



Lipopéptidos del aislamiento marino *Streptomyces* sp. PNM87 para el control biológico del patógeno de arroz *Pyricularia oryzae*

Lipopeptides from the Marine Isolate *Streptomyces* sp. PNM87 for the Biological Control of *Pyricularia oryzae*, a Rice Phytopathogen

Vanesa DIAZ-RIOS¹ Jeimmy MACIAS² Lina María BAYONA³, Olga HIGUERA⁴, Carolina CUELLAR⁴, Nubia MORENO², Leonardo CASTELLANOS¹, Freddy A. RAMOS¹.

¹ Departamento de Química, Grupo de investigación Estudio y Aprovechamiento de productos naturales y frutas de Colombia. * faramosr@unal.edu.co

² Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional de Colombia, Grupo de Bioprocesos y Bioprospección.

³ Universidad de Leiden, MARBLES - Marine Biodiversity as Sustainable Resource of Disease-Suppressive Microbes and Bioprotectants for Aquaculture and Crop Diseases.

⁴ Fondo Nacional del arroz Fedearroz-FNA

Presentación Poster 65

ABSTRACT

Rice is a fundamental cereal in the diet of developing countries, and in Colombia, it is the most preferred cereal for consumption and production. Its cultivation is susceptible to infections caused by phytopathogens, which can result in productivity losses of up to 33%. Among these pathogens, the fungus *Pyricularia oryzae* stands out, as it can reduce crop productivity by up to 50%. For the management of piriculariosis in rice, integrated management practices are implemented, including the use of resistant rice varieties, adjustments in irrigation and fertilization [1], as well as the application of fungicides. However, due to *Pyricularia*'s high adaptability, biological alternatives are being explored for controlling this disease [2].

This study aimed to select microorganisms capable of controlling *P. oryzae* and characterize the molecules associated with the desired antifungal activity. Fifteen microorganisms, primarily from marine environments [3], were pre-selected, and their antifungal activity was evaluated through direct confrontation assays, agar diffusion, and greenhouse tests. Eight isolates showed control comparable to the fungicide Kazugamicin in direct confrontation assays. Among these, isolates from the genera *Paenibacillus* and *Streptomyces* stood out [4], producing compounds that inhibited *P. oryzae*, in addition to field control with efficacy ranging from 60% to 80%. The most effective isolate for controlling *P. oryzae* was *Streptomyces* sp. PNM 87, which showed 60% inhibition in vitro and 80% efficacy in greenhouse tests.



To identify the molecules responsible for the antifungal activity, *S. albidoflavus* PNM 87 was cultured, and the culture supernatants were extracted with ethyl acetate. The culture extracts were fractionated using a reverse-phase extraction cartridge, eluting them with decreasing polarity methanol-water mixtures. When evaluating the antifungal activity of the recovered fractions, it was found that the biological activity concentrated in fractions with intermediate to high polarity. The active fractions were separated by semi-preparative chromatography, and three fractions with activity against *P. oryzae* were recovered, with the E2F57 fraction standing out. All three active fractions were analyzed by liquid chromatography coupled with mass spectrometry (LC-MS) ^[5], revealing that they were rich in lipopeptides such as: surfactin B, C15 and C13, esperin, pumilacidin B, and pumilacidin D/E ^[6]. It was also determined that surfactins B, C15, and C13 constitute 82% of the total ion count (TIC) of the E2F57 fraction. Therefore, the antifungal activity against *P. oryzae* is attributed to the presence of this family of lipopeptides ^[7]. In conclusion, *Streptomyces* sp. PNM 87 was the best controller of *P. oryzae* among the selected microorganisms, and the observed antifungal activity can be associated with the production of lipopeptides such as surfactins

Key words: Biocontrol, *Streptomyces*, Surfactinas, *Pyricularia oryzae*, Arroz (*Oryza sativa*).

RESUMEN

El arroz es un cereal fundamental en la dieta de los países en vías de desarrollo y, en Colombia, es el cereal de mayor preferencia de consumo y superficie de producción. Su cultivo es susceptible a infecciones causadas por fitopatógenos, que pueden ocasionar pérdidas de hasta el 33% en la productividad. Entre estos patógenos destaca el hongo *Pyricularia oryzae*, capaz de reducir la productividad del cultivo hasta en un 50%. Para el manejo de la piriculariosis en arroz, se implementan prácticas de manejo integrado que incluyen el uso de variedades de arroz resistentes, ajustes en el riego y la fertilización ^[1], así como la aplicación de fungicidas. Sin embargo, debido a la alta adaptabilidad de *Pyricularia*, se buscan alternativas biológicas para el control de esta enfermedad ^[2].

Este estudio tuvo como objetivo seleccionar microorganismos capaces de controlar *P. oryzae* y caracterizar las moléculas asociadas a la actividad antifúngica deseada. Se preseleccionaron 15 microorganismos, principalmente de ambientes marinos ^[3], y se evaluó su actividad antifúngica mediante ensayos de enfrentamiento directo, difusión en placa de agar y pruebas en invernadero. Ocho aislamientos mostraron un control comparable al fungicida Kazugamicina en los ensayos de enfrentamiento directo. Entre estos, destacaron aislamientos de los géneros *Paenibacillus* y *Streptomyces* ^[4], que producen compuestos inhibidores de *P. oryzae*, además de un control en campo con una eficacia de entre el 60% y el 80%. El aislamiento más efectivo en el control de *P. oryzae* fue *Streptomyces* sp. PNM 87, que mostró un 60% de inhibición in vitro y un 80% de eficacia en invernadero.

