

Universitas

ISSN 0122-7483

Scientiarum

Vol 6 No. 2

Julio - Diciembre 2001



PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
Revista de la Facultad de Ciencias



EFFECTO ANTAGÓNICO DE *Zymomonas mobilis* spp. FRENTE A *Salmonella* sp. y *Proteus mirabilis*

Claudia M. Maldonado, Martín A. Bayona, Raúl A. Poutou

Laboratorio de Biotecnología Aplicada. Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. Carrera 7 n° 40-82 Bogotá, D.C., Colombia, Sur América. Correo electrónico: mbayona@javeriana.edu.co

RESUMEN

Se emplearon dos métodos microbiológicos para estudiar el antagonismo de 5 cepas de *Zymomonas mobilis* spp., frente a *Proteus mirabilis* y *Salmonella* sp. el método clásico de Ritter y el método ecométrico modificado. En el presente trabajo se demostró el efecto antagónico de *Zymomonas mobilis* 560, *Zymomonas mobilis mobilis* 1 y *Zymomonas mobilis pomaceae* 1 al inhibir el crecimiento de *Proteus mirabilis* y *Salmonella* sp.; antagonismo que fue corroborado con el método ecométrico modificado; en el cual valores de ICA inferiores a 2 alternaban con halos de inhibición que oscilaban entre los 3 y 10 mm de diámetro.

Palabras clave: antagonismo microbiano, método ecométrico modificado, *Proteus mirabilis*, *Salmonella* sp., *Zymomonas mobilis* sp.

ABSTRACT

Two methods were employed in this work to study the antagonism of 5 strains of *Zymomonas mobilis* spp. versus *Proteus mirabilis* and *Salmonella* sp: the classic method of Ritter and a modified ecometric method. The results obtained showed the antagonistic effect of *Zymomonas mobilis* 560, *Zymomonas mobilis mobilis* 1 and *Zymomonas mobilis pomaceae* 1 when inhibit the growth of *Proteus mirabilis* and *Salmonella* sp; antagonism that was corroborated with the modified ecometric method; in which ICA values lower than 2, alternated with inhibition areas that oscillated between the 3 and 10 mm of diameter.

Key words: Microbial antagonism, Modified Ecometric Method, *Proteus mirabilis*, *Salmonella* sp., *Zymomonas mobilis* spp.

INTRODUCCIÓN

Los patógenos empleados en este estudio aparecen en procesos infecciosos como, diarrea, disentería y septicemias como la causada por la fiebre tifoidea; igualmente aparecen en casos de neumonía cuyo agente etiológico es *Klebsiella pneumoniae*; gérmenes como *E. coli*, *Proteus* spp., *Klebsiella* sp. y *Enterobacter* sp., pueden encontrarse en heridas traumáticas y en incisiones abdominales posteriores a cirugía (Koneman E., et al, 1999). Este tipo de patógenos se ha convertido en un problema de salud pública, debido a la alta prevalencia y a la resistencia antimicrobiana

desarrollada; lo que ha facilitado la transmisión horizontal y vertical de los mecanismos moleculares de resistencia, haciendo más difícil los tratamientos posteriores e incrementa su costo (Poutou R.A., et al, 1999). En la actualidad se utilizan los probióticos, sustancias de carácter nutritivo suplementadas con microorganismos que regulan el pH intestinal, producen vitaminas, regulan la carga microbiana patógena; resultando en productos beneficiosos para el hombre; por otra parte estudios realizados en Brasil reportan la aplicación terapéutica de *Zymomonas mobilis* sp., en casos de infecciones ginecológicas, sin haber encontrado actividad antagónica

(Calazas G., *et al*, 1997). El presente trabajo evalúa el efecto antagonístico de cepas de *Zymomonas mobilis* spp. frente a *Salmonella* sp., y *Proteus mirabilis*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área y tipo de estudio

Este es un trabajo observacional-descriptivo, y fue realizado en el Laboratorio de Biotecnología Aplicada, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias de la Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, D.C. Colombia, Sur América.

