



## *Lysobacter enzymogenes* B25, una nueva cepa PGPR con actividad nematocida

Marta Almazán, Laia Arrom; Belén López-García; José Manuel Lara y Carolina Fernández

### Introducción

*Lysobacter enzymogenes* es una bacteria gram negativa aislada del suelo y el agua. Se ha referenciado ampliamente como un agente de biocontrol contra enfermedades causadas por hongos y bacterias patógenos. Produce enzimas extracelulares y metabolitos secundarios responsables de su actividad antimicrobiana. Además, algunas cepas de *L. enzymogenes* son capaces de inducir resistencias sistémicas en plantas. Por otra parte, poco se sabe de su actividad antagonista en nematodos o su habilidad de promover crecimiento en plantas. En este estudio, se evaluaron *in vivo* e *in vitro* la capacidad promotora del crecimiento y la capacidad nematocida de la cepa B25 de *L. enzymogenes* (Le-B25, patente en progreso).

### Materiales y Métodos

La cepa Le-B25 fue aislada de raíces de pimiento infectadas con nematodos de un campo comercial bajo manejo orgánico. Siguiendo el protocolo de aislamiento microbiano de Futureco Bioscience, la cepa fue identificada como *L. enzymogenes* por secuenciación de ADNr 16S. El ingrediente activo de grado técnico (IAGT) de Le-B25 se produjo por fermentación líquida. Primero, se evaluó la actividad como promotor de crecimiento (PGP) de Le-B25 en plantas de tomate cv. Marmande en plántulas crecidas con sustrato empobrecido (con bajo contenido de materia orgánica) con  $10^7$  UFC/mL. Posteriormente los plántulas fueron trasplantados en macetas con sustrato estéril estándar, (suelo de arena arcillosa; al 3.55% de materia orgánica; pH=7.7 and 39.3mmol/Kg de capacidad de intercambio catiónica) y tratado dos veces con  $10^7$  UFC/mL de Le-B25: inmediatamente después del trasplante y 15 días después. Experimentos adicionales fueron llevados a cabo para evaluar los efectos Le-B25 en diferentes etapas del ciclo del fitonematodo *Meloidogyne javanica* aplicando cepa Le-B25 a  $10^{10}$  UFC/mL. Para confirmar la actividad nematocida se hicieron ensayos *in vivo* en plantas de tomate de 4 semanas de edad cv. Marmande crecidas en cámara climática. Le-B25 ( $10^8$  UFC/mL) fue aplicado 3 veces: 4 días antes de la inoculación con una suspensión de 1000 J<sub>2</sub> *M. Javanica*.

### Resultados

**Figura 1.** Peso seco (DW) de plantas crecidas en sustrato empobrecido, 35 días después de tratar con Le-B25 (B25) a  $10^7$  UFC/mL. Los datos se corresponden con la media  $\pm$  SE de  $n=10$  plantas. Estadística ANOVA,  $P<0.05$ .



Fig.1

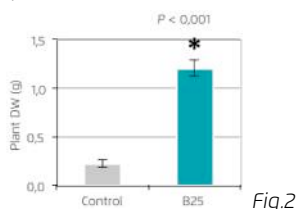


Fig.2

**Figura 2.** Peso seco (DW) de plantas en maceta 30 días después de tratamiento (en trasplante) con 10mL/planta de Le-B25 (B25) a  $10^7$ UFC/mL. Los datos se corresponden con la media  $\pm$  SE de  $n=10$  plantas. Estadística ANOVA,  $P<0.05$ .

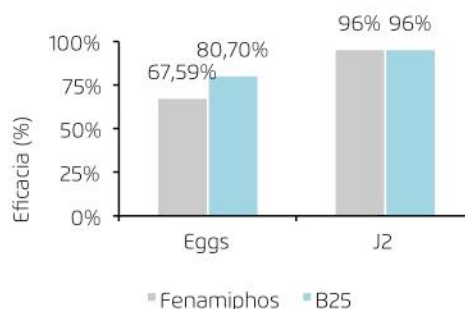
**Figura 3.** Segundo análisis de Resultados Actividad promotora del crecimiento (PGP) de Le-B25 tras el tercer tratamiento.



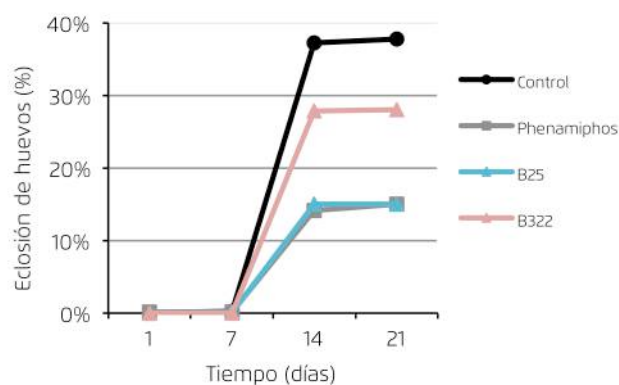
Control

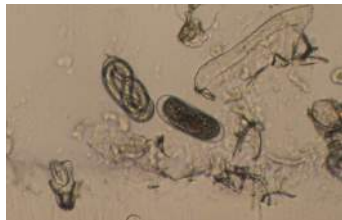
Le - B25

**Figura 4.** Porcentaje de eficacia de la actividad nematocida de Le-B25 vs *Meloidogyne javanica* en ensayos *in vitro*.



