



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



EFECTO DE LA ERITROMICINA EN LA GERMINACIÓN DE ESPORAS DE *Bacillus thuringiensis* pHTcry1kAc EN DOS MEDIOS DE CULTIVO.

Jabel Dinorín Téllez Girón, Pável Sierra Martínez, Víctor Eric López Y López, Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada, Tlaxcala C.P. 90700, vlopezyl@ipn.mx.

Palabras clave: *Bacillus thuringiensis*, Eritromicina, Propagación.

Introducción. El establecimiento de cinéticas de germinación de esporas del género *Bacillus* ya sea en cepas nativas o transformadas, es de suma importancia tanto a nivel básico como para el desarrollo o establecimiento de procesos a escala comercial. Estas cinéticas son necesarias para determinar posibles efectos de los medios de cultivos sobre sincronías de cultivos, diferenciación celular, optimización en la producción de productos de interés, etc. En *B. thuringiensis* se han realizado construcciones con genes reporteros y de resistencia para realizar distintos estudios, estos genes están contenidos en plásmidos.

El objetivo de este trabajo fue el de evaluar el efecto del antibiótico eritromicina en la cinética de germinación de esporas de la cepa transformada de *Bacillus thuringiensis* pHTcry1kAc en dos medios cultivos diferentes. Se evaluaron crecimiento, esporulación, producción de ácidos orgánicos y expresión del gen *cry1Ac*.

Metodología. Se utilizaron discos de esporas de la cepa de *B. thuringiensis* pHTcry1kAc conteniendo el promotor del gen de la proteína Cry1Ac. Estos discos fueron preparados a partir de cultivos en placa con eritromicina. Se inocularon los medios de Rowe (1) y Farrera et al. (2) con y sin eritromicina (1.5 µg/ml) (3) con un disco de esporas (1×10^7 esporas/disco). A los cultivos se les determinó: crecimiento y esporas microscópicamente en cámara de Neubauer; ácidos orgánicos mediante HPLC utilizando una columna C18, H₂SO₄ 0.005 M a 210 nm en UV-VIS y la expresión del gen *cry1Ac* mediante el ensayo de β-galactosidasa (4).

Resultados. Las cinéticas de germinación con esta cepa se muestran en la Fig. 1 con antibiótico (a y b), en medio de Rowe y Farrera respectivamente, y en la Fig. 2 sin antibiótico (a y b) en los mismos medios respectivamente. Se observa que en el medio de Rowe esta cepa germina primero, pero de manera más desordenada a comparación de la germinación en el medio de Farrera, que aunque germina después, éste tiene un crecimiento más uniforme y rápido de acuerdo a las velocidades de crecimiento específicas determinadas y que se muestran en la tabla 1.

Conclusiones. Se determinó que el antibiótico eritromicina solo retrasa la germinación de esporas de la cepa transformada *B. thuringiensis* pHTcry1kAc independientemente del medio del cultivo. Por lo que se

sugiere que para estas cepas con resistencia y el promotor del gen *cry1Ac* son más importantes las condiciones posteriores de los medios de cultivo en la germinación, que la del cultivo stock (discos de esporas).

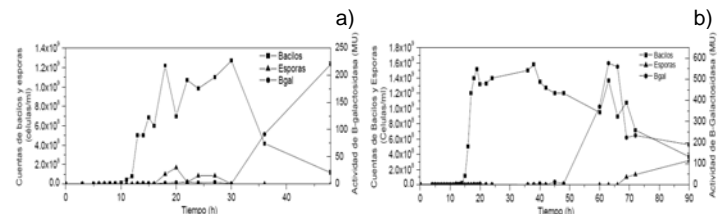


Fig. 1. Cinética de germinación de *BtpHTcry1kAc* con Eritromicina en a) Medio de Rowe y b) Medio de Farrera et al.

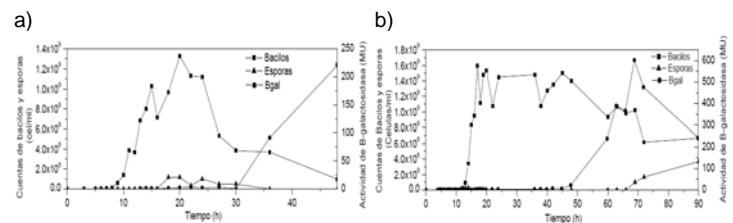


Fig. 1. Cinética de germinación de *BtpHTcry1kAc* sin Eritromicina en a) Medio de Rowe y b) Medio de Farrera et al.

Tabla 1. Velocidades específicas de crecimiento de *BtpHTcry1kAc*. μ , (h⁻¹).

Medio de Rowe		Medio de Farrera et al.	
Con antibiótico	Sin antibiótico	Con antibiótico	Sin antibiótico
1.0975	0.8993	1.3215	1.2229

Agradecimiento. Al proyecto Ciencia Básica 83057 y la beca otorgada por CONACyT. Núm. de becario:103991 y al proyecto SIP 20110347.

Bibliografía.

1. Rowe GE, Margaritis A (1994). *Journal of Fermentation and Bioengineering* vol (77): 503-507.
2. Farrera RR, Pérez-Guevara F, de la Torre M. (1998). *Appl Microbiol Biotechnol* (49): 758-765.
3. Sierra-Martínez P, Ibarra JE, de la Torre M, Olmedo G (2004). *Current microbiology*. (48): 153-158.
4. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. (1989). *Molecular cloning a laboratory manual* 2nd edition. Cold Spring Harbor Laboratory, 16.66-16.67.