

Producción de metabolitos para el control biológico de microorganismos fitopatógenos

Rocio Aguila-Michelena, Sandra Pacios-Michelena, Eulalia Gómez-Santiesteban, Gisela González-Pardo, Rocío Jurado-Sánchez, Hermys Rojas-Núñez, Georgina Michelena-Álvarez

Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA)
Vía Blanca, No. 804 y Carretera Central, San Miguel del Padrón. La Habana, Cuba

RESUMEN

Introducción. 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 tienen efecto en el control de patógenos; especies como actinobacterias y hongos producen un amplio espectro de antibióticos antimicrobianos, compuestos orgánicos volátiles y enzimas, que inducen resistencia a patógenos en las plantas.

Objetivo. Brindar 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.

Conclusiones. La biosíntesis de los metabolitos antimicrobianos se puede mejorar con la manipulación de los factores nutricionales y ambientales. Los biopesticidas representan una solución prometedora para el control de fitopatógenos. Entre los microorganismos para esta producción se encuentran los géneros *Streptomyces* y *Penicillium*, que generan un amplio espectro de antibióticos y compuestos orgánicos volátiles antimicrobianos y una variedad de enzimas que degradan la pared celular de los microorganismos fitopatógenos.

Palabras clave. Metabolitos, microorganismos fitopatógenos, *Streptomyces*, *Penicillium*, antibióticos.

ABSTRACT

Introduction. Wastewater from the sugar industry is a source of pollutants in Cuba due to its high chemical oxygen demand (COD) and the volume of wastewater released into the environment, hence the need to treat it. One of the alternatives to reduce pollution is the inclusion of efficient microorganisms in these residuals.

Objective. To evaluate the application of Lebame®, a bioproduct composed of efficient microorganisms, in two waste samples from two sugar mills: "Antonio Sánchez" and 14 de Julio.

Materials and Methods. The samples from Antonio Sánchez and 14 de Julio were initially characterized and subsequently studied using a factorial experimental design that integrated 3 treatments: 0.5; 1.0 and 1.5 mL Lebame®/L of wastewater; at retention times: 20, 40 and 60 days.

Results and Discussion. The characterizations showed high levels of contamination, over 21,000 mg/L. The objective of the experiment was to determine the best application dose and retention time that maximize the removal of organic matter. In Antonio Sánchez a removal of 95 % was obtained and for 14 de Julio 60 %, which shows the effectiveness of Lebame® in the liquid waste of both plants, after 60 days of treatment.

Conclusions. The application of the appropriate treatment, according to the characteristics of the effluents, allows the waste to reduce the contamination levels and approach the requirements of the environmental regulations.

Keywords. Wastewater, pollution, treatment, efficient microorganisms, Lebame®.

INTRODUCCIÓN

Con el desarrollo de la biotecnología, en Cuba se han obtenido importantes resultados en la lucha contra las enfermedades y epidemias causadas por bacterias, virus y parásitos, entre ellos se encuentran la producción y empleo de biofertilizantes y biopreparados que disminuyen, sustancialmente, el empleo de plaguicidas y compuestos químicos en la agricultura.

Uno de los problemas fundamentales en la agricultura es la presencia de fitopatógenos, que provocan pérdidas significativas en la producción. El control de estos microorganismos se ha realizado con el uso de pesticidas químicos, pero estos causan resistencia a los tratamientos, por parte de los microorganismos, salinización de los suelos, contaminación ambiental; además, tienen un impacto negativo en el medioambiente y provocan graves problemas de salud a los productores, consumidores y otras especies que habitan en el ecosistema, de ahí la necesidad de buscar nuevos antimicrobianos naturales, amigables con el medioambiente y no tóxicos, para el control de estas enfermedades fitopatógenas.

Los biopesticidas representan una alternativa prometedora para el control de fitopatógenos. Entre los microorganismos seleccionados para la producción de biopesticidas se encuentran los géneros *Streptomyces* y *Penicillium*, los cuales han sido ampliamente estudiados y usados para el control biológico, debido a que producen un amplio espectro de antibióticos y compuestos orgánicos volátiles antimicrobianos y una variedad de enzimas que degradan la pared celular de los hongos, como: las celulasas, quitinasas, amilasas y glucanasas. Además, estos microorganismos inducen resistencia en plantas contra fitopatógenos; su potencial biotecnológico los convierte en candidatos para su uso en el control biológico de microorganismos fitopatógenos; sin embargo, para producir un biopesticida es importante realizar investigaciones que aborden aspectos clave, como la selección de cepas microbianas efectivas, la optimización de las condiciones de producción y la evaluación de su eficacia en el control de fitopatógenos específicos.

