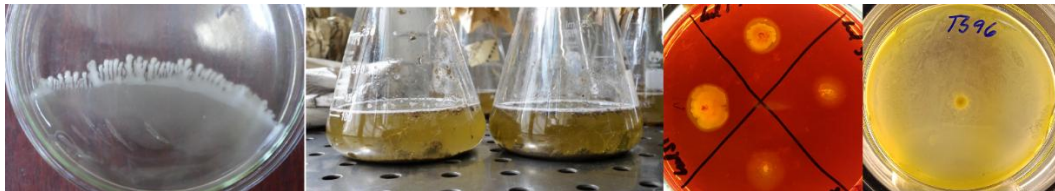


# **Caracterización bioquímica y microbiológica de aislados bacterianos con actividad antagonista de hongos**

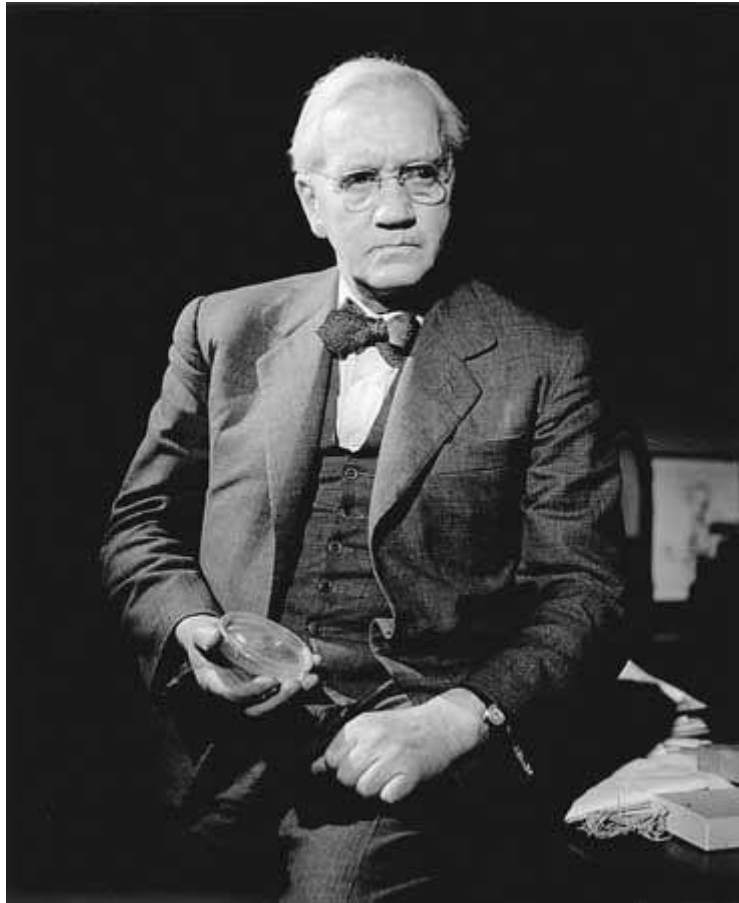


## **Trabajo de Diploma en opción al título de Ingeniero Agrónomo**

**Autora:** María de Jesús Díaz Carballo

**Tutor:** MSc. Yunel Pérez Hernández

**Diciembre, 2023**



*No son los vestíbulos de mármol los que  
proporcionan la grandeza intelectual,  
sino el alma y el cerebro de un  
investigador.*

*Alexander Fleming  
Médico (1881-1955)*

## **Declaración de Autoridad**

Declaro que yo, **María de Jesús Díaz Carballo**, soy la única autora de este Trabajo de Diploma, en calidad de lo cual autorizo a la Universidad de Matanzas a hacer uso del mismo con la finalidad que estime pertinente.

---

Firma

## **DEDICATORIA**

A mi abuela paterna Gladys María (EPD), por enseñarme desde pequeña la necesidad del estudio y la preparación para mi futuro como profesional.

A toda mi familia, en especial a mis padres y a mi tía Mayi, quienes me apoyaron y ayudaron siempre.

A la Universidad de Matanzas.

## **AGRADECIMIENTOS**

Primeramente, a todos los que hicieron posible que pudiera culminar mis estudios universitarios y realizar la defensa de mi trabajo de diploma.

A todos los profesores de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la UM, quienes participaron en mi formación académica.

A mi tutor MSc. Yunel Pérez Hernández, por su dedicación y asesoramiento.

A mi profesora MSc. Caridad Díaz Boffil, por ser tan especial, apoyarme siempre y encaminarme en la vida laboral en la Facultad de Agronomía.

A mis profesores Dr. C. Yohanka Lezcano Más y Dr. C. Ramón Liriano González, por su apoyo y la preparación que recibí de ellos.

A mis compañeros de curso, en especial a Grettel Sureda Ramírez y Roxana Díaz Amaro.

A unas de mis mejores amigas Lorena Acosta Pérez, por su apoyo y ayuda constante.

A mi familia y en especial a mis padres y a mi tía Mayi, por estar siempre presente y apoyarme en cada decisión.

A mis abuelos maternos (EPD), aunque ya no están físicamente siempre desearon lo mejor para mí, y sé que desde algún lugar se sienten orgullosos de quien soy.

A todas las personas que estuvieron presentes y me apoyaron siempre, les doy mil GRACIAS...

## **OPINIÓN DEL TUTOR**

La estudiante María de Jesús Díaz Carballo, quien hoy defiende el trabajo de Diploma titulado: Caracterización bioquímica y microbiológica de aislados bacterianos con actividad antagonista a hongos, ha demostrado durante esta etapa responsabilidad, disciplina y dedicación en las diferentes etapas de la investigación, lo que permitió la culminación de las tareas científicas planificadas de manera exitosa.

El trabajo presentado por la aspirante tiene una gran vigencia en el sector agrícola, ya que la situación actual de la agricultura en nuestro país demanda diferentes estrategias urgentes para elevar los rendimientos agrícolas, y al mismo tiempo preservar los ecosistemas y los recursos naturales para las próximas generaciones. En este contexto, el uso de Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal con capacidad de controlar hongos fitopatógenos, es uno de los enfoques promisorios para enfrentar el ataque de las plagas que comúnmente aparecen en los trópicos y disminuyen notablemente el rendimiento de los cultivos. Por otra parte, el desarrollo de productos naturales de bajo impacto ambiental puede contribuir no solo a la sustitución de importaciones, sino también a reducir el uso de plaguicidas químicos que contaminan los agroecosistemas y representan un peligro potencial para la salud del hombre. Como resultado del esfuerzo y la dedicación de la aspirante, el presente trabajo fue premiado en el reciente evento provincial de AZCUBA, lo que avala al calidad e importancia del mismo.

Como tutor estoy satisfecho por el desempeño de la estudiante y acepto con responsabilidad los aciertos y desaciertos del trabajo.

Tutor:

---

MSc. Yunel Pérez Hernández

## RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar las propiedades antagonistas y promotoras del crecimiento vegetal de aislados rizosféricos de *Bacillus* spp. Se determinó la producción de ácido 3-indolacético, amonio y la capacidad de solubilizar fosfato tricálcico por los aislados seleccionados: Cul51, TS96, CN65 y TCab6 provenientes de la rizosfera del frijol. Para evaluar las propiedades antagonistas de los aislados se realizaron ensayos para la determinar la producción de las enzimas hidrolíticas quitinasas y/o  $\beta$ -1,3-glucanasas, proteasas y celulasas, así como la síntesis de cianuro de hidrógeno. Se realizó un enfrentamiento dual entre los aislados bacterianos y los hongos *Aspergillus niger* y *Fusarium* sp. en condiciones *in vitro*, y se determinó el porcentaje de inhibición de los aislados frente a cada hongo. Todos los aislados produjeron amonio en cantidades moderadas. De manera similar, todos sintetizaron ácido 3-indolacético en un rango entre 5,5 y 9,3  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ; mientras que TCab6 mostró el índice de potencia más elevado para la solubilización de fosfato tricálcico, lo que evidenció potencialidades como biofertilizante. Los aislados Cul51 y TS96 produjeron cantidades abundantes de las enzimas quitinasas y/o 1,3- $\beta$ -glucanasas y proteasas. No se detectó la producción de cianuro de hidrógeno por ninguno de los aislados. Los mayores porcentajes de inhibición del crecimiento fungoso se obtuvieron con Cul51 y TS96 frente a *Aspergillus niger* y *Fusarium* sp., con valores que superan el 90% en el caso de *A. niger* y superiores al 80% frente a *Fusarium* sp. Los resultados demostraron las potencialidades de los aislados Cul51 y TS96 para el control de hongos fitopatógenos y la promoción del crecimiento vegetal para el cultivo del frijol.

## ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
1.1. Problema e hipótesis científica.....	2
1.2. Objetivo general.....	2
1.3. Objetivos específicos.....	2
<b>2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b> .....	3
2.1. Importancia de la agricultura sostenible en el contexto actual .....	3
2.2. Importancia de la rizosfera y el rizobioma para el crecimiento y la salud de las plantas .....	3
2.3. Impacto de los hongos fitopatógenos y su control.....	5
2.4. Funciones de las RPCV como biocontroladores, bioestimuladores y biofertilizantes.....	6
2.4.1. Mecanismos de las RPCV como bioestimuladores del crecimiento vegetal.....	8
2.4.1.1. Producción de fitohormonas.....	8
2.4.1.2. Fijación biológica del nitrógeno.....	9
2.4.2. Mecanismos de las RPCV con función biofertilizante.....	11
2.4.2.1. Solubilización de fosfatos insolubles.....	11
2.4.2.2. Producción de sideróforos.....	11
2.4.3. Mecanismos de las RPCV como agentes de control biológico.....	12
2.3.3.1. Colonización de las raíces por las RPCV.....	13
2.3.3.2. Actividad antagonista de las RPCV.....	14
2.3.3.2.1. Enzimas líticas.....	14
2.3.3.2.2. Bacteriosinas y metabolitos no ribosomales.....	15
2.3.3.2.3. Compuestos Orgánicos Volátiles (COV).....	15
2.3.3.2.4. Sideróforos.....	16
2.3.3.3. Resistencia Sistémica Inducida (RSI) y Resistencia Sistémica Adquirida (RSA).....	16
2.4. Potencialidades del género <i>Bacillus</i> en el control de hongos fitopatógenos.....	18
2.5. Retos en el uso de RPCV como agentes controladores biológicos (ACB).....	20
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	23
3.1. Ensayos bioquímicos .....	23
3.1.1. Determinación cuantitativa de ácido 3-indolacético (AIA).....	23
3.1.2. Solubilización de fosfatos inorgánicos.....	24
3.1.3. Producción de amonio.....	24
3.1.4. Producción de quitinasas y/o $\beta$ -1,3-glucanasas.....	25
3.1.5. Producción de proteasas.....	25
3.1.6. Producción de celulasas.....	25
3.1.7. Producción de cianuro de hidrógeno (HCN).....	25
3.2. Enfrentamiento dual entre aislados bacterianos y hongos fitopatógenos.....	26
3.3. Procesamiento estadístico.....	26
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	28



4.1. Producción de ácido 3-indolacético (AIA).....	28
4.2. Producción de amonio y solubilización de fosfatos inorgánicos.....	29
4.3. Producción de metabolitos con propiedades antagonistas de hongos fitopatógenos.	31
4.4. Actividad antagonista de los aislados rizosféricos frente a hongos fitopatógenos.....	32
4.5. Valoración económica.....	38
<b>5. CONCLUSIONES.....</b>	<b>41</b>
<b>6. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>42</b>
<b>7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>43</b>

## I. INTRODUCCIÓN

La infestación de los cultivos por organismos fitopatógenos constituye uno de los problemas fundamentales que enfrenta la actividad agrícola en Cuba y en el mundo, y representa un factor de riesgo que amenaza la seguridad alimentaria del planeta (El-Saadony *et al.*, 2022). Los hongos y bacterias fitopatógenas provocan numerosas enfermedades que conducen a la pérdida del 20 - 40 % de las cosechas y postcosechas (Farías *et al.*, 2023).

Existen numerosos factores que propician las infestaciones de los cultivos por los organismos fitopatógenos como son: la dispersión por el viento, el agua y a través de las maquinarias de laboreo, los cambios drásticos en el clima y el cultivo intensivo de monocultivos genéticamente uniformes (Ali *et al.*, 2020). Estos organismos nocivos constituyen una parte integral de los principales agroecosistemas y se encuentran en constante coevolución con las plantas hospederas. Otra situación compleja es que adquieren con el tiempo una mayor resiliencia debido al cambio climático, lo que dificulta su control y manejo integral (Savary *et al.*, 2019).

Las prácticas clásicas de manejo de plagas incluyen el uso de cultivos de mayor resistencia y pesticidas químicos. Esta estrategia, aunque parcialmente efectiva, provoca la contaminación y la degradación de los agroecosistemas y constituyen un riesgo para la salud del hombre (Farías *et al.*, 2023).

El uso de agentes microbianos de control biológico (AMCB) constituye una estrategia eficiente y amigable al medio ambiente para el manejo de las enfermedades en las plantas. Entre los grupos más importantes de AMCB están las Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (RPCV). Estos microorganismos poseen numerosos mecanismos que permiten su acción como estimuladores del crecimiento, biofertilizantes y/o biocontroladores (El-Saadony *et al.*, 2022). Debido a estas propiedades, el uso de las RPCV se considera un enfoque viable y económicamente atractivo para el desarrollo de programas basados en la agricultura sostenible (Heyi *et al.*, 2022).

El uso de productos naturales basados en microorganismos benéficos tiene ventajas en comparación con los sintéticos, ya que las moléculas de origen biológico se degradan fácilmente y la acción de los AMCB es más transitoria y

localizada hacia la rizosfera. Por otra parte, el uso de microorganismos con actividad antagonista garantiza una eficacia elevada y un ambiente saludable; lo que permite, en general, un mayor rendimiento y sanidad de los cultivos (Ali *et al.*, 2020).

Uno de los géneros más promisorios para el desarrollo de productos a base de RPCV es *Bacillus*, ya que estos desarrollan un crecimiento rápido en medios de cultivos y producen endosporas resistentes a diversas condiciones desfavorables, que facilitan el diseño de productos estables. Además, muchas especies tienen la capacidad de estimular el crecimiento vegetal a través de la síntesis de fitohormonas y la solubilización fosfatos y otros minerales (Posada *et al.*, 2021).

A partir de lo expuesto anteriormente se planteó como **problema científico** el siguiente: el desarrollo reducido en el sector agrícola de productos naturales a base de microorganismos biocontroladores de hongos fitopatógenos en el frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), limita el manejo de plagas fungosas que tienen un impacto en el rendimiento de este cultivo y en los indicadores económicos.

**Hipótesis científica:** la determinación de las propiedades antagonistas y promotoras del crecimiento vegetal de aislados rizosféricos de *Bacillus* spp., contribuirá al desarrollo de un nuevo producto para el biocontrol de hongos fitopatógenos en el cultivo del frijol, que potencie el crecimiento de esta planta.

Para corroborar la hipótesis anterior se planteó como **objetivo general:** evaluar las propiedades antagonistas y promotoras del crecimiento vegetal de aislados rizosféricos de *Bacillus* spp.

**Objetivos específicos:**

- Determinar las propiedades bioestimuladoras del crecimiento vegetal de aislados bacterianos a partir de la producción de ácido 3-indolacético, amonio y la capacidad de solubilizar de fosfatos.
- Determinar la producción de enzimas hidrolíticas y cianuro de hidrógeno por aislados bacterianos.
- Evaluar la actividad antagonista *in vitro* de aislados bacterianos frente a hongos fitopatógenos mediante el enfrentamiento dual.

## **II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1. Importancia de la agricultura sostenible en el contexto actual**

La explosión demográfica posterior a la Segunda Guerra Mundial en el siglo XX, elevó considerablemente la demanda de alimentos a nivel mundial. La producción industrial y en grandes cantidades de productos agroquímicos que estimulan el crecimiento de las plantas, elevó de manera notable los rendimientos agrícolas y constituyó una vía prometedora para solucionar los problemas del hambre en el mundo.

Este marcado ascenso del desarrollo agrícola mundial se conoció como la “Revolución verde”, y tenía como objetivo elevar al máximo el rendimiento de varias especies de cultivos agrícolas tradicionales. Sin embargo, esta nueva forma de producción se basaba en una agricultura intensiva y agresiva al medio ambiente, con la aplicación de dosis elevadas de fertilizantes y fungicidas químicos. Aunque no se puede negar el efecto inmediato de los productos agroquímicos sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas, su uso excesivo contamina y deteriora el medioambiente, afecta la fertilidad y la biodiversidad de los suelos y representa un riesgo importante para la salud humana y animal (Singh, 2018).

Como una alternativa menos agresiva al medio ambiente, la agricultura sostenible o agroecológica constituye una forma de producción agropecuaria, basada en un uso mínimo de laboreo y un manejo integral de plagas y enfermedades, para reducir la aplicación de plaguicidas químicos. Esta forma de producción puede definirse como una manera de cultivar el suelo con un mínimo impacto medioambiental. Así mismo, esta debe permitir ingresos adecuados a los agricultores, proporcionar suficientes alimentos sanos y seguros a los consumidores y preservar los recursos naturales.

### **2.2. Importancia de la rizosfera y el rizobioma para el crecimiento y la salud de las plantas**

La rizosfera es el área del suelo alrededor del sistema radicular que está unido en el ambiente inmediato a las raíces. Está determinada por las relaciones sinérgicas entre el suelo, las raíces y los microbios presentes. Numerosos

factores influyen sobre sus características como son: pH, tipo y complejidad del suelo; así como los exudados producidos por las raíces que incluyen diferentes sustancias como aminoácidos y azúcares, entre otros nutrientes (Lakshmanan *et al.*, 2014).

El rizobioma está formado por el conjunto de microorganismos beneficiosos y no beneficiosos presentes en la rizosfera de las plantas. La composición, la posición y la abundancia de los mismos afectan el desarrollo de las plantas y el rendimiento de los cultivos. En el rizobioma se establecen interacciones mutualistas, competitivas y neutrales entre las raíces y los microbios (Lyu *et al.*, 2020). Basado en estas interacciones, en los últimos años se desarrollaron numerosas investigaciones sobre el uso de RPCV beneficiosas para inhibir organismos fitopatógenos y promover el crecimiento de las plantas (Alwahshi *et al.*, 2022).

