

RESUMEN

Las Bacterias del género *Bacillus* presentan una amplia secreción de proteínas que se involucran en el antagonismo de hongos fitopatógenos, este proceso es estudiado con la finalidad de encontrar una forma de combatir las enfermedades que causan a las plantas, ya que se registran pérdidas económicas y ambientales. Los estudios de especies del género *Bacillus* han identificado diversas proteínas que varían dependiendo el medio o el competidor en el que se encuentren, lo que indica que dependiendo del organismo al que se enfrente puede tener variaciones en las proteínas secretadas, por tal motivo la importancia del estudio de las proteínas secretadas beneficia en la producción de inoculantes específicos para combatir hongos fitopatógenos. La presente revisión presenta la importancia en la secreción proteica que ha tenido el género *Bacillus* frente a hongos fitopatógenos.

Palabras clave: *Bacillus* spp., secretoma, control biológico, fitopatógenos.

ABSTRACT

The genera of *Bacillus* have a big protein secretion involucre to the antagonism process of phytopathogens fungi, this process is studied by the finality to find the way of fight the damage causes because are registrant economics and environmental losses. The studies of species the bacillus genera could be secrete a wide range of proteins and this can be variety according to the

Importancia del Secretoma de *Bacillus* spp. en el control biológico de hongos fitopatógenos

Bruce Manuel Morales-Barrón^{1*}, Raquel González-Fernández¹, Francisco J. Vázquez-González¹, Antonio De La Mora-Covarrubias¹, Miroslava Quiñonez-Martínez¹, Jesús Muñoz-Rojas², José Valero-Galván^{1*}.

¹Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Av. Plutarco Elías Calles #1210, Fovissste Chamizal, Ciudad Juárez, Chihuahua, México, C.P. 32310

²Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP), Edificio IC11, Ciudad Universitaria, Colonia Jardines de San Manuel, Puebla, Puebla, México, C.P. 72570.

*Email autor corresponsal:

jose.valero@uacj.mx

Morales-Barrón B. M., González-Fernández R., Vázquez-González F. J., De La Mora-Covarrubias A., Quiñonez-Martínez M., Muñoz-Rojas J., Valero-Galván J. Importancia del Secretoma de *Bacillus* spp. en el control biológico de hongos fitopatógenos.

Artículo de Revisión

Alianzas y Tendencias-BUAP. 2019, 4 (15): 36-48.

Recibido: 30 agosto 2019.

Aceptado: 29 septiembre 2019.

medium in which they are found, which indicates that depending on the organism they face, there may be variations in the secreted proteins, for this reason the importance of studying the secreted proteins benefits in the production of specific inoculants for the phytopathogenic fungi. Therefore, the present review presents the action of protein secretion that the genus *Bacillus* has had against phytopathogenic fungi.

Keywords: *Bacillus* spp., secretome, biological control, phytopathogens.

INTRODUCCIÓN

Se conoce como secretoma al conjunto de proteínas que se secretan por parte de un organismo en determinado ambiente (1). Se ha descrito que el género *Bacillus* presenta una capacidad de adaptarse a los suelos en donde está en contacto con diversos microorganismos, ya que realiza una competencia por alimento y espacio. Esto se ha reflejado al desarrollar un arsenal bioquímico que secreta al medio con la finalidad de competir por la obtención de nutrientes disponibles y eliminar competidores (2); uno de sus competidores principales son los hongos que tienen la capacidad de extenderse por los suelos y al estar en contacto con las bacterias suelen desencadenar una competencia por el espacio que cohabitan. Esta habilidad se utiliza para combatir a los hongos fitopatógenos, principalmente por su capacidad de adaptación a diferentes cultivos agrícolas (3) y a la resistencia los compuestos químicos que se aplican

para su eliminación. Se ha reportado resistencia a antifúngicos en cepas de los géneros de *Botrytis* spp (4,5), *Pythophthora* sp (6), *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum* (7) y esto conlleva a que se usen de manera excesiva para su control, causando pérdidas económicas a los agricultores y ambientales (8,9). Sin embargo, bacterias como las del género *Bacillus* tienen la capacidad de responder con la secreción de antibióticos y proteínas cuando están en cointeracción con los hongos, por lo que se ha aprovechado esta habilidad para que cepas de *Bacillus* funcionen como control biológico; en donde pueden presentar una acción micoparasitica con la secreción de enzimas específicas que atacan a la pared del hongo fitopatógeno y destruyen su micelio, así como a la disposición de su citoplasma para ser degradado y ser usado como fuente de alimento por el propio *Bacillus* (10). Se conoce que este género puede adaptarse a las diferencias bioquímicas que su medio presenta (11,12). Por lo que diferentes estudios se han encargado de identificar proteínas secretadas por cepas de *Bacillus* frente a diversos competidores (13–15). El objetivo de esta revisión es presentar la acción de secreción proteica que ha tenido el género *Bacillus* en el control biológico de hongos fitopatógenos.