Por otro lado, los estudios han demostrado que ciertos patrones de uso indiscriminado de antibióticos, que están actualmente en uso, provocan la aparición continua de organismos resistentes. Esta resistencia antibiótica demanda que se haga un renovado esfuerzo para buscar agentes antibacterianos efectivos contra las bacterias patógenas resistentes a los antibióticos actuales; por ello, la búsqueda de microorganismos productores de compuestos biológicamente activos, a partir de diversas fuentes naturales, ha sido el fundamento de programas de investigación en antibióticos, durante más de 30 años (1).

Desde el punto de vista agronómico, las enfermedades causadas por microorganismos, como bacterias y hongos, pueden reducir el rendimiento de los cultivos entre un 20 y un 40 % y, en ocasiones, causar pérdidas totales (2). Los pesticidas químicos son la herramienta más común para el manejo de estas plagas, pero su uso inapropiado y excesivo ha provocado problemas al medioambiente y daños a la salud humana (3); por lo tanto, los agroquímicos, como única medida de control a enfermedades de las plantas no son viables a largo plazo; asimismo, el uso de antibióticos ha sido otra alternativa, pero los fitopatógenos han generado resistencia a estos tratamientos y su utilización excesiva también ha resultado dañina al medioambiente y a los humanos.

Los microorganismos antagonistas son una alternativa a los agroquímicos, para el control de enfermedades, porque son específicos para ciertos fitopatógenos. El uso de microorganismos o metabolitos microbianos para el control de enfermedades de las plantas ha recibido mayor atención, debido a que son respetuosos con el medioambiente y no afectan a otros organismos benéficos.

Las plantas contienen numerosos compuestos orgánicos denominados metabolitos primarios, entre los que se encuentran, en primer término, los azúcares o carbohidratos, que se producen como resultado de la fotosíntesis. Por otra parte, se sintetizan en concentraciones variables diferentes compuestos químicos denominados, en general, metabolitos secundarios, ya que no intervienen

directamente en su metabolismo, o al menos, no se conoce con profundidad su función en la planta y se asume que se emplean como mecanismo de defensa (4).

En la naturaleza, generalmente, los microorganismos existen en una comunidad. La producción de metabolitos secundarios antimicrobianos por cepas de *Streptomyces* y *Penicillium* puede variar según la especie, las condiciones de cultivo y la presencia de otros microorganismos, debido a una nutrición limitada o a una competencia espacial (5).

En este trabajo se actualiza el conocimiento sobre los factores que favorecen la producción de bioproductos, a partir de metabolitos secundarios, particularmente aquellos que provienen de actinobacterias y hongos.

Microorganismos fitopatógenos

Los microorganismos fitopatógenos afectan la salud y productividad de las plantas, lo que impacta en la economía de todos los países (6). Los fitopatógenos representan una amenaza global para la producción de alimentos y cultivos agrícolas (7).

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 (8). De acuerdo con estos antecedentes, se hace necesaria la búsqueda de nuevos antimicrobianos para el control de bacterias y hongos fitopatógenos.

Principales bacterias fitopatógenas

Entre las bacterias fitopatógenas de mayor incidencia en la agricultura se encuentran *Clavibacter michiganensis*, *Pseudomonas syringae*, *Pseudomonas corrugate*, *Xanthomonas campestris* (9), *Erwinia amylovora*, *Ralstonia solanacearum* y *Xylella fastidiosa* (10).

Principales hongos fitopatógenos

Entre los hongos fitopatógenos de mayor incidencia en la agricultura y de mayor impacto económico se encuentran *Fusarium*, *Botrytis cinerea*, *Alternaria alternata* y *Colletotrichum spp.* Estos patógenos causan enfermedades específicas en las plantas, con diferentes mecanismos de infección y mecanismos de patogenicidad, en función del microorganismo de que se trate (3).

Aplicaciones de 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 nivel 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 humana y el medioambiente.

En la década de los 80, en Cuba, se comenzó a trabajar para asimilar las técnicas biotecnológicas; pero fue en 1991 que se concretó este trabajo, con la creación del Frente Biológico.

