

**USO DE BACTERIAS ENDÓFITAS COMO CONTROL BIOLÓGICO SOBRE
Phytophthora cinnamomi Rands CAUSANTE DE LA PUDRICIÓN
RADICULAR DEL AGUACATE (*Persea americana* Mill.)**

**USE OF ENDOPHYTIC BACTERIA AS BIOLOGICAL CONTROL ON *Phytophthora
cinnamomi* Rands CAUSING ROOT ROT IN AVOCADO (*Persea americana* Mill.)**

PÉREZ, C. ALEXANDER Ph.D.^{1*}, HERNÁNDEZ, G. JESÚS Biol.^{2.}, FUENTES,
C. JUSTO Esp³

¹Universidad de Sucre, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Grupo
Bioprospección Agropecuaria. ²Universidad de Sucre, Facultad de Educación y
Ciencias.

³Universidad de Sucre, Facultad de Ingeniería, Departamento de Ingeniería
Agrícola

* Correspondencia: alexander.perez@unisucra.edu.co

Recibido: 19-02-2014; Aceptado: 28-04-2014

Resumen

El aguacate (*Persea americana* Mill.) es cultivado en muchos países del mundo, especialmente en el continente americano. Este cultivo es atacado por el hongo Oomicete *Phytophthora cinnamomi*, quien causa la pudrición de las raíces y posterior muerte de los árboles. El manejo para reducir las pérdidas económicas ocasionadas es a través del uso periódico de fungicida químico, el cual ha ocasionado problemas de contaminación del medio ambiente y el surgimiento de nuevas patógenas resistentes a los fungicidas. Esta revisión pretende ilustrar a la comunidad científica sobre la necesidad de la búsqueda de nuevas alternativas biológicas para el manejo de la enfermedad en campo, y de acuerdo a las evidencias en bases de datos internacionales, las bacterias endófitas, se convierten en recursos biológicos contra este hongo y una nueva estrategia que podría mitigar los efectos de contaminación del ambiente ocasionados por el uso continuo de fungicidas.

Palabras claves: bacterias endófitas, *Phytophthora cinnamomi*, *Persea americana*, Biocontrol.

Abstract

The avocado (*Persea americana* Mill.) is grown in many countries of the world, especially in the Americas. This crop is attacked by the fungus Oomycete *Phytophthora cinnamomi*, which causes the root rot and subsequent death of the

trees. Management to reduce the economic losses incurred is through periodic chemical fungicide use, which has caused problems of polluting the environment and the emergence of new pathogenic resistant to fungicides. This review is intended to illustrate the scientific community about the need to search for new biological alternatives for managing the disease in field, and according to the evidence in international data bases, endophytic bacteria, become one biological resources against this fungus and a new strategy that could mitigate the effects of contamination of the environment caused by the continuous use of fungicides.

Key words: endophytic bacteria, *Phytophthora cinnamomi*, *Persea americana*, biocontrol.

Introducción

El aguacate (*Persea americana* Mill.) hace parte de la familia Lauraceae, y está distribuida ampliamente en el mundo, especialmente en Asia y América (GALINDO-TOVAR *et al.*, 2011), además de ser la quinta fruta tropical de mayor importancia a nivel mundial, medida en términos de volumen y área cultivada (VEGA, 2012). Igualmente, el fruto es muy apetecido en el mercado mundial por su consistencia, buen sabor, alto valor nutritivo y sus diferentes usos, no solo en culinaria sino en procesos cosméticos y farmacéuticos (FORERO *et al.*, 2007). Para el 2012, México fue el mayor productor de aguacate en el mundo con el 29.4% (1.316.104 Toneladas) de la producción mundial, y Colombia el quinto (4,9% del total) (FAO, 2014).

