BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

# Agentes de control biológico contra hongos fitopatógenos del género *Fusarium*: estado del arte y búsqueda de bacterias promisorias

Tesis que para obtener el título de

LICENCIADA EN BIOLOGÍA

PRESENTA:
NAYELI ANGÉLICA DIYARZA SANDOVAL

DIRECTORA:
DRA. FRÉDÉRIQUE REVERCHON

OCTUBRE, 2021

## Dedicatoria

*Para Moni, cuya alegría ilumina mi alma,*

*para Norma, que con valentía y amor me enseña a vivir,*

*para Plutarco, cuya nobleza y bondad enriquecen al mundo.*

**Agradecimientos**

En primer lugar, quiero agradecer a mis padres, Norma Sandoval y Plutarco Diyarza, sin ustedes este trabajo no habría sido posible, gracias por todo el apoyo, no solo ahora, sino a lo largo de mi carrera y de mi vida. Solo ustedes saben por todo lo que hemos pasado. Gracias mamá, por enseñarme a reír aun en los momentos más complicados, por ser mi mejor amiga, y la persona en la que más confío. Gracias papá, por enseñarme el amor y respeto a la naturaleza, por subirme a un tractor y mostrarme el valor del campo. Por siempre trabajar con amor y paciencia. Y sobre todo gracias, por enseñarme que sentarse bajo la sombra de un árbol a observar el cielo, los árboles, los insectos y las aves, en un martes por la tarde, es el plan más interesante y divertido. Este trabajo es por y para ustedes.

A Mónica Diyarza, por demostrarme que los límites no existen, y enseñarme que con paciencia y constancia cualquier meta se puede alcanzar. Gracias por que desde que llegaste a mi vida, jamás me ha faltado un cálido abrazo, una sonrisa sincera y un gran motivo para continuar. Sin duda alguna, tú me has hecho una mejor persona. Gracias mi Noni.

Quiero agradecer a Alejandro Saavedra, por llegar a mi vida de la manera más inesperada, y desde entonces apoyarme incondicionalmente. Gracias por ser mi red, mi compañero y mi cómplice de vida. Este trabajo no habría visto la luz sin todo tu apoyo, gracias amor. Aún es largo el camino, pero a tu lado sé que no me faltarán alas.

A mi primo Andrés Alanís, gracias por ser ese hermano mayor que nunca tuve, todo tu apoyo e inspiración para que me formara en una carrera científica está dando frutos, gracias por siempre estar para mí.

A Xiumy Sánchez y Elisa Moranchel, de verdad que sus llamadas, sus mensajes y sus palabras, no solo me animaban sino me impulsaban a dar siempre un poquito más de mí. Ustedes han sido vitales en este proyecto y en mi vida.

A Monserrat Capilla y Cecilia Esquivel, por siempre estar dispuestas a apoyarme y resolverme cualquier duda microbiológica. Gracias por su amistad y sabiduría.

A Erika Chacón, por ser la amiga que quiero que este siempre en mi vida. Por qué una conversación contigo, es abrirle la puerta a un mundo de reflexión, crecimiento y aprendizaje.

A la Dra. Frédérique Reverchon, por haberme recibido en su laboratorio y acompañarme en la realización de este proyecto. Muchas gracias Dra., por brindarme siempre su apoyo y paciencia ante cualquier duda. Gracias, por todas las enseñanzas dentro y fuera del laboratorio, y sobre todo por mostrarme que ni una pandemia puede detener a una científica en acción.

Al Dr. Alfonso Méndez, por abrirme las puertas de su laboratorio, y permitirme realizar este proyecto con todo el equipo necesario.

A Itzel Solís y Edgar Guevara, por todo su apoyo, guía y paciencia. Gracias por siempre compartirme su conocimiento. Y hacer aún más divertida esta aventura. Gracias Itzel, por brindarme tu amistad sin siquiera dudarlo, y por mostrarme que aún lejos de casa, siempre habrá quien te haga sentir en familia.

Quiero agradecer a cada una de las personas que han estado en mi vida, gracias por todas las experiencias, el amor y la amistad que me han brindado.

El presente proyecto fue subvencionado por parte del proyecto FORDECYT con número 292399, titulado “Generación de estrategias científico-tecnológicas con un enfoque multidisciplinario e interinstitucional para afrontar la amenaza que representan los complejos ambrosiales en los sectores agrícola y forestal de México”.

**ÍNDICE**

Resumen ..... 11

1.INTRODUCCIÓN ..... 12

2. ANTECEDENTES ..... 13

2.1 El género *Fusarium*: características generales y relación con enfermedades de cultivos en México ..... 13

2.2 El cultivo de aguacate en México y sus principales fitopatógenos ..... 16

2.3 Control biológico ..... 17

2.4 Filósfera ..... 19

3. JUSTIFICACIÓN ..... 20

4. HIPÓTESIS ..... 21

5. OBJETIVOS ..... 21

Objetivo general ..... 21

Objetivos particulares ..... 21

6. MATERIALES Y MÉTODOS ..... 22

6.1 Revisión bibliográfica ..... 22

6.2 Estudio de caso ..... 22

6.2.1 Obtención y reactivación de bacterias ..... 22

6.2.2 Obtención y reactivación de hongos del género *Fusarium* ..... 24

6.2.3 Caracterización morfológica de las cepas bacterianas ..... 25

6.2.4 Evaluación *in vitro* de la actividad antifúngica de los aislados bacterianos seleccionados contra hongos del género *Fusarium* mediante ensayos de antagonismo directo ..... 25

6.2.5 Evaluación *in vitro* de la actividad antifúngica contra hongos del género *Fusarium* mediante compuestos volátiles ..... 26

6.2.6 Análisis estadísticos ..... 27

7. RESULTADOS ..... 28

7.1 Revisión bibliográfica del estado *Fusarium* en México ..... 28

7.1.1 Bacterias como agentes de control biológico (ACB) de *Fusarium* ..... 28

7.1.2 El género *Bacillus* como ACB contra *Fusarium* en México ..... 29

7.1.3 Rizobacterias pertenecientes a otros géneros como ACB contra *Fusarium* en México ..... 31

7.1.4 Búsqueda de bacterias como ACB de *Fusarium* spp. en hábitats poco explorados: un nicho de oportunidad para México ..... 33

7.1.5 Hongos como agentes de control biológico de *Fusarium* ..... 38

7.1.6 Compuestos naturales microbianos para el control biológico de *Fusarium* ..... 41

7.1.7 Enzimas líticas ..... 42

7.1.8 Lipopéptidos ..... 43

7.1.9 Compuestos orgánicos volátiles ..... 45

7.1.10 Conclusiones y perspectivas ..... 49

7.2. Estudio de caso ..... 51

7.2.1 Caracterización morfológica de los aislados bacterianos ..... 51

7.2.2 Evaluación de la actividad antifúngica de los aislados bacterianos contra *Fusarium* sp. B1, *Fusarium* sp. BM-06 y *F. solani* A11, a través de ensayos de antagonismo directo ..... 52

7.2. 3 Evaluación de la actividad antifúngica de los aislados bacterianos contra *Fusarium* sp. B1, *Fusarium* sp. BM-06 y *F. solani* A11 por medio de la emisión de compuestos orgánicos volátiles ..... 60

8. DISCUSIÓN ..... 70

9. CONCLUSIONES ..... 78

10. LITERATURA CITADA ..... 79

11. Anexos ..... 100

## ÍNDICE DE CUADROS

**Cuadro 1**. Especies del género *Fusarium* relacionadas con enfermedades de cultivos en México. ..... 15

**Cuadro 2**. Aislados bacterianos utilizados en los ensayos de antagonismo contra *Fusarium* spp..... 22

**Cuadro 3**. Estudios que reportan bacterias como ACB contra hongos fitopatógenos del género *Fusarium* en México ..... 35

**Cuadro 4**. Estudios que reportan hongos como ACB contra hongos fitopatógenos del género *Fusarium* en México ..... 41

**Cuadro 5**. Estudios que reportan productos naturales de origen microbiano contra hongos fitopatógenos del género *Fusarium* en México ..... 47

**Cuadro 6**. Morfología celular de los aislados bacterianos provenientes de filósfera de aguacate..... 51

**Cuadro 7**. Crecimiento micelial y porcentaje de inhibición de *Fusarium* sp. B1 expuesto a los aislados bacterianos filosféricos, a través de ensayos de antagonismo directo ..... 52

**Cuadro 8**. Crecimiento micelial y porcentaje de inhibición de *Fusarium* sp. BM-06 expuesto a los aislados bacterianos filosféricos, a través de ensayos de antagonismo directo. ..... 54

**Cuadro 9**. Crecimiento micelial y porcentaje de inhibición de *F. solani* A11 expuesto a los aislados bacterianos filosféricos y rizosféricos, a través de ensayos de antagonismo directo. ..... 57

**Cuadro 10**. Crecimiento micelial y porcentaje de inhibición de *Fusarium* sp. B1 expuesto a los aislados bacterianos filosféricos. ..... 60

**Cuadro 11**. Crecimiento micelial y porcentaje de inhibición de *Fusarium* sp. BM06 expuesto a los aislados bacterianos filosféricos. ..... 63

**Cuadro 12**. Crecimiento micelial y porcentaje de inhibición de *F. solani* A11 expuesto a los aislados bacterianos filosféricos y rizosféricos. ..... 66

## ÍNDICE DE FIGURAS

**Figura 1.** Diseño esquemático del ensayo de antagonismo directo para determinar la actividad antifúngica de los aislados bacterianos**.** ..... 26

**Figura 2.** Diseño esquemático del ensayo de doble caja Petri para determinar la actividad antifúngica de VOC bacterianos. ..... 27

**Figura 3.** Evaluación de diferentes géneros de bacterias como ACB contra *Fusarium* en México ..... 29

**Figura 4.** Evaluación de diferentes géneros de hongos como ACB contra *Fusarium* en México ..... 38

**Figura 5.** Evaluación de productos naturales de origen microbiano como ACB contra Fusarium en México ..... 42

**Figura 6.** Áreas de oportunidad para la búsqueda de ACB de *Fusarium* spp. en México ..... 50

**Figura 7.** Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial radial de *Fusarium* sp. B1 ocasionado por los aislados bacterianos B2, B10 y B11 (n= 3 réplicas), a través de ensayos de antagonismo directo. ..... 53

**Figura 8**. Ensayos de antagonismo directo entre *Fusarium* sp. B1 y los aislados bacterianos B2, B10 y B11 provenientes de filósfera de aguacate. ..... 54

**Figura 9.** Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial radial de *Fusarium* sp. BM-06 ocasionado por los aislados bacterianos B2, B3, B4, B5, B6, B7, B8, B9, B10, B11 y B12 (n= 3 réplicas), a través de ensayo de antagonismo directo. ..... 55

**Figura 10**. Ensayos de antagonismo directo entre *Fusarium* sp. BM-06 y los aislados bacterianos B2, B3, B4, B5, B6, B7, B8, B9, B10, B11 y B12 provenientes de filósfera de aguacate..... 56

**Figura 11.** Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial radial de F. solani A11 ocasionado por los aislados bacterianos B1, B2, B3, B4, B5, B6, B7, B8, B9, B10, B11, B12, HA INECOL-5911 (n= 3 réplicas), por medio de ensayos de antagonismo directo..... 58

**Figura 12**. Ensayos de antagonismo directo entre *F. solani* A11 y los aislados bacterianos B1, B2, B3, B4, B5, B6, B7, B8, B9, B10, B11 y B12 provenientes de filósfera y los aislados HA INECOL-5911 provenientes de rizósfera de aguacate. 59

**Figura 13.** Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium* sp. B1 ocasionado por los aislados bacterianos B1, B2, B3, B4, B6, B7, B8, B9, B10, B11 y B12 (n= 3 réplicas), por medio de ensayos de doble caja Petri ..... 61

**Figura 14**. Ensayos de doble caja Petri entre *Fusarium* sp. B1 y los aislados bacterianos B1, B2, B3, B4, B6, B7, B8, B9, B10, B11 y B12 provenientes de filósfera de aguacate..... 62

**Figura 15.** Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium* sp. BM-06 ocasionado por los aislados bacterianos B1, B2, B3, B4, B5, B6, B7, B8, B9, B10, B11 y B12 (n= 3 réplicas), por medio de ensayos de doble caja Petri. ..... 64

**Figura 16**. Ensayos de doble caja Petri entre *Fusarium* sp. BM-06 y los aislados bacterianos B1, B2, B3, B4, B5, B6, B7, B8, B9, B10, B11 y B12 provenientes de filósfera de aguacate. ..... 65

**Figura 17.** Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de F. solani A11, ocasionado por los aislados bacterianos B1, B2, B3, B4, B5, B6, B7, B8, B9, B10, B11, B12, HA, SO e INECOL-5911 (n= 3 réplicas), por medio de ensayos de doble caja Petri. ..... 67

**Figura 18**. Ensayos de doble caja Petri entre *F.* solani A11 y los aislados bacterianos B1, B2, B3, B4, B5, B6, B7, B8, B9, B10, B11 y B12 provenientes de filósfera de aguacate y HA, SO e INECOL-5911, provenientes de rizósfera de aguacate..... 68

## Resumen

Las enfermedades causadas por hongos del género *Fusarium* ocasionan daños ecológicos y económicos en una gran variedad de cultivos. El método de control tradicional de estas enfermedades es el uso de agroquímicos sintéticos, los cuales pueden afectar la salud humana y el ambiente. Existe un interés creciente para la búsqueda de agentes de control biológico (ACB) de hongos fitopatógenos del género *Fusarium*, para promover alternativas de manejo más sustentables. Nuestro objetivo fue revisar la literatura existente sobre las alternativas de control biológico contra *Fusarium* spp. que se han desarrollado en México, y corroborar a través de un estudio de caso, la posibilidad de usar bacterias asociadas a la filósfera y rizósfera del aguacate como agentes promisorios de control biológico contra *Fusarium* spp.

Nuestra revisión mostró que el enfoque principal de los estudios de control biológico contra *Fusarium* spp. ha sido el aislamiento de bacterias, en particular rizobacterias de diferentes cultivos y pertenecientes al género *Bacillus*. En contraste, el uso de hongos como ACB contra *Fusarium* es aún incipiente. Los estudios más recientes integran la caracterización de los compuestos naturales microbianos responsables de la actividad antifúngica observada. Nuestro estudio de caso permitió identificar a bacterias de la filósfera y rizósfera del aguacate como posibles ACB contra hongos fitopatógenos del género *Fusarium*, a nivel *in vitro*. La emisión de compuestos difusibles y volátiles forma parte de la interacción antagónica. Corroboramos que la filósfera representa un potencial nicho de oportunidad para la búsqueda de ACB.

Los resultados obtenidos en la presente investigación enfatizan la necesidad de: 1) extender la búsqueda de ACB a hábitats diferentes de la rizosfera, enfocándose a ambientes extremos y a géneros microbianos aún poco estudiados; 2) investigar la producción de compuestos antifúngicos bajo diversas condiciones de cultivo, considerando las interacciones con otros microorganismos; 3) escalar las investigaciones a condiciones de campo.

# 1.INTRODUCCIÓN

La producción agrícola juega un papel importante en la economía mexicana, debido a que, anualmente, representa un 64.6% del valor generado por las actividades del sector primario (CEDRSSA, 2019). Sin embargo, esta producción se ha encontrado expuesta a diversos factores que influyen negativamente en su rendimiento y eficiencia. Entre estos factores destacan los hongos fitopatógenos, los cuales ocasionan el 30% de las enfermedades encontradas en plantas a nivel mundial (Anderson *et al*., 2004; Möller y Stukenbrock, 2017). Dentro de los hongos fitopatógenos prepondera el género *Fusarium*, al contar con una amplia diversidad genética y capacidad de diseminación, y al posicionarse como el responsable de por lo menos una enfermedad en la mayoría de los cultivos (Leslie y Summerell, 2006).

El tratamiento de las enfermedades causadas por *Fusarium* se realiza comúnmente a través del uso de productos químicos sintéticos, los cuales pueden ocasionar un impacto sobre la salud humana y el funcionamiento del ecosistema (Tang *et al*., 2021). Además, el uso inadecuado de agroquímicos puede resultar en un aumento de los costos de producción y la promoción del desarrollo de resistencia por parte de los patógenos fúngicos (Cabrera *et al*., 2020). En este contexto, existe un interés creciente para la búsqueda de agentes de control biológico (ACB) de hongos fitopatógenos del género *Fusarium*, para promover alternativas de manejo que sean más amigables con el medio ambiente y la salud humana. El control biológico se define en este caso como un método de mitigación de enfermedades que consiste en utilizar microorganismos vivos, o los compuestos naturales que éstos producen, como antagonistas del agente fitopatógeno que se requiera controlar (Córdova-Albores *et al*., 2021).

Es por ello que esta investigación tiene como finalidad analizar las alternativas de control biológico contra hongos del género *Fusarium* que se han desarrollado en México, por medio de una revisión bibliográfica, así como, corroborar por medio de un estudio de caso, la posibilidad de usar bacterias

asociadas a un cultivo de importancia para el país como agentes promisorios de control biológico contra hongos del género *Fusarium.*

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 El género *Fusarium*: características generales y relación con enfermedades de cultivos en México

El género *Fusarium* está constituido por alrededor de 200 especies clasificadas en 22 complejos (Laurence *et al*., 2016). Los hongos del género *Fusarium* son hongos filamentosos, cosmopolitas, ampliamente distribuidos en el suelo y asociados a plantas, descritos con mayor frecuencia como colonizadores de la rizósfera, ya sea como parásitos o saprófitos (Nelson *et al*., 1994). Además del suelo, *Fusarium*, también se ha reportado en hábitats acuáticos, tanto de aguas dulces como saladas (Palmero *et al*., 2009; Cutuli *et al*., 2015). En relación a su distribución geográfica, *Fusarium* abarca regiones tropicales y templadas, pero también se ha reportado en regiones con condiciones ambientales extremas, por ejemplo, en áreas desérticas o árticas (Kommedahl *et al*., 1988; Gutiérrez-Ruacho *et al*., 2018). La amplia distribución de *Fusarium* se puede atribuir a su capacidad para crecer en diversos sustratos y a sus eficientes mecanismos de dispersión (Nelson *et al*., 1994).

Algunas especies del género producen micotoxinas como metabolitos fúngicos secundarios, las cuales son dañinas para humanos y otros animales. Entre ellas, destacan las fumonisinas, una familia de micotoxinas cancerígenas transmitidas a través del consumo de alimentos, específicamente cereales (Gelderblom *et al*., 1988**;** Corrêa *et al*., 2018); los tricotecenos, asociados frecuentemente con toxicosis humanas y con supresión del sistema inmunológico, hemorragias, y muerte de ganado (Munkvold, 2017); y las zearalenonas, micotoxinas asociadas con anomalías reproductivas principalmente en porcinos, como la infertilidad y la perturbación de la implantación de embriones (Peraica *et al*., 1999; Metzler *et al*., 2010; Rogowska *et al*., 2019).

De igual forma, las micotoxinas emitidas por *Fusarium* ocasionan daños importantes en plantas (Perincherry *et al*., 2019). Los principales fitopatógenos

estudiados se agrupan dentro de cuatro complejos de especie: 1) Complejo de especies de *Fusarium fujikuroi* (FFSC, por sus siglas en inglés), asociado a la contaminación por fumonisinas en cereales, y relacionado con enfermedades en el maíz, sorgo, arroz, caña de azúcar, mango, entre otros cultivos, 2) Complejo de especies de *Fusarium graminearum* (FGSC, por sus siglas en inglés), responsable de la contaminación del grano con micotoxinas de tricoteceno tipo B y zearalenona. Los miembros de este complejo se asocian a enfermedades en los cereales de grano pequeño, como el maíz, 3) Complejo de especies de *Fusarium solani* (FSSC, por sus siglas en inglés) los miembros de este grupo causan la pudrición de las raíces de numerosos cultivos, pero no contribuyen de manera importante a la exposición a micotoxinas en humanos o ganado y 4) Complejo de especies de *Fusarium oxysporum* (FOSC, por sus siglas en inglés), los miembros de este complejo son conocidos por causar enfermedad de marchitez vascular, pero también son fitopatógenos responsables de la pudrición de la raíz en diversos cultivos. No se consideran contribuyentes importantes a la exposición a micotoxinas en humanos o ganado (Aoki *et al*., 2014; Munkvold, 2017).

Colectivamente, las enfermedades causadas por *Fusarium* incluyen marchitez, tizones, podredumbres y chancros de muchos cultivos y especies silvestres (Ma *et al*., 2013). En el caso particular de México, el género *Fusarium* daña cultivos de gran importancia agrícola y cultural como el maíz, al ocasionar pudrición del tallo, de la mazorca y de la raíz (SERR, por sus siglas en inglés), enfermedad causada por las especies *F. graminearum* y *F. verticillioides* (Figueroa-López *et al*., 2016; Cabrera *et al*., 2020); la fresa, al generar la enfermedad denominada “secadera”, relacionada con la presencia de *F. verticillioides*, entre otros hongos (Mariscal-Amaro *et al*., 2017); el aguacate, al producir cancro y pudrición de raíz causados por *F. oxysporum, F. solani, F. equiseti, F. sambucinum, F. moniliforme, F. tabacinum,* y *F. sporotrichioides* (Ceja-Torres *et al*., 2000; Carranza *et al*., 2015; Solís-García *et al*., 2021); el chile, al causar marchitez por parte de *F. solani* y *F. oxysporum* (Vásquez-López *et al*., 2009; Robles-Hernández *et al*., 2015) y el tomate, al ocasionar marchitez vascular asociada a la presencia de *F. oxysporum* y *F. falciforme* (Herrera-Téllez *et al*., 2019; Vega-Gutiérrez *et al*.,

2019), siendo estos últimos responsables de pérdidas de producción de hasta el 60% (Ascencio-Álvarez *et al*., 2008). El Cuadro 1 resume las distintas enfermedades causadas por *Fusarium* spp. en cultivos de importancia en México.