Factores como el genotipo y el tipo de suelo afecta de manera marcada el rizobioma de las plantas. A su vez, éste influye en la comunidad de las plantas y se caracteriza por la coexistencia mutualista de competidores en el mismo ambiente (Liu *et al.*, 2015). Estas relaciones pueden ser positivas como la simbiosis con el hospedero o negativa asociado a la presencia de organismos patógenos y depredadores (Mack y Bever, 2014). De cualquier forma, el rizobioma afecta el crecimiento de las plantas y la tolerancia a estreses, y su importancia aumenta cada día en el campo de la agricultura (Reinhart, 2012).

La mayoría de los microorganismos rizosféricos utilizan los nutrientes exudados de las plantas. Muchos de estos tienen un efecto notable sobre el crecimiento y desarrollo de los vegetales, a través de varios mecanismos como el aumento de la disponibilidad de nutrientes, la supresión y control de las enfermedades y el incremento del rendimiento (Raaijmakers, 2015). De esta forma se establece una relación mutualista entre las plantas y los microorganismos de la rizosfera, donde los primeros alimentan a los microorganismos a través los exudados derivados de la fijación de carbono y en cambio, las RPCV estimulan el crecimiento de las plantas (Minz *et al.*, 2013).

El rizobioma es vital para el crecimiento, la nutrición y la salud de las plantas. La composición del rizobioma posee una diversidad de genomas elevada que

incluye eucariotas, procariotas y virus, los cuales se encuentran en el ecosistema de la planta (Lakshmanan *et al.*, 2014). Todos estos organismos desarrollan diferentes relaciones con la planta hospedera y con otros organismos. Estas interacciones engranadas afectan el crecimiento y salud de las plantas de manera positiva y negativa, ya que pueden mejorar la germinación y el vigor de las semillas, el crecimiento, la nutrición y el desarrollo de las plantas; sin embargo, pueden provocar enfermedades y estrés por competencia por los nutrientes (Lapsansky *et al.*, 2016).

El impacto del rizobioma sobre la salud de las plantas se hace más evidente en la supresión de enfermedades; como, por ejemplo, a través de la competencia entre los microorganismos beneficiosos y patógenos por los nutrientes disponibles en el suelo. Como la mayoría de los microorganismos perjudiciales necesitan ocupar la rizosfera antes de invadir la planta hospedera; es vital que la población de microorganismos beneficiosos sea superior a la de los patógenos. De esta forma se priva de nutrientes a estos últimos lo que provoca su inefectividad (Lareen *et al.*, 2016).

### **2.3. Impacto de los hongos fitopatógenos y su control**

Existen alrededor de 200 especies de hongos que poseen alguna patogenicidad asociada con enfermedades de plantas, que afectan la biodiversidad, la ecología, la agricultura y la seguridad alimentaria en el mundo (Savary *et al.*, 2019). Algunos autores estiman que las pérdidas por la acción de los hongos fitopatógenos son de un 21,5% en el trigo (*Triticum aestivum* L.), 30% en el arroz (*Oryza sativa* L.), 22,5% en el maíz (*Zea mays* L.), 17,2% en la papa (*Solanum tuberosum* L.) y 21,4% para la soya (*Glycine max* L.), especialmente en estado de postcosecha (Adikaram *et al.*, 2020).

Entre los géneros de hongos fitopatógenos más devastadores, dispersos en los agroecosistemas y con un amplio rango de hospederos están: *Alternaria*, *Fusarium*, *Botrytis*, *Aspergillus*, *Verticillium*, *Cladosporium*, *Phytophthora*, *Colletotrichum*, *Pythium* y *Rhizoctonia* spp. (Tyśkiewicz *et al.*, 2022). Estos hongos tienen diversas estrategias de ataque hacia la planta para su colonización. Estos pueden entrar a través de los estomas, poros o heridas y proliferar en los espacios intercelulares. También pueden penetrar directamente

a través de las células epidérmicas y extender sus hifas en los tejidos vegetales. Estos microorganismos liberan factores de virulencia en las células vegetales, para crear un entorno favorable de su proliferación en la planta (Savary *et al.*, 2019).

A nivel mundial existe una preocupación por los efectos del control químico de las plagas y enfermedades de los cultivos. La dependencia de los sistemas agroproductivos hacia los productos agroquímicos, es uno de los problemas más complicados por resolver en el sector agrícola y un reto global para lograr la sostenibilidad ambiental y la salud pública (Fones *et al.*, 2020). El uso excesivo e inadecuado de pesticidas y plaguicidas sintéticos tiene efectos negativos sobre la salud humana y sobre el medio ambiente. Por lo que la estrategia de la Unión Europea “De la granja a la mesa”, tiene como objetivo reducir el uso de plaguicidas en un 30% para 2030 (Saad *et al.*, 2022).

El control biológico o biocontrol protege a los cultivos de distintos organismos fitopatógenos que puedan afectar su crecimiento y desarrollo (Kumar *et al.*, 2021). El empleo de bacterias, hongos y levaduras como agentes de control biológico se considera una opción viable, más segura y económica para el manejo de plagas y enfermedades en las plantas, que gana popularidad en el sector de la ciencia y entre los agricultores (Abo-Elyousr y Hassan, 2021; Hassan *et al.*, 2021; Nguyen *et al.*, 2021).

#### **2.4. Funciones de las RPCV como biocontroladores, bioestimuladores y biofertilizantes**

El suelo es un ecosistema complejo que contiene varios grupos de microorganismos que tienen una función importante en la regulación de los nutrientes y actividades de biocontrol (El-Saadony *et al.*, 2022). Estos microorganismos se encuentran en la rizosfera y la endorizosfera de las plantas, donde contribuyen al crecimiento de las mismas mediante diferentes mecanismos directos e indirectos (Figura 1).

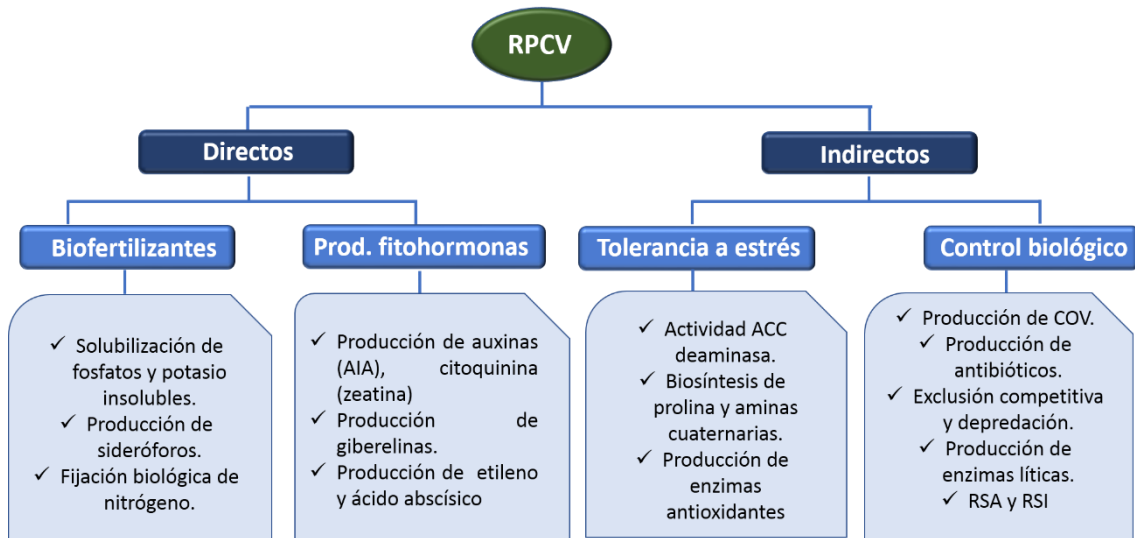


Figura 1. Mecanismos directos e indirectos mediados por las Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal con efectos beneficiosos en las plantas hospederas. AIA: ácido 3-indolacético, ACC: aminociclopropano, COV: compuestos orgánicos volátiles, RSA: Resistencia Sistémica Adquirida, RSI: Resistencia Sistémica Inducida. Fuente: (El-Saadony *et al.*, 2022).

Según el tipo y cantidad de metabolito que produzcan los microorganismos será el efecto predominante, y su uso potencial en los programas agrícolas. Entre los mecanismos directos están la producción de sustancias reguladoras del crecimiento como las auxinas, las giberelinas y las citoquininas; mientras que la producción de sideróforos, bacteriocinas y enzimas líticas que participan en la protección vegetal constituyen mecanismos indirectos (Singh *et al.*, 2017).

Existen muchas especies de microorganismos colonizadores de la rizosfera y cada especie tiene una actividad elevada para uno o más de estos mecanismos. Muchos inoculantes de BPCV que se comercializan actualmente, parecen incrementar el crecimiento por al menos uno de estos mecanismos. Las RPCV con actividad biocontroladora y que también promueven el crecimiento de las plantas, son más efectivas en la práctica (El-Saadony *et al.*, 2022).

Las rizobacterias también pueden mejorar la tolerancia de las plantas a condiciones abióticas y la resistencia a organismos fitopatógenos que provocan enfermedades (Bhat *et al.*, 2020; Leontidou *et al.*, 2020). Algunas cepas beneficiosas pueden enfrentar condiciones de estrés y proliferan en ambientes abióticos (Goswami y Deka, 2020).



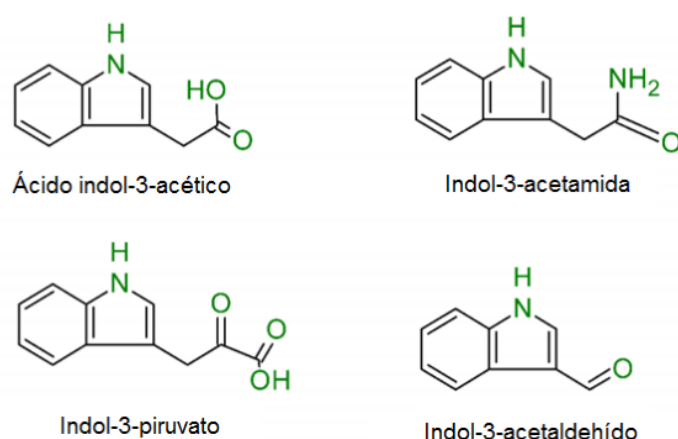
## 2.4.1. Mecanismos de las RPCV como bioestimuladoras del crecimiento vegetal

### 2.4.1.1. Producción de fitohormonas

Las RPCV son capaces de producir sustancias reguladoras del crecimiento llamadas fitohormonas, las cuales se consideran moléculas de señalización que permiten a las plantas responder ante estreses ambientales como la sequía, la salinidad y el ataque de plagas (Jochum *et al.*, 2019). La producción de sustancias estimuladoras del crecimiento como auxinas y citoquininas por las RPCV, puede alterar la arquitectura de las raíces al aumentar la superficie radical y elevar la absorción de agua y nutrientes del suelo (Abbas *et al.*, 2019).

Las fitohormonas producidas por las BPCV constituyen buenos estimuladores del crecimiento vegetal, los cuales también son metabolizados y utilizados por estas bacterias como nutrientes. Los principales grupos de reguladores del crecimiento son: auxinas, citoquininas, giberelinas, ácido abscísico y etileno.

Aproximadamente el 80% de los microorganismos de la rizosfera pueden sintetizar y liberar auxinas como metabolitos secundarios (Patten y Glick, 1996). El ácido 3-indolacético (AIA) es la auxina natural más abundante y mejor documentada en la bibliografía. Otros compuestos auxínicos importantes son el indol  $\epsilon$ -acetamida, el indol-3-piruvato y el indol-3-acetaldehído (Spaepen *et al.*, 2007) (Figura 2).



**Figura 2.** Principales auxinas naturales producidas por las BPCV.

Las auxinas poseen diferentes funciones en las plantas como, por ejemplo, participan en fenómenos como el geotropismo y el fototropismo, la diferenciación vascular de tejidos, la dominancia apical, la iniciación de las raíces laterales y adventicias, la división celular y el alargamiento de raíces y tallos (Tan *et al.*, 2021).

El ácido indolacético producido por las RPCV altera el balance de auxinas de las plantas y aumentan la longitud de las raíces y el área superficial. El precursor del AIA es el triptófano, el cual se encuentra en los exudados en diferentes concentraciones, en dependencia del genotipo de las plantas.

Las giberelinas (AG) constituyen un grupo amplio de ácidos carboxílicos tetracíclicos diterpenoides que poseen 20 o 19 átomos de carbono en su estructura química (Hedden y Thomas, 2012). Estas sustancias participan en el control de procesos de crecimiento como el alargamiento del tallo, la producción de pelos radiculares, la iniciación y el desarrollo de la floración, la germinación de las semillas, la senescencia de hojas y frutos y en conjunto con otras fitohormonas, participan en la transducción de señales (Saidi y Hajibarat, 2021).

La producción de AG por las BPCV se observó en diferentes géneros y especies como son: *Achromobacter xylooxidans*, *Gluconobacter diazotrophicus*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Rhizobia*, *Azotobacter* spp., *Bacillus* spp., *Herbaspirillum seropedicae* y *Azospirillum* spp. (Deka *et al.*, 2015).

Las citoquininas intervienen en el control del crecimiento y el desarrollo de las plantas, ya que tienen funciones importantes en procesos fisiológicos como la división y diferenciación celular en los tejidos meristemáticos, la organogénesis, el funcionamiento de los estomas y la síntesis de cloroplastos. Las citoquininas retardan el proceso de la senescencia ya que intervienen en la acumulación de clorofila y en la formación de órganos y tejidos diferentes. Otras funciones están relacionadas con el alargamiento de la raíz, la formación de pelos absorbentes, la expansión foliar y la iniciación del tallo (Guo *et al.*, 2021).

#### **2.4.1.2. Fijación biológica del nitrógeno**

El nitrógeno es un nutriente fundamental para el crecimiento y desarrollo de las plantas y su deficiencia tiene un efecto drástico sobre el rendimiento de las

mismas. El cultivo intensivo provoca la sobreexplotación de los suelos que conlleva una deficiencia de nitrógeno. Para recuperar los niveles de este elemento se utilizan fertilizantes químicos nitrogenados como la urea. El uso excesivo de estos agroquímicos genera contaminación y deterioro del suelo (Zhang *et al.*, 2015).

Aproximadamente el 78 % del nitrógeno del planeta se encuentra en la atmósfera en forma de dinitrógeno (N<sub>2</sub>), el cual no puede ser asimilado por la mayoría de los organismos, entre estos, las plantas (Baas *et al.*, 2014). Para que este elemento sea incorporado a la cadena trófica debe convertirse en una forma asimilable para los vegetales, a través del proceso de fijación del nitrógeno por las bacterias fijadoras de nitrógeno (Yilihamu *et al.*, 2012). Como ejemplo de microorganismos simbióticos fijadores de nitrógeno están *Rhizobium*, *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium*, *Allorhizobium*, *Mesorhizobium*, *Frankia*, *Azoarcus*, *Achromobacter*, *Burkholderia*, y *Herbaspirillum* (Babalola, 2010).

Algunas cepas de bacterias contribuyen a fijar el nitrógeno atmosférico y aseguran su disponibilidad para especies vegetales como el tomate (*Solanum lycopersicum* L.) (Masood *et al.*, 2020). Ejemplo de estos microorganismos son: *Enterobacter*, *Bacillus*, *Azobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Azospirillum* y *Pseudomonas*, entre otros. Estos organismos forman una relación simbiótica con plantas mediante el suplemento de nitrógeno atmosférico al suelo, en cambio las plantas proporcionan nutrientes a la rizosfera (Adedayo *et al.*, 2022).

## **2.4.2. Mecanismos de las RPCV con función biofertilizante**

### **2.4.2.1. Solubilización de fosfatos insolubles**

El fósforo es uno de los nutrientes más importantes que limitan el crecimiento óptimo de las plantas. Este elemento tiene funciones esenciales en el metabolismo energético de todos los organismos vivos, ya que es un componente esencial del compuesto adenosina 3-fosfato (ATP), el cual contiene en sus enlaces la energía necesaria para la realización de todas las funciones biológicas (Beltrán, 2014).

En el suelo existen diferentes formas de fosfatos insolubles y no asimilables por las plantas como son:  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ,  $\text{FePO}_4$  y  $\text{AlPO}_4$ . Algunas bacterias heterotróficas y hongos denominados solubilizadores de fosfatos, tienen la capacidad de convertir estas sustancias en formas asimilables para los cultivos (Goswami *et al.*, 2016). El mecanismo de solubilización de fosfatos está relacionado con la secreción de ácidos orgánicos de bajo peso molecular, los cuales reducen el pH y quelatan cationes metálicos ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ), unidos a fosfatos insolubles mediante la acción de los grupos hidroxilos y carboxilos presentes en la estructura química. Como consecuencia se produce la liberación del fósforo en formas solubles como la monobásica ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ) y la dibásica ( $\text{HPO}_4^{2-}$ ) (Bhardwaj *et al.*, 2014).

Los ácidos orgánicos más frecuentes que son producidos por estos microorganismos son: acético, adípico, cítrico, fórmico, fumárico, glicólico, glucónico, indolacético, láctico, málico, malónico, oxálico, propiónico, succínico y 2-cetoglucónico (Goswami *et al.*, 2016). Entre las bacterias más eficientes se encuentran aquellas que pertenecen a géneros como *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Bradyrhizobium*, *Arthrobacter* y *Agrobacterium* (Beltrán, 2014).

Las bacterias solubilizadoras de fosfato también son capaces de mineralizar el fosfato orgánico insoluble a través de la excreción de enzimas extracelulares como las fosfatasas, las cuales catalizan la hidrólisis de ésteres fosfóricos. Las fitasas constituyen enzimas de este tipo y tienen la capacidad de hidrolizar el hexafosfato de inositol o fitato, que constituye alrededor del 80% del fósforo total que se encuentra atrapado en formas orgánicas (Alexander, 1977).

La inoculación de los suelos con bacterias solubilizadoras de fosfato aumenta la disponibilidad de P en la rizosfera y su absorción por la planta (Faria *et al.*, 2013). Diversas investigaciones demuestran que con la aplicación de estos microorganismos es posible reducir la aplicación de fertilizantes fosfatados sin afectar el rendimiento (Tahir y Aqeel, 2013).

