



# Caracterización fisiológica y actividad biocontroladora de levaduras filosféricas sobre *Penicillium digitatum* en poscosecha de naranja

Jimmy Zapata, Cindy Mejía, Liz Uribe, Alba Marina Cotes

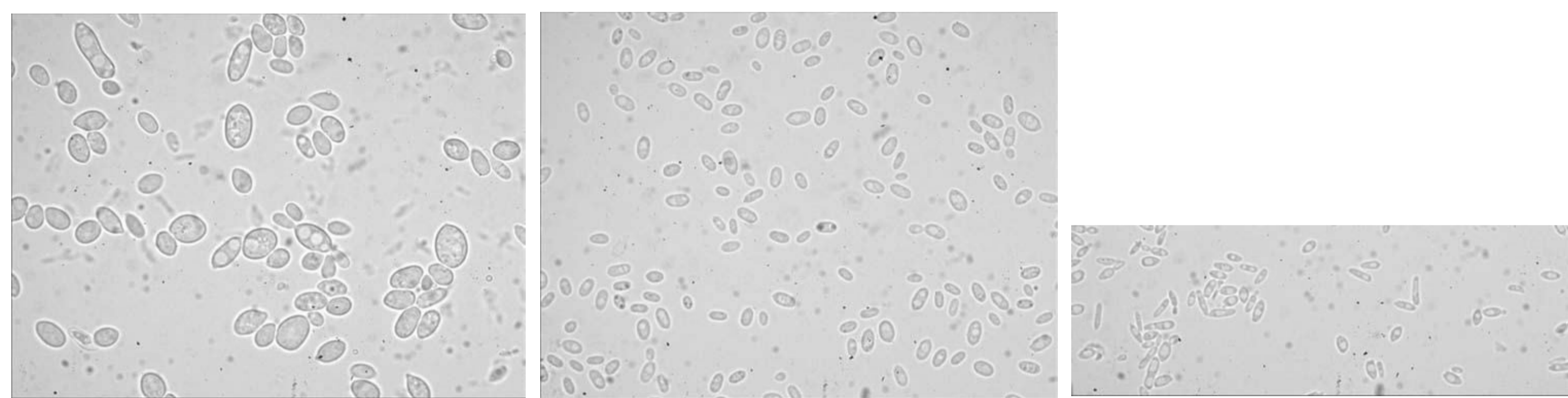
Centro de Biotecnología y Bioindustria, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria CORPOICA, Km 14 vía Mosquera, Bogotá D.C., Colombia. E-mail: jzapatan@corpoica.org.co

## Introducción

El moho verde causado por *Penicillium digitatum* es la enfermedad más limitante en la postcosecha de cítricos. Dado que los conidios del hongo están en el aire éste puede afectar los frutos en la precosecha, en la planta de empaque, durante el transporte, en el almacenamiento y en el mercado. Dentro de los microorganismos utilizados como agentes de control biológico, las levaduras se destacan por su versatilidad fisiológica, ya que asimilan una gran variedad de sustratos (Andrews y Back, 2004). Igualmente colonizan y se reproducen rápidamente sobre la superficie vegetal y toleran condiciones ambientales adversas (Elad 1996; Mercier y Lindow, 2000). El objetivo de este trabajo fue caracterizar fisiológicamente 21 accesiones de levaduras nativas y seleccionar las que presentaran alta actividad biocontroladora sobre *Penicillium digitatum*, con miras al desarrollo futuro de un bioplaguicida para el control de enfermedades en poscosecha.