**Cuadro 1.** Especies del género *Fusarium* relacionadas con enfermedades de cultivos en México.

| Agentes causales | Cultivo | Enfermedad | Referencias |
|---|---|---|---|
| *F. graminearum*<br>*F. verticilliodes* | *Zea mays* | Pudrición del tallo, de la mazorca y de la raíz | Figueroa-López *et al*., 2016; Cabrera *et al*., 2020 |
| *F. verticilliodes* | *Fragaria vesca* | La secadera | Basurto-Cadena *et al*., 2012 |
| *Fusarium* sp. M3B<br>*F. solani*<br>*F. oxysporum* | *Capsicum annum* | Marchitez del chile | Robles-Hernández *et al*., 2015; Sagredo-Beltrán *et al*., 2018 |
| *F. oxysporum*<br>*F. solani*<br>*F. verticilliodes* | *Ormosia macrocalyx* | Pudrición de la raíz y marchitez de la hoja | Hernández-Hernández *et al*., 2018 |
| *F. solani*<br>*F. oxysporum* | *Sporobolus airoides* | Pudrición de la raíz | Martínez-Raudales *et al*., 2017 |
| *F. oxysporum*<br>*F. sambucinum*<br>*F. moniliforme*<br>*F. tabacinum*<br>*F. solani*<br>*F. sporotrichioides* | *Persea americana* | Tristeza del aguacate (Pudrición de la raíz) | Carranza *et al*., 2015 |
| *F. oxysporum*<br>*F. solani*<br>*F. equiseti* | *Persea americana* | Cancro | Ceja-Torres *et al*., 2000 |
| *F. oxysporum* | *Solanum lycopersicum var. cerasiforme* | Marchitez vascular | Medina-Romero *et al*., 2017; Herrera-Téllez *et al*., 2019 |

## 2.2 El cultivo de aguacate en México y sus principales fitopatógenos

México es el principal productor de aguacate, contribuyendo con el 60% de la producción mundial (FAO, 2019). A nivel nacional, la producción de aguacate está concentrada en Michoacán. La producción aguacatera del estado de Michoacán ha oscilado entre el 80 y 85% del total nacional. Los siguientes estados con mayor producción son: Estado de México, Jalisco, Nayarit y Morelos (SIAP, 2016). Sin embargo, el cultivo del aguacate es susceptible a enfermedades que generan incrementos en los costos de producción, disminuyendo la rentabilidad del cultivo, debido a que tanto las plagas como las enfermedades afectan la calidad de la fruta y limitan su comercialización y exportación (Rodríguez-Campos *et al*., 2017). De manera específica, el cultivo de aguacate es susceptible a múltiples enfermedades causadas por hongos y oomicetos microscópicos que afectan diferentes órganos: frutos, tallos, ramas, raíces y órganos florales (Tamayo, 2007).

Entre las enfermedades de mayor importancia en cultivos de aguacate, por su frecuencia y severidad, se destacan: la pudrición de raíces, ocasionada por el oomiceto *Phytophthora cinnamomi* y los hongos *F. oxysporum, F. sambucinum, F. moniliforme, F. tabacinum, F. solani* y *F. sporotrichioides,* que atacan el sistema radicular y la base del tallo, evitando la absorción de agua y su transporte al follaje, y produciendo marchitez, secamiento y muerte repentina del árbol (Carranza *et al*., 2015; Rodríguez-Campos *et al*., 2017); la roña causada por el hongo *Sphaceloma perseae* la cual afecta a las hojas, principalmente las nuevas, y dañando a los frutos, deteriorando su calidad. En el fruto ocasiona lesiones irregulares color marrón. En ataques severos, los brotes y las hojas se necrosan, se enroscan hacia arriba y pueden llegar a morir (Rodríguez-Campos *et al*., 2017); la antracnosis del fruto, enfermedad causada por *Colletotrichum gloeosporioides*, se desarrolla antes de la cosecha y se manifiesta en postcosecha. Inicialmente se manifiesta con manchas redondas color marrón, paralelamente, el hongo produce una pudrición en la pulpa del fruto, que ocasiona un sabor desagradable y avanza hasta colonizar el hueso (Rodríguez-Campos *et al*., 2017); la mancha angular de la hoja por *Pseudocercospora purpurea* (Tamayo, 2007), esta enfermedad ataca a las hojas y produce lesiones pequeñas color marrón obscuro, provocando la caída de todo el

fruto del árbol. En postcosecha, ocasiona la llamada mancha negra en el fruto; el cancro, una enfermedad ocasionada por diversos géneros de hongos como *Neofusicoccum*, *Botryosphaeria*, *Lasidiploidia*, *Diploidia* y *Fusarium* (McDonald *et al*., 2009; García *et al*., 2017; Lawrence *et al*., 2017); su importancia radica en la velocidad de desarrollo y capacidad de daño alrededor del tronco. Reduce el vigor del árbol con producción de frutos pequeños y de mala calidad, un síntoma frecuente es la muerte necrótica de hojas e inflorescencias, que pueden llevar a la muerte de árbol. Ceja-Torres *et al*. (2000) describieron dos tipos de cancro, el tipo "A" y el tipo "B". Los autores reportaron que el cancro tipo "A" es causado por *F. oxysporum, F. solani, F. equiseti,* y *Nectria galligana*, generando manchas obscuras en el exterior del tronco y ramas, así como lesiones café-rojizo en el interior que se extienden hacia los tejidos vasculares, mientras que el cancro tipo "B" se asocia con la infección por oomicetos del género *Phytophthora*; y la marchitez por *Fusarium* (FD, por sus siglas en inglés), una enfermedad recientemente descrita vectorizada por escarabajos del género *Euwallacea* (Eskalen *et al*., 2012). Se ha informado que la marchitez por *Fusarium* representa una amenaza globalmente significativa para los bosques naturales, los paisajes urbanos y los cultivos frutales, particularmente el aguacate (O'Donnell *et al*., 2016). La colonización por los hongos de las galerías excavadas por el escarabajo precede a una invasión fúngica de los tejidos vasculares, que bloquea el transporte de nutrientes a las partes más altas del árbol, lo que conduce a la marchitez, la muerte de las ramas y, en casos graves, la mortalidad de los árboles (Eskalen *et al*., 2013).

## 2.3 Control biológico

Existe un interés creciente para la búsqueda de ACB de hongos fitopatógenos del género *Fusarium*, para promover alternativas de manejo que sean amigables con el medio ambiente y la salud humana. El control biológico se define en este caso como un método de mitigación de enfermedades que consiste en utilizar microorganismos vivos, o los compuestos naturales que éstos producen, como antagonistas del agente fitopatógeno que se requiera controlar (Córdova-Albores *et al*., 2021).

La investigación de los ACB contra *Fusarium* se ha concentrado en el estudio de los aislados bacterianos de origen rizosférico y los metabolitos secundarios involucrados en la interacción antagónica. Por ejemplo, las enzimas hidrolíticas como glucanasas y proteasas, así como, los antibióticos lipopeptídicos de las familias surfactinas, fengicinas e iturinas A, secretados por bacterias presentes en el rizoplano de aguacate, se han reportado como los principales compuestos naturales con propiedades antifúngicas contra *F. oxysporum* y *Rosellinia necatrix*. Particularmente, se describió que los aislados bacterianos *B. subtilis* PCL1608 y PCL1612, redujeron la incidencia de la pudrición de la raíz de tomate (*S. lycopersicum*), causada por *F*. *oxysporum*, en un 40-53%. Ambos aislados bacterianos se caracterizaron por una producción elevada del lipopéptido iturina A (Cazorla *et al*., 2007). De igual forma, los lipopéptidos secretados por *Bacillus subtilis* SPB1, aislado bacteriano de suelo tunecino contaminado por hidrocarburos, se han reportado como agentes antifúngicos contra *F. solani*, fitopatógeno presente en tubérculos de papa (*Solanum tuberosum*) y plántulas de tomate. A nivel *in vitro*, se ha descrito que dichos metabolitos son capaces de ocasionar una lisis del micelio, y una inhibición de la formación y germinación de las esporas fúngicas (Mnif *et al*., 2015).

Los compuestos orgánicos volátiles (VOCs, por sus siglas en inglés) también se han descrito como metabolitos emitidos por bacterias rizosféricas, con propiedades de control biológico contra *Fusarium*. Por ejemplo, se ha documentado que los VOCs emitidos por *Bacillus* sp. B44, aislado bacteriano de la rizósfera de tomate, ocasionan un 70% de inhibición del crecimiento micelial de *F. oxysporum,* fitopatógeno responsable del marchitamiento en tomate. El análisis de GC-MS (Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, por sus siglas en inglés), permitió identificar al ácido 1,2-bencenodicarboxílico (23,99%), 6-undecilamina (6,61%), 2-metiloctacosano, ácido 9-octadecenoico (5,13%) y 1-tetradecanamina, N, N-dimetilo (5,05%), como los cinco compuestos volátiles principales (Jangir *et al*., 2018).

En general, los géneros *Bacillus* y *Pseudomonas* se han catalogado como las principales bacterias estudiadas por su actividad de biocontrol, al presentar un arsenal de mecanismos de acción, como la competencia por hierro mediada por sideróforos, la producción de antibióticos y la resistencia sistémica inducida (Raaijmakers *et al*., 1995; Khan *et al*., 2018; Guevara-Avendaño *et al*., 2018), así como la presencia de otras propiedades de interés agrícola, como la promoción del crecimiento vegetal (Méndez-Bravo *et al*., 2018).

## 2.4 Filósfera

La filósfera está conformada por las partes aéreas de una planta, en las que se incluyen el tallo, las hojas, las flores, y los frutos (Wiraswati *et al*., 2020). Se considera un hábitat complejo, debido a las condiciones ambientales que lo definen, como la limitación de nutrientes, la desecación, y la alta radiación ultravioleta (Vorholt, 2012; Stone *et al*., 2018). Las bacterias presentes en la filósfera han desarrollado mecanismos que les permiten resistir a las condiciones adversas de este entorno (Andrews y Harris, 2000; Lindow y Brandl, 2003; Vorholt, 2012), y se han descrito como los microorganismos más exitosos para colonizarlo, se estima un promedio de $10^6$-$10^7$ bacterias por $cm^3$ de superficie de la hoja y una abundancia bacteriana global presente en la filósfera de hasta $10^{26}$ células bacterianas (Vorholt, 2012). Además, son capaces de inhibir a microorganismos fitopatógenos por medio de mecanismos directos e indirectos como la producción de compuestos antimicrobianos y la competencia por recursos (Chaudhary *et al*., 2017), por lo que se han propuesto como un nicho de oportunidad para la búsqueda de ACB bacterianos (Báez-Vallejo *et al*., 2020).

## 3. JUSTIFICACIÓN

*Fusarium* es considerado uno de los géneros más importantes de hongos fitopatógenos, responsable de ocasionar una variedad de enfermedades en plantas, relacionadas con la marchitez vascular y la pudrición de raíces, tallos y frutos, en innumerables cultivos agrícolas, hortícolas, ornamentales y forestales de importancia económica en todo el mundo (Summerell, 2019; Dean *et al*., Xia *et al*., 2020). Además, *Fusarium* se caracteriza por albergar importantes especies productoras de micotoxinas, perjudiciales para los animales y la salud humana (Khaneghah *et al*., 2020). Por lo tanto, el control de *Fusarium* se ha vuelto imprescindible para la seguridad alimentaria (González-Chang *et al*., 2016; O'Brien, 2017), y las estrategias de manejo integral de las enfermedades causadas por *Fusarium* deben considerar el control biológico como alternativa. En este sentido, se han desarrollado diversas investigaciones a nivel nacional, enfocadas en el control biológico de *Fusarium* como una alternativa amigable con el medio ambiente y la salud humana. Por ello, analizar cuáles son los principales ACB estudiados, qué hábitats han sido explorados para su búsqueda, en qué fase de investigación se encuentran (*in vitro*, invernadero y/o campo), y qué factores se han tomado en cuenta para el desarrollo de nuevas formulaciones, permitirá comprender el estado actual del biocontrol de *Fusarium* en México; asimismo, identificar aquellas áreas de oportunidad para lograr estrategias más eficientes de control biológico de *Fusarium* spp. Además, corroborar por medio de un estudio de caso, la posibilidad de usar bacterias asociadas a la filósfera de un cultivo de importancia para el país como ACB contra *Fusarium* spp., sentará las bases para poder entender qué mecanismos rigen la interacción ACB – fitopatógeno, y permitirá proponer la exploración de nuevos hábitats como posibles fuentes de ACB exitosos.

## 4. HIPÓTESIS

- Al ser México un país sustentado en la agricultura con diversos cultivos expuestos al ataque de hongos fitopatógenos del género *Fusarium*, se espera encontrar, por medio de una revisión bibliográfica, una investigación extensa sobre métodos de control biológico de las enfermedades que estos hongos causan. Además, se espera que el avance de dicha investigación se vea reflejado en una aplicación exitosa en campo.

- Por medio de un estudio de caso encaminado a verificar el potencial de microorganismos como posibles agentes de control biológico de hongos fitopatógenos del género *Fusarium*, se espera que bacterias asociadas a árboles de aguacate inhiban el crecimiento micelial de aislados de *Fusarium* spp., obtenidos a partir de árboles de aguacate.

## 5. OBJETIVOS

### Objetivo general

Analizar las alternativas de control biológico contra hongos fitopatógenos del género *Fusarium* que se han desarrollado en México a través de una revisión bibliográfica, y corroborar, a través de un estudio de caso, la posibilidad de usar bacterias asociadas a un cultivo de importancia para el país como agentes promisorios de control biológico contra *Fusarium* spp.

### Objetivos particulares

1. Realizar una revisión de la literatura existente sobre las investigaciones llevadas a cabo en México para mitigar el impacto de enfermedades causadas por *Fusarium* spp. gracias al uso de agentes microbianos de control biológico.
2. Caracterizar morfológicamente aislados bacterianos asociados a árboles de aguacate, pertenecientes a la colección de Laboratorio de Microbiología Ambiental Pátzcuaro del INECOL.
3. Evaluar la actividad antifúngica de bacterias asociadas a árboles de aguacate contra hongos del género *Fusarium* a través de ensayos de antagonismo *in vitro*.

# 6. MATERIALES Y MÉTODOS

## 6.1 Revisión bibliográfica

La búsqueda de artículos científicos se implementó en la base de datos Scopus, utilizando como palabras claves: "*Fusarium*", "antifungal" AND "bacteria" así como "*Fusarium*", "antifungal" AND "fungi". En ambas búsquedas, se definió "México" como país de afiliación. No se utilizó margen de tiempo definido y se utilizaron todos los artículos publicados hasta el 21 de mayo del 2021. Se desarrolló una clasificación general de las estrategias de control biológico en función del agente activo en el que se basan: Bacterias, Hongos y Productos Naturales.

## 6.2 Estudio de caso

### 6.2.1 Obtención y reactivación de bacterias

Se seleccionaron 12 aislados bacterianos provenientes de filósfera (H-A1-3-A1, H-A1-3-C1, H-A2-3-A1, H-A3-3-A1, H-A5-3-B1, H-A6-3-A1, H-A6-2-B2, H-A6-3-C1, H-A7-2-A2, H-A7-2-A4, H-A8-2-C1 y H-A7-3-B1) y 3 aislados asociados a rizósfera (SO, HA, e INECOL-5911) de árboles de aguacate, pertenecientes a la colección de Laboratorio de Microbiología Ambiental Pátzcuaro del INECOL (Cuadro 2). La actividad antifúngica de los aislados obtenidos de rizósfera contra *F. solani, F. euwallaceae* y/o *F. kuroshium* fue reportada en estudios previos (Guevara-Avendaño *et al*., 2018, 2019). Sin embargo, los aislados provenientes de filósfera no fueron caracterizados previamente, por lo que fue necesario realizar su descripción morfológica.

**Cuadro 2**. Aislados bacterianos utilizados en los ensayos de antagonismo contra *Fusarium* spp.

| Clave | Aislado bacteriano | Proveniencia | Lugar de procedencia | Identificación molecular |
|---|---|---|---|---|
| **B1** | H-A1-3-A1 | Filósfera - *Persea americana* | Huatusco, Veracruz | ---- |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| **B2** | H-A1-3-C1 | Filósfera - *Persea americana* | Huatusco, Veracruz | ---- |
| **B3** | H-A2-3-A1 | Filósfera - *Persea americana* | Huatusco, Veracruz | ---- |
| **B4** | H-A3-3-A1 | Filósfera - *Persea americana* | Huatusco, Veracruz | ---- |
| **B5** | H-A5-3-B1 | Filósfera - *Persea americana* | Huatusco, Veracruz | ---- |
| **B6** | H-A6-3-A1 | Filósfera - *Persea americana* | Huatusco, Veracruz | ---- |
| **B7** | H-A6-2-B2 | Filósfera - *Persea americana* | Huatusco, Veracruz | ---- |
| **B8** | H-A6-3-C1 | Filósfera - *Persea americana* | Huatusco, Veracruz | ---- |
| **B9** | H-A7-2-A2 | Filósfera - *Persea americana* | Huatusco, Veracruz | ---- |
| **B10** | H-A7-2-A4 | Filósfera - *Persea americana* | Huatusco, Veracruz | ---- |
| **B11** | H-A8-2-C1 | Filósfera - *Persea americana* | Huatusco, Veracruz | ---- |
| **B12** | H-A7-3-B1 | Filósfera - *Persea americana* | Huatusco, Veracruz | ---- |
| **HA** | HA | Rizósfera - *Persea americana* | Escondido, California | *Bacillus* sp. |
| **SO** | SO | Rizósfera - *Persea americana* | Escondido, California | *Bacillus* sp. |
| **INECOL-5911** | INECOL-5911 | Rizósfera - *Persea americana* | Escondido, California | *Bacillus* sp. |

Las bacterias provenientes de filósfera se encontraban almacenadas a -20ºC, en tubos Eppendorf con 1 ml de medio Luria-Bertani (LB) líquido y glicerol al 20%. Para su reactivación, se tomaron 20 µl de cada aislado bacteriano y de manera inmediata se colocaron en el centro del borde de una placa con medio LB sólido. En seguida, los aislados bacterianos se sembraron en la placa a través de un estriado masivo, utilizando un asa bacteriológica estéril. Por último, las placas se sellaron con plástico adherente y se incubaron a 25°C por 24 y 48 horas, en función del crecimiento observado.

Para la reactivación de los aislados rizosféricos, los cuales se encontraban almacenados a 4 ºC, se tomó una sola colonia de cada aislado bacteriano, con la ayuda de un asa bacteriológica estéril, y se sembró en una placa con medio LB sólido, a través de un estriado masivo. Posteriormente, las placas se sellaron con plástico adherente y se incubaron a 25°C por 24 y 48 horas, en función del crecimiento observado.

### 6.2.2 Obtención y reactivación de hongos del género *Fusarium*

Para los ensayos de antagonismo bacteria – hongo, se utilizaron los hongos *Fusarium* sp. B1, proveniente del tallo de aguacate y *F. solani* A11, proveniente de la rizósfera de árboles de aguacate en la huerta San Carlos, Huatusco, Veracruz. Estos aislados fúngicos fueron identificados anteriormente como hongos patógenos del aguacate (Ceballos, 2019; Solís-García *et al*., 2021). Adicionalmente, se incluyó el hongo *Fusarium* sp. BM-06, el cual fue aislado de un escarabajo ambrosial de la especie *Xylosandrus morigerus* (Sánchez-Rangel, comm. pers.).

Los hongos *Fusarium* sp. B1 y *F. solani* A11 se encontraban almacenados a -4ºC, en tubos Falcon con 14 ml de medio Agar Papa Dextrosa (PDA) líquido. Para su reactivación, se tomaron 50 µl de micelio, los cuales se depositaron en el centro de una placa con medio PDA sólido. Por último, las placas se sellaron con plástico adherente y se incubaron a 25°C por 7 días.

Para la reactivación del hongo *Fusarium* sp. BM-06, el cual se encontraba almacenado a 4°C, se tomó un disco de micelio de 5 mm de diámetro del borde del crecimiento micelial del hongo y se colocó en el centro de una placa de PDA.

Posteriormente, la placa se selló con plástico adherente y se incubó a 25°C por 7 días.

### 6.2.3 Caracterización morfológica de las cepas bacterianas

La morfología celular de los aislados bacterianos obtenidos a partir de las muestras de filósfera de aguacate se observó después de realizar una tinción de Gram, para describir la forma celular y verificar la pureza del cultivo bacteriano con ayuda de un microscopio óptico (Axio Imager A2).

### 6.2.4 Evaluación *in vitro* de la actividad antifúngica de los aislados bacterianos seleccionados contra hongos del género *Fusarium* mediante ensayos de antagonismo directo

Se utilizaron los aislados bacterianos provenientes de hoja de árboles de aguacate para detectar una interacción antagónica *in vitro* contra distintos hongos del género *Fusarium*. Los aislados bacterianos obtenidos de la rizósfera fueron caracterizados por su actividad antifúngica mediante compuestos difusibles en trabajos previos (Guevara-Avendaño *et al*., 2018, 2019). Para implementar los ensayos de antagonismo directo *in vitro*, los aislados bacterianos se sembraron en placas de medio LB sólido. Posteriormente se incubaron a una temperatura de 25°C por 24 horas. Por otro lado, los hongos del género *Fusarium* fueron sembrados e incubados en un medio PDA a una temperatura de 25°C por siete días. Para implementar los ensayos de antagonismo por cultivo dual, se tomó un disco de micelio de 5 mm de diámetro del borde del crecimiento micelial del hongo y se colocó a 2 cm del borde de una placa de PDA. Posteriormente, se tomó una muestra del aislado bacteriano a partir de una sola colonia y se inoculó a 2 cm del borde opuesto de la caja Petri. Se probó un aislado bacteriano diferente por placa. Además, se utilizó una inoculación simulada con un palillo estéril en lugar de inóculo bacteriano, como control. Cada aislado bacteriano y el control se evaluaron por triplicado. Las placas de cultivo doble se incubaron a una temperatura de 25°C durante siete días. Transcurrido el tiempo de incubación, se midió el crecimiento radial del micelio hacia los tratamientos bacterianos y hacia el control. El porcentaje de inhibición del

crecimiento micelial (PI) se calculó utilizando la fórmula reportada por Idris *et al*. (2007):

$$PI = [(R-r) / R] \times 100,$$

donde “R” es el radio de crecimiento de hongos desde el centro del micelio hacia el control y “r” es el radio de crecimiento de hongos hacia el tratamiento bacteriano.

