

EVALUACIÓN DE PARÁMETROS DE PROCESO EN LA PRODUCCIÓN DE CONIDIOS DE *Trichoderma harzianum* EN CULTIVO SUMERGIDO

Heber Gamboa, Vanessa Millán, Enrique Galindo y Leobardo Serrano
Instituto de Biotecnología-UNAM. Av. Universidad 2001. Colonia Chamilpa, Cuernavaca, Morelos

Fax: (777) 313 8811. e-mail: heber@ibt.unam.mx

Palabras clave: *Trichoderma harzianum*, esporulación, conidios.

Introducción. *Trichoderma harzianum* es un hongo filamentoso con un alto potencial como agente de control biológico sobre una amplia variedad de fitopatógenos (1). Los conidios de este hongo son el principal mecanismo de dispersión y sobrevivencia ante condiciones adversas. La esporulación, por su parte, es un proceso que se ve afectado principalmente por factores ambientales como la temperatura, pH, actividad de agua, luz, etc. y por factores nutricionales como el tipo y concentración de la fuente de carbono y nitrógeno (2,3).

En el presente trabajo se presenta el estudio de diversos factores ambientales y nutricionales, así como de proceso, en la producción de conidios de *Trichoderma harzianum* IMI206040 en cultivo sumergido, para su potencial uso como agente de control biológico.

Metodología. La primera etapa del estudio involucró la evaluación de dos concentraciones de glucosa (10 y 30 g/L), dos relaciones C/N (10 y 30) y dos temperaturas (29 y 32°C) mediante un diseño factorial 2^3 . En la segunda etapa se evaluó con un diseño factorial 2^2 la adición de extracto de levadura (EL; 0.5 g/L) y la actividad de agua adicionando glicerol (G; 9% v/v; Aw=0.95). Finalmente, en una tercera etapa se evaluó la potencia volumétrica (P/V) inicial manipulando la agitación y el cambio de medio de cultivo (medio rico a medio mínimo). Esta última etapa involucró el crecimiento de micelio hasta las 36 horas de cultivo a 200 rpm (0.26 W/L), posteriormente, por centrifugación fue separado el micelio del medio rico, inoculándolo al nuevo medio y en su caso se incrementó la agitación a 400 rpm (2.12 W/L). Se evaluó también una condición en la cual solo se incrementó la agitación a 400 rpm.

Resultados y discusión. Los parámetros estudiados en la primera etapa no tuvieron diferencias significativas en la producción de conidios, así como en la biomasa máxima alcanzada (2 g/L). Sin embargo, en términos de esporulación se alcanzaron altos rendimientos (8×10^{10} conidios/g biomasa), así como una alta viabilidad (94.5 %) por lo que se eligió la condición de 30 g/L de glucosa, C/N:10 y 29°C para los siguientes estudios. Los cultivos adicionados con EL (FEL y FGEL) favorecieron el crecimiento, alcanzándose el doble de la concentración (5.15 y 6.6 g/L) respecto a aquellos en los que no se adicionó el EL (F1-400 y FG). La producción máxima de conidios fue alcanzada (1.5×10^8 esporas/mL) con la adición únicamente de EL (FEL) a un tiempo de 72 horas de cultivo, lo que incrementó la productividad del proceso comparada con las condiciones restantes (figura 1).

Las figuras 2A y B muestran la producción de biomasa y el consumo de glucosa a diferentes P/V y con el cambio de medio de cultivo. En la etapa de crecimiento miceliar se alcanzaron

hasta 5 g/L a las 36 horas de cultivo en todas las condiciones. La máxima concentración de biomasa (14 g/L) fue aquella en la que se incrementó la P/V y se realizó el cambio de medio (FCE-200-400). Además, ésta fue la única condición que presentó esporulación, particularmente al agotarse la glucosa (96 horas de cultivo). La figura 2C muestra que la máxima producción de conidios fue obtenida en la condición FCE-200-400 (5.5×10^8 conidios/mL), la que fue 3 veces mayor que en el resto de las condiciones y estrategias probadas.

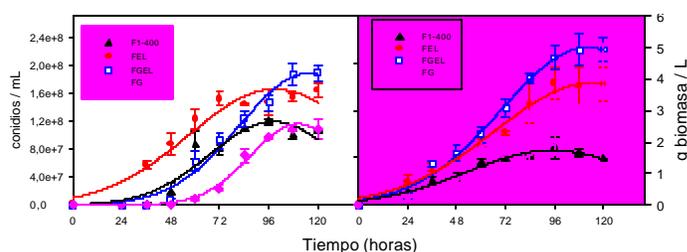


Figura 1. Producción de conidios y biomasa de *Trichoderma harzianum*.

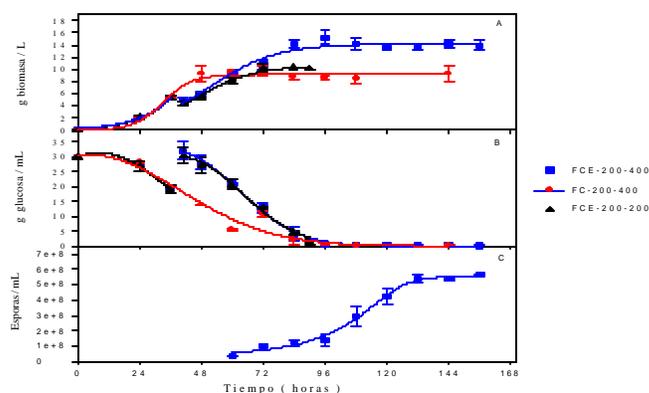


Figura 2. Producción de biomasa, conidios y consumo de sustrato del cultivo de *Trichoderma harzianum*.

Conclusiones. La adición de EL favorece el crecimiento miceliar, así como una esporulación temprana. La estrategia crecimiento-esporulación, cambiando el medio de cultivo y la P/V, incrementó sustancialmente la producción de conidios. El agotamiento de la fuente de carbono (glucosa), incrementó los niveles de esporulación.

Agradecimientos.

Financiamiento: Beca CONACyT y proyecto CONACyT Z00-1.

Bibliografía.

- Papavizas, G.C. 1985. Annual Review of Phytopathology 23:23-54.
- Jin, X., Taylor A.G. and Harman, G.E. 1996. Biological Control 7:267-274.
- Agosin, E., Volpe, D., Muñoz, G., San Martín, R., and Crawford, A. 1997. W. J of Microb. and Biotech. 13:225- 232.