

# Desarrollo de un producto para control biológico de microorganismos fitopatógenos basado en metabolitos antimicrobianos

**Resultado** Evaluación in vitro del efecto antimicrobiano de diferentes cepas frente a bacterias y hongos fitopatógenos para seleccionar la de mayor actividad.

Selección de las condiciones de cultivo idóneas para la propagación de la cepa seleccionada

## Resumen

Los microorganismos son una rica fuente de metabolitos secundarios estructuralmente diversos que ejercen un notable impacto en el control de fitopatógenos que afectan la agricultura. Varios estudios han mostrado la capacidad de algunos microorganismos, particularmente *Streptomyces* y *Penicillium* para producir metabolitos secundarios que tengan efecto en el control de patógenos para la agricultura.

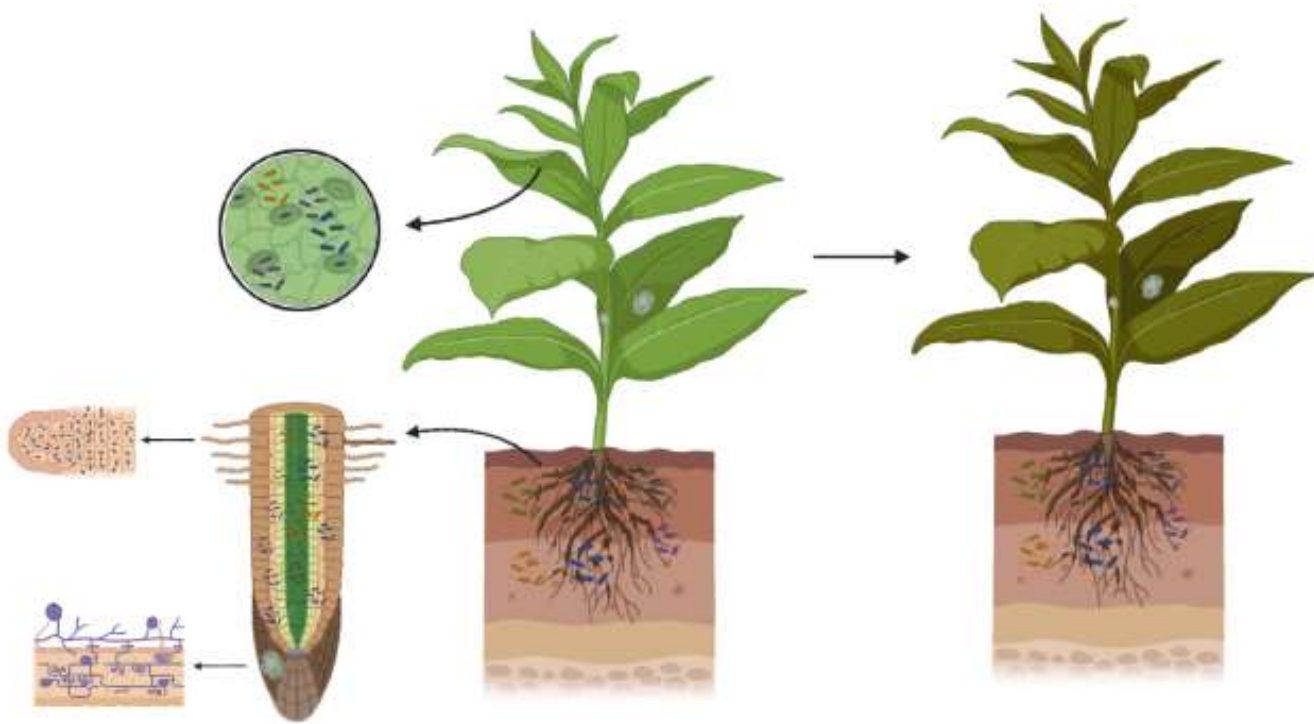
Especies de actinobacterias y hongos producen un amplio espectro de antibióticos antimicrobianos, compuestos orgánicos volátiles y enzimas. Además, induce resistencia de las plantas a patógenos.

Se brindan elementos sobre el control de microorganismos fitopatógenos, el efecto desfavorable de los pesticidas químicos en la salud humana, la composición del medio y las condiciones de fermentación.

