

ESTUDIO DEL EFECTO DEL QUITOSANO Y OLIGOQUITOSANO EN EL METABOLISMO CENTRAL DE *Rhizopus stolonifer*

Robles-Martínez L¹., Pardo-Vázquez JP²., Flores-Herrera O²., Velázquez-del Valle MG³., Guerra-Sánchez MG¹. y Hernández-Lauzardo AN³.

¹ENCB-IPN, Prolongación de Carpio y Plan de Ayala S/N, Col Santo Tomas, C.P. 11340 Del. Miguel Hidalgo. Teléfono: (01 55) 5729 6300 y 5729 6000 ext: 46383. Fax: 57296207; ²UNAM, Ciudad Universitaria, Apartado Postal 70-159, CP. 04510, Del. Coyoacán Tel: (5255) 5623-2510. Fax: (5255) 5616-2419; ³CEPROBI-IPN, Carretera Yauatepec-Jojutla km 8.5 San Isidro Yauatepec Morelos. E-mail: pardov@bq.unam.mx² y mdellvall@ipn.mx³

INTRODUCCIÓN. Los productos hortofrutícolas son susceptibles de ser invadidos por microorganismos patógenos, principalmente hongos. *Rhizopus stolonifer* es un fitopatógeno que provoca daño en postcosecha. Para su control se emplean fungicidas químicos. Una alternativa natural es el empleo de quitosano, que es un derivado de la quitina y que no es tóxico para el humano. Diversos estudios indican que el quitosano puede controlar pudriciones postcosecha. El mecanismo de acción por el cual el quitosano presenta efecto antifúngico no ha sido del todo establecido. Sin embargo, recientemente se demostró que el oligoquitosano causa alteración del sistema endomembranal.

La mitocondria es una estructura membranosa de vital importancia para el funcionamiento de las células eucariotas. En este trabajo caracterizamos la cadena respiratoria mitocondrial de *R. stolonifer*, para posteriormente evidenciar la posible disfunción mitocondrial en las células que han estado en contacto con el quitosano y el oligoquitosano.

RESULTADO Y DISCUSION. Las diferentes concentraciones de quitosano y oligoquitosano inhibieron el crecimiento en placa de *R. stolonifer* siendo dependiente de la concentración y del tiempo de exposición. El análisis microscópico reveló que *R. stolonifer* no

se desarrolla de manera normal en presencia del quitosano o del oligoquitosano. Se determinó el consumo de oxígeno de las células cultivadas en presencia de quitosano y de oligoquitosano y se encontraron diferencias con el control. La digitonina fue capaz de permeabilizar la membrana para permitir la libre difusión de sustratos e inhibidores. Los sustratos NADH, succinato y glicerol 3-fosfato estimularon el consumo de oxígeno. La adición de rotenona y flavona inhibió el consumo de oxígeno con NADH como sustrato. Con estos datos se mostró la presencia del complejo II, la NADH deshidrogenasa alterna y la lanzadera de glicerol 3-fosfato. Por otra parte, la $K_{0.5}$ para la inhibición de la respiración por cianuro fue de 100 μ M y no se afectó el consumo de oxígeno al agregar n-octil galato, lo que sugiere que *R. stolonifer* carece de AOX, que se ha reportado en plantas, hongos y protozoarios. Por otro lado, el análisis de los supercomplejos y complejos respiratorios de las células control se realizó en mitocondrias solubilizadas con digitonina y DDM respectivamente, mediante el empleo de geles BN-PAGE, CN-PAGE, Tricina SDS-PAGE y 2D BN-PAGE reveladas por actividad de los complejos I, II, III, IV y la ATP sintasa. Los resultados sugieren la presencia de supercomplejos formados por los complejos I, III y IV.