Generalidades del género *Bacillus*

Se ha identificado al género *Bacillus* con el gen 16S DNAr describiendo la presencia de 142 especies de *Bacillus* (16), las cuales se caracterizan por formar endosporas, ser Gram positivas y la presencia de

menaquinona (16). Se describe a este género con una capacidad de degradación de carbohidratos, lípidos y algunas proteínas derivadas de plantas y animales; además de una alta especialización en la producción de antibióticos y secreción de enzimas para degradar el medio (17); por otro lado puede realizar diversos procesos importantes para el ambiente como la fijación de nitrógeno, para la solubilización de fosfatos, la desnitrificación, el micoparasitismo y por su puesto su mayor ventaja es la capacidad de producir una espora que le beneficia en la supervivencia a climas hostiles (17–19). Se han evaluado también como bacterias promotoras de crecimiento vegetal debido a que producen la secreción de hormonas como ácido índol-3-acético, giberelinas y citoquininas; las cuales promueven el crecimiento y desarrollo de organismos vegetales (20–22). Esta cualidad ha beneficiado el uso de cepas de este orden en procesos de biorremediación (23), control biológico de insectos (24), nemátodos (25) y hongos fitopatógenos (26).

Una de las estrategias de colonización de *Bacillus* está en su ciclo de vida el cual se realiza en dos fases: crecimiento vegetativo y esporulación. Cuando la bacteria se encuentra en condiciones favorables presenta la primera fase en la que crece de forma exponencial hasta llegar a una fase estacionaria donde mantiene un equilibrio con los nutrientes dispuestos en el ambiente. Cuando los nutrientes escasean, forma la fase de esporulación en la que la espora tiene una estructura de protección a factores físicos que le ayudan a

permanecer en estado inactivo hasta que se presenten las condiciones favorables de humedad, de nutrientes y temperatura (27).

Importancia del control de hongos fitopatógenos.

Los organismos que causan infección en plantas dependen de que la condición del ambiente sea óptima para su desarrollo, algunos son específicos o de amplio espectro. Los Hongos fitopatógenos son el grupo de mayor importancia, debido a que se tienen pérdidas económicas a los agricultores, ya que se tienen pérdidas económicas a nivel mundial, debido a que causan enfermedades pre y poscosecha en diversos tipos de cultivo (28). Se estima que más de 8,000 especies de hongos producen enfermedades en las plantas (29), esto se debe a su gran diversidad y que muchos son cosmopolitas, por lo que pueden desarrollarse en diferentes condiciones ambientales.

Los hongos tienen diversas maneras de infección pueden ser por la raíz, tallo o alguna lesión previamente en la planta hasta penetrar e invadir el xilema y floema donde absorben todos los nutrientes, provocando una marchites total o parcial de la planta (30). Algunos géneros destacan por tener una rápida capacidad infectiva, así como un arsenal bioquímico que les sirve para penetrar las estructuras protectoras de las plantas. Los géneros mayormente estudiados por su capacidad de infección son *Phytophthora spp*, *Fusarium spp*, *Rhizoctonia spp*, *Pythium spp*, *Phytophthora spp*, *Sclerotinia spp*, *Sclerotium spp*, *Rosellinia spp*,

Verticillium spp y *Botrytis spp*. El daño no solo se refleja en la baja producción económica, sino en los daños a la producción biológica, ya que la invasión de estos reduce la producción biológica de los cultivos y de los organismos vegetales que se encuentren en la zona, llevando a pérdidas del ecosistema y a un aumento de patogenicidad de las cepas de hongos.

El uso descontrolado de fungicidas químicos para el control de hongos fitopatógenos en el campo agrícola se ha convertido en un problema ambiental. Se ha reportado que de los plaguicidas aplicados al campo agrícola el 47% se distribuye en suelos, aguas colindantes, la atmósfera o termina expuesto a los trabajadores agrícolas e industriales, provocando cáncer y diversas patologías a la población humana (31). Para el control de hongos fitopatógenos se ha descrito principalmente el uso de fungicidas sistémicos debido a que son selectivos y actúan en un sitio específico del metabolismo de la célula, por lo que un simple cambio genético del hongo puede causar un alto nivel de resistencia. Se ha demostrado este comportamiento en *Botrytis cinerea*, el cual presentaba resistencia a fungicidas como benomilo y tiabendazol, los cuales son productos usados principalmente en la floricultura y debido a la aplicación excesiva se ha perdido susceptibilidad a través del tiempo (4). También se han descrito poblaciones de *Phytophthora capsici* resistentes a compuestos como azoxistrobina, metalaxil, propamocarb hidrocloreto, clorhidrato, 2 tiocianato y benzotiazol; los cuales son compuestos usados principalmente en su control (32). Además,

el uso indiscriminado de compuestos sistémicos como los benzonidazoles, en los que se incluye el benomil, carbendazín, tiabendazol y tiofanato, han presentado características de agentes mutagénicos de plantas, esto ha quedado demostrado por el efecto genotóxico del benomil en raíces de *Allium sp.*, al ser tratadas con diferentes dosis en las que se observan anomalías en las divisiones mitóticas de células meristemáticas (33). Se ha demostrado un cambio en la tolerancia de *Rhizoctonia solani*, ya que presenta una mejor resistencia a benomil 500 y rhizole-T que *Fusarium oxysporum* al ser aplicados en campo y en laboratorio (7). Por lo que el uso indiscriminado de fungicidas no solo afecta al ambiente si no también influye al crear poblaciones resistentes a dichos compuestos.

