

BACTERIAS AISLADAS DEL JUGO DE FIQUE CON ACTIVIDAD ANTAGÓNICA SOBRE *Phytophthora Infestans* (Mont.) de Bary

BACTERIA ISOLATED FROM SISAL JUICE WITH ANTAGONIC ACTIVITY AGAINST *Phytophthora* *infestans* (Mont.) de Bary

BACTERIAS ISOLADAS DO SUCO DE FIQUE COM ACTIVIDADE ANTAGONICA FRENTE A *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary

IVAN DARIO OTERO R.¹, ANDRES MAURICIO HURTADO B.², OSCAR ARANGO B.³, PABLO FERNÁNDEZ I.^{4*}
FERNANDO JAVIER MARTINEZ S.⁵, ZHAIRA STEPHANIE PARRA G.⁵

RESUMEN

Phytophthora infestans (Mont.) de Bary, causa pérdidas considerables en todas las áreas donde se cultivan Solanáceas. Su manejo se realiza por métodos químicos, biológicos y tradicionalmente por los agricultores utilizando jugo de fique. Se aislaron bacterias presentes en el jugo de fique y se evaluó el antagonismo contra *P. infestans* empleando el principio de la técnica de Bauer–Kirbyel. Se seleccionó el aislado con mayor inhibición para realizar una fermentación en jugo de fique estéril y pruebas de antagonismo contra *P. infestans* en cajas de agar tomate enmendadas con caldo fermentado. Finalmente, se realizó la caracterización molecular del aislado seleccionado mediante la secuenciación parcial del gen ribosomal 16S rRNA. Se obtuvo 41 aislados, de los cuales ocho presentaron inhibición del crecimiento *In Vitro* de *P. infestans*. Se seleccionó el aislado M46 para las pruebas de antagonismo en placas de agar tomate enmendadas con 200 μ L de caldo fermentado y se alcanzó un porcentaje de inhibición del 95,4% del crecimiento de *P.*

Recibido para evaluación: 04 de junio de 2013. **Aprobado para publicación:** 28 de abril de 2014

- 1 Universidad de Nariño. Biólogo, Grupo de Biotecnología Microbiana. Pasto, Nariño, Colombia.
- 2 Universidad de Nariño. Director Grupo de Tecnologías Emergentes en Agroindustria. Ph.D. Ingeniería Química. Pasto, Nariño, Colombia.
- 3 Universidad de Nariño. M.Sc. Ingeniería Ambiental y Sanitaria. Pasto, Nariño, Colombia.
- 4 Universidad de Nariño. Director Grupo de Biotecnología Microbiana, Ph.D. Ciencias Biológicas Área Microbiología. Pasto, Nariño, Colombia.
- 5 Universidad de Nariño. Ingenieros Agroindustriales. Pasto, Nariño, Colombia.

Correspondencia: pabfdez@gmail.com

fitopatógenos de los géneros *Rhizoctonia*, *Alternaria*, *Sclerotinia*, *Fusarium*, *Uromyces*, *Gaeummanomyces*, *Pythium* y *Phytophthora* [20, 22, 23].

Así mismo, especies del género *Bacillus* como *Bacillus firmus* se ha reportado como agente inhibitorio del crecimiento micelial *In vitro* de *Phytophthora capsici* Leo, con un porcentaje de inhibición del 41% [19]. Sin embargo, con *Bacillus* sp. M46 se obtuvo inhibición del 95,46% para el crecimiento de *P. infestans*; en consecuencia los metabolitos producidos por esta bacteria tienen potencial de uso en el sector agrícola dado su carácter orgánico y biodegradabilidad y de esta manera se contribuye a disminuir el impacto ambiental que causan los fungicidas xenobióticos [24, 25].

Yongjun *et al.* [26] evaluaron la eficiencia de resistencia en plantas de tomate inducidas por aislados de rizobacteria (*Burkholderia gladioli*, *Miamiensis avidus*, *Acinetobacter quenomo* sp y *B. cereus*) contra la enfermedad del tizón tardío causada por *P. infestans*. Encontraron que en hojas de plantas pre-inoculadas con los aislados bacterianos se presentó una aparente lesión tres días después de la inoculación, sin embargo, cinco días más tarde, la severidad de la enfermedad fue menos que la de las plantas control. Los rangos de protección por la pre-inoculación con los aislados bacterianos alcanzaron el 50%.