#### **2.4.2.2. Producción de sideróforos**

El hierro tiene funciones esenciales en las plantas ya que es un cofactor de diferentes enzimas, que participan en procesos importantes como la fotosíntesis,

la respiración celular y la fijación del nitrógeno. Aunque es uno de los minerales más abundantes en la tierra, no se encuentra en forma disponible para su asimilación directa por las plantas y los animales. En presencia de oxígeno y pH neutro, la forma reducida del hierro ( $\text{Fe}^{2+}$ ) no es estable, por lo que se transforma fácilmente en  $\text{Fe}^{3+}$ . Esta última forma está presente como hidróxido de hierro, pero no está disponible para los sistemas biológicos debido a su baja solubilidad de  $10^{-18}$  M a pH 7,0. Por lo tanto, la cantidad de hierro soluble en el suelo escasamente permite el crecimiento microbiano (Saha *et al.*, 2015).

En el proceso de solubilización del hierro participan microorganismos que tienen la capacidad de producir y secretar diferentes tipos de proteínas de bajo peso molecular, llamadas en su conjunto sideróforos. Entre los tipos de sideróforos descritos están: carboxilatos, hidroxamatos, fenol catecolato, pioverdinas, enterobactinas, vibriobactinas, micobactinas, acinetobactinas, anguibactinas, yersiniabactina y pioquelina. Estos sideróforos tienen la capacidad de quelatar cationes  $\text{Fe}^{3+}$  con una afinidad elevada. Esto permite la separación del catión y el posterior transporte de los iones férricos hacia el interior de las células microbianas, o a hacia las células vegetales a través de receptores de membrana (Goswami *et al.*, 2016).

La mayoría de los microorganismos aeróbicos y anaerobios facultativos producen sideróforos y tienen una función vital en el crecimiento y productividad de los cultivos (Simiyo *et al.*, 2016). La actividad de los sideróforos presentes en cada microorganismo determina su capacidad de mejorar el desarrollo de la planta, siempre que la planta reconozca el complejo hierro-sideróforo para que pueda ser absorbido el mineral (Dimkpa *et al.*, 2009).

#### **2.4.3. Mecanismos de las RPCV como agentes de control biológico**

La efectividad de las RPCV biocontroladoras de organismos fitopatógenos, depende de tres mecanismos fundamentales: el establecimiento de los Agentes de Control Biológico (ACB) sobre los tejidos de las plantas, principalmente en las raíces, que previene o reduce la colonización de organismos patógenos vía competencia; la antibiosis y la inducción de la resistencia sistémica en la planta hospedera (Anckaert *et al.*, 2022; Elnahal *et al.*, 2022).

### 2.3.3.1. Colonización de las raíces por las RPCV

Las raíces de las plantas proveen de un soporte físico y nutrientes a un gran número de microorganismos del suelo. Esto permite la colonización de las raíces por las RPCV (ej. *Bacillus* spp.), la cual se produce primeramente por la secreción de los exudados de la raíz, cuya composición varía en dependencia del genotipo vegetal y su estadio fisiológico (Sasse *et al.*, 2018). Las bacterias perciben primeramente la proximidad de las raíces debido a la presencia de estos exudados y se mueven hacia los tejidos radicales mediante el proceso de la quimiotaxis.

La presencia de organismos fitopatógenos modifica los exudados de las raíces, lo que incrementa la atracción de RPCV. En plantas de pepino (*Cucumis sativus* L.) infestadas por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*, las proporciones de compuestos quimio-atrayentes (ej. ácido cítrico y ácido fumárico) es mayor en comparación con las plantas no infestadas, lo que incrementa la colonización de las raíces por microorganismos como *Bacillus velezensis* SQR9 (Liu *et al.*, 2020).

La formación de biopelículas por las RPCV es un mecanismo importante que facilita la colonización de las raíces, y evita o reduce el contacto de microorganismos patógenos en este órgano. Las biopelículas se pueden definir como una comunidad multicelular encapsulada dentro de una matriz extracelular, conformada por polímeros producidos por las propias bacterias tales como proteínas y exopolisacáridos que promueven la movilidad y la captura de nutrientes (Pandín *et al.*, 2017).

La capacidad de producir biopelículas está presente en diversos géneros bacterianos como, por ejemplo, *Bacillus* spp. La formación de estas organizaciones celulares es promovida por la secreción de exudados donde se detectan compuestos como glucosa, fructosa, ácido cítrico, ácido málico y ácido fumárico (Liu *et al.*, 2020). Así mismo, la producción de sustancias antibióticas como surfactina e iturina por las células bacterianas facilita la formación de biopelículas y tiene una función importante en la motilidad celular (Cao *et al.*, 2018).

En las biopelículas se pueden encontrar diferentes comunidades de microorganismos que incluye células productoras de sustancias matriciales,

productoras de surfactina, células flageladas móviles y células esporuladas. Las biopelículas confieren grandes ventajas ecológicas a las RPCV, ya que promueven la migración y facilitan la colonización y sobrevivencia de las RPCV en la superficie de las raíces (Anckaert *et al.*, 2022).

La presencia de biopelículas permite a *Bacillus* spp. y a otras especies de RPCV resistir la presencia de otros microorganismos, ya que actúa como una fortaleza que bloquea los compuestos antimicrobianos que producen otros competidores (Molina-Santiago *et al.*, 2019). Por otra parte, estas estructuras promueven la producción de compuestos relacionados con las actividades biocontrol (Pandín *et al.*, 2019).

### **2.3.3.2. Actividad antagonista de las RPCV**

Las RPCV poseen un potencial elevado para controlar las infecciones a través de la inhibición directa del crecimiento de los organismos patógenos vía antibiosis. En general, la actividad antimicrobiana está relacionada con una variedad de mecanismos que incluye la producción de lipopéptidos, enzimas hidrolíticas (quitinasas, celulasas y glucanasas), compuestos orgánicos volátiles y la inducción de la Resistencia Inducida Sistémica (Anckaert *et al.*, 2022; Dobrzyński *et al.*, 2023). A continuación, se describen las funciones de estos compuestos producidos por las RPCV en el control de organismos fitopatógenos.

#### **2.3.3.2.1. Enzimas líticas**

Un modo de acción importante de las enzimas líticas está relacionado con la degradación de las paredes celulares de los hongos fitopatógenos. Entre las enzimas fundamentales están las quitinasas, que degradan la quitina, un componente fundamental de las paredes celulares de los hongos. Otras enzimas son las quitosanasas, las glucanasas, las celulasas y las lipasas (Caulier *et al.*, 2019; Miljaković *et al.*, 2020).

La actividad lítica de estas enzimas reduce la actividad de distintos organismos fitopatógenos. La quitinasa producida por *B. subtilis* ATCC1774 y *B. cereus* CRS7, disminuyó el crecimiento del hongo *Rhizoctonia solani* (Saber *et al.*, 2015). De manera similar, la proteasa alcalina purificada de *Bacillus*

*amyloliquefaciens* SP1, clonada y expresada en *Escherichia coli* inhibió el crecimiento de *Fusarium oxysporum* (Guleria *et al.*, 2016).

#### **2.3.3.2.2. Bacteriosinas y metabolitos no ribosomales**

Las bacteriosinas muestran un espectro amplio de actividad antibacteriana ya que provocan la lisis celular, la formación de poros o la inhibición de la biosíntesis de la pared celular de bacterias y hongos (Lajis, 2020). Los lipopolisacáridos pépticos son considerados compuestos inhibitorios de tipo bacteriosinas, los cuales tienen actividades frente a bacterias fitopatógenas como *Xanthomonas campestris*. La proteína APC2 (semejante a los lipopolisacáridos pépticos) previene la infección por *Fusarium solani* (Wang *et al.*, 2020a).

La actividad antimicrobiana de lipopéptidos está relacionada con miembros de las familias fengicinas e iturina y sus efectos dependen de su naturaleza anfipática y estructura química (El-Saadony *et al.*, 2022). Estas dos familias de compuestos provocan daños a hifas y conidios de numerosos hongos fitopatógenos como *Fusarium graminearum*. Las fengicinas, por ejemplo, son activas frente a hongos filamentosos fitopatógenos y también pueden inhibir la síntesis de micotoxinas dañinas producidas por *F. graminearum* (Hanif *et al.*, 2019). Las iturinas, por otra parte, muestran un mayor espectro de acción, ya que son eficientes frente a hongos filamentosos como *C. gloeosporioides* (Jin *et al.*, 2020) y *Aspergillus flavus* (Gong *et al.*, 2014), así como frente al oomiceto *P. infestans* (Wang *et al.*, 2020c).

Las iturinas y las fengicinas pueden afectar las membranas plasmáticas de los hongos fitopatógenos mediante la formación de poros, lo que provoca la muerte celular (Zakharova *et al.*, 2019). Otro aspecto importante descubierto es que pequeñas variaciones estructurales de estos compuestos inhibitorios, tienen un impacto en la bioactividad de microorganismos del suelo. Esto constituye una estrategia de géneros importantes como *Bacillus* para incrementar el espectro de antibióticos de una familia de moléculas (Anckaert *et al.*, 2022).

#### **2.3.3.2.3. Compuestos Orgánicos Volátiles (COV)**

Los COV son compuestos de bajo peso molecular que se evaporan fácilmente y difunden a presión y temperatura ambiente (Poveda, 2021). Los compuestos de



este tipo más importantes con actividad antagonista incluyen alcoholes, aldehídos, cetonas, hidrocarburos, ácidos orgánicos y terpenos. La actividad antimicrobiana de los COV está extensamente estudiada y existen referencia de la actividad antagonica de estos compuestos frente a hongos fitopatógenos como *Botrytis cinerea* (Jiang *et al.*, 2018) y *Alternaria solani* (Zhang *et al.*, 2020). Los COV bacterianos se encuentran en bajas concentraciones y tienen una composición compleja. Además, su concentración y abundancia depende de muchos factores tales como: tipo de medio, condiciones de cultivo y estados fisiológicos de los microorganismos (Tyc *et al.*, 2015). La eficacia antifúngica de las bacterias productoras de COV depende de la composición de estos compuestos y, como regla, la presencia de muchos de estos compuestos es lo que inhibe con efectividad el crecimiento de los hongos (Poveda, 2021).

#### **2.3.3.2.4. Sideróforos**

Algunas RPCV reducen la proliferación de patógenos del suelo y facilitan el crecimiento de las plantas, a través de la producción abundante de sideróforos. En la rizosfera se produce una competencia por los cationes hierro entre los microorganismos benéficos y los hongos fitopatógenos; sin embargo, los sideróforos producidos por los hongos fitopatógenos tienen mucha menor afinidad por el hierro que los sideróforos de las RPCV, lo que reduce la disponibilidad de este elemento esencial para los hongos y por tanto su crecimiento y desarrollo (Pérez-Montaña *et al.*, 2016).

#### **2.3.3.3. Resistencia Sistémica Inducida (RSI) y Resistencia Sistémica Adquirida (RSA)**

La Resistencia Sistémica Adquirida (RSA) y la Resistencia Sistémica Inducida (RSI) son dos formas de resistencias que están caracterizadas en base a las distintas vías de señalización y espectro de eficacia (Lahlali *et al.*, 2022). Estas formas sistémicas de resistencia constituyen mecanismos de defensa inducidos por microorganismos no patogénicos y patogénicos, respectivamente. Ambos procesos se pueden solapar y ocurrir interacciones entre las dos vías (Yu *et al.*, 2022).

La RSI es el método principal mediante el cual las bacterias y los hongos de la rizosfera inducen la resistencia de la planta completa, ante el ataque de distintos microorganismos infecciosos e insectos herbívoros (Schellenberger *et al.*, 2019). Las plantas usan la señalización molecular a larga distancia para proteger tejidos distales después de la activación de la RSI, lo cual induce una respuesta inmune rápida y fuerte frente a la invasión de los organismos patógenos (Yu *et al.*, 2022). La resistencia sistémica inducida en las plantas ofrece la posibilidad de un control de las enfermedades a largo plazo, y con un espectro amplio de microorganismos patógenos, a través de resistencias naturales que poseen los vegetales. Los agentes inductores de la resistencia, por lo general, atenúan las enfermedades entre un 20 y un 85% (Walters *et al.*, 2013). Varias especies de los géneros *Bacillus* y *Pseudomonas* constituyen agentes de control biológico efectivos para la inducción de la RSI (Miljaković *et al.*, 2020).

Durante el proceso de la RSI se producen compuestos secundarios bioactivos que incluyen diferentes tipos de metabolitos, producto de la degradación de componentes vegetales asociado a la actividad bacteriana (Pršić y Ongena, 2020). *Bacillus* spp. pueden producir algunas proteínas elicitoras de defensa como AMEP 412, la cual inicia la RSI en plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) frente a *P. syringae* pv. Tomato (Shen *et al.*, 2019).

Los lipopolisacáridos son elicitors claves de la RSI en numerosos sistemas planta-fitopatógenos. De manera similar, la surfactina también constituye un inductor potente de la RSI en plantas (Crouzet *et al.*, 2020). La aplicación de surfactina a nivel de las raíces disminuyó la severidad de las enfermedades por acción del hongo necrótico *B. cinerea* en frijoles (*Phaseolus vulgaris* L.), tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) y *Arabidopsis thaliana* L. (Debois *et al.*, 2015; Anckaert *et al.*, 2022). De manera similar, la fengicina puede inducir la RSI en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) frente a *Plasmopara viticola* y *S. sclerotiorum*, respectivamente (Farzand *et al.*, 2019).

Los metabolitos iturina y surfactina inducen la respuesta inmune por interacción con lípidos de membrana, aunque el mecanismo preciso no está descrito con claridad. Los compuestos volátiles producidos por RPCV también están relacionados con la inducción de la inmunidad en las plantas. La mayoría de las

RPCV que producen COV inductores de la resistencia sistémica están relacionados con la acetoina y 2,3-butanediol (Peng *et al.*, 2019).

Existen varias fitohormonas como el ácido salicílico, el ácido jasmónico y el etileno, que influyen sobre la respuesta inmune de las plantas (Molinari *et al.*, 2019). La Resistencia Sistémica Adquirida es uno de los mecanismos mejores estudiados y provee de protección a la planta a largo término, frente a numerosos organismos fitopatógenos mediado por el ácido salicílico (Durrant y Dong, 2004).

#### **2.4. Potencialidades del género *Bacillus* en el control de hongos fitopatógenos**

Aunque la actividad de biocontrol en las especies de *Bacillus* está bien establecida frente a hongos y bacterias fitopatógenas, la reducción de la infestación por insectos y nemátodos plagas se refiere ocasionalmente (Ruii, 2020). La mayoría de las especies de *Bacillus* descritas como agentes biocontroladores se aislaron de la rizosfera y en menor medida de la filosfera (Fan *et al.*, 2017).

Estas bacterias son muy competitivas en su nicho natural, forman poblaciones sobre los tejidos vegetales y colonizan las raíces de plantas monocotiledóneas y dicotiledóneas. Este último proceso contribuye a la secreción de compuestos antimicrobianos y elicitores de la resistencia sistémica en plantas (Anckaert *et al.*, 2022), los cuales ayudan a combatir un espectro amplio de bacterias, virus y hongos fitopatógenos con diferentes ciclos de vida y modos de virulencia (Miljaković *et al.*, 2020). La eficacia de *Bacillus* spp. en el biocontrol de organismos fitopatógenos está demostrada en invernaderos (Beris *et al.*, 2018), en condiciones de campo (Matzen *et al.*, 2019; Cucu *et al.*, 2020) y en etapa de postcosecha en enfermedades de frutos (Gava *et al.*, 2019).

El género *Bacillus* muestra propiedades antagonistas frente a la mayoría de los hongos fitopatógenos de importancia económica tales como *Botrytis cinerea* (Jiang *et al.*, 2018), *Fusarium graminearum* (Ntushelo *et al.*, 2019), *Blumeria graminis* (Matzen *et al.*, 2019), *Bipolaris sorokiniana* (Villa-Rodríguez *et al.*, 2019) y *Colletotrichum acutatum* (Wang *et al.*, 2020b). Una cepa como *Bacillus velezensis* Y6 puede antagonizar e inhibir el crecimiento de diferentes hongos,

tales como: *Fusarium oxysporum* y *Colletrichum gloeosporioides* en condiciones *in vitro* (Cao *et al.*, 2018). En la tabla 1 se muestra algunos resultados recientes que evidencian las potencialidades del género *Bacillus* como agente de control biológico.

Tabla 1. Actividad antagonista de *Bacillus* spp. frente a organismos fitopatógenos.

Espece	Organismos fitopatógenos	Autores
<i>B. methylotrophicus</i>	<i>Fusarium graminearum</i>	Cheng <i>et al.</i> (2019)
<i>B. subtilis</i>	<i>Fusarium oxysporum</i> , <i>F. moniliforme</i> , <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> , <i>C. falcatum</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>A. flavus</i>	Ali <i>et al.</i> (2020)
<i>B. velezensis</i>	<i>Colletotrichum gossypii</i>	Ferro <i>et al.</i> (2020)
<i>B. amyloliquefaciens</i>		
<i>B. amyloliquefaciens</i> Y1	<i>Botrytis cinerea</i>	Maung <i>et al.</i> (2021)
<i>B. subtilis</i>	<i>Rhizoctonia solani</i> AG-8	Zhang <i>et al.</i> (2021)
<i>B. halotolerans</i>	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp.	Rafanomezantsoa
<i>B. cereus</i>	lycopersici y <i>Ascochyta</i> sp.	<i>et al.</i> (2022)
<i>B. subtilis</i> GBO3	<i>Xanthomonas oryza</i>	Faizal y Lau (2022)
<i>B. subtilis</i> , <i>B. licheniformis</i> , <i>B. cereus</i> , <i>Bacillus</i> spp.	<i>Burkholderia glumae</i>	Herrera y de Von Chong (2022)
<i>Bacillus velezensis</i> K01	<i>Botrytis cinerea</i>	Xue <i>et al.</i> (2023)

La actividad de biocontrol de los bacilos está relacionada principalmente con la capacidad de producir numerosos tipos de compuestos bioactivos. Estas sustancias se producen mediante la síntesis ribosomal clásica o por la vía de síntesis no ribosómica, donde participan complejos mega enzimáticos (Anckaert *et al.*, 2022). Los péptidos ribosomales pueden ser modificados post-traduccionalmente y generan compuestos como las bacteriosinas, entre las que se encuentran: plantazolicina, subtilina, ericina, amilolisina, subtilosina y amilociclicina (Lajis, 2020).

