



## EFECTO DE LA FUENTE Y CONCENTRACIÓN DE NITRÓGENO Y FÓSFORO SOBRE LA REPRESIÓN CATABÓLICA DE ENZIMAS $\beta$ - 1,3 GLUCANASAS DE *Trichoderma harzianum*

Daniela Livas Lara, Nelida Alcaráz de la Torre, Patricia Mendoza García, Montserrat Ramírez Suero y Mario Ramírez-Lepe. Instituto Tecnológico de Veracruz Av. M.A. de Quevedo No. 2779 Col. Formando Hogar C.P. 91897 Veracruz, Ver. Fax: (2299) 34 57 01. E. Mail: lepe@itver.edu.mx

*Palabras clave:* Represión, *Trichoderma harzianum*, glucanasa

**Introducción.** El hongo *Trichoderma harzianum*, es un hongo que se caracteriza por producir enzimas que degradan la pared celular de hongos fitopatógenos. Estas enzimas han sido ampliamente estudiadas desde el aspecto del micoparasitismo, pero no se han desarrollado suficientes estudios a nivel de regulación. Dentro de la limitada información que se ha reportado proponen que la interacción de concentraciones de fuente de carbono, fuente de nitrógeno y presencia o ausencia de quitina se obtiene o no represión de las enzimas (1). La regulación por represión por fuente de nitrógeno y fósforo es bien conocida en levaduras, y en algunos hongos filamentosos, sin embargo, se desconoce en *Trichoderma harzianum*. Debido a lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue el de estudiar el efecto de la fuente y concentración de nitrógeno y fósforo sobre la represión catabólica de las enzimas  $\beta$  -1,3 glucanasas de *T. harzianum*.

**Metodología.** Para cumplir con este objetivo, se realizaron cinéticas induciendo las enzimas de interés con laminarina 0.1 %, como fuente de carbono, y añadiendo sulfato de amonio y nitrato de sodio para análisis de represión por nitrógeno en 1, 10 y 100 mM a las 36 horas de incubación. De la misma manera, en otros experimentos, se añadió fosfato de potasio dibásico como agente represor por fósforo en concentraciones: 10, 50 y 100 mM

**Resultados y discusión.** Los resultados obtenidos reflejan que el sulfato de amonio no produce un efecto de represión, aún a concentraciones de 100 mM. Se sugiere que el amonio, como es una fuente primaria, el metabolismo de *Trichoderma harzianum* lo incluye de manera directa en las reacciones bioquímicas de la célula mediante enzimas constitutivas. Los resultados obtenidos de los ensayos con nitrato de sodio, indican una posible represión catabólica de nitrógeno (RCN), produciendo una disminución de la concentración de la enzima  $\beta$  - 1,3 glucanasas. Esto se debe a que el nitrato es una fuente de nitrógeno alterna que el hongo puede metabolizar mediante la síntesis de novo de nitrato y nitrito reductasas, L-aminoácidos liasas, transportadores de aminoácidos y de purinas, enzimas catabólicas y algunas proteasas extracelulares (2). Si se considera que el metabolismo del microorganismo es ahorrador de energía, la célula solo secretará la enzima necesaria para hidrolizar la laminarina y obtener de esa manera la fuente de carbono necesaria para iniciar toda una cascada de compuestos bioquímicos necesarios para sus

necesidades. En el caso de la fuente de fósforo, existió represión de las enzimas de interés, sin embargo no existe una evidencia contundente que sea por represión catabólica, ya que ocurrieron otros efectos que aparentemente son los responsables de la disminución drástica de éstas enzimas. Nosotros sugerimos que éstos se debieron a la alteración de la membrana celular por la desnaturalización de enzimas fosfatasa ácidas y a la actividad de proteasas difundidas en el medio.

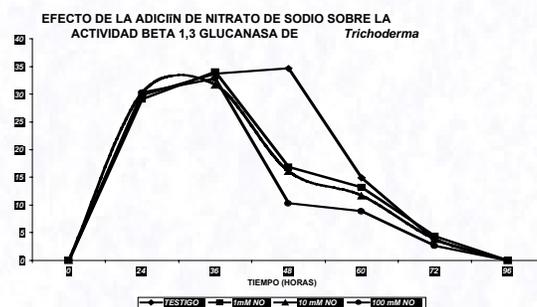


Fig. 1. En la Figura se muestra el efecto de la adición a las 36 horas del nitrato de sodio sobre la actividad enzimática específica.

**Conclusiones.** El nitrato produce un efecto de represión catabólica en la enzima de interés. Resultados que coinciden con las investigaciones previas realizadas con *Neurospora crassa*. En el caso de la fuente de fósforo, existió represión de las enzimas de interés, sin embargo no existe una evidencia contundente que sea por represión catabólica, ya que ocurrieron otros efectos que aparentemente son los responsables de la disminución drástica de éstas enzimas.

**Agradecimiento.** El trabajo fue financiado por SEP-Conacyt No. De Convenio 44752. Nelida de la Torre Alcaráz, Daniela Livas Lara y Montserrat Ramírez Suero son becarias del Conacyt.

### Bibliografía.

- Giuliano, B, Harman, G, (2001), Interaction of Ammonium, Glucose, and Chitin Regulates the Expresión of Cell Wall-Degrading Enzymes in *Trichoderma atroviride* Strain P1. *Appl Environ. Microbiol.*67(12):5643-5647
- Marzluf, G.A, Ying Tao, (1999), The NIT2 nitrogen regulatory protein of *Neurospora*: expression and stability of nit-2mRNA and protein. *Curr Genet* 36: 153-158