## **Microorganismos fitopatógenos**

Los microorganismos fitopatógenos afectan la salud y productividad de las plantas, lo que impacta en la economía de todos los países. Al menos el 20-40 % de las pérdidas de cultivos son causadas por infecciones fitopatógenas y representan pérdidas de \$40 mil millones al año en todo el mundo (11) . Los fitopatógenos representan una amenaza global para la producción de alimentos y cultivos agrícolas. Los factores bióticos, incluidos los virus, las bacterias, los hongos y los nemátodos, provocan enfermedades devastadoras que provocan importantes pérdidas económicas (12).

Las bacterias y hongos fitopatógenos afectan a los órganos de las plantas, colonizando su superficie o tejidos (Figura 1.1). Estos microorganismos provocan síntomas como manchas, tizón, canchales, pudrición de tejidos y desequilibrios hormonales que conducen a un crecimiento excesivo, retraso en el crecimiento, atrofia, ramificación de raíces, entre otros (13). Estos problemas fitosanitarios afectan negativamente el suministro mundial de alimentos.



**Figura 1.1 Tejidos y órganos de las plantas colonizados por microorganismos patógenos provoca una serie de síntomas que pueden provocar la muerte de la planta.**

Se han utilizado pesticidas químicos y antibióticos para combatir las infecciones microbianas. Sin embargo, el uso de estos compuestos ha acarreado diferentes problemas como la resistencia de los patógenos al tratamiento, la salinización del suelo y la contaminación ambiental (14;15). De acuerdo con estos antecedentes, se hace necesaria la búsqueda de nuevos antimicrobianos para el control de bacterias y hongos fitopatógenos.

