

PRODUCCIÓN DE BIOMASA Y DE COMPUESTOS ANTIFÚNGICOS POR *Bacillus subtilis* CPA EN DOS MEDIOS DE CULTIVO

Lucio Rodríguez¹, Leopoldo Fucikovsky² y Enrique Galindo¹

¹Depto. de Ingeniería Celular y Biocatálisis. Instituto de Biotecnología/UNAM. A.P. 510-3, Cuernavaca, 62250

²Instituto de Fitosanidad, Colegio de Posgraduados, Montecillos-Texcoco, 56230 Edo. de México, México.

Morelos, México. Fax: (777) 313 8811, e-mail: lucio@ibt.unam.mx

Palabras clave: *Bacillus subtilis* CPA, compuestos antifúngicos

Introducción. La cepa de *Bacillus subtilis* CPA ha sido utilizada como agente de control biológico para antagonizar microorganismos como *Rhizoctonia solani*, que afectan cultivos de gran importancia como la papa (1). Esta cepa se ha cultivado en un medio preparado a base de una infusión de papa (1). Sin embargo, este medio puede presentar variaciones importantes en su composición y no es práctico si se pretende escalar el proceso de producción del antagonista. Por ello surge la necesidad de emplear un medio químicamente definido para el cultivo de esta bacteria. En el presente trabajo se comparó el crecimiento de *Bacillus subtilis* CPA en un medio preparado con papa y en un medio mineral. Asimismo, se realizaron ensayos *in vitro* para establecer si se producen compuestos antifúngicos resistentes al calor, observando su antagonismo sobre el crecimiento del hongo fitopatógeno *Rhizoctonia solani*.

Metodología. Se realizaron cultivos de *B. subtilis* CPA en matraces Erlenmeyer de 250 ml utilizando 25 ml de un medio preparado con papa (1) y de un medio mineral (2), respectivamente. Los cultivos se mantuvieron en agitación constante a 200 r.p.m., 30 °C por 48 horas (medio de papa) y 24 horas (medio mineral). Se determinaron las UFC/ml para cada cultivo. Se realizaron ensayos *in vitro* para observar si se producían compuestos antifúngicos estables a altas temperaturas en los dos medios utilizados. Se esterilizó (121 °C, 15 min) el filtrado libre de células de los cultivos y se depositaron 50 µl de éste filtrado en cuatro orificios equidistantes hechos en una caja de Petri con medio PDA, en donde se inoculó en el centro un explante de 5 mm de medio PDA con micelio del hongo fitopatógeno *Rhizoctonia solani*, previamente crecido. Las cajas se incubaron a 30 °C por 5 días y se evaluó el crecimiento del hongo, comparándolo con el testigo en donde también se inoculó *Rhizoctonia solani* pero sin añadir filtrado de los cultivos.

Resultados y discusión. La figura 1 muestra que las UFC/ml alcanzadas empleando el medio mineral fueron mayores (en un orden de magnitud) a las alcanzadas con el medio de papa y ello se logró en la mitad de tiempo. Esto se debe a la alta disponibilidad de nutrientes presentes en el medio mineral, en comparación con el medio elaborado con papa. En la figura 2 se observa la inhibición del crecimiento del patógeno en las cercanías de los orificios donde se depositó el filtrado (esterilizado) del medio mineral (caja 1). En el filtrado (esterilizado) del medio de cultivo elaborado con papa no se observó inhibición (caja 2) y el crecimiento de *R. solani* fue

similar al del testigo (caja 3). La inhibición se evidenció por la presencia de áreas de crecimiento de forma cuadrada, en lugar de la típica forma circular que se observa en ausencia del efecto inhibitorio. Para el testigo y el filtrado del medio de papa, el diámetro de la colonia de *R. solani* fue de 4.7 cm, mientras que para el caso del filtrado del medio mineral, el diámetro del cuadrado fue de 3.6 cm. Si bien la producción de compuestos antifúngicos producidos en el medio mineral se compara a una concentración celular mayor, estudios previos indicaron que el nivel de inhibición fue similar para concentraciones celulares similares a las obtenidas en el medio de papa.

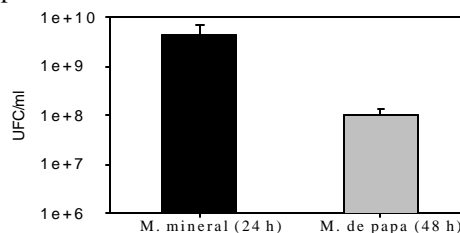
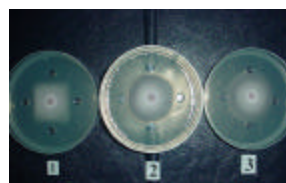


Fig 1. Crecimiento de *B. subtilis* CPA en medio mineral y en medio de papa.



1. Filtrado (M. Mineral)
2. Filtrado (M. de papa)
3. Testigo (sin filtrado)

Fig. 2. Crecimiento de *R. solani* en presencia de compuestos antifúngicos producidos por *B. subtilis* CPA.

Conclusiones. *B. subtilis* CPA mostró un mayor y más rápido crecimiento en el medio mineral y produjo compuestos antifúngicos estables a altas temperaturas, los cuales no fueron producidos en el medio elaborado con papa, por lo que ese medio tiene potencial para escalar el proceso de producción de éste antagonista.

Agradecimientos.

Financiamiento: CONACyT (beca de posgrado)

Bibliografía.

- Aranda, O. 1997. Evaluación de *Bacillus subtilis* como agente de control en enfermedades fúngicas del cultivo de papa y su efecto en el rendimiento bajo condiciones de invernadero. Tesis de Maestría. Colegio de Posgraduados.
- Patiño, V. M., Albiter, V., Ortíz, M., Jiménez, B., García, R., Carrillo, A., Allende, R., y Galindo, E. 2002. Escalamiento y desarrollo de dos formulados microbianos para su uso como agentes de control biológico contra la antracnosis en mango. Memorias del 3^{er} Simposio Internacional sobre Ingeniería de Bioprocesos. Cuernavaca, Morelos., p. 74.