Importancia de actuar sobre la pared celular de los hongos fitopatógenos

La pared celular de los hongos es el primer contacto con el ambiente, por lo que este sitio debe de presentar una estructura bioquímica que pueda darle una protección y al mismo tiempo le sirva para infectar a la planta, los hongos fitopatógenos presentan diversos mecanismos que le permiten evadir la respuesta de la planta, entre los principales se encuentra la hidrólisis de su pared, el cambio de quitina a quitosano o el cambio de quitina a α -glucano (34). En la pared celular del hongo el compuesto más estudiado es la quitina, sin embargo la pared de hongos filamentosos solo contiene de un 10% a 20% de su composición en cambio el β -glucano está presente en un 50% a un

60% de la mayoría de las especies de hongos filamentosos encontrándose en forma de α -glucanos y β -glucano, en algunas especies como *Fusarium* se encuentra en su pared un 65% a 90% de β -1,3-glucano y solo en el género *Phytophthora* se ha descrito en la forma de β -1,6-glucano siendo este una diferencia biológica importante (34), además se han descrito otras glicoproteínas como las manosas y amilasas. (35). Por lo que un organismo que elimine a un hongo fitopatógeno debe tener la capacidad de evadir los compuestos que secreta; además de degradar y descomponer su pared celular.

Bacillus para el uso del biocontrol de hongos fitopatógenos

Se ha documentado que varias especies del género *Bacillus* son rizobacterias promotoras del crecimiento de las plantas (PGPR), debido a que cuando interactúan con ellas no afectan su función normal de los tejidos, pero si influyen positivamente en el crecimiento de la planta y principalmente no causa ningún daño al humano (21). Estas cualidades se describen principalmente en *Bacillus subtilis* (36). Algunos estudios han demostrado que las especies de este género tienen la capacidad de realizar acción antagónica, la cual se describe como un mecanismo que se basa en la lisis enzimática y secreción de metabolitos secundarios (17). Dentro de las enzimas que secretan están las quitinasas, celulasas, proteasas y la β -1,3 glucanasas (37). La cepa más estudiada por su capacidad de inhibir diversos hongos es *B.*

subtilis (36). Se ha demostrado que puede inhibir el micelio de diversos hongos como a *F. oxysporum* en un 65%, *R. solani* en un 69% y *Sclerotium* spp. en un 75% (38). Sin embargo, no es la única cepa del género *Bacillus* que presenta características antagónicas, se ha descrito esta actividad en cepas como *Bacillus japonicum* al ser inoculadas en semillas de *Glycine max* en la que se ha observado la secreción de antibióticos, los cuales reducen un 43% a 50% la presencia de una cepa de *Fusarium* sp, beneficiando el crecimiento de la planta (39). Otros trabajos con *B. thuringiensis* han mostrado que reduce el crecimiento de *R. solani* en un 66%, el de *P. capsici* en un 27% y a *F. oxysporum* en un 30% bajo condiciones *in vitro* y en interacción con la semilla del chile variedad Anaheim (40). *B. megaterium* ha reducido el crecimiento en un 30-40% de *P. capsici* en competencia dual y en condiciones *in vitro* (41); también se ha observado que *B. licheniformis* y *B. subtilis* han secretado metabolitos secundarios contra *A. solani* y *R. solani*, los cuales inhiben el crecimiento micelial en más de un 50% (42). Resultados similares se han observado en estudios de *B. licheniformis* (EN74-1) contra *Botrytis mali* (43). Así mismo, las cepas de *B. subtilis*, *B. licheniformis* y *B. megaterium* han funcionado como biocontroladoras de *F. pseudonygamai* en condición *in vitro*. En pruebas de invernadero a *Tymus vulgaris* se observó que la severidad desapareció después de la inoculación con las cepas de *B. subtilis* y *B. licheniformis* (44). Sin embargo, al estudiar la competencia de *B. firmus* contra *F. oxysporum* y *R. solani* en

condiciones *in vitro* y en interacción con Jitomate (*Lycopersicum esculentum*) se ha observado una reducción de un 30% (45). Otros estudios han encontrado que los metabolitos como surfactina, fengicina e iturina aislados de varias cepas de *Bacillus* presentan un gran potencial antibiótico sobre *Podosphaera fusca* (46).

