

## EFFECTO DE LA GLUCOSA SOBRE EL CRECIMIENTO DE *MYXOCOCCUS CORALLOIDES* D

C. BENHAMU, J. M. ARIAS y E. MONTOYA

### RESUMEN

Cuando *Myxococcus coralloides* D crece en medios adicionados de glucosa se observa una disminución de la velocidad de crecimiento que hace que los máximos de densidad óptica y número de células se retrasen respecto al cultivo sin glucosa. Además, la presencia de glucosa hace que la fase de muerte sea más lenta siempre y cuando el medio empleado sea CT 0.5%.

### SUMMARY

It has been observed a decrease in the rate of growth when *Myxococcus coralloides* D grows in media supplemented with glucose. Also maxima values reached in cell number and optical density were delayed with respect to culture without glucose. Besides, a retard in the phase of death occurred in CT 0.5% media added with glucose.

### RÉSUMÉ

La croissance de *Myxococcus coralloides* D sur des milieux aux quels on ajoute du glucose comporte une diminution de la vitesse de croissance, ce qui retarde les maximum de la densité optique et du nombre de cellules à l'égard des cultures sans glucose. En outre, la présence de glucose retarde la phase de mort, sous condition d'utiliser le milieu CT 0.5%.

### INTRODUCCION

Los datos existentes del efecto de los hidratos de carbono sobre las mixobacterias son contradictorios (1, 2, 3). Estudios posteriores, utilizando medios de composición definida, indican que *Myxococcus xanthus* no metaboliza azúcares de bajo peso molecular y su crecimiento no es afectado por ellos (4, 5, 6, 7).

Una raza de *Myxococcus coralloides* aislada en nuestro laboratorio produce un antibiótico estable y potente; la glucosa es necesaria para la obtención de unos niveles más altos de antibiótico (8).

Sin embargo, no existían datos del efecto de la glucosa sobre el crecimiento de *M. coralloides*, debido a que no crecía de forma dispersa.

Con la obtención de una raza de *M. coralloides* capaz de crecer de forma dispersa en medio líquido (9) se ha podido establecer una relación cuantitativa entre densidad óptica y número de células. En este trabajo se informa del efecto de la adición de glucosa a los medios de cultivo, sobre el crecimiento de *M. coralloides*.

## MATERIAL Y METODOS

### *Organismo y condiciones de estudio*

En este estudio se ha empleado una raza de *M. coralloides*, referida como *M. coralloides* D, capaz de crecer de forma dispersa en medio líquido (9). El crecimiento vegetativo era mantenido por transferencias diarias en medio CT (4), cuya composición es la siguiente: Casitone-Difco 0,5 %, Sulfato magnésico 0,1%, Tampón fosfatos 0.01M pH 6,5. Todas las experiencias fueron llevadas a cabo a 28°C y en agitación (200 rpm).

La glucosa era añadida asépticamente a los medios, después que los otros componentes fueron autoclavados.

### *Determinación del crecimiento*

Se han utilizado medidas turbidométricas y recuento del número de células. Para ambas, *M. coralloides* D era cultivado en matraces Erlenmeyer de 100 ml, conteniendo 20 ml de medio de cultivo. Estos matraces, especialmente fabricados, eran provistos de un tubo lateral que puede ser introducido directamente en el espectrofotómetro. Los cambios de densidad óptica y del número de células eran determinadas a intervalos regulares de tiempo.

El número de células era determinado por medio de la cámara de Petroff-Hausser. Cada muestra era contada al menos

tres veces, dando un total de más de 300 celdillas contadas por muestra. El número de células por ml se obtiene de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\text{células/ml} = \frac{\text{total de células contadas} \times 20 \times 10^6}{\text{número de celdillas contadas}}$$

En caso de dilución, ésta se incluye en la expresión anterior como factor multiplicador.

La masa celular era determinada turbidométricamente siguiendo los cambios en la absorbancia a una longitud de onda de 650 nm, en un Spectronic 20.

#### RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados obtenidos y que se expresan en las Figuras 1, 2, 3, 4, 5 y 6, ponen de manifiesto en todos los casos, que la adición de glucosa a los cultivos de *M. coralloides* en medios CT provoca una ligera estimulación del crecimiento solo durante las primeras 12 horas comparado con el mostrado por el cultivo sin glucosa, en las mismas condiciones de temperatura, agitación, etc.

Trascurridas las primeras 24 horas, la tasa de crecimiento del cultivo adicionado de glucosa disminuye notablemente, por lo que se observa una pendiente menor, lo que trae como consecuencia que los máximos de D.O. y número de células se alcancen horas más tarde que en los cultivos testigos, sin glucosa.

