

El uso de bacteriófagos para el control de enfermedades en la agricultura: un caso de estudio para el desarrollo de un biobactericida

Rubén Antonio Olivares Terrones¹, Evangelina Esmeralda Quiñones Aguilar¹, Guillermo Alejandro Solís Sánchez¹, María Inés Siri Tomás² y Gabriel Rincón Enríquez^{1*}

¹Laboratorio de Fitopatología, Unidad de Biotecnología Vegetal, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. (CIATEJ) Zapopan, Jalisco, México

²Área Microbiología, Departamento de Biociencias, Facultad de Química, Universidad de la República, Uruguay

*Autor de correspondencia: grincon@ciatej.mx

Resumen

Palabras clave:

control biológico, fagoterapia, mancha bacteriana del chile

Además de su importancia como causantes de enfermedades, los virus son importantes actores de los ecosistemas y pueden tener múltiples aplicaciones en la investigación, industria y salud. Los bacteriófagos son un tipo especial de virus con potencial para el control de enfermedades bacterianas en el ámbito de la agricultura. En este artículo se describe el desarrollo de un producto a base de bacteriófagos para el control de la mancha bacteriana en el chile (*Capsicum annuum*) y los esfuerzos que se están haciendo para la mejora continua de este producto.

El control biológico

En el diccionario de la lengua española se define la enfermedad como un “Estado producido en un ser vivo por la alteración de la función de uno de sus órganos o de todo el organismo”. En la obra *Fitopatología* de Agrios (1995), se menciona que en las plantas las principales causas de enfermedad son organismos patógenos y factores ambientales. En este artículo nos enfocaremos en las enfermedades causadas por organismos patógenos. Cuando estos son macroscópicos, principalmente animales, el daño es mecánico y puede afectar sistémicamente a la planta al interrumpir el flujo de savia o comprometer significativamente la capacidad del órgano atacado para cumplir su función, por ejemplo, dar soporte en las raíces o tallos, realizar la fotosíntesis o regular la evapotranspiración en las hojas. Otro gran riesgo

Enfoques Transdisciplinarios:
Ciencia y Sociedad, 2(2),
149-161. ISSN: 3061-709X.
<https://doi.org/10.5281/zenodo.12773571>

Recibido: 24 abril 2024
Revisado: 31 de mayo 2024
Aceptado: 03 de julio 2024
Publicado: 18 de julio 2024



Este artículo es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos y condiciones de la licencia CC BY-NC-SA 4.0. Para ver una copia de esta licencia visite <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>



relacionado con el ataque por plagas en las plantas es que al producir un daño mecánico permiten la entrada de otros patógenos, generalmente microscópicos, en general hongos, bacterias o virus, los cuales causan a su vez una gran variedad de enfermedades con signos y síntomas muy variados, que generalmente causan en última instancia deterioro en el desarrollo de las plantas y la disminución de la productividad de los cultivos.

La enfermedad no es exclusiva de los organismos macroscópicos, las plagas también cuentan con sus propios depredadores y los microorganismos patógenos pueden ser infectados por otros microorganismos. De este fenómeno surge el control biológico. Basándose en la idea de que el enemigo de mi enemigo es mi amigo, en el control biológico se hace uso de organismos vivos como agentes para el control de plagas y enfermedades (Barrera, 2021). Algunos de los casos más conocidos es uno de los pioneros en el control biológico, donde se introdujo una especie de mariquita originaria de Australia para el control del pulgón en California, o el uso de hongos entomopatógenos que infectan y colonizan todo el cuerpo de distintos insectos, a veces incluso modificando su comportamiento como algunos tipos de *Cordyceps*. En el caso de los insectos, es fácil imaginar y comprender el fenómeno, ya que se trata de procesos que podemos ver a simple vista o muy similares a la enfermedad que los humanos mismos experimentamos. Pero más complicado de imaginar es el control biológico de enfermedades, ya que nadie ha visto una bacteria enferma. En general estamos familiarizados con el paradigma de que el pez grande se come al chico; sin embargo, en los patosistemas pareciera que funciona de forma inversa: un organismo pluricelular macroscópico como una planta es infectado por una bacteria microscópica, y para infectar a las bacterias es necesario recurrir a microorganismos submicroscópicos, es decir, a los virus.

Los virus

Probablemente al oír hablar de los virus venga a tu mente algo relacionado con los casi tres años que, en general, vivimos en estado de alerta y precaución sanitaria por la pandemia de COVID19 causada por las diferentes variedades del SARS-CoV-2 o recuerdes alguna vez que sufriste los estragos de la influenza, un “fuego” en el labio o incluso en la pandemia del SIDA, que sigue activa en todo el mundo desde hace alrededor de 43 años, causada por el VIH. Aunque es verdad que todos estos fenómenos son ejemplos de los efectos más palpables, desde nuestra perspectiva humana, de la presencia de los virus en el ambiente, también es verdad que pensar en los virus en esos términos es no hacerle justicia al papel que juegan los virus en los ecosistemas, el que han jugado en la evolución y a su potencial como herramientas para generar soluciones ambientales, tecnológicas y en el área de la salud.