No solo las secreciones de antibióticos inhiben el crecimiento de microorganismos. También se ha observado la secreción de sideróforos en las cepas de *Bacillus* aisladas de la rizosfera de *Rubus fruticosus*, estos compuestos mostraron la capacidad de inhibir a *Rhizopus stolonifer* (47). La secreción de proteasas de la cepa *B. amyloliquefaciens* contra *Rhizopus cohnii* ha mostrado la actividad lítica de la enzima degradando al hongo e inhibiendo su crecimiento (48). En general se observa que el género *Bacillus* abarca diversas especies de bacterias que pueden actuar en contra de diversos hongos, llevando a ser una de las mejores fuentes para generar inoculante que funcionen como control biológico de diversos hongos, sin embargo, aún falta por conocer la capacidad total que tiene al enfrentarse contra un hongo.

Secretoma del género *Bacillus* e inhibición del crecimiento de hongos fitopatógenos.

Se ha encontrado que las cepas de *Bacillus* tienen la capacidad de secretar proteínas al medio, principalmente durante la fase estacionaria siempre que estén en un medio rico en nutrientes. Se ha identificado la secreción de aproximadamente 200

puntos visibles de proteínas extracelulares en geles de 2-dimensiones, de las cuales se han identificado 113 en *B. subtilis* y 143 en *B. licheniformis* (11). Entre las proteínas aisladas se incluyen enzimas degradadoras de carbohidratos, proteínas como proteasas, peptidasas, enzimas involucradas en degradación de nucleótidos, degradadoras de lípidos como fosfodiesterasas, fosfatasas, así como proteínas involucradas en la renovación celular, proteínas transportadoras, proteínas relacionadas con estructura flagelar e involucradas en esporulación (11). Otros estudios han demostrado que *B. subtilis* cambia la secreción de proteínas de acuerdo con el medio de cultivo en el que se desarrolla (glucosa, maltosa, cellobiosa, almidón o deficiencia de fosfato) (11,12). En *B. subtilis degU32(hy)* se ha demostrado que los niveles más altos de secreción de proteínas se dan en la fase postexponencial, en donde al estar en un medio rico en nutrientes se identificaron un aumento en la expresión de 13 proteínas con función de degradación enzimática, destacando proteasas, peptidasas, enzimas implicadas en el metabolismo de aminoácidos, lipasas alcalinas fosfatasas, fosfodiesterasas, enzimas involucradas en la biogénesis de la pared celular, lipoproteínas, proteínas causantes de la detoxificación, proteínas de los flagelos (49).

Para la competencia de hongos fitopatógenos se ha trabajado principalmente con la identificación de quitina, ya que se presume como componente principal en la pared de todos los hongos. Algunos estudios con *B. subtilis* han descrito la capacidad de

degradar quitina en medio CC agar, esto se ha demostrado en una cepa identificada como *B. subtilis* JD-09 en donde usando geles SDS-PAGE y la técnica de zymograma se identificó, aisló y purificó una quitinasa de 56 kDa, en donde al ponerse en competencia se determinó que la concentración máxima para la inhibición de *F. oxysporum* es de 50 uL (50). Otros estudios en cepas de *B. thuringiensis* y *B. licheniformis* demuestran que en un medio con pH de 7.0 a 8.0 y una temperatura máxima de 30 °C se favorece la producción de quitinasas, además de que se ve influenciado por el consumo de los carbonos presentes, se ha descrito que en un medio con una concentración de quitina al 1.5% adicionado con galactosa se beneficia la producción de quitinasa por parte de *B. thuringiensis* y un medio con lactosa y quitina al 5% beneficia a *B. licheniformis*; además, de que una adición de caseína funciona como fuente de nitrógeno, sin embargo, la quitinasa secretada por *B. licheniformis* presenta una inhibición del 97% del micelio de *Fusarium oxysporum* (15). Además, en *B. thuringiensis* subespecie aizawai se identificó la expresión de una exoquitinasa con una actividad inhibitoria del micelio de *Fusarium* spp. en un medio con un pH de 6 y a una temperatura de 50 °C con diferencias significativas respecto al control y se observó que puede inhibir la germinación de la espora, siendo esto de vital importancia para impedir la propagación del hongo (51). Por otro lado, se ha estudiado la reducción de la enfermedad causada por *P. capsici* usando *Bacillus* spp. en donde se ha

inoculado en un medio con suplemento de quitina al 5% para estimular la producción de quitinasas por parte de la cepa, los resultados mostraron que esta cepa reduce la infección de *P. capsici* en un 60% al 70% y se mostró que el efecto perdura durante un año de experimento en plantas de invernadero (52), sin embargo, diversos estudios han demostrado que no solo las quitinasas son capaces de realizar la inhibición de hongos fitopatógenos, esto es debido a la diferencia de la composición de la pared celular que presenta el micelio de los hongos fitopatógenos.