## Metodología

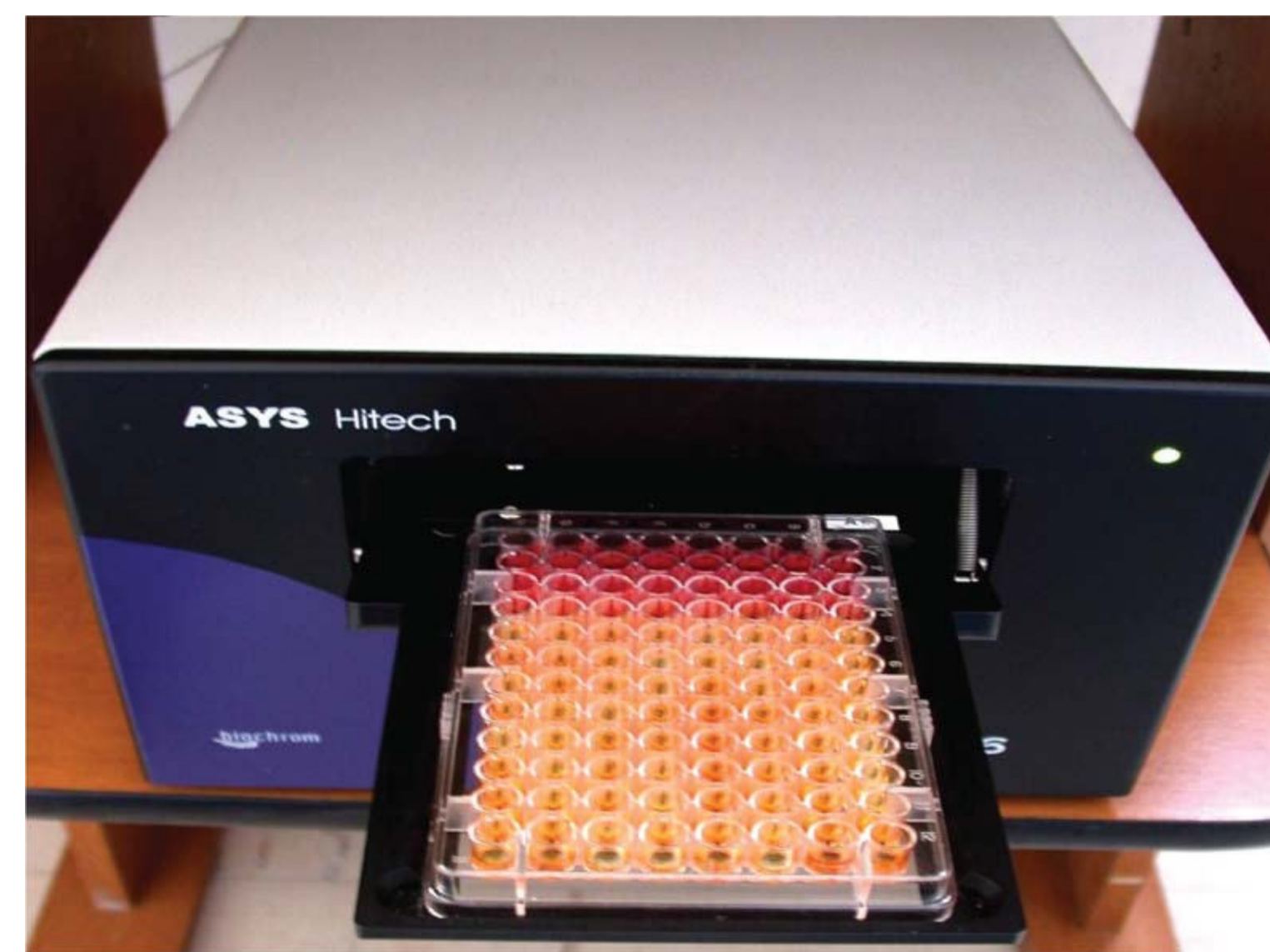
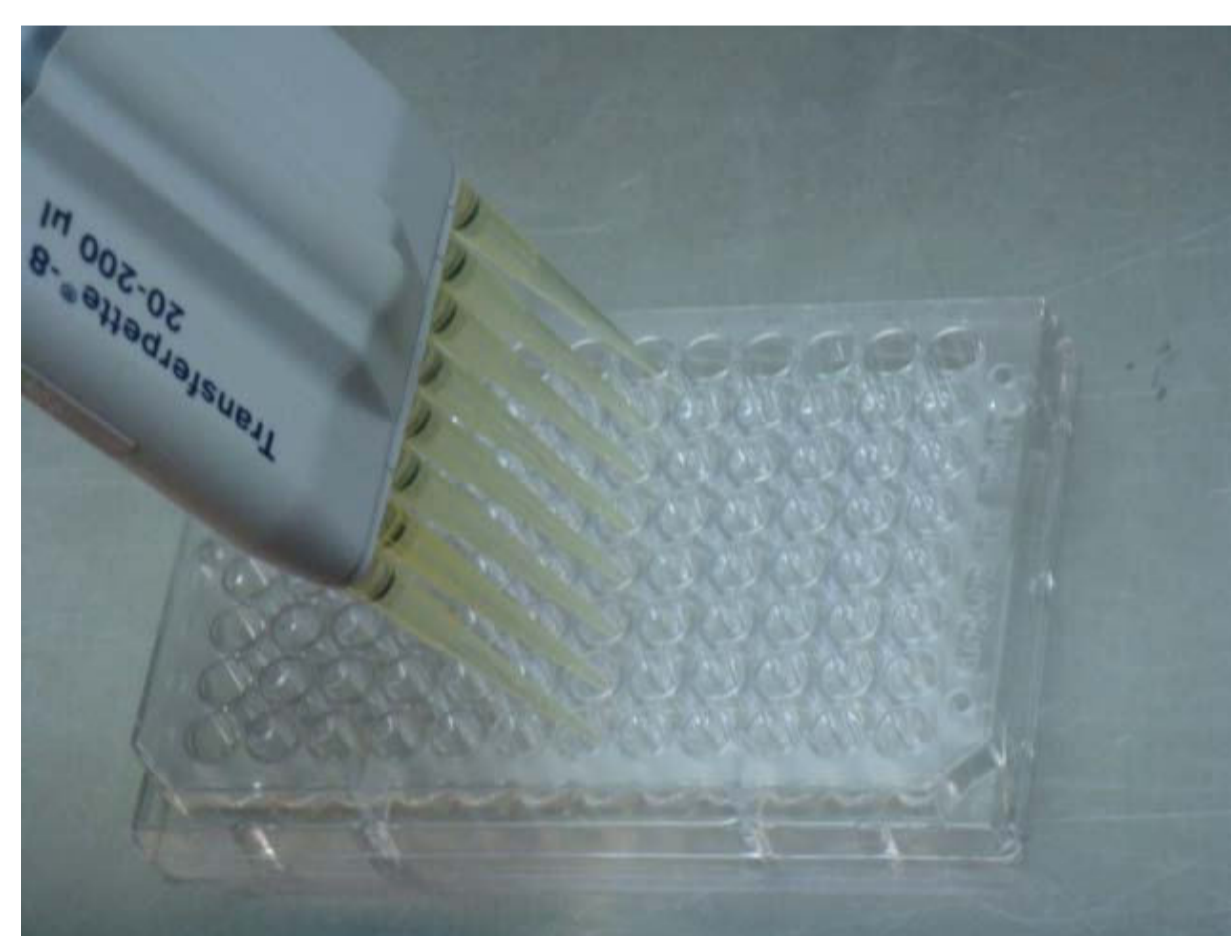
### Levaduras



