



## Evaluación y preselección de actinomicetos para el biocontrol de *Rhizoctonia solani*, fitopatógeno asociado a la marchitez del chile

Jesús R. Trinidad-Cruz | Gabriel Rincón-Enríquez  
| Sinahi Pérez-Flores | Evangelina Esmeralda Quiñones-Aguilar  
Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño

correo-e: [equinones@ciatej.mx](mailto:equinones@ciatej.mx)

### Resumen

En México el cultivo del chile es de gran relevancia económica; sin embargo, diversos problemas fitosanitarios afectan su producción y uno de los fitopatógenos vinculados a la marchitez es el hongo fitopatógeno *Rhizoctonia solani* (RS). Actualmente se requieren tecnologías para el control biológico de fitopatógenos que permitan el desarrollo de la agricultura sustentable. El uso de actinomicetos como agentes de control biológico puede ser una opción alternativa a los agroquímicos. En ese sentido, el objetivo de la investigación fue evaluar y preseleccionar actinomicetos con capacidad de inhibir el crecimiento de *Rhizoctonia solani* *in vitro*. Se evaluó el grado de inhibición de 86 actinomicetos aislados de suelo, a través de confrontaciones *in vitro* contra RS, de los cuales 85 actinomicetos pertenecen a la colección (ABV) de la Unidad de Biotecnología Vegetal del CIATEJ y uno aislado del producto comercial Actinovate (*Streptomyces lydicus*). El 21.5% de los actinomicetos logró inhibir el crecimiento de RS con promedios que oscilan entre 2 y 50%. El aislado ABV45 obtuvo el mayor porcentaje de inhibición del crecimiento de RS al ser estadísticamente igual ( $p \leq 0.05$ ) a otros siete aislamientos de actinomicetos, los cuales pueden ser utilizados como posibles agentes de control biológico de fitopatógenos.

*Palabras clave:* compuestos bioactivos, inhibición, antibiosis, actinobacterias.

## Introducción

Para México, el cultivo de chile (*Capsicum annuum* L.) es de gran importancia económica: en 2013 se registró una producción de chile verde de poco más de 2 millones de Mg con un rendimiento de 17.26 Mg ha<sup>-1</sup>, con un valor de producción aproximado de 15 mil millones de pesos (SIAP, 2013). No obstante, varios problemas fitosanitarios afectan la producción y el rendimiento del cultivo, tal es el caso de Rs, hongo fitopatógeno con una gran incidencia en el cultivo del chile (Velásquez-Valle *et al.*, 2007; Montero-Tavera *et al.*, 2013); debido a ello se requieren alternativas para su control.

El uso de microorganismos constituye una alternativa biotecnológica que permite un desarrollo sustentable del cultivo. Los actinomicetos son una fuente de bioactivos que faculta el control biológico de dichos fitopatógenos (Palaniyandi *et al.*, 2013). El objetivo de este trabajo fue evaluar y pre-seleccionar actinomicetos con capacidad de inhibir el crecimiento de *Rhizoctonia solani in vitro*.

## Metodología

Se utilizaron 85 cepas de actinomicetos pertenecientes a la colección denominada ABV (ABV01-ABV85) del laboratorio de Biotecnología Vegetal del CIATEJ. Las cepas de actinomicetos fueron aisladas de muestras de suelo rizosférico de plantas de *Agave cupreata*, además de una cepa aislada del producto comercial Actinovate (*Streptomyces lydicus*). La cepa de Rs aislada de plantas enfermas de chile fue provista por el investigador fitopatólogo Onésimo Moreno Rico, de la Universidad Autónoma de Aguascalientes.

La actividad inhibitoria de los actinomicetos se determinó por confrontación directa a través de un ensayo *in vitro* en cajas Petri (90 mm de diámetro) en medio de cultivo agar dextrosa papa (PDA, Difco) estéril (121 °C durante 20 min), el pH fue ajustado a 7 (NaOH 4 M) antes de su esterilización. En cada caja se colocaron discos de actinomicetos de 6 mm de diá-

metro en cada uno de los cuatro puntos cardinales de la caja y al centro un disco de Rs de la misma medida (figura 1). Las cajas control sólo se inocularon con un disco de Rs en el centro de la caja.