La diferencia molecular presente en las paredes de los hongos como las del género *Phytophthora* ha llevado a que se aislen diferentes proteínas en la interacción con cepas de *Bacillus*. Se han identificado proteínas en los extractos de *B. licheniformis* HS10 que presentan un peso molecular aproximado de 55 kDa que se describen como carboxilasas y alfa-amilasas, las cuales provocan la inhibición de 11.3 mm del micelio de *P. capsici* y 11 mm del de *B. cinérea*, reportando que también puede inhibir a otras cepas como *Bipolaris sorokinianum*, *Gaeumanomyces* y *B. maydis*, por lo que se consideran proteínas de amplio espectro (14). En *B. amyloliquefaciens* que se considera como una bacteria endófito por haberse aislado en las raíces de *Hevea brasiliensis*, se describe que puede secretar 100 unidades de β -1,3-glucanasa en 100 mL de medio y se probó su acción inhibitoria de *P. meadii* (53). La proteína β -1,3-glucanasa también ha sido aislada de *B. subtilis*, la cual se ha probado como causante de la reducción

en la enfermedad causada por *F. wilt* (54). Se ha realizado una inhibición del micelio de *F. solani*, *P. capsici*, *Helminthosporium oryzae* en el que se ha visto involucrada una proteína termoestable de 37 kDa (55). Otra proteína con un peso molecular de 31 kDa presenta una actividad antifúngica que inhibe el micelio de *F. oxysporum* en un 10.3 mm de diámetro; además, de que se probó en la degradación de sustratos como quitina coloidal, C,-ocelulosa, Xylan, Casein, acetylglucosaminide, siendo una alta propuesta para un control químico de hongos fitopatógenos (56)

Otras proteínas importantes son las B-lactamasas, ya que tienen la capacidad de destruir antibióticos que son secretados por diversos hongos (57). Algunos autores describen la secreción de estas proteínas en las que destacan las cepas como: *B. cereus* (58), *B. licheniformis* (59) y en *B. subtilis* (49) en presencia de compuestos secretados por los hongos derivados de la penicilina. La secreción de estos compuestos es de gran importancia en las competencias, ya que aunque el hongo tiene maneras de combatir con la bacteria, ésta tiene arsenales bioquímicos con los cuales puede defenderse y nos benefician, ya que son ampliamente usados por la industria (60). Otros mecanismos relacionados con proteínas que se han descrito en la inhibición de cepas del género *Fusarium* por parte de *Bacillus*, son la producción de péptidos antimicrobianos como la gramicidina S, la iturina A y el fengicina (37).

Por lo que se describe al género *Bacillus* con una amplia secreción de proteínas que pueden

beneficiar en la competencia contra hongos fitopatógenos y que esta podría llegar a adaptarse dependiendo la composición del organismo principalmente por su pared y membrana celular.

CONCLUSIONES

Debido a la gran demanda que se necesita para poder cumplir con las necesidades alimentarias, el combatir enfermedades causadas por hongos fitopatógenos se ha vuelto de suma importancia. En el camino por combatirlos, las sustancias químicas han dejado de ser opción viable por las capacidades de adaptación que manejan las especies de hongos. Con la finalidad de proponer alternativas que sean compatibles con el ambiente, las cepas del género *Bacillus* se han propuesto como una de las mejores alternativas debido a su capacidad de adaptación, competencia por nutrientes y sobre todo el que pueden secretar diversos compuestos para inhibir competidores, entre los que destacan las proteínas; las cuales por su capacidad enzimática son capaces de degradar a otros organismos. Diversas proteínas son las que han sido aisladas en la competencia de *Bacillus* contra otros organismos y el tipo de capacidad enzimática que se presentan se ve relacionada con la pared de su competidor, ya que es un punto de entrada para la degradación y sobre todo el ocuparlos como una fuente de carbono, por lo que son diversas las proteínas que pueden secretar frente a hongos fitopatógenos y se infiere que el secretoma de las cepas de *Bacillus* pueda tener alguna especificidad con forme a la composición de

la pared del competidor al que se enfrente. Demostrando que el estudio completo del secretoma de *Bacillus* es de gran importancia para el control biológico de diversos hongos fitopatógenos.

AGRADECIMIENTOS

A CONACYT por la beca otorgada a Bruce Manuel Morales-Barron durante el desarrollo de este trabajo.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

