



EVENTOS OXIDATIVOS ASOCIADOS CON EL ESTRÉS HIDRODINÁMICO Y POR ALTA OFERTA DE OXÍGENO EN LA PRODUCCIÓN DE COMPUESTOS CON ACTIVIDAD ANTIALIMENTARIA EN INSECTOS A PARTIR DE CÉLULAS DE *Azadirachta indica*

Simón Villegas-Velásquez, Anny Martínez-Mira, Rodrigo A. Hoyos, Benjamin A. Rojano, Fernando Orozco-Sánchez. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, Facultad de Ciencias, Escuela de Biociencias Medellín (050034), Colombia. svillegasv@unal.edu.co.

Palabras clave: estrés oxidativo, células vegetales en suspensión, elicitador abiótico.

Introducción. El cultivo de células en suspensión de *Azadirachta indica* en biorreactores, ha sido empleado para la producción de metabolitos secundarios, pese a que este tipo de células se han considerado como sensibles ante el estrés generado por las condiciones de operación del reactor.

El objetivo de este trabajo es relacionar los efectos del estrés hidrodinámico y el estrés por alta oferta de oxígeno en cultivos en suspensión de células de *A. indica*, como posibles elicitores abióticos en la producción de compuestos con actividad antialimentaria en insectos.

Metodología. Se evaluaron diferentes niveles de estrés hidrodinámico (400 y 800 rpm) y por alta oferta de oxígeno (30 y 80 % oxígeno disuelto OD) en reactor de tanque agitado de 3 L (control matraz Erlenmeyer de 500 mL). Se midió peso seco (gCS/L), viabilidad con azul de Evans. Síntesis de H₂O₂ y de guayacol peroxidasa (GPX) como respuestas ante el estrés (1), (2). Los limonoides con actividad antialimentaria se medirán por HPLC (3).

Resultados.

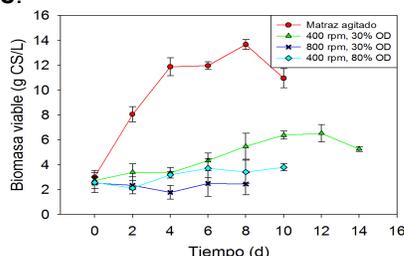


Fig. 1. Crecimiento celular de células de *A. indica* sometidas a diferentes niveles de estrés hidrodinámico y por alta oferta de oxígeno.

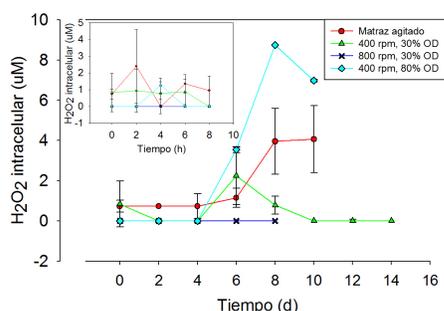


Fig 2. Dinámica del peróxido intracelular de *A. indica* sometida a diferentes niveles de estrés hidrodinámico y por alta oferta de oxígeno. El inserto muestra las primeras ocho horas de cultivo.

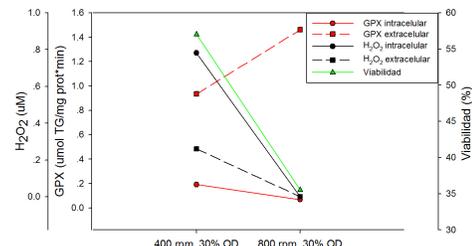


Fig 3. Respuestas ante distintos niveles de estrés hidrodinámico

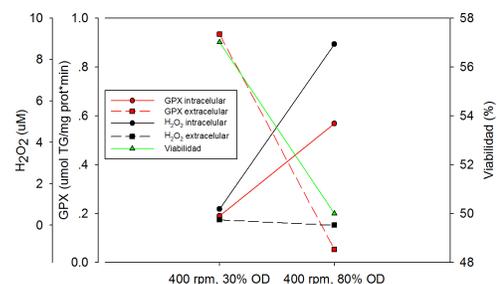


Fig 4. Respuestas ante distintos niveles de oferta de oxígeno

Se espera que la síntesis de metabolitos secundarios se incremente al aumentar el nivel de estrés, donde disminuyen el crecimiento y la viabilidad celular (Fig 1, 3, y 4). Si se relaciona síntesis de H₂O₂, GPX y viabilidad al final de la fase exponencial, donde se ha reportado que las células son más sensibles ante el estrés hidrodinámico, disminuyen tanto el H₂O₂ intracelular como GPX intracelular (Fig 3). Por otro lado, se observa un aumento de H₂O₂ y GPX intracelular en el estrés por alta oferta de oxígeno (Fig 4)

Conclusiones. El estrés afecta la viabilidad y el crecimiento. Puede haber otros mecanismos antioxidativos distintos a GPX que estuvieran activos para mantener el equilibrio oxidativo a nivel intracelular en el estrés hidrodinámico, mientras que la GPX pareciera responder al incremento de H₂O₂ intracelular en el estrés por alta oferta de oxígeno.

Bibliografía.

1. Sergiev, I, Alexieva, V, Karanov, E. (1997) *Compt. Rend. Acad. Bulg. Sci.* 51: 121-124.
2. Goud, P, Harke, S, Kachole, M, (2013) *IJCR.* 5(6): 121-124.
3. Capataz-Tafur, J, Orozco-Sánchez, F, Vergara-Ruiz, R, Hoyos-Sánchez, R. (2007) *Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín.* 60(1): 3703-3715.