Microorganismos empleados, confirmación bioquímica y conservación

Se utilizaron 5 cepas de *Zymomonas mobilis* previamente caracterizadas como: *Zymomonas mobilis* 560 (Zm 560) de la colección española de cultivos tipo (CECT); ATCC 29191. *Zymomonas mobilis mobilis* 1 y 2 (Zmm1, Zmm2) y *Zymomonas mobilis pomaceae* 1 y 2 (Zmp1, Zmp2), previamente caracterizadas y conservadas en medio líquido estándar (MLS), (extracto de levadura 0.5 g/l, D-glucosa 2 g/l, ciclohexamida 0.004 g/l, penicilina 0.004 g/l + glicerol 30% v/v) a -70°C, provenientes de la colección bacteriana del Laboratorio de Biotecnología Aplicada (Amador E., *et al.*, 1994; Poutou R., *et al.*, 1994; Poutou R.A. *et al.*, 2000). Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, D.C., Colombia, Sur América. Los microorganismos patógenos empleados fueron *Proteus mirabilis* y *Salmonella* sp, proporcionados por el Laboratorio de Microbiología Especial, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, D.C., Colombia, Sur América.

La confirmación de las cepas patógenas se realizó empleando el sistema Api 20 (bio Merieux, Inc). El sistema fue inoculado con una suspensión de cada microorganismo en solución salina al 0.85% p/v; se incubó a 37°C

durante 12 h. La interpretación de las reacciones produjo un número de biotipo que fue incorporado en una base de datos electrónica para la identificación. A partir de las cepas patógenas se preparó un inóculo en 25 ml de caldo tetrationato en agitación a 200 r.p.m. durante 48 horas, posteriormente se mezcló el cultivo axénico con igual volumen de caldo Tetrationato suplementado con glicerol al 60% v/v, para una concentración final de glicerol de 30% v/v. Las alícuotas de 1 ml fueron conservadas a -70°C (Amador E., *et al.*, 1994; Poutou R., *et al*, 1994). Una vez conservadas las cepas se evaluó la pureza y la viabilidad por coloración de Gram y recuento en medios específicos (Koneman E., *et al.*, 1999).

Método ecométrico

Este método permitió seleccionar el medio de cultivo óptimo para el crecimiento de los microorganismos. Las diferentes cepas de Zm fueron estriadas en agar Muller Hinton y se incubaron a 30°C por 24-48 h en microaerofilia; posteriormente se leyó el índice de crecimiento absoluto —ICA—. Las cepas patógenas se estriaron en agar WL (extracto de levadura 4 g/l, hidrolizado de caseína 5 g/l, D-glucosa 50 g/l, KH₂PO₄ 0.55 g/l, KCl 0.425 g/l, CaCl₂ 0.125 g/l, MgSO₄ 125 g/l, FeCl₃ 0.0025 g/l, MnSO₄ 0.0025 g/l, verde bromocresol 0.022 g/l, Agar-agar 15 g/l, pH 5.5 +/- 0.2). Las cajas igualmente divididas en 4 cuadrantes con las 5 estrías paralelas por cuadrante y una central se incubaron a 37°C durante 24-48 h y se leyó el ICA (Martínez M., *et al.*, 1999).

Cinética de crecimiento de las cepas de *Zymomonas mobilis*

Las cepas de *Zymomonas mobilis* fueron sembradas en precultivos con 5 ml de medio MLS y se cultivaron a 30°C a 150 r.p.m. durante 3 días en microaerofilia; pasado este tiempo se inocularon 50 ml de MLS; con este volumen se inoculó 200 ml MLS fresco durante 24 horas bajo similares condiciones de cultivo; la cinética de crecimiento fue evaluada por den-

sidad óptica a 540 nm cada 2 horas. De cada muestra se obtuvo cultivo total, sobrenadante y "peller"; estos últimos se obtuvieron por centrifugación a 4.000 r.p.m. durante 15 minutos a temperatura ambiente. Los datos de la cinética fueron ajustados a un modelo de máxima similitud (Pedroza A.M., *et al.*, 1997) definido por la fórmula:

$$(Abs_{max} / (1 + e^{(Abs_{media} * T_{medio} - T_{real de fermentación})})),$$

Donde:

Abs_{max} = Abs máxima alcanzada por el microorganismo;

Abs_{media} = 1/2 Abs máxima alcanzada por el microorganismo;

T_{medio} = tiempo que demora el microorganismo en alcanzar la Abs_{media} ;

$T_{real de fermentación}$ = horas de muestreo en la fermentación.

