



## EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIBIÓTICO DEL COMPLEJO ENZIMÁTICO CELULOLÍTICO Y PAPAÍNA SOBRE HONGO FITOPATÓGENO *Fusarium oxysporum*

Ariana Estrella Favret<sup>1</sup>, Anna Iilina<sup>1</sup>, Baltazar Gutiérrez Rodríguez<sup>1</sup>, José L. Martínez Hernández<sup>1</sup>, Edmundo Rodríguez Campos<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Químicas, Blvd. V. Carranza e Ing. J. Cárdenas V., C.P. 25280, Saltillo, Coahuila, México, Fax: 52-844-415-95-34, E-mail: [anna.ilina@hotmail.com](mailto:anna.ilina@hotmail.com)

<sup>2</sup>Biorganix S.A. de C.V., Saltillo, Coahuila, México

*Palabras clave: control biológico, glucanasas, celulasas, Fusarium oxysporum*

**Introducción.** En los últimos años se ha incrementado el interés por el control biológico de enfermedades de las plantas que permite reemplazar o disminuir el impacto negativo del control químico. Los miembros del género *Trichoderma* han sido estudiados intensamente, debido a su habilidad para secretar enzimas líticas que degradan los biopolímeros de la pared celular de hongos: endo-y exoglucanasas, celobiasas, quitinasas, proteasas, así como otros compuestos antibióticos de bajo peso molecular 6-pentyl-pirone, de clase isocianidas, etc. En trabajos efectuados actualmente en el área de biocontrol el énfasis se hace en la aplicación de los microorganismos antagonistas, destacando, sin embargo, el papel de los sistemas enzimáticos en los complejos mecanismos de micoparasitismo, antibiosis, competencia por los nutrientes, o una combinación sinérgica de éstos (1, 2). El problema de perspectivas de aplicación de enzimas radica en el desconocimiento de su estabilidad en el suelo. Para ampliar las áreas de aplicación de enzimas líticas y ver las perspectivas de su uso en las tareas agroquímicas se realizó la presente investigación, utilizando como modelo las enzimas comercializadas: papaína y celulasas, para definir sus propiedades operacionales y antifúngicas bajo las condiciones que simulan las de la aplicación en el campo. En el presente trabajo se propuso evaluar la estabilidad y las propiedades antifúngicas de preparados de enzimas hidrolíticas comercializadas (papaína y celulasas) bajo diferentes condiciones extrínsecas (agar papa-dextrosa y suelo).

**Metodología.** Se aplicaron preparados comercializados: la papaína (México) y el complejo celulolítico Celoviridina G 20X (Rusia). La actividad de papaína se evaluó espectrofotométricamente utilizando como sustrato la caseína. La actividad de celulasas y laminarinasas se determinó utilizando en calidad de sustratos carboximetil-celulosa y laminarina, estimando los productos de hidrólisis de éstos por la técnica de Somogye-Nelson. La actividad se estimó semanalmente en solución, en suelo y en agar utilizados en los ensayos de evaluación del efecto antifúngico. El crecimiento del hongo se evaluó en PDA con 0.01-0.1 % (p/v) de enzimas y testigo sin enzimas, inoculando cada caja petri con un disco de 5 mm de diámetro de micelio de 14 días en el crecimiento activo de *Fusarium oxysporum*. Las cajas se incubaron a 25°C, midiendo el diámetro de crecimiento del micelio. Se determinó el número de conidios producidos por *Fusarium oxysporum* en cada tratamiento, utilizando la cámara hematimétrica. Para

cuantificar el porcentaje de germinación de las UFC se sembraron 100 conidios en PDA contabilizando el número de UFC germinadas a las 48 h después de la siembra. El porcentaje de inhibición se calculó comparando los valores con los detectados en testigo. Además, se realizó el ensayo utilizando suelo con y sin enzimas aplicando 10 ml de solución enzimática a 0.05 y 0.1% para 30 g de suelo esterilizado o no previamente. El suelo se inoculó con la suspensión de esporas. Una vez por semana se realizó el conteo de UFC/g de suelo aplicando la técnica de diluciones seriadas. Los datos se someterán a un análisis de varianza y pruebas de media Tukey ( $P < 0.05$ ).

**Resultados y discusión.** El estudio de estabilidad demostró que la actividad proteasa, celulasa y laminarinasas de los preparados enzimáticos aplicados, puede ser detectada en agar y suelo por lo menos durante 4 semanas. Se observa un decremento mayor de actividad en el caso de papaína, que del complejo celulolítico. Las enzimas resultaron ser más estables en suelo esterilizado y agar que en suelo no esterilizado o en solución. Es decir la presencia de suelo puede ser considerado como soporte de inmovilización que estabiliza las enzimas.

El efecto antifúngico fue más apreciable en el caso de complejo de enzimas celulolíticas lo que se relacionó con la presencia de actividad laminarinasas también cuantificada en éste. El efecto de este complejo varió notablemente al incrementar la concentración de la enzima. La mayor inhibición de crecimiento de micelio fue de 53%, en la producción de conidios de 80% y en porcentaje de germinación de UFC de 60%. La aplicación de complejo celulolítico en suelo condujo al decremento de UFC/g. La papaína actuó solo con un 9% de inhibición de crecimiento de micelio a la mayor concentración aplicada.

**Conclusiones.** Se demostró que la aplicación de enzimas líticas comerciales (principalmente celulasas y en menor grado la papaína) permite disminuir la viabilidad del hongo fitopatógeno (*Fusarium oxysporum*). Las enzimas mostraron ser activas estando en agar y en suelo por un período mayor de 4 semanas.

**Agradecimiento.** Al proyecto CONACYT 57118.  
**Bibliografía.**

Elad, Y. (2000) Biological control of foliar pathogens by means of *Trichoderma harzianum* and potential modes of action. *Crop Protection* 19: 709-714.

Michel Aceves, A.C. (2001) Cepas nativas de *Trichoderma spp* Euascomicetes hipocreales. Su antibiosis y micoparasitismo sobre *Fusarium sublitinans* y *F. oxysporum* (Hyphomycetes: Hyphales). Tesis de doctorado. Tecoman, Colima, México.