

INTERACCION DE DISTINTOS FACTORES SOBRE LA BIOSINTESIS DE TRICOTECENOS POR CEPAS DE FUSARIUM

Adriana Saubois O. *; Victor R. Coutaz **;
Claudia Cadoche *** y Juan Carlos Basílico G.

*Departamento de Bioingeniería, Facultad de Ingeniería
Química, Universidad Nacional del Litoral
Santiago del Estero 2829, Santa Fe, Argentina.

**Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria
Química (INTEC), Universidad Nacional del Litoral
Güemes 3450, Santa Fe, Argentina.

***Cátedra de Computación I y II, Carrera de Licenciatura
en Matemática, Facultad de Ingeniería Química,
Universidad Nacional del Litoral
Santiago del Estero 2829, Santa Fe, Argentina.

Palabras clave: Fusarium, tricotecenos, biosíntesis.

Key words: Fusarium, trichothecenes, biosynthesis.

RESUMEN

Se estudió la influencia del medio de cultivo, la cepa, el tiempo y la temperatura sobre la biosíntesis de tricotecenos en cinco cepas de *Fusarium* toxicogénicas. Se analizó también el efecto combinado de dichas variables. Para la evaluación del grado de toxicidad se utilizó el micrométodo biológico basado en la inhibición que ejercen los tricotecenos sobre la germinación de semillas de *Lepidium sativum*. (5).

Analizando el efecto de las variables por separado, se constató que existe un 99% de probabilidad ($\neq 0.01$) de que el medio de cultivo, la cepa y la temperatura incidan en la biosíntesis de tricotecenos; en tanto que para el tiempo, y dentro del rango estudiado, la probabilidad es del 95% ($\neq 0.05$). En cuanto a la interacción de las variables, existe un 99% de probabilidad ($\neq 0.01$) de que el efecto combinado de medio de cultivo-tiempo-temperatura y medio de cultivo-cepa-temperatura incidan en el grado de toxicidad.

INTRODUCCION

En un estudio destinado a determinar la influencia de las condiciones de cultivo sobre la producción de tricotecenos en 40 cepas de *Fusarium* aisladas de distintos alimentos para con-

SUMMARY

[Interaction of different factors on the biosynthesis of trichothecenes by *Fusarium* strains.]

The influence of culture media, strain, time and temperature on trichothecene biosynthesis was studied in five strains of toxicogenic *Fusarium*, the joint effect of these variables being also evaluated.

To assess the toxicity degree, the biological micromethod based on the inhibition caused by trichothecene on the germination of *Lepidium sativum* seeds (5) was used.

By analysing the effect of each variable alone, it was found that there is a 99 per cent probability ($\neq 0.01$) for culture medium, strain and temperature to incide on trichothecene biosynthesis; time, on the other hand, has a 95 per cent probability ($\neq 0.05$) to incide within the range considered. As the parameter interaction is concerned, there is a 99 per cent probability ($\neq 0.01$) that the joint action of culture, medium-time-temperature and culture medium-strain-temperature incide on the toxicity degree.

sumo humano y animal, se constató que sólo el medio de cultivo presentaba variaciones estadísticamente significativas en la biosíntesis de tales compuestos (1).

En este trabajo se profundiza sobre la influen-

cia de esta variable en la producción de tricotecenos y se estudia el grado de toxicidad junto a la interacción de la misma con el tiempo, la cepa y la temperatura.

MATERIALES Y METODOS

Este estudio se llevó a cabo utilizando cinco cepas de *Fusarium* testigos productoras de tricotecenos: *F. poae* T-746 y *F. melanochlorum* T-80.3 (ambas provenientes del Laboratorio de Micología Aplicada, E.N.S.A.I.A., Universidad de Nancy, Francia); *F. sporotrichioides* ATCC 24630; *F. tricinatum* ATCC 24631; *F. graminearum* NRRL 6101.