Los lipopéptidos antibióticos constituyen uno de inhibidores de organismos fitopatógenos más comunes producidos por los *Bacillus* spp. (Saggese *et al.*, 2022). Estos compuestos son surfactantes de bajo peso molecular, biodegradables, no tóxicos, estables y ambientalmente amigables (Toral *et al.*, 2018). Son sintetizados por las péptido sintetisas no ribosomales, las cuales están codificadas por una agrupación de genes tales como: bmy (bacilomicina), bac (bacilina), srf (surfactina) y fen (fengicina). De manera similar, los polikétidos están codificados por otra agrupación de genes que permiten la expresión de compuestos como: macrolactina (min), bacillano (bae) y difficidina (dfn), las cuales son producidas por *Bacillus* spp. Estos compuestos bioactivos muestran características similares a los lipopéptidos (Fazle y Baek, 2020).

Los lipopéptidos cíclicos de *Bacillus* spp. están representados por tres grandes familias: surfactinas, iturinas y fenginas (Penha *et al.*, 2020). Los lipopéptidos que pertenecen a la familia surfactina (surfactina, bamilocina, liquenicina, halobacidina, pumilacidina) son heptapéptidos y tienen actividad antifúngicas y antibacterianas. Por otra parte, tienen funciones importantes en la formación de biopelículas y en la inducción de la inmunidad en plantas (Miljaković *et al.*, 2020).

## **2.5. Retos en el uso de RPCV como Agentes Controladores Biológicos (ACB)**

Existen varios requerimientos para aceptar y registrar un ACB como producto comercial. Los investigadores deben primeramente mejorar la eficacia de estos agentes para el control de ciertas enfermedades, lo cual se puede lograr si se cuenta con RPCV que posean la mayor cantidad de características beneficiosas y mecanismos de acción posible. Por ejemplo, crecimiento *in vitro* rápido,

producción de diferentes tipos de metabolitos bioactivos, potenciar el crecimiento de las plantas, ser seguros desde el punto de vista ambiental, tener compatibilidad con otras rizobacterias y hongos rizosféricos y ser tolerantes a estreses abióticos. Así mismo, la colonización exitosa de los tejidos radicales y/o de la rizosfera, es un componente crítico para cualquier cepa de RPCV con efectividad como ACB (Lyu *et al.*, 2020; El-Saadony *et al.*, 2022).

La actividad y efectividad de las RPCV puede variar en dependencia de su supervivencia en el suelo, la compatibilidad con el cultivo, las interacciones con otras especies de microbios locales y los factores ambientales (Vejan *et al.*, 2016). La supervivencia y la colonización son los componentes principales cuando se identifican aislados bacterianos efectivos como ACB. Los experimentos de antagonismo *in vitro* se utilizan frecuentemente para investigar el efecto de los aislados bacterianos sobre ciertas enfermedades, previamente a los ensayos en casas de invernadero y/o campo (Bashan *et al.*, 2014).

Otro aspecto importante a tener en cuenta es la estabilidad de las RPCV, lo cual está influenciada por el método, las formulaciones, la transportación y las condiciones de almacenamiento. Para alcanzar niveles elevados de supervivencia de los ACB es importante mejorar la tecnología de la formulación, incrementar el tiempo de vida del producto microbiano, optimizar la producción de determinados tipos de microorganismos y alcanzar costos de producción bajos a grandes escalas (Lobo *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2019).

Una ventaja importante que tienen las especies de *Bacillus* es su capacidad de formar endosporas, las cuales son resistentes a estreses abióticos tales como el calor y la sequía (Mutlu *et al.*, 2020). Las endosporas permiten la formulación de los productos basados en *Bacillus* con un buen tiempo de almacenamiento, debido a la resistencia que poseen al procesamiento industrial (liofilización) y su capacidad de mezclarse con aditivos apropiados, adyuvantes o surfactantes (Stamenkovic-Stojanovic *et al.*, 2019). Los productos pueden ser liberados por dispersión sobre las partes aéreas de las plantas o directamente en el suelo en dependencia de la enfermedad o necesidades del agricultor (Toral *et al.*, 2020).

Cuando se comparan los ACB con los pesticidas químicos (más predecibles y consistentes), los agricultores notan poca o ninguna ganancia económica. La realización de seminarios, talleres de entrenamiento y conferencias libres puede elevar las expectativas y conciencia sobre la aplicación de ACB en áreas específicas de granjas. Las RPCV con actividad de biocontrol constituye una alternativa prometedora para reducir el uso de agroquímicos en la agricultura. El uso difundido de las RPCV como ACB requiere de un esfuerzo masivo de cuerpos regulatorios y agricultores, para convencer al público y que ganen en confianza y conciencia, sobre las potencialidades de estos nuevos productos biológicos para el manejo de plagas e incrementar los rendimientos agrícolas.

La producción de cultivos de valor elevado en casas de tapado, puede ser un lugar ideal para probar la eficacia de las RPCV como ACB, en respuesta a diferentes condiciones de estrés abiótico. Trabajos recientes en estos locales de producción indican que los ACB pueden ser utilizados en el manejo de enfermedades en el campo, para lograr un mayor crecimiento y desarrollo de los cultivos (Alwahshi *et al.*, 2022).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se desarrolló en los laboratorios del Centro de Estudios Biotecnológicos de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, de la Universidad de Matanzas. Para el estudio de caracterización bioquímica y microbiológica se utilizaron cuatro aislados de *Bacillus* spp. (Cu51, TS96, TCab6 y CN65), los cuales se obtuvieron de la rizosfera del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) y pertenecen a la colección de Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal, de Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Matanzas. Los estudios preliminares con estos aislados corroboraron que corresponden a bacterias Gram + y formadoras de endosporas, con potencialidades para la producción de metabolitos con propiedades antagonistas de hongos fitopatógenos.

#### 3.1. Ensayos bioquímicos

##### 3.1.1. Determinación cuantitativa de ácido 3-indolacético (AIA)

La producción de ácido indolacético se determinó con el método de Loper y Schroth (1986). Los aislados bacterianos se rejuvenecieron previamente en medio Agar Nutriente a 37°C durante 24 h. Posteriormente se inocularon células de cada aislado en solución salina, hasta obtener una turbidez equivalente al tubo 0,5 de la escala de Mc Farland, con el uso de un hisopo estéril. Luego se inocularon 100 µL de cada aislado ajustado a la escala, en erlenmeyers de 25 mL con 10 mL de medio Caldo Nutriente suplementado con L-triptófano (500 µg mL<sup>-1</sup>). Los medios de cultivos se colocaron en agitación (130 rpm) durante 48 h. Posteriormente, las suspensiones celulares se centrifugaron a 6 000 rpm durante 10 minutos. El sobrenadante se colectó para la determinación cuantitativa de ácido 3-indolacético. Se utilizó como control negativo el medio de cultivo sin inóculo.

Para la determinación de la concentración de AIA se realizó primeramente una curva de calibración a partir de una solución de 100 µg mL<sup>-1</sup> de AIA con concentraciones de 5, 10, 20, 40, 60 y 80 µg mL<sup>-1</sup>. Se mezclaron 0,5 mL de cada una de las soluciones patrón y los sobrenadantes bacterianos, con 0,5 mL del reactivo de Salkowski. Las mezclas se dejaron reposar por 30 minutos a



temperatura ambiente y se realizaron las lecturas de absorbancias a 530 nm en un espectrofotómetro UV/VIS (ULTROSPEC, 2000). Con los valores obtenidos de la curva patrón, se obtuvo la ecuación que relaciona la concentración de AIA con la absorbancia. Las mediciones se realizaron por triplicado (Sánchez-García, 2013).

### 3.1.2. Solubilización de fosfatos inorgánicos

La capacidad de solubilizar fosfatos inorgánicos por los aislados bacterianos se determinó en medio Agar Pikovskaya (1948) compuesto por: glucosa (10,0 g L<sup>-1</sup>), Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> (5,0 g L<sup>-1</sup>), (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0,5 g L<sup>-1</sup>), KCl (0,2 g L<sup>-1</sup>), MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O (0,1 g L<sup>-1</sup>), MnSO<sub>4</sub> (0,002 g L<sup>-1</sup>), FeSO<sub>4</sub> (0,002 g L<sup>-1</sup>), extracto de levadura (0,5 g L<sup>-1</sup>) y Agar (15,0 g L<sup>-1</sup>). Los aislados se sembraron en placas Petri con el medio de cultivo y se incubaron a 37 °C durante siete días. La eficiencia de solubilización (ES) se determinó mediante la fórmula siguiente:

$$ES (\%) = \frac{(Z - C)}{C} * 100$$

Donde,

Z: diámetro del halo claro alrededor de la colonia.

C: diámetro de la colonia bacteriana.

### 3.1.3. Producción de amonio

La prueba para la producción de amonio de los aislados se realizó en agua peptona según el procedimiento descrito por Kumar *et al.* (2012). Se tomó un asa de los cultivos bacterianos rejuvenecidos, y se inocularon en tubos de ensayo con 10 mL de agua peptona. Los cultivos se colocaron en una incubadora a 37 ± 2 °C durante 72 h. Posteriormente se adicionó a cada tubo de ensayo 0,5 mL del reactivo de Nessler. El cambio de coloración de pardo claro a amarillo intenso indicó la producción de amonio en el medio de cultivo (Cappuccino y Sherman, 1992). El contenido de amonio producido por los aislados se clasificó de forma no paramétrica en dependencia de la intensidad de la coloración desarrollada en el medio. Abundante (+++), moderado (++) , bajo (+) y ausencia (-) de amonio.

#### **3.1.4. Producción de quitinasas y/o $\beta$ -1,3- glucanasas**

La producción de quitinasas y/o  $\beta$ -1,3-glucanasas se determinó mediante el crecimiento de los aislados bacterianos en un medio de cultivo con levadura panadera (Gaye, 2016). Se disolvieron 4,0 g L<sup>-1</sup> de levadura y 16 g L<sup>-1</sup> de agar en agua destilada y el medio se esterilizó a 121 °C durante 20 min. Los aislados se sembrados en placas Petri con el medio de cultivo y estas se incubaron a 37 °C durante 48 h. La presencia de una zona clara alrededor de las colonias indicó la producción de quitinasas y/o  $\beta$ -1,3-glucanasa.

#### **3.1.5. Producción de proteasas**

La producción de proteasas se realizó de acuerdo al método de Marhofer *et al.* (1995). Los aislados se sembraron en placas Petri con medio de cultivo compuesto por 15 g L<sup>-1</sup> de leche descremada, 0,5 g L<sup>-1</sup> de extracto de levadura y 15 g L<sup>-1</sup> de agar. Las placas se incubaron a 37 °C durante 24 h. Los halos claros alrededor de las colonias indicaron la presencia de proteasas. Se utilizó el método no paramétrico de las tres cruces para indicar las cantidades relativas de estas enzimas. Abundante (+++), moderado (++) , bajo (+), ausencia (-).

#### **3.1.6. Producción de celulasas**

Los aislados bacterianos se sembraron en medio de cultivo compuesto por: NaCl 0,1 %, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,3 %, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,6 %, MgSO<sub>4</sub> 0,12 %, peptona 0,5 %, extracto de levadura 0,3 %, suplementado con carboximetil celulosa (1,0 %) y agar 15 g L<sup>-1</sup>. Las placas se incubaron a 37 °C durante 48 h y la producción de celulosa se determinó mediante la tinción del medio de cultivo con una solución de Rojo Congo (0,5 %). La presencia de un halo de hidrólisis alrededor de la colonia indicó producción de enzimas celulolíticas. Se utilizó el método no paramétrico de las tres cruces para indicar las cantidades relativas de estas enzimas. Abundante (+++), moderado (++) , bajo (+), ausencia (-).

#### **3.1.7. Producción de cianuro de hidrógeno (HCN)**

Se utilizó el método de Lorck (1948) para determinar la capacidad de producción de cianuro de hidrógeno de los aislados bacterianos. El medio Agar Nutriente se suplementó con 4,4 g L<sup>-1</sup> de glicina y se autoclavó a 121 °C durante 20 min. Los aislados se sembraron por estrías en placas Petri con la ayuda de un asa de

siembra. Posteriormente se humedeció una capa de papel de filtro Whatman No. 1, en una solución compuesta por carbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) al 2% y ácido pícrico 0,5 %. El papel humedecido se colocó en la tapa superior de la placa Petri y posteriormente se selló con para-film. Las placas Petri se incubaron a 37 °C durante cuatro días. El cambio de coloración de amarillo a naranja-rojizo indicó la producción de cianuro de hidrógeno. Se utilizó como control una placa Petri con medio de cultivo sin inocular.

### 3.2. Enfrentamiento dual entre aislados bacterianos y hongos fitopatógenos

Para la determinación de la actividad antagonica de los aislados frente a los hongos *Aspergillus niger* y *Fusarium* sp., se utilizó el método descrito por Adame-García *et al.* (2015). El enfrentamiento bacteria-hongo se realizó en medio Agar Czapek suplementado con 2 g L<sup>-1</sup> de extracto de levadura. Se distribuyeron uniformemente 100 µL de solución bacteriana ( $1 \times 10^8$  UFC mL<sup>-1</sup>) sobre 20 mL de medio de cultivo en placa Petri de 9 cm de diámetro. Posteriormente, se colocó en el centro de la placa un disco de 4 mm de diámetro del hongo con crecimiento activo. Como control negativo se utilizó una placa con medio de cultivo sin el aislado. Las placas se incubaron durante siete días a 37°C. Se midió el crecimiento del radio micelial a los siete días posterior a la inoculación. Se utilizaron cinco réplicas (caja Petri) por aislado para la determinación del promedio del diámetro micelial. El porcentaje de inhibición se calculó con la fórmula siguiente:

$$I (\%) = (DC - DT / DC) * 100$$

donde:

DC: diámetro del crecimiento del hongo en el plato control.

DT: diámetro del crecimiento del hongo en el plato que contiene el aislado bacteriano.

### 3.3. Procesamiento estadístico

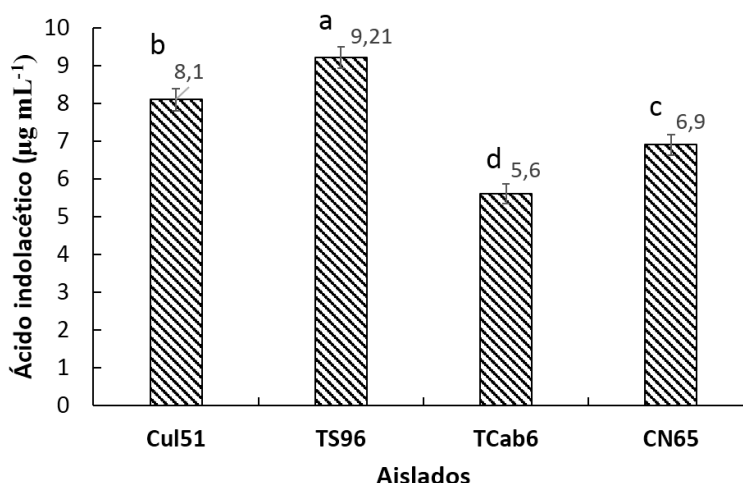
Todas las actividades bioquímicas se determinaron por triplicado. Los datos se procesaron según paquete Statgraphic plus 5.1 sobre WINDOW. Se determinó el ajuste a una Distribución Normal mediante la prueba de Bondad de Ajuste Kolmogorov-Smirnov y la Homogeneidad de Varianza mediante las Pruebas de

Bartlett. En los casos en que los datos cumplieron los requisitos exigidos se procesaron mediante ANOVA de clasificación simple o multifactorial y la Prueba de Rangos Múltiples de Tukey HSD ( $P \leq 0,05$ ). Los datos que no cumplieron con estas premisas fueron comparados mediante la Prueba de Kruskal-Wallis y la Prueba de Rangos Múltiples de Student-Newman-Kwels (SNK) ( $P \leq 0,05$ ).

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Producción de ácido 3-indolacético (AIA)

La producción de ácido 3-indolacético constituye una de las pruebas fundamentales para evaluar las potencialidades que poseen las RPCV como agentes bioestimuladores del crecimiento vegetal. Los resultados del análisis cuantitativo de la producción de AIA mostró que todos los aislados bacterianos evaluados producen esta auxina en un rango entre 5,5 y 9,3  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Los valores más elevados se obtuvieron con el aislado TS96, mientras que las concentraciones más bajas correspondieron a TCab6 (Figura 3).



**Figura 3.** Producción de ácido 3-indolacético por los aislados bacterianos. Letras distintas indican diferencias significativas entre aislados según Prueba de Newman-Keuls ( $P \leq 0,05$ ).

Los resultados obtenidos coinciden con otros trabajos donde se obtuvieron contenidos similares de AIA ( $1,41 - 8,95 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) con cepas de *Bacillus subtilis* (Ali *et al.*, 2020) y con aislados de *Bacillus* spp. ( $3,85$  y  $11,65 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) obtenidos de la rizosfera de plantas de maní (*Arachis hipogea* L.) (Thakur y Parikh, 2018). Otros autores observaron contenidos superiores de AIA con cepas de *B. subtilis* BRBac4 y *B. siamensis* BRBac21, las cuales expresaron valores entre  $9,7$  y  $16,4 \mu\text{g mL}^{-1}$  (Manikandan *et al.*, 2022). Contrariamente, Mohammed *et al.* (2022) refirieron valores inferiores con distintas especies de *Bacillus* como *B.*

*megaterium* ( $0,805 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), *B. subtilis* ( $1,124 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) y *B. cereus* ( $0,736 \mu\text{g mL}^{-1}$ ).

Las diferencias observadas con relación a los niveles de AIA en la presente investigación y en otros trabajos similares, pueden estar asociadas con factores genotípicos (especie/cepa), el medio de cultivo utilizado, el tiempo y las condiciones de crecimiento, así como la concentración de L-triptófano utilizada, el cual es un precursor del AIA (Buensanteai *et al.*, 2013).

La capacidad de producción de ácido 3-indolacético por los aislados estudiados, constituye un rasgo importante como indicador de la promoción del crecimiento vegetal, ya que esta fitohormona tiene funciones esenciales en el alargamiento y la división celular, la germinación y el crecimiento de las raíces, lo que permite aumentar el volumen radical de las plantas y elevar la absorción de agua y sales minerales (Rafanomezantsoa *et al.*, 2022; Jan *et al.*, 2023). Este regulador del crecimiento es especialmente importante en condiciones de déficit hídrico, donde puede ser un mecanismo de supervivencia y una vía para aliviar este estrés abiótico.