Entre los bioproductos se encuentran los de biocontrol, que se basan en metabolitos. Normalmente se distinguen metabolitos primarios y secundarios. Los primeros se refiere a los procesos fotosintéticos que dan lugar a los ácidos carboxílicos del ciclo de Krebs, que son de bajo peso molecular y que están ampliamente distribuidos: alfa-aminoácidos, carbohidratos, grasas, proteínas y ácidos nucleicos implicados en los procesos vitales. El metabolismo primario compromete aquellos procesos químicos que las plantas deben llevar a cabo cada día para sobrevivir y reproducir su actuación, como son: fotosíntesis, glicolisis, síntesis de aminoácidos, transaminación, síntesis de proteínas, enzimas y

coenzimas, síntesis de materiales estructurales, duplicación del material genético, reproducción de células (crecimiento), absorción de nutrientes, entre otros.

Los metabolitos primarios y secundarios se clasifican de acuerdo con diferentes criterios, cumplen funciones muy diversas en los seres vivos y tienen diferentes capacidades, como materiales de partida (precursores) para los metabolitos secundarios. Los azúcares más comunes, como: glucosa, fructosa y manosa, cuya química y misión biológica han sido estudiadas ampliamente por los bioquímicos, se colocan en el primer grupo, mientras que azúcares, tales como: calcosa, estreptosa, y micaminosa, descubiertos como constituyentes de antibióticos e investigados por químicos orgánicos, se consideran como metabolitos secundarios.

En la actualidad se conocen, aproximadamente, 20 000 estructuras de metabolitos secundarios que, por su composición química, son clasificados en dos grupos principales: nitrogenados y no nitrogenados. Los metabolitos secundarios que contienen nitrógeno incluyen los alcaloides, aminoácidos no protéicos, aminas, glucósidos cianogénicos y glucosinolatos. Los metabolitos secundarios no nitrogenados se dividen en terpenoides, poliacetilenos, policétidos y fenilpropanoides. La variedad estructural dentro de un mismo grupo de metabolitos secundarios está dada por modificaciones químicas a una estructura básica, originada por reacciones químicas, tales como: la hidroxilación, metilación, epoxidación, malonilación, esterificación y la glucosilación.

Estas sustancias se sintetizan como respuesta de las plantas al ataque de hongos, bacterias, plagas, efecto alelopático, contaminación, efectos adversos a los factores climáticos y a los animales herbívoros. Estas defensas químicas se encuentran en concentraciones variables en la naturaleza y dependen del tipo metabolito, las características de la planta y las condiciones a las que son sometidas (4).

Los metabolitos secundarios poseen otras características:

- no tienen funciones metabólicas directas aparentes,
- son importantes para la supervivencia e interacción con el entorno,
- presentan diferente distribución en el reino vegetal.

Los metabolitos secundarios son, en principio, no esenciales para la vida pero contribuyen definitivamente a la adaptación de las especies y su supervivencia y se caracterizan por su baja abundancia (11).

Los actinomicetos han servido como vasto reservorio de metabolitos agroactivos durante años (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 y son las actinobacterias las mayores productoras y cuentan 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 producidos por bacterias se excretan, al final de la fase exponencial de crecimiento, como metabolitos secundarios (12).

Algunos antibióticos son eficaces contra bacilos ácido-alcohol resistentes, pero otros no, ejemplo: estreptomycin, estreptotricina, subtilina, allieina. Algunos afectan, en igual forma, los górmegos aerobios o anaerobios, mientras que otros actúan mejor sobre los primeros que sobre los segundos o, recíprocamente. La penicilina es muy activa sobre los górmegos Gram positivos, aerobios y anaerobios. Otros antibióticos son fungistáticos y también fungicidas. Así la gliotoxina, la subtilina, la oumicina, actinomicina, estreptotricina, ácido aspergílico y axpansina ejercen acción contra algunos hongos. La viridina ejerce gran actividad fungistática sobre ciertos hongos. Además, algunos antibióticos, como la cloromicetina y aureomicina actúan contra ciertos virus y rickettsias. Otros como la estreptotricina actúan contra levaduras. Estas diferencias de acción pueden ser no solo cualitativas

sino también cuantitativas y puede hablarse de un efecto bacteriostático o espectro antibiótico; o sea, la extensión de la acción antimicrobiana o antibacteriana selectiva de una sustancia determinada cuando se pone en presencia de una serie de bacterias u otros microorganismos típicos. Para que la aplicación de un antibiótico se generalice en el campo médico es necesario que este ejerza una acción selectiva; es decir, que mate la célula bacteriana pero que no dañe la célula animal.

