mL conteniendo 30 mL de medio, agitados a 150 rpm y mantenidos a 28 °C. Se evaluó el efecto del Fe(II) y Zn según un diseño factorial 2<sup>2</sup>. También se evaluó el efecto del Fe (II) y el estrés osmótico provocado por una alta concentración de polietilén glicol (PEG) (PM 200), aplicando el mismo diseño, en un medio basal, químicamente definido, con glucosa y glutamato como fuentes de carbono y nitrógeno. Para determinar el rendimiento de productos en base molar de carbono se cuantificó la concentración de DPA por un método colorimétrico<sup>2</sup>, OXA mediante un kit enzimático R-Biopharm AG. UV-test 10 755 699 035 Roche y la concentración de glucosa y glutamato mediante un analizador bioquímico YSI 2700 SELECT (Yellow Springs Instrument, Ohio, EEUU). La biomasa se determinó mediante peso seco.

**Resultados y discusión.** En la Fig 1 se observa que bajas concentraciones de Zn promueven rendimientos elevados de DPA y OXA y que disminuyen con la adición de Fe(II). Sin embargo, los rendimientos de biomasa son similares en todos los casos, mostrando que el flujo de carbono es redireccionado hacia la producción de metabolitos, cuando la concentración de los cationes ya no permite el crecimiento celular. Se demostró que el Zn y el Fe(II) son requeridos por enzimas del ciclo de Krebs (isocitrato deshidrogenasa-NADP, fumarasa, succinato deshidrogenasa) y que el Fe(II) favorece la actividad de la isocitrato liasa (ICL), enzima clave del ciclo del glioxilato. La diferencia de rendimientos es producida por

una alternancia entre los ciclos de Krebs y del glioxilato.

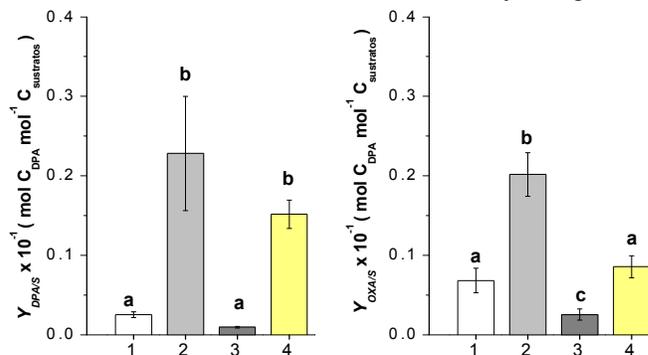


Fig 1. Efecto del Zn y Fe sobre los rendimientos molares de DPA y OXA en relación al consumo total de carbono (glucosa + glutamato). 1) 20  $\mu\text{M}$   $\text{Zn}^{2+}$ ; 2) 0.1  $\mu\text{M}$   $\text{Zn}^{2+}$ ; 3) 20  $\mu\text{M}$   $\text{Zn}^{2+}$  y 72  $\mu\text{M}$   $\text{Fe}^{2+}$ ; 4) 0.1  $\mu\text{M}$   $\text{Zn}^{2+}$  y 72  $\mu\text{M}$   $\text{Fe}^{2+}$ . Barras con la misma letra indican que no hay diferencia significativa según prueba de Tukey-Kramer ( $\alpha=0.05$ ).

En el caso del PEG, a una concentración de 100 mL/L, los rendimientos de biomasa, DPA y OXA fueron 100, 1000 y 700% más bajos respectivamente que los obtenidos en medios sin PEG. Sin embargo, la biomasa en los medios conteniendo PEG estuvo formada mayoritariamente por PI (>60%), mientras que en ausencia de este el principal producto fue micelio ( $\approx 96\%$ ). Se conoce que el estrés osmótico induce la producción de osmolitos que posiblemente provoquen la disminución de los rendimientos.

**Conclusiones.** El manejo adecuado de los diferentes factores que afectan el funcionamiento del ciclo de Krebs y del glioxilato o que redireccionan el flujo de carbono son determinantes en la relación de productos de *P. fumosoroseus* en cultivo sumergido.

**Agradecimiento.** Al proyecto CONACyT N° 83153.

#### Bibliografía.

<sup>1</sup>Janssen F.W., Lund A.J., Anderson L.E. (1958) Colorimetric assay for dipicolinic acid in bacterial spores. *Science*. 127: 2627.

<sup>2</sup>Asaff A., Cerda-García-Rojas C., Viniegra-González G., de la Torre M. (2006) Carbon distribution and redirection of metabolism in *P. fumosoroseus* during solid-state and liquid fermentations. *Process Biochem*. 41: 1303-1310.