En trabajos previos realizados con una cepa de *Bacillus subtilis* productora de AIA, se observó una estimulación del proceso de germinación y el crecimiento vegetativo de plántulas de trigo (*Triticum aestivum* L.) y fabas (*Vicia faba* L.), así como de otros indicadores fisiológicos el peso fresco y seco de estos cultivos (Yousef, 2018). De manera similar, otros bacilos productores de AIA incrementaron la longitud, la masa y el rendimiento del tomate (*Solanum lycopersicum* L.) (Mena-Violante y Olalde-Portugal, 2007); el número de raíces laterales y pelos absorbentes en *Triticum aestivum* L. (Fatima *et al.*, 2009) y el desarrollo radicular de la soya (*Glycine max* L.) (Reetha *et al.*, 2014).

#### **4.2. Producción de amonio y solubilización de fosfatos inorgánicos**

La producción de amonio y la solubilización de fosfatos inorgánicos son caracteres que se evalúan en trabajos de bioprospección, en la búsqueda de microorganismos biofertilizadores, ya que el amonio y los fosfatos son fuentes de nitrógeno y fósforo para el crecimiento de las plantas. Todos los aislados evaluados produjeron amonio en cantidades moderadas y solubilizaron fosfato

tricálcico en el medio de cultivo (Tabla 2). Con relación a este último indicador, el aislado TCab6 mostró la mayor eficiencia de solubilización con un valor de 183,44%, superior al resto de los aislados analizados.

**Tabla 2.** Producción de amonio y actividad solubilizadora de fosfato inorgánico por los aislados rizosféricos.

Aislados	Actividad	
	Producción de amonio	Eficiencia de solubilización (%) ± EE
Cul51	++	36,06 <sup>d</sup> ± 1,14
TS96	++	41,24 <sup>c</sup> ± 1,36
TCab6	++	183,44 <sup>a</sup> ± 19,79
CN65	++	55,46 <sup>b</sup> ± 8,34

Abundante (+++), moderado (++) , bajo (+), ausencia (-).

Los resultados obtenidos están en correspondencia con otros trabajos donde se demostró la capacidad del género *Bacillus* para producir amonio. Un análisis de bioprospección con más de 70 aislados bacterianos realizado por Duman y Soyulu (2019), evidenció que el 100% de los microorganismos (entre estos *Bacillus* spp.) eran capaces de producir amonio en agua de peptona. De manera similar, el estudio de las RPCV *Bacillus megaterium*, *B. subtilis* y *B. cereus* demostró que estas especies tienen la capacidad de producir amonio a partir de agua peptona (Mohammed *et al.*, 2022). Las diferencias con relación a las cantidades de amonio producidas dependen de factores genotípicos, las condiciones de cultivo y el tiempo de crecimiento.

La capacidad de producir amonio por los aislados evaluados es una característica importante, ya que este compuesto puede ser incorporado a las plantas por las raíces y estimular el crecimiento de las mismas de manera directa (Banik *et al.*, 2019). Estudios con aislados bacterianos productores de amonio demostraron la capacidad de estos microorganismos para estimular el alargamiento del brote y las raíces en plántulas de maíz (*Zea mays* L.) (Marques *et al.*, 2010).

Numerosas investigaciones también avalan la capacidad de las especies de *Bacillus* spp. de solubilizar fosfato inorgánico (Mohammed *et al.*, 2022; Jan *et al.*,

2023). Trabajos similares con las cepas *B. subtilis* BRBac4 y *B. siamensis* BRBac21 refirieron valores entre 148 y 176,6% (Manikandan *et al.*, 2022), los cuales son inferiores a los obtenidos en la presente investigación con TCab6 (183,4%) y superiores al resto de los aislados evaluados. La solubilización de fosfato tricálcico por los aislados estudiados puede estar relacionada con la producción de ácidos orgánicos en el medio de cultivo, los cuales disminuyen el pH y solubilizan el fósforo que se encuentra de forma no asimilable para las plantas (Bhardwaj *et al.*, 2014).

Los microorganismos con capacidad de solubilizar fosfatos y otros minerales se consideran agentes biofertilizantes, y tienen funciones esenciales en los ecosistemas. Esto se debe a que la mayor parte del fósforo en el suelo se presenta de forma no asimilable para las plantas, y este elemento es un macronutriente indispensable para el crecimiento y desarrollo de las mismas (Jan *et al.*, 2023).

En trabajos realizados con aislados de *Bacillus* spp. solubilizadores de fosfatos, se obtuvo un aumento de los rendimientos en cultivos como *Fragaria* sp. (Pirlak y Köse, 2009). De manera similar, la aplicación de inóculos de *Bacillus* spp. solubilizadores de fosfatos incrementaron el contenido de clorofilas en *Brassica juncea* L. (Kang *et al.*, 2014) y la eficiencia fotosintética de *Capsicum chinense* (Samaniego-Gómez *et al.*, 2016).

#### **4.3. Producción de metabolitos con propiedades antagonistas de hongos fitopatógenos**

En la presente investigación se determinó la producción cualitativa de varias enzimas líticas y cianuro de hidrógeno, con propiedades antagonistas de organismos fitopatógenos (Tabla 3). Todos los aislados produjeron  $\beta$ -1,3-glucanasas y/o quitinasas, proteasas y celulasas, aunque en proporciones diferentes. Cul51 y TS96 sintetizaron cantidades abundantes de  $\beta$ -1,3-glucanasas y/o quitinasas y proteasas. CN65 produjo  $\beta$ -1,3-glucanasas y/o quitinasas y proteasas en cantidades moderadas, mientras que en el caso de TCab6 se observaron contenidos bajos de  $\beta$ -1,3-glucanasas / quitinasas y moderados de proteasas. No se detectó la producción de cianuro de hidrógeno por ninguno de los aislados.



**Tabla 3.** Producción de compuestos bioactivos por los aislados rizosféricos, con propiedades antagonistas de organismos fitopatógenos.

Aislados	Metabolitos			
	$\beta$ -1,3-glucanasas y/o quitinasas	Proteasas	Celulasas	Cianuro de hidrógeno
Cul51	+++	+++	+	-
TS96	+++	+++	++	-
TCab6	+	++	+	-
CN65	++	++	++	-

Abundante (+++), moderado (++), bajo (+), ausencia (-).

Los resultados obtenidos coinciden con numerosos autores quienes refirieron la producción de estas enzimas hidrolíticas por distintas especies del género *Bacillus* como *B. subtilis* FJ3 (Jan *et al.*, 2023), *B. subtilis* BRBac4 y *B. siamensis* BRBac21 (Manikandan *et al.*, 2022), *B. subtilis*, *B. cereus* y *B. megaterium* (Mohammed *et al.*, 2022), *B. subtilis* cepas NS1, NS2, NS4 y NS6 (Ali *et al.*, 2020) y *B. subterraneus* cepa CF1.9 (Syed *et al.*, 2020). Otros autores, por el contrario, refirieron la producción HCN por especies de bacilos con propiedades promotoras del crecimiento vegetal (Mohammed *et al.*, 2022).

La producción de estas enzimas hidrolíticas sugiere la presencia de mecanismos antagonistas de hongos fitopatógenos en los aislados evaluados. Las enzimas quitinasas, proteasas, celulasas y glucanasas de *Bacillus* spp. pueden deformar y destruir las hifas de los hongos. Esto provoca alternaciones en la estructura y funciones celulares debido a la ruptura de las membranas celulares, lo cual afecta procesos como la vacuolización y el intercambio a través de la membrana citoplasmática (Radhakrishnan *et al.*, 2017).

#### 4.4. Actividad antagonista de los aislados rizosféricos frente a hongos fitopatógenos

La actividad antagonista de los aislados rizosféricos evaluados frente a *Aspergillus niger* se observa en las Figuras 4 y 5. Los mejores resultados se obtuvieron con Cul51 y TS96 con porcentajes de inhibición por encima de un 90% y sin diferencias entre ambos. Los aislados CN65 y TCab6 mostraron actividades inferiores con valores de 33,92 y 24,38%, respectivamente.

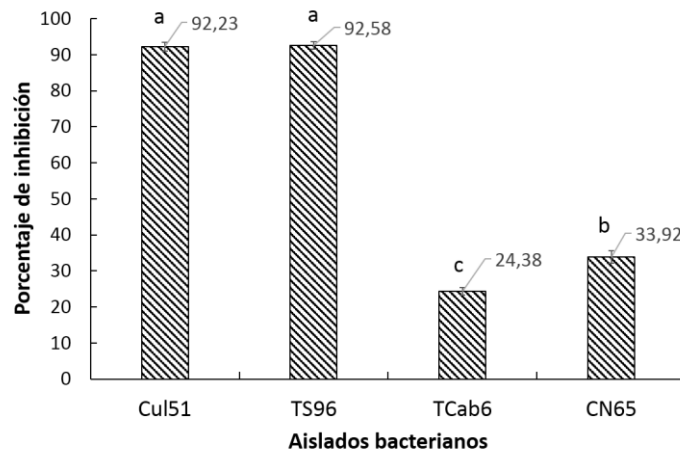


Figura 3. Actividad antagonista de los aislados bacterianos frente a *Aspergillus niger*. Letras distintas indican diferencias significativas entre aislados según Prueba de Newman Keuls ( $p < 0,05$ ).

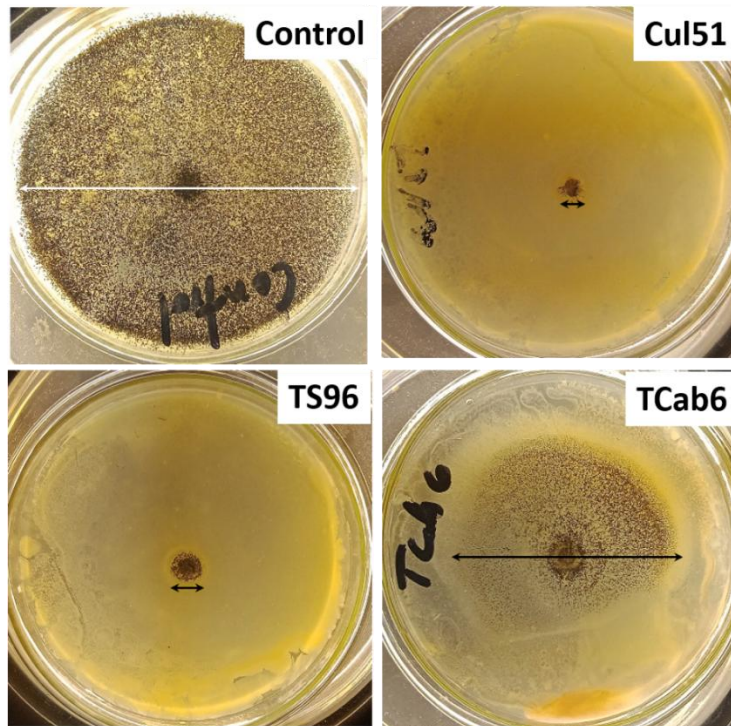


Figura 5. Inhibición del crecimiento de *Aspergillus niger* por aislados bacterianos. La línea oscura con doble fecha en el centro de las placas, indica el diámetro del crecimiento micelial a los siete días de inoculación.

En las Figuras 6 y 7 se muestra el resultado de la actividad inhibitoria de los aislados bacterianos frente a *Fusarium* sp. Los valores más elevados de

inhibición se obtuvieron con Cu151 (89,3%) y TS96 (84%), seguido de TCab6 y CN65, respectivamente.

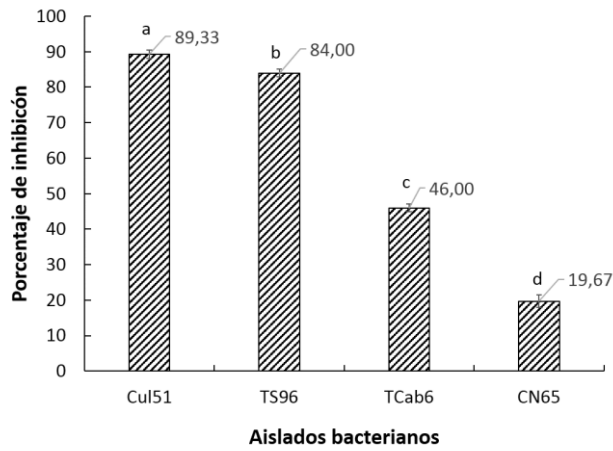


Figura 6. Actividad antagonista de los aislados bacterianos frente al hongo *Fusarium* sp. Letras distintas indican diferencias significativas entre aislados según Prueba de Newman Keuls ( $p < 0,05$ ).

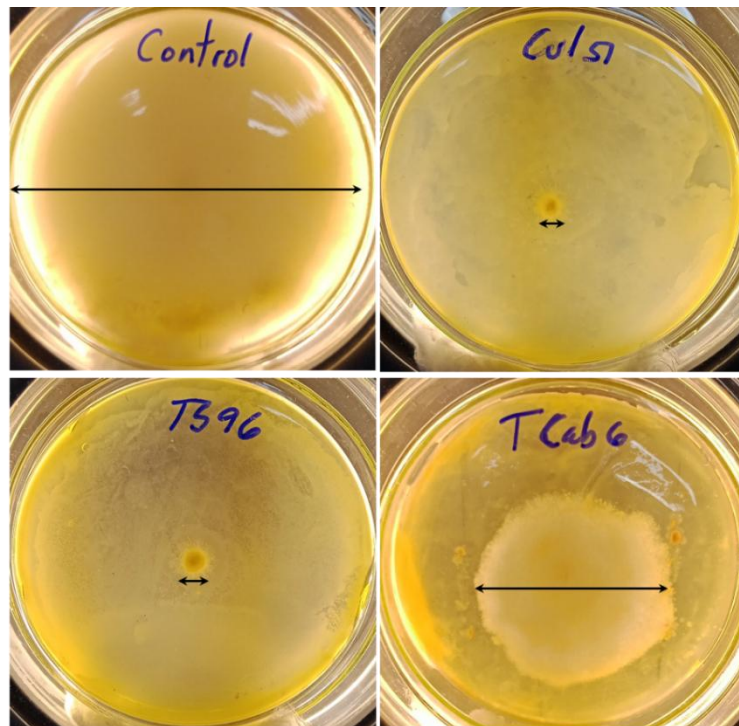


Figura 7. Inhibición del crecimiento del hongo *Fusarium* sp. por los aislados bacterianos. La línea oscura con doble fecha en el centro de las placas, indica el diámetro del crecimiento micelial a los siete días de inoculación.

La actividad antagonista obtenida con los aislados Cul51 y TS96 es similar a la referida por Jan *et al.* (2023) con cepas de *Bacillus* spp. Estos autores obtuvieron porcentajes de inhibición del 90% frente a *Aspergillus niger*, 92% frente a *Fusarium oxysporum* y 81,5% en el caso de *Aspergillus flavus*. Los resultados obtenidos son superiores a otros bacilos con propiedades antagonistas, donde se observaron valores de inhibición del crecimiento entre 40 y 80% frente a *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Rhizoctonia solani* y *Colletotrichum gloeosporioides* (Ali *et al.*, 2020). Estos autores relacionaron la actividad antagonista observada con la presencia de mecanismos variados como la producción de sustancias antibióticas como surfactinas y fengicinas, compuestos sideróforos y enzimas líticas como quitinasas y proteasas.

Las actividades antagonistas de Cul51 y TS96 frente a *Fusarium* sp. también son superiores a los valores referidos por Mohammed *et al.* (2022), quienes obtuvieron porcentajes de inhibición frente a *F. oxysporum* de 36% con *B. subtilis*, 43% con *B. megaterium* y 32% con *B. cereus*. De manera similar, Agha *et al.* (2023) refirieron porcentajes inferiores (70-74%) de inhibición frente a este mismo hongo con las especies *B. velezensis*, *B. amyloliquefaciens* y *B. subtilis*. En otros trabajos se demostró la efectividad de *Bacillus subtilis* frente a *Fusarium oxysporum*, al reducir de manera significativa la cantidad de conidios germinados cuando se aplicaron conjuntamente al cultivo de la uva (Russi *et al.*, 2022).

La actividad antagonista de los aislados rizosféricos puede estar relacionada con la producción de enzimas líticas observada en los ensayos bioquímicos, que constituye uno de los mecanismos eficientes de biocontrol de las RPCV (Mohammed *et al.*, 2022). Los aislados Cul51 y TS96 produjeron cantidades abundantes de quitinasas y/o  $\beta$ -1,3-glucanasas, las cuales tienen la capacidad de degradar la pared celular de los hongos (Caulier *et al.*, 2019; Miljaković *et al.*, 2020).

Las quitinasas tienen una función fundamental en la actividad antifúngica, ya que estos biocatalizadores degradan la quitina, un polímero lineal insoluble formado por  $\beta$ -1,4-N-acetil-glucosamina y que constituye el componente mayoritario de las paredes celulares de los hongos. Estudios previos demostraron que las

quitinasas producida por *Bacillus subtilis* ATCC1774 y *B. cereus* CRS7 disminuyen el crecimiento de *Rhizoctonia solani* (Saber *et al.*, 2015) y *B. cinerea*, respectivamente (Kishore y Pande, 2007).

De manera similar, las enzimas  $\beta$ -1,3-glucanasas producidas por los aislados pueden afectar el crecimiento de los hongos. Estudios similares evidenciaron que las  $\beta$ -1,3-glucanasas sintetizadas por cepas de *Paenibacillus* y *Streptomyces* spp., pueden degradar las paredes celulares del hongo fitopatogeno *Fusarium oxysporum*; mientras que la  $\beta$ -1,3-glucanasa expresada por *Bacillus cepacia* destruye las paredes celulares de otros hongos fitopatogenos como *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii* (Compant *et al.*, 2005).

Los aislados Cul51 y TS96 también produjeron cantidades abundantes de proteasas, las cuales pueden contribuir a la acción inhibitoria sobre los hongos evaluados. La aplicación de una proteasa alcalina obtenida a partir de *Bacillus amyloliquefaciens* cepa SP1, y posteriormente obtenida por vía heteróloga en *Escherichia coli*, sobre *Fusarium oxysporum*, provocó la inhibición del crecimiento de este hongo (Guleria *et al.*, 2016).

Estudios recientes con *B. pumilus* CV9 demostraron la importancia de las enzimas hidrolíticas producidas por los aislados evaluados en la presente investigación, en la inhibición del crecimiento de hongos fitopatogenos (Sharma *et al.*, 2019). Estos investigadores observaron una producción de quitinasas, glucanasas y proteasas por esta cepa de *B. pumilus*, la cual inhibió varios hongos como: *Alternaria alternata*, *Colletotrichum capsici*, *Fusarium oxysporum* f. sp. ciceri, *Fusarium solani*, *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* y *Sclerotinia sclerotiorum*.