El cultivo de aguacate es atacado por insectos y diversos hongos, los cuales causan daños importantes a las plantas, afectando la producción y calidad de los frutos. Entre los hongos de mayor importancia se encuentran: *Verticillium* sp. agente causal de la marchitez, *Sphaceloma perseae* causante de la roña, *Glomerella cingulata* productor de la antracnosis, *Phytophthora cinnamomi* causante de la pudrición de raíces, entre otros (TAMAYO, 2007).

La pudrición radicular causada por el Oomycete *P. cinnamomi* es la enfermedad más importante del aguacate en los países productores de todo el mundo (HAKIZIMANA *et al.*, 2011; BERNAL y DÍAZ, 2005; TAMAYO, 2007). Solo en Colombia, en la zona Montes de María de la Región Caribe, el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) reportó para el 2014 la muerte del 47% de las plantaciones de aguacate, y el 7% presentaba sintomatología asociada (ICA, 2014), lo que representa grandes pérdidas económicas para los agricultores. El hongo provoca pérdidas que oscilan entre un 30% y un 50% de los árboles en la

etapa de vivero y durante los dos primeros años de establecimiento del cultivo (TAMAYO, 2007).

Una de las zonas del país que durante décadas lideraron la producción aguacatera, fue los Montes de María en la región del caribe colombiano, pero el conflicto armado que azotaba en ese entonces a esta región, ocasionó que muchos agricultores fueran asesinados y otros más desplazados y por ende esta fuera relevada por los departamentos de Antioquia y Tolima donde se ha invertido mucho en la tecnificación de los cultivos. Adicionalmente a esto y como consecuencia del abandono de los cultivos de aguacate en los últimos años se ha presentado un problema biológico grave causado por el hongo llamado *Phytophthora cinnamomi* un Oomyceto considerado a nivel mundial como uno de los problemas fitosanitarios más graves que afecta a las plantas de aguacate y causa la descomposición de las raíces y la posterior muerte del árbol (VEGA, 2012), cuyo crecimiento se encuentra favorecido por las condiciones climáticas de la región que permiten la germinación de clamidosporas y su subsecuente diseminación. Asimismo, el desconocimiento de la resistencia del hongo a los agentes químicos utilizados para tratar de erradicarlo; al igual que, el uso de microorganismo endófitos como agentes fungicidas para el control biológico de *Phytophthora cinnamomi* lo que afecta aún más la producción generando pérdidas económicas en la población (Montes de María). Por lo que se plantea, evaluar *in vitro* la actividad antifúngica de bacterias endófitas sobre el hongo *Phytophthora cinnamomi* causante de la enfermedad tristeza del aguacate en el departamento de Sucre específicamente en los Montes de María.

Las bacterias y hongos ocasionan daños a las plantas, que se traducen en la depreciación del producto final y la calidad de agroecosistema, razón por lo cual las investigaciones actuales en el área de microbiología se han reorientado hacia el manejo integrado de problemas fitopasanitarios. Estudios han demostrado que las enfermedades en cultivos comerciales han cobrado importancia en los últimos años, debido a las pérdidas económicas que ocasiona al sector agrícola. Los agricultores del país, independientemente del tamaño de su producción, deben usar productos agroquímicos pues garantizan el control fitosanitario de los cultivos. Las oportunidades que ofrece el mercado de agroquímicos son muy amplias, pues Colombia está ubicada en la zona del trópico, donde las condiciones climatológicas son óptimas para situaciones en las cuales se necesitará el uso de productos agroquímicos para el progreso y la calidad de los cultivos (GUERREO *et al.*, 2011).

Los fungicidas y bactericidas son agentes cuya función es impedir el crecimiento o matar a los hongos y bacterias que crecen en los diferentes tipos de cultivos como el aguacate. Los fungicidas así como los bactericidas son sustancias tóxicas, estos compuestos son usados en áreas como la agricultura para la erradicación de enfermedades y plagas en los cultivos. Además, algunos reportes describen que la utilización exclusiva de fertilizantes químicos pueden conducir al daño de las raíces de la planta, además de los conocidos peligros de contaminación ambiental por el uso indebido de estos compuestos y el incremento de los costos de producción, particularmente asociado a los frecuentes y elevados incrementos de los fertilizantes. Por lo tanto, se hace necesario buscar aplicación de Bio-fertilizantes para el manejo y control de fitopatógenos.

