



ESTUDIO DE LA DESHIDRATACIÓN Y DEL TIEMPO DE ALMACENAMIENTO SOBRE LA ESTABILIDAD ESTRUCTURAL DE ESPORAS DE *Trichoderma harzianum*

Myriam Ortiz, Marco Fernández-Sandoval, Enrique Galindo y Leobardo Serrano-Carreón.

Departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México. Apdo. Post. 510-3, Cuernavaca, 62250 Morelos, México

Fax: (52) 777-3 13 88 11, e-mail: myriam@ibt.unam.mx

Palabras clave: deshidratación, estabilidad estructural, *Trichoderma harzianum*

Introducción. Los hongos del genero *Trichoderma* son ampliamente utilizados como agentes de control biológico. Se ha probado que las esporas tienen una mayor resistencia a procesos de formulación, secado y condiciones ambientales adversas (1). Sin embargo, los productos biológicos disponibles en el mercado presentan, generalmente, vidas de anaquel relativamente cortas en comparación con los fungicidas químicos. El objetivo de este trabajo fue estudiar los daños estructurales que sufren las esporas de *Trichoderma harzianum* en función del grado de deshidratación y las condiciones de almacenamiento (A_w y temperatura). La información generada con este trabajo permitirá establecer estrategias para prolongar la vida de anaquel de este tipo de productos.

Metodología. Las esporas se produjeron en biorreactores agitados de 10 L en medio rico. Una vez cosechadas las esporas, la deshidratación de muestras frescas se realizó en desecadores cerrados a diferentes actividades de agua (A_w) a 4°C. Una vez alcanzado el equilibrio entre la A_w del medio y la de las esporas, las muestras (dos subgrupos) fueron almacenadas a la misma A_w y a dos temperaturas de almacenamiento (4 y 25 °C). Se evaluó el porcentaje de sobrevivencia de las esporas durante el almacenamiento después de 75 días a las distintas A_w y dos temperaturas. La estabilidad estructural de las esporas se evaluó mediante la observación de las mismas en microscopía electrónica. La muestra fue incluida en resina LRW y la observación en el microscopio se realizó a un aumento de 50,000 X.

Resultados y discusión. Los resultados principales se resumen en la Figura 1. La temperatura de almacenamiento juega un papel importante en la preservación de las células. Como era esperado, las esporas conservadas en refrigeración mantuvieron una mayor viabilidad que aquellas almacenadas a 25 °C. Respecto al grado de deshidratación, las muestras conservadas a una $A_w = 0.5$ presentaron una mayor viabilidad. Considerando los efectos conjuntos de la deshidratación y la temperatura, se encontraron dos tendencias. A 4 °C solo las esporas conservadas a $A_w = 0.1$ sufrieron una disminución drástica de la viabilidad. Sin embargo, a 25 °C la viabilidad disminuyó dramáticamente en las esporas conservadas a $A_w = 0.1$ y 0.7. Analizando las micrografías es posible observar una desestabilización de la pared y de algunas membranas celulares en las muestras conservadas a 25 °C, lo cual no es evidente en las muestras conservadas a 4 °C.



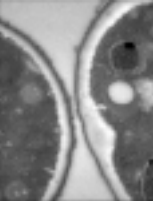
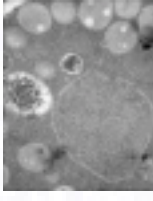
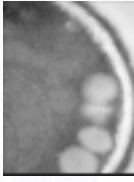
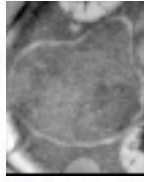
A_w	4 °C	25 °C
0.1	 Sobrevivencia = 36 %	 Sobrevivencia = 0 %
0.5	 Sobrevivencia = 80 %	 Sobrevivencia = 48 %
0.7	 Sobrevivencia = 68 %	 Sobrevivencia = 5 %

Figura 1. Comparación de la estabilidad estructural y viabilidad de esporas de *T. harzianum* a diferentes A_w y temperaturas de almacenamiento. Muestras almacenadas durante 75 días.

Conclusiones. La vida de anaquel de las esporas de *Trichoderma harzianum* depende tanto del grado de deshidratación como de la temperatura de almacenamiento. Una desestabilización de la estructura celular es evidente en las muestras conservadas a 25 °C. Considerando estos resultados, es posible inferir que - a esta temperatura - existen factores dependientes de las condiciones de almacenamiento como la oxidación de macromoléculas ($A_w = 0.1$) o la actividad metabólica residual ($A_w = 0.7$) que afectan considerablemente la estabilidad de las esporas.

Agradecimientos. DGAPA-UNAM (proyecto IN 203905-2), a la Dra. Guadalupe Zavala Padilla de la Unidad de Microscopía Electrónica / IBT por su colaboración en este trabajo.

Bibliografía.

1. Jones, K. A. and Burges, H. D. (1998). Technology of formulation and application.. Ed. Kluwer Academic, Dordrecht, pp 7-30.