Sin tener un mecanismo de acción determinado, parece que los antibióticos actúan y afectan diferentes mecanismos básicos de la biología bacteriana. El antibiótico forma parte de un sistema enzimático y produce en el medio sustancias como las peroxidasas, que oxidan a otras que en el proceso de la nutrición celular habían sido reducidas (13).

La producción de antimicrobianos por cepas de *Streptomyces* y *Penicillium* puede variar, según la especie y las condiciones de cultivo. Las alteraciones de las condiciones de cultivo pueden tener una influencia pronunciada en la mejora del rendimiento y la inducción *de novo* de metabolitos secundarios (3).

Streptomyces sintetiza un amplio espectro de compuestos antimicrobianos, que actúa contra los patógenos al interrumpir la comunicación entre células bacterianas (quorum sensing) y una variedad de enzimas que degradan la pared celular fúngica. Algunas cepas de *Streptomyces* han sido reportadas como biocontroladoras de bacterias y hongos fitopatógenos, como: *Erwinia carotovora*, *Ralstonia solanacearum*, *Colletotrichum dematium* y *Pyricularia oryzae* (3).

El descubrimiento de la actividad antibacteriana del género *Penicillium* en 1929, por Alexander Fleming, transformó la medicina y estimuló la búsqueda de nuevos antibióticos para el control de infecciones bacterianas; sin embargo, desde entonces, las bacterias han manifestado resistencia a todos los antibióticos introducidos en la práctica clínica (14).

Estudios de obtención de metabolitos antimicrobianos, a partir de *Streptomyces* y *Penicillium* sp por fermentación

La resistencia a los antibióticos de bacterias Gram positivas es un grave problema de salud pública y algunas medidas paliativas para ello pueden encontrarse en los principios antimicrobianos de hongos filamentosos.

Sánchez (15), en su estudio, evaluó de la actividad antimicrobiana de metabolitos secundarios de un aislamiento clínico de *Aspergillus fumigatus* sobre cepas clínicas de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pneumoniae*. Realizó la fermentación líquida de *A. fumigatus* en un caldo líquido de sulfato, papa y dextrosa y utilizó acetato de etilo para la extracción de metabolitos. Mediante la metodología de disco difusión se evaluó la actividad antimicrobiana considerada como un halo mayor de 6 mm. El resultado fue una media de 24.02 ± 2.51 mm y 23.62 ± 4.68 mm de halo de inhibición sobre *Staphylococcus aureus* sensible y resistente oxacilina, respectivamente. Para *Streptococcus pneumoniae* sensibles y no sensibles a la penicilina las medias fueron de 25.82 ± 4.05 mm y 26.5 ± 5.39 mm, respectivamente. El extracto crudo de *A. fumigatus* posee metabolitos secundarios de naturaleza alcaloide y esteroides insaturados con actividad antimicrobiana.

Según Martínez (16), una característica notable de las bacterias *Streptomyces* es la capacidad para producir metabolitos secundarios. El objetivo de su estudio fue identificar estreptomicetos con actividad antibacteriana y usarlos contra bacterias patógenas de plantas y humanos, así como evaluar la producción de antibióticos en diferentes medios de cultivo. Para la selección de estreptomicetos con actividad antimicrobiana empleó el método de difusión de disco de agar en 31 aislados, de los que fue seleccionado un aislado que, posteriormente, se cultivó en nueve medios para evaluar la producción de metabolitos inhibitorios. Detectó tres aislados con actividad inhibitoria contra, al menos, cuatro especies patógenas. El estreptomiceto nombrado Y15 presentó actividad antibacteriana contra: *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*, *Dickeya dadantii*, y *Pectobacterium carotovorum*.

La producción de los metabolitos antimicrobianos se mantuvo cuando Y15 creció en un medio con limitada concentración de fuente de nitrógeno. La presencia de compuestos con nitrógeno orgánico provocó una disminución en la producción de los metabolitos antibacterianos. El aislado Y15 se identificó como miembro del género *Streptomyces*, mediante la secuencia del gen 16S rDNA. Como conclusión obtuvo que la composición del medio de fermentación constituye un factor importante para modular la producción de antibióticos, que tiene impacto sobre la cantidad y diversidad de los metabolitos secundarios producidos.