La gravedad de estos problemas demanda un cambio urgente de manejo agrícola, por lo que es necesario desarrollar nuevas alternativas que coadyuven al desarrollo agrosostenible del ambiente. Esta problemática, es posible solucionarla a través de un manejo integrado de las enfermedades, es allí donde la agroecología juega un rol importante, por propiciar el equilibrio entre el hombre y la naturaleza adoptando un sistema de producción que permita mejorar la calidad de los suelos y obtener productos limpios para el consumo humano. La utilización de productos de base biológica es la solución práctica, es decir, el uso de productos derivados de la biodiversidad para el control de fitopatógenos.

Una de las formas empleadas para el control de la pudrición radicular del aguacate es la inyección de fosfito (en forma de ácido fosforoso (H_3PO_3)) a los troncos de las plantas (HAKIZIMANA *et al.*, 2011), pero DUVENHAGE (1994) demostró que los aislados de *P. cinnamomi* obtenidos de plantas que eran constantemente tratadas con H_3PO_3 mostraron ser más resistentes a este compuesto. Además, algunos reportes describen que la utilización exclusiva de fertilizantes químicos puede conducir al daño de las raíces de la planta, a parte del incremento de los costos de producción particularmente asociado a los frecuentes y elevados incrementos en el precio de los fertilizantes. Igualmente, ya sido probado lo perjudicial que es para el medio ambiente el uso de pesticidas químicos (CHET e INBAR, 1994), así como para la salud humana (KAH y BROWN, 2006). Por todo lo anterior, se hace necesario buscar la aplicación de Bio-fertilizantes para el manejo y control de fitopatógenos.

Bacterias endófitas

Las bacterias endófitas residen en los tejidos de las plantas, principalmente en los espacios intercelulares, raramente en espacios intracelulares y dentro de tejidos vasculares sin causar síntomas de enfermedad en la planta (PÉREZ *et al.*, 2009). Las bacterias endófitas son reconocidas como microorganismos que pueden ser aislados de tejidos vegetales desinfectados por superficie o extraídos del interior de la planta, y visiblemente no perjudican a éstas (HALLMANN *et al.*, 1997; SAKIYAMA *et al.*, 2001).

También se puede definir a los endófitos como microorganismos que pueden colonizar espacios intercelulares y vasculares en tejidos de plantas sin expresar patogenicidad o proporcionar algún beneficio (WANG *et al.*, 2006). En esta definición, se pueden diferenciar los endófitos simbióticos y patógenos. Las plantas hospedan una gran variedad de microorganismos endófitos que pueden promover el crecimiento y la protección contra patógenos (HAKIZIMANA *et al.*, 2011). La penetración en la planta por parte de las bacterias puede ocurrir a través de los estomas, heridas, áreas de emergencia de raíces laterales, siendo que estas bacterias pueden producir enzimas hidrolíticas capaces de degradar la pared celular de los vegetales (PÉREZ *et al.*, 2012) tales como celulasa y pectinasa (ZANG *et al.*, 2006), esta acción también la pueden hacer a través de la zona de elongación y diferenciación de las raíces (ROSENBLUETH y MARTÍNEZ-ROMERO, 2006). Probablemente, no existe una planta que esté libre de endófitas, y los pocos ejemplos de su ausencia podría ser debido a que muchos microorganismos no son cultivados o aislados fácilmente (ROSENBLUETH y MARTÍNEZ-ROMERO, 2006).

Bacterias endófitas como control biológico.