REFERENCIAS

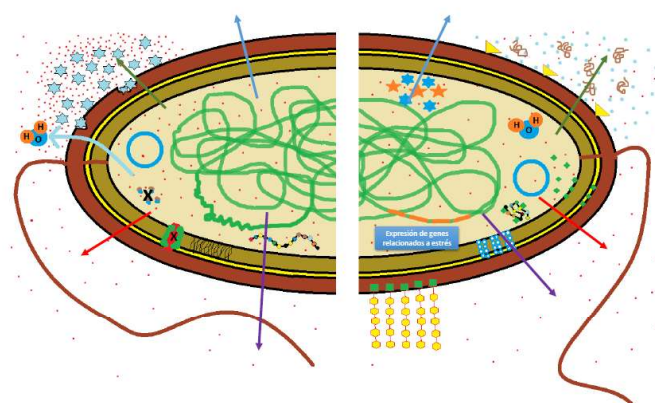
1. González R, Valero J, Jorin J. Proteómica en hongos fitopatógenos. Manual de Proteómica. 2014. 585–606 p.
2. Shafi J, Tian H, Ji M. *Bacillus* species as versatile weapons for plant pathogens: a review. Biotechnol Biotechnol Equip. 2017;31(3):446–59.
3. Willis KJ. State of the World's Fungi 2018. In: ReportRoyal Botanic Gardens,Kew. 2018.
4. Ponce-González F, García-Aguirre MG, Lozoya-Saldaña H, Herrera-Suarez T. RESISTENCIA DE *Botrytis cinerea* (Pers .) Fr ., A DOS FUNGICIDAS BENZIMIDAZOLES UTILIZADOS EN LA FLORICULTURA. Rev Chapingo Ser Hortic. 2002;8(1):95–9.
5. Muñoz V G, Hinrichsen R P, Álvarez A M. Variabilidad genética de cepas de *Botrytis cinerea* provenientes de vid y tomate con resistencia a dicarboximidas. Vol. 59, Agricultura Técnica (Chile). 1999. p. 1–12.
6. Lozoya-saldaña H, Robledo-esqueda MN, Rivas-valencia P. Sensitivity to fungicides of *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary in Chapingo, Mexico. Rev Chapingo Ser Hortic. 2017;23(3):175–86.
7. Rubio-Reque G, Baltodano-Sánchez F, Abantp-Campos L, Wilson-Krugg J, Muñoz-Ríos M. Resistencia in vitro de *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum* a los fungicidas Benzomil 500 , Rhizolex-T y Homai-WP. Rev Biológica la Univ Trujillo. 2008;28(2).
8. Chaerani R, Voorrips RE. Tomato early blight (*Alternaria solani*): The pathogen, genetics, and breeding for resistance. J Gen Plant Pathol. 2006;72(6):335–47.
9. Lecomte C, Alabouvette C, Edel-Hermann V, Robert F, Steinberg C. Biological control of ornamental plant diseases caused by *Fusarium oxysporum*: A review. Biol Control. 2016;101:17–30.
10. Zhang C, Zhang X, Shen S. Proteome analysis for antifungal effects of *Bacillus subtilis* KB-1122 on *Magnaporthe grisea* P131. World J Microbiol Biotechnol. 2014;30(6):1763–74.
11. Voigt B, Antelmann H, Albrecht D, Ehrenreich A, Maurer KH, Evers S, et al. Cell physiology and protein secretion of *Bacillus licheniformis* compared to *Bacillus subtilis*. J Mol Microbiol Biotechnol. 2008;16(1–2):53–68.

12. Hanina MN, Hairul SM, Ismatul NAI, Abdul JAK, Salina MR, Maryam MR, et al. Extracellular protein secreted by *Bacillus subtilis* ATCC21332 in the presence of streptomycin sulfate. *Int J Biol Biomol Africultural, Food Biotechnol Eng.* 2014;8(8):812–6.
13. Liu D, Cai J, Xie C, Liu C, Chen Y. Purification and partial characterization of a 36-kDa chitinase from *Bacillus thuringiensis* subsp. *colmeri*, and its biocontrol potential. *Enzyme Microb Technol.* 2010;46(3–4):252–6.
14. Wang Z, Wang Y, Zheng L, Yang X, Liu H, Guo J. Isolation and characterization of an antifungal protein from *Bacillus licheniformis* HS10. *Biochem Biophys Res Commun.* 2014;454(1):48–52.
15. Zakaria E. Chitinase production by *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus licheniformis*. Their potential in antifungal biocontrol. *J Microbiol.* 2012;50(1):103–11.
16. Bergey DH. Bergey's manual of systematic bacteriology - Vol 3: The Firmicutes. Springer-Verlag New York Inc. 2009. 1–1476 p.
17. Tejera-Hernández B, Rojas-Badia M, Heydrich-Pérez M. Potencialidades del género *Bacillus* en la promoción del crecimiento vegetal y el control biológico de hongos fitopatógenos. 2011;42(3):131–8.
18. Chen YP, Rekha PD, Arun AB, Shen FT, Lai W -a., Young CC. Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. *Appl Soil Ecol.* 2006;34(1):33–41.
19. Ooi TC, Ariff a. B, Halimi MS, Shamsuddin ZH. Growth kinetics of diazotrophic *Bacillus sphaericus* UPMB10 cultured using different types and concentrations of carbon and nitrogen sources. *Malays J Microbiol.* 2008;4(2):15–25.
20. Beneduzi A, Ambrosini A, Passaglia LMP. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Their potential as antagonists and biocontrol agents. *Genet Mol Biol.* 2012;35(4 SUPPL.):1044–51.
21. Bloemberg G V, Lugtenberg BJJ. Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. *Curr Opin Plant Biol.* 2001;4(4):343–50.
22. Bottini R, Cassan F, Piccoli P. Gibberellin production by bacteria and its involvement in plant growth promotion and yield increase. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2004;65(5):497–503.
23. Ignacio M-R, Miguel G-R, María H-J, Encarnación J-A, Deisi A-V. Remediation of Soils Contaminated With Motor Oil By Highly. *Av en Ciencias e Ing.* 2014;5(2):21–9.
24. Carreras B. Aplicaciones de la bacteria entomopatógena *Bacillus thuringiensis* en el control de fitopatógenos. *Rev CORPOICA Cienc y Tecnología* 2011;12(2):129–33.
25. Wei J-Z, Hale K, Carta L, Platzer E, Wong C, Fang S-C, *Bacillus thuringiensis* crystal proteins that target nematodes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003;100(5):2760–5.
26. Sarabia M, Madrigal R, Martínez M, Carreón Y. Plantas, hongos micorrízicos y bacterias: su compleja red de interacciones. *Biológicas Rev la*

