INFLUENCIA DE LA PREPARACIÓN DEL EXTRACTO DE SUELO EN EL CRECIMIENTO Y LA PRODUCCIÓN DE POLIHIDROXIBUTIRATO POR *RHIZOBIUM TROPICI* CEPA 3

Yuliet Franco Cardoza,[1] Gretel Gómez Jiménez[2] y Jorge Martínez Silva[3]

[1] *Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 no. 514 e/ 5.ª B y 5.ª F, Playa, Ciudad de La Habana, CP 11600*

[2] *Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. Carretera a Tapaste Km 3½, San José de Las Lajas, La Habana, Gaveta Postal 1*

[3] *Centro de Estudio de Proteínas. Facultad de Biología, Universidad de La Habana, Calle 25 no. 455, Ciudad de La Habana, CP 10400*

Las bacterias diazótrofas del género *Rhizobium* son capaces de producir poli-β-hidroxibutirato (PHB), un polímero biodegradable constituido por monómeros de β-hidroxibutirato. Entre los usos más frecuentes de este biopolímero está la fabricación de envases para diferentes productos de limpieza y farmacéuticos. También pueden emplearse en el área médico-farmacéutica para la fabricación de prótesis, hilos de sutura y cápsulas que liberan los medicamentos lentamente al torrente sanguíneo, ya que son biocompatibles y fácilmente absorbidos por el organismo [Bohmert *et al.*, 2002].

El uso del PHB puede contribuir a la disminución de la contaminación ambiental provocada, entre otras causas, por el crecimiento industrial, la urbanización y las malas prácticas agrícolas, ya que al ser biodegradable se garantiza su desaparición del ambiente en un tiempo mucho menor que el de los plásticos basados en el petróleo, y además no se emplean tecnologías contaminantes en su producción [Franco, 2003].

El medio S [Lasala, 2000], utilizado para el crecimiento y para la producción de PHB por *Rhizobium tropici* y otras rizobiaceas, tiene entre sus componentes el extracto de suelo [Atlas y Park, 1993]. La elaboración de este extracto resulta trabajosa, pues primero se debe esterilizar durante una hora, luego filtrar al vacío y por último centrifugar durante 20 min. Dadas las dificultades de este proceso, tanto a escala de laboratorio como industrial, en estudios anteriores se trató de sustituir este componente por una solución salina de microelementos y vitaminas, pero la cepa 3 de *Rhizobium tropici* perteneciente al cepario del Departamento de Microbiología del Centro de Estudio de Proteínas de la Facultad de Biología no creció bajo esas condiciones [Careaga, 1999].

Como solución alternativa a esta dificultad se realizó este estudio con el objetivo de determinar la influencia de la forma de preparación del extracto de suelo sobre el crecimiento y la producción de PHB por *R. tropici* cepa 3.

Se utilizaron erlermeyers de 100 mL con 20 mL de medio S líquido preparado con extracto de suelo esterilizado y sin esterilizar. Cada erlenmeyer se inoculó con 2 mL (10% del volumen final) de un cultivo preinóculo de 24 h preparado a partir de la bacteria crecida en medio S sólido. El cultivo se mantuvo en agitación en zaranda orbital a 70 rpm y 30 ± 2ºC durante 24 h. Posteriormente se monitoreó el crecimiento y la producción de PHB mediante la medición en espectrofotómetro de la densidad óptica a 650 nm para el primero y a 214 nm para el segundo, según el procedimiento descrito por Careaga (1999). Se utilizaron seis réplicas para cada tratamiento. A los resultados se les realizó un análisis de varianza de clasificación simple (ANOVA) con el programa Statistica 4.0.

No hubo diferencias significativas entre los tratamientos en el crecimiento bacteriano ni en la producción del polímero (*Tabla I*). Estos resultados indican que se puede emplear el extracto de suelo sin tener que someterlo a tratamiento térmico durante 1 h, lo cual resulta beneficioso, pues implica menor gasto energético del proceso y más facilidad para su elaboración a mayor escala.

Tabla 1. Densidad óptica para el crecimiento (650 nm) y la producción de PHB (214 nm) en los extractos estudiados

PHB	Extracto sin esterilizar	Extracto esterilizado
Crecimiento (X ± ES)	3,30 ± 0,05 a	3,43 ± 0,08 a
Producción de PHB (X ± ES)	1,16 ± 0,03 b	1,28 ± 0,10 b

Letras iguales indican que no hay diferencias significativas para p 0,05.

REFERENCIAS

Atlas, R. M.; L. C. Parks: *Handbook of Microbiological Media*, CRC Press, Boca Ratón, Florida, 1993.

Bohmert, K.; I. Balbo; A. Steinbüchel; G. Tischendorf; L. Willmitzer: «Constitutive Expression of the Ketothiolase Gene in Transgenic Plants. A Major Obstacle for Obtaining Polyhydroxybutyrate-Producing Plants», *Plant Physiol*. 128:1282-1290, 2002.

Careaga, Z.: «Producción de poli-β-hidroxibutirato en un medio simple por una cepa de *Rhizobium tropici*», Trabajo de Diploma, Facultad de Biología, Universidad de La Habana, 1999.

Franco, Yuliet: «Optimización de la agitación-aeración en fermentador de 7L para la producción de polihidroxibutirato. Escalado del proceso a 75 L», Trabajo de Diploma. Facultad de Biología, Universidad de La Habana, 2003.

Lasala, Fátima: «*Mesorhizobium plurifarium* 4033, una nueva especie productora de polihidroxialcanoatos (PHAs); estudio de la síntesis a escala de zaranda», Trabajo de Diploma, Facultad de Biología, Universidad de La Habana, 2000.