Prueba de susceptibilidad antimicrobiana

Se realizó el método de difusión en placa de Kirby - Bauer con los siguientes antimicrobianos: eritromicina (15 mg), gentamicina (10 mg), tetraciclina (30 mg), aztreonam (30 mg), ácido nalidixico (30 mg), norfloxacina (10 mg), ciprofloxacina (10 mg), citrofurantoina (300 mg), cloranfenicol (30 mg) (Thornsberry C., 1991).

Métodos para la detección del antagonismo

Para determinar el efecto de las cepas de Zm sobre los agentes patógenos, se realizaron los siguientes métodos:

Método de Ritter (Farias M., 1994). La cepas de Zm fueron cultivadas en MLS, con atmósfera de CO₂, bajo las condiciones descritas previamente. Por otra parte se utilizó una suspensión de los microorganismos patógenos, en caldo BHI igualando al patrón 0.5 de Mc Farland, y se realizó una siembra masiva de

estos sobre medio WL agar. Una vez sembrados los patógenos se perforaron pozos de 5 mm de diámetro en el agar, los que fueron inundados con "peller" resuspendido en NaCl 0,85% p/v, sobrenadante y cultivo total de las diferentes horas de fermentación de las cepas de Zm. Las cajas se incubaron a 30°C por 24 horas; tiempo después del cual se leyeron los halos de inhibición.

Método ecométrico modificado (Martín A. Bayona)

La modificación consistió en mezclar con el agar a emplear en el método ecométrico tradicional el cultivo de Zm en una proporción medio: microorganismo de 1:3. Con esta mezcla se sirvieron las cajas de "petri" y se procedió normalmente según lo descrito anteriormente.

Todos los resultados obtenidos provienen de promediar al menos 3 réplicas de cada experimento.

RESULTADOS

Reidentificación bioquímica de las cepas

Después de 4 días de crecimiento, para Zm se observaron colonias puntiformes, con bordes regulares, cremosas, convexas - lisas de color verde; presentando acidificación en el medio de cultivo. Microscópicamente se observaron bacilos y cocobacilos Gram negativos, pleomórficos en forma de cadena, rosetas y filamentos, que se ajustan a las características macro y microscópicas de Zm (Poutou, R.A., *et al.*, 2000).

La coloración de Gram y los resultados del sistema Api 20 correspondieron con lo reportado según Bergey's 1994 para los microorganismos patógenos.

Método ecométrico

Las cepas patógenas presentaron crecimiento en todos los medios en que fueron sembradas;

sin cambios en la morfología de las colonias o en su tamaño. En el caso de las cepas de *Zymomonas mobilis spp.*, se evidenció un crecimiento pobre en agar Muller Hilton (tabla 1).

Antibiograma

Una vez determinados los diámetros de las zonas de inhibición para cada antibiótico, se encontró que los antibióticos con mayor efectividad eran gentamicina (10 mg) y aztreonan (30 mg); por esta razón se usaron como controles positivos para los métodos de estudio del antagonismo (tabla 2). *Proteus mirabilis* resultó ser resistente a la tetraciclina (30 mg).