- DES Ciencias Biológico Agropecu Univ Michoacana San Nicolás Hidalgo. 2010;12(1):65–71.
27. González-Pastor JE. Canibalismo en poblaciones de *Bacillus subtilis*. Anal Biochem. 1994;217(2):220–30.
28. Rodríguez P. Biodiversidad De Hongos Fitopatogenos Del Suelo De Mexico. 2001;24.
29. Juárez-Becerra GP, Sosa-Morales ME, López-Malo A. Hongos Fitopatógenos de alta importancia económica: descripción y métodos de control. Vol. 4, Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos. 2010. p. 14–23.
30. Agrios GN. Introducción a la fitopatología. 1989. 756–760 p.
31. Ramírez J a, Lacasaña M. Plaguicidas: Clasificación, Uso, Toxicología Y Medición De La Exposición. Arch Prev Riesgos Labor. 2001;4(2):67–75.
32. Pérez-Moreno L, Durán-Ortiz L, Ramírez-Malagón R, Sánchez-Pale J. Compatibilidad Fisiológica y Sensibilidad a Fungicidas de Aislamientos de *Phytophthora capsici* Leo . Rev Mex Fitopatol. 2003;21(1):19–25.
33. Villa-Martínez A, Pérez-Leal R, Morales-Morales HA, Basurto-Sotelo M, Soto-Parra JM, Martínez-Escudero E. Situación actual en el control de *Fusarium* spp. y evaluación de la actividad antifúngica de extractos vegetales. Acta Agronómica. 2014;64(2):194–205.
34. Fesel PH, Zuccaro A. B-glucan: Crucial component of the fungal cell wall and elusive MAMP in plants. Fungal Genet Biol. 2016;90:53–60.
35. Pontón J. La pared celular de los hongos y el mecanismo de acción de la anidulafungina. Rev Iberoam Micol. 2008;25:78–82.
36. Delgadillo RJ, Calleros GV, Franco ST, Olalde V. Bacterias promotoras del crecimiento de plantas: Agro-biotecnología. Av y Perspect. 2001;20:395–400.
37. Layton C, Maldonado E, Monroy L, Corrales LC, Sánchez LC. *Bacillus* spp .; perspectiva de su efecto biocontrolador mediante antibiosis en cultivos afectados por fitopatógenos. Publ Cient en ciencias Biomed. 2011;9(15):177–87.
38. Paredes-Escalante J, Carrillo-Fasio J, García-Estrada R, Allende-Molar R, Sañudo-Barajas J, Valdez-Torres J. Microorganismos Antagonistas para el Control del Complejo de Hongos Causantes de la Rabia del Garbanzo (*Cicer arietinum* L .) en el Estado de Sinaloa , México. Rev Mex Fitopatol. 2009;27(1):27–36.
39. Sarti G, Miyazaki S. Actividad antifúngica de extractos crudos de extractos crudos de *Bacillus subtilis* contra fitopatogenos de sija (*Glycine max*) y efecto de su coinoculación con *Bradyrhizobium japonicum*. Agrociencia. 2013;47:373–83.
40. Mojica-Marín V, Luna-Olvera H a, Sandoval-Coronado CF, Pereyra-Alfárez B, Morales-Ramos L, González-Aguilar N, et al. Control biológico de la marchitez del chile (*Capsicum annuum* L.) por *Bacillus thuringiensis* Biological control of chili pepper root rot (*Capsicum annuum* L.) by *Bacillus thuringiensis*. Rev Int Botánica Exp.

