

DEFINICIÓN DE LAS CONDICIONES DE CULTIVO PARA LA PRODUCCIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS CON ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA POR *Beauveria bassiana* PQ2

José Guadalupe Ávila-Hernández¹, María Luisa Carrillo-Inungaray¹, Jorge E. Wong-Paz², Diana B. Muñiz-Márquez², Juan A. Ascacio-Valdés³, Pedro Aguilar-Zárate². ¹Unidad Académica Multidisciplinaria Zona Huasteca, Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Romualdo del Campo 501, Rafael Curiel, Ciudad Valles, San Luis Potosí, México. C.P. 79060. ²Instituto Tecnológico de Ciudad Valles, Tecnológico Nacional de México. Carretera al Ingenio Plan de Ayala Km. 2, Vista Hermosa, Ciudad Valles, San Luis Potosí, México. C.P. 79010. ³Departamento de Investigación en Alimentos, Universidad Autónoma de Coahuila, Venustiano Carranza S/N, República Oriente, Saltillo, Coahuila, México. C.P. 25280. pedro.aguilar@tecvalles.mx

Palabras clave: Taguchi DOE, oosporeína, control biológico.

Introducción. *Beauveria bassiana* es un hongo entomopatógeno utilizado como agente de control biológico (1). Dentro de su proceso de infección en insectos se ha observado la producción de metabolitos secundarios con efecto antimicrobiano (2). La importancia de producirlos *in vitro* y evaluar su eficacia contra plagas como hongos fitopatógenos ha generado interés alrededor del mundo. Por lo que el objetivo del presente trabajo fue definir las condiciones de producción de metabolitos antifúngicos por *B. bassiana* en cultivo sumergido y evaluar su efecto contra *Colletotrichum* sp.

Metodología. Se utilizó la metodología de Taguchi y un arreglo ortogonal L18 ($2^1 \times 3^7$) para definir las condiciones de cultivo líquido de *Beauveria bassiana* PQ2. Se emplearon las siguientes condiciones: pH (5, 6); agitación (150, 200, 250 rpm), sacarosa (12.5, 25, 37.5 g/L); extracto de levadura (2.5, 5, 10 g/L); KH_2PO_4 (0.2, 0.4, 0.8 g/L); MgSO_4 (0.3, 0.6, 1.2 g/L); NH_4NO_3 (0.05, 0.1, 0.2 g/L); CaCl_2 (0.2, 0.4, 0.8 g/L). Se evaluó el efecto antifúngico de los extractos obtenidos contra *Colletotrichum* sp., mediante la técnica de medio envenenado (3) con la finalidad de disminuir la velocidad de crecimiento. Los datos obtenidos fueron analizados en el software *Statistica* 7. El análisis se realizó utilizando la relación señal/ruido (S/N) y la condición -entre más bajo es mejor-, para obtener las condiciones óptimas de cultivo, las cuales se validaron en biorreactores columna de burbujeo. Se desarrollaron pruebas antifúngicas incluyendo un ensayo de germinación (4). El extracto fermentado fue caracterizado por RP-HPLC-ESI-MS/MS.

Resultados. La agitación fue el factor con mayor contribución (25.34 %) para reducir la velocidad de crecimiento de *Colletotrichum* sp. y en menor porcentaje el fosfato (0.64 %). Se obtuvieron las condiciones de cultivo óptimas (Tabla 1). En la etapa de validación, el extracto fermentado inhibió la germinación de las esporas de *Colletotrichum* sp en un 100% a las 24 h. No se logró inhibir el crecimiento micelial por completo, pero sí

disminuir la velocidad de crecimiento. En cuestión de la robustez del diseño experimental expresado como la relación señal ruido (S/N), ésta fue mayor a la esperada, lo cual indica calidad y reproducibilidad de las condiciones obtenidas. Por otro lado, se identificó el metabolito oosporeína (m/z 304.9 [M-H]⁻) como el componente principal en el extracto fermentado (Fig. 2).

Tabla 1. Condiciones óptimas de cultivo.

Factores	Nivel	Valor	Contribución
pH	1	5	0.05
Agitación	3	250	0.12
Sacarosa (g/L ⁻¹)	3	37.5	0.07
Extracto de levadura (g/L ⁻¹)	3	10	0.09
KH_2PO_4 (g/L ⁻¹)	3	0.8	0.03
MgSO_4 (g/L ⁻¹)	3	1.2	0.10
NH_4NO_3 (g/L ⁻¹)	2	0.1	0.11
CaCl_2 (g/L ⁻¹)	2	0.4	0.17
Expectativa (S/N)		9.458911	
Validación experimental (S/N)		12.47849381	

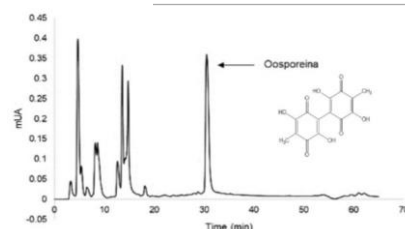


Fig. 2. Identificación cromatográfica de oosporeína en el extracto fermentado.

Conclusiones. Es posible producir oosporeína por *B. bassiana* PQ2 con las condiciones de cultivo definidas y utilizando biorreactor columna de burbujeo. Se requiere concentrar o purificar el compuesto obtenido y evaluarse con otros hongos fitopatógenos, así como bacterias.

Agradecimientos. Este trabajo ha sido financiado por el proyecto TecNM 6691.18-P.

Bibliografía.

- Zimmermann, G (2007) *Biocontrol Sci Technol*. 17 (6): 553-596.
- Mascarín, G & Jaronski, T (2014) *World J. Microbiol. Biotechnol*. 32 (11): 117.
- Balouri, M., Sadiki, M & Ibsouda, S (2016) *J Pharm Anal*. 6 (2): 71-79.
- Costa, L et al. (2015) *Cienc Agron*. 46 (2): 248-235.