Por otra parte, los aislados bacilares evaluados pueden ejercer su acción inhibitoria a través de otros compuestos bioactivos, que pueden ser de naturaleza peptídica sintetizados en los ribosomas, o a través de metabolitos no ribosomales (no proteicos). Estudios con *Bacillus amyloliquefaciens* FS6 demostraron que la producción de la proteína APC2 previó la infección frente *Fusarium solani* (Saikia *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2020a).

Los lipopolipéptidos cíclicos de las familias iturina, surfactina y fengicina también poseen actividad antifúngica y son producidos por numerosas especies de

*Bacillus*. Los compuestos de las familias iturina y fengicina se caracterizan por provocar daños en las hifas y los conidios de numerosos hongos fitopatógenos como *Fusarium graminearum* (Hanif *et al.*, 2019). De manera similar, las iturinas son compuestos antimicrobianos que muestran una actividad antifúngica eficiente frente a hongos filamentosos tales como *C. gloeosporioides* (Jin *et al.*, 2020) y *Aspergillus flavus* (Gong *et al.*, 2014). Estos compuestos ejercen su acción antimicrobiana mediante la formación de poros en las membranas de los hongos fitopatógenos que conllevan a la muerte de los mismos (Zakharova *et al.*, 2019).

Aunque en el presente estudio no se detectó la producción de cianuro de hidrógeno por los aislados, es posible que en la actividad antagonista observada intervengan otros compuestos orgánicos volátiles (COV). Está bien documentada la producción de estos metabolitos por *Bacillus* spp. y su efecto antagonico sobre hongos fitopatógenos (De la Cruz-López *et al.* 2022; Ramírez *et al.* 2022). En trabajos similares se observó un efecto antagonico de los COV frente a plagas fungosas tales como *Sclerotinia sclerotiorum* (Lim *et al.*, 2017), *Botrytis cinerea* (Jiang *et al.*, 2018) y *Alternaria solani* (Zhang *et al.*, 2020).

La actividad antagonista de Cul51 y TS96 frente a los hongos evaluados constituye un resultado importante, ya que *Aspergillus niger*, conocido como el moho negro, es una especie común del género *Aspergillus* que abunda en suelos y ambientes interiores (Rodrigues *et al.*, 2022). Esta especie muestra efectos fitopatogénicos que provocan la enfermedad del moho negro en numerosos frutos y vegetales (Pawar *et al.*, 2008). Este hongo también es responsable del hollinamiento mohoso de las cebollas y de las plantas ornamentales (Silva *et al.*, 2021; El-Baky *et al.*, 2022).

Las especies del género *Fusarium* representan una de las principales comunidades de hongos fitopatógenos que afecta a los cultivos en Cuba y el resto del mundo. Este hongo puede ocasionar enfermedades en raíces, vástagos, hojas y fruto, con un impacto económico importante (Cabrera *et al.*, 2019). Por otra parte, este género produce y acumula micotoxinas directamente sobre los granos de los cultivos, lo que afecta la calidad del producto y puede

constituir un problema significativo para la salud de los humanos y los animales (Syed *et al.*, 2023).

Los resultados obtenidos con los aislados TS96 y Cul51 sugieren potencialidades elevadas de estos microorganismos en el control de hongos fitopatógenos, así como efectos positivos en la estimulación de procesos fisiológicos que potencian el crecimiento y desarrollo de las plantas. Estudios realizados por Ali *et al.* (2020) con semillas de *Eruca vesicaria* var. Roquette infestadas con *Pythium* e inoculadas con cepas de *Bacillus subtilis*, desarrollaron una mayor altura, longitud de la raíz, biomasa y porcentaje de supervivencia, en comparación con las plantas controles inoculadas solamente con el organismo patógeno. En otros trabajos relacionados donde se inocularon plantas de *Triticum aestivum* L. cv. Zarlisht con *Bacillus amyloliquefaciens* BCB16 y *Fusarium oxysporum*, se observó un mayor índice de vigor, peso seco y fresco, número de hojas y raíces e índice de enfermedad, en comparación con las plantas testigos infestadas con el organismo patógeno (Agha *et al.*, 2023).

#### **4.5. Valoración económica**

Durante el siglo pasado, la industrialización de la agricultura provocó un incremento sustancial de la productividad de los cultivos y la disponibilidad de alimentos. Unido a este resultado, aparecieron serios problemas ambientales y sociales, que deben ser enfrentados y resueltos a corto y mediano plazo. Actualmente, es necesario mantener producciones elevadas, pero con el mínimo impacto sobre el medio ambiente. Por lo tanto, se deben encaminar esfuerzos por desarrollar una agricultura ambientalmente sostenible, donde se preserven los ecosistemas y la biodiversidad.

Una vía potencial para disminuir los efectos negativos del uso de fertilizantes químicos, herbicidas y pesticidas, es el empleo de bacterias promotoras del crecimiento de plantas, en especial las del género *Bacillus*. La diversidad de mecanismos biológicos que poseen estos microorganismos en el biocontrol de hongos fitopatógenos y en la estimulación del crecimiento de los cultivos, indican un potencial elevado de estos microorganismos como alternativa al uso de

agroquímicos (Jan *et al.*, 2023). Por otra parte, *Bacillus* spp. permiten que puedan ser utilizadas en consorcio y elevar el efecto total sobre los cultivos.

La producción de sustancias reguladoras del crecimiento como auxinas, giberelinas y citoquininas por las BPCV, constituye un mecanismo bien establecido para estimular el crecimiento de las raíces de las plantas; por lo cual, aumenta la capacidad de absorción de agua y sales minerales en condiciones normales o en presencia de déficit hídrico. Esto es un aspecto importante a tener en consideración, ya que numerosos cultivos en Cuba se desarrollan en condiciones de secano; por lo tanto, la posibilidad de desarrollar productos a base de RPCV que estimulen el desarrollo radical de las plantas, es esencial para reducir el impacto del déficit hídrico en el crecimiento y productividad de los cultivos.

Por otra parte, la obtención de aislados productores de AIA puede constituir una vía para desarrollar productos enraizadores de esquejes o estacas, en cultivos donde se utiliza la multiplicación vegetativa como forma fundamental de propagación. Esto contribuye a elevar la eficiencia del proceso al aumentar el porcentaje de supervivencia. Además, el uso de esta fitohormona obtenida a partir de las RPCV en el cultivo *in vitro*, puede ser importante en numerosas técnicas como la micropropagación vegetal. Esto reduciría los costos de producción en las biofábricas y la sustitución de importaciones por concepto de compra de fitohormonas.

Los aislados solubilizadores de fosfatos también pueden contribuir al desarrollo de nuevos biofertilizantes. De acuerdo con Vessey (2003), los biofertilizantes son definidos como sustancias que contienen microorganismos vivos y cuando se aplican a semillas, a superficies de plantas o al suelo, estos colonizan la rizosfera de la planta y estimulan el crecimiento mediante el incremento de la disponibilidad de nutrientes como el nitrógeno, el fósforo y el hierro, entre otros elementos, en la planta hospedera. El aislado TCab6 puede ser un candidato a tener en cuenta como agente biofertilizante debido a la capacidad que mostró de solubilizar fosfato tricálcico, el cual constituye la forma más insoluble entre los fosfatos inorgánicos. Estos microorganismos constituyen una alternativa a los



fertilizantes químicos y minerales que tienen un costo elevado en el mercado. Además, permiten elevar el rendimiento de los cultivos con un impacto mínimo sobre el medio ambiente, y así potenciar el desarrollo de una agricultura sostenible (Babalola, 2010).

El ataque de plagas y enfermedades a los cultivos tropicales constituye una de las causas fundamentales de disminución de los rendimientos agrícolas. Por esta razón, se dedican numerosos recursos para el control de estos organismos patógenos. El empleo de aislados bacterianos con actividad antagonista, permite no solo disminuir los gastos por concepto de compra de insumos, sino también reducir el impacto ambiental y producir alimentos más sanos. Por ello, la actividad antagonista elevada frente a *Aspergillus niger* y *Fusarium* sp. por los aislados Cul51 y TS96, constituye un resultado fundamental de este trabajo ya que pueden ser considerados candidatos para el desarrollo de productos biológicos para el control biológico.

Por otra parte, las enzimas microbianas como las celulasas y las proteasas se utilizan en la actualidad en numerosos procesos tecnológicos, que abarcan diferentes campos como la industria alimenticia, la farmacéutica, la industria del papel y del detergente, entre otras. La capacidad de Cul51 y TS96 de producir proteasas, puede representar una vía para la obtención de estas enzimas con diferentes usos industriales.

## V. CONCLUSIONES

- Todos los aislados evaluados mostraron propiedades promotoras del crecimiento vegetal al producir ácido 3-indolacético, amonio y solubilizar fosfato inorgánico. TS96 mostró los niveles más elevados de AIA ( $9,3 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), mientras que TCab6 resultó el de mayor actividad solubilizadora de fosfato tricálcico con una eficiencia solubilizadora de 183,44%.
- Los aislados Cul51 y TS96 produjeron cantidades abundantes de quitinasas y/o  $\beta$ -1,3-glucanasas y proteasas en el medio de cultivo.
- Los aislados Cul51 y TS96 mostraron las mayores actividades antagonistas frente a *Aspergillus niger* (índice de inhibición superior a un 90%) y a *Fusarium* sp. (superior a 80%), lo cual puede estar relacionado con la producción abundante de enzimas hidrolíticas por estos aislados.

## VI. RECOMENDACIONES

- Evaluar la actividad antagónica de los aislados estudiados frente a otros hongos fitopatógenos de incidencia común en el cultivo del frijol.
- Determinar el efecto de los aislados en los procesos de germinación y crecimiento vegetativo del frijol.
- Identificar taxonómicamente los aislados bacterianos, así como las posibles sustancias antibióticas de efectos antagonistas.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbas, R., Rasul, S., Aslam, K., Baber, M., Shahid, M., Mubeen, F. 2019. Halotolerant PGPR: a hope for cultivation of saline soils. *J. King Saud Univ. Sci.* 31: 1195–1201. Doi: 10.1016/j.jksus.2019.02.019.
- Abo-Elyousr, K.A.M. y Hassan, S.A. 2021. Biological control of *Ralstonia solanacearum* (Smith), the causal pathogen of bacterial wilt disease by using *Pantoea* spp. *Egyptian Journal of Biological Pest Control.* 31(1): 2–8. Doi:10.1186/s41938-021-00460-z.
- Adame-García, J., Luna-Rodríguez, M. y Iglesias-Andreu, L.G. 2015. Vanilla Rhizobacteria as antagonists against *Fusarium oxysporum* f. sp. vanillae. *International Journal of Agriculture & Biology.* ISSN Print: 1560–8530. DOI: 10.17957/IJAB/15.0053.
- Adedayo, A.A., Babalola, O.O., Prigent-Combaret, C., Cruz, C., Stefan, M., Kutu, F. y Glick, B.R. 2022. The application of plant growth-promoting rhizobacteria in *Solanum lycopersicum* production in the agricultural system: a review. *Peer J.* 10:e13405. Doi:10.7717/peerj.13405
- Adikaram, N.K.B. y Yakandawala, D.M.D. 2020. A Checklist of Plant Pathogenic Fungi and Oomycota in Sri Lanka. *Ceylon J. Sci.* 49: 93-99.
- Agha, S.I., Maghfoor, U., Khan, A., Jahan, N. Syed, M.U., Tabassum, B., Parveen, S., Rehmat, Z., Hussain, A., Sagheer, A. y Hamdard, M.H. 2023. Biocontrol rhizobacteria enhances growth and yield of wheat (*Triticum aestivum*) under field conditions against *Fusarium oxysporum*, *Bioengineered.* 14:1, 2260923, DOI: 10.1080/21655979.2023.2260923.
- Alexander, M. 1977. *Introduction to soil microbiology* (2nd ed.). New York, NY: Wiley. 1977.
- Ali, S., Hameeda, S., Shahida, M., Iqbala, M., Lazarovitse, G. y Imrana, A. 2020. Functional characterization of potential PGPR exhibiting broad-spectrum antifungal activity. *Microbiological Research,* 232, 126389. Doi:10.1016/j.micres.2019.126389.
- Alwahshi, K.J., Purayil, G.P., Saeed, E.E., Abufarajallah, H.A., Aldhaheeri, S.J., AbuQamar, S.F. 2022. The ACC deaminase-producing *Streptomyces violaceoruber* UAE1 can provide further protection from sudden decline syndrome on date palm. *Front. Plant Sci.* 13:904166. Doi: 10.3389/fpls.2022.904166.
- Anckaert, A., Arguelles, A., Hoff, G., Calonne-Salmon, M., Declerck, S. y Ongena, M. 2022. The use of *Bacillus* spp. as bacterial biocontrol agents to control plant diseases. In Köhl, J. and Ravensberg, W. (ed.), *Microbial bioprotectants for plant disease management*, Burleigh Dodds Science Publishing, Cambridge, UK, 2022, (ISBN: 9781786768131). Doi:10.19103/AS.2021.0093.10.
- Baas, P., Mohan, J.E., Markewitz, D. y Knoepp, J.D. 2014. Assessing heterogeneity in soil nitrogen cycling: a plot-scale approach. *Soil Science Society of America Journal.* 78: 237-247.
- Babalola, O.O. 2010. Beneficial bacteria of agricultural importance. *Biotechnology Letters.* 32: 1559-1570.
- Banik, A., Dash, G.K., Swain, P., Kumar, U., Mukhopadhyay, S.K. y Dangar, T.K. 2019. Application of rice (*Oryza sativa* L.) root endophytic diazotrophic

- Azotobacter* sp. strain Avi2 (MCC 3432) can increase rice yield under green house and field condition. *Microbiol. Res.* 219: 56–65.
- Bashan, Y., de Bashan, L.E., Prabhu, S.R., y Hernandez, J.P. 2014. Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998–2013). *Plant Soil.* 378: 1–33. Doi: 10.1007/s11104-013-1956-x.
- Beltrán, P.E.M. 2014. La solubilización de fosfatos como estrategia microbiana para promover el crecimiento vegetal. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria.* 15(1): 101-113.
- Beris, D., Theologidis, I., Skandalis, N. y Vassilakos, N. 2018. *Bacillus amyloliquefaciens* strain MBI600 induces salicylic acid dependent resistance in tomato plants against Tomato spotted wilt virus and Potato virus Y. *Sci. Rep.* 8(1): 10320. Doi: 10.1038/s41598-018-28677-3.
- Bhardwaj, D., Ansari, M.W., Sahoo, R.K. y Tuteja, N. 2014. Biofertilizers function as key player in sustainable agriculture by improving soil fertility, plant tolerance and crop productivity. *Microbial Cell Factories.* 13 (66): 1-10.
- Bhat, M.A., Kumar, V., Bhat, M.A., Wani, I.A., Dar, F.L. y Farooq, I. 2020. Mechanistic insights of the interaction of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) with plant roots toward enhancing plant productivity by alleviating salinity stress. *Front. Microbiol.* 11:1952. doi: 10.3389/fmicb.2020.01952.
- Buensanteai, N., Sompong, M., Thamnu, K., Athinuwat, D., Brauman, A. and Plassard, C. 2013. The plant growth promoting bacterium *Bacillus* sp. CaSUT007 produces phytohormone and extracellular proteins for enhanced growth of cassava. *African Journal of Microbiology Research.* 7 (42): 4949-4954.
- Cabrera, R., Palafox-Félix, S. y Calenzuela-Quintanar, A.I. 2019. Estrategias para el control del hongo fitopatógeno *Fusarium* en el sector agrícola: del control químico al control biológico. *Frontera Biotecnológica.* 3: 19-26. ISSN: 2448-8461.
- Cao, Y., Pi, H., Chandrangsu, P., Li, Y., Wang, Y. y Zhou, H. 2018. Antagonism of two plant growth promoting *Bacillus velezensis* isolates against *Ralstonia solanacearum* and *Fusarium oxysporum*. *Sci Rep.* 8(1):1–14.
- Cappuccino, J.G. y Sherman, N. 1992. Biochemical activities of microorganisms. In: *Microbiology, A Laboratory Manual.* The Benjamin/ Cummings Publishing Co. California, USA.
- Caulier, S., Nannan, C., Gillis, A., Licciardi, F., Bragard, C. y Mahillon, J. 2019. Overview of the antimicrobial compounds produced by members of the *Bacillus subtilis* group, *Front. Microbiol.* 10(3): 30-39. Doi: 10.3389/fmicb.2019.00302.
- Cheng, X., Ji, X., Li, J., Qi, W., Ge, Y. y Qiao, K. 2019. Characterization of antagonistic *Bacillus methylotrophicus* isolated from rhizosphere and its biocontrol effects on maize stalk rot. *Phytopathology.* 109: 571–581. Doi: 10.1094/phyto-07-18-0220-r.
- Compant, S., Duffy, B., Nowak, J., Clement, C. y Barka, E.A. 2005. Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: Principles, mechanisms of action, and future prospects. *Applied and Environmental Microbiology.* 71: 4951–4959. Doi:10.1128/AEM.71.9.4951-4959.