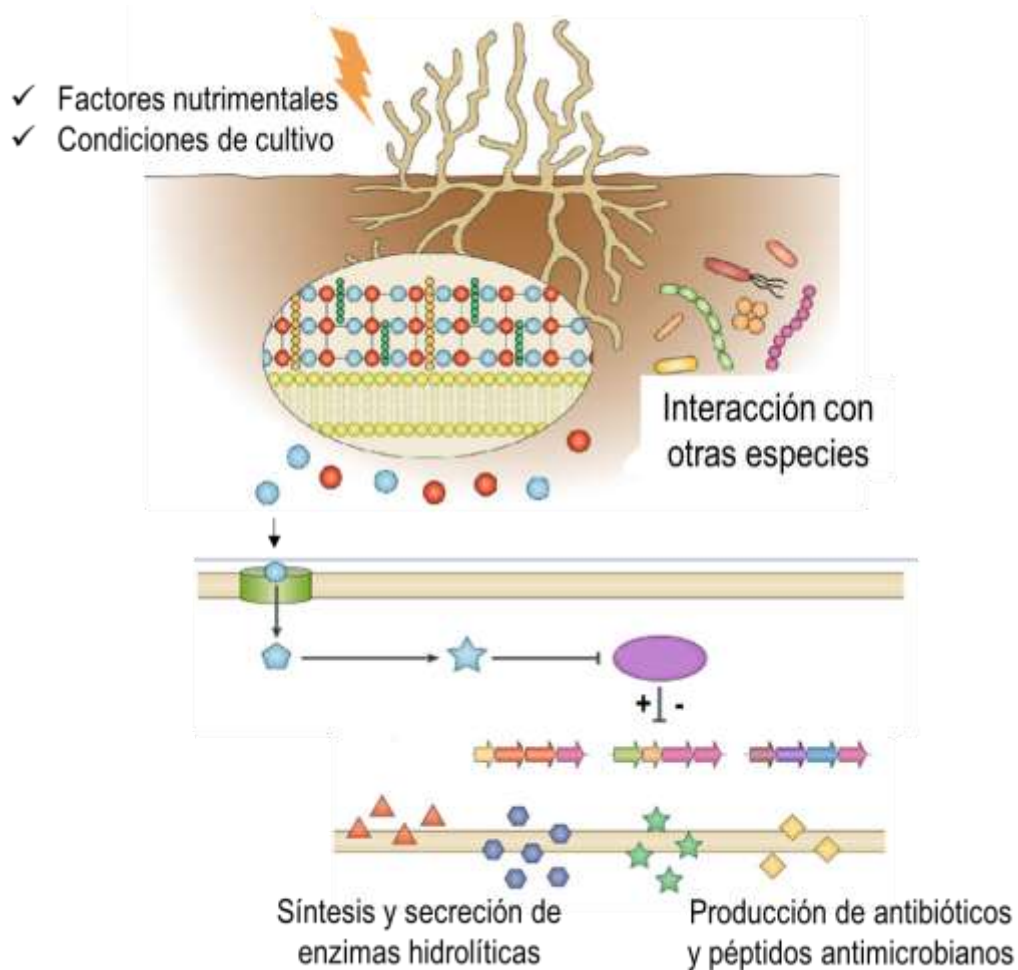


Figura 1.2 Efecto de factores bióticos y abióticos en la síntesis y secreción de metabolitos antimicrobianos.

### 1.1. Aplicaciones en la biotecnología. Metabolitos primarios y secundarios.

Las primeras aplicaciones de la biotecnología agrícola han revelado mayor rentabilidad, una disminución en el uso de pesticidas y futuros cambios en la calidad nutricional de los productos, especialmente a los niveles de producción comercial tecnificada. El desafío consiste en extender estas ventajas a los pequeños productores afectados por muy bajos rendimientos, inestabilidad climática, plagas y enfermedades, suelos degradados, sequías prolongadas, la no disponibilidad de semillas mejoradas y la aplicación crónica de peligrosos pesticidas con consecuencias graves para la salud y el medio ambiente.

En Cuba, desde la década de los 80 se comenzó a trabajar con el objetivo de asimilar las técnicas biotecnológicas. No fue, sin embargo, hasta 1991 que dicho trabajo tomó un rumbo muy definido a partir del análisis que en ese año realizara el Consejo de Ministros y las acciones que debían emprenderse para acelerar los resultados. A partir de entonces, se creó el Frente Biológico (del cual el ICIDCA fue fundador),

## **1.2. Metabolitos secundarios como antibióticos naturales**

Varios estudios han informado sobre microorganismos beneficiosos y metabolitos secundarios, tanto de origen microbiano como vegetal, como una bio-alternativa para el control de bacterias y hongos fitopatógenos para disminuir el uso de compuestos químicos tóxicos. Estos compuestos bioactivos suelen tener efecto contra un número de especies patógenas, son biodegradables y amigables con el medio ambiente.

La producción de antimicrobianos por cepas de actinobacterias y hongos puede incrementarse significativamente dependiendo de las diferentes condiciones nutricionales y de cultivo. El déficit de nutrientes puede influir en el desarrollo de hifas y, por tanto, producir estos compuestos antimicrobianos. Estas señales ambientales son interpretadas por las células como estrés, por lo que estos compuestos se consideran metabolitos de estrés debido a su papel en la adaptabilidad.

El uso de microorganismos o sus metabolitos para el control de las enfermedades de las plantas ha recibido una mayor atención, cuando no tienen efectos negativos en la salud humana o animal y son respetuosos con el medio ambiente y no afectan a otros organismos benéficos.

Los actinomicetos han servido como vasto reservorio de metabolitos agroactivos por varios años atrás (3). Los antibióticos son una importante clase de metabolitos secundarios producidos por los microorganismos, los cuales son perjudiciales para el crecimiento de otros a bajas concentraciones. Los antibióticos han sido reportados frecuentemente a partir de bacterias, siendo las actinobacterias los mayores productores, contando con cerca del 45% de los antimicrobianos recientemente usados. Los agentes antimicrobianos denominados antibióticos son sustancias naturales que matan o inhiben el crecimiento de los microorganismos, es decir, poseen propiedades antibióticas o citotóxicas. En el caso de los que son producidos por bacterias, se excretan al final de la fase exponencial de crecimiento como metabolitos secundarios (42).