Se evaluaron 21 accesiones de levaduras del Banco de germoplasma de microorganismos con interés en control biológico aisladas de diferentes regiones de Colombia de sustratos como durazno, cebolla, granadilla y mora. Éstas fueron preseleccionadas por asimilar diferentes fuentes de carbono y nitrógeno.

### Caracterización fisiológica

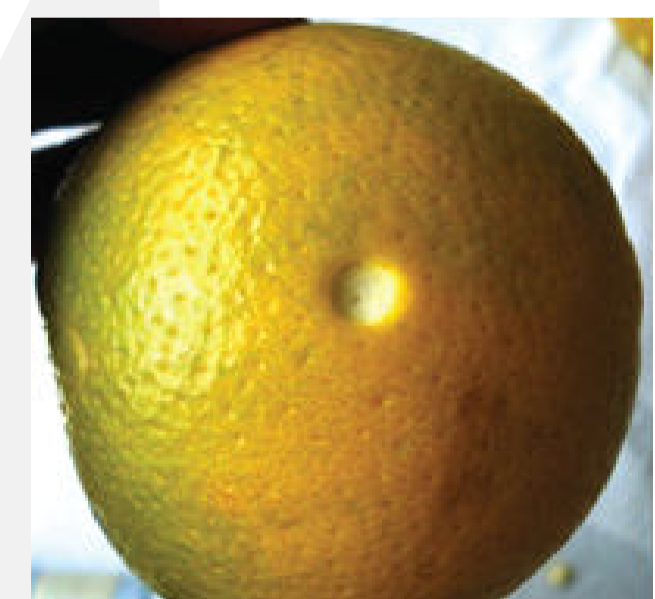
Crecimiento en caldo Saboureaud:  
5°C, 25°C, 30°C, 37°C y 40°C  
pH = 3, 5, 7 y 9  
aw = 0.94 y 0.92.



Lectura de la absorbancia a 405 nm (Lector Asys Expert) después de 48 horas de incubación.

### Actividad biocontroladora sobre *Penicillium digitatum*

Naranjas variedad Valencia, adquiridas en un mercado local.



