

# EFECTO DE LA LUZ Y DEL AZUL DE METILENO EN LA ESPORULACIÓN DE *Trichoderma harzianum*

Natalia Rilla<sup>1</sup>, Heber Gamboa<sup>2</sup>, Martín Patiño<sup>2</sup>, Enrique Galindo<sup>2</sup> y Leobardo Serrano-Carreón<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Productos Lácteos de Asturias/CSIC. Carretera de Infiesto, s/n. Apdo. 85. 33300 Villaviciosa. Asturias.

ESPAÑA. Fax: +34 985892233. E-mail: nrilla@hotmail.com

<sup>2</sup>Depto. de Bioingeniería. Instituto de Biotecnología/UNAM. A.P. 510-3, Cuernavaca, Mor, 62290, MÉXICO

Palabras clave: *Trichoderma harzianum*, azul de metileno, esporulación.

**Introducción.** La luz es un factor que afecta a la esporulación de hongos (1). En concreto, la esporulación de *T. harzianum* es un fenómeno inducido por la luz azul. Este efecto inductor de la luz azul puede ser reemplazado por sustancias químicas (2). El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto del azul de metileno sobre la esporulación de *T. harzianum*.

**Metodología.** Los ensayos se realizaron en biorreactores de 14 litros (New Brunswick Scientific, modelo FS-314), usando un medio de cultivo sintético, antiespumante (1.25 mL/L) y azul de metileno (en su caso) 30  $\mu$ M. El volumen de trabajo fue de 5 litros, agitación de 500 rpm con una turbina Rushton de 10.5 cm, flujo de aire de 0.5 vvm y a 32°C. Los biorreactores se inocularon con  $10^5$  esporas/mL.

**Resultados y discusión.** En la figura 1A se muestra el efecto que tiene la adición de azul de metileno sobre la esporulación de *T. harzianum* en presencia de luz. En el cultivo control, la máxima esporulación se alcanza a las 136 horas ( $4.3 \times 10^{10}$  esporas/g), mientras que en el medio con azul de metileno se alcanza a las 112 horas con un valor de  $5.6 \times 10^{10}$  esporas/g. Por otro lado, la presencia de dicho compuesto en el medio retrasa la germinación del inóculo.

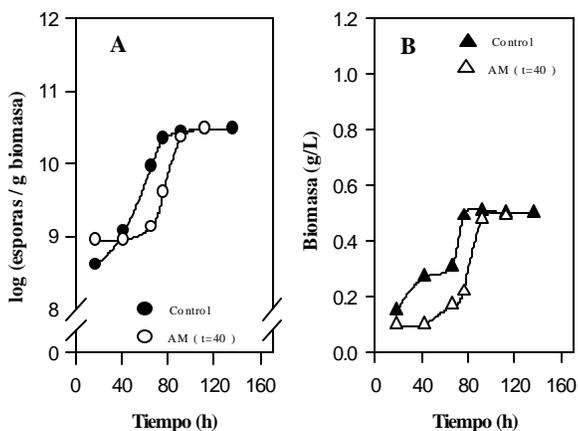


Figura 1. Esporulación de *T. harzianum* en presencia de luz. Control (sin azul de metileno) y AM (con azul de metileno).

En consecuencia, se decidió estudiar el efecto del azul de metileno adicionándolo a las 40 horas. En vista de que el

proceso en oscuridad es más sencillo de escalar, los siguientes experimentos se llevaron a cabo en oscuridad.

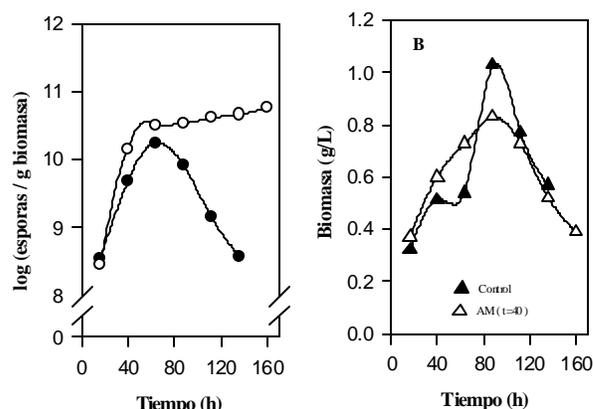


Figura 2. Esporulación de *T. harzianum* en oscuridad.

El desarrollo micelial fue mucho más rápido en la oscuridad (figura 2B) que en presencia de luz (figura 1B). Además, la presencia del azul de metileno en el medio induce la esporulación, alcanzándose (a las 64 horas)  $2.4 \times 10^7$  esporas/mL frente a  $8.9 \times 10^6$  esporas/mL en el control. La máxima esporulación se alcanza a las 160 horas ( $5.9 \times 10^{10}$  esporas/g), mientras que, en el control, a este tiempo es mucho menor ( $3.7 \times 10^8$  esporas/g), (figura 2A). Este hecho se debe al descenso de biomasa debida a lisis (figura 2B).

**Conclusión.** El azul de metileno retrasa la germinación e incrementa, en oscuridad, la esporulación de *T. harzianum*. Estas condiciones son muy convenientes para la producción de esporas a gran escala.

**Agradecimientos.** Se agradece el apoyo financiero del CONACyT (proyecto Z001) y de la Agencia Española de Cooperación Internacional (AECI/Ministerio de Asuntos Exteriores Español).

## Bibliografía

- Deacon, J. W. (1980). Environmental conditions for growth: tolerance of extremes. En: *Introduction to Modern Mycology*. Wilkinson, J. F., Blackwell Scientific Publications, 88-95.
- Gupta, R.; Saxena, R. K. and Goel, S. (1997). Photoinduced sporulation in *T. harzianum*, an experimental approach to primary events. *W. J. Microbiol. & Biotechnol.* **13**: 249-250.