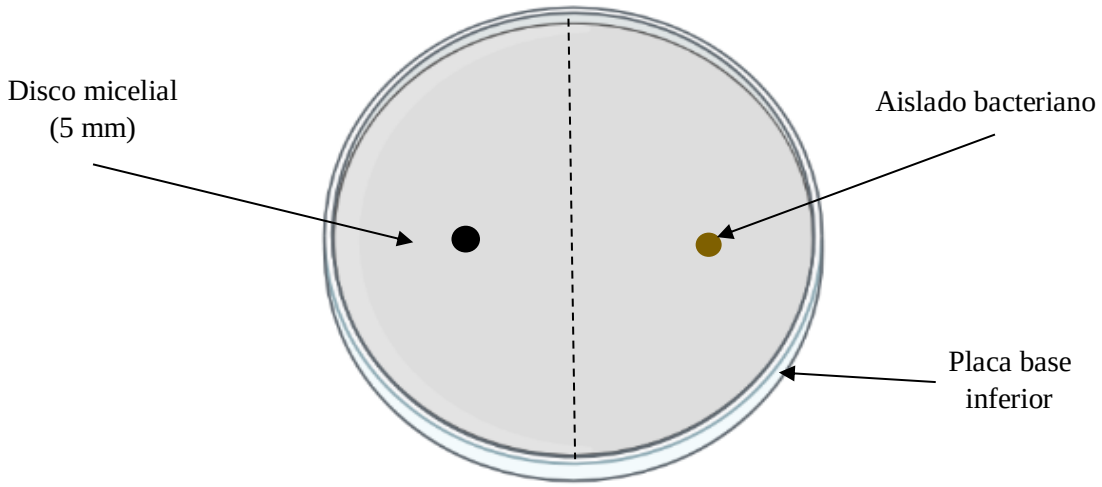


**Figura 1.** Diseño esquemático del ensayo de antagonismo directo para determinar la actividad antifúngica de los aislados bacterianos**.** La imagen representa la placa de medio PDA con el disco micelial a 2 cm del borde y el aislado bacteriano a 2 cm del borde opuesto.

### 6.2.5 Evaluación *in vitro* de la actividad antifúngica contra hongos del género *Fusarium* mediante compuestos volátiles

Los ensayos de antagonismo mediante emisión de compuestos volátiles orgánicos, se llevaron a cabo siguiendo el método de dos placas base selladas descrito en Gotor-Vila *et al*. (2017) con modificaciones establecidas por Guevara-Avendaño *et al*. (2019). Brevemente, cada aislado bacteriano se sembró en una placa base con medio LB. Se retiraron las tapas y se reemplazaron por otra placa base conteniendo en su centro un disco de micelio fúngico de 5 mm de diámetro en PDA. Como control, se utilizó una placa base con medio LB sin inóculo bacteriano. Ambas placas base se sellaron con Parafilm® y se incubaron durante siete días a 25°C. Cada tratamiento se evaluó por triplicado.

Después de siete días, el PI se calculó con base en la fórmula propuesta por Gotor-Vila *et al*. (2017):

$$PI = (D – d / D) \times 100,$$

donde D es el diámetro del crecimiento micelial fúngico en el control y d es el diámetro del crecimiento micelial en el tratamiento, cuando el hongo se expone a los VOC bacterianos.

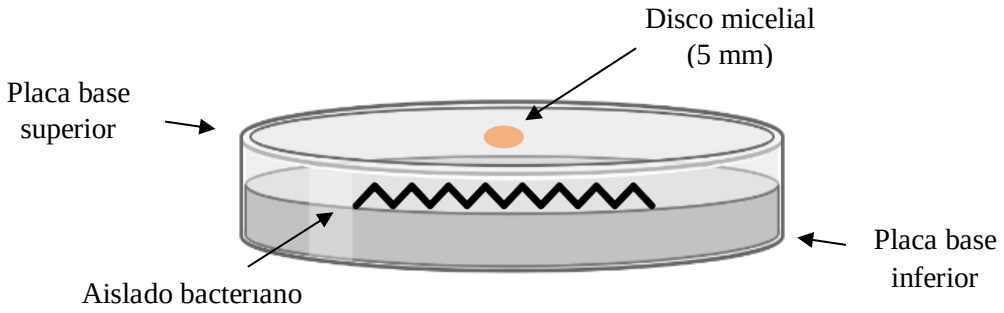


**Figura 2.** Diseño esquemático del ensayo de doble caja Petri para determinar la actividad antifúngica de VOC bacterianos. La imagen representa las dos bases de cajas Petri colocadas una sobre otra, la base superior contiene en el centro un disco de micelio de *Fusarium* sp. de 5 mm de diámetro, mientras que la base inferior contiene la siembra del aislado bacteriano a evaluar.

### 6.2.6 Análisis estadísticos

Para determinar la distribución de los datos se realizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Para el análisis de la inhibición del crecimiento micelial mediante ensayos de antagonismo directo y mediante compuestos volátiles, se utilizó la prueba de U de Mann-Whitney. Todos los resultados se consideraron significativos a $P \leq 0.05$. Los datos se analizaron estadísticamente utilizando el programa SPSS Statistics 27.

# 7. RESULTADOS

## 7.1 Revisión bibliográfica del estado *Fusarium* en México

### 7.1.1 Bacterias como agentes de control biológico (ACB) de *Fusarium*

El uso de cepas bacterianas como ACB de enfermedades fúngicas ha recibido una atención creciente debido a la capacidad de algunas bacterias para inhibir el crecimiento micelial y/o la esporulación de diferentes hongos fitopatógenos, por medio de diversos mecanismos de acción (Santoyo *et al*., 2012). En la revisión bibliográfica llevada a cabo, se encontraron 29 artículos enfocados al estudio y uso de bacterias como ACB de enfermedades causadas por hongos del género *Fusarium* en México. En total, 21 artículos (72%) se basan en estudios a nivel *in vitro*; seis (21%) de los artículos revisados implementaron ensayos a nivel invernadero y solamente dos (7%) culminaron su investigación con estudios a nivel de campo (Figura 3). La mayoría de los estudios encontrados evaluaron el efecto antifúngico de bacterias pertenecientes al género *Bacillus* (69%); entre otros géneros bacterianos estudiados por su actividad antifúngica contra *Fusarium* se encuentran *Arthrobacter, Paenibacillus, Pseudomonas* y *Streptomyces* (Figura 1).

Es de resaltar que las cepas bacterianas evaluadas en estos trabajos provienen mayoritariamente de la rizósfera (66% de los estudios revisados) de distintas plantas de interés agrícola o forestal, como el aguacate y otras lauráceas silvestres, la fresa, el maíz, o la leguminosa *Medicago trunculata* (Cuadro 3). La búsqueda enfocada de ACB en la rizósfera probablemente se debe a las funciones benéficas que pueden desempeñar las rizobacterias para el desarrollo y la salud vegetal, a través de la promoción del crecimiento vegetal y de la protección de las plantas contra el ataque por fitopatógenos (Méndez-Bravo *et al*., 2018).

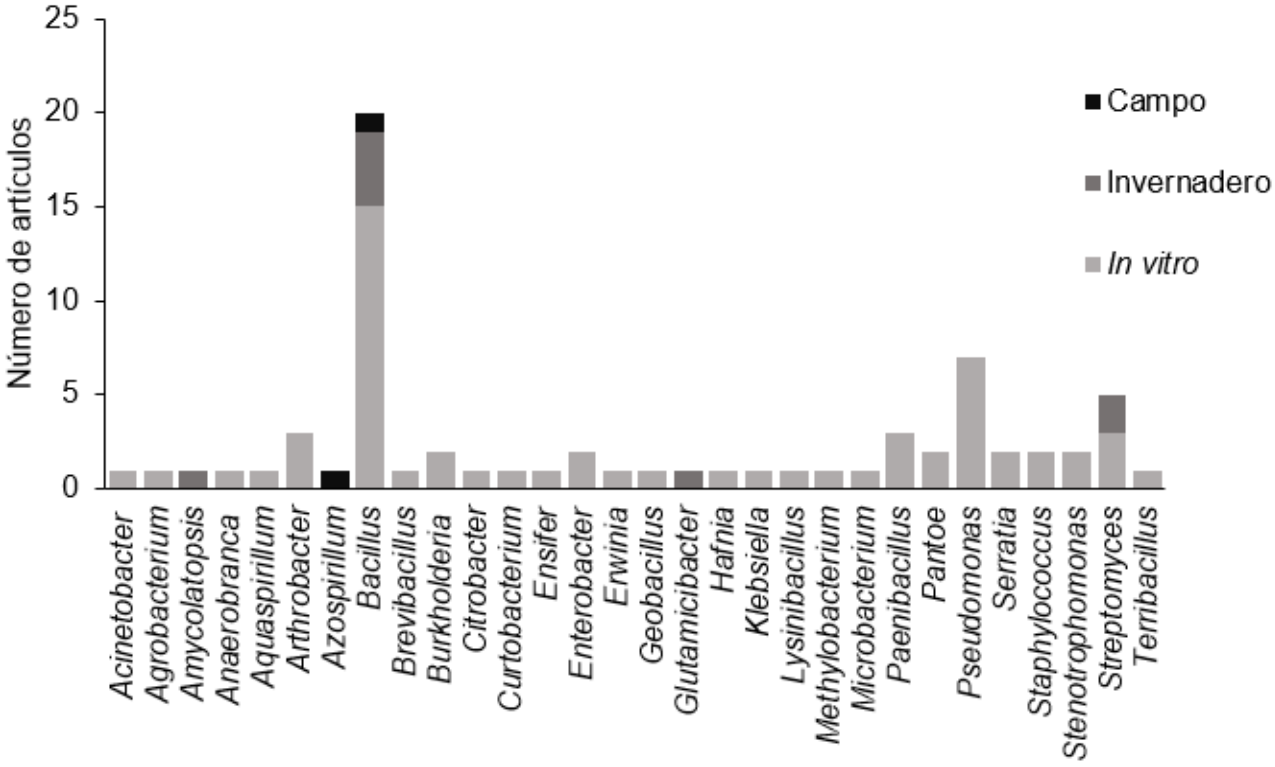


**Figura 3.** Evaluación de diferentes géneros de bacterias como ACB contra *Fusarium* en México

### 7.1.2 El género *Bacillus* como ACB contra *Fusarium* en México

A nivel nacional, *Bacillus* corresponde al género bacteriano más estudiado como posible ACB contra *Fusarium*. Este enfoque puede explicarse por su facilidad de cultivo, su distribución ubicua, los varios mecanismos de antagonismo que presenta contra hongos fitopatógenos de diversos cultivos, su capacidad a formar endosporas resistentes a estrés abiótico y a sintetizar proteínas involucradas en la resistencia a condiciones ambientales extremas (Guevara-Avendaño *et al*., 2018; Villarreal-Delgado *et al*., 2018). Estas características favorecen su selección para la producción a gran escala de formulaciones y su almacenamiento por largos periodos de tiempo (El-Hassan y Gowen, 2006).

El género *Bacillus* ha sido descrito por su capacidad para producir una amplia gama de compuestos antimicrobianos, entre los que destacan las enzimas líticas y

los lipopéptidos (Villarreal-Delgado *et al*., 2018; Guevara-Avendaño *et al*., 2020). Si bien gran parte de los estudios revisados, que reportan el efecto antifúngico de *Bacillus* spp. contra *Fusarium* spp., atribuyen el antagonismo observado a la síntesis de dichos compuestos, solamente el 38% de éstos pudieron verificar la actividad antifúngica de dichos metabolitos; estos reportes se abordan más a detalle en la sección sobre productos naturales microbianos. Por ejemplo, Martínez-Raudales *et al*. (2017) y Sagredo-Beltrán *et al*. (2018) identificaron la presencia de genes codificando para la síntesis de β-glucanasa, de endoglucanasa y de surfactina sintetasa en el genoma de *B. velezensis* 2A-2B y la presencia de genes codificando para la síntesis de bacilisina sintetasa en el genoma de *B. halotolerans* MS50-18A, sugiriendo su participación en la actividad antagónica detectada *in vitro* (más de 60% de inhibición) contra *F. solani* y *F. oxysporum*, así como contra *Phytophthora capsici* y *Rhizoctonia solani*, causantes de la pudrición de raíz en chile. Basurto-Cadena *et al*. (2012) atribuyen la inhibición de *F. verticillioides y Rhizoctonia solani*, causantes de la "Secadera" en fresa, por la rizobacteria de fresa *B. subtilis* 21 a la síntesis de proteasas y análogos de bacteriocinas, aunque no se verificó la actividad antifúngica de estas moléculas. Finalmente, Lizárraga-Sánchez *et al*. (2015) y Figueroa-López *et al*. (2016) sugieren la actividad de proteasas, quitinasas y glucanasas como mecanismo de inhibición de *F. verticillioides*, responsable de la SERR en *Zea mays*, por parte de la rizobacteria *Bacillus cereus sensu lato* B25. Debido a los resultados exitosos presentados en estos estudios a nivel *in vitro* (inhibición en un 52% de *F. verticilliodes*), invernadero y campo (reducción en la incidencia de la pudrición de raíz y tallo en un 60% y 80% respectivamente, y en la contaminación por fumonisinas en los granos de maíz hasta un 94%), las esporas de *B. cereus sensu lato* B25 han sido utilizadas como agente activo de una formulación en polvo (Martínez-Álvarez *et al.,* 2016).

### 7.1.3 Rizobacterias pertenecientes a otros géneros como ACB contra *Fusarium* en México

Dentro de la rizósfera, otros géneros bacterianos como *Azospirillum*, *Burkholderia*, *Citrobacter*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* o *Streptomyces* han sido reportados como posibles ACB contra *Fusarium* (Cuadro 3). Además de presentar actividad promotora del crecimiento vegetal, como la fijación de nitrógeno, la solubilización de fósforo o la producción de fitohormonas (Viaene *et al*., 2016; Fukami *et al*., 2018; Jiang *et al*., 2019; Shantharaj *et al*., 2021), diversas cepas de estos géneros han sido reportadas por su capacidad a antagonizar hongos fitopatógenos.

Reverchon *et al*. (2019) evaluaron, a nivel *in vitro*, el potencial antifúngico de rizobacterias asociadas a lauráceas silvestres contra *F. solani* y *F. oxysporum*, aislados de chile (*Capsicum annum*) y vainilla (*Vanilla planifolia*) respectivamente. Identificaron las cepas bacterianas con mayor actividad antifúngica en ensayos de antagonismo directo como pertenecientes a los géneros *Arthrobacter, Pseudomonas, Staphylococcus* y *Streptomyces*. Adicionalmente, determinaron que la mayoría de estas cepas inhibieron el crecimiento micelial de *F. solani* a través de la emisión de compuestos orgánicos volátiles, mientras que la cepa *Pseudomonas* sp. INECOL-21 fue la única capaz de antagonizar significativamente a *F. oxysporum* mediante emisión de VOCs. Estos autores resaltan la importancia de llevar a cabo pruebas complementarias que permitan descartar el posible riesgo para la salud humana que representan patógenos oportunistas como *Staphylococcus* spp., a pesar de encontrarse de manera común en el suelo (Berg *et al*., 2005). Adicionalmente, recomiendan ampliar la búsqueda de ACB a sistemas no agrícolas, ya que los ecosistemas forestales representan un reservorio potencial de microorganismos con alto potencial biotecnológico (Cazorla y Mercado-Blanco, 2016; Reverchon *et al*., 2020).

Además de la emisión de VOCs, la síntesis de enzimas líticas como las quitinasas por bacterias no pertenecientes al género *Bacillus* también ha sido reportada en México como mecanismo antifúngico contra *Fusarium* spp. Medina de la Rosa *et al*. (2016) señalan a *Burkholderia gladioli* BUAP-CA47, *Burkholderia*

*cepacia* BUAP-CA50 y *Pseudomonas putida* BUAP-CA48 (aisladas de la rizósfera de maíz) como ACB contra *Fusarium* sp. (obtenido de maíz) por medio de actividad quitinolítica. Dichas cepas, a excepción de *P. putida* BUAP-CA47, lograron degradar el micelio de *Fusarium* sp., además de otros hongos asociados al cultivo de maíz. Interesantemente, en pruebas realizadas en granos de maíz, *P. putida* BUAP-CA48 disminuyó mayormente la infección fúngica, hasta un 88%. Los autores sugieren que esta cepa podría presentar otros mecanismos antifúngicos que, en conjunto con la actividad quitinolítica, le permitan ser un ACB exitoso a nivel *in vivo*. En el caso de *P. putida*, se ha descrito que posee varias propiedades complementarias de promoción de crecimiento vegetal, como la solubilización de fosfatos, la síntesis de ß-l,3-glucanasa, la producción de sideróforos, de cianuro de hidrógeno y de biosurfactantes (Pandey *et al*., 2006; Kruijt *et al*., 2009).

Las propiedades promotoras de crecimiento vegetal pueden ser mecanismos indirectos de actividad antifúngica, como se ha demostrado en invernadero y en campo para *Azospirillum brasilense*, que a través de la producción de sideróforos y fijación de nitrógeno puede controlar a *Fusarium* sp., responsable de la incidencia de la infección foliar en maíz, y aumenta la producción de biomasa hasta en un 73% (López-Reyes *et al*., 2017). También se ha demostrado que la facilitación de la absorción de nutrimentos, la alta capacidad para solubilizar fosfatos, la fijación de nitrógeno y la producción de giberelinas y ácido indolacético por bacterias aisladas de nódulos radiculares en leguminosas y pertenecientes a los géneros *Pantoea* y *Citrobacter*, podían coadyuvar en el antagonismo contra *F. oxysporum, F. solani* y *F. verticillioides,* causantes de la pudrición de raíz y marchitez de hojas de *Ormosia macrocalix* (Hernández-Hernández *et al*., 2018). Estos resultados enfatizan la importancia de buscar cepas bacterianas que presenten múltiples mecanismos de biocontrol para incrementar su probabilidad de competir exitosamente con agentes fitopatógenos (Chenniappan *et al*., 2019: Delgado-Ramírez *et al*., 2021).

### 7.1.4 Búsqueda de bacterias como ACB de *Fusarium* spp. en hábitats poco explorados: un nicho de oportunidad para México

Si bien la mayoría de los estudios revisados se enfocaron en aislar ACB a partir de la rizósfera, mayoritariamente aquella de plantas de interés agrícola, algunos trabajos identificados en nuestra revisión bibliográfica exploraron nichos alternativos. Reyes-Estébanez *et al*. (2020), por ejemplo, encontraron que *B. velezensis* TS3B-45, presente en filoplano de mango (*Mangifera indica)*, inhibía el crecimiento micelial *in vitro* de *F. nivale* TSB3H-14 (obtenido de *Annona muricata*) y *F. solani* TSB3H-5 (obtenido de *Musa acuminata*). Señalaron los lipopéptidos de la familia iturina como posibles responsables de la inhibición fúngica, sin descartar la participación de otros compuestos químicos (Reyes-Estebanez *et al*., 2020). Las bacterias del filoplano de distintas especies de árboles representativas del bosque mesófilo de niebla veracruzano también han sido evaluadas para su actividad antifúngica, encontrando que bacterias como *Bacillus* spp., *Erwinia* sp., *Curtobacterium* sp. o *Methylobacterium* sp. pudieron inhibir el crecimiento micelial de *F. solani* hasta un 55% *in vitro* (Báez-Vallejo *et al*., 2020; Reverchon *et al*., 2020). En conjunto, estos autores resaltan la importancia de explorar nichos en condiciones ambientales extremas, caracterizados por limitación de nutrimentos, desecación, alta radiación ultravioleta, etc. El filoplano, en este sentido, constituye un entorno oligotrófico en el que las bacterias desarrollan mecanismos para resistir el estrés provocado por las condiciones abióticas adversas (Vorholt, 2012).

Otro hábitat promisorio para la búsqueda de ACB de *Fusarium* es la superficie marina, la cual ha sido explorada bajo la predicción de encontrar bacterias con atributos fisiológicos interesantes, como la formación de biopelículas. Sin embargo, Ortega-Morales *et al*. (2009) han reportado que sólo el 11% de las biopelículas marinas probadas para la inhibición de *F. oxysporum*, *C. gloeosporioides* y *C. fragariae*, presentaron resultados positivos. Esta baja proporción podría atribuirse a que las biopelículas marinas asociadas a superficies se encuentran expuestas a diversos factores adversos (altas densidades celulares, intensa competencia por recursos, acumulación de desechos metabólicos) que en lugar de propiciar que las bacterias desarrollen mecanismos para sobrevivir, actúan como limitantes e inducen

un estado bacteriano inactivo (Dang *et al*., 2015). Pese a ello, se ha descrito que *Bacillus* sp. MC3B-22 relacionado filogenéticamente con *B. mojavensis*, derivado de una biopelícula epífita de *Thalassia testidinum* dentro del mismo hábitat intermareal, actúa como un potencial inhibidor de *F. oxysporum,* especialmente cuando la colonización bacteriana es temprana (24 h antes de la siembra del hongo) (Ortega-Morales *et al*., 2009).