Dos heridas de 0.5 cm de diámetro y 0.3 cm de profundidad



Inoculación mediante inmersión de las naranjas en una suspensión de cada levadura  $1 \times 10^7$  células.mL<sup>-1</sup> por 10 minutos



*P. digitatum*, una gota de  $10 \mu\text{L}$  a  $1 \times 10^5$  conidios.mL<sup>-1</sup> en cada herida



Unidad experimental, cámara húmeda con 3 naranjas - tres réplicas, incubadas a 17°C - HR 94% por 7 días. Tres repeticiones en el tiempo.



Variante evaluada: diámetro de la lesión, análisis de varianza y comparación de medias (Tukey con  $\alpha = 0.05$ ).

## Resultados y discusión

### Caracterización fisiológica

Tabla 1. Crecimiento de levaduras bajo diferentes condiciones.

Accesión	Temperatura °C					pH				a <sub>w</sub>
	5	25	30	37	40	3	5	7	9	
<i>Candida intermedia</i> Lv002	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++
<i>Pichia ohmeri</i> Lv008	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++
<i>Debaryomyces hansenii</i> Lv033	+++	+++	+++	+	+	+++	+++	+++	++	++
<i>Pichia anomala</i> Lv044	++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++
<i>Candida sake</i> Lv069	+++	+++	+++	+	+	+++	+++	+++	+++	+++
<i>Candida sp.</i> Lv073	+++	+++	+++	+	+	+++	+++	+++	+++	+++
<i>Meyerozyma guilliermondii</i> Lv100	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++
<i>Debaryomyces hansenii</i> Lv135	++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++
<i>Meyerozyma guilliermondii</i> Lv145	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++
<i>Candida sake</i> Lv165	+++	+++	+++	+	+	+++	+++	+++	+++	+++
<i>Meyerozyma guilliermondii</i> Lv170	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++
<i>Meyerozyma guilliermondii</i> Lv200	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
<i>Meyerozyma guilliermondii</i> Lv205	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++
<i>Meyerozyma guilliermondii</i> Lv215	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++
<i>Candida sp.</i> Lv296	-	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	++	++
<i>Pichia ananias</i> Lv303	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++
<i>Candida oleophila</i> Lv304	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++
<i>Candida multigemmis</i> Lv305	++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	++	++
<i>Pichia guilliermondii</i> Lv307	++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++
<i>Rhodotorula glutinis</i> Lv310	+++	+++	+	+	+	++	+++	+++	+	+
<i>Candida raillensis</i> Lv314	+++	+++	+++	+	+	+++	+++	+++	+++	++

La temperatura no afectó el crecimiento de las levaduras, excepto para las accesiones Lv296 (5°C) y Lv310 (30°C). El crecimiento para todas fue bajo a excepción de la accesión Lv200 a 40°C.