Con el fin de identificar las moléculas responsables de la actividad antifúngica, se cultivó *S. albidoflavus* PNM 87 y se extrajeron los sobrenadantes de cultivo con acetato de etilo. Los extractos del cultivo se fraccionaron



utilizando un cartucho de extracción en fase reversa, eluyendolos con mezclas de metanol-agua de polaridad decreciente. Al evaluar la actividad antifúngica de las fracciones recuperadas, se encontró que la actividad biológica se concentraba en fracciones de polaridad intermedia a alta. Se separaron las fracciones activas mediante cromatografía semi-preparativa y se recuperaron tres fracciones con actividad contra *P. oryzae*, destacándose la fracción E2F57. Las tres fracciones activas fueron analizadas por cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-MS) ^[5], lo que reveló que son ricas en lipopéptidos como: surfactina B, C15 y C13, esperina, pumilacidina B y pumilacidina D/E ^[6]. Además, se determinó que las surfactinas B, C15 y C13 constituyen el 82% del conteo total de iones (TIC) de la fracción E2F57. Por lo tanto, se atribuye la actividad antifúngica contra *P. oryzae* a la presencia de esta familia de lipopéptidos ^[7]. En conclusión, *Streptomyces* sp. PNM 87 fue el mejor controlador de *P. oryzae* dentro del grupo de microorganismos seleccionados, y la actividad antifúngica observada puede ser asociada a la producción de lipopéptidos como las surfactinas.

Palabras clave:

Biocontrol, *Streptomyces*, Surfactinas, *Pyricularia oryzae*, Arroz (*Oryza sativa*).

Agradecimientos/Acknowledgements

Agradecemos al Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación por la financiación otorgada en el marco de la convocatoria 852-2019. También expresamos nuestro agradecimiento por el permiso N° 4 de 10/02/2010, Anexo 2, y el Contrato de Acceso a Recursos Genéticos No 108, que nos permitieron acceder a la mayoría de los microorganismos ensayados en este trabajo.

Agradecemos a nuestros aliados estratégicos del Fondo Nacional del Arroz (FNA) por facilitarnos el acceso a los aislamientos de *Pyricularia*, así como el espíritu colaborativo de la profesora Olga Higuera.

Reconocemos el apoyo institucional brindado por la Universidad Nacional de Colombia, que fue fundamental para la ejecución de este proyecto interdepartamental. Un agradecimiento especial al personal del Instituto de Biotecnología (IBUN) y a la profesora Nubia Moreno, por permitirnos acceder a las instalaciones del instituto y por su valiosa asesoría a lo largo del proyecto.

Referencias/References

- [1] BEZERRA, G. D. A., *et al.* (2021). Evidence of *Pyricularia Oryzae* Adaptability to Tricyclazole. *Journal of Environmental Science and Health, Part B* **56**(10): 869-876. [\[DOI\]](#)
- [2] ACEBO GUERRERO, Y., *et al.* (2011). Perspectivas Del Uso De Bacterias Rizosféricas En El Control De *Pyricularia Grisea* (Cooke Sacc.) En El Cultivo Del Arroz (*Oryza Sativa* L.). *Revista Mexicana de Fitopatología* **24**(1): 42-49. [URL](#)



REVISTA PRODUCTOS NATURALES

ISSN 1916-2413



Vol. 6 Núm. 1 (2025): I Congreso Colombiano de Productos Naturales

Disponible en línea en

<https://www.nozomiscience.org/index.php/rpn/issue/view/587>

doi: <https://doi.org/10.3407/rpn.v6i1pp65>



-
- [3] BETANCUR, L. A., *et al.* (2017). Marine Actinobacteria as a Source of Compounds for Phytopathogen Control: An Integrative Metabolic-Profilng / Bioactivity and Taxonomical Approach. *PLOS ONE* **12**(2): e0170148. [[DOI](#)]
 - [4] BUATONG, J., *et al.* (2019). Antifungal Metabolites from Marine-Derived Streptomyces Sp. Ama49 against Pyricularia Oryzae. *Journal of Pure and Applied Microbiology* **13**(2): 653-665. [[DOI](#)]
 - [5] AVERY, V. M., *et al.* 3.07 - the Identification of Bioactive Natural Products by High Throughput Screening (Hts). In: LIU, H.-W.yMANDER, L. (eds.). *Comprehensive Natural Products Ii*. Oxford: Elsevier, (2010). p. 177-203. [[DOI](#)].
 - [6] CASTALDI, A., *et al.* (2024). Computational Methods Reveal a Series of Cyclic and Linear Lichenysins and Surfactins from the Vietnamese Marine Sediment-Derived Streptomyces Strain G222. *Molecules* **29**(7). [[DOI](#)]
 - [7] LAM, V. B., *et al.* (2021). Bacillus Cyclic Lipopeptides Iturin and Fengycin Control Rice Blast Caused by Pyricularia Oryzae in Potting and Acid Sulfate Soils by Direct Antagonism and Induced Systemic Resistance. *Microorganisms* **9**(7). [[DOI](#)]