El principal rol de las bacterias endófitas en las actividades fisiológicas de la planta hospedera está influenciada por un aumento de la resistencia a condiciones de estrés del ambiente, insectos, nematodos y enfermedades, además de acelerar el crecimiento de las plantas y las capacidades de fijación de nitrógeno y la movilización de elementos como el fósforo (PÉREZ *et al.*, 2012). Las bacterias endófitas pueden producir un rango de diferentes tipos de metabolitos (BRADER *et al.*, 2014) entre los que se encuentran antibióticos, antipatógenos, inmunosupresores, compuestos anticancerígenos, agentes antioxidantes y otras sustancias biológicamente activas (ZANG *et al.*, 2006). Los endófitos han sido ampliamente investigados y usados como control biológico de fitopatógenos (HAKIZIMANA *et al.*, 2011). La eficacia de los endófitos como

agentes de control biológico depende de muchos factores: la especificidad del huésped, la dinámica de la población y el patrón de colonización, la capacidad de moverse dentro de los tejidos del huésped, y la capacidad de inducir resistencia sistémica (MELNICK *et al.*, 2008).

El biocontrol parece ser una alternativa fiable a los fungicidas químicos, que han planteado serias preocupaciones de contaminación en los alimentos, contaminación ambiental (FERNANDO *et al.*, 2005), y fitotoxicidad (MERCIER y MANKER, 2005). El control biológico de enfermedades fitopatógenas con el antagonismo bacteriano es una alternativa potencial del control químico. Muchas bacterias antagónicas juegan papeles fundamentales en la sostenibilidad del ecosistema natural, y algunos de ellos pueden ser utilizados como inoculantes para promover el crecimiento de las plantas y la salud de las mismas (PLIEGO *et al.*, 2011).

Existen reportes a nivel mundial del papel antagónico que tienen las bacterias endófitas ejercen sobre los fitopatógenos. Una evidencia de ello lo confirma la capacidad efectiva de *Bacillus pumilus* en la supresión de varios hongos fitopatógenos transmitidos por el suelo y que causan enfermedades en las plantas de importancia económica entre los que se incluyen: *Rhizoctonia solani* Kuhn, *Sclerotium rolfsii* Sacc., *Pythium* spp., *Fusarium* spp., y *Phytophthora capsici* Leonian (ARIAS *et al.*, 1999). *B. pumilus* MAIIM4a al ser evaluada *in vitro* mostró una fuerte actividad inhibidora para los hongos *Rhizoctonia solani*, *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp. Y *S. rolfsii*. Por otra parte, la capacidad antifúngica de la cepa fue atribuida a la producción de un compuesto llamado pumilacidin con alta bioactividad contra *P. aphanidermatum* (MELO *et al.*, 2009). En los últimos años, *B. pumilus* ha sido utilizada como un agente de biocontrol para la protección de cultivos contra enfermedad fúngica, representando una alternativa biológica frente a una variedad de fungicidas químicos utilizados actualmente (ARAUJO *et al.*, 2002; SARI *et al.*, 2007; MELO *et al.*, 2009).

Bacterias endófitas en aguacate.

El trabajo realizado por HAKIZIMANA *et al.* (2011) es, hasta la fecha, el único estudio de bacterias endófitas usadas para evaluar su rol potencial como control biológico sobre *P. cinnamomi*. En este estudio se logró obtener 24 hongos y ocho bacterias endófitas aisladas de las raíces de aguacate de varias regiones de Sudáfrica. Los hongos *Trichoderma harzianum*, *Fusarium oxysporum* y *Trichoderma hamatum* mostraron altos niveles de inhibición *in vitro* sobre *P. cinnamomi*, y las ocho bacterias (*Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *B. anthracis*, *B.*

fusiformis, *Bacillaceae* bacterium, *Lysinibacillus* ssp, *Paenibacillus polymyxa*, *Enterobacter* sp.) también tenían la capacidad de inhibir al hongo fitopatógeno. En los ensayos *in vivo*, se demostró que al inocularle a las plantas bacterias junto con hongos endófitos se obtenía la mayor inhibición de la enfermedad que aquellas inoculadas con solo hongos y bacterias. Este estudio ha aportado un valioso dato para el uso de endófitos en la protección de las plantas (HAKIZIMANA *et al.*, 2011).