Cinética de crecimiento

La cinética de crecimiento de Zmm 560, mostró un período de adaptación rápido, seguido por un período pronunciado de crecimiento exponencial de la hora 6 hasta la hora 26. La fase estacionaria se desarrolló de la hora 26 a la 32 con una $m = 0.20 \text{ h}^{-1}$, para luego continuar con la fase de declinación o muerte. La cinética de crecimiento de Zmm1 muestra una fase de adaptación corta; de la hora 2 a la 29 se mantuvo la fase de aceleración logarítmica, hasta alcanzar la fase estacionaria a la hora 32 con una $m = 0.18 \text{ h}^{-1}$; posteriormente llegó a la fase de muerte. La cepa Zmm2 mostró una fase de adaptación rápida. La fase exponencial demostró que de la hora 2 a la 12 el crecimiento es lento pero de la hora 12 a la 23 ocurre un incremento del crecimiento alcanzando la fase estacionaria con una $m = 0.15 \text{ h}^{-1}$ para luego continuar con la fase de declinación (figura 1).

La cinética de crecimiento de Zmp1 presentó un período de adaptación corto, una fase logarítmica larga hasta la hora 17 con $m = 5 \text{ h}^{-1}$; la fase estacionaria se extendió desde la hora 26 a la 32 se. Zmp2 presentó una fase de adaptación corta, una fase logarítmica constante con un máximo de crecimiento a la hora 26 con una $m = 35.7 \text{ h}^{-1}$ (tabla 3, figura 1).

Métodos antagonistas

Método de Ritter

Los resultados del ensayo de Ritter frente a las bacterias patógenas indicaron que el "pellet" no produjo efecto antagonístico durante la cinética de crecimiento de las diferentes cepas de Zm (datos no mostrados). Los sobrenadantes y los cultivos totales de Zmm 560 y Zmm1 inhibieron el crecimiento de *Proteus mirabilis* (figuras 2A y 2B). Zmp1 produjo inhibición a partir de la hora 17 sobre *Proteus mirabilis* y *Salmonella sp.* (figura 2).

Método ecométrico modificado

Los resultados obtenidos con este método muestran ICAs inferiores a 2 los cuales se corroboran con los valores altos de halos de inhibición del crecimiento producidos en las muestras de cultivo total y sobrenadante según el método de Ritter (figuras 2 y 3).

DISCUSIÓN

El método ecométrico demostró que el medio Muller-Hinton no fue el más apropiado para el crecimiento de *Zymomonas mobilis spp.*, debido al desarrollo escaso y a que adicionalmente no presentó una clara morfología, haciendo imposible determinar sus características macroscópicas, lo que no concuerda con los resultados de Vallejo M., et al., 1999 donde emplearon agar Muller - Hinton como medio de cultivo para el desarrollo de Zm, en los métodos de estudio antagonista. Por este motivo fue seleccionado el medio WL como el más apropiado tanto para el crecimiento de Zm como para los patógenos, presentando ICAs de 5 (tabla 1).

Al trabajar con el cultivo total de Zm se observó un comportamiento inversamente proporcional entre los métodos de Ritter y el método ecométrico modificado, mostrando que mientras en uno se observaban halos de

inhibición en el otro, el ICA era inferior a 2; demostrando así que el método ecométrico modificado es de gran ayuda para corroborar los resultados del método de Ritter (figura 3). Nótese que los resultados del antibiograma (tabla 2), en comparación con los resultados del método de Ritter (figura 3), muestra que Zm en algunos casos presentó un halo de inhibición, superior al obtenido frente los antibióticos empleados; demostrando que el producto de la fermentación podría ser más eficaz frente a *Proteus mirabilis* y *Salmonella* sp., que la terapia farmacológica.

Durante toda la fermentación de Zmm 560, se comprobó la presencia e incremento en las concentraciones del metabolito tóxico debido a la aparición de halos de inhibición al enfrentarlo con un cultivo de *Proteus mirabilis* (figuras 2 y 3). El sobrenadante y el cultivo total obtenido de Zmm1 mostraron efecto antagónico contra *Proteus mirabilis*, aún en la fase de adaptación cuando la bacteria está empobrecida en metabolitos al encontrarse en período de adaptación al nuevo medio de cultivo.