Las mismas se cultivaron en los medios semi-sintéticos BL₂ y PSA, los que dieron los mejores resultados en el estudio previo (1). Se incorporaron además los medios naturales a base de maíz y sorgo (7) dada la importancia de estos cereales en la elaboración de alimentos para consumo humano y animal.

La incubación de las cepas de *Fusarium* se llevó a cabo a 5 y 25°C, en períodos de tiempos de 5, 10, 15 y 21 días, trabajando en todos los casos en oscuridad.

El grado de toxicidad se evaluó por medio de la inhibición que ejercen los tricotecenos sobre la radícula de *Lepidium sativum* con valores de 1 a 4, usando la siguiente escala:

Grado de Toxicidad

4. Muy tóxico
3. Tóxico
2. Débilmente tóxico
1. No tóxico

Estos valores corresponden al promedio de 4 determinaciones realizadas al extracto de cada cepa.

Tanto el método de extracción de los tricotecenos y los ensayos biológicos como los grados de toxicidad usados fueron iguales a los empleados por Saubois y col. (6).

Se realizó un tratamiento estadístico de los datos experimentales de esta variable obtenidos del ensayo de toxicidad. Se llevó a cabo un análisis factorial del tipo 4x5x2² (medio de cultivo, cepa, temperatura y tiempo) (2,3,4):

Factores (variables)	Niveles	Nº niveles
A: Medio de cultivo	1. sorgo 2. PSA 3. BL ₂ 4. maíz	4
B: Tiempo	1. 15 días 2. 21 días	2
C: Cepa	1. <i>F. melanochlorum</i> T-80.3 2. <i>F. poae</i> T-746 3. <i>F. sporotrichioides</i> ATCC 24630 4. <i>F. tricinatum</i> ATCC 24631 5. <i>F. graminearum</i> NRRL 6101	5
D: Temperatura	1. 25°C 2. 5°C	2

Respecto a la variable tiempo, se tuvieron en cuenta, para realizar el análisis factorial, solamente dos niveles, ya que a 5°C y a un tiempo menor o igual a 10 días de incubación la mayoría de las cepas de *Fusarium* no se desarrollaron.

Por otra parte, se aplicó un tratamiento estadístico mediante análisis factorial del tipo 5x4² (medio de cultivo, tiempo y cepa) para los valores hallados a 25°C, con el objeto de poder analizar la influencia del tiempo teniendo en cuenta 5, 10, 15 y 21 días de incubación (2, 3, 4):

Factores (variables)	Niveles	Nº niveles
A: Medio de cultivo	1. sorgo 2. PSA 3. BL ₂ 4. maíz	4
B: Tiempo	1. 5 días 2. 10 días 3. 15 días 4. 21 días	4
C: Cepa:	1. <i>F. melanochlorum</i> T-80.3 2. <i>F. poae</i> T-746 3. <i>F. sporotrichioides</i> ATCC 24630 4. <i>F. tricinatum</i> ATCC 24631 5. <i>F. graminearum</i> NRRL 6101	5

RESULTADOS Y DISCUSION

En este estudio se corrobora la importancia del medio de cultivo sobre la biosíntesis de tricotec-

nos, constatándose además la influencia de la temperatura y la cepa con un nivel de significación $\alpha = 0.01$ y del tiempo con un $\alpha = 0.05$, valores que se mantienen en ambos estudios factoriales. (Tablas 1 y 2, Fig. 1 y 2).

TABLA N° 1

Grado de toxicidad de las 5 cepas de *Fusarium*, a 25° C en función del medio de cultivo y del tiempo de incubación

Medio de cultivo	Sorgo				PSA				BL ₂				Maíz			
	5	10	15	21	5	10	15	21	5	10	15	21	5	10	15	21
<i>F. melanochlorum</i> T-80.3	1	2	2	2	3	4	4	4	1	4	4	4	3	3	1	1
<i>F. poae</i> T-746	3	3	2	1	3	3	3	3	4	4	4	4	4	4	4	4
<i>F. sporotrichoides</i> ATCC 24630	1	2	2	2	4	4	3	2	3	3	3	4	3	4	4	4
<i>F. tricinctum</i> ATCC 24631	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
<i>F. graminearum</i> NRRL 6101	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1

TABLA N° 2

Grado de toxicidad de 5 cepas de *Fusarium* a 5°C en función del medio de cultivo y tiempo de incubación.