- Crouzet, J., Arguelles-Arias, A., Dhondt-Cordelier, S., Cordelier, S., Pršić, J., Hoff, G., Mazeyrat-Gourbeyre, F., Baillieul, F., Clément, C., Ongena, M. y Dorey, S. 2020. Biosurfactants in plant protection against diseases: rhamnolipids and lipopeptides case study, *Front. Bioeng. Biotechnol.* 8(1014), 1014. Doi: 10.3389/fbioe.2020.01014.
- Cucu, M.A., Gilardi, G., Pugliese, M., Gullino, M.L. y Garibaldi, A. 2020. An assessment of the modulation of the population dynamics of pathogenic *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici in the tomato rhizosphere by means of the application of *Bacillus subtilis* QST 713, *Trichoderma* sp. TW2 and two composts. *Biol. Control* 142: 1–10. Doi: 10.1016/j.biocontrol.2019.104158.
- De la Cruz-López N., Cruz-López L., Holguín-Meléndez F., Guillén-Navarro G.K. y Huerta-Palacios G. 2022. Volatile organic compounds produced by cacao endophytic bacteria and their inhibitory activity on *Moniliophthora roreri*. *Current Microbiology.* 79 (2): 35. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02696-2>.
- Debois, D., Fernandez, O., Franzil, L., Jourdan, E., de Brogniez, A., Willems, L., Clément, C., Dorey, S., De Pauw, E. y Ongena, M. 2015. Plant polysaccharides initiate underground crosstalk with bacilli by inducing synthesis of the immunogenic lipopeptide surfactin. *Environ. Microbiol. Rep.* 7(3): 570–582. Doi: 10.1111/1758-2229.12286.
- Deka, H., Deka, S. y Baruah, C. 2015. Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Value Addition: Mechanism of Action. *Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) and Medicinal Plants.* Springer: 9: 305-321.
- Dimkpa, C., Svatoš, A., Merten, D., Büchel, G. y Kothe, E. 2008. Hydroxamate siderophores produced by *Streptomyces acidiscabies* E13 bind nickel and promote growth in cowpea (*Vigna unguiculata* L.) under nickel stress. *Canadian Journal of Microbiology.* 54: 163-172.
- Dobrzyński J., Jakubowska, Z., Kulkova, I., Kowalczyk, P. y Kramkowski, K. 2023. Biocontrol of fungal phytopathogens by *Bacillus pumilus*. *Front. Microbiol.* 14:1194606. Doi: 10.3389/fmicb.2023.1194606.
- Duman, K. y Soyulu, S. 2019. Characterization of antagonistic and plant growth-promoting traits of endophytic bacteria isolated from bean plants against *Pseudomonas syringae* pv. Phaseolicola. *Plant Protection Bulletin*, 59 (3): 59-69. Doi: 10.16955/bitkorb.597214.
- Durrant, W.E. y Dong, X. 2004. Systemic acquired resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.* 42: 185–209.
- El-Baky, N.A., Rahman, R.A.A., Sharaf, M.M. y Fattah, A.A.A. 2022. The development of a phytopathogenic fungi control trial: *Aspergillus flavus* and *Aspergillus niger* infection in jojoba tissue culture as a model. *The Scientific World Journal.* Volume 2021, Article ID 6639850, 8 pages. Doi:10.1155/2021/6639850.
- Elnahal, A.S., El-Saadony, M.T., Saad, A.M., Desoky, E.S.M., El-Tahan, A.M. y Rady, M.M. 2022. The use of microbial inoculants for biological control, plant growth promotion, and sustainable agriculture: a review. *Eur. J. Plant Pathol.* 162: 759–792. Doi: 10.1007/s10658-021-02393-7.
- El-Saadony, M.T., Saad, A.M., Soliman, S.M., Salem, H.M., Ahmed, A.I., Mahmood, M., El-Tahan, A.M., Ebrahim, A.A.M., Abd El-Mageed, T.A., Negm, S.H., Selim, S., Babalghith, A.O., Elrys, A.S., El-Tarabily, K.A. y AbuQamar, S.F. 2022. Plant growth promoting microorganisms as biocontrol

- agents of plant diseases: Mechanisms, challenges and future perspectives. *Front. Plant Sci.* 13:923880. Doi: 10.3389/fpls.2022.923880.
- Faizal, A.M.M. y Lau, H.Y. 2022. Advanced diagnostic approaches developed for the global menace of rice diseases: a review. *Can. J. Plant Pathol.* 3: 1–25. Doi: 10.1080/07060661.2022.2053588.
- Fan, B., Blom, J., Klenk, H.P. y Borriss, R. 2017. *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus velezensis*, and *Bacillus siamensis* form an “operational group *B. amyloliquefaciens*” within the *B. subtilis* species complex. *Front. Microbiol.* 8(22): 22-29. Doi: 10.3389/fmicb.2017.00022.
- Faria, D.C., Dias, A.C., Melo, I.S. y de Carvalho-Costa, F.E. 2013. Endophytic bacteria isolated from orchid and their potential to promote plant growth. *World J Microbiol Biotechnol.* 29 (2): 217-221. Doi:10.1007/s11274-012-1173-4.
- Farías, L.S., Ramos, R., Pacios, S., Aguilar, C.N., Arredondo, R., Rodríguez, R., Martínez, J.L., Segura, E.P., Gonçalves, T. y Iliana, A. 2023. El control biológico como una alternativa para combatir las enfermedades y plagas de los cultivos agrícolas. *CienciAcierta.* 74: 55-68. ISSN: 2683-1848
- Farzand, A., Moosa, A., Zubair, M., Khan, A. R., Massawe, V. C., Tahir, H. A. S., Sheikh, T. M. M., Ayaz, M. y Gao, X. 2019. Suppression of *Sclerotinia sclerotiorum* by the induction of systemic resistance and regulation of antioxidant pathways in tomato using fengycin produced by *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42, *Biomolecules* 9(10): 1–17. Doi: 10.3390/biom9100613.
- Fatima, Z., Saleemi, M., Zia, M., Sultan, T., Aslam, M., Riaz-ur-Rehman, and Chaudhary, M.F. 2009. Antifungal activity of plant growth-promoting rhizobacteria isolates against *Rhizoctonia solani* in wheat. *Afr. J. Biotechnol.* 8: 219-225.
- Fazle, R.M. y Baek, K.H. 2020. Antimicrobial activities of lipopeptides and polyketides of *Bacillus velezensis* for agricultural applications. *Molecules* 25:4973. Doi: 10.3390/molecules25214973.
- Ferro, H.M., Souza, R., Lelis, F., Vieira, M., Silva, J.C.P.D. y Medeiros, F.H.V.D. 2020. Bacteria for cotton plant protection: disease control, crop yield and fiber quality. *Rev. Caatinga.* 33: 43–53. Doi: 10.1590/1983-21252020v33n105rc.
- Fones, H.N., Bebbler, D.P., Chaloner, T.M., Kay, W.T., Steinberg, G., Gurr, S.J. 2020. Threats to global food security from emerging fungal and oomycete crop pathogens. *Nat. Food.* 1: 332–342. Doi:10.1038/s43016-020-0075-0.
- Gava, C.A.T., Alves, Í.L.S. y Duarte, N.C. 2019. Timing the application of *Bacillus subtilis* QST 713 in the integrated management of the postharvest decay of mango fruits, *Crop Prot.* 121: 51–56. Doi: 10.1016/j.cropro.2019.03.013.
- Gaye, R. 2016. Plant growth-promoting bacteria from Western Australian soils. Tesis en opción al título de Doctor en Ciencias. Universidad de Murdoch, Australia.
- Gong, Q., Zhang, C., Lu, F., Zhao, H., Bie, X. y Lu, Z. 2014. Identification of bacillomycin D from *Bacillus subtilis* fmbJ and its inhibition effects against *Aspergillus flavus*. *Food Control.* 36 (1): 8–14. Doi: 10.1016/j.foodcont.2013.07.034.
- Goswami, D., Thakker, J.N., Dhandhukia, P.C. y Tejada-Moral, M. 2016. Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A

- review. *Cogent Food & Agriculture*. 2 (1): 1-12. Doi:10.1080/23311932.2015.1127500.
- Goswami, M. y Deka, S. 2020. Plant growth-promoting rhizobacteria—alleviators of abiotic stresses in soil: a review. *Pedosphere*. 30: 40–61. Doi: 10.1016/S1002-0160(19)60839-8.
- Guleria, S., Walia, A., Chauhan, A. y Shirkot, C.K. 2016. Molecular characterization of alkaline protease of *Bacillus amyloliquefaciens* SP1 involved in biocontrol of *Fusarium oxysporum*. *Int. J. Food Microbiol.* 232: 134–143. Doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2016.05.030.
- Guo, Y., Ren, G., Zhang, K., Li, Z., Miao, Y. y Guo, H. 2021. Leaf senescence: progression, regulation, and application. *Molecular Horticulture*. 1:5. Doi: 10.1186/s43897-021-00006-9.
- Hanif, A., Zhang, F., Li, P., Li, C., Xu, Y., Zubair, M., Zhang, M., Jia, D., Zhao, X., Liang, J., Majid, T., Yan, J., Farzand, A., Wu, H., Gu, Q. y Gao, X. 2019. Fengycin produced by *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 inhibits *Fusarium graminearum* growth and mycotoxins biosynthesis. *Toxins (Basel)*. 11(5): 1–11. Doi: 10.3390/toxins11050295.
- Hassan, Z.U., al Thani, R., Atia, F. A., Alsafran, M., Migheli, Q. y Jaoua, S. 2021. Application of yeasts and yeast derivatives for the biological control of toxigenic fungi and their toxic metabolites. *Environmental Technology and Innovation*. 22: 2-10. Doi:10.1016/j.eti.2021.101447.
- Hedden, P. y Thomas, S.G. 2012. Gibberellin biosynthesis and its regulation. *Biochemical Journal*. 444: 11-25.
- Herrera, R. y de Von Chong, M. 2022. Aislamiento y caracterización de bacterias con potencial antagonico para el control biológico de *Burkholderia glumae*, en la filósfera del cultivo de arroz en la República de Panamá. *Visión Antataura*. 6 (2): 28-40.
- Heyi, E.A., Dinka, M.O. y Mamo, G. 2022. Assessing the impact of climate change on water resources of upper awash river sub-basin. Ethiopia. *J. Water Land Dev*. 52: 232–244. Doi:10.24425/jwld.2022.140394.
- Jan, F., Arshad, H., Ahad, M., Jamal, A. y Smith, D.L. 2023. *In vitro* assessment of *Bacillus subtilis* FJ3 affirms its biocontrol and plant growth promoting potential. *Front. Plant Sci*. 14:1205894. Doi: 10.3389/fpls.2023.1205894
- Jiang, C.H., Liao, M.J., Wang, H.K., Zheng, M.Z., Xu, J.J. y Guo, J.H. 2018. *Bacillus velezensis*, a potential and efficient biocontrol agent in control of pepper gray mold caused by *Botrytis cinerea*. *Biol. Control*. 126: 147–157. Doi: 10.1016/j.biocontrol.2018.07.017.
- Jin, P., Wang, H., Tan, Z., Xuan, Z., Dahar, G. Y., Li, Q. X., Miao, W. y Liu, W. 2020. Antifungal mechanism of bacillomycin D from *Bacillus velezensis* HN-2 against *Colletotrichum gloeosporioides* Penz, *Pestic. Biochem. Physiol.* 163: 102–107. Doi: 10.1016/j.pestbp.2019.11.004.
- Jochum, M.D., McWilliams, K.L., Borrego, E.J., Kolomiets, M.V., Niu, G., Pierson, E.A. 2019. Bioprospecting plant growth-promoting rhizobacteria that mitigate drought stress in grasses. *Front. Microbiol.* 10:2106. Doi: 10.3389/fmicb.2019.02106.
- Kang, S.M., Radhakrishnan, R., You, Y.H., Joo, G.J., Lee, I.J., Lee, K.E. y Kim, J.H. 2014. Phosphate solubilizing *Bacillus megaterium* mj1212 regulates endogenous plant carbohydrates and amino acids contents to promote



- mustard plant growth. *Indian Journal of Microbiology*, India. 54: 427-433. Doi:10.1007/s12088-014-0476-6
- Kishore, G. K. y Pande, S. 2007. Chitin-supplemented foliar application of chitinolytic *Bacillus cereus* reduces severity of Botrytis gray mold disease in chickpea under controlled conditions, *Lett. Appl. Microbiol.* 44(1): 98–105. Doi:10.1111/j.1472-765X.2006.02022.x.
- Kumar, A., Devi, S., Patil, S., Payal, C. y Negi, S. 2012. Isolation, screening and characterization of bacteria from Rhizospheric soils for different plant growth promotion (PGP) activities: an in vitro study. *Recent Research in Science and Technology*, 4 (1): 1-13.
- Kumar, P., Pandhi, S., Mahato, D. K., Kamle, M. y Mishra, A. 2021. *Bacillus*-based nano-bioformulations for phytopathogens and insect-pest management. *Egyptian Journal of Biological Pest Control.* 31 (1): 2-10. Doi:10.1186/s41938-021-00475-6.
- Lahlali, R., Ezrari, S., Radouane, N., Kenfaoui, J. y Esmaeel, Q. 2022. Biological control of plant pathogens: a global perspective. *Microorganisms.* 10 (3): 596-610. Doi:10.3390/microorganisms10030596/hal-03920699.
- Lajis, A.F.B. 2020. Biomanufacturing process for the production of bacteriocins from Bacillaceae family, *Bioresour. Bioprocess.* 7(1): 1–26. Doi: 10.1186/s40643-020-0295-z.
- Lakshmanan, V., Selvaraj, G. y Bais, H.P. 2014. Functional soil microbiome: belowground solutions to an aboveground problem. *Journal of Plant Physiology.* 166: 689-700.
- Lapsansky, E.R., Milroy, A.M., Andales, M.J. y Vivanco, J.M. 2016. Soil memory as a potential mechanism for encouraging sustainable plant health and productivity. *Current Opinion in Biotechnology.* 38: 137-142.
- Lareen, A., Burton, F. y Schäfer, P. 2016. Plant root-microbe communication in shaping root microbiomes. *Plant Molecular Biology.* 2: 1-13.
- Leontidou, K., Genitsaris, S., Papadopoulou, A., Kamou, N., Bosmali, I., Matsi, T. 2020. Plant growth promoting rhizobacteria isolated from halophytes and drought-tolerant plants: genomic characterization and exploration of phyto-beneficial traits. *Sci. Rep.* 10:14857. Doi: 10.1038/s41598-020-71652-0.
- Li, Y., Héloir, M. C., Zhang, X., Geissler, M., Trouvelot, S., Jacquens, L., Henkel, M., Su, X., Fang, X., Wang, Q. and Adrian, M. 2019. Surfactin and fengycin contribute to the protection of a *Bacillus subtilis* strain against grape downy mildew by both direct effect and defence stimulation, *Mol. Plant Pathol.* 20(8): 1037–1050. Doi: 10.1111/mpp.12809.
- Lim, S.M., Yoon, M.Y., Choi, G.J., Choi, Y.H., Jang, K.S., Shin, T.S., Park, H.W., Yu, N.H., Kim, Y.H. y Kim, J.C. 2017. Diffusible and volatile antifungal compounds produced by an antagonistic *Bacillus velezensis* G341 against various phytopathogenic fungi, *Plant Pathol. J.* 33(5): 488–498. Doi: 10.5423/PPJ.OA.04.2017.0073.
- Liu, X., Etienne, R.S., Liang, M., Wang, Y. y Yu, S. 2015. Experimental evidence for an intraspecific Janzen-Connell effect mediated by soil biota. *Ecology.* 96: 662-671.
- Liu, Y., Feng, H., Fu, R., Zhang, N., Du, W., Shen, Q. y Zhang, R. 2020. Induced root secreted D-galactose functions as a chemoattractant and enhances the biofilm formation of *Bacillus velezensis* SQR9 in an McpA-dependent

- manner. Appl. Microbiol. Biotechnol. 104(2): 785–797. Doi: 10.1007/s00253-019-10265-8.
- Lobo, C.B., Juárez, M.S., Viruel, E., Ferrero, M.A. y Lucca, M.E. 2019. Development of low-cost formulations of plant growth-promoting bacteria to be used as inoculants in beneficial agricultural technologies. Microbiol. Res. 219: 12–25. Doi: 10.1016/j.micres.2018.10.012.
- Loper, J.E. y Schroth, M.N. 1986. Influence of bacterial sources on indole-3-acetic acid on root elongation of sugarbeet. Phytopathology. 76: 386-389.
- Lorck, H. 1948, Production of hydrocyanic acid by bacteria. Plant Physiology. 1: 142–146.
- Lyu, D., Backer, R., Subramanian, S. y Smith, D. 2020. Phytomicrobiome coordination signals hold potential for climate change-resilient agriculture. Front. Plant Sci. 11:634. Doi: 10.3389/fpls.2020.00634.
- Mack, K.M. y Bever, J.D. 2014. Coexistence and relative abundance in plant communities are determined by feedbacks when the scale of feedback and dispersal is local. Journal of Ecology. 102: 1195-1201.
- Masood, S., Zhao, X.Q. y Shen, R.F. 2020. *Bacillus pumilus* promotes the growth and nitrogen uptake of tomato plants under nitrogen fertilization. Scientia Horticulturae. 272:109581. Doi: 10.1016/j.scienta.2020.109581.
- Manikandan, A., Iruthayasamy, J., Nanjundan, J., Ramasamy, K., Murugaiyan, S., Rajasekaran, R., Nellaiappan, O.G., Prasun, K. y Mukherjee, R.A. 2022. Gamma-induced mutants of *Bacillus* and *Streptomyces* display enhanced antagonistic activities and suppression of the root rot and wilt diseases in pulses. Biomolecular Concepts. 13: 103–118
- Marques, A.P., Pires, C., Moreira, H., Rangel, A.O. y Castro, P.M. 2010. Assessment of the plant growth promotion abilities of six bacterial isolates using *Zea mays* as indicator plant. Soil Biol. Biochem. 42: 1229-1235.
- Matzen, N., Heick, T. M. y Jørgensen, L. N. 2019. Control of powdery mildew (*Blumeria graminis* spp.) in cereals by Serenade®ASO (*Bacillus amyloliquefaciens* (former subtilis) strain QST 713), Biol. Control 139: 1–8. Doi: 10.1016/j.biocontrol.2019.104067.
- Maung, C.E.H., Baek, W.S., Choi, T.G. y Kim, K.Y. 2021. Control of grey mould disease on strawberry using the effective agent *Bacillus amyloliquefaciens* Y1. Biocontrol Sci. Technol. 31: 468–482. Doi: 10.1080/09583157.2020.1867707.
- Mena-Violante, H.G. y Olalde-Portugal, V. 2007. Alteration of tomato fruit quality by root inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): *Bacillus subtilis* BEB-13bs. Scientia Horticult. 113: 103-106.
- Miljaković, D., Marinković, J. y Balešević-Tubić, S. 2020. The significance of *Bacillus* spp. in disease suppression and growth promotion of field and vegetable crops. Microorganisms 8:1037. Doi: 10.3390/microorganisms8071037.
- Minz, D., Ofek, M. y Hadar, Y. 2013. Plant rhizosphere microbial communities. The Prokaryotes. Springer. 3: 56-84.
- Mohammed, M.S., Hassan, M.H.A.R., Mahmoud, A.F. y Morsy, K.M.M. 2022. Involvement of secondary metabolites and extracellular lytic enzymes produced by plant growth promoting rhizobacteria in inhibiting the soilborne pathogens in Faba Bean Plants. Journal of Plant Pest Diseases. 2 (2): 100-108.