Los virus son organismos fascinantes que se encuentran en una zona gris entre lo que definimos como organismos vivos y materia inerte, su principal fortaleza se basa en su relativa simplicidad. A diferencia de las células, los virus no son capaces de nutrirse, no “crecen” y no son capaces de reproducirse o desplazarse por sí mismos, pero eso no les impide ser los organismos más abundantes y dispersos en la naturaleza. Los virus son muy simples. En general, consisten en un sistema que les permite reconocer un tipo especial de células, generalmente este sistema está unido a otro que les permite inyectar su material genético dentro de la célula que han reconocido y una o varias capas que recubren y contienen el material genético que consiste en una o más cadenas ADN o ARN simples o dobles. Sus capas de recubrimiento pueden consistir en una o más capas de proteínas o lípidos, o combinaciones de estos y otros componentes. Incluso la parte que conecta la región encargada de reconocer y unirse a las células e inyectar el material genético con la parte que lo contiene y protege puede no estar presente en algunos virus. Aun así, los virus causan infecciones que se caracterizan por generar enfermedades difíciles de manejar ya que, al contrario de las bacterias y otros organismos patógenos, estos, al no ser capaces de integrar a su estructura elementos del medio ambiente, no pueden ser “intoxicados” con antibióticos.

Los virus no tienen ningún mecanismo propio que les permita reproducirse o moverse, pero entonces ¿cómo llegan a ser los organismos más abundantes y dispersos? Eso es gracias a su peculiar forma de reproducirse. Como se mencionó antes, una de las partes más indispensables y características de los virus es un mecanismo que les permite reconocer un tipo específico de células e introducir su material genético, ya sea inyectando únicamente la o las cadenas de ácidos nucleicos o introduciendo toda su estructura dentro de la célula. Una vez dentro, la maquinaria de expresión de la célula comienza a producir las proteínas y replicar el material genético del virus en un proceso que culmina en la producción y liberación de una gran cantidad de partículas virales y en la muerte de la célula hospedera (Figura 1). Aunque esta es una visión muy general del proceso, la interacción específica entre cada tipo de virus y célula se puede complicar en gran medida debido a los mecanismos del sistema inmune de las células y muchos virus incluyen mecanismos para luchar contra estos sistemas. En este proceso se producen varias partículas virales a partir de cada célula, hasta cientos de miles de partículas virales por célula, cada una capaz de infectar otra célula y repetir el proceso, por lo que en un ambiente con suficientes células susceptibles de ser infectadas, como un cultivo celular en un laboratorio, o un tejido, sea animal o vegetal, el número de partículas virales crecerá rápidamente de manera exponencial, así, debido a la gran concentración que alcanzan estas partículas virales, se dispersan de manera pasiva debido a la mera entropía.