Medio de cultivo	Sorgo		PSA		BL ₂		maíz	
	15	21	15	21	15	21	15	21
<i>F. melanochlorum</i> T-80.3	1	1	1	3	1	1	1	1
<i>F. poae</i> T-746	1	1	1	3	1	1	1	1
<i>F. sporotrichoides</i> ATCC 24631	1	1	2	4	1	1	3	3
<i>F. tricinctum</i> ATCC 24631	3	4	3	4	1	1	4	4
<i>F. graminearum</i> NRRL 6101	1	2	1	1	2	1	1	1

FIGURA 1

Grados de toxicidad frente a *Lepidium sativum* de 5 cepas de *Fusarium* cultivadas en los medios sorgo, BL₂, PSA y maíz, durante 5, 10, 15 y 21 días de incubación y evaluados a 25°C.

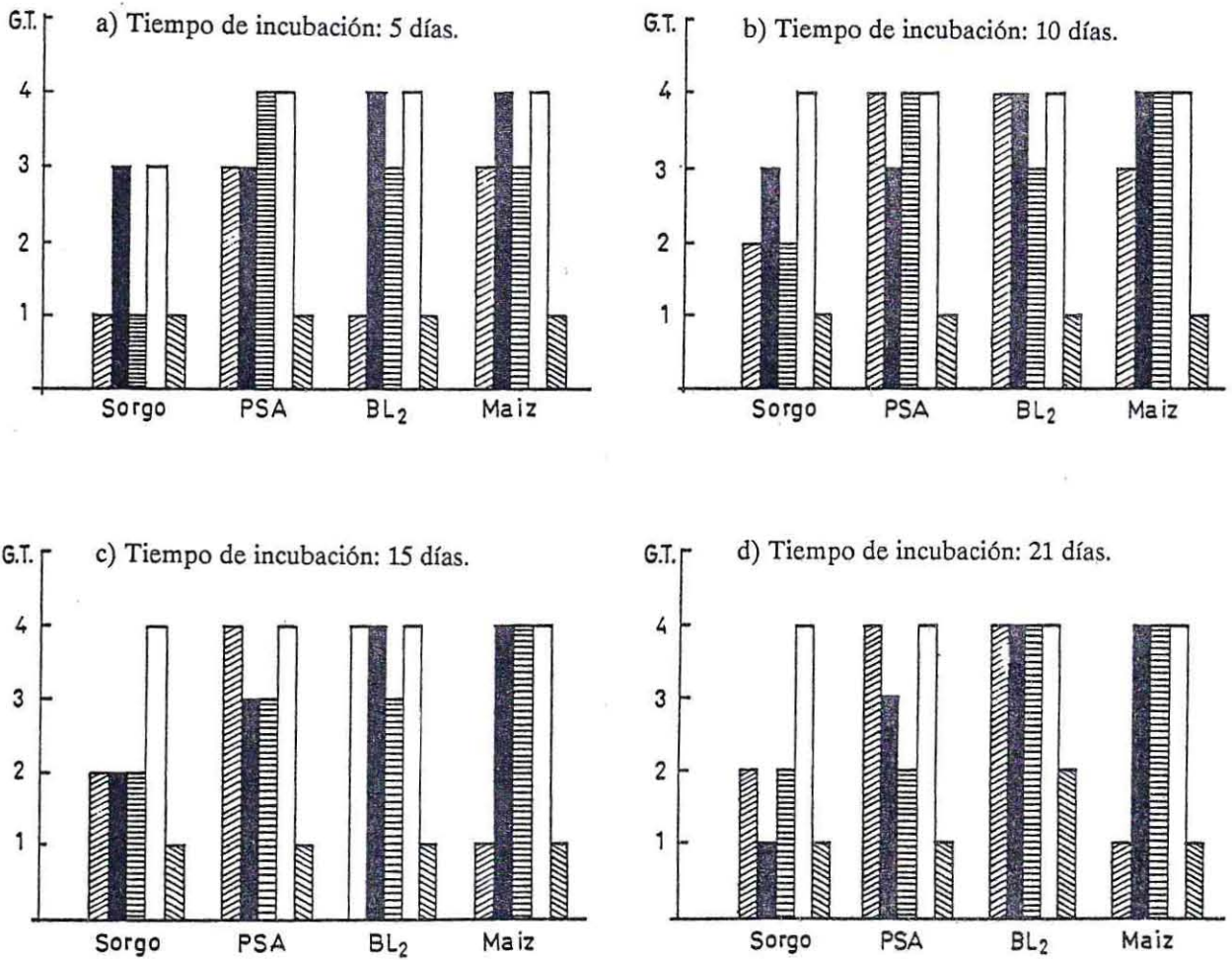


FIGURA 2

Grados de toxicidad frente a *Lepidium sativum* de 5 cepas de *Fusarium* cultivadas en los medios sorgo, BL₂, PSA y maíz, durante 10, 15 y 21 días de incubación y evaluados a 5°C.