Aponte (17) planteó que las especies de *Streptomyces* son ampliamente reconocidas por su potencial biotecnológico y son las responsables de la producción de los dos tercios del total de las moléculas microbianas actualmente comercializadas en el mercado mundial. La búsqueda de nuevos fármacos, a partir de actinomicetos marinos adquiere vital importancia, especialmente porque este grupo podría tener la maquinaria genética y bioquímica para la producción de nuevos antibióticos. En su estudio evaluó el potencial antibacteriano y sinérgico de los metabolitos extracelulares que produce el actinomiceto marino identificado como *Streptomyces erythrogriseus* M10-77. Sus resultados señalan que *S. erythrogriseus* cepa M10-77 tiene una fuerte actividad inhibitoria, de amplio espectro, frente a patógenos drogorresistentes de origen clínico. Las pruebas preliminares de caracterización de sus metabolitos secundarios señalan que son varios los compuestos involucrados en la respuesta inhibitoria; además, tales compuestos tendrían actividad sinérgica cuando actúan en conjunto o junto a antibióticos betalactámicos y aminoglucósidos.

Parada (18), en su artículo *Aislamiento y caracterización parcial de actinomicetos de suelos con actividad antimicrobiana contra bacterias multidrogo-resistentes*, evaluó la actividad antimicrobiana frente a bacterias multidrogo resistentes, para ello estudió 234 cepas de actinobacterias aisladas de suelo de Argentina y Perú. Seleccionó 13 cepas sobre la base de su actividad antagonista contra *Staphylococcus aureus* meticilina-resistente (SAMR) y *Enterococcus* resistente a vancomicina (EVR-van A y van B). La presencia de los genes NRPS, PKS-I y PKS-II fue investigada por técnicas de PCR. Entre las 13 actinobacterias seleccionadas, la cepa AC69C mostró la mayor actividad en las pruebas de difusión en medio sólido y se evaluó, posteriormente, la producción de metabolitos antagonistas en medios líquidos. Los mejores resultados los obtuvo en caldo de fermentación con carbohidratos, al usarse en combinación almidón y glucosa. Se obtuvieron actividades antimicrobianas de 640 unidades arbitrarias (UA), 320 UA, 320 UA y 80 UA contra EVR-van A, EVR-van B, *Listeria monocytogenes* ATCC7644 y SAMR, respectivamente. La amplificación por PCR del gen ARNr 16S y el análisis filogenético subsecuente de la cepa AC69C exhibieron una homología del 100 % con *Streptomyces antibioticus* NRRL B-1701. No fue posible establecer una correlación entre los genes amplificados y la actividad antimicrobiana de las 13 cepas seleccionadas. Los resultados de Parada (18) demuestran la amplia distribución de las actinobacterias en suelo y la importancia del aislamiento de cepas para la búsqueda de nuevos metabolitos activos contra bacterias multidrogo resistentes, de origen clínico.

Marinelli (19) explicó que las estatinas se encuentran entre los fármacos más vendidos de origen natural. Las estatinas controlan los niveles de colesterol e inhiben su biosíntesis a través de la interacción selectiva con la enzima 3-hidroxi-3-metilglutaryl CoA reductasa (HMG-CoA red) involucrada en un paso inicial de la síntesis de colesterol. Las estatinas reducen también el riesgo de morbilidad por enfermedad arterial coronaria y la muerte, en un elevado nivel de pacientes de riesgo. Las estatinas pueden producirse por fermentación, semisíntesis o síntesis química total. La primera estatina descubierta fue la Compactina (Mevastatina), producida por una línea del hongo *Penicillium citrinum*; años más tarde se descubrió la Lovastatina en el caldo de cultivo de los hongos *Monascus purpureus* y *Aspergillus terreus*. Todas las estatinas fúngicas son lactonas sustituidas por hexahidronaftaleno con una ruta biosintética poliquétido común. Las estatinas derivadas de la

fermentación se obtienen preferentemente como lactonas, debido a la mayor facilidad de extracción de los medios de cultivo acuosos, con disolventes hidrofóbicos orgánicos.