En la cinética de crecimiento de Zmp1 se observó efecto inhibitorio a partir de la hora 17 contra *Proteus mirabilis*, (figuras 2 y 3) presentando halos de diferentes diámetros siendo los más representativos en la hora 32 y 35 (figura 3A). También se evidenció efecto antagónico contra *Salmonella* sp., pero con diámetros constantes y pequeños durante la cinética (figuras 2C y 2D); demostrando que de las 5 cepas de Zm, Zmp1, es la que produce más sustancias inhibitorias durante el crecimiento. Zmp 2 no presentó efecto inhibitorio contra ningún agente patológico durante su fermentación.

Las cepas autóctonas Zmp1 demostraron tener efecto inhibitorio contra *Proteus mirabilis* y *Salmonella* sp. a partir de la hora 17 con halos de 3-8 mm y 2 mm de diámetro respectivamente, a diferencia de la cepa control Zmm 560 de la colección de España que sólo

presentó efecto inhibitorio contra *Proteus mirabilis* con halos de 2-10 mm.

De esta forma se demostró que Zmm 560, Zmm1, Zmp1 liberan una sustancia con efecto inhibitorio frente a los patógenos *Salmonella* sp., y *Proteus mirabilis*; éste último corresponde a la segunda especie de enterobacterias que con mayor frecuencia se encuentran en aislamientos de laboratorio; es un uropatógeno por excelencia, al facilitar la producción de cálculos renales debido a sus fimbrias y flagelos que le permite colonizar el urotelio rápidamente apareciendo en cualquier aislamiento; lo que demuestra su amplio espectro de sobreinfección en casos de heridas, neumonía y sepsis en pacientes inmunosuprimidos. La mayor parte de los aislamientos nosocomiales de *Proteus mirabilis* son indolpositivo, característica que los hace resistentes a aminoglucosidos, requiriendo el uso de nuevas b-lactamasas o de quinolonas. El antibiótico de elección es la ampicilina con dosis de 0.5 g cada 4 ó 6 horas y cuando la infección es muy grave se administra 6 a 12 g por vía parenteral; otro microorganismo que presentó inhibición fue *Salmonella* sp. que tiene una alta especificidad por el huésped requiriendo aproximadamente 10^6 - 10^9 gérmenes para producir una infección; encontrándose en aviarios, seguida por carne bovina y porcina (Mattar S., et al., 1998).

Debido a las complicaciones de resistencia causadas por *Proteus mirabilis* y *Salmonella* sp, Zm se muestran como una gran alternativa terapéutica al generar efecto inhibitorio contra estos 2 patógenos, ya que en Colombia las infecciones nosocomiales complican el tratamiento de pacientes, prolongando la infección e incrementando el costo del cuidado hospitalario (Mattar S., et al., 1998).

Se determinó que Zmm 560, Zmm1 y Zmp1 producen sustancias extracelulares que le confieren competitividad frente a *Proteus mirabilis* y *Salmonella* sp. de manera similar al trabajo realizado en Brasil con cultivo total

de Zm como terapia ginecológica, impregnando los isopos con la bacteria e introduciéndolo en la cavidad vaginal de las pacientes; obteniendo el 76% de recuperación (De Souza C., et al., 1973).

