

Efecto inhibitorio de compuestos tipo metabolitos de bacterias endófitas contra *Colletotrichum gloeosporioides* y *Burkholderia glumae*

Inhibitory effect of compound type metabolites of endophytes bacteria against *Colletotrichum gloeosporioides* y *Burkholderia glumae*

Alviz M, Lorena² Biol, Pérez G, Angélica³ Biol, Pérez-Cordero, Alexander^{1*} Ph.D.

¹Universidad de Sucre, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Grupo de investigación en Bioprospección Agropecuaria.

² Universidad de Sucre, Laboratorio de Investigaciones Microbiológica.

³ Universidad de Sucre, resultado de actividades de trabajo de grado modalidad pasantía, en el marco del proyecto "Implementación de un programa para el desarrollo de productos biotecnológicos para el sector agrícola en el dpto. de Sucre".

Key words:

Endophytes microorganisms;
inhibition;
phytopathogens.

Abstract

This work had as objective the *in vitro* evaluation of secondary metabolites of endophytes bacteria isolated from *Lippia organoides* with antimicrobial activity against *C. gloeosporioides* and *B. glumae*. The samples were collected in the six locations of Department of Sucre. For the isolation of bacteria endophytes is used technical of disinfection surface of tissues, the density population is led to out by count on the surface of half of crop agar R₂A. The isolated morphotypes were evaluated in terms of its ability to inhibit the mycelial growth of the fungus fitopatógono *C. gloeosporioides*, through trials of confrontation and qualitative estimation and evaluated the antibacterial activity of *B. glumae* by the method of diffusion disk on agar. Three of the morphs of endophytes bacteria (P301, P102 and P105) total, showed inhibitory activity against *B. glumae* three endophytes bacterial strains showed inhibitory activity. These endophytes bacterial strains held them compounds extraction type secondary metabolites, were analyzed by testing of microdilutions in the Elisa reader. The results indicated that extract metabolic to the morphotype (P301) at a concentration of 70 inhibited the growth of the pathogenic bacterium *B. glumae* by 97, 36%. These results will enable future after evaluations in the field, the presence of a compound type secondary metabolite with possible inhibitory activity against the disease of bacterial blight of the panicle in rice in the Department of Sucre.

Palabras Clave:

Microorganismos endófitos;
inhibición;
fitopatógenos.

Resumen

El presente trabajo tuvo como objetivo la evaluación *in vitro* de metabolitos secundarios de bacterias endófitas aisladas de *Lippia organoides* con actividad antimicrobial contra *C. gloeosporioides* y *B. glumae*. Las muestras fueron colectadas en 6 corregimientos del departamento de Sucre. Para el aislamiento de bacterias endófitas se utilizó técnica de desinfección superficial de tejidos, la densidad poblacional se llevó a cabo por conteo sobre la superficie de medio de cultivo agar R₂A. Los morfotipos aislados fueron evaluados en cuanto a su capacidad para inhibir el crecimiento micelial del hongo fitopatógono *C. gloeosporioides*, por medio de ensayos de confrontación y estimación cualitativa y se evaluó la actividad antibacteriana sobre *B. glumae*, por medio del método de difusión en disco sobre agar. Tres del total de morfotipos de bacterias endófitas (P301, P102 y P105), mostraron actividad inhibitoria contra *B. glumae* 3 cepas endófitas bacterianas resultaron con actividad inhibitoria. A estas cepas bacterianas endófitas se les realizó la extracción de compuestos tipo metabolitos secundarios, los cuales fueron evaluados mediante ensayo de microdiluciones en lector de ELISA. Los resultados indicaron que el extracto metabolico para el morfotipo (P301) a una concentración de 70 inhibió el crecimiento de la bacteria patógena *B. glumae* en un 97,36%. Estos resultados permitirán a futuro después de evaluaciones en campo, la presencia de un compuesto tipo metabolito secundario con posible actividad inhibitoria contra la enfermedad del añublo bacterial de la panícula en cultivos de arroz en el departamento de Sucre.

INFORMACIÓN

Recibido: 21-11-2016;

Aceptado: 20-03-2017.