Los microorganismos son una rica fuente de metabolitos secundarios estructuralmente diversos, que ejercen un impacto importante en el control de enfermedades infecciosas y otras afecciones médicas. La biosíntesis de estos metabolitos se puede mejorar, al manipular los factores nutricionales o ambientales. Talukdar (20) en su trabajo *Enhanced candidal compound production by a new soil isolate Penicillium verruculosum MKH7 under submerged fermentation* evaluó los efectos de los parámetros de fermentación en la producción de un compuesto, lactona, efectivo contra *Candida albicans* por *Penicillium verruculosum* MKH7, bajo fermentación sumergida. Como resultado encontró que los factores importantes que influyen en la producción de antibióticos seleccionados, de acuerdo con el diseño de Plackett-Burman, fueron el pH inicial, la temperatura, la peptona y el $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Se adoptó un diseño compuesto central ortogonal y una metodología de superficie de respuesta, para investigar más a fondo la interacción mutua entre las variables e identificar los valores óptimos que catalizan la producción máxima de metabolitos. El coeficiente de determinación (R^2) del modelo ajustado de segundo orden fue 0.9852. Los experimentos de validación, en condiciones optimizadas de pH inicial 7.4, temperatura 27 °C, peptona 9.2 g/l y $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.39 g/l dieron como resultado un aumento significativo (casi 7 veces de 30 a 205.5 mg/l) en la producción de metabolitos, de acuerdo con la predicción (211.24 mg/l). También se evaluó la estabilidad del compuesto, en función de su respuesta al estrés físico y químico. La optimización no solo condujo a un aumento de 7 veces en el rendimiento de metabolitos sino que se logró lo mismo en un tiempo mucho menor (de 8 a 10 días, en comparación con los 12 a 15 días anteriores). El mayor rendimiento del antibiótico sugiere, firmemente, que el hongo *P. verruculosum* MKH7 se puede utilizar, de forma eficaz, en la producción de antibióticos a gran escala.

El objetivo de Espinosa (21), en su tesis, fue aislar, caracterizar y determinar la capacidad antimicrobiana de actinomicetos, asociados a hormigas cortadoras de hojas frente a bacterias (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 6538, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Enterococcus faecalis* ATCC 51922) y levaduras (*Candida albicans* ATCC 98028, *C. albicans* ATCC 7516, *C. albicans* ATCC 10231, *C. tropicalis* ATCC 7206, *C. parapsilosis* ATCC 7307). Realizó el aislamiento de 30 actinomicetos, en su mayoría caracterizados, fenotípicamente, como *Streptomyces* sp. Los actinomicetos HAA-16 y HAA-17 presentaron porcentajes de inhibición significativos (87 y 86 %, respectivamente) frente a *C. albicans* ATCC 10231. Asimismo, el actinomiceto HAA-4 presentó actividad inhibitoria de amplio espectro frente a bacterias (*S. aureus* ATCC 25923 y *E. faecalis* ATCC 51922) y la levadura (*C. albicans* ATCC 7516). En su investigación, los extractos orgánicos de la cepa HAA-17, obtenidos con acetato de etilo y diclorometano presentaron la mayor actividad antifúngica, frente a las levaduras del género *Candida*. Asimismo, la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto de acetato de etilo de HAA-17 fue de 3.25 mg/mL, frente a *C. albicans* ATCC 7516 y *C. parapsilosis* ATCC 7307. El análisis de la región parcial ADNr 16S reveló la presencia de cepas pertenecientes al género *Streptomyces*. En conclusión, los actinomicetos asociados a hormigas cortadoras de hojas *Atta cephalotes* son excelentes productores de compuestos bioactivos, capaces de inhibir microorganismos patógenos de importancia clínica, por lo que se confirma su potencialidad de producir compuestos bioactivos de interés biotecnológico.

Mercado de bioproductos, a partir de metabolitos antimicrobianos

Como consecuencia del desarrollo de la biotecnología en Cuba se han obtenido importantes resultados vinculados a la lucha contra las enfermedades y epidemias causadas por bacterias, virus y parásitos. Entre ellas figuran: vacunas y medicamentos, descontaminación de residuales orgánicos de alta carga, producción de alimentos para el ganado, nuevas variedades de plantas, así como la

producción y empleo de biofertilizantes y biopreparados para disminuir, sustancialmente, el empleo de plaguicidas y compuestos químicos en la agricultura. Los biofertilizantes y bioestimulantes son productos constituidos por microorganismos vivos y los metabolitos que ellos producen son capaces de ejercer un efecto beneficioso sobre las plantas.

En el Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA) se han desarrollado biopesticidas, constituidos por los metabolitos activos, entre los que se encuentran:

- GLUTICID®, antifúngico foliar que contiene metabolitos antimicrobianos, ácido salicílico y sideróforos y un bioherbicida, constituido por fitotoxinas, ambos producidos a partir de la *Pseudomonas aeruginosa* PSS.
- VERTICID®, empleado para el control de la mosca blanca en cultivos de papa y hortalizas, cuyo principio activo está dado por las esporas de *Verticillium lecanii*.
- NEMACID®, empleado para el control de nematodos, con un principio activo que viene dado por las proteasas alcalinas producidas a partir del hongo *Verticillium lecanii*, Castillo (22).