Considerando los anteriores resultados, es posible elaborar un bioinsumo para utilizar *In situ* *Bacillus* sp. M46 como agente controlador de fitopatógenos, ya que es necesario implementar métodos alternativos para el control de *P. infestans* debido a la creciente demanda por la seguridad de los productos agrícolas, la aparición de poblaciones de patógenos resistentes a fungicidas, y los problemas ambientales causados por el uso desmedido de los fungicidas.

En este estudio se probó que bacterias presentes en el jugo de fique tienen actividad antagónica frente al patógeno *P. infestans* de manera individual crecidas en un medio con glucosa y también utilizando como sustrato el jugo de fique que se considera como un residuo agroindustrial causante de graves problemas de contaminación en los sectores aledaños al procesamiento de la cabuya

CONCLUSIONES

Probablemente los metabolitos producidos por las comunidades microbianas presentes en el jugo de fique son las que ejercen control biológico de *P. infestans*

cuando los agricultores aplican jugo de fique sobre los cultivos de papa y otras *Solanaceas*.

Bacillus sp. M46 tiene potencial como agente de control biológico de *P. infestans* utilizando jugo de fique como sustrato para su crecimiento.

Es posible utilizar jugo de fique como sustrato para el crecimiento de bacterias antagónicas de *P. infestans* y contribuir así a la preservación del medio ambiente y a la sostenibilidad de los cultivos que son infectados por este fitopatógeno.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural por la financiación de este trabajo.

A Edith Mariela Burbano Ph.D. docente programa de Biología, Universidad de Nariño, por su asesoría en los métodos moleculares.

A Guido Ernesto Villota Calvachi, Biólogo, técnico laboratorio Biotecnología Microbiana, Universidad de Nariño, por su apoyo en los diferentes experimentos de laboratorio desarrollados en esta investigación

REFERENCIAS

- [1] COLOMBIA. CADENA PRODUCTIVA NACIONAL DEL FIQUE CADEFIQUE. Guía ambiental del sub-sector fiquero. 2 ed. Bogotá (Colombia): Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial, 2006, 122 p.
- [2] ESCALANTE, M. y FARRERA, R. Epidemiología del tizón tardío (*Phytophthora infestans* Mont De Bary) de la papa en zonas productoras del estado Táchira, Venezuela. Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial, 16(1), 2004, p. 47-54.
- [3] MARTÍNEZ, E. y OSORIO, J. Estudios preliminares para la producción de un biosurfactante bacteriano activo contra *Phytophthora infestans* (mont.) De Bary. Revista CORPOICA - Ciencia y Tecnología Agropecuaria, 8(2), 2007, p. 5-16.
- [4] CARRILLO, A., GÓMEZ, I., COTES, J.M. y NÚÑEZ, C.E. Efecto de algunos aceites esenciales sobre el crecimiento de *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary en condiciones de laboratorio.