Correspondencia autor:

alexpcor@yahoo.com

INTRODUCCIÓN

Una de las enfermedades de mayor importancia económica en el cultivo del arroz, es el añublo bacterial de la panícula causada por la bacteria *Burkholderia glumae*, la cual ha incrementado su presencia en los últimos años, convirtiéndose en una gran amenaza para la producción de arroz en América Central, el Caribe, Asia, Colombia y estados productores de arroz en Estados Unidos. El incremento se debe a las altas temperaturas, humedad relativa favorable para el desarrollo de este patógeno y al alto porcentaje de semillas infectadas plantadas por los agricultores de arroz (CALDERA *et al.*, 2011). Otro de los cultivos afectados por la presencia de fitopatógenos, es el ñame (*Dioscorea sp.*), el cual es un cultivo representativo y promisorio para los países productores, en sectores como la alimentación, los cosméticos y la industria farmacéutica. Una de las principales limitantes de su producción es la antracnosis, enfermedad causada por el hongo *C. gloeosporioides*; en Colombia esta patología registra su mayor impacto en la Costa Caribe colombiana, por ser esta la región donde se concentra la producción del país. El principal método empleado para el control de la enfermedad es el manejo con agroquímicos que implica riesgos para la salud humana y el medio ambiente y aumento en los costos de producción e inducción de resistencia por parte del patógeno. (GUTIÉRREZ, 2014).

El creciente aumento de la población humana ha obligado a los países, utilizar estrategias para producir alimento a gran escala para satisfacer las necesidades a nivel mundial. La pérdida de los cultivos por problemas fitosanitarios sigue siendo uno de los problemas grave debido al aumento de las enfermedades que se presentan durante el desarrollo de estos cultivos. (ALIYE *et al.*, 2008), principalmente a enfermedades causadas por fitopatógenos como bacterias y hongos los cuales producen pérdidas considerables en la producción.

Las bacterias endófitas son ubicuas de todos los tejidos vegetales terrestres y son conocidas por influenciar directa o indirectamente el desarrollo de las plantas. Estas bacterias colonizan los tejidos de las plantas al menos durante una parte de su ciclo de vida sin causar daño alguno al hospedero, establecen asociación simbiótica y producen grandes beneficios para las plantas. La capacidad de promover el crecimiento de las plantas es ampliamente inexplorado, incluso en cultivos de importancia estratégica como el arroz (MORONTA, 2015). 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 las bacterias endófitas 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).

Estas bacterias cumplen una gran diversidad de funciones como promotoras de crecimiento vegetal, control biológico sobre un sin número de fitopatógenos, mejoran la eficiencia de los procesos de fitoremediación de compuesto tóxicos en la rizósfera. Estos microorganismos son fuentes inagotable de más de 20.000 compuestos biológicamente activos, los cuales influyen de manera directa en el rendimiento y supervivencia de las plantas hospederas (PÉREZ y CHAMORRO, 2013).

Estudios llevados a cabo han demostrado que el uso de las bacterias endófitas para el crecimiento vegetal, logran mejorar la productividad y rendimiento de los cultivos aprovechando las propiedades antimicrobiana, antiséptica y antioxidante para la inhibición de microorganismos causantes de enfermedades en cultivos de interés agrícola. Por esta razón el presente estudio tuvo como objetivo evaluar *in vitro* el efecto inhibitorio de compuestos tipo metabolitos de bacterias endófitas de *L. origanoides* contra *C. gloeosporioides* y *B. glumae*, agentes causales de la antracnosis en el cultivo del ñame y el añublo bacterial de la panícula del arroz en el departamento de Sucre.

METODOLOGÍA

Material vegetal. Se recolectó de forma aleatoria por los diferentes municipios que conforman la subregión del Golfo de Morisquillo, se toman plantas completas (raíz, tallo y hoja) del Orégano de monte; se depositan en bolsas plásticas y se rotulan con el nombre del sitio de muestreo y fecha. Posteriormente, fueron llevadas al laboratorio de investigaciones microbiológicas de la Universidad de Sucre donde se realizaron análisis microbiológicos y la identificación taxonómica a nivel de especie.

Aislamiento de endófitas. Raíz, tallo y hojas, de cada planta de orégano se lavaron con agua estéril, se pesó aproximadamente 1 gr por cada tejido. La desinfección superficial de cada tejido fue realizada según lo establecido por PÉREZ *et al.*, (2010). Se realizó una homogenización, con cada una se prepararon diluciones seriadas, las cuales fueron sembradas por técnica de difusión sobre la superficie de agar R₂A e incubadas a 28 °C por 72 horas. La densidad poblacional de bacterias endófitas por tejido (UFC/g de tejido), se estimó por conteo directo de colonias en placas. Durante el conteo se observaron y se seleccionaron las colonias en cuanto a forma, aspecto de la superficie, color y tamaño. Los morfotipos seleccionados se purificaron y se mantuvieron en agar R₂A para su posterior evaluación *in vitro*.

