

## CAMBIOS EN LA FUNCIONALIDAD DE LA MEMBRANA PLASMÁTICA DE *Rhizopus stolonifer* BAJO ESTRÉS POR QUITOSANO

Vega-Pérez J.<sup>1</sup>; Hernández-Lauzardo A. N.<sup>2</sup>; Guerra-Sánchez M. G.<sup>1</sup>; Velázquez-del Valle M. G.<sup>2</sup>.  
<sup>1</sup>ENCB-IPN, Prol. de Carpio y Plan de Ayala, CP. 11340, México, D.F. Tel. 5729 6300 Ext. 62383, [josam\\_00@hotmail.com](mailto:josam_00@hotmail.com).  
<sup>2</sup>CEPROBI-IPN, Carretera Yautepec-Jojutla km. 8.5, Yautepec Morelos, México, Tel. 5729 6300 Ext. 82511 [aniurka10@hotmail.com](mailto:aniurka10@hotmail.com).

### INTRODUCCIÓN

*Rhizopus stolonifer* Ehrenb. (Ex Fr.) Lind, es considerado uno de los principales fitopatógenos que provocan enfermedades postcosecha, es el agente causal de la pudrición blanda de frutas y hortalizas ocasionando importantes pérdidas económicas. Tradicionalmente este tipo de infecciones se controlan a través del uso de fungicidas sintéticos, sin embargo, los fungicidas han causado problemas de contaminación ambiental, resistencia del patógeno y daños a la salud. El uso de alternativas naturales que sean biodegradables y efectivas en el control de las enfermedades es lo que se ha buscado en las últimas décadas. Un probable acercamiento a la solución de este problema es el uso de quitosano, el cual es un polímero natural de tipo catiónico que se deriva de la quitina y se obtiene a través de un proceso de desacetilación. Se ha demostrado que el quitosano tiene un amplio espectro de inhibición tanto para bacterias como levaduras y hongos. El mecanismo de la actividad antimicrobiana del quitosano y sus derivados no está del todo elucidado, se sugiere que las cargas positivas en el grupo  $\text{NH}_3^+$  del monómero de glucosamina a pH <6.3 permite la interacción con las cargas negativas de la membrana celular, lo cual altera la permeabilidad de dicha membrana, interfiriendo con las funciones fisiológicas normales.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Para propagar al hongo *Rhizopus stolonifer* se cultivó en medio sólido de Papa Dextrosa Agar (PDA). Para obtener

el inóculo correspondiente se tomaron discos de agar con crecimiento micelial o se preparó una suspensión de esporas. Los ensayos se realizaron en medio mínimo (MM) en placa y líquido ajustado a un pH 5.6, también se utilizó caldo papa dextrosa (PDB). Se utilizó quitosano de bajo peso molecular (Aldrich), adicionado al medio de cultivo a una concentración de  $2 \text{ mg mL}^{-1}$ . Para determinar la permeabilidad de membrana se utilizó yoduro de propidio (PI) a  $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ . Los cambios en la funcionalidad de membrana plasmática, se evaluaron midiendo la actividad de la  $\text{H}^+$  ATPasa, mediante un método colorimétrico acoplado a la reacción enzimática.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se obtuvo un porcentaje de inhibición de crecimiento del 76 % con la concentración de  $2 \text{ mg mL}^{-1}$  de quitosano a las 24 h de cultivo en placa, siendo este el mayor valor de inhibición, por lo que los experimentos posteriores se realizaron con esa concentración. Se demostró que existe un daño sobre la permeabilidad de la membrana plasmática del hongo y que este efecto se incrementa conforme aumenta el tiempo de exposición, el daño depende del tipo de medio de cultivo siendo mayor el daño en el medio rico (PDB). La actividad de la  $\text{H}^+$  ATPasa disminuyó en un 50% aproximadamente, lo que indica que la presencia del quitosano afecta también las funciones básicas de la membrana plasmática. No se observó un efecto letal, debido a que el crecimiento del hongo se mantiene, aunque no de forma normal.