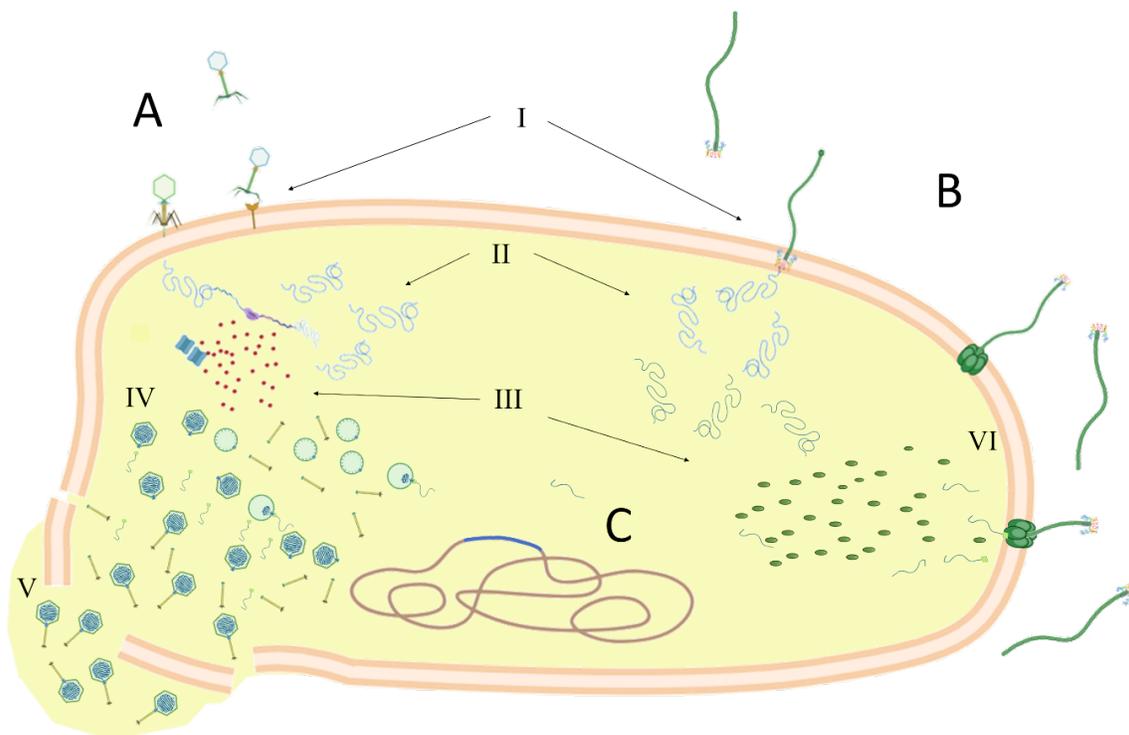


Figura 1. Esquema de los principales ciclos de vida de los bacteriófagos. Tanto el ciclo lítico (A) como el lisogénico (B) comienzan con la interacción entre el mecanismo que el fago tiene para reconocer un elemento exterior de la bacteria (I) para después inyectar su material genético en el interior de la célula donde comienza a replicarlo (II) y expresar sus genes (III). En el ciclo lítico se comienzan a ensamblar las cápsidas de los bacteriófagos en el citoplasma, seguido de una etapa de maduración, donde se introduce el material genético del virus en las cápsidas y se ensamblan con otros elementos del fago, como la cola (IV), para finalmente romper la membrana y liberar los nuevos bacteriófagos (V). En el ciclo de replicación de los bacteriófagos filamentosos, una vez que se han producido los componentes del bacteriófago en cantidad suficiente, se forman poros en la membrana celular, ahí se ensambla el bacteriófago a medida que el material genético es envuelto por las proteínas de la cápside y se libera al exterior (VI). Además, el material genético del bacteriófago se puede integrar al genoma de la bacteria y permanecer como profago hasta que una señal del exterior active el ciclo lítico o lisogénico (C).

La pregunta que surge entonces es: ¿cómo tomamos ventaja de los virus en el control biológico? Muchas de las enfermedades de humanos, animales y plantas son causadas por el crecimiento descontrolado de bacterias en el interior o sobre el organismo. Por la gran cantidad y diversidad de virus en el ambiente, se considera que para cada cepa bacteriana existe, al menos, un virus capaz de infectarlo, por lo que podrían aislarse y propagarse para aplicarlos de forma combinada o sustitutiva de las estrategias de control convencionales.

Los fagos y sus aplicaciones

Los virus que infectan a las bacterias se conocen con el nombre de bacteriófagos, fueron descubiertos en 1917 cuando Felix Hubert d'Herelle se encontró con halos de inhibición en las placas con cultivos asociados a disentería mientras buscaba una vacuna para esta enfermedad. Si bien esta no fue la primera vez que se reportó un hallazgo similar, dos años antes Frederick Twort los había reportado, fue D'Herelle



quien se dio cuenta que estaba ante un tipo de parásito intracelular obligado y les dio el nombre de bacteriófagos. Con el surgimiento de cepas con múltiples resistencias a antibióticos los fagos han cobrado cada vez más relevancia para su uso como terapia.

La fagoterapia se aprovecha de que durante el ciclo de reproducción de la mayoría de los fagos, estos destruyen las células de las bacterias hospederas, que en última instancia puede detener el crecimiento y avance de las infecciones. Los fagos, como virus que son, comienzan la infección de la bacteria hospedera con el reconocimiento de algún elemento ubicado de forma externa en su morfología, como algunos flagelos u otros receptores. La efectividad de la infección de los fagos recae en la presencia de estos receptores y en la afinidad entre los receptores de la bacteria y el mecanismo de reconocimiento del fago, así los microorganismos que un dado fago puede infectar están restringidos a un grupo de bacterias, que puede ir desde unas cuantas cepas de una especie hasta algunas especies relacionadas. Aunque cuando se desconoce la naturaleza del patógeno causante de una enfermedad puede ser una desventaja, las ventajas de esta especificidad supera con creces debido a los estragos en el nivel microecológico y macroecológico que el uso de agentes de amplio espectro puede causar. Por un lado, la aplicación de antibióticos causa severas perturbaciones en la microbiota en los microambientes, como puede ser el caso de la microbiota enterogástrica o de cualquier otra parte del cuerpo de los animales, humanos incluidos, o la microbiota endófitas, epífita o de la rizósfera de las plantas, alterando con ello las relaciones complejas que son parte fundamental del desarrollo de todos los organismos. Además, la liberación masiva de estos compuestos en áreas como la producción pecuaria, agrícola o acuícola, así como su uso inapropiado en el área de la salud ha propiciado la aparición de cepas multirresistentes que son cada vez más un problema económico, mermando la producción del sector primario y de salud con la aparición de infecciones cada vez más difíciles de controlar (Gordillo Altamirano & Barr, 2019).