Otro nicho poco explorado para la búsqueda de ACB son los suelos contaminados. En este contexto, Gutiérrez-Santa Ana *et al*. (2020a) y Herrera-Quiterio *et al*. (2020) aislaron cepas bacterianas de suelos contaminados con hidrocarburos y de jales mineros, respectivamente, encontraron que dichas cepas presentaban múltiples mecanismos de promoción de crecimiento vegetal, además de reducir el crecimiento *in vitro* de *F. solani* y *Fusarium* sp. Las bacterias aisladas fueron identificadas como pertenecientes a los géneros *Bacillus, Pseudomonas, Mycobacterium, Curtobacterium, Serratia,* o *Stenotrophomonas*, entre otros. Estos resultados demuestran nuevamente el potencial de microorganismos viviendo en condiciones ambientales adversas para fungir como ACB.

En conclusión, la búsqueda de ACB capaces de antagonizar a *Fusarium* spp. en nichos distintos a la rizósfera de plantas agrícolas representa una oportunidad, debido a la gran diversidad de ecosistemas y la enorme riqueza biológica de México. Investigaciones recientes enfatizan el potencial biotecnológico de bacterias provenientes de ambientes extremos (Sagredo-Beltrán *et al*., 2018; Tuesta-Popolizio *et al*., 2021), así como de la filósfera o rizósfera de plantas silvestres (Báez-Vallejo *et al*., 2020; Delgado-Ramírez *et al.*, 2021), particularmente de las que crecen en hábitats adversos. Los reportes revisados también conllevan a la recomendación de incluir pruebas en condiciones de invernadero y campo para seleccionar ACB contra *Fusarium* spp., para así en un futuro poder crear formulaciones eficaces contra fitopatógenos que invaden los cultivos mexicanos.

**Cuadro 3**. Estudios que reportan bacterias como ACB contra hongos fitopatógenos del género *Fusarium* en México

| Agentes bacterianos de control biológico | Hongos fitopatógenos | Origen de los aislados bacterianos | Referencias |
|---|---|---|---|
| *Acinetobacter* spp. | *F. verticillioides* | Rizósfera de maíz | Figueroa-López *et al*., 2016 |
| Actinobacterias | *F. graminearum*<br>*F. oxysporum*<br>*F. solani*<br>*F. verticillioides*<br>*Fusarium* sp. | Rizósfera y filósfera de Lauráceas silvestres, rizósfera de *Solanum hindsianum* y de maíz, suelo de milpa, composta | Robles-Hernández *et al*., 2015; Figueroa-López *et al*., 2016; González-Franco *et al*., 2017; Reverchon *et al*., 2019; Báez-Vallejo *et al*., 2020; Cabrera *et al*., 2020; Delgado-Ramírez *et al*., 2021 |
| *Aquaspirillum* spp. | *F. verticillioides* | Rizósfera de maíz | Figueroa-López *et al*., 2016 |
| *Azospirillum brasilense* | *Fusarium* sp. | Rizósfera, endosfera y semillas de maíz | López-Reyes *et al*., 2017 |
| *Bacillus spp.* | *F. avenaceum*<br>*F. equiseti*<br>*F. euwallaceae*<br>*F. kuroshium*<br>*F. nivale*<br>*F. oxysporum* | Suelos, aire, rizósfera y filósfera de aguacate y otras Lauráceas silvestres, filósfera de mango, rizósfera de *Solanum hindsianum*, de *Medicago truncatula,* de *Sporobolus airoides,* de *Acacia* | Ortega-Morales *et al*., 2009; Basurto-Cadena *et al*., 2012; Hernández-Salmerón *et al*., 2014; Lizárraga-Sánchez *et al*., 2015; Figueroa-López *et al*., 2016; Sansinenea *et al*., 2016; Martínez-Raudales *et al*., 2017; Hernández-Hernández *et al*., 2018; |

| | | | |
|---|---|---|---|
| | *F. solani*<br>*F. verticillioides* | *farnesiana,* de maíz y de fresa, endosfera de raíz de tomate y de zarzamora, nódulos de *Ormosia macrocalyx,* biopelículas marinas | Sagredo-Beltrán *et al*., 2018; Reyes-Estebanez *et al*., 2019; Guevara-Avendaño *et al*., 2018, 2020; Báez-Vallejo *et al*., 2020; García-Ortiz *et al*., 2020; Gutiérrez-Santa Ana *et al*., 2020a; Ramírez-Cariño *et al*., 2020; Rojas-Solis *et al*., 2020a, b; Delgado-Ramírez *et al*., 2021; Herrera-Quiterio *et al*., 2021 |
| *Burkholderia* spp. | *F. culmorum*<br>*F. oxysporum*<br>*Fusarium sp.* | Tejidos de café, maíz y teocintle | Tenorio-Salgado *et al*., 2013; Medina-de la Rosa *et al*., 2016 |
| Enterobacterales | *F. oxysporum,*<br>*F. solani*<br>*F. verticillioides*<br>*Fusarium* sp. | Rizósfera y filósfera de Lauráceas silvestres, rizósfera de maíz y de *Acacia farnesiana,* nódulos de *Ormosia macrocalyx* y de *Mimosa púdica* | Figueroa-López *et al*., 2016; Hernández-Hernández *et al*., 2018; Báez-Vallejo *et al*., 2020; Herrera-Quiterio *et al*., 2021; Méndez-Santiago *et al*., 2021 |
| Firmicutes distintos a *Bacillus* spp. y *Staphylococcus* spp. | *F. oxysporum,*<br>*F. solani*<br>*F. verticillioides* | Rizósfera de maíz, nódulos de *Ormosia macrocalyx* | Figueroa-López *et al*., 2016; Hernández-Hernández *et al*., 2018 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| *Pseudomonas* spp. | *F. solani*<br>*F. verticillioides*<br>*Fusarium sp.* | Rizósfera y filósfera de Lauráceas silvestres, rizósfera de maíz y de *Acacia farnesiana*, suelo agrícola, suelo contaminado con hidrocarburos, aire | Figueroa-López *et al*., 2016; Reverchon *et al*., 2019; Báez-Vallejo *et al*., 2020; Cesa-Luna *et al*., 2020; Gutiérrez-Santa Ana *et al*., 2020a; Herrera-Quiterio *et al*., 2021 |
| Rhizobiaceae | *F. oxysporum,*<br>*F. solani*<br>*F. verticillioides* | Rizósfera de maíz, nódulos de *Ormosia macrocalyx* | Figueroa-López *et al*., 2016; Hernández-Hernández *et al*., 2018 |
| *Staphylococcus* spp. | *F. oxysporum*<br>*F. solani* | Rizósfera de Lauráceas silvestres, suelo agrícola, suelo contaminado con hidrocarburos, aire | Reverchon *et al*., 2019; Gutiérrez-Santa Ana *et al*., 2020a |
| *Stenotrophomonas spp.* | *F. verticillioides* | Rizósfera de maíz | Figueroa-López *et al*., 2016 |

### 7.1.5 Hongos como agentes de control biológico de *Fusarium*

Las bacterias no son los únicos microorganismos que se han utilizado como ACB contra *Fusarium*. Algunos hongos también presentan actividad antifúngica contra este género de hongos fitopatógenos. En México, los hongos benéficos que se han estudiado para contrarrestar la incidencia de *Fusarium* spp. pertenecen a los géneros *Macrolepiota*, *Trichoderma*, *Beauveria*, *Irpex* y *Xylaria* (Cuadro 4). La mayor parte de estos reportes se centra en el control de *F. oxysporum* y el 100% de los trabajos se basa en estudios a nivel *in vitro* e invernadero (Figura 4). En nuestra revisión, no encontramos investigaciones reportando el uso de hongos como ACB contra *Fusarium* a nivel de campo.

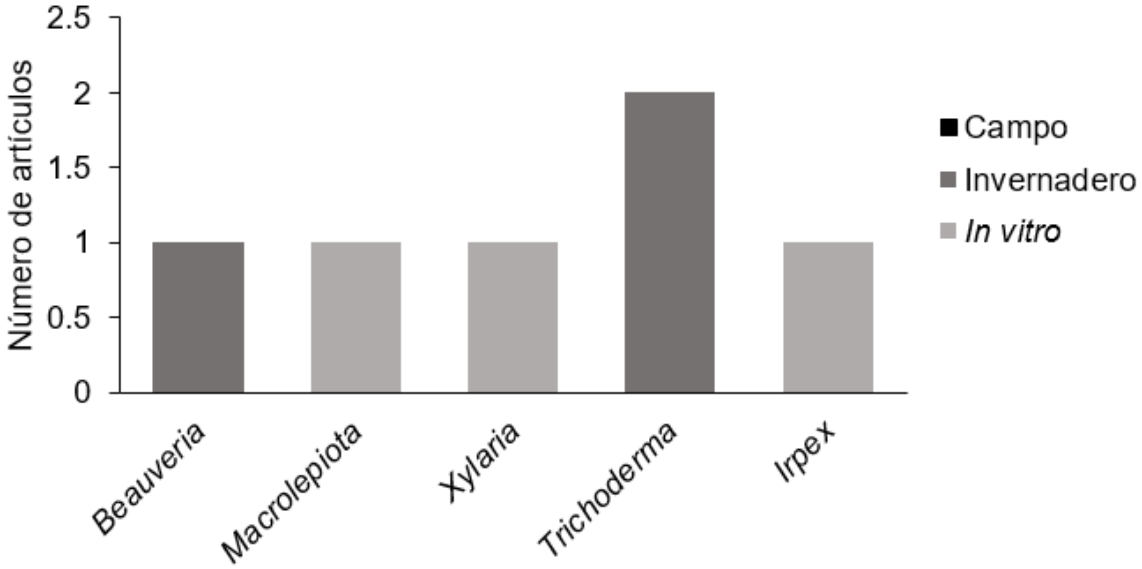


**Figura 4.** Evaluación de diferentes géneros de hongos como ACB contra *Fusarium* en México

El control biológico ejercido por hongos contra *Fusarium* puede ocurrir a través de la combinación de diversos mecanismos. Uno de ellos es la producción de metabolitos secundarios antimicrobianos, como lo reportan Sánchez-Ortiz *et al*. (2016) para el hongo *Xylaria* sp. PB3f3, aislado de hojas de *Haematoxylon brasileto*, el cual inhibió el crecimiento de *F. oxysporum* en un 90% en ensayos de cultivo dual *in vitro*. Otro mecanismo de antagonismo es la síntesis de enzimas líticas, como lo demuestran Culebro-Ricaldi *et al.* (2017) para *Beauveria bassiana* 1215 contra *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* raza 3, causante de marchitez vascular en cultivos de tomate. Aunada a la capacidad de competir por espacio o nutrimentos, la síntesis de enzimas líticas por *B. bassiana* 1215 permitió inhibir en un 72% el crecimiento micelial de *F. oxysporum in vitro*. Adicionalmente, estos autores reportan que la aplicación regular de conidios de *B. bassiana* 1215 en el suelo disminuye hasta el 46% el desarrollo de la enfermedad en plantas de tomate infectadas con *F. oxysporum* (Culebro-Ricaldi *et al*., 2017), lo cual también se puede deber a la capacidad de *B. bassiana* de inducir resistencia sistémica en plantas (Ownley *et al*., 2008).

El micoparasitismo es otro de los mecanismos de biocontrol de hongos fitopatógenos ejercido por hongos benéficos. Éste requiere una interacción directa entre el patógeno y el hongo antagonista, la formación de estructuras de adherencia por parte del agente de biocontrol, e implica la síntesis de enzimas hidrolíticas y de compuestos antibióticos (Contreras-Cornejo *et al*., 2016). El micoparasitismo ha sido especialmente estudiado en hongos del género *Trichoderma*, el cual ha sido utilizado en México para mitigar el impacto de *F. oxysporum* en tomate. Por ejemplo, el uso de una formulación sólida a base de caolín de *Trichoderma asperellum* permitió reducir los síntomas de marchitamiento ocasionados por *F. oxysporum* en plantas de tomate y promovió el crecimiento vegetal, aumentando la tasa de crecimiento absoluto (22%), el contenido de clorofila (16%) y el peso fresco (48%) en estas plantas (Herrera-Téllez *et al*., 2019). El mecanismo sugerido para el efecto protector descrito para esta formulación de *T. asperellum* señala a la reducción de la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS por sus siglas en inglés) en respuesta a la infección por patógenos, así como una posible participación en las

vías de ácido jasmónico, hormona reguladora de la expresión de genes de defensa en las plantas (Herrera-Téllez *et al*., 2019). En otro estudio, el micoparasitismo ejercido por *Trichoderma asperelloides* permitió mitigar la marchitez vascular ocasionada por *F. oxysporum* en tomate en un 66.7% (Ramírez-Cariño *et al*., 2020). Estos estudios señalan el potencial de *Trichoderma* spp. como ACB de *Fusarium*, como se ha demostrado en otras investigaciones fuera del país (Bunbury-Blanchette y Walker, 2019; Das *et al*., 2019; Díaz-Gutiérrez *et al*., 2021).

En México, la búsqueda de ACB no se ha limitado a la investigación de ascomicetos, sino que algunos basidiomicetos han sido propuestos como candidatos promisorios (Cuadro 4). Un ejemplo es *Macrolepiota* sp. CS185, cepa nativa mexicana. Esta cepa se ha reportado como posible ACB contra *F. oxysporum*, *F. solani*, *Colletotrichum* sp, *Colletotrichum coccodes*, *Stemphylium solani*, *Epicoccum nigrum* y *Alternaria solani,* fitopatógenos de diversos cultivos (Hernández-Ochoa *et al*., 2020). Los porcentajes de inhibición que presenta *Macrolepiota* sp. CS185 contra *F. oxysporum* y *F. solani* corresponden a un 22.2% y 26.7%, respectivamente. Por medio de una caracterización bioquímica preliminar de los metabolitos presentes en *Macrolepiota* sp. CS185, los autores señalaron la presencia de lactonas sesquiterpénicas y quinonas como las posibles responsables del antagonismo fúngico (Hernández-Ochoa *et al*., 2019). Otro basidiomiceto estudiado como potencial ACB es *Irpex lacteus* CMU 8413*,* el cual redujo el crecimiento micelial de *F. pseudocircinatum* y de *F. mexicanum in vitro*, con porcentajes de inhibición de 46.3% y 16.7%, respectivamente (Pineda-Suazo *et al*., 2021). La producción de metabolitos con actividad antifúngica por *I. lacteus* se abordará más a detalle en la siguiente sección.

La versatilidad de los hongos y su capacidad a producir un arsenal amplio de sustancias antimicrobianas resalta la necesidad de seguir investigando su potencial para mitigar los efectos negativos causados por hongos fitopatógenos del género *Fusarium*, así como de ampliar las evaluaciones para considerar estudios en campo.

**Cuadro 4**. Estudios que reportan hongos como ACB contra hongos fitopatógenos del género *Fusarium* en México

| Agentes fúngicos de control biológico | Hongos fitopatógenos | Referencias |
|---|---|---|
| *Beauveria bassiana* | *F. oxysporum* | Culebro-Ricaldi *et al*., 2017 |
| *Trichoderma asperellum* | *F. oxysporum* | Herrera-Téllez *et al*., 2019 |
| *Trichoderma asperelloides* | *F. oxysporum* | Ramírez-Cariño *et al*., 2020 |
| *Xylaria* sp. | *F. oxysporum* | Sánchez-Ortiz *et al*., 2016 |
| *Macrolepiota* spp. | *F. oxysporum*<br>*F. solani* | Hernández-Ochoa *et al*., 2020 |
| *Irpex lacteus* | *F. mexicanum*<br>*F. pseudocircinatum* | Pineda-Sauzo *et al.,* 2021 |

### 7.1.6 Compuestos naturales microbianos para el control biológico de *Fusarium*

Recientemente, el estudio de compuestos naturales microbianos para el control biológico de hongos fitopatógenos ha ganado interés, debido a la necesidad de entender los mecanismos rigiendo la actividad antifúngica presentada por bacterias y hongos (Ciancio *et al*., 2016; Sansinenea *et al*., 2016). Además, es preciso encontrar nuevas fuentes de compuestos bioactivos que podrían coadyuvar al manejo integral de enfermedades causadas por *Fusarium* spp. (Báez-Vallejo *et al*., 2020). En este contexto, la producción por ACB microbianos de metabolitos secundarios con actividad antifúngica ha sido objeto de diversos estudios a nivel nacional. En esta revisión, encontramos 24 trabajos que evaluaron, a través de ensayos a nivel *in vitro*, la actividad antifúngica de compuestos naturales como enzimas líticas, lipopéptidos y VOCs provenientes de hongos y bacterias contra distintas especies de *Fusarium.* La búsqueda realizada no permitió encontrar investigaciones a nivel de invernadero ni de campo (Figura 5).

Varios de los estudios encontrados investigaron la actividad antifúngica de extractos crudos, compuestos extracelulares o VOCs microbianos, sin llegar a la identificación tentativa de los compuestos que pudieran estar involucrados en el

antagonismo (Cuadro 5). Estos resultados enfatizan la necesidad de llevar a cabo más estudios enfocados a la determinación de aquellos compuestos bioactivos, para poder evaluarlos en campo y desarrollar formulaciones biofungicidas más específicas y eficientes.

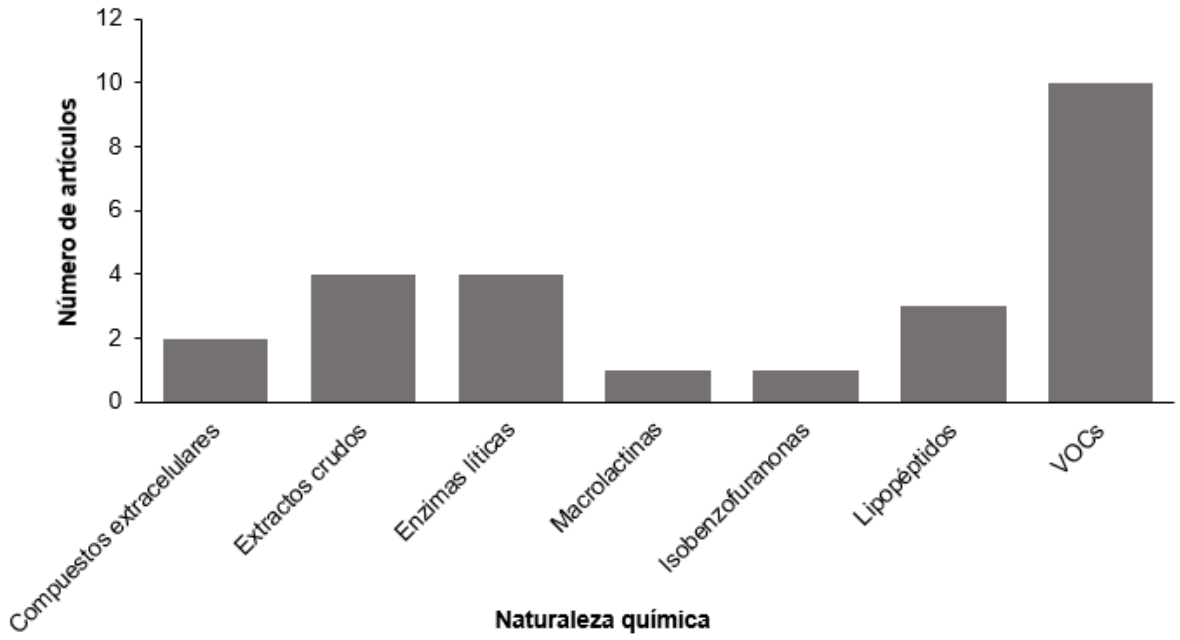


**Figura 5.** Evaluación de productos naturales de origen microbiano como ACB contra Fusarium en México

### 7.1.7 Enzimas líticas

Las enzimas líticas se han descrito como los metabolitos responsables de la degradación de los principales polisacáridos que conforman la pared celular de hongos, mediante la hidrólisis de sus enlaces glucosídicos (Villarreal-Delgado *et al*., 2018). Entre los mecanismos involucrados en el antagonismo contra fitopatógenos fúngicos sobresale la acción sinérgica de varias enzimas líticas como glucanasas, lipasas, proteasas y quitinasas (Jangir *et al*., 2018; Dukare y Paul, 2021). En México, Culebro-Ricaldi *et al*. (2017) reportan que la acción de glucanasas y quitinasas producidas por el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* 1215 contra *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* raza 3, causante de marchitez vascular en cultivos de

tómate, conllevó a una inhibición del crecimiento del fitopatógeno del 21% en ensayos *in vitro* (Cuadro 5). Las quitinasas obtenidas a partir de *B. thuringiensis* inhibieron el crecimiento *in vitro* de *Fusarium* spp. hasta un 60%, además de promover la germinación de semillas de soya infectadas por hongos fitopatógenos (Reyes-Ramírez *et al*., 2004; Morales de la Vega *et al*., 2006).

Además de la degradación de la pared celular, la acción de enzimas quitinolíticas puede llegar a ocasionar daños morfológicos en las estructuras reproductivas del hongo fitopatógeno y una reducción en el tamaño de las hifas. Sansinenea *et al*. (2016) describieron que los extractos crudos (posiblemente conteniendo quitinasas) de *Bacillus* sp. ELI149 inhibieron el crecimiento de *F. avenaceum* (40.8%), *F. oxysporum* (42.9%), y *F. equiseti* (35.6%), ocasionando una reducción en el número de conidios producidos y un aumento de hifas aseptadas y con evidencias de vacuolización. Estos resultados fueron confirmados por Morales-Ruiz *et al.* (2021) quienes reportaron que dos quitinasas obtenidas a partir de *Bacillus cereus* inhibieron la germinación de conidios de tres cepas de *F. verticillioides*, hasta un 78%. Sin embargo, estos autores enfatizan la necesidad de implementar ensayos *in planta* para entender los mecanismos de acción de dichas enzimas en la interacción tripartita ACB – hongo fitopatógeno – hospedero (Morales-Ruiz *et al.,* 2021).