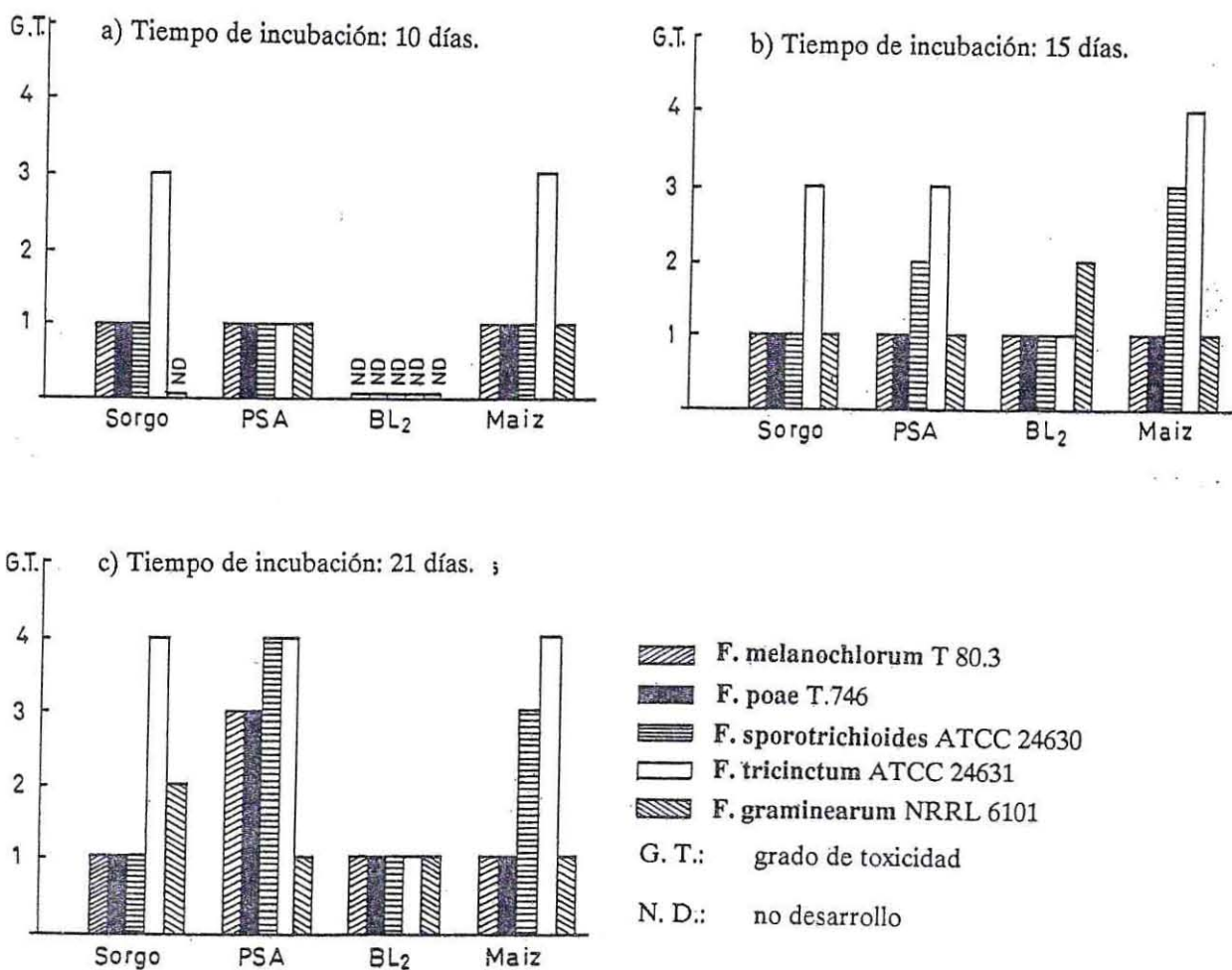


TABLA Nº 3
Análisis de varianza factorial - 4 x 5 x 2² Efecto interacción de las variables.

	ABD			ACD		
	F	VC	Sig.	F	VC	Sig.
0.05	7.23	3.49	SI	5.33	2.69	SI
0.01		5.95	SI		4.16	SI

A: medio de cultivo. B: tiempo C: cepa D: temperatura VC: valor crítico.

Resulta de fundamental importancia la influencia del efecto combinado de las variables sobre la toxinogénesis, destacándose las interacciones medio de cultivo-tiempo-temperatura y medio de cultivo-cepa-temperatura, por ser altamente significativas. (Tabla 3).

De las figuras 1 y 2, podemos deducir que el medio de cultivo en base a maíz se asemeja en su

respuesta a los medios semisintéticos BL₂ y PSA, mientras que el sorgo es un sustrato menos favorable para la producción de tricotecenos.

Por último, se observa que a 25°C los tricotecenos se forman más rápidamente que a 5°C; pero a 25°C habría una destrucción de las toxinas si tenemos en cuenta la variación de los grados de toxicidad para una misma cepa y un mismo medio de cultivo en función del tiempo. En tanto que a 5°C, y dentro del rango de tiempo estudiado, no se observa disminución en los grados de toxicidad.

