

ESTUDIO DEL MECANISMO DE ANTAGONISMO *IN VITRO* DE UN AGENTE DE CONTROL BIOLÓGICO CONTRA EL PRINCIPAL PATÓGENO DEL MANGO

Martín Patiño-Vera¹, Lizette Trujillo-Robles¹ y Enrique Galindo²

¹Unidad de Escalamiento y Planta Piloto, ²Depto. de Ingeniería Celular y Biocatálisis, Instituto de Biotecnología, UNAM

Apdo. Post. 510-3, Cuernavaca, 62250 Morelos, MÉXICO, Fax: (777) 3 13 88 11, e-mail: martin@ibt.unam.mx

Palabras clave: control biológico, antagonismo, mango

Introducción. En el biocontrol de enfermedades de plantas, los mecanismos de antagonismo incluyen la producción de enzimas líticas, antibiosis, micoparasitismo, resistencia inducida y competencia por nutrientes. Sin embargo, éstos mecanismos están en general pobremente caracterizados, inclusive en los productos comerciales disponibles (1). *Rhodotorula minuta* ha sido propuesto como agente de control biológico (2) contra la antracnosis, principal enfermedad del mango, causada por el hongo *Colletotrichum gloeosporioides*. El objetivo de este trabajo fue determinar el mecanismo de antagonismo de *R. minuta* contra el patógeno *C. gloeosporioides*.

Metodología. El hongo patógeno *C. gloeosporioides* se cultivó previamente en cajas Petri con medio PDA, para obtener una suspensión de conidios en solución salina y Tween. Se usó una concentración de 1×10^5 conidios/mL de inóculo. Se realizaron cinéticas de cultivo en placas de 24 pozos con y sin insertos porosos (con membrana de policarbonato con poros de $0.4 \mu\text{m}$). El medio de cultivo del bioensayo fue un medio mineral enriquecido con extracto de levadura (2) y suplementado con jugo de mango como principal fuente de carbono. Los conidios fueron co-cultivados 70 h, en los pozos de las placas, con y sin contacto físico del agente de biocontrol *R. minuta*, a una concentración de 1×10^8 cfu/mL. Se ensayó también un sobrenadante del cultivo de la levadura. Se probaron dos formulaciones de *R. minuta*, una líquida, resuspendiendo la levadura en buffer de fosfatos y otra sólida, concentrando y secando la levadura en un secador piloto. El número y porcentaje de germinación de conidios se determinó en una cámara de Neubauer. La ausencia de producción de antibióticos o enzimas líticas se corroboró con bioensayos *in vitro* para probar antibiosis.

Resultados y Discusión. Como se muestra en la figura 1, la germinación de los conidios de *C. gloeosporioides* es inhibida cuando se co-cultivó (en el mismo pozo) conidios con levaduras de la formulación líquida. No hubo diferencias con el control cuando las levaduras se colocaron en un inserto que permite la difusión de sustancias y subproductos de su cultivo, así como cuando se adicionaron 500 μL de sobrenadante del mismo cultivo. La necesidad de contacto físico para que se presente la inhibición demuestra que la levadura compite por nutrientes y espacio. Para probar el efecto del proceso de secado sobre la capacidad antagonista de *R. minuta*, se realizó una cinética de co-cultivo de levaduras secas y conidios de *C.*

gloeosporioides en un mismo pozo, midiendo el % de germinación y comparándolo con un control (solo conidios). La figura 2 muestra que en el período de las 10 a las 50 h, el porcentaje de germinación del bioensayo se mantuvo prácticamente sin cambios. Ello indica que *R. minuta* fue capaz de restringir la germinación del patógeno. Además, durante todo el co-cultivo, el % de germinación en el

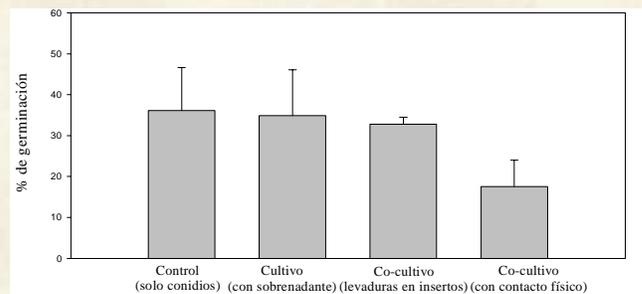


Figura 1. Ensayos de inhibición de germinación de conidios a las 56 h de cultivo. Todos los tratamientos fueron inoculados con 1×10^5 conidios/mL.

bioensayo fue menor al control.

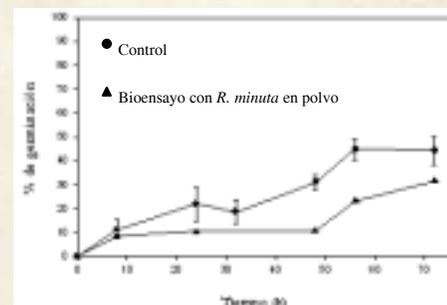
Figura 2. Cinética de germinación de conidios en co-cultivo con *R. minuta* seca, en comparación con un cultivo control (solo conidios).

Conclusiones. El mecanismo de antagonismo de *R. minuta* contra *C. gloeosporioides* es por competencia por nutrientes y espacio. El proceso de secado no afectó la capacidad antagonista de la levadura *R. minuta*.

Agradecimientos. Financiamiento de CONACyT-SAGARPA (2002-C01-0741). Apoyo técnico de Myriam Ortiz García.

Bibliografía.

1. Janisiewicz, W. J., Tworowski T. J., and Sharer, C. (2000) Characterizing the mechanism of biological control of postharvest diseases on fruits with a simple method to study competition for



nutrients. *Phytopathology* 90 (11):1196-1200.

2. Patiño-Vera, M., Jiménez, B., Balderas, K., Ortíz, M., Allende, R., Carrillo, A. and Galindo, E. (2005) Pilot-scale production and liquid formulation of *Rhodotorula minuta*, a potential biocontrol agent of mango anthracnose, *J. Appl. Microbiol.* (en prensa).