Cuando la concentración de casitone es del 0,5% (Fig. 1), se observa que la máxima densidad óptica se alcanza a los 50 horas, disparándose a partir de este momento, el proceso autolítico que finaliza a las 100 horas. Sin embargo, la adición de glucosa hace que el máximo número de células se alcance a las 70 horas (Figura 2), comenzando en este caso la fase de muerte exponencial que es marcadamente lenta, detectándose células viables durante un periodo de tiempo considerable.

Cuando el medio de cultivo es CT 1% (Fig. 3 y 4) y CT 2% (Fig. 5 y 6), los máximos de número de células se alcanzan a las 56 horas; sin embargo la presencia de glucosa en estos medios hace que los máximos se alcancen a las 70 horas. En ambos casos, una vez alcanzados los máximos de densidad ce-

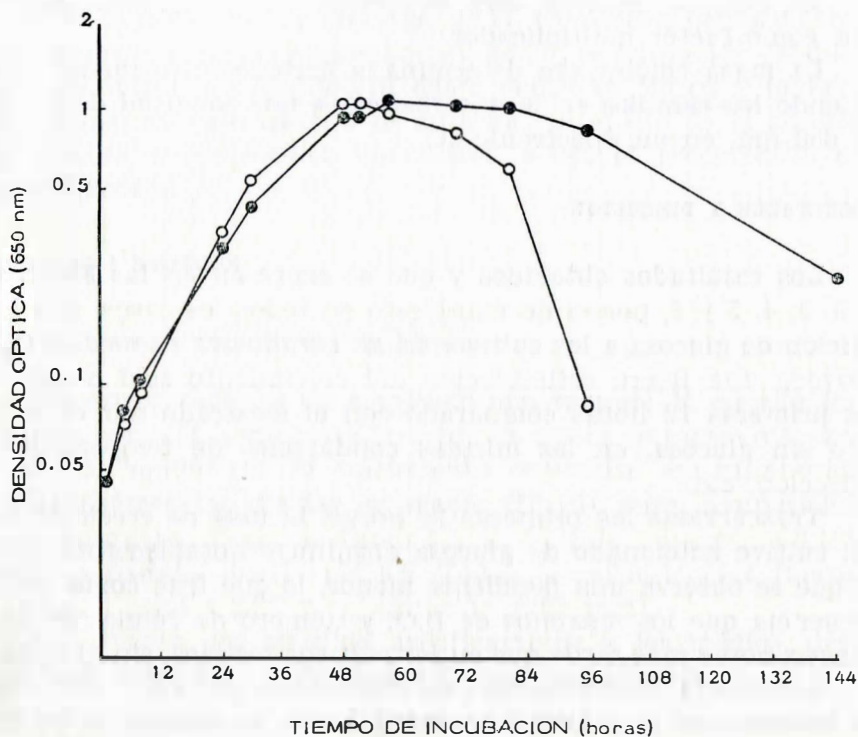


Figura 1.—Evolución de la densidad óptica de *M. coralloides D*, en medio CT 0,5% adicionado de glucosa 1% (●—●). Cultivos sin agitación se han utilizado como control (○—○).