- Agronomía Colombiana, XXVIII(2), 2010, p. 245-253.
- [5] JARAMILLO, S. Monografía sobre *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary. Medellín (Colombia): Universidad Nacional de Colombia sede Medellín, Facultad de Ciencias Agropecuarias, 2003, 141 p.
- [6] GORVES, F. Misclassification of pest as "fungi" puts vital research on wrong track. *Nature*, 2001, p. 411-633.
- [7] GRIFFITH, G.W. and SHAW, D.S. Polymorphisms in *Phytophthora infestans*: four mitochondrial haplotypes are detected after PCR amplification of DNA from pure cultures or from hot lesions. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(10), 1998 p. 4007-4014.
- [8] GIRALDO, D., JUAREZ, H., PÉREZ, W., TREBEJO, I., YZARRA, W. y FORBES, G. Severidad del tizón tardío de la papa (*Phytophthora infestans*) en zonas agrícolas del Perú asociado con el cambio climático. *Revista Peruana Geo-Atmosférica RPGA*, (2), 2010, p. 56-67.
- [9] OCHOA, J.C. y JARAMILLO, L. Uso del jugo de fique como aditivo orgánico en el hormigón. *Scientia et Technica*, XIII(36), 2007, p. 454-459.
- [10] PANTOJA, A. y LATORRE, L. Evaluación de tratamientos térmicos para la inactivación de las enzimas polifenol oxidasa y peroxidasa en el jugo de fique (*Furcraea gigantea* Vent.) producido en el departamento de Nariño [Tesis pregrado Ingeniería Agroindustrial]. Pasto (Colombia): Universidad de Nariño, Facultad de Ingeniería Agroindustrial, 2010.
- [11] WINN, W., ALLEN, S., JANDA, W., KONEMAN, E., PROCOP, G., SCHRECKENBERGER, P. and WOODS, G. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 5 ed. Philadelphia (USA): Lippincott Williams and Wilkins, 1997, p. 98-100.
- [12] BENSON, H. *Microbiological Applications: Laboratory Manual in general microbiology*. 8 ed. Texas (USA): The Mc Graw-Hill Companies, 2001, p. 55-71.
- [13] HARLEY, J. and PRESCOTT, L. *Laboratory Exercises in Microbiology*. 5 ed. Texas (USA): The Mc Graw-Hill companies, 2002, p. 31-68.
- [14] PÍREZ, M. y MOTA, M. *Temas de Bacteriología y Virología Médica: morfología y Estructura Bacteriana*. 2 ed. Montevideo (Uruguay): Universidad de la República, Departamento de Bacteriología y Virología, Oficina del libro FEFMUR, 2006, p. 26-27
- [15] DÍAZ, G. *Fundamentos y Técnicas de Análisis Microbiológicos: Morfología y Estructura Bacteriana*. Madrid (España): 2009, p. 6-9.
- [16] URUGUAY. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS CLEMENTE ESTABLE. *Practico de laboratorio para bioquímica II: Metabolitos producidos por bacterias rizosféricas promotoras del crecimiento vegetal*. Montevideo (Uruguay): 2004, 11 p.
- [17] RIVERA, I.G., CHOWDHURY, M.A., HUQ, A., JACOBS, D., MARTINS, M.T. and COLWELL, R.R. Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus Sequences and the PCR to Generate Fingerprints of Genomic DNAs from *Vibrio cholerae* O1, O139, and Non-O1 Strains. *Applied and Environmental Microbiology*, 61, 1995, p. 2898-2904.
- [18] REVELO, D. Diseño de iniciadores y validación de una metodología molecular para la selección de bacterias de diferentes géneros acumuladoras de polihidroxialcanoatos PHAs [Tesis Maestría en Ciencias Microbiológicas]. Bogotá (Colombia): Universidad Nacional de Colombia, 2005.
- [19] LAGUNAS, J., ZAVALA, E., OSADA, S., ARANDA, S., LUNA, I. y VAQUERA, H. *Bacillus firmus* como agente de control biológico de *Phytophthora capsici* Leo. en Jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). *Revista Mexicana de Fitopatología*, 19(001), 2001, p. 57-65.
- [20] REINOSO, Y., CASADESÚS, L., GARCIA, A., GUTIÉRREZ, J. y PAZOS, V. Aislamiento, selección e identificación de bacterias del género *Bacillus* antagonistas de *Pectobacterium carotovorum*. *Fitosanidad*, 10(3), 2006, p. 187-191.
- [21] BASURTO, M., SAN AMBROSIO, M., GARCIA, J. y VÁZQUEZ, M. Cambios en la estructura celular durante la actividad antagonica de *Bacillus subtilis* contra *Rhizoctonia solani* y *Fusarium verticillioides*. *Acta microscópica*, 19(2), 2010, p. 138-144.
- [22] REINOSO, Y., VAILLANT, D., CASADESÚS, L., GARCÍA, E. y PAZOS, V. Selección de cepas de *Bacillus* y otros géneros relacionados para el control biológico de hongos fitopatógenos. *Fitosanidad*, 11(1), 2007, p. 35-40.
- [23] HERNÁNDEZ, F.D., LIRA, R.H., CRUZ, L., GALLEGOS, G., GALINDO, M., PADRÓN, E. y HERNÁNDEZ, M. Potencial antifúngico de cepas de *Bacillus* spp. y extracto de *Larrea tridentata* contra *Rhizoctonia solani* en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L). *Revista Internacional de Botánica experimental*, 77, 2008, p. 241-252.
- [24] ZHU, G., HUANG, F., FENG, L., QIN, B., YANG, Y., CHEN, Y. and LU, X. Sensitivities of *Phytophthora infestans* to Metalaxyl, Cymoxanil, and Dimethomorph. *Agricultural Sciences in China*, 7(7), 2008, p. 831-840.

-
- [25] FONTEM, D.A., OLANYA, O.M., TSOPMBEHG, G.R. and OWONA, M.A.P. Pathogenicity and metalaxyl sensitivity of *Phytophthora infestans* isolates obtained from garden huckleberry, potato and tomato in Cameroon. *Crop protection*, 24, 2005, p. 449–456.
- [26] YONGJUN, A., SEOGCHAN, K., KIDEOK, K., BYUNG, K. and YONGCHULL, J. Enhanced defense responses of tomato plants against late blight pathogen *Phytophthora infestans* by pre-inoculation with rhizobacteria. *Crop protection*, 29, 2010, p. 1406–1412.