**Figure 5.** Porcentaje de eclosión de huevos de la actividad nematocida de Le-B25 vs *Meloidogyne javanica* en ensayos *in vitro*.





Imágenes: Infección de raíces por una hembra de *Meloidogyne javanica* (arriba); huevos de *M. javanica* en diferentes estadios (medio), y macho de *M. javanica* (abajo).



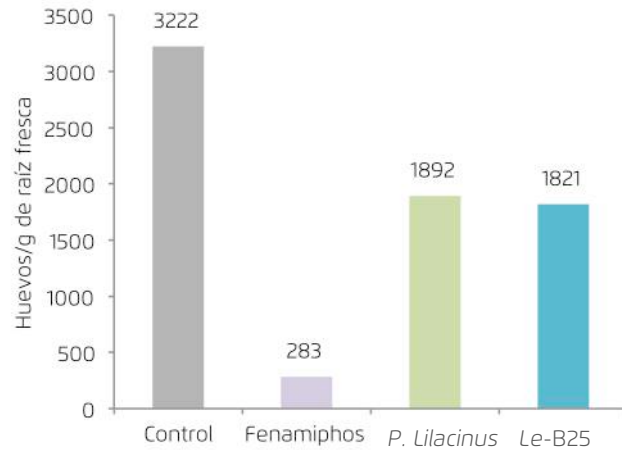
Estos experimentos se llevaron a cabo en las instalaciones de Futureco Bioscience. Para mayor información sobre este artículo por favor contacte con [research@futurecobioscience.com](mailto:research@futurecobioscience.com)

Futureco Bioscience SA,  
Avenida del Cadí 19-23  
Sant Pere Molanta 08799  
Olèrdola (Barcelona)  
España

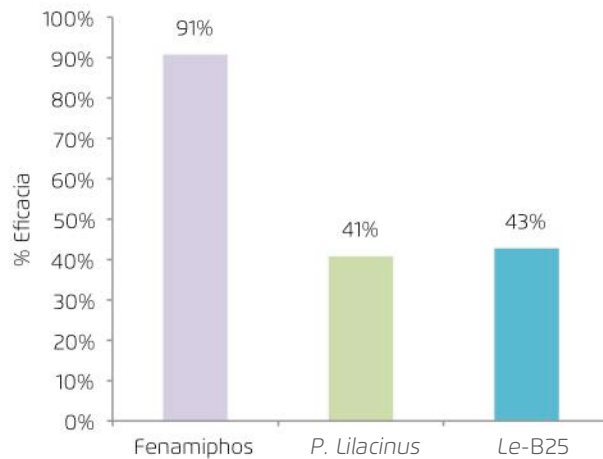
[www.futurecobioscience.com](http://www.futurecobioscience.com)

Good for your crops, good for the environment

**Figura 6.** Efecto de *Le-B25* en la población final de *Meloidogyne javanica* expresado en huevos/g de raíces frescas comparado con un control y dos productos de referencia.



**Figura 7.** Porcentaje de eficacia de la actividad nematocida de *Le-B25* vs *Meloidogyne javanica* en ensayos *in vivo*.



Tras el tratamiento con  $10^7$  UFC/mL, se observó un incremento en el crecimiento de la planta de 5,79 veces el peso seco del control (Figura 1). Cuando los plántulos fueron trasplantados y tratados dos veces con  $10^7$  UFC/mL de *Le-B25*, inmediatamente tras el trasplante y 15 días después, los resultados mostraron una fuerte actividad PGP de *Le-B25* en plantas de tomate, 4,5 veces superior al peso seco del control (Figuras 2 y 3).

La evaluación de los efectos de *Le-B25* en diferentes estadios del ciclo de vida del fitonematodo *Meloidogyne javanica* mostró que la cepa *Le-B25* a  $10^{10}$  UFC/mL tuvo una alta actividad *in vitro* reduciendo la eclosión de los huevos e induciendo estadios juveniles ( $J_2$ ). La mortalidad fue del 81% y 96% respectivamente, como puede apreciarse en las figuras 4 y 5. No hubo diferencias significativas. No se observaron diferencias significativas con respecto al control químico basado en el ingrediente activo Fenamiphos.

Un test comparativo mostró un mejor antagonismo de *Le-B25* que otra cepa de *L. enzymogenes* strain (*Le-B322*).

## Conclusiones

Dados los efectos en el crecimiento de la planta y en el control de nematodos, *Le-B25* parece ser un ingrediente activo potencial para un futuro Bionematocida con efecto bioestimulante adicional.