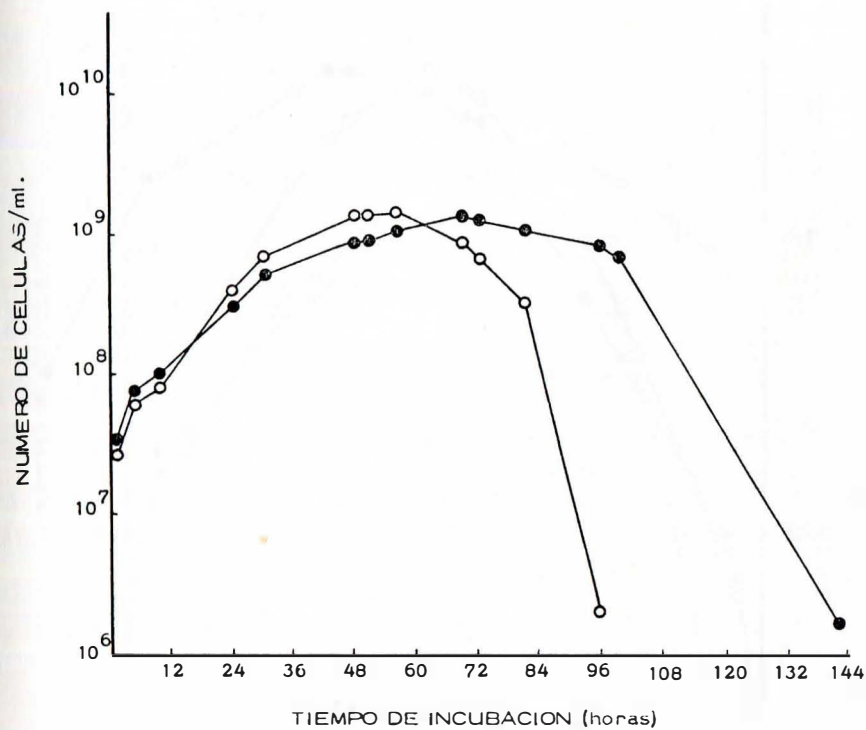


Figura 2.—Influencia de la glucosa (1% sobre el crecimiento de *M. coralloides D* en medio CT 0.5% (●—●), referido al número de células/ml.  
Control sin glucosa (O—O).

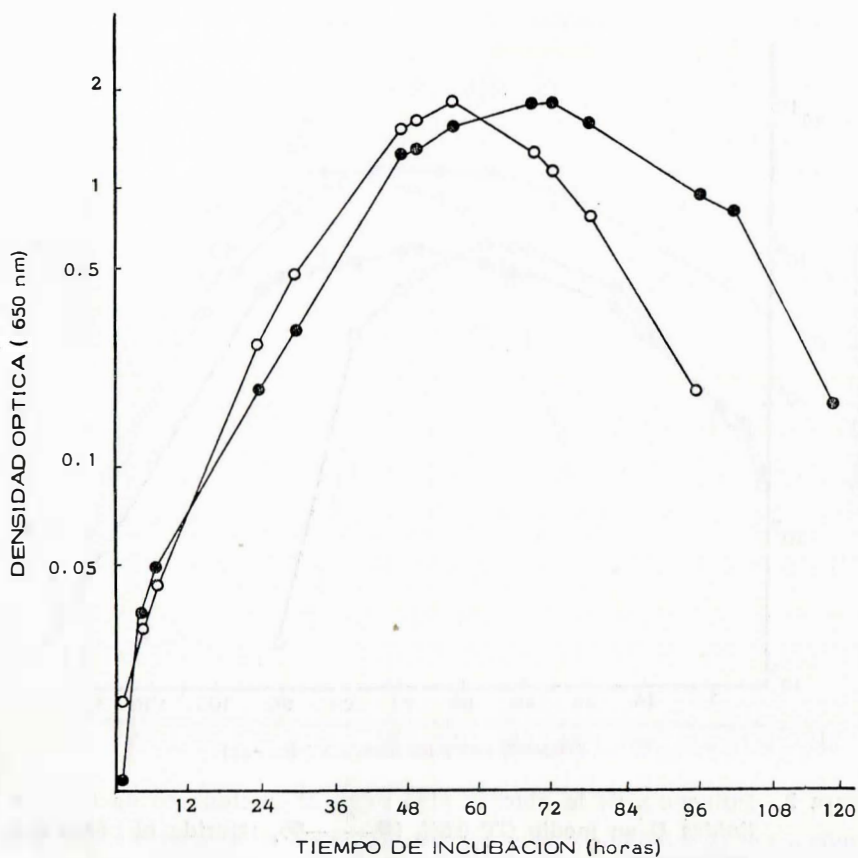


Figura 3.—Evolución de la densidad óptica en cultivos de *M. coralloides D.*, en medio CT 1% adicionado de glucosa 1% (●—●). Cultivos sin glucosa se han utilizado como control (○—○).