Actividad antifúngica: los aislados fueron evaluados en cuanto a su capacidad para inhibir el crecimiento micelial del hongo fitopatógeno *C. gloeosporioides*, por medio ensayos de confrontación y estimación cualitativa. Con tres días de anterioridad se inoculó micelio de *C. gloeosporioides* de siete días de edad, se depositó en el centro de una caja Petri con medio PDA fresco para garantizar el estado fisiológico del mismo. A los dos días de haber sembrado el hongo, en cajas con medio PDA-R₂A se inoculó los aislados bacterianos con una línea al extremo de la caja y al día siguiente de cada caja inoculada se utilizó el método de siembra directa con crecimiento puro de los aislados *C. gloeosporioides*, se cortaron con sacabocados a partir de la periferia de una colonia de 10 días de edad, cada aislado de aproximadamente 6 mm de diámetro de área de crecimiento (PÉREZ *et al.*, 2011), se inoculó sobre la superficie del medio, en medio aséptico. Las cajas se incubaron a 30°C durante siete días. Se consideró como potenciales antagonistas aquéllos aislamientos que causaron algún grado de inhibición del crecimiento micelial de *C. gloeosporioides*, alrededor de la zona de crecimiento de las colonias bacterianas.

Actividad antibacteriana. Para evaluar la actividad antibacteriana de bacterias endófitas sobre *B. glumae*, se utilizó el método de difusión en disco sobre agar, el cual consistió en realizar siembra en superficie de *B. glumae* sobre agar King B. La preparación de las bacterias endófitas empleadas en el presente estudio consistió en tomar 1 a 3 colonias bien aisladas con el asa estéril transfiriéndolas a un envase de vidrio con contenía 5 ml de agua peptonada estéril y se lleva a agitación constante por 24 horas hasta que alcance la turbidez. Discos estériles de papel fueron sumergidos en las suspensiones celulares. Transcurrido este tiempo, los discos impregnados se depositaron sobre la superficie del medio de cultivo inoculado previamente con *B. glumae*. Las placas se incubaron a 28 °C por 24 horas (CUELLAR y HUSSEIN 2009). Se utilizó un

control positivo con el antibiótico norfloxacin 10 µg. Los ensayos se realizaron por triplicado y la evaluación se hizo por las zonas de inhibición de crecimiento alrededor de los discos.

Extracción de metabolitos secundarios de bacterias endófitas con actividad antimicrobiana positiva.

Para el proceso de fermentación se utilizó el medio modificado # 3 con 10 g de peptona, 10 g de glucosa, 1g de KH₂PO₄ y 0,5g de Mg SO₄.7 H₂O por litro a pH 6.8. Una colonia fue inoculada en 200 ml de medio #3, dejándolo en agitación constante durante 6 días, 37° C y 150 rpm. Para la extracción de los metabolitos secundarios, fue centrifugado el medio en tubos falco de 50 mL a 10.000 rpm durante 10 min a 4° C, el sobrenadante se filtró utilizando un filtro de membrana con tamaño de poro 0,2 µm. Se recolectó el filtrado para utilizarlo posteriormente, los medios fueron ajustado a una concentración % V/V (HASSAN *et al.*, 2010).

Método para determinar la actividad antimicrobiana de los extractos metabólicos. Microdilución en lector de ELISA.

Se basó teniendo en cuenta la metodología propuesta por en lo descrito por RUILOVA, (2007), con algunas modificaciones. Se realizó el bioensayo de actividad antimicrobiana con microdiluciones y lecturas en lector de ELISA, se probaron diferentes longitudes de onda y el uso de colorante de actividad celular para determinar el crecimiento de las bacterias en los micropocillos.

Preparación del inóculo. A partir del cultivo puro de la bacteria *B. glumae*, una colonia fue transferida a 20 ml de caldo King B y se dejó en condiciones de agitación y temperatura constante de 150 rpm y 27°C por 24 horas. posteriormente se ajustó la turbidez de la suspensión bacteriana a una absorbancia comprendida entre 0,09 y 0,1 con una longitud de onda de 600 nm, equivalente en la escala de Mc Farland a 1,5x10⁸ UFC/mL.

Preparación de los extractos metabólicos. A partir de los extractos metabólicos bacterianos se prepararon soluciones stock 3% a 70% respectivamente, las cuales se obtuvieron diluyendo los extractos.

Actividad antibacteriana. La actividad bactericida de cada extracto metabólico, fue evaluada por separado utilizando la técnica de microdilución en placas de Elisa de 96 pozos (CARVAJAL *et al.*, 2013). A partir de las soluciones stock de los extractos, se realizaron 5 diluciones seriadas por triplicado en medio King B, en relación 1:1, quedando un volumen de 90 µL/pozo de cada dilución, a concentraciones entre los 3% y 70 % para todos los extractos. Posteriormente fue añadido a cada pozo 10 µl de la suspensión bacteriana para completar un volumen final de 100 µL por pozo. En cada placa se incluyeron controles de esterilidad del

medio (100 µl de caldo King B), control de crecimiento (90 µl medio King B+ 10 µl de suspensión bacteriana) y 100 µl control de los metabolitos (tratamientos), las placas se taparon y sellaron con cristaflex y se incubaron a 150 rpm a 30° C durante 24 horas en incubadora Heidolph 1000 (modelo D-91126).