### 7.1.8 Lipopéptidos

Los lipopéptidos cíclicos, en especial los producidos por bacterias del género *Bacillus*, han recibido un interés particular en los estudios enfocados a la búsqueda de compuestos microbianos bioactivos, ya que son metabolitos con propiedades biosurfactantes, capaces de inhibir el crecimiento de una amplia gama de hongos fitopatógenos (Raaijmakers *et al*., 2010). Al perturbar la integridad de las membranas celulares, pueden causar toxicidad en distintas estructuras vegetativas y reproductivas a lo largo del ciclo de vida de los hongos (Cawoy *et al*., 2015). Los lipopéptidos cíclicos producidos por *Bacillus* se clasifican en tres familias principales: iturinas, fengicinas y surfactinas (Cob-Calan *et al*., 2019), las cuales

pueden actuar sinérgicamente para inhibir el crecimiento de patógenos fúngicos (Cawoy *et al.*, 2015).

En México, diversos trabajos han abordado el estudio de lipopéptidos sintetizados por *Bacillus* como compuestos bioactivos contra hongos del género *Fusarium* (Cuadro 5). Por ejemplo, las fengicinas tipo A y B, producidas por *Bacillus* sp. MA04, se han reportado como los metabolitos responsables de la inhibición (83.7%) del crecimiento de *F. stilboides*, aislado de pimienta y responsable de la pudrición del pedúnculo en frutos (Hernández-Morales *et al*., 2018). Estos autores relacionaron la presencia de propiedades hemolíticas en el género *Bacillus* con la producción de lipopéptidos, sugiriendo el uso de pruebas hemolíticas para para la detección de propiedades antifúngicas (Hernández-Morales *et al*., 2018). Sin embargo, dichas propiedades hemolíticas también son un factor importante de patogenicidad para humanos y otros animales, por lo que se sugiere realizar pruebas adicionales que descarten un daño a la salud (Gutiérrez-Santa Ana *et al*., 2020a).

Los lipopéptidos producidos por diversas cepas de *Bacillus* spp., aisladas de la rizósfera de árboles de aguacate y otras Lauráceas silvestres, también inhibieron significativamente el crecimiento de *F. solani* y *F. kuroshium*, fitopatógeno responsable de la enfermedad emergente de marchitez por *Fusarium* (Na *et al*., 2018). Los extractos crudos obtenidos a partir de dichas cepas indujeron deformaciones severas en el micelio de ambos hongos, conllevando a la formación de conglobaciones y al adelgazamiento y encogimiento de hifas (Báez-Vallejo *et al*., 2020; Guevara-Avendaño *et al*., 2020). El perfilamiento químico de los extractos obtenidos permitió identificar tentativamente a las familias iturinas, fengicinas y surfactinas en los extractos crudos de *Bacillus* sp. CCeRi1-002 y *Bacillus* spp. INECOL-6004, INECOL-6005 e INECOL-6006; la presencia específica del compuesto C-13 iturina A1 fue confirmada por co-elución con un estándar. Interesantemente, Guevara-Avendaño *et al*. (2020) reportan una relación positiva entre la abundancia de fengicinas en los extractos obtenidos y la inhibición de *F. kuroshium*, lo cual confirma la potencial mayor actividad de esta familia sobre la de otras familias de lipopéptidos (Malfanova *et al*., 2012; Guo *et al*., 2014).

### 7.1.9 Compuestos orgánicos volátiles

Los VOCs son moléculas hidrófobas de bajo peso molecular (<300 Da), que por su alta presión de vapor y bajo punto de ebullición, alcanzan mayores distancias que los compuestos solubles, difundiéndose en el aire contenido en los poros del suelo (Schulz-Bohm *et al*., 2017). Estos compuestos pueden ser emitidos por bacterias, hongos y plantas, y tienen la función de mediar las interacciones entre organismos (Quintana-Rodríguez *et al*., 2018). En particular, algunos VOCs microbianos pueden actuar como "armas químicas" en las interacciones antagónicas contra hongos y, por lo tanto, han ganado interés en estudios enfocados a la búsqueda de compuestos bioactivos contra hongos fitopatógenos. En México, la actividad antifúngica ejercida por VOCs bacterianos ha sido enfocada al control de *F. kuroshium*, *F. oxysporum* y *F. solani* principalmente (Cuadro 5). En el caso de *F. solani* y *F. kuroshium*, hongos fitopatógenos asociados a síntomas de marchitez en aguacate, entre otros cultivos, se ha reportado la acción antifúngica de VOCs pertenecientes a las cetonas, pirazinas, quinazolinas, alcoholes y compuestos azufrados, emitidos por diversas rizobacterias de los géneros *Bacillus* y *Pseudomonas* (Guevara-Avendaño *et al*., 2019, 2020; Báez-Vallejo *et al*., 2020). Algunos de estos VOCs (2,3,5-trimetilpirazina, 2-nonanona, 2-decanona, dimetil-disulfuro y dimetil-trisulfuro), evaluados en forma de estándares comerciales, causaron una inhibición del crecimiento micelial de *F. solani* del 100% *in vitro* (Guevara-Avendaño *et al*., 2019). En particular, la cetona 2-nonanona es un compuesto cuyas propiedades antimicóticas contra *Fusarium* spp. ya fueron reportadas (Yuan *et al*., 2012; Wu *et al*., 2019). Otros VOCs reportados con actividad antifúngica contra *F. solani* incluyen monoterpenoides, ácidos grasos, sesquiterpenos y ácidos carboxílicos, entre otros compuestos (Gutiérrez-Santa Ana *et al*., 2020a, 2020b).

El estudio de VOCs bacterianos en México no se ha limitado a los géneros *Bacillus* y *Pseudomonas* (Cuadro 5). Orozco-Mosqueda *et al*. (2015) describieron la actividad antifúngica de la amina dimetilhexadecilamina, previamente reportada como emitida por *Arthrobacter agilis* (Velázquez-Becerra *et al*., 2013), así como la actividad de otras aminas contra *Fusarium* UMTM13, un hongo xilófago. Tenorio-

Salgado *et al*. (2013) demostraron que la emisión de VOCs por parte de diversas cepas de *Burkholderia tropica*, asociadas a plantas de maíz y teocintle en diversas regiones de México, ocasionaba distorsiones en hifas y degradación de las paredes celulares de *F. culmorum* y *F. oxysporum*, ocasionando una inhibición del crecimiento micelial *in vitro* de 22% y 54% respectivamente. El análisis químico del perfil de volátiles emitido por *B. tropica* mostró la presencia de 18 compuestos, incluidos compuestos azufrados y terpenoides, como α-pineno, limoneno y ocimeno.

El potencial de los VOCs de origen fúngico para el biocontrol de *Fusarium* spp. también ha sido demostrado por Medina-Romero *et al*. (2017), quienes reportaron que la mezcla de tres alcoholes (alcohol feniletilico, 2-metil-1-butanol y 3-metil-1- butanol) y tres monoterpenos (eucaliptol, ocimeno y terpinoleno), producidos por *Hypoxylon anthochroum*, inhibe en un 100% a *F. oxysporum*. Estos autores confirmaron la acción sinérgica de los VOCs seleccionados, ya que los porcentajes de inhibición obtenidos a partir de la evaluación de cada compuesto individual fueron menores; asimismo, describieron la inducción de daños en las hifas y de cambios en la permeabilidad de la membrana del hongo fitopatógeno debidos a la mezcla de los VOCs evaluados.

**Cuadro 5**. Estudios que reportan productos naturales de origen microbiano contra hongos fitopatógenos del género *Fusarium* en México

| **Productos naturales antifúngicos** | **Organismo fuente del producto natural** | **Hongos fitopatógenos** | **Referencias** |
|---|---|---|---|
| Compuestos extracelulares no especificados | *Amycolatopsis* sp. | *F. graminearum* | Cabrera *et al*., 2020 |
| Compuestos extracelulares: terpenos, aldehídos, xantonas | *Irpex lacteus* | *F. mexicanum*<br>*F. pseudocircinatum* | Pineda-Sauzo *et al.,* 2021 |
| Extractos crudos | *Bacillus* spp.<br>*Pseudomonas protegens*<br>*Xylaria* sp. | *F. avanaceum*<br>*F. equiseti*<br>*F. oxysporum*<br>*F. verticillioides*<br>*Fusarium* sp. | Sánchez-Ortiz *et al*., 2016; Sansinenea *et al*., 2016; Cesa-Luna *et al*., 2020; García-Ortiz *et al*., 2020 |
| Quitinasas | *Bacillus* spp. | *F. verticillioides*<br>*Fusarium* sp. | Reyes-Ramírez *et al*., 2004; Morales de la Vega *et al*., 2006; Morales-Ruiz *et al.*, 2021 |
| Quitinasas y glucanasas | *Beauveria bassiana* | *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* raza 3 | Culebro-Ricaldi *et al*., 2017 |
| Macrolactinas | *Bacillus amyloliquefaciens* | *F. oxysporum* | Salazar *et al.,* 2020 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| | | *F. proliferatum*<br>*Fusarium* sp. | |
| Isobenzofuranonas | *Hypoxylon anthochroum* | *F. oxysporum* | Sánchez-Fernández *et al*., 2020 |
| Lipopéptidos | *Bacillus* spp. | *F. kuroshium*<br>*F. solani*<br>*F. stilboides* | Hernández-Morales *et al*., 2018; Báez-Vallejo *et al*., 2020; Guevara-Avendaño *et al*., 2020 |
| VOCs | *Bacillus* spp.<br>*Burkholderia tropica*<br>*Pseudomonas* spp.<br>*Hypoxylon anthochroum* | *F. culmorum*<br>*F. kuroshium*<br>*F. solani*<br>*F. oxysporum* | Tenorio-Salgado *et al*., 2013; Medina-Romero *et al*. 2017; Guevara Avendaño *et al*., 2019; Báez-Vallejo *et al*., 2020; Guevara-Avendaño *et al*., 2020; Gutiérrez-Santa Ana *et al*., 2020a, b |
| Aminas | *Arthrobacter agilis* | *Fusarium* sp. | Orozco-Mosqueda *et al*., 2015 |
| VOCs no identificados | *Arthrobacter* sp.<br>*Bacillus* spp. *Pseudomonas* sp.<br>*Staphylococcus* spp.<br>*Streptomyces* sp. | *F. solani*<br>*F. oxysporum* | Reverchon *et al*. 2019; Rojas-Solis *et al*., 2020a |

### 7.1.10 Conclusiones y perspectivas

Nuestra revisión permitió identificar distintas áreas de oportunidad respecto a la búsqueda de ACB contra hongos del género *Fusarium* en México. Las bacterias corresponden a los ACB microbianos más estudiados, en particular aquellas bacterias encontradas en la rizósfera y pertenecientes el género *Bacillus*. El uso de hongos como ACB contra *Fusarium* es aún limitado. Estos resultados muestran la importancia de seguir prospectando otros hábitats, posiblemente aquellos sujetos a condiciones ambientales adversas, para encontrar nuevos ACB tanto bacterianos como fúngicos. La gran mayoría de los estudios revisados se desarrolla bajo condiciones *in vitro* y/o en invernadero. Es por lo tanto urgente que se escalen estas investigaciones a pruebas piloto en campo, para corroborar la eficiencia de los ACB seleccionados y determinar los mejores métodos de aplicación de las bioformulaciones elaboradas. El reciente incremento de los estudios enfocados a la determinación de los compuestos naturales producidos por bacterias y hongos ha permitido generar conocimiento sobre los mecanismos de la actividad antifúngica observada. Sin embargo, aún se tiene que realizar más investigación en torno a su producción al depender de varios factores: tiempo, temperatura, sustrato, interacción con otras especies y otras variables ambientales específicas de cada microorganismo (Hung *et al*., 2015; Sarma *et al*., 2015; Gutiérrez-Santa Ana *et al*., 2020b) (Figura 6).

Finalmente, la investigación a nivel nacional en torno a la búsqueda de alternativas de biocontrol de *Fusarium* spp. debe considerar el fitobioma, es decir el conjunto de interacciones que establece una planta con otros organismos, para abordar el control de enfermedades mediante una aproximación más holística (Reverchon and Méndez-Bravo, 2021). En este contexto, conocer los microbiomas asociados a nuestros cultivos permitirá poder manipularlos para promover la acción de aquellos microorganismos benéficos que pudieran proteger las plantas del ataque de *Fusarium* (Bejarano-Bolívar *et al*., 2021), obteniendo, por ejemplo, suelos supresivos o un aumento en la resistencia de los hospederos.

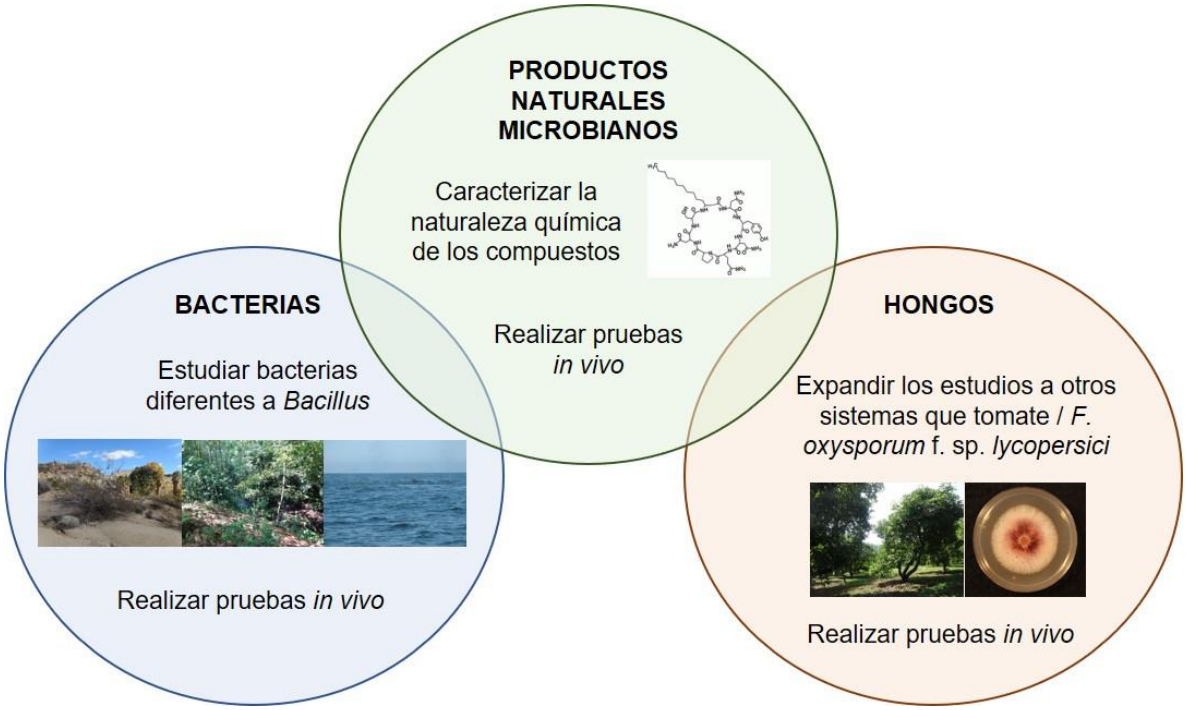


**Figura 6.** Áreas de oportunidad para la búsqueda de ACB de *Fusarium* spp. en México

## 7.2. Estudio de caso

### 7.2.1 Caracterización morfológica de los aislados bacterianos

De los 12 aislados bacterianos provenientes de filósfera de aguacate, 10 fueron clasificados como bacterias Gram +, mientras que solo dos aislados bacterianos (B9 y B10) resultaron ser bacterias Gram -.

Asimismo, en relación a la morfología celular, 10 aislados bacterianos presentaron una morfología bacilar, mientras que los aislados bacterianos B3 y B6 presentaron una morfología correspondiente a cocos (Cuadro 6).

**Cuadro 6.** Morfología celular de los aislados bacterianos provenientes de filósfera de aguacate.

| Clave | Aislado bacteriano | Tinción de Gram | Morfología celular |
|---|---|---|---|
| B1 | H-A1-3-A1 | Gram + | Bacilos |
| B2 | H-A1-3-C1 | Gram + | Bacilos |
| B3 | H-A2-3-A1 | Gram + | Cocos |
| B4 | H-A3-3-A1 | Gram + | Bacilos |
| B5 | H-A5-3-B1 | Gram + | Bacilos |
| B6 | H-A6-3-A1 | Gram + | Cocos |
| B7 | H-A6-2-B2 | Gram + | Bacilos |
| B8 | H-A6-3-C1 | Gram + | Bacilos |
| B9 | H-A7-2-A2 | Gram - | Bacilos |
| B10 | H-A7-2-A4 | Gram - | Bacilos |
| B11 | H-A8-2-C1 | Gram + | Bacilos |
| B12 | H-A7-3-B1 | Gram + | Bacilos |

### 7.2.2 Evaluación de la actividad antifúngica de los aislados bacterianos contra *Fusarium* sp. B1, *Fusarium* sp. BM-06 y *F. solani* A11, a través de ensayos de antagonismo directo

Por medio de ensayos de antagonismo directo, se evaluó la inhibición del crecimiento micelial por 12 aislados bacterianos provenientes de filósfera contra el hongo *Fusarium* sp. B1, proveniente del tallo de aguacate, *Fusarium* sp. BM-06, proveniente de un individuo de escarabajo ambrosial de la especie *Xylosandrus morigerus* y *Fusarium solani* A11, proveniente de rizósfera de aguacate. Además, para este último fitopatógeno, también se evaluó la inhibición del crecimiento micelial por parte de tres aislados bacterianos provenientes de rizósfera de aguacate.

El crecimiento micelial de *Fusarium* sp. B1 fue inhibido significativamente ($P \leq 0.05$) por tres de los 12 aislados bacterianos probados (Cuadro 7). Los aislados bacterianos B2, B10 y B11 redujeron de manera significativa el crecimiento micelial, con porcentajes de inhibición entre 14 y 60% (Figuras 7 y 8). En cambio, los aislados B1, B5, B7, B8 y B12 invadieron la placa de Petri antes de concluir el ensayo, por lo que no se pudieron tomar las medidas necesarias para su análisis estadístico.

**Cuadro 7**. Crecimiento micelial y porcentaje de inhibición de *Fusarium* sp. B1 expuesto a los aislados bacterianos filosféricos, a través de ensayos de antagonismo directo

| Aislado bacteriano | Crecimiento micelial (cm) | Crecimiento del control (cm) | Porcentaje de inhibición (%) |
|---|---|---|---|
| B1 | --- | --- | --- |
| B2 | 2.66 ± 0.18 * | 3.83 ± 0.06 | 30.56 ± 3.71 |
| B3 | 3.83 ± 0.03 | 3.83 ± 0.06 | 0.00 ± 2.65 |
| B4 | 3.63 ± 0.06 | 3.83 ± 0.06 | 5.21 ± 2.95 |
| B5 | --- | --- | --- |
| B6 | 3.66 ± 0.06 | 3.83 ± 0.06 | 4.34 ± 1.68 |
| B7 | --- | --- | --- |
| B8 | --- | --- | --- |

| | | | |
|---|---|---|---|
| B9 | 3.80 ± 0.00 | 3.83 ± 0.06 | 0.86 ± 1.75 |
| B10 | 3.26 ± 0.23 * | 3.83 ± 0.06 | 14.62 ± 6.93 |
| B11 | 1.50 ± 0.25 * | 3.83 ± 0.06 | 60.86 ± 6.98 |
| B12 | --- | --- | --- |

Los datos son el promedio de tres réplicas ± error estándar.

* Datos que presentaron diferencias significativas (prueba U de Mann Whitney según la distribución de datos, $P \leq 0.05$).

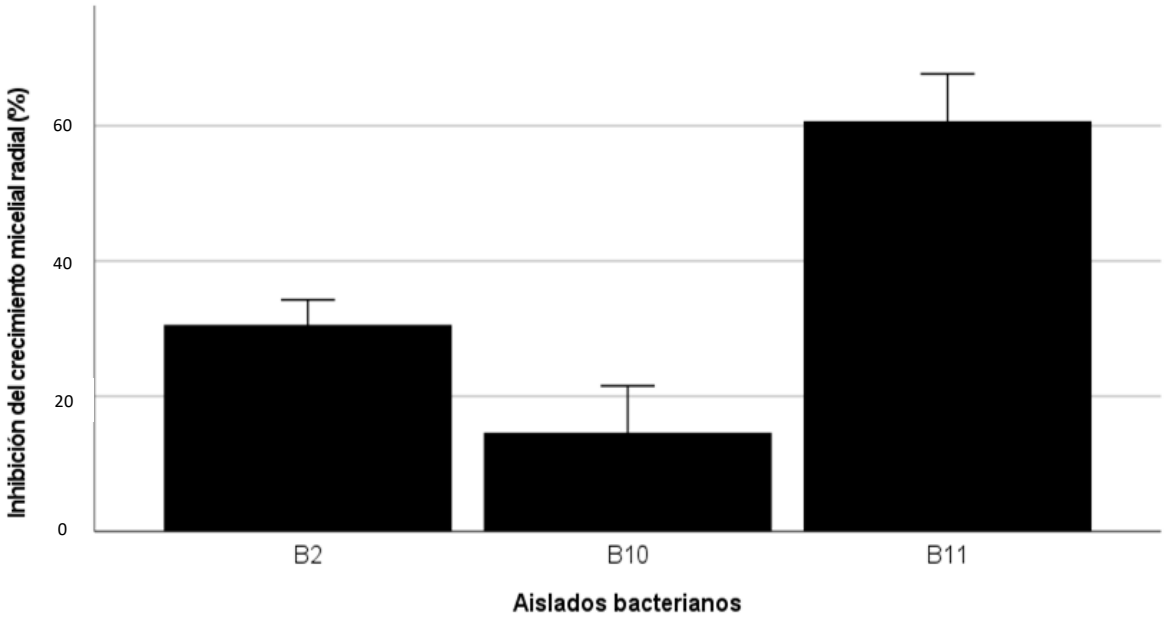


**Figura 7.** Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial radial de *Fusarium* sp. B1 ocasionado por los aislados bacterianos B2, B10 y B11 (n= 3 réplicas), a través de ensayos de antagonismo directo. Las barras representan el error estándar. Solo se presentan aquellos aislados con una inhibición significativa del crecimiento radial del micelio en comparación con un control (prueba U de Mann Whitney según la distribución de datos, $P \leq 0.05$).