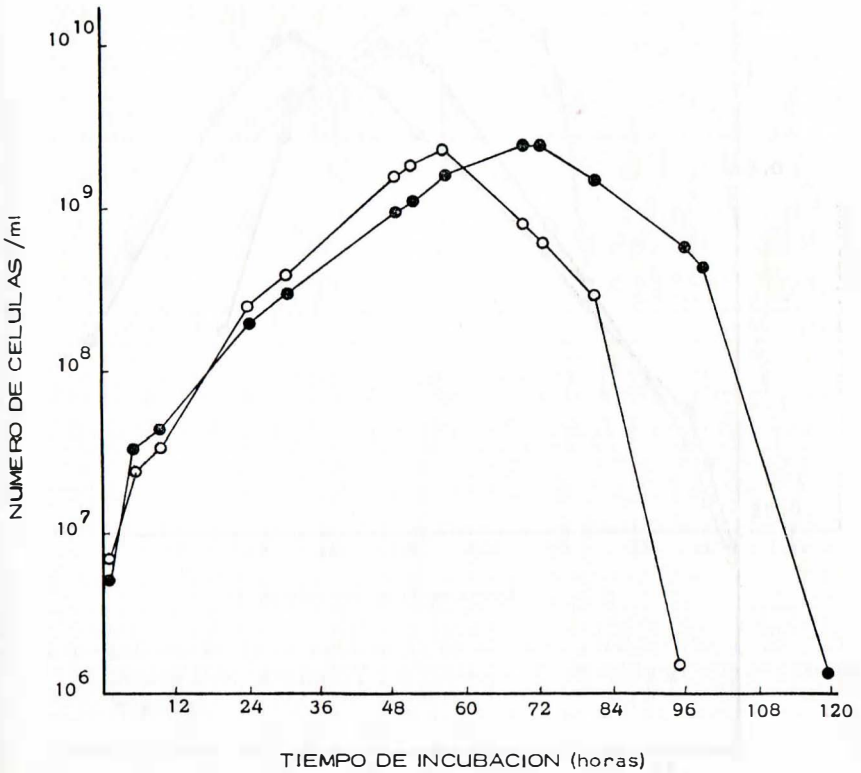


Figura 4.—Influencia de la glucosa (1%) sobre el crecimiento de *M. coralloides D* en medio CT 1% (○—○) referido al número de células/ml.  
Control sin glucosa (●—●).

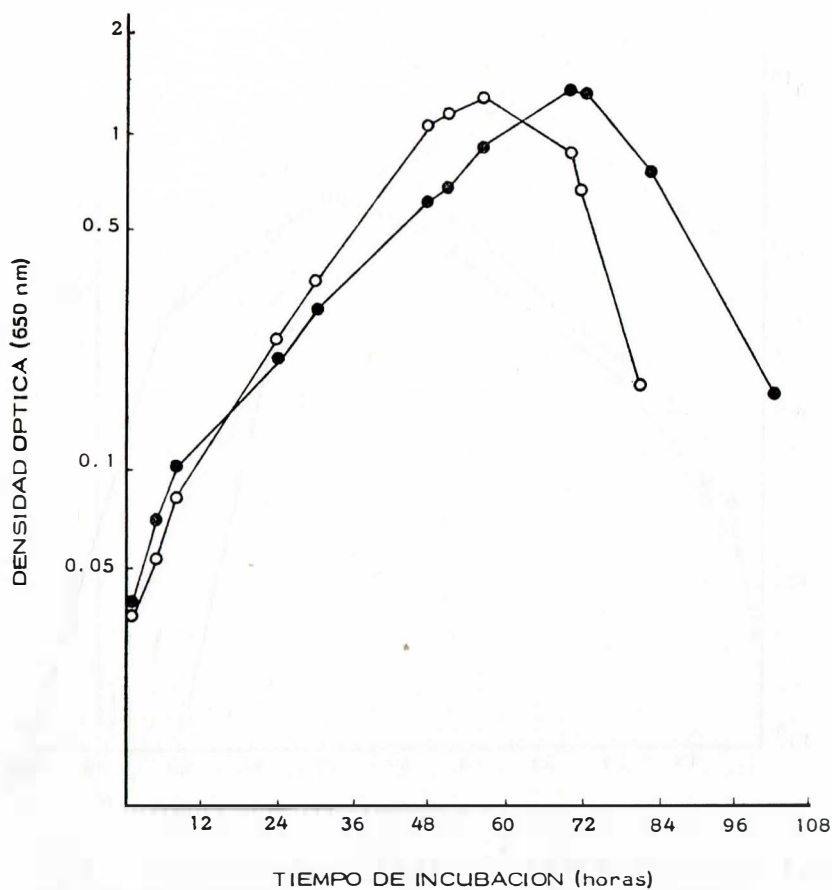


Figura 5.—Evolución de la densidad óptica en cultivos de *M. coralloides* D, en medio CT 2% adicionado de glucosa 1% (●—●). Cultivos sin glucosa se han utilizado como control (○—○).