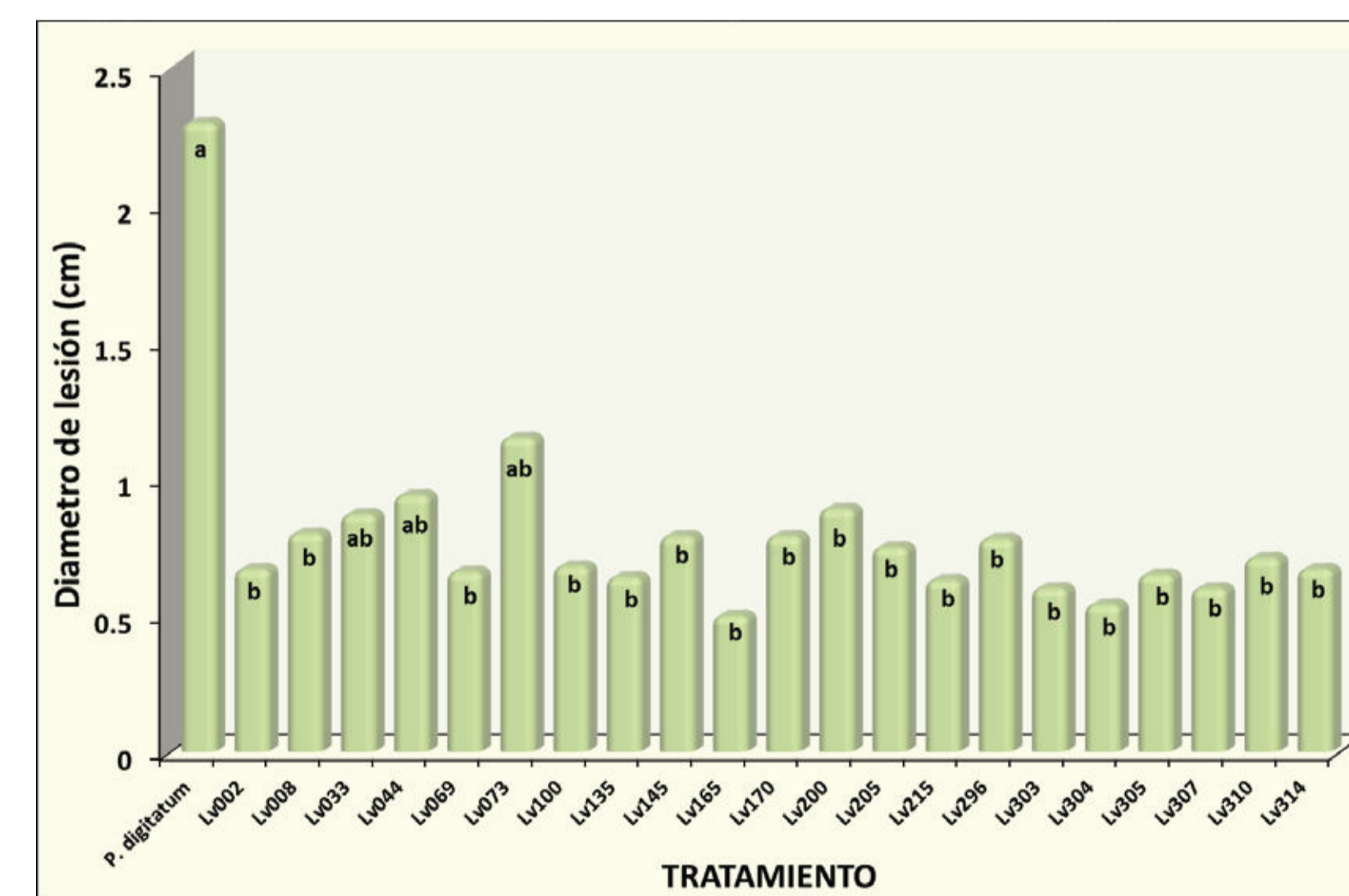
El pH y la actividad de agua no afectaron el crecimiento de la mayoría de las accesiones de levaduras, a excepción de la accesión Lv310 (Tabla 1).

Alto (++++ equivalente a  $1.000 > A405 > 0.751$ ; bueno (+++) equivalente a  $0.750 > A405 > 0.501$ ; medio (++) equivalente a  $0.500 > A405 > 0.251$ ; bajo (+) equivalente a  $0.250 > A405 > 0$ ; nulo (-) equivalente a  $A405 = 0$ ).

La tolerancia a estos factores juega un rol importante en el establecimiento y colonización de la superficie vegetal y posterior competencia por espacio y nutrientes cuando las levaduras son inoculadas en flores y frutas (Andrews y Back, 2004).

### Actividad biocontroladora sobre *Penicillium digitatum*

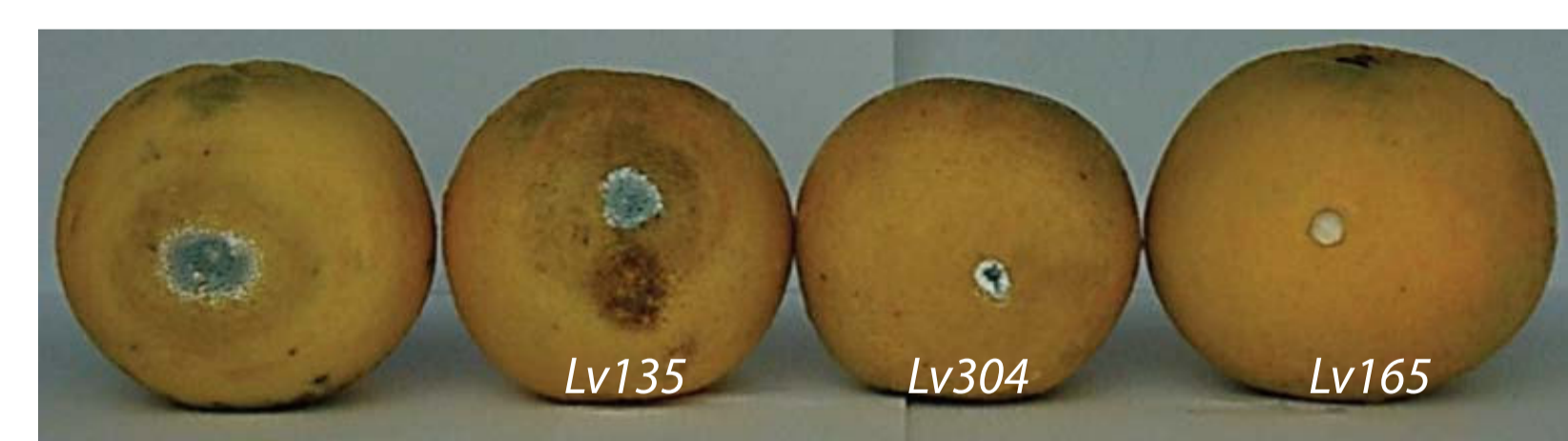
Diámetro de la lesión (cm) producida por *P. digitatum* después de siete días de incubación.