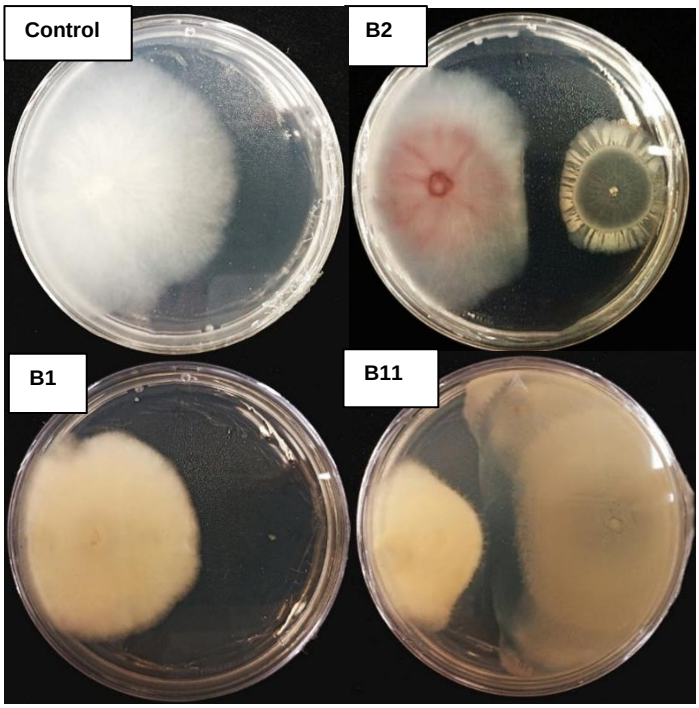


**Figura 8**. Ensayos de antagonismo directo entre *Fusarium* sp. B1 y los aislados bacterianos B2, B10 y B11 provenientes de filósfera de aguacate.

En el caso de *Fusarium* sp. BM-06, el crecimiento micelial fue inhibido significativamente por 11 de los 12 aislados bacterianos probados (Cuadro 8). El aislado bacteriano B1 invadió la placa de Petri antes de concluir el ensayo, por lo que no se pudieron tomar las medidas necesarias para su análisis estadístico.

**Cuadro 8.** Crecimiento micelial y porcentaje de inhibición de *Fusarium* sp. BM-06 expuesto a los aislados bacterianos filosféricos, a través de ensayos de antagonismo directo.

| Aislado bacteriano | Crecimiento micelial (cm) | Crecimiento del control (cm) | Porcentaje de inhibición (%) |
|---|---|---|---|
| B1 | --- | --- | --- |
| B2 | 2.76 ± 0.13 * | 4.60 ± 0.00 | 39.85 ± 2.89 |
| B3 | 4.10 ± 0.10 * | 4.60 ± 0.00 | 10.86 ± 2.17 |
| B4 | 4.23 ± 0.06 * | 4.60 ± 0.00 | 7.97 ± 1.44 |
| B5 | 2.50 ± 0.17 * | 4.60 ± 0.00 | 45.65 ± 3.75 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| B6 | 4.13 ± 0.02 * | 4.60 ± 0.00 | 10.14 ± 0.72 |
| B7 | 2.93 ± 0.02 * | 4.60 ± 0.00 | 36.23 ± 0.72 |
| B8 | 2.93 ± 0.02 * | 4.60 ± 0.00 | 36.23 ± 0.72 |
| B9 | 4.20 ± 0.09 * | 4.60 ± 0.00 | 37.68 ± 0.72 |
| B10 | 4.36 ± 0.02 * | 4.60 ± 0.00 | 8.69 ± 2.17 |
| B11 | 3.36 ± 0.02 * | 4.60 ± 0.00 | 26.81 ± 0.72 |
| B12 | 2.86 ± 0.02 * | 4.60 ± 0.00 | 5.07 ± 0.72 |

Los datos son el promedio de tres réplicas ± error estándar.

* Datos que presentaron diferencias significativas (prueba U de Mann Whitney según la distribución de datos, $P \leq 0.05$).

Los porcentajes de inhibición ocasionados por los 11 aislados filosféricos varían entre el 5% y el 46% (Figuras 9 y 10). El aislado bacteriano B5, correspondiente a una bacteria Gram +, con morfología bacilar, causó el porcentaje de inhibición más alto.

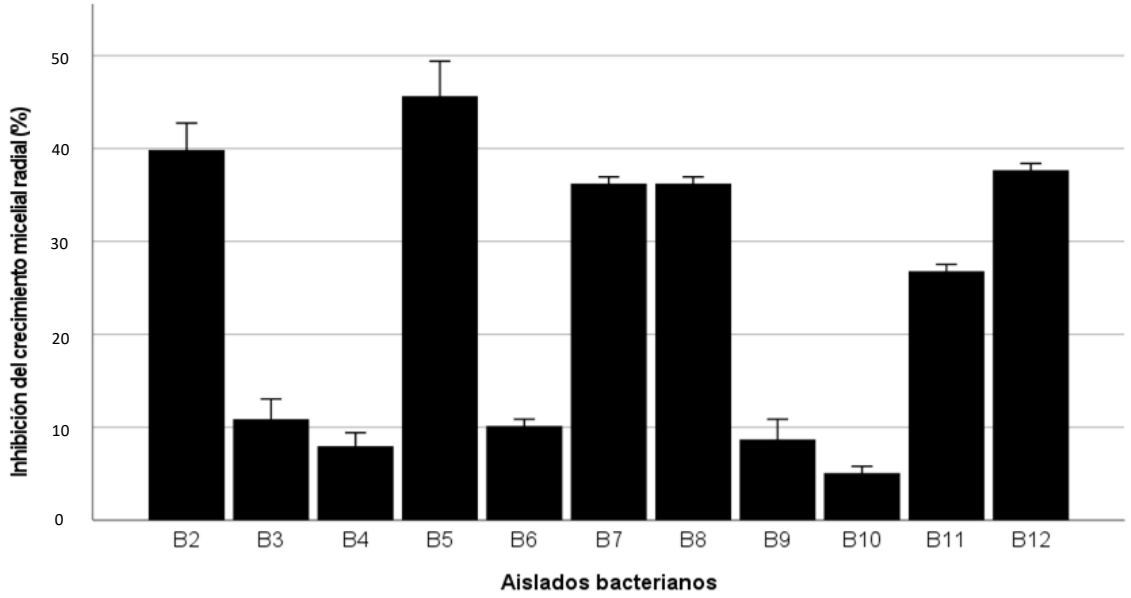


**Figura 9.** Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial radial de *Fusarium* sp. BM-06 ocasionado por los aislados bacterianos B2, B3, B4, B5, B6, B7, B8, B9, B10, B11 y B12 (n= 3 réplicas), a través de ensayo de antagonismo directo. Las barras representan el error estándar. Solo se presentan aquellos aislados con una inhibición significativa del crecimiento radial del micelio en comparación con un control (prueba U de Mann Whitney según la distribución de datos, $P \leq 0.05$).

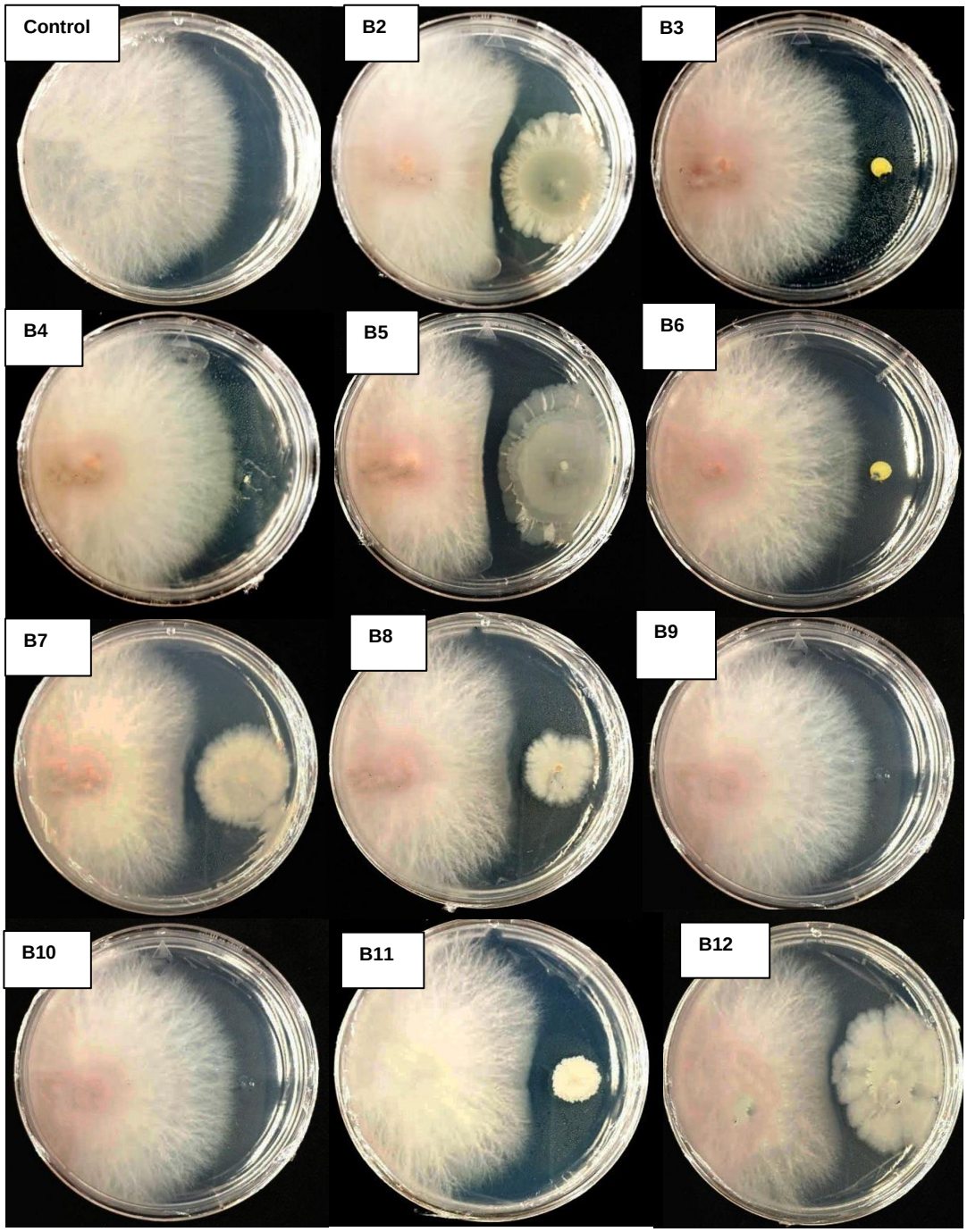


**Figura 10**. Ensayos de antagonismo directo entre *Fusarium* sp. BM-06 y los aislados bacterianos B2, B3, B4, B5, B6, B7, B8, B9, B10, B11 y B12 provenientes de filósfera de aguacate.

Finalmente, el crecimiento micelial de *F. solani* A11 fue inhibido significativamente por los 12 aislados bacterianos de filósfera y por dos de los tres aislados provenientes de rizósfera (Cuadro 9). El aislado bacteriano *Bacillus* sp. SO invadió la placa de Petri antes de concluir el ensayo, por lo que no se pudieron tomar las medidas necesarias para su análisis estadístico.

**Cuadro 9.** Crecimiento micelial y porcentaje de inhibición de *F. solani* A11 expuesto a los aislados bacterianos filosféricos y rizosféricos, a través de ensayos de antagonismo directo.

| Aislado bacteriano | Crecimiento micelial (cm) | Crecimiento del control (cm) | Porcentaje de inhibición (%) |
|---|---|---|---|
| B1 | 1.70 ± 0.30 * | 4.83 ± 0.06 | 64.92 ± 5.99 |
| B2 | 2.70 ± 0.11 * | 4.83 ± 0.06 | 44.17 ± 1.76 |
| B3 | 4.23 ± 0.02 * | 4.83 ± 0.06 | 12.38 ± 1.05 |
| B4 | 4.26 ± 0.14 * | 4.83 ± 0.06 | 11.68 ± 3.34 |
| B5 | 2.53 ± 0.08 * | 4.83 ± 0.06 | 47.51 ± 2.55 |
| B6 | 4.26 ± 0.06 * | 4.83 ± 0.06 | 11.70 ± 1.29 |
| B7 | 2.86 ± 0.13 * | 4.83 ± 0.06 | 40.62 ± 3.24 |
| B8 | 2.76 ± 0.23 * | 4.83 ± 0.06 | 42.87 ± 4.09 |
| B9 | 4.40 ± 0.05 * | 4.83 ± 0.06 | 8.90 ± 2.39 |
| B10 | 4.43 ± 0.02 * | 4.83 ± 0.06 | 8.22 ± 1.98 |
| B11 | 3.33 ± 0.02 * | 4.83 ± 0.06 | 31.01 ± 0.85 |
| B12 | 3.00 ± 0.15 * | 4.83 ± 0.06 | 37.82 ± 4.05 |
| HA | 4.43 ± 0.06 * | 4.83 ± 0.06 | 8.22 ± 2.30 |
| SO | --- | --- | --- |
| INECOL-5911 | 4.20 ± 0.10 * | 4.83 ± 0.06 | 13.12 ± 0.88 |

Los datos son el promedio de tres réplicas ± error estándar.

* Datos que presentaron diferencias significativas (prueba U de Mann Whitney según la distribución de datos, $P \leq 0.05$).

En general, los aislados bacterianos de filósfera ocasionaron una mayor inhibición del fitopatógeno que los aislados rizosféricos. Los porcentajes de inhibición ocasionados por los 12 aislados filosféricos y los 2 aislados rizosféricos variaron entre el 8 % y el 65% (Figuras 11 y 12). En particular, el aislado bacteriano B1, correspondiente a una bacteria Gram +, con morfología bacilar, provocó la mayor inhibición del crecimiento micelial.

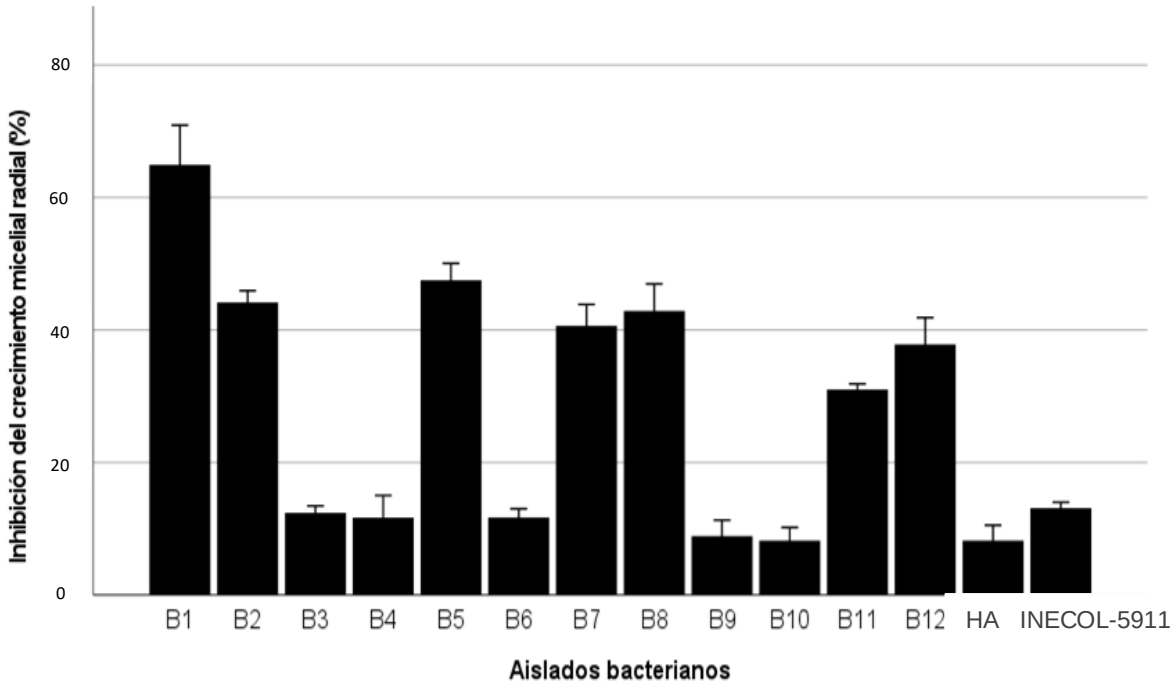


**Figura 11.** Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial radial de *F. solani* A11 ocasionado por los aislados bacterianos B1, B2, B3, B4, B5, B6, B7, B8, B9, B10, B11, B12, HA INECOL-5911 (n= 3 réplicas), a través de ensayos de antagonismo directo. Las barras representan el error estándar. Solo se presentan aquellos aislados con una inhibición significativa del crecimiento radial del micelio en comparación con un control (prueba U de Mann Whitney según la distribución de datos, $P \leq 0.05$).

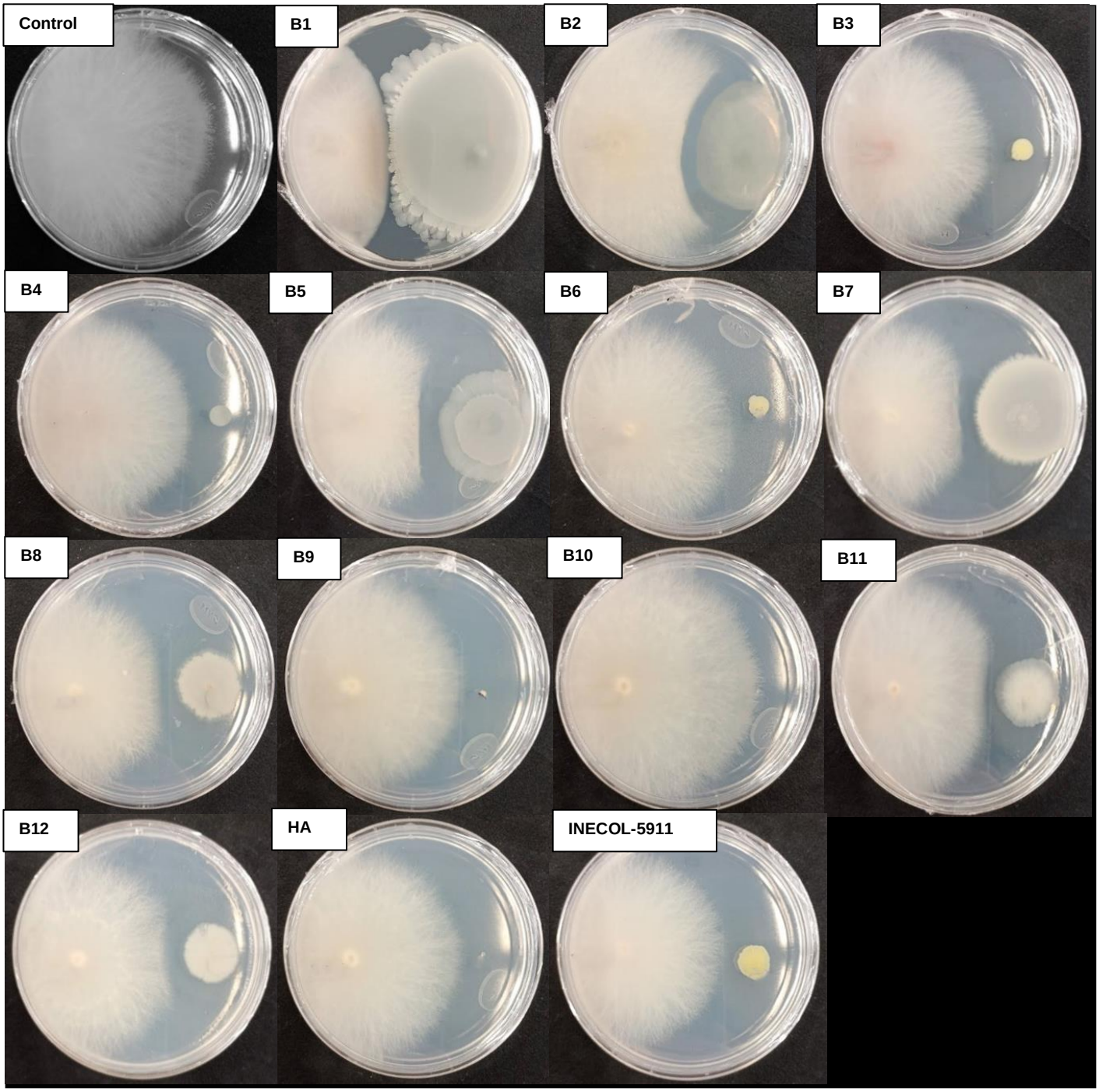


**Figura 12**. Ensayos de antagonismo directo entre *F. solani* A11 y los aislados bacterianos B1, B2, B3, B4, B5, B6, B7, B8, B9, B10, B11 y B12 provenientes de filósfera de aguacate y los aislados HA INECOL-5911 provenientes de rizósfera de aguacate.