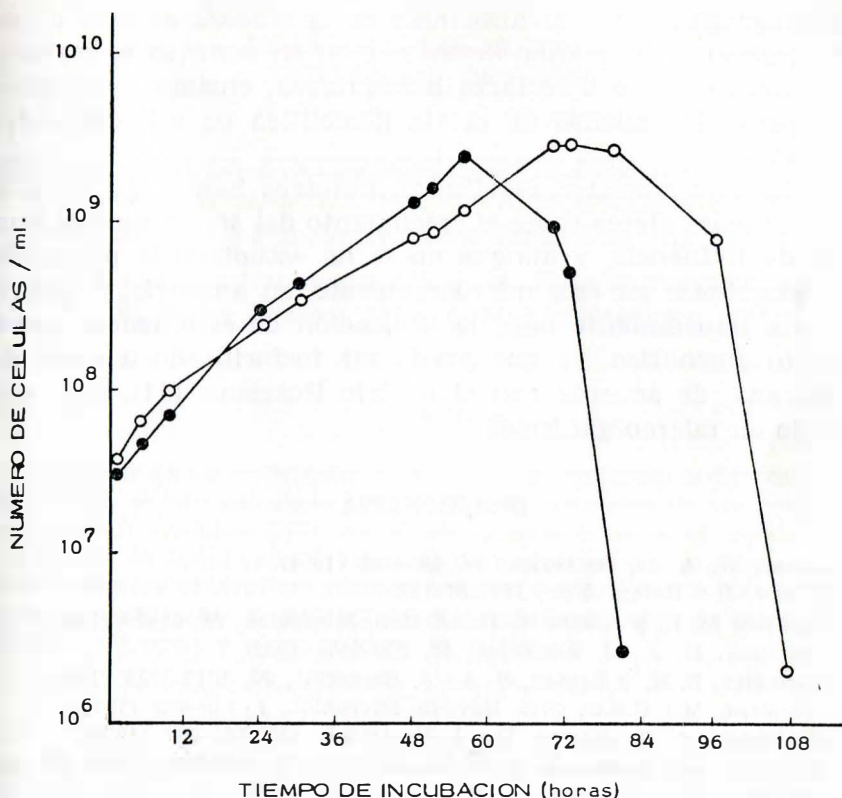


Figura 6.—Influencia de la glucosa (1%) sobre el crecimiento de *M. coralloides D* en medio CT 2% (○—○), referido al número de células/ml.  
Control sin glucosa (●—●).

lular, se dispara el proceso autolítico, siendo similares las pendientes de las gráficas correspondientes.

Por el momento resulta muy prematuro formular algún tipo de hipótesis que justifique los efectos anteriormente expuestos, dado que no existen estudios sobre la presencia de los enzimas necesarios para la utilización de la glucosa. Sin embargo, resultados de diversos experimentos llevados a cabo en nuestro laboratorio, y aún no publicados, indican que la glucosa es utilizada por *M. coralloides*, como fuente de energía en su metabolismo respiratorio, con un consumo de oxígeno apreciable.

Estos resultados son dispares a los publicados regularmente en la bibliografía, donde la influencia de la glucosa es muy discutida. Incluso se ha podido demostrar en *M. xanthus* el sorprendente hecho de no detectarse hexoquinasa, enzima imprescindible para el comienzo de la vía glucolítica en microorganismos (10).

Cifándonos a nuestros resultados, nosotros hemos de admitir que la glucosa ejerce sobre el crecimiento del *M. coralloides* una marcada influencia, y aunque no se ha estudiado la presencia de hexoquinasa en este microorganismo, su ausencia, a priori, no sería impedimento para la utilización de este azúcar como sustrato glucolítico, ya que puede ser fosforilizado a nivel de membrana, de acuerdo con el modelo Roseman (11), muy extendido en microorganismos.

#### BIBLIOGRAFIA

- 1.—CLARK, W. A.: J. Bacteriol., 67, 689-952 (1954).
- 2.—NOREN, B.: Botan. Nat., 108, 81-133.
- 3.—LOEBECK, M. E. y KLEIN, H. D.: J. Gen. Microbiol., 14, 65-70 (1956).
- 4.—DWORKIN, M. J.: J. Bacteriol., 84, 250-257 (1962).
- 5.—HEMPHILL, E. H. y ZAHLER, S. A.: J. Bacteriol., 95, 1018-1023 (1968).
- 6.—DWORKIN, M.: C.R.C. Crit. Rev. in Microbiol., 1, 435-452 (1972).
- 7.—BRETSCHER, A. P., KAISER, D.: J. Bacteriol., 133, 763-768 (1978).
- 8.—ARIAS, J. M., RODRIGUEZ, C. y MONTOYA, E.: Laboratorio, 370, 371-328 (1976).
- 9.—ARIAS, J. M. y MONTOYA, E.: Microbios Letters, 5, 81-84 (1978).
- 10.—WATSON, B. y DWORKIN, M.: J. Bacteriol., 96, 1465-1473 (1968).
- 11.—ROSEMAN, S.: Metabolic Pathways, 3.<sup>a</sup> ed., 6, Ed. Academic Press, New Yor (1972), pág. 41-88.