

CARACTERIZACIÓN PARCIAL DE LAS ENZIMAS DEGRADADORAS DE LA CUTÍCULA DE *Verticillium lecanii* EN CULTIVO SÓLIDO

Esteban Barranco Florido* Raquel Alatorre Rosas¹ y Gerardo Saucedo Castañeda²

*Departamento de Sistemas Biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco

¹Instituto de Fitosanidad, Colegio de Postgraduados

²Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa

Calz. Del Hueso 1100, Col. Villa Quietud. C.P. 04960, México, D.F. Fax 5483-72-37, e-mail:

barranco@cueyatl.uam.mx.

Palabras clave: proteasas, quitinasas, fermentación sólida.

Introducción. Una estrategia de la agricultura sustentable es el manejo de plagas por control biológico. *Verticillium lecanii*, patógeno de homópteros y otros artrópodos, se ha utilizado para el biocontrol de *Bemisia tabaci* (Mosquita blanca). El cultivo sólido es potencial para la producción de bioinsecticidas y ha abierto un campo de investigación para el estudio de las enzimas degradadoras de la cutícula, en especial las quitinasas.

En este trabajo se estudio el efecto del pH, temperatura y la presencia de otras fuentes de carbono en las actividades enzimáticas de los hongos entomopatógenos de un sistema de fermentación sólida.

Metodología. *V. lecanii* ATCC 26584 se cultivó en columnas con un medio mineral y cutícula de *S. purpurancens* (chapulín) o de *P. serratus* (camarón) 6% para inducir las enzimas y como soporte bagazo de caña (1). La actividad quitinolítica se determinó por la liberación de *p*-nitrofenol y la actividad proteolítica por el método del azocoll. Se estudio el efecto del pH, temperatura y la presencia de sacarosa, glucosa y fructosa en las actividades enzimáticas.

Resultados y discusión. La tabla 1 muestra el pH de la máxima actividad quitinolítica para los sustratos de chapulín y de camarón, correspondiendo a valores de 6.0 y 7.0 respectivamente, se ha reportado que en *M. anisopliae* fue de 5.0 (2). Mientras que en proteasas correspondió a un pH básico. St-Leger y col (3) obtuvieron un pH de 9.0 para proteasas y para la enzima Pr1 de 8.0 en *M. Anisopliae*.

Cuadro 1. Cuantificaciones de la caracterización parcial de las actividades enzimáticas.

Cutícula	Actividades enzimáticas		
	Insecto		Camarón
	Proteolítica	Quitinolítica	Quitinolítica
pH	8.0	6.0	7.0
Temperatura	35-60 °C	35-45 °C	35-50 °C
Tasa Máx. (? mol/min)	3.10 (55 °C)	0.095 (45 °C)	0.045 (50 °C)
<i>E_A</i> (cal/mol)	16461	16101	11216

Las proteasas fueron más termoestables que las quitinasas y la tasa de actividad máxima correspondió a una temperatura mayor. La utilización de cutícula de camarón, aunque estructuralmente semejantes, disminuye los niveles de

expresión de las quitinasas. Posiblemente porque se reduce la adhesión de la espora a la superficie de la cutícula del camarón porque disminuyen las interacciones hidrofóbicas espóra-cutícula. Ya que la utilización de la cutícula como nutriente requiere la expresión de las quitinasas. La presencia de otra fuente de carbono reduce la actividad quitinolítica en ambos sustratos, como se observa en la Figura 1. Las diferencias en el efecto para cada sustrato sugiere que pueden ser por los niveles de expresión de las quitinasas para cada sustrato complejo.

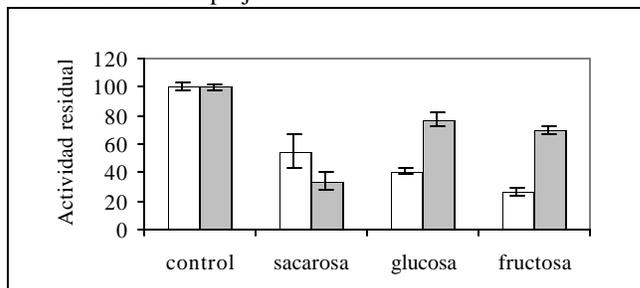


Fig. 1. Efecto de varias fuentes de carbono en la actividad quitinolítica residual sobre dos sustratos: (□) camarón (?) chapulín a las 96 horas de cultivo.

Conclusiones. En el cultivo resultaron más termoestables las proteasas y de carácter básico, mientras que las quitinasas fueron básicas y neutras dependiendo del sustrato. La cutícula de camarón induce la expresión de las quitinasas, pero a niveles menores. La adición de otra fuente de Carbono afecta los niveles de expresión de las quitinasas en ambos sustratos, por lo que se debe valorar estos factores en el desarrollo de bioinsecticidas.

Agradecimiento. Apoyo financiero: UAM.

Bibliografía.

- Barranco, E, Alatorre, R, Gutiérrez, M, Viniegra, G y Saucedo, G. (2002). Criteria for the selection of strains of entomopathogenic fungi *Verticillium lecanii* for solid state cultivation. *Enzyme Microb. Technol.* 30:910-915.
- Siquiera, A, Chaves, C, Schrank, A, Ulhoa, C, y Henning, M. (1997) Purification and characterization of an extracellular chitinase from the entomopathogen *Metarhizium anisopliae* *Canadian J. of Microbiol.* 43 322-327.
- St-Leger, R, Bidochka, M, y Roberts D. (1994) Isoforms of the cuticle-degrading Pr1 proteinase and production of a metalloproteinase by *Metarhizium anisopliae*. *Archives Biochem. Biophys.* 313:1-7.