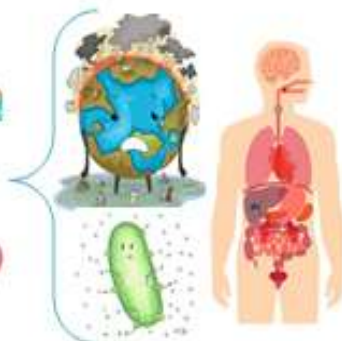
# Evaluación in vitro del efecto antimicrobiano de diferentes cepas frente a bacterias y hongos fitopatógenos para seleccionar la de mayor actividad.

## Introducción

Fitopatógenos  
30-40% de pérdidas al año

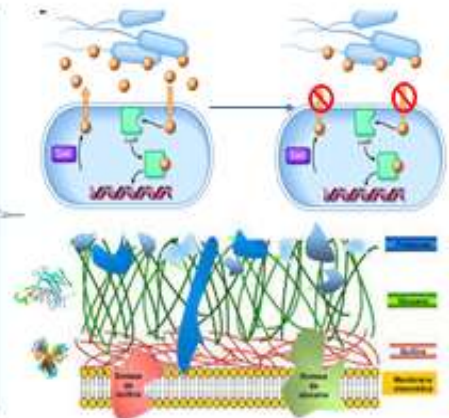
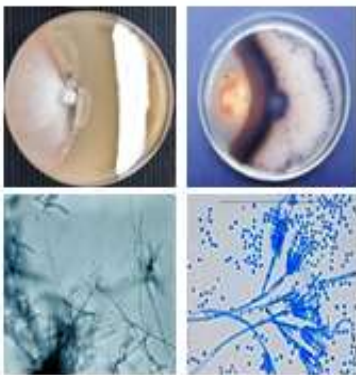


\$ 62 mil millones al año en  
todo el mundo



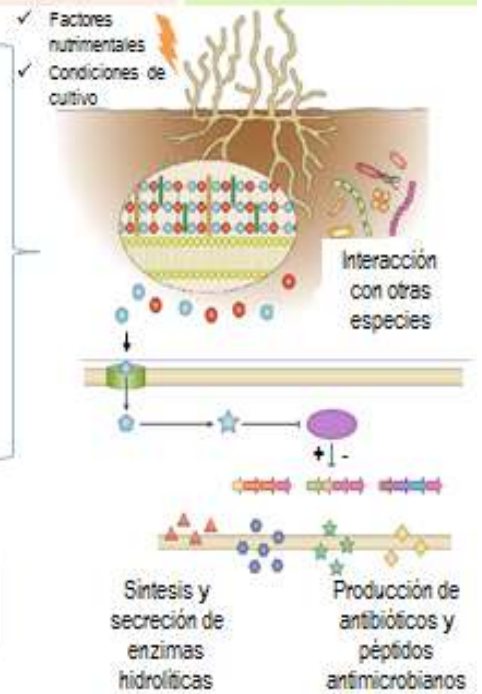
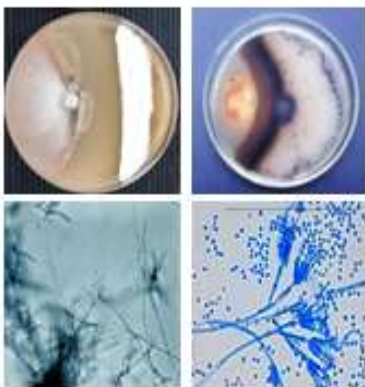
- ✓ Contaminación al medio ambiente
- ✓ Daños a la salud humana y animal
- ✓ Resistencia microbiana

Biocontroladores



Candidatos prometedores para el control biológico de microorganismos fitopatógenos

Biocontroladores



Candidatos prometedores para el control biológico de microorganismos fitopatógenos