LITERATURA CITADA

- AMADOR E., ALMANZÁN M., QUINTANA M., POUTOU R., CANDELARIO M., 1994, *Estudio preliminar de la estabilidad de los bancos de células primarias para la producción de interferón - alfa recombinante*. Biotec. Aplic. 11. 1: 60-63.
- BERGEY'S, 1994, *Manual Section 5. Facultatively anaerobic Gram-negative rods. Other genera*.
- CALAZAS G., LÓPEZ C., LIMA R., FRANCA F., 1997, *Antitumour activities of levans produced by Zymomonas mobilis strains*. Biotec. Lest. 19. 1: 19-21.
- DE SOUZA C., DE SOUZA L., 1973, *Colpitis and vulvo vaginitis treatment using Zymomonas mobilis var*. Rev. Inst. Antibiot. 13. 1/2: 85-87.
- FARÍAS M., 1994, *Bacteriocins production by lactic acid bacteria isolated from regional cheeses: inhibition of food borne pathogens*. J. Food Protec. 57(11): 1013-1015.
- KONEMAN E., ALLEN S.D., JANDA W., SHRECKENBERGER P., WINN W., 1999, *Diagnóstico microbiológico*, 5ª ed., Ed. Panamericana, Madrid, España.
- MARTÍNEZ M.M., CARRASCAL A.K., MARTÍNEZ P., 1999, *Manual de laboratorio introducción a la biotecnología industrial*, Ed. ceja, Santa Fe de Bogotá, Colombia.
- MATTAR S., MELO A., 1998, *Bacteriología clínica: estudio etiológico de las enfermedades infecciosas de origen bacteriano*, Ed. ceja, Santa Fe de Bogotá, Colombia.
- PEDROZA A.M., ÁLVAREZ N.C., POUTOU R.A., 1997, *Diseño de un medio definido para el cultivo discontinuo, de cepas autóctonas de Thermus sp*. Univ. Scient. 4. 2: 130-134.
- POUTOU R.A., AMADOR E., CANDELARIO M., 1994, *Banco de células primarias (BCP): caracterización y papel en la producción de proteínas recombinantes*. Biotec. Aplic. 11. 1: 55-59.
- POUTOU R.A., GÓMEZ A.L., TORRES, C., MATIZ A., 2000, *Producción de etanol con cepas autóctonas de Zymomonas mobilis spp. (Parte I: Aislamiento y caracterización bioquímica)*, Distrit. 2. 1: 49-55.
- POUTOU R.A., SÁNCHEZ L., DÍAZ K., MATTAR S., 1999, *Mecanismos de resistencia bacterianos a los antibióticos b-lactámicos*, Med. uis. 13: 172-177.
- THORNSBERRY C., 1991, *Antimicrobial Agents and Suceptibility Test*. In: & Hausler M.J., Hernann K.L. et al. *Manual of Clinical Microbiology* 5 ed, Washington DC: American Society of Microbiology, USA.
- VALLEJO M., ZAPATA D., 1999, *Efecto antagónico de Zymomonas mobilis mobilis frente a Neisseria gonorrhoeae, Gardnerella vaginalis, Candida albicans y Trichomona vaginalis*, trabajo de grado (Bacteriología), Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias Básicas, carrera de Bacteriología, Santa Fe de Bogotá D.C.

TABLA 1. Resultados del método ecométrico en medio WL.

Microorganismo	Estrías valor 0,2	Estrías valor 1	ICA experimental	ICA teórico	ICR
<i>Candida albicans</i> (interferente)	0.8	0.0	0.8	2.0	0.4
<i>Proteus mirabilis</i>	4.0	1.0	5.0	5.0	1.0
<i>Salmonella sp.</i>	4.0	1.0	5.0	5.0	1.0
<i>Zymomonas mobilis mobilis</i> 1	4.0	1.0	5.0	5.0	1.0
<i>Zymomonas mobilis mobilis</i> 2	4.0	1.0	5.0	5.0	1.0
<i>Zymomonas mobilis pomaceae</i> 1	4.0	1.0	5.0	5.0	1.0
<i>Zymomonas mobilis pomaceae</i> 2	4.0	1.0	5.0	5.0	1.0
<i>Zymomonas mobilis mobilis</i> 560	4.0	1.0	5.0	5.0	1.0

TABLA 2. Resultados del antibiograma

Microorganismo	ERI	NOR	C	AN	ATM	NA	TE	CIP	GEN
<i>Proteus mirabilis</i>	S ₂₂	S ₁₈	S ₂₄	S ₂₃	S ₁₈	S ₂₄	R ₁₁	S ₁₈	S ₂₄
<i>Salmonella sp.</i>	S ₂₃	S ₂₀	S ₂₁	S ₂₅	S ₁₇	S ₂₃	S ₁₉	S ₁₆	S ₂₀

R: resistente; S: sensible; / intermedio; diámetro de la zona de inhibición en mm

ERI: eritromicina; NOR: norfloxacin; C: clindamicina; ATM: aztreonam;

NA: ácido nalidixico; TE: tetraciclina; GEN: gentamicina

TABLA 3. Cinética de crecimiento (Abs 540 nm de l) de las cepas de *Zymomonas mobilis sp.*, en caldo MLS, 30°C, 150 r.p.m., 3 días. LN(Abs / Abs₀) transformada según modelo de máxima similitud.

