

ENZIMAS MICOLITICAS ENCAPSULADAS EN LIPOSOMAS COMO AGENTES DE BIOCONTROL CONTRA *Fusarium oxysporum*

Erick León-Joublanc, Brenda Vázquez-Gutiérrez, Guillermo Ramírez-Esquivel, José Luis Martínez-Hernández, Anna Iliná

Depto. Biotecnología Facultad de Ciencias Químicas Blvd. V. Carranza # 252 C.p. 2500 Saltillo Coahuila México. Tel (844) 4-15-57-58. E-mail: anna_ilina@hotmail.com.

Palabras clave: microencapsulación de quitinasa, laminarinasa, *Fusarium oxysporum*.

Introducción. Uno de los propósitos de la biotecnología en el área agrícola es la producción y elaboración de alimentos sanos, libres de agentes tóxicos, por lo que se ha incrementado el interés por disminuir o eliminar los problemas causados por los fungicidas químicos. Se han reportado que existen hongos antagonistas como el caso de *Trichoderma viridae* que secretan enzimas líticas que degradan la pared celular de los hongos fitopatógenos [1].

En el presente trabajo se evaluó el efecto de las enzimas líticas quitinasa y laminarinasa, en forma libre y microencapsulada en liposomas de lecitina de soya, como agentes de biocontrol contra el hongo fitopatógeno *F. oxysporum*.

Metodología. El efecto antifúngico se evaluó en base a la inhibición de crecimiento radial de hongo modelo *F. oxysporum* en medio PDA con las enzimas quitinasa y laminarinasa en formas libre y encapsulada en liposomas de lecitina de soya, variando las concentraciones 10:10, 5:5, 10:5 y 5:10 µg/ml. De misma manera se evaluó el efecto de las enzimas a concentraciones de 10 y 5 µg/ml en forma libre mezcladas con tiabendazol (6250 µg/ml).

Resultados y discusión. Las enzimas no inmovilizadas mostraron en los ensayos *in vitro* mayor actividad antifúngica que enzimas encapsuladas provocando 100% de inhibición a la concentración de 20 µg/ml. La aplicación simultánea de ambas enzimas tanto libres como en liposomas, permite llegar a la inhibición completa de crecimiento de hongo. Esto se muestra en la Fig. 1 para el caso que corresponde a la mezcla de quitinasa y laminarinasa encapsuladas presentes en agar PDA a una concentración de 10 y 5 µg /ml, respectivamente. En el ensayo con las mezclas enzimáticas con un fungicida comercial Tecno 60 (tiabendazol) el 100% de inhibición se observó a una concentración de 10 µg/ml de cada una de las enzimas en presencia de fungicida aplicada a la concentración en 5 veces menor que la mínima inhibitoria (Fig. 2). Además, el conteo de esporas al final de ensayo demostró un significativo decremento en la cantidad de esporas al comparar los resultados correspondientes a los casos cuando la inhibición fue parcial, con el control (Figs. 1 y 2).

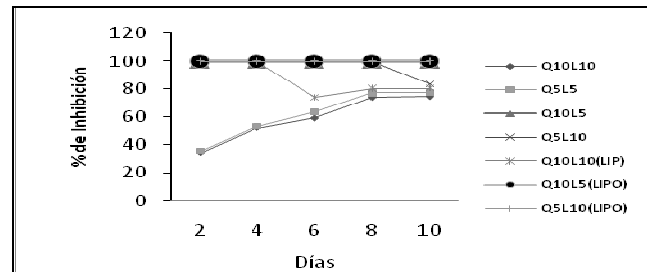


Fig. 1. Efecto antifúngico de las mezclas enzimáticas quitinasa laminarinasa libre e inmovilizada. Q: quitinasa; L: laminarinasa en concentraciones de 5 y 10 µg/ml. LIP: encapsulada en liposomas

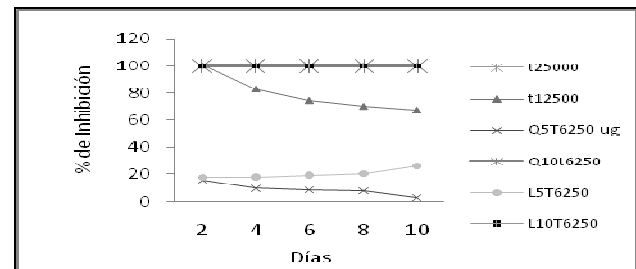


Figura 2. Efecto antifúngico de mezclas enzimáticas con tiabendazol. t:tiabendazol; Q:quitinasa;L:laminarinasa

Conclusiones. Se observó un efecto sinérgico potenciado al emplearse las dos enzimas tanto libres como encapsuladas, así como un efecto similar al emplear combinación de las enzimas a una concentración 10 µg /ml con tiabendazol, demostrándose con este estudio la posibilidad de aplicar las enzimas para el biocontrol de hongos fitopatógenos empleando liposomas como acarreadores.

Agradecimiento. Al Proyecto SEP-CONACyT 57118.

Bibliografía

1. El Ghaouth, A., Greiner, J., Benhamou, J., Asselin, N., Belanger, A. (1994). Effect of chitosan on cucumber plants: suppression of *Phytophthora blight* and induction of defense reactions. *Phytopathology* 84, 313-320.
2. Cano Salazar L., León Joubanc E., Pérez Molina A., Iliná A., Martínez Hernández J.L. (2008) Encapsulación de enzimas hidrolíticas en liposomas: perspectivas de aplicación en agricultura. *Ciencia Cierta* 15: 22-25.