Transcurrido el tiempo de incubación, se adicionaron 15 µL de una solución acuosa (0.5 mg/ml) de MTT (bromuro de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difenil tetrazolium) a los pozos que contenían los tratamientos y los controles. Después de una incubación por 45 minutos se descartó el contenido de los pozos y se adicionó 100 µL/pozo de DMSO concentrado y se procedió a determinar la densidad óptica en un lector de Elisa Chromate Awareness, modelo 4300 utilizando una longitud de onda de 492 nm.

Determinación del porcentaje de inhibición para la actividad antibacteriana. Se utilizó la siguiente fórmula:

$\%IB = 1 - (Aai/Acc) * 100$; Dónde:

Aai: Promedio de crecimiento de cada tratamiento

Acc: Promedio de crecimiento prueba control.

Análisis estadísticos. Diferencias entre la densidad poblacional (UFC/g de tejido) de bacterias endófitas en función a sitio y tipo de tejido fue analizada por ANOVA multifactorial. Asimismo, se utilizó la prueba múltiple de rango (Tukey) para establecer diferencias por separado entre comunidades de bacterias endófitas (UFC/ g de tejidos) con relación al sitio de colecta y tipo de tejido colonizado.

RESULTADOS

Aislamiento de endófitas. Se obtuvieron un total de 72 morfotipos aislados de bacterias endófitas de los diferentes tejidos de la planta de orégano de monte (Figura 1). La separación de los morfotipos se tuvo en cuenta características culturales como: forma, color, apariencia y tamaño.

El número de aislados y la colonización de bacterias endófitas variaron significativamente según los resultados del ANOVA multifactorial estableciéndose diferencia con respecto a sitios (p value: 0,0035) y tipo (p value: 0,0129) de tejido analizado. La prueba múltiple de rango (Tukey) para los diferentes sitios colonizados por bacterias endófitas (UFC/ g de tejidos) mostró diferencias significativas, el sitio con mayor densidad de bacterias endófitas fue L Torrente ($1,96 \times 10^9$ UFC/g de tejido) en comparación a los demás, los cuales mostraron menor densidad de bacterias endófitas correspondientes a para los sitios Q el 9 y M Gualón con valores de $2,71 \times 10^7$ y $1,39 \times 10^8$ respectivamente (Figura 2).

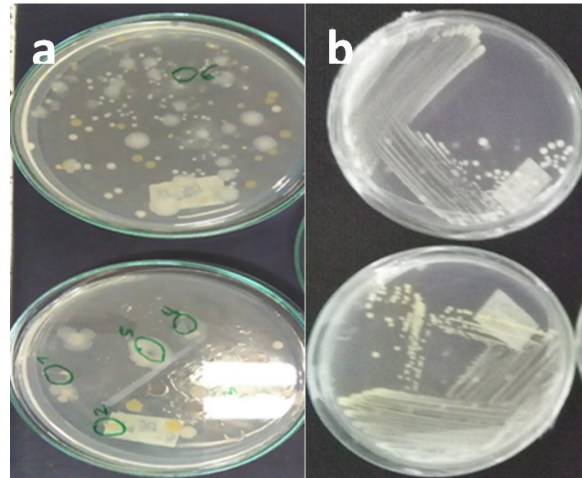


Figura 1. Características culturales de morfotipos de bacterias endófitas aisladas de diferentes tejidos de plantas de *L. origanoides*. a. población; b. purificación de morfotipos. Fuente: Pérez, 2016.

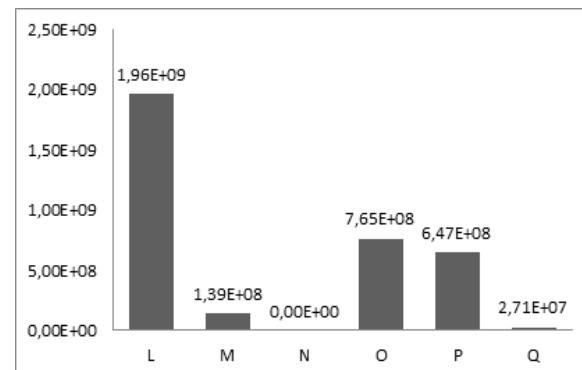


Figura 2. Densidad poblacional promedio de bacterias endófitas de *L. origanoides* con respecto a sitio muestreados. L: Torrente, M: Gualón, P: Manica, O: Nuevo Oriente, N: Toluvié, Q: El Km 9 vía Tolú.

