

ACTIVIDAD GLUCANOLÍTICA Y QUITINOLÍTICA DE *Trichoderma spp* DE TAMAULIPAS.

Ma. Rufina Santiago Mena¹, Isabel Rodríguez¹, Keiko Shirai², Diana Reséndez¹, C. Patricia Larralde Corona¹.
¹Centro de Biotecnología Genómica-IPN, ²UAM-Iztapalapa. CBG-IPN: Blvd. del Maestro esq. con Elías Piña, Col. Narciso Mendoza, Reynosa 88710, Tamaulipas. Fax (899) 925 16 56. E-mail: maria@mail.cbg.ipn.mx

Palabras clave: quitinasas, β -1,3-glucanasas, biocontrol

Introducción. *Trichoderma spp* es un hongo micoparásito de suelo que ha sido extensivamente usado como un agente de biocontrol de hongos fitopatógenos (1). El micoparasitismo involucra la producción de numerosas enzimas que degradan la pared celular. Dado que los componentes mayoritarios de la pared celular de muchos hongos que son la quitina, los β -1,3 glucanos y proteínas, la presencia de las enzimas que degradan esos substratos pueden sugerir la utilidad de una cepa determinada como un agente de control biológico potencial.

El objetivo de este trabajo fue el de evaluar las actividades quitinolíticas y glucanolíticas de cepas de *Trichoderma spp* nativas del norte de Tamaulipas para elegir un agente(s) de biocontrol para ésta región del país.

Metodología. Se seleccionaron 5 aislamientos de *Trichoderma spp* (TCBG2, TCBG3, TCBG5, TCBG6 y TCBG8), en base a su comportamiento en experimentos de confrontación en caja petri contra *Macrophomina phaseolina*. Las cepas fueron crecidas en medio Czapeck modificado (adicionando paredes celulares de champiñones), inoculando 10^6 esporas/mL, incubadas a 30°C y 180 rpm durante 5 días. De los sobrenadantes se determinaron las siguientes actividades enzimáticas: N-acetilhexosamidasa, a partir de la liberación de p-nitrofenol; glucanasas, utilizando laminarina y cuantificando azúcares reductores (1); y endoquitinasas por reducción de la turbidez de soluciones de quitina coloidal (2). Además se determinó la concentración de proteínas mediante el microensayo de Bradford (3).

Resultados y discusión. Como se puede apreciar en la Fig. 1, las mayores actividades glucanolíticas se detectaron en las cepas TCBG2 y TCBG6. Los valores obtenidos son similares a los reportados (10 U/mg_{prot}) para una cepa de *T. harzianum* utilizada en biocontrol en presencia de paredes de *Rhizoctonia solani* (1).

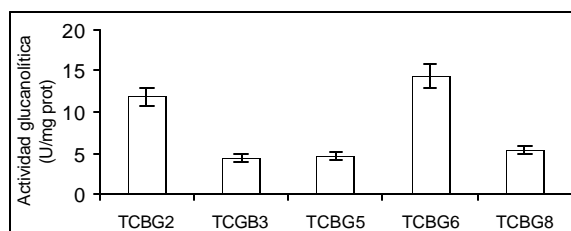


Fig. 1. Actividad de β -1,3 glucanasas.

En cuanto a la actividad de N-acetil hexosamidasa los resultados (fig. 2) son similares a lo reportado para *T. harzianum* P1 (2), que es una cepa que también ha sido utilizada como agente de biocontrol. En el caso de esta

actividad, la mejor cepa fue la TCBG8, lo cual coincide con los ensayos de confrontación.

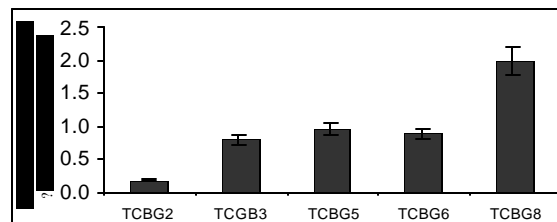


Fig. 2. Actividad de N-acetilhexosamidasa.

La actividad endoquitinolítica por el contrario no fue detectada en ninguna de las cepas al tiempo de muestreo utilizado (120 horas). Es probable que, dado que es una de las primeras actividades que debe entrar en acción para iniciar el rompimiento de la quitina, ésta haya sido detectable en las primeras 48 horas de cultivo, tiempo en el que sin embargo se observó muy poca biomasa en los matraces.

Conclusiones. Los resultados de actividad enzimática obtenidos son comparables a los que se reportan para cepas de *Trichoderma* que en la actualidad se utilizan en productos de biocontrol. Estos apoyan la observación macroscópica de que las cepas probadas tienen un buen nivel de antagonismo contra el hongo fitopatógeno *M. phaseolina*. En este trabajo se utilizaron paredes de champiñones como inductor de las actividades enzimáticas, pero el siguiente paso será probar paredes del hongo fitopatógeno en estudio, para hacer la selección específica final de la(s) cepa(s) ha utilizar en los ensayos en campo. Un hecho importante a resaltar es por ser cepas nativas, pueden soportar temperaturas mayores a las reportadas para este género.

Agradecimientos. Los autores agradecen al CONACyT (I-39161-B) y a la CGPI-IPN (2001-0235 y 2002-0180) por el apoyo financiero otorgado a éste proyecto.

Bibliografía.

- Vazquez-Garcidueñas, S., C.A. Leal-Morales, A. Herrera-Estrella. (1998). Analysis of the β -1,3-glucanolytic system of the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. *App. Environ. Microbiol.* 1442-1446.
- Tronsmo A., Harman G.E. (1993). Detection and quantification of N-acetyl- β -D-glucosamidase, chitinase and endochitinase in solutions and on gels. *Anal. Biochem.* 208:74-79.
- Bradford M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254.