Hasta el momento, han sido pocas las investigaciones generadas por grupos y centros de Investigaciones del país que contribuyan al conocimiento y uso de la diversidad de bacterias endófitas asociadas a especies vegetales en el país, con potencial para el buen desarrollo de la industria agrícola. Por tal razón, se hace necesariola búsqueda de diversidad de bacterias endófitas con actividad antifúngica contra *Phytophthora cinnamomi* causante de la enfermedad tristeza del aguacate en el departamento de Sucre y reducir el efecto dejado a través del tiempo del uso continuo de fungicidas para el control de este fitopatógeno.

Referencias

ARAÚJO, W.L.; MARCON, J.; MACCHERONI, J.R.W.; VAN ELSAS, J.D.; VAN VUURDE, J.W.L.; AZEVEDO, J.L.2002. Diversity of endophytic bacterial populations and their interaction with *Xylella fastidiosa* in citrus plants. *Applied and Environmental Microbiology*,68: 4906–4914.

ARIAS, R.S.; SAGARDOY, M.A.; VAN VUURDE, J.W.L. 1999.Spatio-temporal distribution of naturally occurring *Bacillus* spp. and other bacteria on the phylloplane of soybean under field conditions. *Journal of Basic Microbiology*, 39: 283-292.

BERNAL E., J.A.; DÍAZ D., C.A. 2005.(Compiladores). Tecnología para el Cultivo del Aguacate. Corporación Colombiana de investigación Agropecuaria, Corpoica, Centro de investigación La Selva, Rio negro, Antioquia, Colombia. Manual Técnico 5. 241 p. ISBN: 978-958-8311-74-6

BRADER, G.; COMPANT, S.; MITTER, B.; TROGNITZ, F.; SESSITSCH, A. 2014. Metabolic potential of endophytic bacteria. *Current Opinion in Biotechnology*, 27:30–37.

CHET, I.; INBAR, J. 1994. Biological control of fungal pathogens. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 48(1): 37-43.

DUVENHAGE, J.A. 1994. Monitoring the resistance of *Phytophthora cinnamomi* to fosetyl-Al and H₃PO₃. South African Avocado Growers' Association year book 17: 35-37

FAO (ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACION Y LA AGRICULTURA). 2014. <http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/download/Q/QC/E>. Consultado: 19 junio de 2014.

FERNANDO, W.G.D.; RAMARATHNAM, R.; KRISHNAMOORTHY, A. S.; SAVCHUK, S.C. 2005. Identification and use of potential bacterial organic antifungal volatiles in biocontrol. *Soil Biology & Biochemistry*, 37:955-964.

FORERO, F.; GARCÍA, J.; CÁRDENAS-HERNÁNDEZ, J. 2007. Situación y avances en la poscosecha y procesamiento del aguacate (*Persea americana* Mill.). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 1(2): 189-200.

GALINDO-TOVAR, M.; MILAGRO-PÉREZ, P.; ALEJANDRE-ROSAS, J.; LEYVA-OVALLE, O.; LANDERO-TORRES, I.; LEE-ESPINOSA, H.; MURGUÍA-GONZÁLEZ, J. 2011. Relaciones genéticas del aguacate (*Persea americana* Mill.) en siete municipios del centro de Veracruz, caracterizadas con microsatélites. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 13: 339 – 346.

GUERRERO, T.; NIEVES, B.; BARRIGA, F.; AGUIRRE, S.; CORIA, V. 2011. *Recuperación de arboles de aguacate infectados con Phytophthora cinnamomi Rands bajo control biológico y químico*. Paper presented at the Memorias del VII Congreso Mundial del Aguacate. Cairns. Australia.