La prueba múltiple de rango (Tukey) para densidad de bacterias endófitas (UFC/ g de tejidos) en función a tipo de tejido muestra mayor colonización de bacterias endófitas de tejido en raíz $1,02 \times 10^9$ UFC/g con respecto a tallo, hojas, (Figura 3). La densidad poblacional de bacterias en los diferentes tejidos de planta de (*L. origanoides*), encontrándose mayor población de estas bacterias asociadas al tejido de raíz.

Actividad antifúngica. Del total 72 morfotipos aislados, ninguno de ellos mostró *in vitro* actividad antifúngica, contra el crecimiento micelial del hongo *C. gloeosporioides* causante de la antracnosis en el cultivo del de ñame como se observa en la Figura 4b, si se compara con los resultados obtenidos con el testigo (Figura 4a).

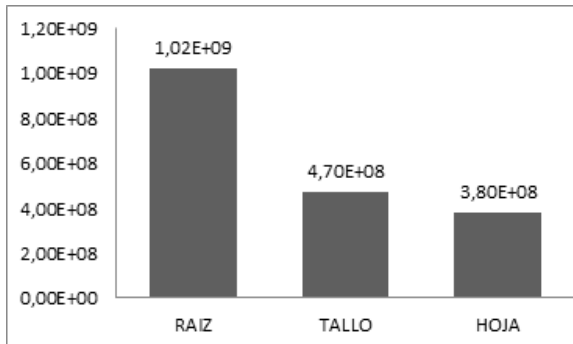


Figura 3. Densidad poblacional promedio de bacterias endófitas asociadas a diferentes tejidos de *L. oryzae*.

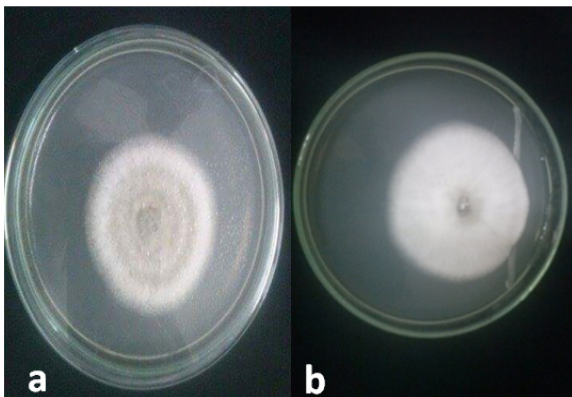


Figura 4. Prueba *in vitro* de actividad antifúngica de las bacterias endófitas aisladas de *L. oryzae*, contra *C. gloeosporioides*, a) (testigo) aislamiento de *C. gloeosporioides*. b. Prueba con célula de bacterias endófitas. Fuente Pérez, 2016.

Actividad antibacteriana. De los 72 morfotipos de bacterias endófitas aislados de *L. oryzae*, tres de ellos mostraron actividad antibacteriana *in vitro* contra *B. glumae*, causante del añublo bacteriano en la panícula del arroz, las cuales pertenecen a la subregión del golfo de Morrosquillo municipio de Mónica (P301, P102 y P105); de estos tres aislamientos dos (P102 y P105) fueron obtenidos de la raíz y P301 fue aislado del tallo (Figura 5).

Extracción de metabolitos secundarios de bacterias endófitas con actividad antimicrobiana positiva. A partir de la prueba de evaluación confrontación célula-célula, contra *B. glumae*, se seleccionaron aquellos morfotipos que mostraron actividad antibacteriana positiva. Los morfotipos con dicha actividad correspondieron a P301, P102 y P105, a los cuales se realizó la extracción de metabolitos secundarios según lo estipulado en la sección de materiales y métodos y fueron utilizados para evaluación de la actividad antibacteriana.

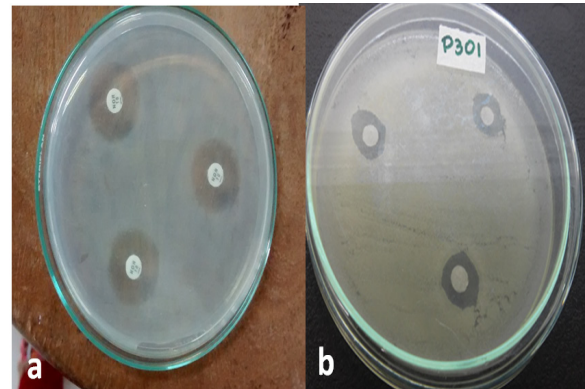


Figura 5. Prueba *in vitro* de la actividad antibacteriana de bacterias endófitas aisladas de *L. oryzae* contra *B. glumae*, a) Control positivo con el antibiótico norfloxacino 10 µg; b) tratamientos con suspensión celular bacteriana. Fuente: Pérez 2016.

