



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



MEJORAMIENTO DE *Beauveria bassiana*: DESREGULACIÓN ENZIMÁTICA PARA UN BIOINSECTICIDA MÁS EFECTIVO

Octavio Loera-Corral, UAM-Iztapalapa, Departamento de Biotecnología, México, D.F. 09340, México.

Email: loera@xanum.uam.mx

Palabras clave: control biológico, factores de virulencia, mutaciones pleiotrópicas

El control biológico es una alternativa para combatir plagas de insectos por medio de sus enemigos naturales, incluyendo microorganismos como hongos, bacterias y virus. Uno de los hongos que más frecuentemente se recupera de insectos muertos en el campo es *Beauveria bassiana*, además de que sus conidios (unidades infectivas) son la base en bioinsecticidas comerciales (1). Un reto para la aplicación a gran escala es que las cepas aisladas sean virulentas contra varios tipos de insectos, además de estar adaptadas a las condiciones ambientales de cada región. La virulencia es multifactorial y en las cepas se puede mejorar a través de la manipulación genética, como la inserción de copias adicionales de genes que codifican para factores de virulencia (enzimas, hidrofobinas, toxinas) (2); además hay métodos probados que no implican la transferencia de fragmentos de ADN o genes entre especies distintas, sin embargo la obtención de mutantes por esta vía requiere una estrategia de selección adecuada (3).

La resistencia al análogo tóxico 2-desoxiglucosa (2DG) se asocia con la desregulación de enzimas en hongos filamentosos y levaduras, en especial para obtener cepas sobreproductoras de hidrolasas (4). En un estudio reciente se obtuvieron mutantes de *B. bassiana* por radiación con luz UV, resistentes a 2DG (5); sin embargo, además del análisis semicuantitativo de la producción de enzimas, la selección de mutantes se complementó con el análisis de otras características reconocidas como factores de virulencia, como la velocidad de crecimiento sobre medios basados en componentes de la cutícula de insectos, morfología del micelio y capacidad de esporulación.

Los bioensayos con chapulín (*Sphenarium purpurascens*), grillo (*Acheta domesticus*) y escarabajo harinero (*Tenebrio molitor*), mostraron que, en relación a la cepa silvestre, hubo mutantes que inician más rápido la muerte de los insectos, además que matan al 50% de la población en menos tiempo (valores menores de TL_{50}). A través de la dosis letal 50 (CL_{50}), se comprobó que para una de las mutantes este valor disminuye significativamente (hasta 80%).

Para entender esta mejora notable en la virulencia de las cepas, desde fases iniciales de la infección, se cuantificaron las enzimas que degradan la cutícula de los insectos, tanto familias completas (proteasas y quitinasas), como isoenzimas específicas asociadas a la virulencia en *B. bassiana* (proteasa Pr1 y β -N-acetilglucosaminidasa) (6,7).

Usando cutícula de *Tenebrio molitor* como única fuente de C y N en el medio, se observó que en estas mutantes

resistentes a 2DG la virulencia se correlaciona con la expresión de las proteasas y quitinasas totales, así como de Pr1 y β -N-acetilglucosaminidasa (8). Esto a su vez corrobora los resultados anteriores, puesto que las enzimas participan desde las etapas tempranas de la infección, iniciando la muerte de los insectos más rápido cuando se infectan por las mutantes que sobreproducen estas enzimas.

En fases posteriores de la infección, la muerte de los insectos se incrementa si el hongo es capaz de diseminarse y crecer dentro del insecto. La aparición de cuerpos hifales en la hemolinfa de los insectos es signo de una infección avanzada. Las mutantes, que sobreproducen las enzimas mencionadas, también se diseminaron más rápido en los insectos, es decir, la velocidad de aparición de cuerpos hifales dentro de los insectos fue mayor (8).

Estos resultados revelan que se mejoró la virulencia de *B. bassiana* a través de un método basado en la resistencia a 2DG y el posterior análisis fisiológico. Las cepas más agresivas mostraron una desregulación enzimática que explica la mayor velocidad de muerte y diseminación dentro de los insectos. Esta estrategia es una alternativa a la construcción de cepas transgénicas, cuya liberación está restringida por la ley de bioseguridad, que podría aplicarse con otros aislados que ofrece la biodiversidad en nuestro país.

Agradecimiento. A los investigadores y estudiantes de la UAM-Iztapalapa, Red-Promep, y Colegio de Posgraduados que hacen posible el avance de esta investigación.

Bibliografía.

1. Glare, T. R., 2004. Biotechnological Potential of entomopathogenic Fungi. En: Fungal Biotechnology in Agricultural, Food and Environmental Applications. D. K. Arora. Marcel Dekker Inc. New York, USA. Capítulo 7. 79-90
2. Fan, Y., Fang, W., Guo, S., Pei, X., Zhang, Y., Xiao, Y., Li, D., Jin, K., Bidochka, M., Pei, Y. 2007. *Appl. Environ. Microbiol.* 73, 295-302
3. Viaud, M., Cousteaudier, Y., Riba, G., 1998. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 88-93
4. Montiel-González, A.M., Viniestra-González, G., Fernández, F.J. and Loera, O. 2004. *Process Biochemistry.* 39(12): 2085-2090
5. Robledo-Monterrubio M., Alatorre-Rosas R., Viniestra-González G. and Loera O. 2009. *J Invertebr Pathol.* 101: 222-227.
6. Mohanty SS, Raghavendra K, Dash AP 2008. *World J Microbiol Biotechnol* 24(10):2283-2288
7. Kim JS, Roh JY, Choi JY, Wang Y, Shim HJ, Je YH. 2010. *Fung Biol* 114:120-128
8. Montesinos-Matías R, Viniestra-González G., Alatorre-Rosas R. and Loera O. 2011. *World J Microbiol Biotechnol.* In Press. DOI: 10.1007/s11274-011-0672-z.