Una gran ventaja de los fagos es que tienen una plasticidad que los antibióticos y otras estrategias de control carecen, ya que al tener una alta tasa de replicación las mutaciones se acumulan rápidamente, lo que puede modificar su estructura y comportamiento. Además, durante su ciclo de replicación muchos fagos integran su material genético con el de la bacteria que están infectando. Al replicar el ADN viral no es raro que se integren regiones del ADN de la célula junto con el del fago y en consecuencia la descendencia de estos fagos se comportará de manera diferente a su progenie. Esta variabilidad implica que, a pesar de que una cepa pueda generar resistencia contra un tipo de fagos, esta resistencia pueda ser también rápidamente superada por un fago modificado, esto a su vez genera una nueva presión de selección sobre las bacterias, generando una especie de “carrera armamentista” que se traduce en una constante coevolución que se puede aprovechar para tener una mejora constante de las fagoterapias (Stone *et al.*, 2019).



Este proceso de evolución también puede dirigirse para obtener fagos con las características deseadas, pueden ser modificaciones de las características como rangos de hospederos más amplios, mejor resistencia a condiciones del medio o, por ejemplo, mayor especificidad en ciertas condiciones, pero también pueden introducirse características nuevas modificando su genoma mediante técnicas de ingeniería genética. Las aplicaciones de añadir elementos extraños a los fagos se discutirán más adelante. Para generar un proceso de evolución dirigida se puede utilizar un enfoque de selección en el que los fagos se expongan a un agente mutagénico, químico o físico, para luego someter los fagos en un sistema de selección que ayude a distinguir aquellos fagos que hayan adquirido las características deseadas. Algunos enfoques alternativos pueden ser la aplicación de un agente mutágeno no sobre el fago, sino directamente sobre el genoma introducido en algún sistema, como una levadura, donde el genoma viral del fago se mantiene como un plásmido, pero no se ensamblan las partículas del fago ni se produce una infección en el hospedero. También se puede tomar ventaja de la capacidad de los fagos para mutar e introducir en su genoma elementos genéticos del ambiente, incluyendo material genético de otros fagos que estén infectando las mismas bacterias, ya que se han logrado generar cepas con características nuevas aplicando sólo un factor, como la radiación UV durante ciclos de propagación y exposición hasta obtener fagos más resistentes. También se logró incrementar el rango de hospederos de un par de fagos que se usaron para coinfectar algunas cepas resistentes hasta obtener una línea capaz de infectar a todas las cepas usadas en el estudio (Burrowes *et al.*, 2019; Tom *et al.*, 2018).

La formación de biopelícula es una de las estrategias de las bacterias para evitar el efecto de los antibióticos, antimicrobianos e incluso los efectos del sistema inmune y el ataque de los fagos, pero también podemos explotar herramientas basadas en fagoterapia para manejarlas. Algunos bacteriófagos producen e incluyen en su estructura algunas enzimas que les permiten penetrar en las biopelículas de manera que, dependiendo del tipo de fagos usados en la fagoterapia, pueden mantener su efectividad aun si existe presencia de biopelícula. Incluso si los fagos logran propagarse dentro de una biopelícula, esta matriz puede fungir como depósito de bacteriófagos potenciando la eficacia de la infección. Las enzimas que les permiten a los fagos penetrar en la biopelícula son principalmente lisinas y depolimerasas. Estos dos tipos de enzimas pueden usarse como antimicrobianos aislados. Las lisinas degradan el peptidoglicano de la pared celular en las bacterias Gram negativas que pueden tener diferentes grados de especificidad. Las depolimerasas, por su parte, degradan los polímeros extracelulares, lo cual ayuda a los fagos a llegar a su sitio de reconocimiento. Además, al degradar la estructura de las biopelículas, las lisinas y depolimerasas pueden interferir en la comunicación celular (Quorum Sensing) disparando diferentes mecanismos de virulencia y resistencia a antibióticos y



fagos. Por otro lado, al degradar la estructura de las biopelículas pueden aumentar la sensibilidad de las bacterias a los antibióticos. Esto hace factible la aplicación de la fagoterapia o de productos derivado de fagos en combinación con otras estrategias de control obteniendo resultados con sinergias positivas (Ferriol-González & Domingo-Calap, 2020).