Actividad antibacteriana de los extractos metabólicos. Los extractos metabólicos obtenidos fueron evaluados *in vitro* en su actividad antimicrobiana en un rango de concentración de 3% a 70%. Los bioensayos fueron desarrollados como fue descrito en la metodología arriba, los resultados muestran que el extracto metabólico P301 presentó actividad inhibitoria con respecto a P102 y P105 (Figura 6).

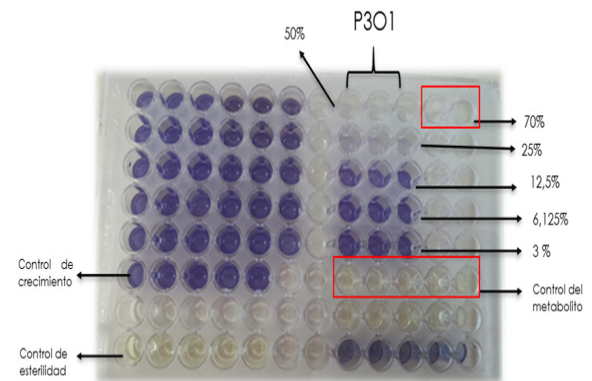


Figura 6. Placa revelada con MTT, extractos metabólicos (P301) y las respectivas diluciones y pruebas controles.

Como lo indican los resultados de la Figura 7, las concentraciones del extracto metabólico de bacterias endófitas que inhibieron el crecimiento bacteriano fueron 70, 35; 17,5; 8,75 y 4,37, siendo esta última la concentración mínima inhibitoria, por ser la concentración más baja capaz de inhibir el crecimiento bacteriano. Los pozos de color azul-violeta indican la presencia de crecimiento *B. glumae*, mientras que los

pozos de color amarillo indican inhibición de dicha bacteria.

Con los datos de las absorbancias se determinaron los porcentajes de inhibición de las diferentes concentración del aceite esencial de los extractos metabólicos bacterianos observándose que a concentraciones de 70%, se produjo inhibición bacteriana superior al 97, 36%, encontrándose el mayor índice de inhibición bacteriana a dicha concentración (Figura 7).

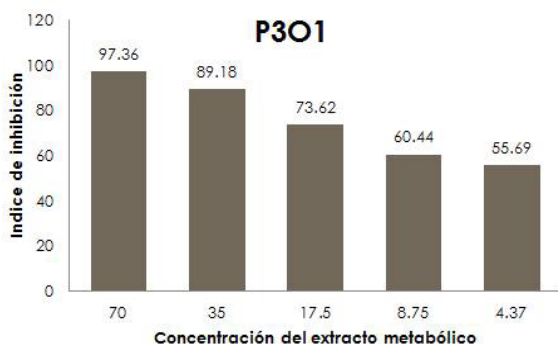


Figura 7. Porcentaje de inhibición del extracto metabólico de bacterias endófitas contra la bacteria fitopatogena *B. glumae* causante del añublo bacterial en la panícula del arroz.

DISCUSIÓN

Se aislaron 72 morfotipos de bacterias endófitas de *L. organoides*, variando significativamente con respecto a sitio de muestreo y tejido colonizado, encontrándose mayor presencia de estas bacterias en raíces. Algunos estudios han concordado que la composición de la comunidad endófitas microbiana varía según el estado de desarrollo de la planta y además difiere en los distintos órganos, ya sean raíces, tallos, hojas e incluso frutas y semillas, lo que indica diversas capacidades de colonización (BERG *et al.*, 2005).

Varios patógenos oportunistas bacterianos como *Burkholderia* se han identificado como colonizadores de la rizósfera de la planta (BERG *et al.*, 2005) las bacterias endófitas podrían brindar beneficios más directos a su hospedero al encontrarse con las bacterias rizosféricas (HALLMANN *et al.*, 1997). Los resultados señalan que el morfotipo P3O1, presentó actividad inhibitoria contra *B. glumae* y dicha actividad fue similar a la observada por el control con el antibiótico norfloxacin; y como lo demuestra diversos estudios que afirman que los microorganismos endófitos pueden tener la capacidad de controlar patógenos de las plantas (STURZ *et al.*, 1996) otras investigación ha demostrado que las bacterias endófitas son un factor clave en la reducción de la herbívora, la promoción del crecimiento de la planta, el aumento de la absorción de minerales, la

fijación de nitrógeno, la supresión de enfermedades y la inducción de cascadas de defensa a la planta tal como lo manifiesta MELNICK *et al.*, (2012).

Según lo manifestado por SIERRA *et al.*, (2012), Colombia es considerado uno de los países con mayor diversidad biológica, sin embargo, muy poca de esa diversidad ha sido explorada para identificar sustancias biológicamente activas. Los metabolitos secundarios bacterianos pueden presentar actividad frente a patógenos de plantas y animales y representan alternativas biotecnológicas para la industria. Estos mismos autores concluyen que las especies del género *Bacillus* identificadas han sido caracterizadas como productoras de compuestos antimicrobianos de amplio espectro o de varios compuestos con diferentes actividades. La actividad biológica presentada por los extractos evidencian que los microorganismos terrestres y especialmente, las especies de *Bacillus* son productores prolíficos de diversas sustancias bioactivas.

CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente estudio, muestran que el extracto metabólico bacteriano del morfotipo P3O1a 70%, presentó un 97.36% actividad inhibitoria *in vitro* contra *Burkholderia glumae*, bacteria esta causante del añublo bacterial en la panícula del arroz. Sin embargo, de acuerdo a los ensayo de actividad antifúngica y antibacteriana, se concluye que las bacterias endófitas aisladas de plantas de *L. organoides*, su actividad es específica como bioactivos para *Burkholderia glumae*. Los estudios llevados a cabo con confirma que estas bacterias endófitas son fuentes de una gran diversidad de diferentes metabolitos, la mayoría de estos compuestos han sido identificados en las plantas, pero estas bacterias son una fuente inagotable de más de 20.000 compuestos biológicamente activos, que influyen en el rendimiento y supervivencia de otros organismos (SANCHEZ, 2009).

Las bacterias endófitas habitan en las plantas sin causar síntomas visibles de enfermedad. Existe una estrecha relación entre los endófitos y la planta hospedera, siendo de gran importancia, debido a la capacidad de estos microorganismos de producir sustancias bioactivas (metabolitos secundarios), como también de modificar los mecanismos de defensa de su hospedera, permitiendo e incrementando la sobrevivencia de ambos organismos. Trabajos recientes confirman la enorme capacidad que tienen estos organismos endófitos para producir compuestos activos que le confieren protección a la planta hospedera contra el ataque de patógenos y herbívoros, constituyendo una nueva vía para la obtención de diversos precursores o moléculas novedosas de utilidad en la agricultura y en la medicina (SANCHEZ *et al.*, 2013).

En Colombia, existen nichos naturales para especies de *Lippia Origanoides* ubicados en zonas con ambientes secos o semidesérticos que abundan de forma silvestre. En el departamento de Sucre y Magdalena, existe una amplia diversidad de especies vegetales, las cuales han sido solo estudiadas desde el punto de vista ecológico y botánico, siendo escasa o nula la información química o farmacológica de estas especies; de tal manera que se desconoce su posible potencial biológico en la inhibición de microorganismos causantes de enfermedades. Sin embargo, a la fecha no existe reporte de estudios sobre la diversidad de bacterias endófitas asociadas a esta especie de plantas medicinal que ha sido considerada una especie vegetal distribuida ampliamente por zonas tropicales y subtropicales, presentan gran diversidad, variedad y uso de sus aceites esenciales sobre todo en las especies pertenecientes al género *Lippia* (CELIS *et al.*, 2007), como lo es *L. alba* y *L. origanoides* ambas,

empleadas por sus variados usos medicinales debido a su gran espectro de actividades biológicas, dentro de las cuales se destacan de tipo antiparasitaria, antiviral, antimicótica y antibacteriana (HIPÓLITO *et al.*, 2009).

Agradecimientos

Los autores y la Universidad de Sucre expresan sus agradecimientos a la Gobernación del departamento de Sucre y al Fondo Nacional de Ciencias, Tecnología e Innovación (CTe I) del Sistema general de regalías-SGR, por la realización de las actividades de Ciencia, Tecnología e Innovación en el marco del proyecto denominado “Implementación de un programa para el desarrollo de productos biotecnológicos para el sector agrícola en el Dpto de Sucre”, Código BPIN 2013000100022, celebrado mediante Convenio Especial de Cooperación No 017 de 2014.

