

ANÁLISIS DE LA CAPACIDAD DE PRODUCCIÓN DE AIA UTILIZANDO EL MODELO DE ESCALA GENÓMICA DE *Bacillus Subtilis*

Freddy Castillo-Alonso¹, Alberto de Monte-Martínez², Roberto Olivares-Hernández³

¹ Posgrado en Ciencias Naturales e Ingeniería, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Cuajimalpa, Ciudad de México, México.

² Centro de Estudios de Proteínas, Facultad de Biología, Universidad de La Habana. Calle 25 No. 455 entre J e I, Vedado. Ciudad Habana, Cuba

³ Departamento de Procesos y Tecnología, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Cuajimalpa. Av. Vasco de Quiroga 4871, Col. Santa Fe Cuajimalpa, Delegación Cuajimalpa, Ciudad de México, 05348, México.

rolivares@correo.cua.uam.mx

Palabras clave: ácido indol-3-acético, *Bacillus subtilis*, modelos metabólicos a escala genómica

Introducción. El ácido indol-3-acético (AIA) es una fitohormona que promueve el crecimiento de raíz de las plantas permitiendo un mejor aprovechamiento de los nutrientes del suelo y mejorando el rendimiento de los cultivos. Bacterias del género *Bacillus* son capaces de producir esta hormona bajo condiciones controladas de crecimiento usando células en suspensión o células inmovilizadas. Para comprender la diferencia en la productividad de AIA y las rutas metabólicas encargadas en producirlo, se pueden utilizar modelos metabólicos que permiten plantear escenarios de producción óptima.

En este trabajo, por medio de utilizar el modelo metabólico a escala genómica de *Bacillus subtilis* (1), se desea caracterizar la capacidad de producción de AIA simulando condiciones óptimas.

Metodología. La capacidad de producir AIA de *Bacillus* se evaluó utilizando células en suspensión y células inmovilizadas. Para ambos casos se obtuvo primero una cantidad considerable de biomasa bacteriana mediante inoculación en frascos Erlenmeyer con 50 mL de medio Caldo Nutriente e incubación a 30°C, pH 7.0 por 24 horas. Posteriormente, para evaluar la producción de AIA, se utilizó "Medio Mínimo para Bacilos" a pH 7.0 añadiendo 100 µg de triptófano. En la inmovilización de las suspensiones celulares se utilizó el soporte base polivinil benceno con nombre comercial AMBERJET® 4200 Cl- obtenido de la casa comercial Rhom & Haas, PA, EUA. Para llevar a cabo el modelado del metabolismo, se utilizó el modelo metabólico de escala genómica iBsu1147. El modelo contiene 1147 genes metabólicos anotados asociados a sus respectivas reacciones y enzimas. Para llevar a cabo las simulaciones se utilizó COBRA Toolbox (3) el cual contiene el algoritmo para calcular distribución de flujos metabólicos utilizando Flux Balance Analysis (2).

Resultados. Como resultados de los cultivos de las células en suspensión e inmovilizadas se obtuvieron 26 y 88 µg/mL, respectivamente. La diferencia de estos valores se puede explicar por el efecto de la inmovilización de las células el cual permite un mejor aprovechamiento de los nutrientes. Sin embargo, poca información se tiene para la comprensión del metabolismo. Para caracterizar el metabolismo y dar mayor comprensión del sistema, se utiliza una herramienta de biología de sistemas como los modelos metabólicos de escala

genómica. Para el modelado se hizo uso del modelo iBsu1147 de *Bacillus subtilis* el cual fue adaptado para simular la producción de AIA. La capacidad predictiva del modelo se corroboró con datos experimentales ya reportados. Para encontrar las condiciones óptimas de producción de AIA se llevaron a cabo las simulaciones con distintas fuentes de carbono en las que se tiene reportado crecimiento, estas son: glucosa, acetato, formiato, y propionato. También se simuló el efecto de añadir triptófano. En la tabla 1 se presenta los resultados de las simulaciones, en todos los casos se consideró añadir triptófano en la misma cantidad.

Tabla 1. Resultado de las simulaciones de las condiciones óptimas para la producción de AIA en *Bacillus subtilis* utilizando el modelo metabólico iBsu1147.

	glucosa	acetato	formiato	propionato
Y p/s (mg/mg)	3.24	2.13	1.29	4.79
Y p/x (mg/gDWC)	47.18	66.93	75.36	76.34

De los resultados de la tabla se puede observar que el propionato resulta ser una mejor fuente de carbono para la producción de AIA.

Conclusiones. En este trabajo se utilizó un modelo metabólico a escala genómica de *Bacillus subtilis* con el cual es posible simular el comportamiento del metabolismo y plantear distintos escenarios para la producción óptima de indol-3-acético. Las simulaciones permiten evaluar que el propionato es una mejor fuente de carbono para la producción de AIA. Como perspectiva, a partir de estos resultados se llevarán a cabo experimentos con las condiciones simuladas.

Agradecimientos. Se agradece a CONAHCYT por la beca de posgrado para Freddy Castillo (CVU 943715). A UAM-C por el apoyo para presentar este trabajo. Al Centro de Estudios de Proteínas.

Bibliografía.

- Hao, T., Han, B., Ma, H., Fu, J., Wang, H., Wang, Z. & Zhao, X. (2013). *Molecular BioSystems*, 9(8), 2034-2044.
- Orth, J. D., Thiele, I. & Palsson, B. Ø. (2010). *Nature biotechnology*, 28(3), 245.
- Schellenberger, J., Que, R., Fleming, R. M., Thiele, I., Orth, J. D., Feist, A. M. & Kang, J. (2011). *Nature protocols*, 6(9), 1290.
- O'Brien, E. J., Monk, J. M., & Palsson, B. O. (2015). *Cell*, 161(5), 971-987.

