

LEVADURAS AISLADAS DE KÉFIR DE AGUA: POTENCIAL PROBIÓTICO Y SU EFECTO SOBRE *Paenibacillus larvae*

Rodríguez MA^{1,2}, Díaz ML^{3,4}, Fernández LA^{2,3,5}, Reynaldi FJ^{5,6}

(1) Comisión de Investigaciones Científicas (CIC). (2) Laboratorio de Estudios Apícolas (CIC), Dpto. de Agronomía, Universidad Nacional del Sur (UNS), B. Bca., Bs As. (3) Dpto. de Biología, Bioquímica y Farmacia, UNS, B. Bca., Bs As. (4) CERZOS (CONICET-UNS), B. Bca., Bs As. (5) CONICET (6) CEMIBA, Facultad de Cs. Vet., UNLP, La Plata, Bs As.

Objetivo

Evaluar el efecto sobre *Paenibacillus larvae* de sustancias solubles liberadas por levaduras aisladas de kéfir de agua para utilizarlas como probióticos para *Apis mellifera* L.



Fig.1. Kéfir de agua y aislamiento de levaduras en medio HyL

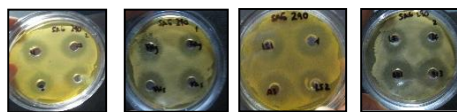


Fig 2. Halos de inhibición del crecimiento de *P. larvae*

Materiales y métodos

1. Aislamiento de levaduras del kéfir (Fig.1): diluciones decimales, siembra en medio Hongos y Levaduras, incubación a 25°C en aerobiosis.
2. Evaluación de actividad antimicrobiana frente a *P. larvae* (UB-CIDEFI PL105, AR1, AR2, LF1):
Difusión en agar en medio MYPGP con sobrenadantes de levaduras, incubación a 37°C en aerobiosis – Medición halos de inhibición del crecimiento de *P. larvae* a 48 y 72 hs. (Fig. 2).
3. Pruebas probióticas: tolerancia a pH ácido (3, 4, 5), altas concentraciones de NaCl (2; 4; 6,5; 10 %), diferentes temperaturas (10°, 35°, 45°C) y tolerancia osmótica (30, 50, 70 % jarabe).
4. Caracterización molecular de aislamientos con distinta morfología: secuenciación de la región nuclear ITS, primers ITS1F e ITS4.

Resultados

1. Se obtuvieron **24 aislamientos** de levaduras a partir de kéfir fermentado por 48 hs.
2. **Actividad inhibitoria de levaduras frente a *P. larvae*.**

	UB-CIDEFI PL105				AR1				AR2				LF1			
Inhibición	-	++	+++	++++	-	++	+++	++++	-	++	+++	++++	-	++	+++	++++
N° levaduras	11	6	7	0	0	0	6	18	0	2	14	8	0	6	7	11

Escala cualitativa halos de inhibición:

No inhibe (-); Buena inhibición (++) [5 - 7 mm]; Muy buena (+++) [7 - 9 mm]; Excelente (++++) [9 - 12 mm]

3. Pruebas probióticas:

pH: un aislamiento resistió a pH 3 y todos a pH 4 y 5.

NaCl: todos resistieron las concentraciones 2; 4; 6,5 y 10 %.

Temperatura: todos crecieron a 10°C, a 35°C presentaron mayor crecimiento y no se observó crecimiento a 45°C.

Tolerancia osmótica: todos toleraron las tres concentraciones de jarabe 30, 50 y 70 %.

4. Identificación de levaduras: identidad del 98,59 - 99,88 % con *Saccharomyces cerevisiae* (CP046092.1).

Conclusiones

Estos ensayos permitieron aislar y caracterizar **levaduras** del kéfir de agua con excelente **potencial probiótico** y **capacidad inhibitoria frente al patógeno *P. larvae*** y generar una colección de levaduras probióticas para ser utilizadas en **alimentación de abejas**.