En resumen, los aislados de filósfera y rizósfera de aguacate, probados en este estudio a través de ensayos *in vitro* de antagonismo directo, ocasionaron una inhibición significativa contra los tres hongos fitopatógenos del género *Fusarium*. Particularmente, los aislados bacterianos B11, B5 y B1, correspondientes a bacterias Gram +, con morfología bacilar y provenientes de filósfera, ocasionaron la mayor inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium* sp. B1, *Fusarium* sp. BM-06 y *F. solani* A11, respectivamente (Cuadro 6). Los aislados B2, B10 y B11 fueron capaces de inhibir de manera significativa los tres hongos fitopatógenos evaluados en este estudio.

### 7.2. 3 Evaluación de la actividad antifúngica de los aislados bacterianos contra *Fusarium* sp. B1, *Fusarium* sp. BM-06 y *F. solani* A11 por medio de la emisión de compuestos orgánicos volátiles

Se evaluó la inhibición fúngica por medio de la emisión de compuestos volátiles de los 12 aislados bacterianos provenientes de filósfera de aguacate contra el hongo *Fusarium* sp. B1, proveniente del tallo de aguacate, *Fusarium* sp. BM-06, proveniente de un individuo de escarabajo ambrosial de la especie *Xylosandrus morigerus* y *F. solani* A11, proveniente de rizósfera de aguacate. Además, para este último fitopatógeno, también se evaluó la inhibición del crecimiento micelial por parte de tres aislados bacterianos provenientes de rizósfera de aguacate.

El crecimiento micelial de *Fusarium* sp. B1 fue inhibido significativamente por 11 de los 12 aislados bacterianos probados. El aislado bacteriano B5 no presentó un porcentaje de inhibición del crecimiento micelial significativo (Cuadro 10).

**Cuadro 10.** Crecimiento micelial y porcentaje de inhibición de *Fusarium* sp. B1 expuesto a los aislados bacterianos filosféricos.

| Aislado bacteriano | Crecimiento micelial (cm) | Crecimiento del control (cm) | Porcentaje de inhibición (%) |
|---|---|---|---|
| B1 | 5.07 ± 0.06 * | 6.53 ± 0.08 | 22.40 ± 1.94 |
| B2 | 5.33 ± 0.13 * | 6.53 ± 0.08 | 18.33 ± 2.47 |
| B3 | 5.23 ± 0.06 * | 6.53 ± 0.08 | 19.87 ± 1.35 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| B4 | 5.63 ± 0.33 * | 6.53 ± 0.08 | 13.72 ± 5.42 |
| B5 | 5.47 ± 0.46 | 6.53 ± 0.08 | 16.33 ± 6.01 |
| B6 | 4.83 ± 0.06 * | 6.53 ± 0.08 | 26.01 ± 0.70 |
| B7 | 5.13 ± 0.26 * | 6.53 ± 0.08 | 21.42 ± 4.05 |
| B8 | 4.87 ± 0.24 * | 6.53 ± 0.08 | 25.54 ± 3.24 |
| B9 | 5.43 ± 0.27 * | 6.53 ± 0.08 | 16.71 ± 5.10 |
| B10 | 5.43 ± 0.14 * | 6.53 ± 0.08 | 16.85 ± 1.58 |
| B11 | 5.10 ± 0.20 * | 6.53 ± 0.08 | 21.90 ± 3.48 |
| B12 | 5.07 ± 0.12 * | 6.53 ± 0.08 | 22.39 ± 2.61 |

Los datos son el promedio de tres réplicas ± error estándar.

* Datos que presentaron diferencias significativas (prueba U de Mann Whitney según la distribución de datos, $P \leq 0.05$).

Los porcentajes de inhibición varían entre el 14% y el 26% (Figuras 13 y 14). El aislado bacteriano B6, correspondiente a una bacteria Gram + con morfología celular de cocos, causó el porcentaje de inhibición más alto, seguido por el aislado B8, correspondiente a una bacteria Gram + con morfología bacilar.

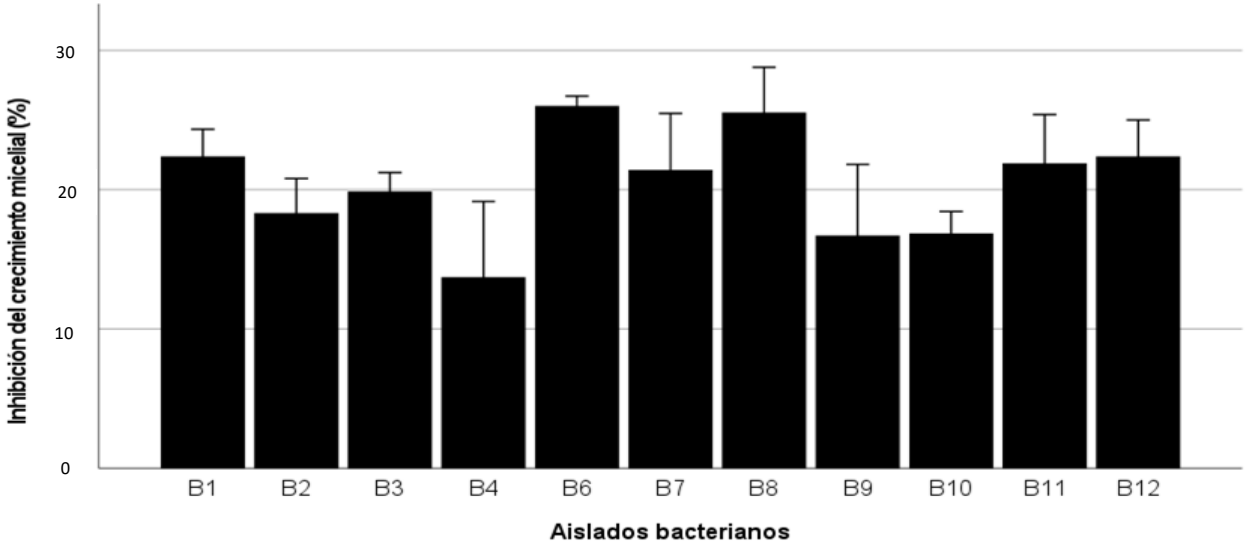


**Figura 13.** Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium* sp. B1 ocasionado por los aislados bacterianos B1, B2, B3, B4, B6, B7, B8, B9, B10, B11 y B12 (n= 3 réplicas), por medio de ensayos de doble caja Petri sellada. Las barras representan el error estándar. Solo se presentan aquellos aislados con una inhibición significativa del crecimiento micelial en comparación con el control (prueba U de Mann Whitney según la distribución de datos, $P \leq 0.05$).

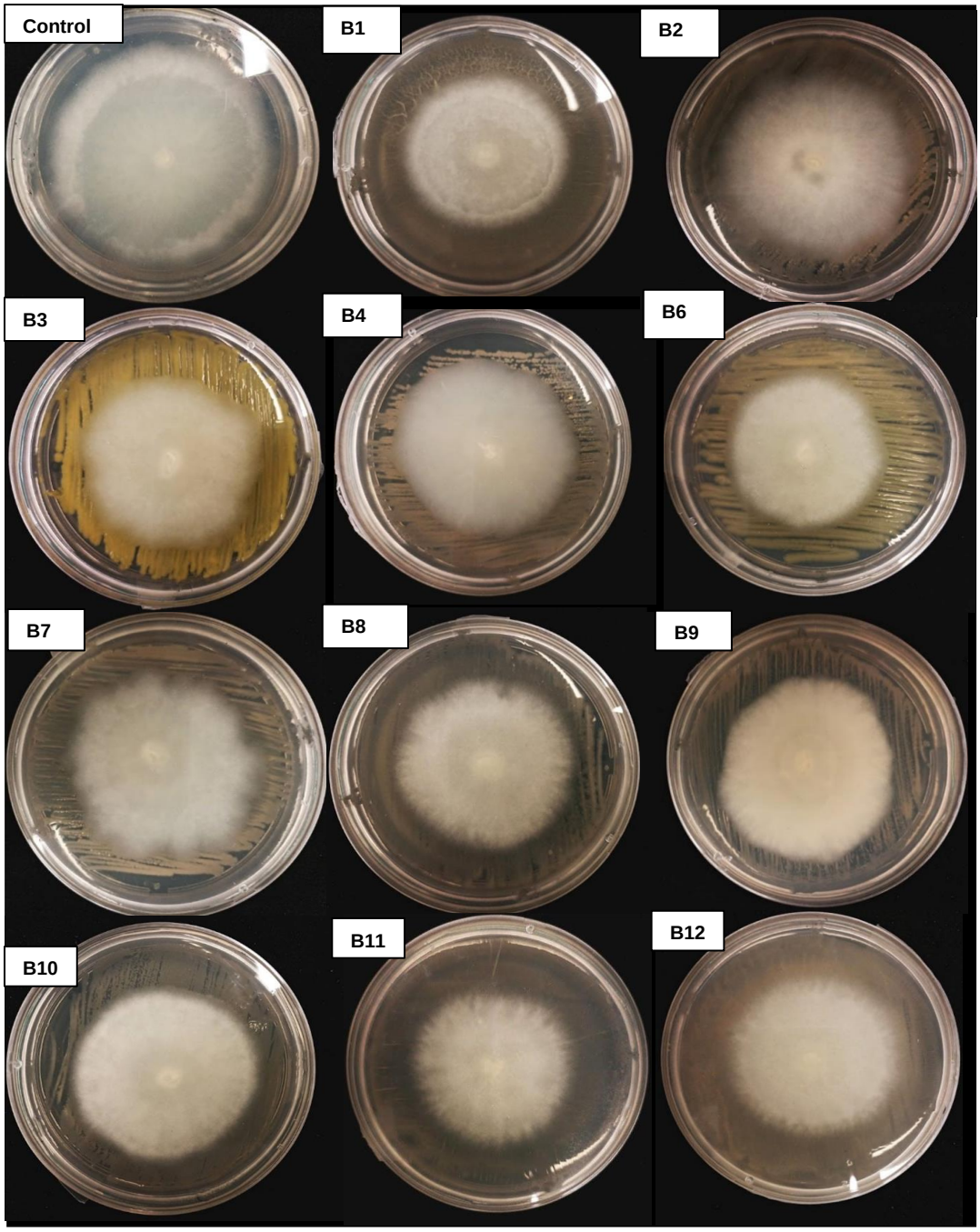


**Figura 14**. Ensayos de doble caja Petri sellada entre *Fusarium* sp. B1 y los aislados bacterianos B1, B2, B3, B4, B6, B7, B8, B9, B10, B11 y B12 provenientes de filósfera de aguacate.

En los ensayos de antagonismo contra *Fusarium* sp. BM-06, el crecimiento micelial fue inhibido significativamente por los 12 aislados bacterianos probados (Cuadro 11).

**Cuadro 11.** Crecimiento micelial y porcentaje de inhibición de *Fusarium* sp. BM06 expuesto a los aislados bacterianos filosféricos.

| Aislado bacteriano | Crecimiento micelial (cm) | Crecimiento del control (cm) | Porcentaje de inhibición (%) |
|---|---|---|---|
| B1 | 5.33 ± 0.47 * | 7.90 ± 0.05 | 32.39 ± 6.53 |
| B2 | 6.10 ± 0.20 * | 7.90 ± 0.05 | 22.77 ± 2.58 |
| B3 | 6.33 ± 0.03 * | 7.90 ± 0.05 | 19.82 ± 0.30 |
| B4 | 6.67 ± 0.12 * | 7.90 ± 0.05 | 15.58 ± 2.02 |
| B5 | 5.67 ± 0.49 * | 7.90 ± 0.05 | 28.31 ± 5.99 |
| B6 | 5.53 ± 0.31 * | 7.90 ± 0.05 | 30.00 ± 3.64 |
| B7 | 5.20 ± 0.05 * | 7.90 ± 0.05 | 34.17 ± 0.64 |
| B8 | 4.97 ± 0.26 * | 7.90 ± 0.05 | 37.13 ± 3.39 |
| B9 | 6.23 ± 0.17 * | 7.90 ± 0.05 | 21.08 ± 2.49 |
| B10 | 6.63 ± 0.32 * | 7.90 ± 0.05 | 16.07 ± 3.77 |
| B11 | 6.23 ± 0.63 * | 7.90 ± 0.05 | 21.11 ± 7.88 |
| B12 | 6.03 ± 0.13 * | 7.90 ± 0.05 | 23.64 ± 1.22 |

Los datos son el promedio de tres réplicas ± error estándar.

* Datos que presentaron diferencias significativas (prueba U de Mann Whitney según la distribución de datos, $P \leq 0.05$).

Concretamente, los porcentajes de inhibición se encontraron entre el 16% y el 37% (Figuras 15 y 16). La mayor inhibición del crecimiento micelial fue ocasionada por los volátiles emitidos por el aislado B8, correspondiente a una bacteria Gram + con morfología bacilar.

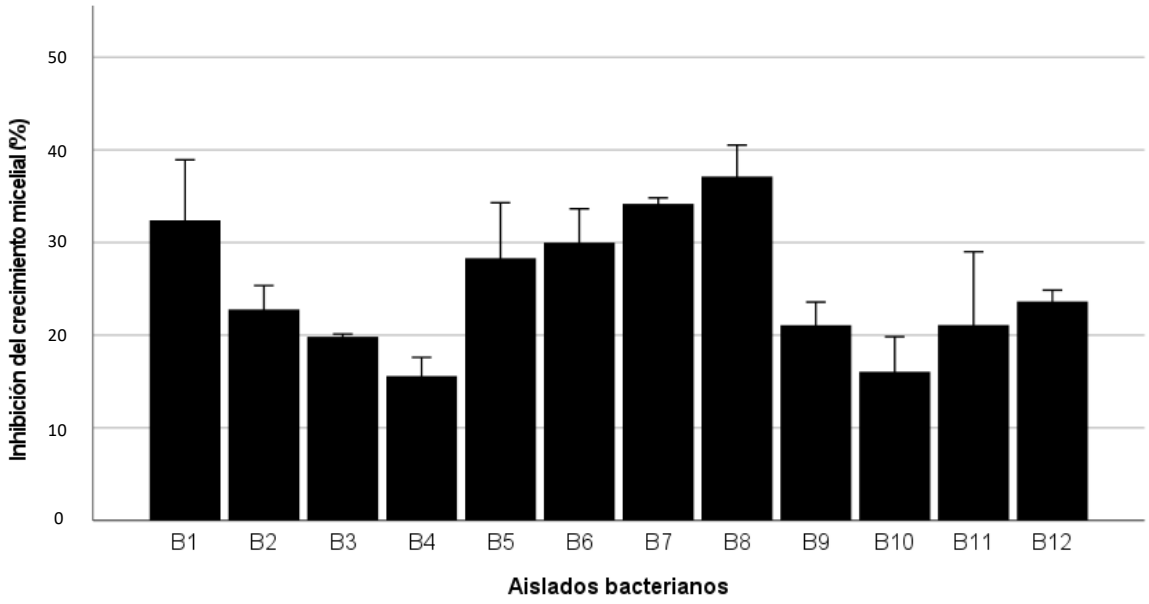


**Figura 15.** Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium* sp. BM-06 ocasionado por los aislados bacterianos B1, B2, B3, B4, B5, B6, B7, B8, B9, B10, B11 y B12 (n= 3 réplicas), por medio de ensayos de doble caja Petri sellada. Las barras representan el error estándar. Solo se presentan aquellos aislados con una inhibición significativa del crecimiento radial del micelio en comparación con un control (prueba U de Mann Whitney según la distribución de datos, $P \leq 0.05$).

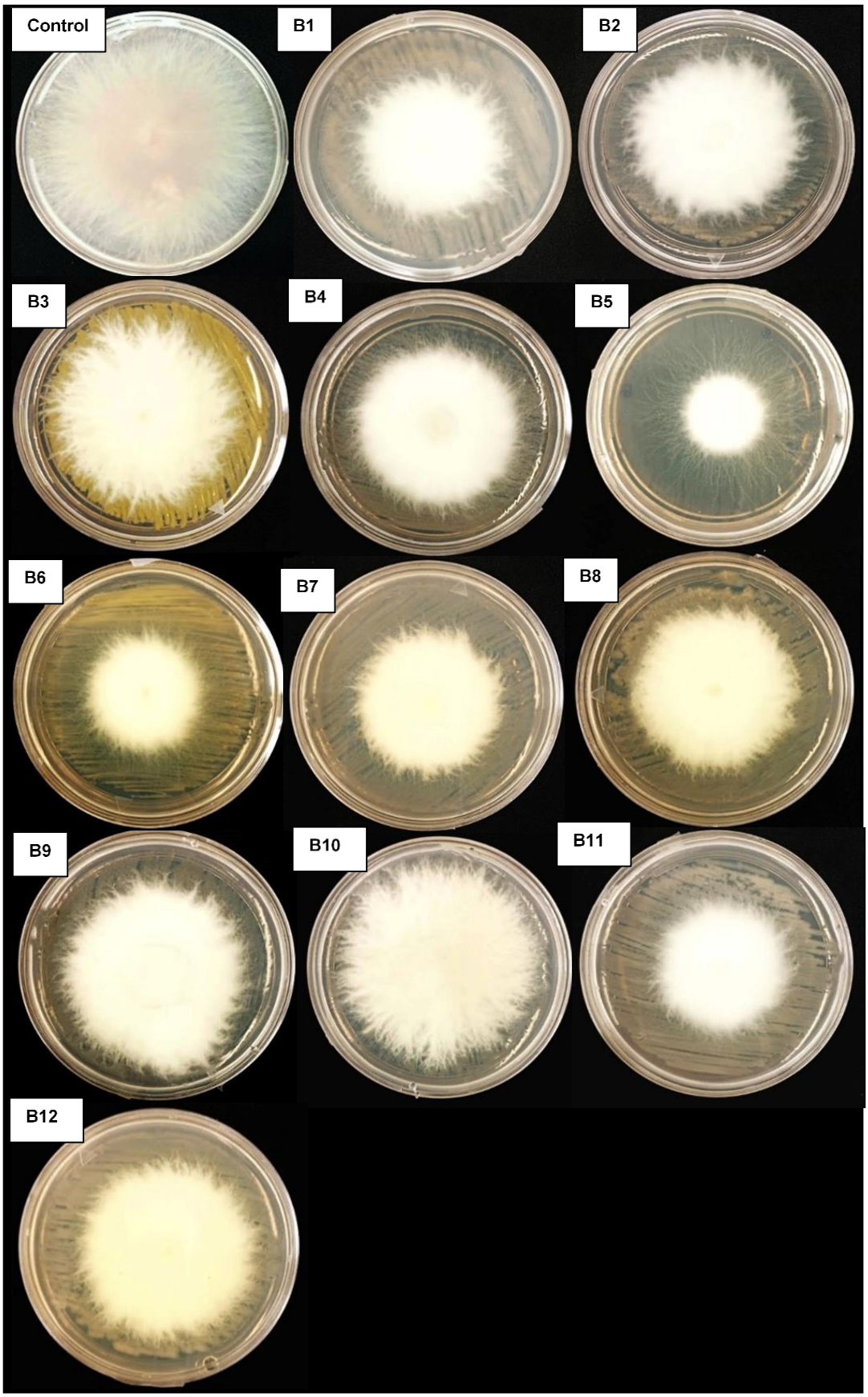


**Figura 16**. Ensayos de doble caja Petri sellada entre *Fusarium* sp. BM-06 y los aislados bacterianos B1, B2, B3, B4, B5, B6, B7, B8, B9, B10, B11 y B12 provenientes de filósfera de aguacate.

Por último, el crecimiento micelial de *F. solani* A11 fue inhibido significativamente por los volátiles emitidos por los 12 aislados bacterianos de filósfera y los tres aislados de rizósfera (Cuadro 12).

**Cuadro 12.** Crecimiento micelial y porcentaje de inhibición de *F. solani* A11 expuesto a los aislados bacterianos filosféricos y rizosféricos.

| Aislado bacteriano | Crecimiento micelial (cm) | Crecimiento del control (cm) | Porcentaje de inhibición (%) |
|---|---|---|---|
| B1 | 5.10 ± 0.54 * | 7.70 ± 0.05 | 33.65 ± 7.66 |
| B2 | 4.87 ± 0.08 * | 7.70 ± 0.05 | 36.78 ± 1.38 |
| B3 | 5.47 ± 0.12 * | 7.70 ± 0.05 | 28.98 ± 1.99 |
| B4 | 6.23 ± 0.23 * | 7.70 ± 0.05 | 19.07 ± 2.50 |
| B5 | 5.10 ± 0.65 * | 7.70 ± 0.05 | 33.77 ± 8.47 |
| B6 | 5.00 ± 0.32 * | 7.70 ± 0.05 | 35.05 ± 4.53 |
| B7 | 4.47 ± 0.12 * | 7.70 ± 0.05 | 41.96 ± 1.98 |
| B8 | 4.20 ± 0.11 * | 7.70 ± 0.05 | 45.45 ± 1.75 |
| B9 | 5.83 ± 0.08 * | 7.70 ± 0.05 | 24.24 ± 1.09 |
| B10 | 5.63 ± 0.55 * | 7.70 ± 0.05 | 26.87 ± 6.95 |
| B11 | 5.50 ± 0.57 * | 7.70 ± 0.05 | 28.62 ± 7.10 |
| B12 | 5.43 ± 0.26 * | 7.70 ± 0.05 | 29.34 ± 6.50 |
| HA | 5.77 ± 0.39 * | 7.70 ± 0.05 | 25.17 ± 4.58 |
| SO | 4.60 ± 0.20 * | 7.70 ± 0.05 | 40.29 ± 2.20 |
| INECOL-5911 | 5.93 ± 0.03 * | 7.70 ± 0.05 | 22.93 ± 0.98 |

Los datos son el promedio de tres réplicas ± error estándar.

* Datos que presentaron diferencias significativas (prueba U de Mann Whitney según la distribución de datos, $P \leq 0.05$).