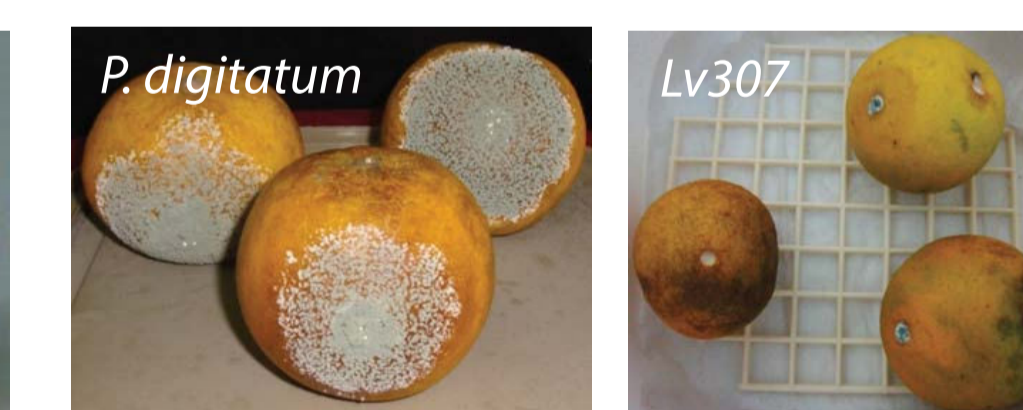
Tratamientos con la misma letra no presentan diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05\%$ ).

Las levaduras redujeron la incidencia del moho verde entre 15% y 38%, siendo las accesiones Lv303, Lv002, Lv073 y Lv307 las que mostraron la menor incidencia con una disminución del 38%.

Aunque las levaduras redujeron significativamente la severidad de la enfermedad (tamaño de la lesión) con respecto al control, no se encontraron diferencias significativas entre éstas, siendo las accesiones Lv165 y Lv304 las que mostraron un menor diámetro de lesión (0,50cm) comparado con el testigo patógeno (2,3 cm).



Estos resultados son promisorios si se tiene en cuenta que las levaduras fueron inoculadas simultáneamente con el patógeno sin darles tiempo para establecerse y colonizar las heridas, ya que el principal mecanismo de acción de estos microorganismos es la competencia por espacio y nutrientes (Elad, 1996).



La tolerancia de las levaduras a estos factores, así como la alta actividad biocontroladora mostrada será útil en etapas posteriores como su producción masiva en biorreactores, formulación de bioproductos y compatibilidad con agroquímicos, con miras a ser utilizadas en el control de patógenos de poscosecha o en cultivos comerciales.

### Referencias Bibliográficas

ANDREWS J., BACK J. **Adhesion of yeast to leaf surfaces.** Chapter 4 in Phyllosphere microbiology, edited S. E. Lindow, E. I. Hecht-Poinar and V. J. Elliott. Saint Paul, MN, USA: APS press. 2004.  
ELAD, Y. **Mechanism involved in the biological control of Botrytis cinerea incited diseases.** European Journal of Plant Pathology 1996.102: 719-732.  
MERCIER J., LINDOW, E. **Role of leaf surface sugar in colonization of plants by bacterial epiphytes.** Applied and Environmental Microbiology 2000. 66: 369-374.

### Agradecimientos

Al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural y al Instituto Colombiano Agropecuario ICA por su apoyo financiero para realizar el presente trabajo, el cual está enmarcado dentro del Proyecto "Bancos de germoplasma de microorganismos en control biológico".