Horas	LN(Abs / Abs ₀)				
	Zmm 560	Zmm 1	Zmm 2	Zmp 1	Zmp 2
0	0.14	0.02	0.04	0.092	0.08
2	0.19	0.06	0.07	0.094	0.09
4	0.21	0.07	0.08	0.11	0.11
6	0.27	0.10	0.10	0.13	0.13
8	0.31	0.13	0.11	0.18	0.17
10	0.36	0.13	0.11	0.23	0.20
12	0.49	0.27	0.20	0.30	0.25
14	0.50	0.35	0.27	0.34	0.35
17	0.83	0.50	0.3	0.40	0.39
20	1.0	0.61	0.35	0.43	0.56
23	2.4	1.0	0.61	0.48	0.60
26	2.9	1.5	0.70	0.53	0.78
29	3.6	2.0	0.70	0.51	0.67
32	3.2	2.5	0.68	0.50	0.67
35	2.8	2.0	0.63	0.47	0.65

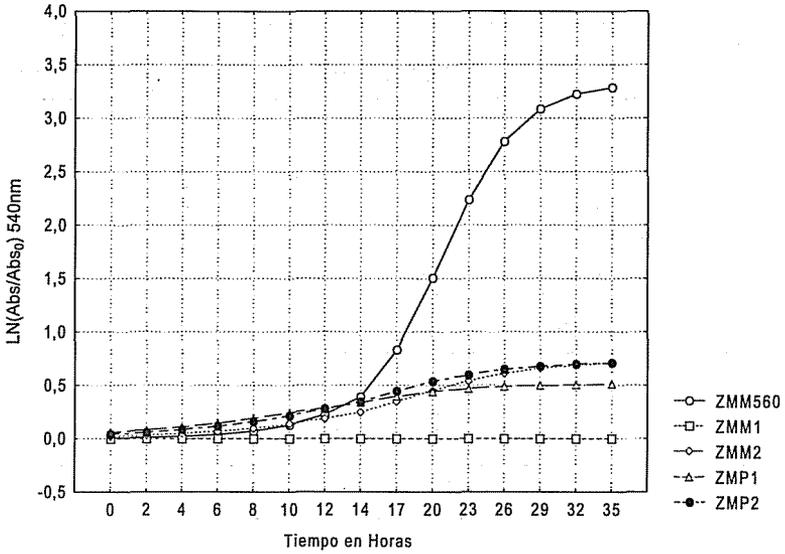
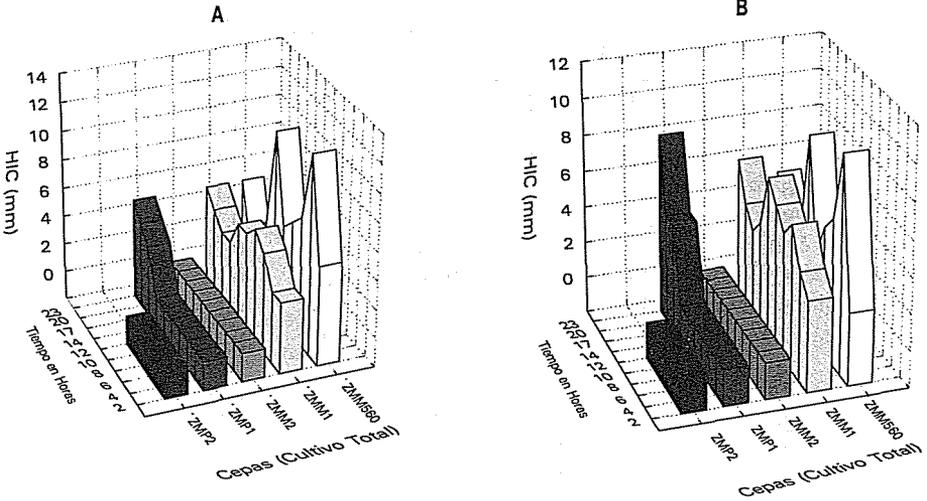


FIGURA 1. Cinética de crecimiento de las diferentes cepas de *Zymomonas mobilis* sp., en caldo MLS, 30°C, durante 36 horas.



