

UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN

Dirección de Postgrado



Magíster en Ciencias Mención Microbiología

Facultad de Ciencias Biológicas

INHIBICION DE LA FORMACION DE BIOPELICULAS *DE Pseudomonas Syringae* POR METABOLITOS SECUNDARIOS DE PLANTAS NATIVAS DEL AREA CENTRO SUR DE CHILE

JORGE ANDRÉS VILLANUEVA ARANCIBIA

CONCEPCION – CHILE
2010

II.-RESUMEN

En Chile el sector silvoagropecuario produce más de 3000 millones de dólares al año en ganancias de exportaciones, después de los ingresos del cobre (Ministerio de Agricultura de Chile, 2000). Parte de las pérdidas en este sector se deben a la acción de plagas (insectos) y patógenos (hongos, nemátodos, bacterias y virus); éstos últimos producen serios daños como: Pudrición leve, necrosis de tejidos, etc. (Vidhyasekaran, 2002), lo que provoca grandes pérdidas económicas y de rendimiento (Browning, 1998). Existen agroquímicos o biocidas, utilizados para el control de fitopatógenos bacterianos, como compuestos del cobre los que tienen baja efectividad y los antibióticos (estreptomina-oxitetraciclina) los que son efectivos, pero su uso ambiental es altamente discutido, además de seleccionar resistencia. Dentro de las bacterias fitopatógenas destaca *Pseudomonas syringae* por su agresividad, variedad de toxinas y amplio espectro de hospederos, esta bacteria es, por lo tanto, un buen modelo de estudio (Dulla et al., 2005). Es un fitopatógeno que coloniza la superficie de plantas formando biopelículas, la formación de biopelículas aumenta la probabilidad de infección e involucra una mayor resistencia a antibióticos y biocidas.

Se estandarizó un test en microplaca para el estudio de extractos de flora nativa del sur de Chile, que inhiben la formación de biopelículas de éste patógeno. Se determinó la concentración de inóculo inicial, el medio de cultivo, la temperatura y tiempo de incubación de la biopelícula en microplacas de 96 pocillos, se evaluó con sustrato de crecimiento (cutícula artificial) y sin dicho sustrato, en el fondo de cada pocillo, y se realizó recuento de células cultivables. Luego se probó el método con más de 20 extractos distintos, adicionados al medio de cultivo en la cutícula, a una potencia de 30 mg por pocillo y se cuantificó las células adheridas. Se determinó que las condiciones óptimas para realizar el test son: Inóculo de 10 μ l de *P. syringae* con 1×10^5 ufc/ml, en 190 μ l de caldo King's B, en microplacas de 96 pocillos cubiertos con cutícula artificial, que homologa a la cutícula de la superficie foliar. La cutícula

artificial contiene los compuestos inhibidores probados. Se incubó por 48 h y luego se resuspendió la biopelícula en PBS con Proteosa peptona; luego se realizó recuento de células cultivables en placas de Agar King's B. Se determinó la disminución de al menos un logaritmo de los extractos Olivillo, Boldo, Maño, Avellano, Arrayan, entre otros. El extracto Lingue Diclorometano ejerció una disminución de 3 logaritmos en el recuento de células planctónicas, con respecto al control sin extracto.