- 2009;78(618):105–10.
41. Akgül DS, Mirik M. Biocontrol of phytophthora capsici on pepper plants by *Bacillus megaterium* strains. J Plant Pathol. 2008;90(1):29–34.
42. Reinoso Y, Vaillant D, Casadesus L, Garcia E, Alvarez-Rivera V. SELECCIÓN DE CEPAS DE BACILLUS Y OTROS GÉNEROS RELACIONADOS PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE HONGOS FITOPATÓGENOS. Fitosanida. 2007;11(1):35–40.
43. Jamalizadeh M, Etebarian HR, Alizadeh A, Aminian H. Biological Control of Gray Mold on Apple Fruits by *Bacillus licheniformis* (EN74-1). Phytoparasitica. 2008;36(1):23–9.
44. Corrales LC, Sanchez L, Cuervo J, Joya A, Marquez K. Efecto biocontrolador de Bacillus spp., frente a Fusarium sp., bajo condiciones de invernadero en plantas de tomillo (*Thymus vulgaris* L.). Nova, Publiccion Cient en Ciencias Biomed. 2012;10(17):1794–2470.
45. Lagunas-Lagunas J, Zavaleta-Mejía E, Osada-Kawasoe S, Aranda-Ocampo S. *Bacillus firmus* como agente de control biológico de Phytophthora capsici Leo. en jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Rev Mex Fitopatol. 2001;19(1):57–65.
46. Romero D, de Vicente A, Rakotoaly RH, Dufour SE, Veening J-W, Arrebola E, et al. The iturin and fengycin families of lipopeptides are key factors in antagonism of *Bacillus subtilis* toward Podosphaera fusca. Mol Plant Microbe Interact. 2007;20(4):430–40.
47. Chávez-Díaz I, Angoa-Pérez V, López-Díaz S, Velázquez-del Valle M, Hernández-Lauzardo A. Antagonistic bacteria with potential for biocontrol on *Rhizopus stolonifer* obtained from blackberry fruits. EDP Sci. 2014;69(1):41–6.
48. Sato T, Fukuda T, Morita H. Glucoamylase Production in Submerged Co-Culture System of *Bacillus amyloliquefaciens* and *Rhizopus cohnii*. Japan J Food Eng. 2011;12(2):55–63.
49. Tjalsma H, Antelmann H, Jongbloed J, Braun P, Darmon E, Dorenbos R, et al. Proteomics of Protein Secretion by *Bacillus subtilis*: Separating the “Secrets” of the Secretome. Microbiol Mol Biol Rev. 2004;68(2):207–33.
50. Velusamy P, Das J. Identification and characterization of antifungal chitinase from *Bacillus Subtilis* JD-09 and their role in inhibition of viable fungal growth. Int J Pharm Pharm Sci. 2014;6(7):232–5.
51. Ramirez-lepe M, Morales L, Vega D, Barboza-corona JE, Aguilar-uscanga MG, Ramírez-lepe M. Purification and characterization of an exochitinase from *Bacillus thuringiensis* subsp. aizawai and its action against phytopathogenic fungi. Can J Microbiol. 2006;52:651–7.
52. Sid Ahmed A, Ezziyyani M, Pérez Sánchez C, Candela ME. Effect of chitin on biological control activity of Bacillus spp. and *Trichoderma harzianum* against root rot disease in pepper (*Capsicum annuum*) plants. Eur J Plant Pathol. 2003;109(6):633–7.
53. Abraham A, Narayanan SP, Philip S, Nair

lactam Antibiotics: From Antibiosis to Resistance and Bacteriology. *Apmis*. 2010;118(1):1–36.



- DG, Chandrasekharan A, Kochupurackal J. In silico characterization of a novel β -1,3-glucanase gene from *Bacillus amyloliquefaciens* - a bacterial endophyte of *Hevea brasiliensis* antagonistic to *Phytophthora meadii*. *J Mol Model*. 2013;19(3):999–1007.
54. Moradi H, Bahramnejad B, Amini J, Siosemardeh A, Haji-Allahverdipour K. Suppression of chickpea (*Cicer arietinum* L.) Fusarium wilt by *Bacillus subtilis* and *Trichoderma harzianum*. *Plant Omics*. 2012;5(2):68–74.
55. Kavitha S, Senthilkumar S, Gnanamanickam S, Inayathullah M, Jayakumar R. Isolation and partial characterization of antifungal protein from *Bacillus polymyxa* strain VLB16. *Process Biochem*. 2005;40(10):3236–43.
56. Tang-Bing Cu, Hai-yun C, Li-Xian J. Isolation and Partial Characterization of an Antifungal Protein Produced by *Bacillus licheniformis* BS-3. *Molecules*. 2012;17(6):7336–47.
57. Gao M, Glenn AE, Blacutt AA, Gold SE. Fungal lactamases: Their occurrence and function. *Front Microbiol*. 2017;8(SEP):1–17.
58. Fenselau C, Havey C, Teerakulkittipong N, Swatkoski S, Laine O, Edwards N. Identification of β -lactamase in antibiotic-resistant *Bacillus cereus* spores. *Appl Environ Microbiol*. 2008;74(3):904–6.
59. Simonen M, Palva I. Protein secretion in *Bacillus* species. *Microbiol Mol Biol Rev*. 1993;57(1):109–37.
60. Kong K-F, Schnepfer L, Mathee K. Beta-