- Molinari, S. y Leonetti, P. 2019. Bio-control agents activate plant immune response and prime susceptible tomato against root-knot nematodes. PLoS ONE. 14, e0213230.
- Molina-Santiago, C., Pearson, J.R., Navarro, Y., Berlanga-Clavero, M.V., Caraballo-Rodriguez, A.M., Petras, D., García-Martín, M.L., Lamon, G., Habenstein, B., Cazorla, F.M., de Vicente, A., Loquet, A., Dorrestein, P.C. y Romero, D. 2019. The extracellular matrix protects *Bacillus subtilis* colonies from *Pseudomonas* invasion and modulates plant co-colonization. Nat. Commun. 10 (1): 1919. Doi: 10.1038/s41467-019-09944-x.
- Mutlu, A., Kaspar, C., Becker, N. y Bischofs, I.B. 2020. A spore quality–quantity trade off favors diverse sporulation strategies in *Bacillus subtilis*, ISME J. 14(11): 2703–2714. Doi:10.1038/s41396-020-0721-4.
- Nguyen, H.T.T., Park, A.R., Hwang, I.M. y Kim, J.C. 2021. Identification and delineation of action mechanism of antifungal agents: Reveromycin E and its new derivative isolated from *Streptomyces* sp. JCK-6141. Postharvest Biology and Technology. 182: 2-8. Doi:10.1016/j.postharvbio.2021.111700.
- Ntushelo, K., Ledwaba, L.K., Rauwane, M.E., Adebo, O.A. y Njobeh, P.B. 2019. The mode of action of *Bacillus* species against *Fusarium graminearum*, tools for investigation, and future prospects. Toxins (Basel). 11(10): 1–14. Doi: 10.3390/toxins11100606.
- Pandin, C., Darsonval, M., Mayeur, C., Le Coq, D., Aymerich, S. y Briandet, R. 2019. Biofilm formation and synthesis of antimicrobial compounds by the biocontrol agent *Bacillus velezensis* QST713 in an agaricus bisporus compost micromodel. Appl. Environ. Microbiol. 85(12): 1–13. Doi: 10.1128/AEM.00327-19.
- Pandin, C., Le Coq, D., Canette, A., Aymerich, S. y Briandet, R. 2017. Should the biofilm mode of life be taken into consideration for microbial biocontrol agents?, Microb. Biotechnol. 10(4): 719–734. Doi: 10.1111/1751-7915.12693.
- Patten, C.L. y Glick, B.R. 1996. Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. Canadian Journal of Microbiology. 42: 207-220.
- Pawar, N.V., Patil, V.B., Kamble, S.S. y Dixit, G.B. 2008. “First report of *Aspergillus niger* as a plant pathogen on *Zingiber officinale* from India.” Plant Disease. 92 (9): 1368-1370.
- Peng, G., Zhao, X., Li, Y., Wang, R., Huang, Y. y Qi, G. 2019. Engineering *Bacillus velezensis* with high production of acetoin primes strong induced systemic resistance in *Arabidopsis thaliana*, Microbiol. Res. 227: 1–12. Doi: 10.1016/j.micres.2019.126297.
- Penha, R.O., Vandenberghe, L.P.S., Faulds, C., Soccol, V.T. y Soccol, C.R. 2020. *Bacillus* lipopeptides as powerful pest control agents for a more sustainable and healthy agriculture: recent studies and innovations. Planta 251:70. Doi: 10.1007/s00425-020-03357-7.
- Pikovskaya, R.E. 1948. Mobilization of phosphorous in soil in connection with vital activity of some microbial species. Mikrobiologiya. 17: 362-370.
- Pirlak, L. y Köse, M. 2009. Effects of Plant Growth Promoting Rhizobacteria on yield and some fruit properties of strawberry. Journal of Plant Nutrition. 32 (7): 1173-1184. Doi: 10.1080/01904160902943197.
- Posada, A.M., Mejía, D.P., Polanco-Echeverry, D. y Cardona, J.A. 2021. Rizobacterias Promotoras de Crecimiento Vegetal (PGPR): Una revisión

- sistemática 1990-2019. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*. 12 (2): 160-176. Doi:10.22490/21456453.4040.
- Poveda, J. 2021. Beneficial effects of microbial volatile organic compounds (MVOCs) in plants. *Appl. Soil Ecol.* 168:104118. Doi: 10.1016/j.apsoil.2021.104118.
- Pršić, J. y Ongena, M. 2020. Elicitors of plant immunity triggered by beneficial bacteria. *Front. Plant Sci.* 11: 1–12. Doi: 10.3389/fpls.2020.594530.
- Raaijmakers, J.M. 2015. The minimal rhizosphere microbiome. *Principles of Plant-Microbe Interactions*. Springer. 3: 411-417.
- Radhakrishnan, R., Hashem, A. y Abd-Allah, E.F. 2017. *Bacillus*: A biological tool for crop improvement through bio-molecular changes in adverse environments. *Front Physiol.* 8: 1–14.
- Rafanomezantsoa, P., Gharbi, S., Karkachi, N. y Kihal, M. 2022. Antifungal activity of *Bacillus* spp. against *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici and *Ascochyta* sp. *Journal of Plant Protection Research*. 62 (3): 247–257.
- Ramírez V., Martínez J., Bustillos-Cristales M.R., Catañeda-Antonio D., Munive J.A. y Baez A. 2022. *Bacillus cereus* MH778713 elicits tomato plant protection against *Fusarium oxysporum*. *Journal of Applied Microbiology* 132 (1): 470–482. Doi:10.1111/jam.15179.
- Reetha, S., Bhuvaneshwari, G., Thamizhiniyan, P. y Ravi-Mycin, T. 2014. Isolation of Indole acetic acid (IAA) producing rhizobacteria of *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis* and enhance growth of onion (*Allium cepa* L.). *Int Curr Microbiol App Sci.* 3 (2): 268-574
- Reinhart, K.O. 2012. The organization of plant communities: negative plant–soil feedbacks and semiarid grasslands. *Ecology*. 93: 2377-2385.
- Rodrigues, F., Silva, J.J., Iamanaka, B.T., Martins, L.M. y Taniwaki, M.H. 2022. A Brief Snapshot of *Aspergillus* Section Nigri Isolated from Brazilian Peanuts and Soil. *Appl. Microbiol.* 3: 476–484. Doi:10.3390/applmicrobiol3020033.
- Ruiu, L. 2020. Plant-growth-promoting bacteria (PGPB) against insects and other agricultural pests. *Agronomy*. 10(6): 1–12. Doi: 10.3390/agronomy10060861.
- Russi, A., Almança, M.A.K y Schwambach, J. 2022. *Bacillus subtilis* strain F62 against *Fusarium oxysporum* and promoting plant growth in the grapevine rootstock SO4. *An Acad Bras Cienc.* 94 (Suppl. 3): e20210860. Doi: 10.1590/0001-376520220210860.
- Saad, A.M., Salem, H.M., El-Tahan, A.M., El-Saadony, M.T., Alotaibi, S.S., El-Shehawi, A.M., Abd El-Mageed, T.A., Taha, A.E., Alkahtani, M.A., Ezzat Ahmed, A. & Swelum, A.A. 2022. Biological control: An effective approach against nematodes using black pepper plants (*Piper nigrum* L.). *Saudi Journal of Biological Sciences.* 29 (4): 2047–2055. Doi:10.1016/j.sjbs.2022.01.004.
- Saber, W.I.A., Ghoneem, K.M., Al-Askar, A.A., Rashad, Y.M., Ali, A.A. y Rashad, E.M. 2015. Chitinase production by *Bacillus subtilis* ATCC 11774 and its effect on biocontrol of *Rhizoctonia* diseases of potato, *Acta Biol. Hung.* 66(4): 436–448. Doi: 10.1556/018.66.2015.4.8.
- Saggese, A., De Luca, Y., Baccigalupi, L. y Ricca, E. 2022. An antimicrobial peptide specifically active against *Listeria monocytogenes* is secreted by *Bacillus pumilus* SF214. *BMC Microbiol.* 22:3. Doi: 10.1186/s12866-021-02422-9.

- Saha, M., Sarkar, S., Sarkar, B., Sharma, B.K., Bhattacharjee, S. y Tribedi, P. 2015. Microbial siderophores and their potential applications: a review. *Environmental Science and Pollution Research International*. 23: 3984-3999.
- Saidi, A. y Hajibarat, Z. 2021. Phytohormones: plant switchers in developmental and growth stages in potato. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology* 19:89. Doi:10.1186/s43141-021-00192-5.
- Saikia, K., Belwal, V. K., Datta, D. y Chaudhary, N. 2019. Aromatic-rich C-terminal region of LCI is a potent antimicrobial peptide in itself, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 519(2): 372–377. Doi:10.1016/j.bbrc.2019.09.013.
- Samaniego-Gómez, B.Y., Garruña, R., Tun-Suárez, J.M., Kantun-Can, J., Reyes-Ramírez, A. y Cervantes-Díaz, L. 2016. *Bacillus* spp. inoculation improves photosystem II efficiency and enhances photosynthesis in pepper plants. *Chilean Journal of Agricultural Research*. 76 (4): 409-416.
- Sánchez-García, C. 2013. Purificación de ácido indolacético obtenido a partir de una fermentación microbiana y su evaluación *in vitro* en *Spathiphyllum wallisii* var. Chopin. Tesis de Ingeniero en Ciencia y Tecnología de alimentos. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. División de Ciencia Animal. Departamento de Ciencia Y Tecnología de Alimentos, México.
- Sasse, J., Martinoia, E. y Northen, T. 2018. Feed your friends: do plant exudates shape the root microbiome?, *Trends Plant Sci.* 23(1): 25–41. Doi: 10.1016/j.tplants.2017.09.003.
- Savary, S., Willocquet, L., Pethybridge, S.J., Esker, P., McRoberts, N. y Nelson, A. 2019. The global burden of pathogens and pests on major food crops. *Nat. Ecol. Evol.* 3: 430–439.
- Sharma, A., Kashyap, P. L., Srivastava, A. K., Bansal, Y. K., y Kaushik, R. 2019. Isolation and characterization of halotolerant bacilli from chickpea (*Cicer Arietinum* L.) rhizosphere for plant growth promotion and biocontrol traits. *Eur J. Plant Pathol.* 153: 787–800. Doi: 10.1007/s10658-018-1592-7.
- Shen, X., Hu, H., Peng, H., Wang, W. y Zhang, X. 2013. Comparative genomic analysis of four representative plant growth-promoting rhizobacteria in *Pseudomonas*. *BMC Genomics.* 14: 1471-2164.
- Silva, J.J., Bertoldo, R., Fungaro, M.H.P., Massi, F.P., Taniwaki, M.H., Sant’Ana, A.S. y Iamanaka, B.T. 2021. Black aspergilli in Brazilian onions: From field to market. *Int. J. Food. Microbiol.* 337, 108958.
- Simiyo, W.C. 2016. Abundance, genetic diversity and symbiotic potential of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) nodule associated bacteria in western Kenya soils. Tesis en opción al grado académico de Máster en Ciencias Biotecnológicas. Universidad de Kenyatta, Kenya.
- Singh, I. 2018. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) and their various mechanisms for plant growth enhancement in stressful conditions: a review. *European Journal of Biological Research.* 8 (4): 191-213.
- Singh, S.R., Joshi, D., Singh, P., Srivastava, T.K. and Tripathi, N. 2017. Plant growth-promoting bacteria: an emerging tool for sustainable crop production under salt stress, in bioremediation of salt affected soils. *Indian Persp.* 101-131.
- Spaepen, S., Vanderleyden, J. y Remans, R. 2007. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism plant signaling. *FEMS Microbiology Reviews.* 31: 425-448.

- Stamenkovic-Stojanovic, S., Karabegovic, I., Beskoski, V., Nikolic, N. y Lazic, M. 2019. *Bacillus* based microbial formulations: optimization of the production process, Hem. Ind. 73(3): 169–182. Doi: 10.2298/HEMIND190214014S.
- Syed, S., Prasad, N.V.K.V. y Liana, B. 2020. *Aspergillus* and *Fusarium* control in the early stages of *Arachis hypogaea* (groundnut crop) by plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) consortium. Microbiological Research. 240 (2020) 126562. Doi:10.1016/j.micres.2020.126562.
- Tahir, M. y Aqeel, S.M. 2013. Plant Growth promoting rhizobacteria (PGPR): A budding complement of synthetic fertilizers for improving crop production. Pakistan Journal of Life and Social Sciences. 11 (1): 1-7.
- Tan, C.Y, Dodd, I.C., Chen, J.E., Phang, S.M., Chin, C.F., Yow, Y.Y., Ratnayeke, S. 2021. Regulation of algal and cyanobacterial auxin production, physiology, and application in agriculture: an overview. Journal of Applied Phycology. 33:2995/3023. Doi:10.1007/s10811-021-02475-3.
- Thakur, A. y Parikh, S.C. 2018. Screening of Groundnut Plant Associated Rhizobacteria for Multiple Plant Beneficial Plant Growth Promoting Traits. J Plant Pathol Microbiol. 9: 457. Doi: 10.4172/2157-7471.1000457.
- Toral, L., Rodríguez, M., Béjar, V. y Sampedro, I. 2020. Crop protection against *Botrytis cinerea* by Rhizosphere biological control agent *Bacillus velezensis* XT1, Microorganisms. 8(7): 1–17. Doi:10.3390/microorganisms8070992.
- Toral, L., Rodríguez, M., Béjar, V. y Sampedro, I. 2018. Antifungal activity of lipopeptides from *Bacillus methylotrophicus* XT1 CECT 8661 against *Botrytis cinerea*. Front. Microbiol. 9:1315. Doi: 10.3389/fmicb.2018.01315.
- Tyc, O., Zweers, H., de Boer, W. y Garbeva, P. 2015. Volatiles in inter-specific bacterial interactions. Front. Microbiol. 6:1412. Doi: 10.3389/fmicb.2015.01412.
- Tyśkiewicz, R., Nowak, A., Ozimek, E. y Jaroszuk-Scisiel, J. 2022. Trichoderma: the current status of its application in agriculture for the biocontrol of fungal phytopathogens and stimulation of plant growth. Int. J. Mol. Sci. 23:2329. Doi: 10.3390/ijms23042329
- Vejan, P., Abdullah, R., Khadiran, T., Ismail, S. y Nasrulhaq Boyce, A. 2016. Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability: a review. Molecules 21:573. Doi: 10.3390/molecules21050573.
- Vessey, J.K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant and Soil. 255: 571-586.
- Villa-Rodríguez, E., Parra-Cota, F., Castro-Longoria, E., López-Cervantes, J. y de los Santos-Villalobos, S. 2019. *Bacillus subtilis* TE3: a promising biological control agent against *Bipolaris sorokiniana*, the causal agent of spot blotch in wheat (*Triticum turgidum* L. subsp. durum), Biol. Control. 132: 135–143. Doi: 10.1016/j.biocontrol.2019.02.012.
- Walters, D.R., Ratsep, J. y Havis, N.D. 2013. Controlling crop diseases using induced resistance: Challenges for the future. J. Exp. Bot. 64: 1263–1280.
- Wang, R., Liang, X., Long, Z., Wang, X., Yang, L., Lu, B. y Gao, J. 2020a. An LCI-like protein APC 2 protects ginseng root from *Fusarium solani* infection, J. Appl. Microbiol. 130(1): 165–178. Doi: 10.1111/jam.14771.
- Wang, X., Yuan, Z., Shi, Y., Cai, F., Zhao, J., Wang, J. y Wang, Y. 2020b. *Bacillus amyloliquefaciens* HG01 induces resistance in loquats against anthracnose rot caused by *Colletotrichum acutatum*, Postharvest Biol. Technol. 160: 1–7. Doi: 10.1016/j.postharvbio.2019.111034.

- Wang, Y., Zhang, C., Liang, J., Wang, L., Gao, W., Jiang, J. y Chang, R. 2020c. Surfactin and fengycin B extracted from *Bacillus pumilus* W-7 provide protection against potato late blight via distinct and synergistic mechanisms, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 104(17): 7467–7481. Doi: 10.1007/s00253-020-10773-y.
- Xue, Y., Zhang, Y. Huang, K., Wang, X., Xing, M., Xu, Q. y Guo, Y. 2023. A novel biocontrol agent *Bacillus velezensis* K01 for management of gray mold caused by *Botrytis cinerea*. *AMB Express.* 13:91 1-14. Doi:10.1186/s13568-023-01596-x.
- Yilihamu, A., Ouyang, B., Ouyang, P., Bai, Y., Zhang, Q., Shi, M., Guan, X. y Yang, S.T. 2020. Interaction between graphene oxide and nitrogen-fixing bacterium *Azotobacter chroococcum*: transformation, toxicity and nitrogen fixation. *Carbon.* 160: 5-13. Doi:10.1016/j.carbon.2020.01.014.
- Yousef, N.M.H. 2018. Capability of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) for producing indole acetic acid (IAA) under extreme conditions. *European Journal of Biological Research.* 8 (4): 174-182.
- Yu, Y., Gui, Y., Li, Z., Jiang, C., Guo, J. y Niu, D. 2022. Induced Systemic Resistance for Improving Plant Immunity by Beneficial Microbes. *Plants.* 11: 386-378.
- Zakharova, A.A., Efimova, S.S., Malev, V.V. y Ostroumova, O.S. 2019. Fengycin induces ion channels in lipid bilayers mimicking target fungal cell membranes, *Sci. Rep.* 9(1): 16034. doi: 10.1038/s41598-019-52551-5.
- Zhang, D., Yu, S., Yang, Y., Zhang, J., Zhao, D., Pan, Y., Fan, S., Yang, Z. y Zhu, J. 2020. Antifungal effects of volatiles produced by *Bacillus subtilis* against *Alternaria solani* in potato, *Front. Microbiol.* 11(1196):1-14. Doi: 10.3389/fmicb.2020.01196.
- Zhang, H., Liu, Y. y Wang, G. 2019. Integrated use of maize bran residue for one-step phosphate bio-fertilizer production. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 187: 1475–1487. Doi: 10.1007/s12010-018-2874-4.
- Zhang, Q., Stummer, B.E., Guo, Q., Zhang, W., Zhang, X., Zhang, L. 2021. Quantification of *Pseudomonas protegens* FD6 and *Bacillus subtilis* NCD-2 in soil and the wheat rhizosphere and suppression of root pathogenic *Rhizoctonia solani* AG-8. *Biol. Control* 154:104504. Doi: 10.1016/j.biocontrol.2020.104504.
- Zhang, S., Gao, P., Tong, Y., Norse, D., Lu, Y. y Powlson, D. 2015. Overcoming nitrogen fertilizer over-use through technical and advisory approaches: a case study from Shaanxi Province, Northwest China. *Agriculture, Ecosystems and Environment.* 209: 89-99.