

# ESTUDIOS SOBRE LA LIOFILIZACION DE ESPORAS DE *Trichoderma harzianum*

Myriam Ortiz<sup>1</sup>, Martín Patiño-Vera<sup>1</sup>, Enrique Galindo<sup>2</sup> y Leobardo Serrano-Carreón<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Unidad de Escalamiento y Planta Piloto, <sup>2</sup>Depto de Bioingeniería, UNAM,

Apdo. Post. 510-3, Cuernavaca, 62250 Morelos, MEXICO

Fax: (52) (7) 317 23 88, e-mail: myriam@ibt.unam.mx

Palabras clave: *Trichoderma*, esporas, viabilidad, liofilización

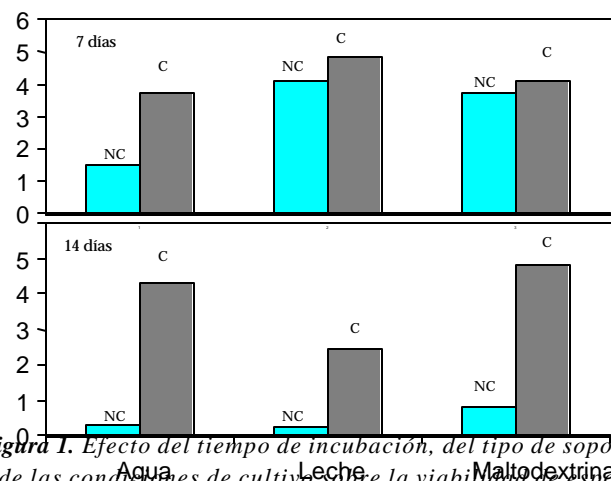
**Introducción.** Uno de los factores que más influencia en el desarrollo de un cultivo es la cantidad y la calidad del inóculo empleado. En el caso particular de cultivos miceliarios, las características del inóculo no solo influyen sobre el tiempo de proceso sino también sobre la morfología desarrollada por el cultivo y la productividad del mismo (1). *Trichoderma harzianum* es un hongo filamentoso cuyo interés radica en la producción de metabolitos primarios (celulasas, quitinasas xilanasas) y secundarios (aromas), así como agente de control biológico. Para estandarizar un proceso, uno de los métodos más utilizados a escala industrial, es el uso de cepas liofilizadas, como punto de partida en el desarrollo del inóculo. Los hongos son especialmente sensibles al proceso de liofilización (2). El objetivo de este trabajo fue el de evaluar el efecto de las condiciones de producción (temperatura, luz) así como de la edad y el tipo de crioprotector, sobre la viabilidad de esporas de *Trichoderma harzianum* después de un proceso de liofilización.

**Metodología.** Esporas de *Trichoderma harzianum* fueron producidas utilizando matraces Erlenmeyer de 250 mL con un volumen de trabajo de 20 mL de medio PDA. Los matraces se inocularon con  $1 \times 10^5$  esporas/mL. Se evaluaron dos condiciones de incubación: a) 30°C y suministro de luz constante (2 lámparas de luz de día de 20 W); b) incubación en condiciones ambientales (sin control). Los cultivos se incubaron durante 7 ó 14 días. Se utilizaron dos soportes o crioprotectores: maltodextrinas (“AMIDEX” de Arancia-cpc S.A.) al 20 % y leche descremada (“Svelty” de Nestlé) al 20 %. Como control se usó agua destilada. Posteriormente ésta suspensión (esporas y crioprotector) se liofilizó, empleando un equipo “Usifroid”. En la liofilización se usó un ciclo de congelación de 3 a 4 horas, hasta llegar a -50 °C. Una vez alcanzada ésta temperatura, inició el proceso de liofilización, el cual duró aproximadamente 12 horas a  $10^{-2}$  mbar. Los estudios se realizaron por triplicado. Se realizó la cuenta en placa de las unidades formadoras de colonias (UFC), haciendo diluciones, sembrando en caja (con medio PDA) e incubando a 30 °C durante 48 h. Este procedimiento se realizó antes y después de liofilizar, para calcular el porcentaje de viabilidad de las muestras liofilizadas.

**Resultados y Discusión.** En la figura 1 se muestran los resultados de la viabilidad de las esporas liofilizadas obtenidas a los 7 y 14 días de incubación. Las esporas de 7 días de edad presentaron

una mayor resistencia a la liofilización que aquellas obtenidas a los 14 días de incubación. Bajo condiciones de cultivo controladas (luz y temperatura) se encontró que las esporas producidas son más resistentes al proceso de liofilización, principalmente en el caso de las esporas de 14 días de edad. No se encontró un efecto significativo del tipo de soporte sobre la viabilidad de las esporas liofilizadas.

Viabilidad (%)



**Figura 1.** Efecto del tiempo de incubación, del tipo de soporte, y de las condiciones de cultivo sobre la viabilidad de esporas de *Trichoderma harzianum*. C: Temp. y luz controlada; NC: Sin control de Temp. y luz.

**Conclusiones.** Las esporas producidas bajo condiciones controladas de luz y temperatura presentaron mayor resistencia a la liofilización.

**Agradecimientos.** Se agradece el apoyo financiero del CONACyT (proyecto Z-001) y el apoyo técnico de M. A. Caro.

## Bibliografía

- Braun, S. and Vecht Lifshitz, S. E. (1991). Mycelial morphology and metabolite production. TIBTECH. 9: 63: 63-68.
- Soina, V.S., Vorobiova, E. A., Zvyagintsev, D. G. and Gilichinsky, D. A. (1995). Preservation of cell structures in permafrost: A model for exobiology. Adv. Space Res. 15 (3):237-242.