REFERENCIAS

- BASILIO, J. C.; SAUBOIS, A.; COSTANTINI de BALESTRINO, O. & PAYEN, J. (1986). Influencia de las condiciones de cultivo sobre la producción de tricotecenos en cepas de *Fusarium*. Rev. Lat. Amer. Microbiolo. 28: 153-155.
- BETHEA, R. M.; DURAN, B. S. & BOULLION, T. L. (1975). Statistical Methods for Engineers and Scientists, Marcel Dekker Inc. New York and Basel.
- COCHRAN, W. G. & COX, G. M. (1978). Diseños Experimentales. México. Ed. Trillas.
- KEMPTHORNE, O. (1952). The Design and Analysis of Experiments. John Wiley & Sons. New York.
- PAYEN, J.; LAFONT, P.; PARACHE, R. M. & BOLLER, F. (1977). Detection des souches toxiques de *Fusarium* Masson París Nº 107: 11-117
- SAUBOIS, A.; BASILICO, J. C. & PAYEN, J. (1985). Ensayo biológico rápido para la detección de cepas productoras de algunos tricotecenos. Rev. Fac. Ing. Qca. (Univ. Nac. del Litoral, Argentina) 47: 25-28.
- SAUBOIS, A. & BASILICO, J. C. (1987). Toxicidad de cepas de *Fusarium* aisladas de alimentos. Rev.Arg.Micol. 10: 10-13.