Terry (23) valoró la respuesta del cultivo del tomate a la aplicación del bioproducto GLUTICID®, obtenido a partir de metabolitos activos de *Pseudomonas aeruginosa*. Los experimentos se desarrollaron en áreas experimentales del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) y se estudiaron cinco tratamientos, cuatro con la aplicación de GLUTICID® y un tratamiento testigo (sin aplicación del producto). Los tratamientos con GLUTICID® (5 g.L⁻¹), se realizaron mediante la imbibición de las semillas en el producto (15 y 30 min) y, a su vez, se realizó una segunda aplicación foliar del bioproducto. En el cultivo se evaluaron algunas variables de crecimiento y desarrollo y se determinó el rendimiento agrícola. Los resultados mostraron la efectividad del bioproducto y se destacó el tratamiento que recibió la aplicación de GLUTICID®, una sola vez, con 30 min de imbibición y se confirmó la efectividad de este bioproducto en la obtención de plantas más vigorosas, así como un estímulo en el crecimiento y desarrollo de las plantas con la consiguiente obtención de rendimientos aceptables.

En el trabajo *Evaluación de la actividad inmunomoduladora de bioproductos obtenidos de la seta comestible-medicinal pleurotus ostreatus*, de Morris (24), se desarrolló un procedimiento para la obtención de preparados inmunocéuticos de *Pleurotus ostreatus*, a partir de la extracción acuosa y/o secado de su biomasa, que dio lugar a una patente de invención y al registro de la marca NUTRISETAS®. Dichos bioproductos mostraron en su composición, la presencia mayoritaria de carbohidratos (entre ellos del tipo β -glucanos) y proteínas, así como de diferentes metabolitos secundarios con potencial actividad biológica.

Entre los antagonistas se destacan los hongos del género *Trichoderma*, que están presentes en casi todos los suelos y se caracterizan por un comportamiento saprófito o parásito. Las diferentes especies de *Trichoderma* ejercen mecanismos de control mediante competencia directa (por espacio y nutrientes), producción de metabolitos antibióticos, inactivación de enzimas del agente patógeno, modificación de las condiciones ambientales y producción de sustancias promotoras del crecimiento vegetal Armentero (25).

- ***Trichoderma viridae cepa TS-3***: se emplea para el control de nemátodos reniforme (*Rotylenchus spp.*) y nemátodos formadores de agallas (*Meloidogyne spp.*).
- ***Trichoderma harzianum cepa A-34***: se emplea para el control de los hongos fitopatógenos presentes en el suelo.

CONCLUSIONES

1. La biosíntesis de los metabolitos secundarios se puede mejorar al manipular los factores nutricionales o ambientales. Varios estudios han mostrado que una característica notable de las bacterias *Streptomyces* es la capacidad para producir metabolitos secundarios.
2. La composición del medio de fermentación es un factor importante para modular la producción de antibióticos, que influye sobre la cantidad y diversidad de los metabolitos secundarios producidos.
3. Los biopesticidas representan una solución prometedora para el control de fitopatógenos. Entre los microorganismos prometedores para la producción de biopesticidas se encuentran los géneros *Streptomyces* y *Penicillium*, los cuales han sido ampliamente estudiados y usados para el control biológico, debido a que producen un amplio espectro de antibióticos y compuestos orgánicos volátiles antimicrobianos y una variedad de enzimas que degradan la pared celular de los microorganismos fitopatógenos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rojano, M. R. *Extracción y caracterización de metabolitos secundarios a partir de Bacillus thuringiensis*. [Trabajo de diploma], Universidad Autónoma de Puebla, México, 2016.
2. Leobardo S. Control biológico de patógenos de plantas: interacciones, estrategias y mecanismos. *Biotecnología en movimiento*, 2021.
3. Michelena, S. P. *Desarrollo y evaluación toxicológica de un producto para el control biológico de fitopatógenos basado en el uso de microorganismos productores de metabolitos antimicrobianos* [Trabajo de diploma], Centro de Biociencias, Universidad Federal de Pernambuco, México, 2023.
4. Verdecía, D.M.; et al. Primary and secondary metabolites of six species of trees, shrubs and herbaceous legumes. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 2021, 55,
5. Lei Zhuang, H. Z. Utilizing cross-species co-cultures for discovery of novel natural products. *Current Opinion in Biotechnology*, 2021, 69.
6. Sye Ab Rahman, C. Emerging microbial biocontrol strategies for plant pathogens. *Plant Sci*, 2018. 267, 102-111.
7. Valdés, R. A. Review of antibacterial activity of plant extracts and growth-promoting microorganism (Gpm) against phytopathogenic. *European Journal Of Plant Pathology*, 2017, 4, 11-36.
8. Petriccione ,M.; Scortichini, M. Occurrence of copper-resistant *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* strains isolated from rain and kiwifruit orchards also infected by *Pseudomonas syringae* pv *Actinidiae*. *European Journal Of Plant Pathology*, 2017, 149(4), 953-968.
9. Andrade-Bustamante, G. Estudio del potencial biocontrolador de las plantas autóctonas de la zona árida del noroeste de México: control de fitopatógenos. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*, 2017, 49(1), 127-142.
10. Guerra, M. M. M. An overview of food safety and bacterial foodborne zoonoses in food production animals in the caribbean region. *Tropical Animal Health and Production*, 2016, 48(6), 1095-1108.
11. Sánchez, H. L. Los superpoderes de las plantas: los metabolitos secundarios en su adaptación y defensa *Revista digital Universitaria*, 2022, 23:2.
12. Montoya, M. M. *Producción de sustancias de carácter antimicrobiano por actinobacterias aisladas en procesos de compostaje*. [Trabajo de diploma] Departamento de Biología y Geología, Universidad de Almería, 2019.