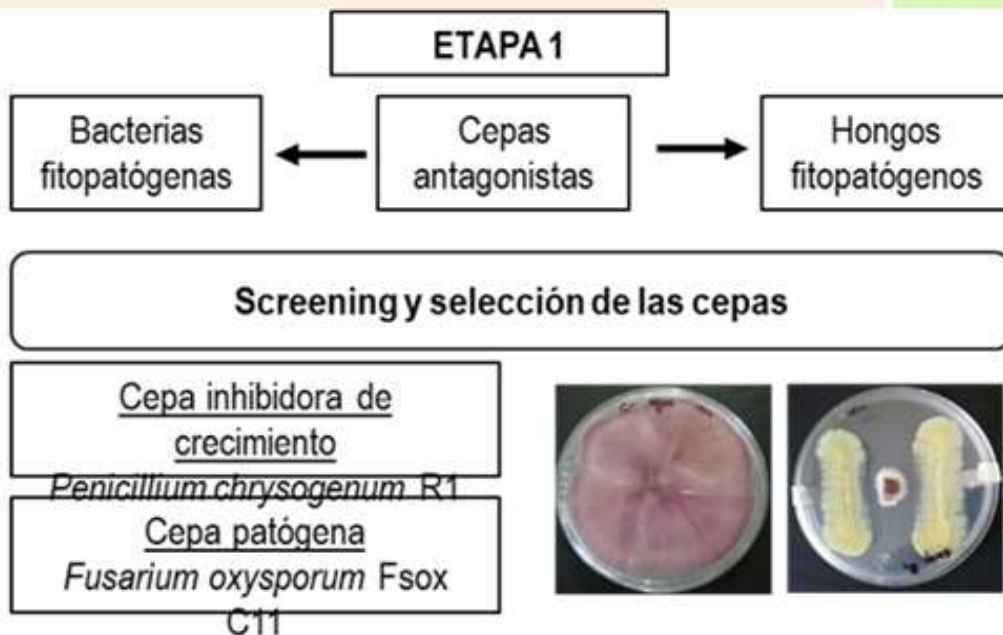
## OBJETIVO GENERAL

Obtener un bioproducto a partir de metabolitos antimicrobianos para control biológico de fitopatógenos

## OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Evaluar *in vitro* el efecto antimicrobiano de diferentes cepas frente a bacterias y hongos fitopatógenos para seleccionar la de mayor actividad antimicrobiana.
2. Seleccionar las condiciones de cultivo idóneas para aumentar la actividad antimicrobiana de extractos valorando su actividad antimicrobiana *in vitro*.
3. Escalar a nivel semicomercial la producción de metabolitos antifúngicos
4. Demostrar el control biológico de los agentes fitopatógenos (extracto y cepas).
5. Presentar expediente para el registro del producto