Antes de centrar la atención en las aplicaciones de los fagos en la agricultura, nos gustaría mencionar las aplicaciones de los fagos en ámbitos como la investigación y aplicaciones ambientales. La importancia de los fagos va más allá de su aplicación en el control de las bacterias. Por ejemplo, se obtuvo la evidencia necesaria para solucionar el debate sobre la naturaleza del material genético (proteínas versus ácidos nucleicos) y se ha explorado el potencial de los fagos para la producción de algunos péptidos, los cuales se expresan unidos a las proteínas de la cápside, estos péptidos pueden tener múltiples aplicaciones. Modificando su genoma, los bacteriófagos pueden ser aprovechados como vectores de transformación o como acarreadores de fármacos al encapsular dentro de la estructura de las cápsides los fármacos que luego son liberados de manera específica.

El uso de fagos en la agricultura

Para el control de las enfermedades causadas por bacterias en la agricultura se aplican sobre los cultivos tratamientos a base de antibióticos y sales minerales, de los cuales una buena parte de los principios activos pueden terminar en los cuerpos de agua y otros ambientes, lo que ha contribuido a la aparición de cepas resistentes, tanto de las especies fitopatógenas como de otros microorganismos ambientales e incluso a especies de importancia clínica. Por eso, el uso de alternativas a los antimicrobianos tradicionales en la agricultura es muy relevante. La fagoterapia y sus derivados son, por lo tanto, una de las alternativas obvias que surgen para el control de enfermedades de plantas de origen bacteriano.

En el ámbito de la agricultura, la fagoterapia enfrenta sus propias problemáticas que se deben solucionar para lograr aplicaciones exitosas a escalas prácticas en el campo. La primera que es necesario mencionar es que la exposición a la radiación UV disminuye rápidamente la viabilidad de los fagos, por lo que al aplicarse en campo, donde una parte de la radiación de la luz del sol está en las frecuencias de la radiación UV, es un problema especialmente cuando las bacterias fitopatógenas afectan a la planta en las hojas, ya que al aplicar algún producto basado en bacteriófagos este podría perder rápidamente su efectividad si no se toman las medidas adecuadas para evitarlo. Algunas de estas medidas pueden ser culturales, como realizar la aplicación al atardecer o por la noche para evitar el impacto de las horas de mayor radiación antes de que puedan interactuar los fagos con sus bacterias. Además, se pueden formular los fagos para protegerlos de la radiación. Se han estudiado productos orgánicos para este



fin, como la leche desnatada, almidón o sacarosa. Más adelante se abordará con más detalle el caso de otra opción con una formulación novedosa a base de nanopartículas (Fernández *et al.*, 2018). Otro factor que afecta la infectividad de los bacteriófagos en la agricultura son las características fisicoquímicas del suelo como el pH, la actividad de agua y la composición. La variación de estas características del suelo puede afectar la sobrevivencia y permanencia de los fagos en el suelo, desde donde pueden ser transportados hasta las hojas por insectos vectores o por factores ambientales como el aire, el agua o por movimientos mecánicos (Buttimer *et al.*, 2017).

Existen ciertas preocupaciones acerca de las consecuencias que podría tener la liberación masiva de bacteriófagos al ambiente, especialmente la posibilidad de que se repita la historia de los antibióticos y comiencen a aparecer cepas multi fago-resistentes, ya que se ha reportado que la presión de selección, especialmente en modelos animales, puede favorecer la expresión de mecanismos de antivirales, como el sistema CRISPR-Cas o la aparición de mutaciones de novo que modifiquen cualquiera de los pasos del ciclo de los fagos. Estas mutaciones requieren de un proceso de adaptación, ya que se ha observado que la aparición de mutaciones que le confieren resistencia contra los fagos a las bacterias afecta negativamente el desarrollo de las bacterias y su patogenicidad. Por otro lado, una estrategia que ha demostrado ser eficiente y sencilla para disminuir considerablemente la aparición de tales cepas resistentes en la aplicación de cocteles que incluyan fagos con diferentes espectros de hospederos y mecanismos de acción.

Como se mencionó anteriormente, una de las grandes virtudes de la fagoterapia es su gran flexibilidad ya que los fagos están en evolución constante a la par de los demás microorganismos, incluidos los fitopatógenos; sin embargo, para aprovechar esta característica es necesario actualizar constantemente las formulaciones de los productos basados en fagos, probablemente sustituyendo los fagos presentes en la formulación, lo cual requiere un nuevo registro de producto, con todos los esfuerzos de investigación, administrativos, legales y económicos que eso implica.