HAKIZIMANA, J. D.; GRYZENHOUT, M.; COUTINHO, T.A.; VAN DEN BERG, N. 2011. Endophytic diversity in *Persea americana* (avocado) trees and their ability to display biocontrol activity against *Phytophthora cinnamomi*. *Proceedings VII World Avocado Congress*, Cairns, Australia.

ICA (INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO). 2014. El ICA socializó los resultados del censo aguacatero en los Montes de María. Disponible en: <http://www.ica.gov.co/Noticias/Pecuaria/2013-%281%29/El-ICA-socializo-los-resultados-del-censo-aguacate.aspx>. Consultado: 15 junio de 2014.

KAH, M.; C. D. BROWN. 2006. Adsorption of ionizable pesticides in soils. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 188: 149-217.

MELO, F.M.P., FIORE, M.F., MORAES, L.A.B., STENICO, M.E.S., SCRAMIN, S., TEIXEIRA, M.A., MELO, I.S. 2009. Antifungal compound produced by the cassava endophytes *Bacillus pumilus* MAIIM4a. *Scientia Agricola*, 66: 593–600.

MERCIER, J.; MANKER, D.C. 2005. Biocontrol of soil-borne diseases and plant growth enhancement in greenhouse soilless mix by the volatile-producing fungus *Muscodora lbus*. *Crop Protection*. 24: 355–362.

MELNICK R.; ZIDACK, N.; BAILEY, B.; MAXIMOVA, S.; GUILTINAN, M.; BACKMAN, P. 2008. Bacterial endophytic: *Bacillus* spp. from annual crops as potential biological control agents of black pod rot of cacao. *Biological Control* 46(1):46–56

PÉREZ, A.; ROJAS, J.; VALE, H. 2009. Biología y perspectiva de microorganismos endófitos asociados a plantas. *Revista Colombiana de Ciencia Animal*, 1(2): 286-301.

PÉREZ, A.; CHAMORRO, L. 2012. Bacterias endófitas: una alternativa biológica para el control de *Burkholderia glumae* en el cultivo del arroz en Colombia. *Revista Colombiana de Ciencia Animal*, 4(1):172-184.

PLIEGO, C.; RAMOS, C.; VICENTE, A.; DE CAZORLA, F.M. 2011. Screening for candidate bacterial biocontrol agents against soilborne fungal plant pathogens. *Plant Soil*, 340: 505–520.

ROSENBLUETH, M.; MARTÍNEZ-ROMERO, E. 2006. Bacterial Endophytes and Their Interactions with Hosts. *Molecular Plant-Microbe interactions*, 19(8): 827–837.

SAKIYAMA, C.C.H.; PAULA, E.M.; PEREIRA, P.C.; BORGES, A.C.; SILVA D.O. 2001. Characterization of pectin lyase produced by an endophytic strain isolated from coffee cherries. *Letter in Applied Microbiology*. 33: 117-121.

SARI, E.; ETEBARIAN, H.R.; AMINIAN, H. 2007. The effects of *Bacillus pumilus*, isolated from wheat rhizosphere, on resistance in wheat seedling roots against the take-all fungus, *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. *Journal of Phytopathology* 155: 720–727.

TAMAYO, P. J. 2007. Enfermedades del aguacate. *Revista Politécnica*, 1(1), 51-70.

WANG, E.T.; TAN, Z.Y.; GUO, X.W.; RODRÍGUEZ-DURAN, R.; BOLL, G.; MARTÍNEZ-ROMERO, E. 2006. Diverse endophytic bacteria isolated from a

leguminous tree *Conzattia multiflora* grown in Mexico. Archives of microbiology, 186(4): 251-259.

VEGA, YABRUDY, J. 2012. *El aguacate en Colombia: Estudio de caso de los Montes de María, en el Caribe colombiano*. Banco de la República. Documentos de Trabajo Sobre Economía Regional. Sincelejo-Sucre, 167p.

ZHANG, H.W.; SONG, Y.C.; TAN, R.X. 2006. Biology and chemistry of endophytes. Natural Product Reports, 23: 753–771