### DIAGRAMA GENERAL

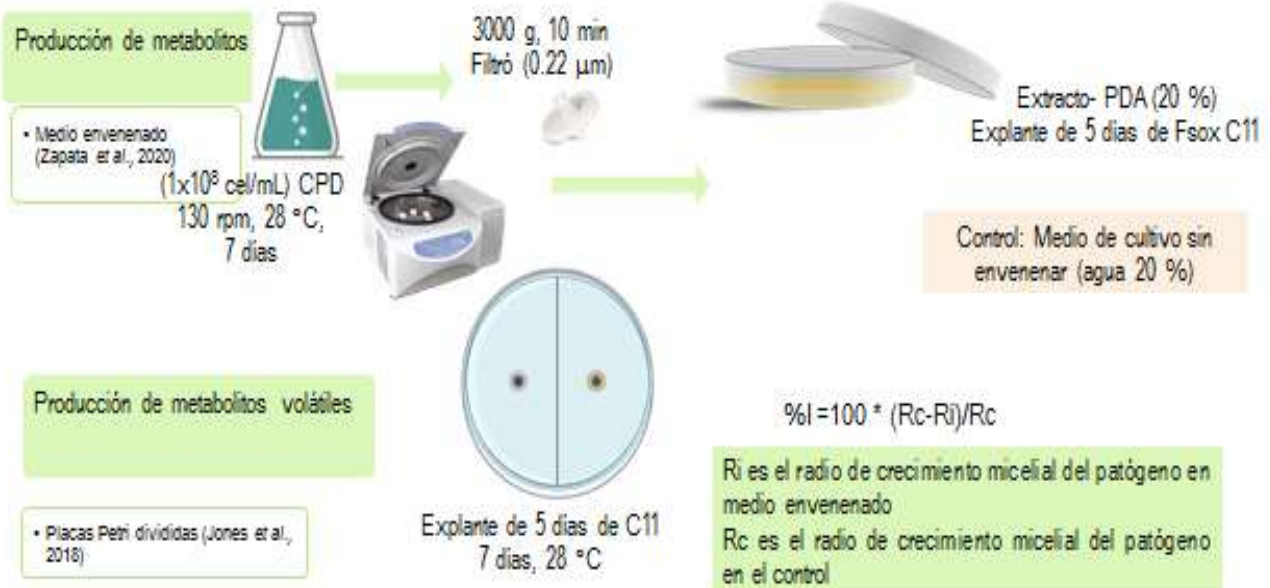




## Actividad antagonica contra bacterias y hongos fitopatogenos

## Materiales y Métodos ETAPA 1

Selección de la cepa con mayor actividad antimicrobiana y de la cepa fitopatogena con mayor inhibición



10

## Actividad antagonica contra bacterias y hongos fitopatogenos

## Resultados y Discusión ETAPA 1

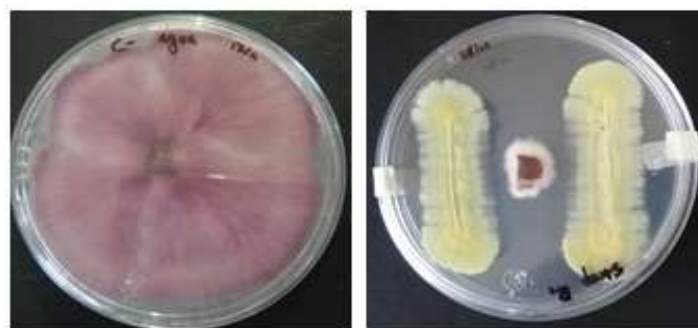
Tabla 2. Porcentajes de inhibición de hongos fitopatogenos en presencia de *Penicillium* sp. R1

| Penicillium sp. R1                 |                               |
|------------------------------------|-------------------------------|
| Cepas                              | Inhibición de crecimiento (%) |
| <i>Fusarium oxysporum</i> Fsox C11 | 67                            |
| <i>Phytophthora</i> sp. NSN Phy    | 57                            |
| <i>Botrytis cinerea</i> Bter GM3   | 76                            |
| <i>Rhizoctonia solani</i> C31      | 59                            |

Tabla 3. Biocontrol de cepas de *Fusarium* por *Penicillium* spp. reportadas en literatura.

| Cepas                             | Inhibición de crecimiento de <i>Fusarium</i> (%) | Referencia           |
|-----------------------------------|--|----------------------|
| <i>Penicillium</i> sp. R1         | 67   | Presente estudio     |
| <i>P. chrysogenum</i> VKPM F-1310 | 55   | Karpova et al., 2021 |
| <i>Penicillium</i> sp.            | 57   | Win et al., 2021     |
| <i>P. bilaiae</i> 47M-1           | 61   | Zhao et al., 2021    |

Fig 1. Crecimiento de *F. oxysporum* Fsox C11 en el control (A) y en presencia de *Penicillium* sp. R1 (B).



(Castro et al., 2017; Bárcenas et al., 2019; Hernández et al., 2020)

13

1. Se brindan elementos sobre el control de microorganismos fitopatógenos, el efecto desfavorable de los pesticidas químicos en la salud humana, la composición del medio y las condiciones de fermentación, la separación de estos metabolitos, el uso de métodos novedosos como la formulación por encapsulación y la introducción en el mercado de algunos productos.
2. La revisión bibliográfica consideró un total de 80 citas, de gran actualidad, al estar el 53% posterior a los últimos cinco años. La bibliografía consultada incluyó artículos de revistas, libros, tesis y páginas web.
3. La evaluación de la actividad antimicrobiana de cuatro cepas *Streptomyces* sp. y una de *Penicillium* sp. contra bacterias y hongos fitopatógenos mostró que los microorganismos incluso pertenecientes al mismo género difieren en la actividad antimicrobiana, y algunos carecen de ella.
4. El hongo *Penicillium* sp. R1, mostró actividad antifúngica contra todos los hongos fitopatógenos probados. Los resultados obtenidos muestran el potencial de la aplicación de extractos de *Penicillium* libre de células en el control biológico de hongos.