13. Mercere, M. M. I. *Métodos de producción de tirotricina*. [Trabajo de diploma]. Facultad de Química y Farmacia, Universidad Nacional de la Plata. Repositorio Institucional de la UNLP. SEDICI, 1950 . Argentina.
14. Espinosa, I., *et al.* Resistencia antimicrobiana en bacterias de origen animal: desafíos para su contención desde el laboratorio. *SCielo*, 2019, 41.
15. Sanchez-Perez, J. Actividad antimicrobiana de metabolitos secundarios de *Aspergillus fumigatus sensu stricto* sobre cepas clínicas de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pneumoniae*. *Anales de la Facultad de Medicina*, 2020, 81.
16. Martínez, E. Actividad antimicrobiana de *Streptomyces* sp. Y15 contra bacterias patógenas y evaluación de medios de cultivo para la producción de antibióticos. *Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 2023, 25,
17. Aponte, J.; *et al.* Actividad antimicrobiana y sinérgica de metabolitos producidos por *Streptomyces erythrogriseus* M10-77 de origen marino. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 2015, 35.
18. Parada, B. Aislamiento y caracterización parcial de actinomicetos de suelos con actividad antimicrobiana contra bacterias multidrogo-resistentes. *Revista Colombiana de Biotecnología.*, 2017, XIX, 15-23.
19. Marinelli, F. Las fermentaciones en la producción de metabolitos secundarios de interés farmacéutico. *Real Academia Nacional de Farmacia*, 2012. IRIS. Institutional Research Information System- AIR .Archivio Istituzionale della Ricerca. <http://hdl.handle.net/2434/203154>
20. Shruti, M. T. Enhanced candidicidal compound production by a new soil isolate *Penicillium verruculosum* MKH7 under submerged fermentation. *SpringerLink*, 2016, 16.
21. Espinosa, C. A. G. (2017). Aislamiento, caracterización y evaluación de la capacidad antimicrobiana de actinomicetos asociados a hormigas cortadoras de hojas (Formicidae: Myrmicinae: Attini). [Trabajo de Diploma]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
22. Castillo, G. Bioproductos para la agricultura: Surgimiento y desarrollo en el ICIDCA. *ICIDCA. sobre los derivados de la caña de azúcar*, 2007, XLI, 42-51.
23. Terry, E. Efecto de un bioproducto a base de *Pseudomona aeruginosa* en el cultivo del tomate (*Solanum lycopersicum* Mill). *Revista Colombiana de Biotecnología.*, 2010, .XII, 32-38.
24. Morris, H. Evaluación de la actividad inmunomoduladora de bioproductos obtenidos de la seta comestible-medicinal *Pleurotus ostreatus*. *Academia de Ciencias de Cuba*, 2018, 8.
25. Armentero, E. F. Bioproductos para la producción de frutas. 2023. PNUD. Cuba <https://www.undp.org/sites/g/files/zskgke326/files/2023-08/pnud-cuba-bioproductos-agrofrutales.pdf>