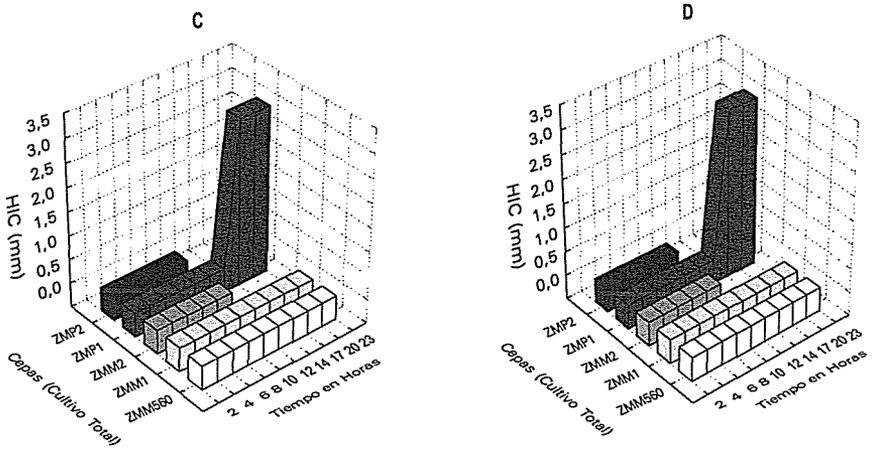


FIGURA 2. Antagonismo de *Zymomonas mobilis* sp., vs. A: *Proteus mirabilis* (cultivo total). B: *Proteus mirabilis* (sobrenadante). C: *Salmonella* sp., (cultivo total). D: *Salmonella* sp., (sobrenadante, (método de Ritter), medio WL).

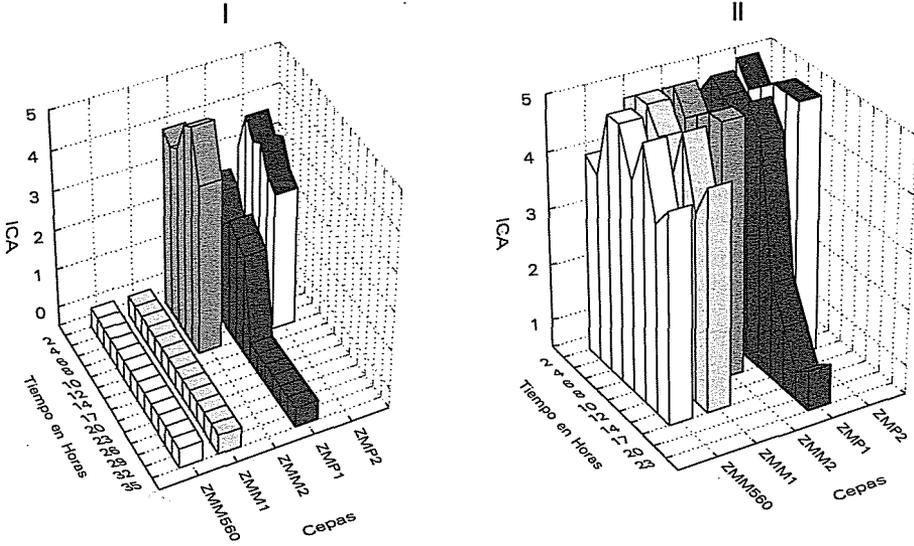


FIGURA 3. Antagonismo de *Zymomonas mobilis* sp., vs. I: *Proteus mirabilis*. II: *Salmonella* sp., (método ecométrico modificado) medio WL.