REFERENCIAS

- ALIYE, N.; FININSA, C.; HISKIAS Y. 2008. Evaluation of rhizosphere bacterial antagonists for their potential to bioprotect potato (*Solanum tuberosum*) against bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum*). *Biological Control* 47:282-288.
- BRADER, G.; COMPANT, S.; MITTER, B.; TROGNITZ, F.; SESSITSCH, A. 2014. Metabolic potential of endophytic bacteria. *Current Opinion in Biotechnology*, 27:30–37.
- BERG, G.L. ; EBERL, Y. ; HARTMANN, A. 2005. The rhizosphere as a reservoir for opportunistic human pathogenic bacteria. *Environ microbiol* 7:1673-1685.
- CALDERA, D. M.; PACK, J.; RAGHUWINDER, S. 2011. Evaluación in vitro de actividad antimicrobial de 23 cepas bacteriales no identificadas en contra de *Burkholderia glumae*. Proyecto especial de graduación del programa de Ingeniería Agronómica, Escuela Agrícola Panamericana de Honduras., <http://hdl.handle.net/11036/311>.
- CELIS, C.; ESCOBAR, P.; HIPÓLITO, J.; MARTINEZ, J.; Y STASHENKO, E. 2007. Estudio comparativo de la composición y actividad biológica de los aceites esenciales extraídos de *Lippia alba*, *Lippia origanoides* y *Phyla dulcis*, especies de la familia *Verbenaceae*. *Scientia et Technica*, 8(33): 103-105.
- CUÉLLAR, A.; HUSSEIN, R. 2009. Evaluation of the yeald and the antimicrobial activity of the essential oils from: *eucalyptus globulus*, *cymbopogon citratus* and *Rosmarinus officinalis* in Mbarara district (Uganda). *Revista Colombiana de Ciencia Animal*. 1(2): 240-249.
- GUTIÉRREZ, Y. P. 2014. Caracterización morfológica y molecular de *Colletotrichum gloeosporioides* aislado de ñame (*Dioscorea spp.*) y establecimiento de una escala de virulencia para su caracterización patogénica. Universidad Nacional de Colombia Facultad de Ciencias, postgrado microbiología, Bogotá, Colombia.
- HALLMANN, J.; QUADT-HALLMANN, A.; MAHAFFEE, W.F.; KLOEPPER, J.W.1997. Bacterial endophytes in agricultural crops. *Canadian Journal of Microbiology*. 43:895-914.
- HAMMER, K. ; CARSON, C. ; RILEY, T. 1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology*.86 :985-990.

- HASSAN, S. ; HAQ, A. ; BYRD, J. ; BERHOW, M. ; CARTWRIGHT, A. ; BAILEY, C. 2010. Haemolytic and antimicrobial activities of saponin-rich extracts from guar meal. *Food Chem.* 119: 600–605.
- 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.
- HIPÓLITO, J.; MARÍN, D., RAMÍREZ, L.; STASHENKO, E.; Y VELOZA, L. 2009. Actividad antibacteriana de aceites esenciales de *Lippia organoides* de diferentes orígenes de Colombia. *Ciencia*, 17(4): 313 – 321.
- 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.
- MELNICK, R.; BAILEY, B.; BACKMAN, P. 2012. Bacterial Endophytes of Perennial Crops for Management of Plant Disease. En D. Maheshwari, M. Saraf, A. Aeron. *Bacteria in Agrobiolgy: Crop Productivity*. Ahmedabad, India: Springer. p75.
- PÉREZ, C.A.; ROJAS, S.J.; CHAMORRO, A.L.; PÉREZ, K. 2011. Evaluación in vitro de actividad inhibitoria de extractos vegetales sobre cepas de hongos del género *Colletotrichum* sp. *Revista Acta Agronómica*. 60(2) : 158-164.
- PÉREZ, C.A.; CHAMORRO, A.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.
- PÉREZ, C.A.; CHAMORRO, A.L. 2013. BACTERIAS ENDOFITAS: UN NUEVO CAMPO DE INVESTIGACIÓN PARA EL DESARROLLO DEL SECTOR AGROPECUARIO. *Rev. Colombiana cienc. Anim.* 5(2):439-462.
- RUILOVA, A. 2007. Determinación de la concentración inhibitoria mínima de aceites esenciales ante bacterias y hongos fitopatógenos. *Escuela de Ingeniería Agropecuarias*. Cuenca, Ecuador. 1 :5-33.
- SHANKAR-NAIK, B. ; SHASHIKALA, J. ; KRISHNAMURTHY, Y.L. 2009. Study on the diversity of endophytic communities from rice (*Oryza sativa* L.) and their antagonistic activities in vitro. *Microbiological Research* 164:290-296.
- SANCHEZ, F.E. ; SANCHEZ, O.B. ; MONSERRAT, Y. ; KARINA, ULLOA, B.Á.; ARMENDARIZ, B. ; GARCIA M. ; MACIAS, R. M. 2013. Hongos endófitos: fuente potencial de metabolitos secundarios bioactivos con utilidad en agricultura y medicina. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*. 16(2) :132-146.
- SIERRA-GARCÍA, I.N.; ROMERO-TABAREZ, M.; ORDUZ-PERALTA, S. 2012. Determinación de la actividad antimicrobiana e insecticida de extractos producidos por bacterias aisladas de suelo. *Actualidades Biológica*. 34 (96): 5-19.
- STURZ, A.V. ; MATHESON, B.G. 1996. Populations of endophytic bacteria which influence host-resistance to *Erwinia*-induced bacterial soft rot in potato tubers. *Plant Soil* 184 :265-271.
- ZHANG, H.W.; SONG, Y.C.; TAN, R.X. 2006. Biology and chemistry of endophytes. *Natural Product Reports*, 23: 753–771.