El uso de fagos en el control de la mancha bacteriana del chile

La mancha bacteriana es una enfermedad causada por cuatro patovares de tres especies diferentes de *Xanthomonas* spp. que afectan a algunas solanáceas, las de mayor importancia económica son el chile (*Capsicum a.*) y el jitomate (*Solanum lycopersicum*). Los signos más visibles de esta enfermedad en el chile son puntos o manchas cloróticas en las hojas, tallos y frutos. Después de unos días, estas manchas cloróticas comienzan a necrosar el tejido, primero en el centro de la mancha y después comienza a extenderse hasta marchitar y defoliar la planta. Esta enfermedad merma la productividad de los cultivos (Figura 2), causando cuantiosas pérdidas a los productores de Chile cada año (López-Vielma *et al.*, 2016).



Figura 2. Síntomas de la mancha bacteriana en el cultivo del chile (tomado de Ibarra, 2019)

El manejo de esta enfermedad se realiza normalmente con productos a base de cobre y algunos antibióticos como la estreptomicina. Sin embargo, se han identificado varios plásmidos en cepas de *Xanthomonas* que codifican genes de resistencia al cobre y cepas resistentes a los antibióticos. Como resultado se ha vuelto cada vez más complicado lograr tratamientos efectivos contra esta enfermedad (Carrillo Fasio *et al.*, 2001). Otras opciones para el manejo de la mancha bacteriana son culturales, como la rotación de cultivos, el uso de semillas y plántulas certificadas libres de patógenos o el manejo apropiado del riego y otros manejos. Se han explorado también opciones de control biológico mediante el uso de microorganismos antagonistas o la aplicación de productos como derivados como la quitina (Marin *et al.*, 2019). Actualmente en EUA existe un producto basado en fagos formulados para el control de varias especies de *Xanthomonas* patógenas en varios cultivos [<https://www.agriphage.com/>].

La mancha bacteriana es una enfermedad que causa grandes pérdidas a los productores en todas las regiones productoras de chile en México. En 2016 en el laboratorio de fitopatología del CIATEJ se iniciaron esfuerzos para buscar soluciones a esta problemática. Se aislaron cepas de *Xanthomonas* de 10 sitios donde se cultiva el chile que tuvieron presencia de la mancha bacteriana. Además, en un sitio de colecta en el municipio de Yurécuaro, Michoacán, se identificaron dos bacteriófagos con características prometedoras, ya que lograron formar placas líticas en



todas las cepas evaluadas, con morfologías bien diferenciadas e iguales en todas las cepas. Estos fagos fueron denominados como Φ XaF13 y Φ XaF18 (Figura 3, López-Vielma *et al.*, 2016).

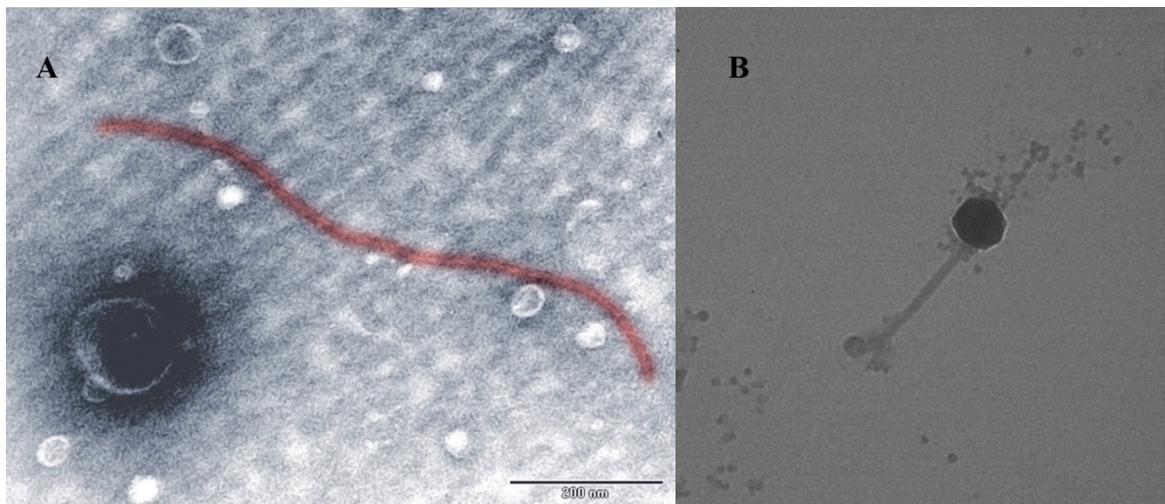


Figura 3. Micrografía de los bacteriófagos Φ XaF13 (A) y Φ XaF18 (B). Se observa que mientras que el fago Φ XaF18 tiene una estructura típica con cápside icosaédrica y una cola, el fago Φ XaF13 tiene una estructura filamentososa.