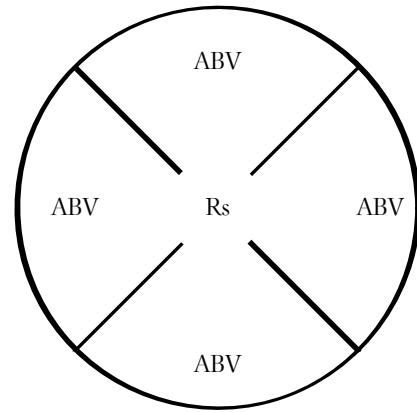


Figura 1. Representación gráfica de la inoculación de las cepas de actinomicetos (ABV) y el fitopatógeno *R. solani* (Rs).

Las cajas inoculadas con los actinomicetos y el hongo Rs fueron incubadas a  $26 \pm 1$  °C durante ocho días antes de su evaluación, en ese tiempo la caja con el fitopatógeno (caja control) presentó un crecimiento radial completo sobre el medio de cultivo.

El área de inhibición de Rs (AIRS) se determinó por su medición en un cuarto de la caja, donde se inoculó alguna cepa de actinomiceto (figura 1), los resultados se expresaron en porcentajes. Se efectuó un diseño experimental completamente al azar con un total de 87 tratamientos [85 cepas de actinomicetos (ABV) y Actinovate (*S. lydicus*) confrontadas contra Rs] y uno control que sólo comprende a Rs.

Se hicieron tres repeticiones por tratamiento, cada repetición fue un disco de actinomiceto de 6 mm de diámetro. Con los datos se efectuó un análisis de varianza y una prueba de comparación múltiple de medias Tukey HSD ( $p \leq 0.05$ ) mediante el paquete estadístico StatGraphics Centurion XV (StatPoint Inc., 2005).

## Resultados y discusión

A los ocho días de la inoculación, la actividad inhibitoria de los 86 aislamientos de los actinomicetos mostró un efecto variable en el porcentaje de inhibición del crecimiento de Rs de 0 a 50%. Únicamente el 21.5% de los aislamientos de actinomicetos presentó un efecto de inhibición del crecimiento de Rs (figura 2).

Las barras en rojo en la figura 2 resaltan los ocho aislamientos de actinomicetos (ABV45, 07, 47, 49, 48, 65, 37 y 64) que manifestaron entre 30 y 50% de inhibición; en tanto, la barra negra corresponde al Actinovate. Con esos resultados se pueden seleccionar los actinomicetos cuyo efecto es inhibir el crecimiento de Rs y considerarlos como potenciales agentes de control biológico contra Rs.

Diversos mecanismos implicados en la inhibición son consecuencia de la producción de antibióticos, enzimas degradadoras de la pared celular y competencia por nutrientes (Banga *et al.*, 2008; Palaniyandi *et al.*, 2013). Al respecto, Zhao *et al.* (2012) encontraron que el uso de metabolitos extracelulares producidos en el medio líquido del actinomiceto *Streptomyces bikiniensis* HD-087 inhibió el crecimiento del micelio de *Fusarium oxysporum* por mecanismos directos como la degradación de la pared celular de las hifas, el daño a los conidios como la fragmentación y el encogimiento con relación al control. En el caso presente es necesario evaluar los mecanismos de los actinomicetos (ABV) implicados en la inhibición del crecimiento de Rs.