La principal limitante para aplicar bacteriófagos para el control de la mancha bacteriana y otras enfermedades de origen bacteriano en la agricultura es, como se mencionó anteriormente, la radiación UV, se comenzó a evaluar diversas formulaciones que pudieran proteger a los fagos de los efectos de la radiación UV, considerando dos opciones: una basada en extractos vegetales y otras basadas en nano partículas de zinc. Los extractos de romero (*Rosmarinus officinalis*) y chicalote (*Argemone mexicana*) tuvieron efecto protector contra la radiación UV en el fago Φ XaF13 permitiendo que la concentración de bacteriófagos en la solución con extracto se mantuviera por encima de la concentración sin extractos después de 90 min de exposición a la luz UV, ya que este fago mostró por sí mismo una resistencia alta a la radiación UV, mayor que la mayoría de los fagos. Aunque, por otro lado, otros extractos como los de tomillo (*Thymus vulgaris*), orégano mexicano (*Lippia graveolens*) y mejorana (*Oreganum majorana*) afectaron de manera negativa la viabilidad de los fagos en períodos de tiempo relativamente cortos (Avalos Salgado, 2019).

Por su parte, en el caso del fago Φ XaF18, el cual es más susceptible a la radiación UV, se evaluaron diferentes formulaciones con nano partículas de zinc, de las cuales la mayoría no afectaron negativamente la concentración de fagos en periodos prolongados y además protegieron efectivamente a los fagos de la radiación UV. Se logró mantener el título prácticamente sin alteración después de una hora de exposición, mejorando el desempeño de la una formulación de leche descremada y sacarosa que se utiliza comúnmente a nivel experimental para este fin. La formulación con el mejor desempeño en protección contra la radiación UV se evaluó posteriormente para el



control de la enfermedad de la mancha bacteriana a nivel de invernadero y de campo. En ambas pruebas la formulación del bacteriófago con las nanopartículas de zinc logró superar con diferencias estadísticamente significativas a los tratamientos donde se aplicó el fago formulado con leche descremada y sacarosa, el fago sin formular y el tratamiento con antibiótico como lo recomienda el productor (Ibarra Rivera, 2019). Con este resultado se logró formular un producto que incluye un coctel con ambos fagos y la formulación a base de nanopartículas de zinc, el cual está en proceso de transferencia para lograr en un futuro próximo colocar en el mercado mexicano el primer producto para el control biológico de enfermedades bacterianas de plantas a base de bacteriófagos.

El proceso no termina ahí, ya que al empezar a liberarse sistemática y masivamente en el agroecosistema, puede perder efectividad tras unos años, por lo que es necesario innovar constantemente. Si bien podría ser suficiente un enfoque basado en la prospección constante de fagos que mantengan infectividad contra las cepas de mayor impacto, existe otro enfoque posible. Se conoce el genoma de los dos fagos tanto el Φ XaF13 (Solís-Sánchez *et al.*, 2020) como el Φ XaF18 (Ríos-Sandoval *et al.*, 2020). El primero se destaca por su simplicidad, ya que es un genoma de tan sólo alrededor de 7 000 bases, en las cuales están codificadas todas sus características de infectividad, espectro de hospederos y resistencia a la radiación UV.

Por lo tanto, la aplicación de un enfoque basado en el mejoramiento mediante mutaciones aleatorias y selección nos ofrece, por un lado, la oportunidad no sólo de mantener la efectividad del coctel, por el otro, también se busca aumentar la resistencia del fago a la radiación UV con la intención de lograr una formulación que alcance la misma eficacia en campo para el control de la mancha bacteriana sin requerir de un agente protector. Además, mediante el análisis de los genomas de las líneas de fagos que resulten ser más resistentes y mediante la comparación con el genoma silvestre o incluso de otros fagos susceptibles de identificar aquellos elementos que estén involucrados en esta resistencia y que podrían servir para otras aplicaciones, como formulaciones protectoras orgánicas a base de estas proteínas u otros elementos del fago, que pudieran ser aprovechadas en aplicaciones de control biológico con fagos u otros microorganismos que no esten relacionados con la mancha bacteriana del Chile, o incluso podrían tener aplicaciones en otras áreas fuera de la fitopatología como la industria cosmética o alimenticia (Juárez García, 2022).

Conclusiones

Dado que las técnicas tradicionales para el control de plagas y enfermedades de plantas, además de perder eficacia por la aparición de patógenos resistentes pueden también causar otros problemas ecológicos e incluso de salud, el control biológico parece más una necesidad que una alternativa. En el caso de las enfermedades bac-



terianas por la aparición de bacterias multirresistentes, el control biológico no sólo es necesario en las enfermedades de plantas, también es necesario aplicarlo para enfermedades que afectan animales y seres humanos; para ello la herramienta más prometedora son los bacteriófagos. Una característica del control biológico, que es a la vez una de sus mayores virtudes y de sus mayores retos, es la especificidad, una solución para un problema, por lo que es necesario hacer muchos esfuerzos para generar estas soluciones y que estén en un proceso de mejora continua. Este es el caso de los esfuerzos que se vienen realizando para el control de la mancha bacteriana del chile, pero también para otras muchas problemáticas.