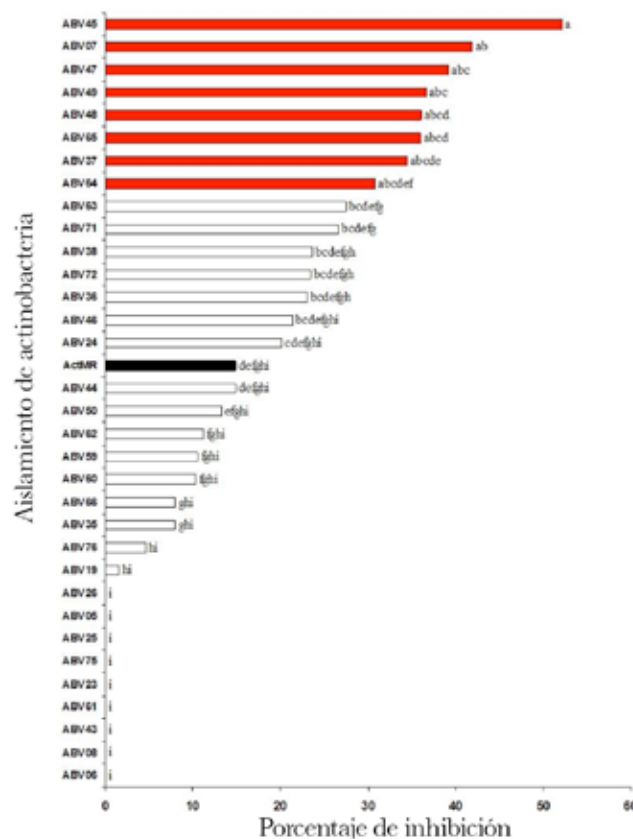


Figura 2. Porcentaje de inhibición del crecimiento de *R. solani* por efecto de varios aislamientos de actinomicetos. Letras distintas en cada barra indican diferencias significativas (Tukey,  $p \leq 0.05$ ). ActMR=*Streptomyces lydicus* (Actinovate).

## Conclusiones

De los 86 aislamientos de actinomicetos utilizados para inhibir el crecimiento de *Rhizoctonia solani* a través de confrontaciones *in vitro*, únicamente el 21.5% de los aislados tuvo un efecto en la inhibición del crecimiento; sólo ocho actinomicetos presentaron inhibición del crecimiento de Rs de 30 a 50%, éstos pueden considerarse como potenciales agentes de control biológico contra Rs, por lo que las pruebas *in planta* son aún necesarias.

## Agradecimientos

Este trabajo forma parte del proyecto titulado «Desarrollo de una tecnología para el control biológico de la marchitez del chile por medio de actinomicetos

nativos del estado de Aguascalientes», financiado por el Fondo Mixto Conacyt-Gobierno del Estado de Aguascalientes (clave del proyecto AGS-2011-C02-181930). J.R. Trinidad-Cruz agradece a dichas instituciones por la beca otorgada para participar como investigador asociado al proyecto.

## Referencias

- Banga, J., Praveen, V., Singh, V., Tripathi, C.K.M., Bi-hari, V. (2008). Studies on medium optimization for the production of antifungal and antibacterial antibiotics from a bioactive soil actinomycete. *Medicinal Chemistry Research* 17(2):425-436.
- Montero-Tavera, V., Guerrero-Aguilar, B.Z., Anaya-López, J.L., Martínez-Martínez, T.O., Guevara-Olvera, L., González-Chavira, M.M. (2013). Diversidad genética de aislados de *Rhizoctonia solani* (Kuhn) de Chile en México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 4(7):4043-4054.
- Palaniyandi, S.A., Yang, S.H., Zhang, L., Suh, J.W. (2013). Effects of actinobacteria on plant disease suppression and growth promotion. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(22):9621-9636.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) (2013). Cierre de la producción agrícola por cultivo. Recuperado de <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-cultivo/>
- Statgraphics centurion (version XV) [software]. StatPoint, Inc. USA.
- Velázquez-Valle, R., Amador-Ramírez, M.D., Medina-Aguilar, M.M., Lara-Victoriano, F. (2007). Presencia de patógenos en almácigos y semillas de Chile (*Capsicum annuum* L.) en Aguascalientes y Zacatecas, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 25(4):75-79.
- Zhao, S., Du, C.M., Tian, C.Y. (2012). Suppression of *Fusarium oxysporum* and induced resistance of plants involved in the biocontrol of cucumber fusarium wilt by *Streptomyces bikiniensis* HD-087. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(9):2919-2927.