Referencias

- Agrios, G. N. (1995). *Fitopatología* (Vol. 1). Limusa
- Avalos Salgado, F. A. (2019). *Desarrollo de una formulación protectora a base de extractos vegetales para la aplicación de bacteriófagos en el control biológico de Xanthomonas axonopodis pv. vesicatoria* [tesis de maestría]. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco.
- Barrera, J. F. (2021). Concepto, alcances e implicaciones del control biológico. En H. C. Arredondo Bernal, F. Tamayo Mejía, & L. Á. Rodríguez del Bosque (Eds.), *Fundamento y práctica del Control Biológico de plagas y enfermedades* 1ª ed., Vol. 1 (pp. 15–39). bba.
- Burrowes, B., Molineux, I., & Fralick, J. (2019). Directed *in Vitro* Evolution of Therapeutic Bacteriophages: The Appelmans Protocol. *Viruses*, 11(3), 241. <https://doi.org/10.3390/v11030241>
- Buttimer, C., McAuliffe, O., Ross, R. P., Hill, C., O'Mahony, J., & Coffey, A. (2017). Bacteriophages and Bacterial Plant Diseases. *Frontiers in Microbiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00034>
- Carrillo Fasio, J. A., García Estrada, R. S., Allende Molar, R., Márquez Zequera, I., Millán Ocampo, S., & Gaxiola Espinoza, G. (2001). Sensibilidad a Cobre de Cepas de *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Doidge) Dye, en Sinaloa, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 19, 72–77. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61219110>
- Fernández, L., Gutiérrez, D., Rodríguez, A., & García, P. (2018). Application of Bacteriophages in the Agro-Food Sector: A Long Way Toward Approval. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00296>
- Ferriol-González, C., & Domingo-Calap, P. (2020). Phages for Biofilm Removal. *Antibiotics*, 9(5), 268. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9050268>
- Gordillo Altamirano, F. L., & Barr, J. J. (2019). Phage Therapy in the Postantibiotic Era. *Clinical Microbiology Reviews*, 32(2). <https://doi.org/10.1128/CMR.00066-18>

- Ibarra Rivera, G. (2019). *Control biológico de la mancha bacteriana (Xanthomonas axonopodis pv. Vesicatoria) en el cultivo de chile mediante bacteriófagos formulados* [tesis de Maestría]. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco.
- Juárez García, M. F. (2022). *Genes involucrados en la resistencia a la luz u.v. en bacteriófago Φxaf13* [tesis de Maestría]. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco.
- López-Vielma, C., Solís, A., Quiñones Aguilar, E. E., Qui, J., & Rincon-Enriquez, G. (2016). Aislamiento del agente causal de la mancha bacteriana de chile en las regiones productoras de Jalisco, Zacatecas y Michoacán. *Biotecnología y sustentabilidad*, 1(1), 141-143. https://www.researchgate.net/publication/311102822_Aislamiento_del_agente_causal_de_la_mancha_bacteriana_de_chile_en_las_regiones_productoras_de_Jalisco_Zacatecas_y_Michoacan
- Marin, V. R., Ferrarezi, J. H., Vieira, G., & Sass, D. C. (2019). Recent advances in the biocontrol of *Xanthomonas* spp. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 35(5), 72. <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2646-5>
- Ríos-Sandoval, M., Quiñones-Aguilar, E. E., Solís-Sánchez, G. A., Enríquez-Vara, J. N., & Rincón-Enríquez, G. (2020). Complete Genome Sequence of *Xanthomonas vesicatoria* Bacteriophage ΦXaF18, a Contribution to the Biocontrol of Bacterial Spot of Pepper in Mexico. *Microbiology Resource Announcements*, 9(16). <https://doi.org/10.1128/MRA.00213-20>
- Solís-Sánchez, G. A., Quiñones-Aguilar, E. E., Fraire-Velázquez, S., Vega-Arreguín, J., & Rincón-Enríquez, G. (2020). Complete Genome Sequence of XaF13, a Novel Bacteriophage of *Xanthomonas vesicatoria* from Mexico. *Microbiology Resource Announcements*, 9(5). <https://doi.org/10.1128/MRA.01371-19>
- Stone, E., Campbell, K., Grant, I., & McAuliffe, O. (2019). Understanding and Exploiting Phage-Host Interactions. *Viruses*, 11(6), 567. <https://doi.org/10.3390/v11060567>
- Tom, E. F., Molineux, I. J., Paff, M. L., & Bull, J. J. (2018). Experimental evolution of UV resistance in a phage. *PeerJ*, 6, e5190. <https://doi.org/10.7717/peerj.5190>