Los porcentajes de inhibición varían entre el 19% y el 45% (Figuras 17 y 18). El aislado bacteriano B8, proveniente de filósfera, nuevamente ocasionó el porcentaje de inhibición más alto mediante la emisión de VOC. En el caso particular de los aislados provenientes de rizósfera, el aislado SO, identificado en estudios previos como *Bacillus* sp., ocasionó un porcentaje de inhibición del 40.29%.

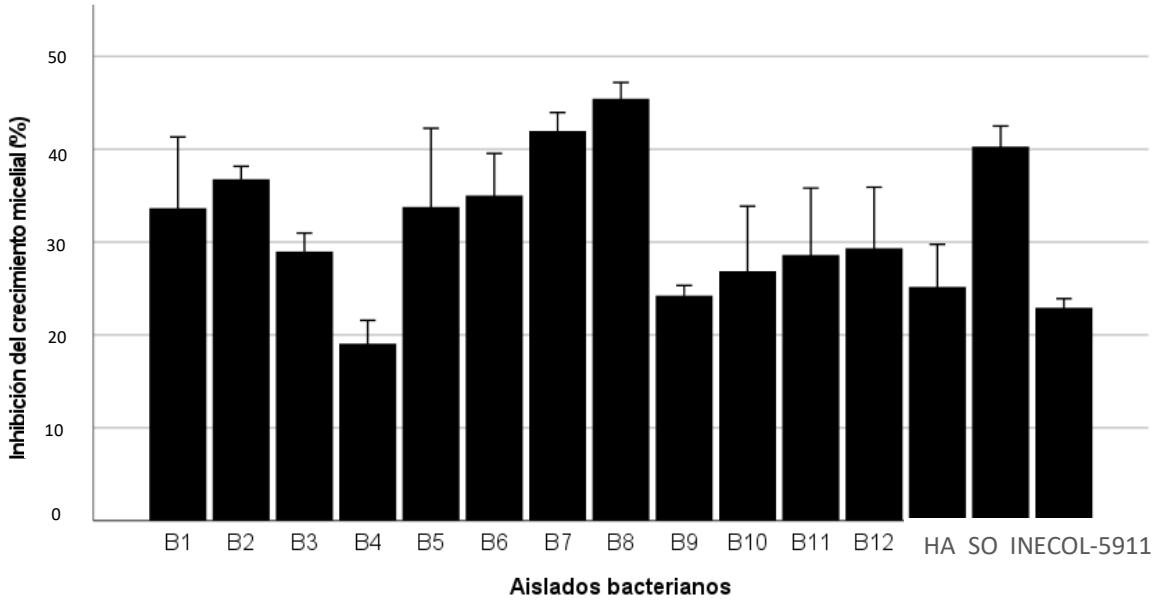


**Figura 17.** Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de *F. solani* A11, ocasionado por los aislados bacterianos B1, B2, B3, B4, B5, B6, B7, B8, B9, B10, B11, B12, HA, SO e INECOL-5911 (n= 3 réplicas), por medio de ensayos de doble caja Petri sellada. Las barras representan el error estándar. Solo se presentan aquellos aislados con una inhibición significativa del crecimiento radial del micelio en comparación con un control (prueba U de Mann Whitney según la distribución de datos, $P \leq 0.05$).

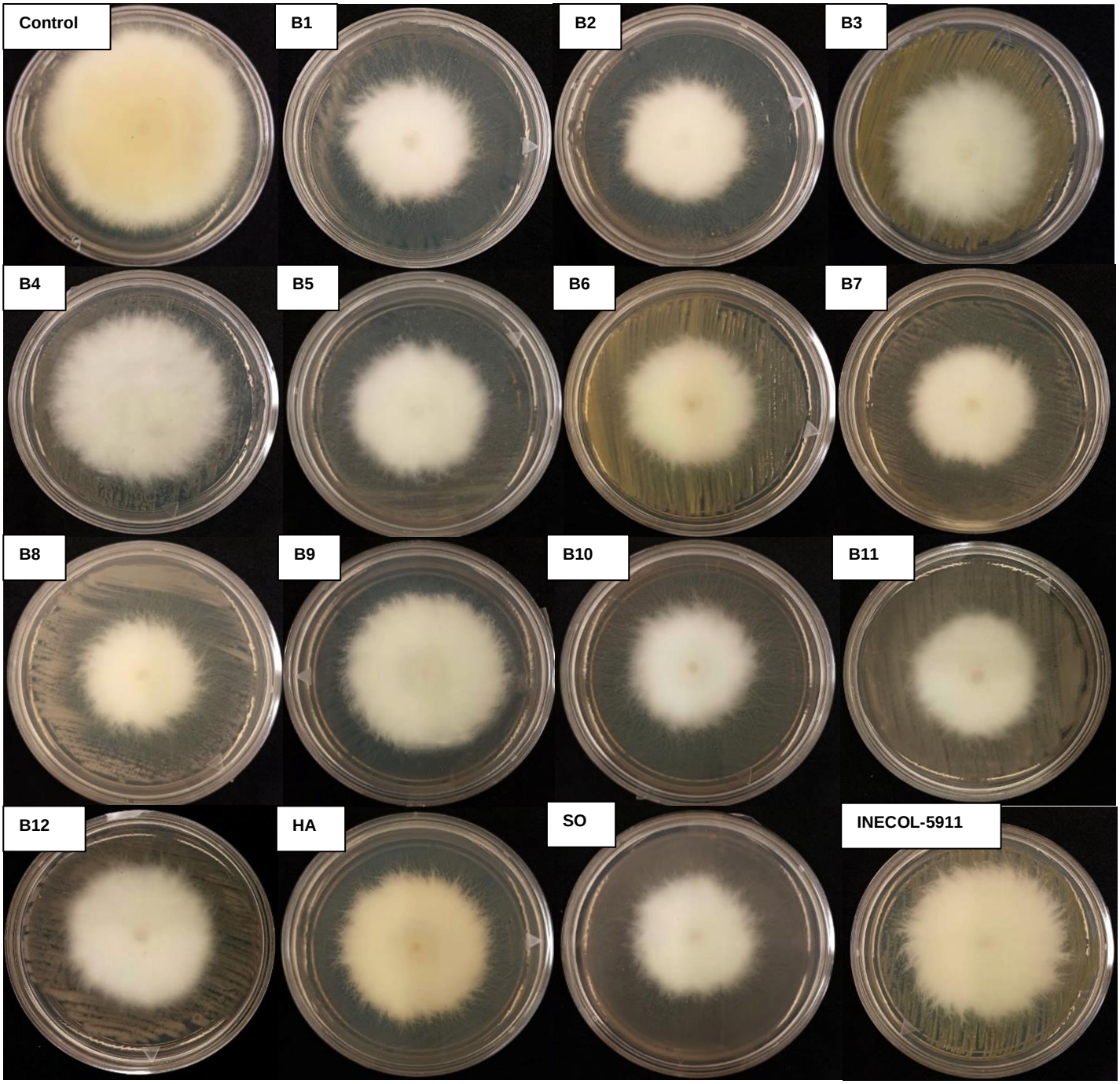


**Figura 18**. Ensayos de doble caja Petri sellada entre *F.* solani A11 y los aislados bacterianos B1, B2, B3, B4, B5, B6, B7, B8, B9, B10, B11 y B12 provenientes de filósfera de aguacate y HA, SO e INECOL-5911, provenientes de rizósfera de aguacate.

En resumen, los aislados de filósfera y rizósfera de aguacate, probados en este estudio, a través de ensayos de doble caja Petri sellada, ocasionaron una inhibición significativa contra los tres hongos fitopatógenos del género *Fusarium* evaluados, mediante la emisión de compuestos volátiles. Particularmente, el aislado B6, correspondiente a una bacteria Gram +, con morfología celular de cocos, y el aislado B8, bacteria Gram +, con morfología bacilar, ambos provenientes de filósfera, ocasionaron la mayor inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium* sp. B1, *Fusarium* sp. BM-06 y *F. solani* A11, respectivamente (Cuadro 7).

## 8. DISCUSIÓN

Se ha documentado ampliamente que el uso de agroquímicos para el control de hongos fitopatógenos en sistemas agrícolas conlleva daños a la salud humana y al medio ambiente (Tang *et al*., 2021). Por lo tanto, se ha optado por la búsqueda e identificación de ACB como una alternativa viable para el manejo integral de patógenos que no implica daños a los ecosistemas naturales, ni efectos nocivos hacia los seres vivos. Los microorganismos bacterianos asociados a órganos vegetales, como las raíces y las hojas, han sido foco de investigación, debido al potencial para aumentar la eficiencia y el rendimiento de las plantas por medio de la promoción del crecimiento vegetal y/o la inhibición de fitopatógenos, en los sistemas de cultivo (Ab Rahman *et al*., 2018; Méndez-Bravo *et al*., 2018; Reverchon *et al*., 2019; Báez-Vallejo *et al*., 2020). A nivel nacional, la búsqueda de ACB contra *Fusarium*, un importante fitopatógeno fúngico de diversos cultivos mexicanos, incluido el aguacate, se ha inclinado ampliamente por aquellos agentes bacterianos presentes en la rizósfera, mientras que la filósfera ha sido un hábitat poco explorado, que se considera actualmente un nicho de oportunidad para la búsqueda de ACB (Reverchon *et al*., 2020).

Comúnmente, la inhibición de hongos fitopatógenos por parte de ACB bacterianos es el resultado de la producción de metabolitos secundarios difusibles y/o volátiles. Con el objetivo de encontrar nuevos ACB bacterianos de hongos fitopatógenos del género *Fusarium* y de investigar sus posibles mecanismos de inhibición, se realizó una caracterización morfológica por medio de la tinción de Gram de los aislados bacterianos provenientes de la filósfera de árboles de aguacate y se evaluó la actividad antagónica de sus compuestos difusibles y volátiles contra *Fusarium* sp. BM-06, aislado del escarabajo ambrosial de la especie *Xylosandrus morigerus*, *Fusarium* sp. B1, aislado de tallo de aguacate y *F. solani* A11, aislado de rizósfera de aguacate. En el caso de este último fitopatógeno, por tratarse de un hongo presente a nivel de suelo, también se evaluó la actividad antagónica de algunos aislados bacterianos de rizósfera de aguacate, identificados en escrutinios previos como cepas del género *Bacillus* con actividad antifúngica

contra *Fusarium* spp. (Guevara-Avendaño *et al*., 2018; Guevara-Avendaño *et al*., 2019).

En este estudio, encontramos que de los doce aislados bacterianos de filósfera, seleccionados al azar, diez corresponden a bacterias Gram +, y solamente dos aislados corresponden a bacterias Gram -. En la última década, se ha descrito que las bacterias Gram - son las más abundantes en la filósfera y en la rizósfera. Dentro de éstas sobresale el filo Proteobacteria, al comprender bacterias con metabolismos diversos que les permiten un crecimiento rápido, y al emplear de manera eficiente los recursos disponibles (Corpe y Rheem, 1989; Fürnkranz *et al*., 2008; Atamna-Ismaeel *et al*., 2012). Dentro del filo Proteobacteria, para las bacterias aisladas de la filósfera, la clase Alphaproteobacteria está particularmente bien representada con algunos géneros como *Agrobacterium*, *Methylobacterium* y *Sphingomonas*, al igual que la clase Gammaproteobacteria, con el género *Pseudomonas* (Whipps *et al*., 2008; Rastogi *et al*., 2012). De igual forma, algunas bacterias Gram - del filo Bacteroidetes se han reportado comúnmente en la filósfera como organismos aeróbicos y pigmentados, lo que sugiere que están bien adaptados a la superficie de la hoja (Stone *et al*., 2018). La presencia de bacterias Gram – se ha documentado también en la rizósfera, donde otros filos adicionales a los ya descritos se han reportado, tales como Planctomycetes, Acidobacteria y Verrucomicrobia (Philippot *et al*., 2013; Turner *et al*., 2013). En cuanto a las bacterias Gram + descritas en la filósfera y en la rizósfera, en la actualidad los filos Actinobacteria y Firmicutes son los filos dominantes, en los que algunos géneros como *Mycobacterium* y *Bacillus* han sido descritos, respectivamente (Delmotte *et al*., 2009; Knief *et al*., 2012; Philippot *et al*., 2013; Thapa y Prasanna *et al*., 2018; Dastogeer *et al*., 2020).

A nivel nacional, un estudio enfocado en la búsqueda e identificación de ACB a partir de árboles silvestres de la familia Lauraceae, reportó la presencia de Proteobacterias del género *Pseudomonas*, *Methylobacterium*, *Erwinia* y *Hafnia*, de Firmicutes del género *Bacillus*, y de Actinobacterias de los géneros *Curtobacterium*, *Microbacterium, Streptomyces* y *Arthrobacter*, en la filósfera y rizósfera de estos

árboles forestales (Reverchon *et al*., 2019; Báez-Vallejo *et al*., 2020). Asimismo, estudios previos de nuestro grupo han identificado la presencia de *Bacillus* spp. y *Pseudomonas* spp. en la rizósfera de árboles de aguacate (Guevara-Avendaño *et al*., 2018; 2019). Por lo tanto, las bacterias Gram - y Gram + aisladas de la filósfera de aguacate y seleccionadas para esta investigación, corresponden probablemente a algunos de los géneros antes mencionados; sin embargo, se debe hacer un análisis molecular basado en la secuenciación del gen ribosomal 16S rADN para comprobar su identidad, a nivel de género.

Con respecto a la actividad antifúngica, en el presente estudio encontramos que los aislados bacterianos de filósfera y rizósfera de aguacate ocasionan una inhibición significativa, por medio de la emisión de compuestos difusibles y volátiles, del crecimiento micelial de hongos fitopatógenos del género *Fusarium*. Resultados similares han sido obtenidos por Báez-Vallejo *et al*. (2020), en donde los aislados bacterianos de filósfera y rizósfera de árboles forestales de la familia Lauraceae, identificados como integrantes del género *Bacillus* y *Pseudomonas*, inhibieron significativamente a los hongos *F. solani* y *F. kuroshium* por medio de la emisión de compuestos difusibles y volátiles. Los compuestos antifúngicos difusibles fueron identificados tentativamente como compuestos pertenecientes a los tres grupos de lipopéptidos (iturina, surfactina y fengicina), mientras que algunos de los compuestos presentes en los perfiles de VOC se caracterizaron como 2-nonanona, 2-undecanona, disulfuro de dimetilo y 1-butanol 3-metil-.

La producción de compuestos difusibles con actividad antifúngica por parte de bacterias filosféricas ha sido reportada en varios estudios, a nivel nacional e internacional. Dentro de estos compuestos, se han señalado a las fenazinas, las enzimas líticas, los ácidos grasos, los lipopéptidos y los sideróforos como los principales metabolitos secretados por bacterias filosféricas, en el antagonismo contra *Fusarium* (Chen *et al*., 2018; Chowdhury *et al*., 2020a; Zang *et al*., 2020). Por ejemplo, Chen *et al*., (2018), documentaron que la actividad de biocontrol de la bacteria *Pseudomonas piscium* ZJU60, aislado de filósfera de trigo sobre el fitopatógeno *F. graminearum*, se debía a la secreción de fenazinas, un grupo de

metabolitos secundarios heterocíclicos que contienen nitrógeno (Chin-A-Woeng *et al*., 2003). La fenazina-1-carboxamida inhibió el crecimiento micelial y la síntesis de micotoxinas de *F. graminearum* por interferencia con la acetilación de histonas fúngicas, además de estar involucrada en la formación de biopelículas bacterianas en las hifas, lo que redujo aún más la patogenicidad.

Asimismo, Chowdhury *et al*., (2020a) reportaron la participación de enzimas líticas y ácidos grasos en el antagonismo contra *Fusarium*. Específicamente, la emisión de quitinasas, proteasas, α-amilasas, y celulosa por parte de *Bacillus* sp. LBF-01, aislado filosférico de mango, inhibió en un 78% el crecimiento micelial de *Fusarium* sp., al ocasionar una tabicación anormal de las hifas, así como la deformación y lisis del micelio. Estos autores reportaron también la producción de fósforo, IAA, sideróforos y amoníaco por *Bacillus* sp. LBF-01. Estos compuestos también fueron descritos por Zang *et al*. (2020) como parte de los principales metabolitos emitidos por *Ochrobactrum* sp. SY286, aislado de filósfera de uva (*Vitis vinifera*) con actividad antifúngica contra varios hongos y oomicetos fitopatógenos.

En el caso de los lipopéptidos, Reyes-Estébanez *et al*., (2020) señalaron la emisión del lipopéptido iturina por parte de *B. velezensis* TS3B-45, aislado de hoja de mango, como el principal mecanismo de acción contra *F. nivale* TSB3H-14, aislado de guanábana (*Annona muricata*) y *F. solani* TSB3H-5, aislado de plátano (*Musa acuminata*). Se ha documentado que las fengicinas e iturinas son principalmente activas contra hongos filamentosos, al interferir con las capas lipídicas y alterar las estructuras de la membrana celular (Ongena *et al*., 2008). Además, las surfactinas, iturinas y fengicinas, a menudo actúan de manera sinérgica (Legein *et al*., 2020).

En nuestra investigación, encontramos que los porcentajes de inhibición más altos se presentaban en los ensayos de antagonismo directo, en comparación con los ensayos de VOCs. En concreto, los porcentajes de inhibición obtenidos a través de los ensayos de antagonismo directo corresponden a un 46%, 61% y 65% contra *Fusarium* sp. BM-06, *Fusarium* sp. B1 y *F. solani* A11, respectivamente, mientras que los porcentajes de inhibición por medio de VOCs no superaron el 45%, obtenido

por el aislado B8 en el antagonismo contra *F. solani* A11. Estos resultados concuerdan con los presentados en distintas investigaciones. Por ejemplo, Marín Guiot (2019) reportó que bacterias de corteza de aguacate, identificadas como *Bacillus* spp., inhibieron a *F. solani*, con porcentajes de inhibición mayores en ensayos de antagonismo directo que en ensayos de antagonismo por emisión de VOCs. De igual manera, Morales-Cedeño *et al*. (2021) reportaron la inhibición del crecimiento micelial de varios hongos fitopatógenos, entre ellos *Fusarium* spp., por *Rouxiella badensis* SER3, aislado filosférico de fresa, mientras que la inhibición del crecimiento micelial por parte de los VOCs de *R. badensis* SER3 no fue significativa. El análisis del genoma de *R. badensis* SER3 reveló la presencia de genes involucrados en la síntesis de sideróforos y polienos, y en la producción de compuestos antibióticos y antifúngicos como tiopéptidos, péptido sintetasas no ribosomales y policétido sintasas.

Guyer *et al*. (2015) reportaron un patrón similar, al obtener una mayor inhibición del crecimiento micelial de diferentes especies de hongos fitopatógenos, incluido *F. oxysporum,* en ensayos de antagonismo directo con aislados bacterianos filósfericos y rizosféricos de papa (*Solanum tuberosum*), identificados como *Streptomyces* sp. S01, y *Bacillus* sp. R73 y R54, en comparación con los ensayos de antagonismo con VOCs bacterianos. Estos resultados también son consistentes con los reportados por Janakiev *et al*. (2019), quienes describen un mayor antagonismo entre *Pseudomonas synxantha* P4/16-1, aislado filosférico de ciruela (*Prunus domestica*) y el hongo fitopatógeno *Monilinia laxa*, agente responsable de la pudrición parda de la ciruela en ensayos de antagonismo directo que en los ensayos de antagonismo por volátiles.

En conjunto, estos resultados sugieren que las bacterias que inhiben el crecimiento micelial de fitopatógenos fúngicos a través de la emisión de compuestos difusibles, no poseen necesariamente VOCs con la misma actividad antifúngica. Sin embargo, los VOC bacterianos son compuestos promisorios en el control biológico de hongos fitopatógenos, particularmente los que ocurren en el suelo, debido a su amplia capacidad de difusión en este sustrato. Además, los ensayos de

antagonismo directo permiten exponer el patógeno a todos los metabolitos emitidos por las bacterias seleccionadas. En este sentido, se ha documentado que la acción sinérgica de compuestos difusibles y volátiles puede conllevar a una mayor inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium udum*, en comparación con la acción de un solo tipo de compuesto (Dukare y Paul, 2021). De igual forma, la competencia por espacio y nutrientes son parte del antagonismo directo observado, lo cual fue evidente por ejemplo en aquellos aislados bacterianos que colonizaron la placa Petri rápidamente, sin permitir el crecimiento del hongo (Wang *et al*., 2020).

La actividad antifúngica de VOCs bacterianos ha recibido mucha atención en la literatura científica reciente. La revisión bibliográfica elaborada por Nadarajah (2017) señala a los compuestos disulfuro de dimetilo, acetonas, cetonas, metilcetonas, aminas y amidas, como las principales moléculas inhibidoras del crecimiento micelial de *Fusarium* spp. Estos resultados concuerdan con lo documentado por Guevara-Avendaño *et al*. (2019), al reportar a las cetonas como el principal grupo químico presente en los perfiles de volátiles de diversas cepas de *Bacillus* spp., obtenidas de rizósfera de aguacate y capaces de inhibir el crecimiento de *F. solani* y *F. kuroshium.* Además, los autores informaron la presencia de compuestos pertenecientes a las familias pirazinas, alcoholes, furanonas, aminas, sulfuros e hidrocarburos. Dentro de estas cepas, se encuentran *Bacillus* sp. SO y *Bacillus* sp. HA, las cuales fueron evaluadas en nuestra investigación contra *F. solani* A11. Sugerimos implementar más evaluaciones con el aislado *Bacillus* sp. SO, puesto que mostró un alto porcentaje de inhibición (40.26%) contra *F. solani* A11 en los ensayos de antagonismo por volátiles. Además, este aislado invadió por completo la caja Petri antes de concluir los ensayos de antagonismo por compuestos difusibles, lo que refleja una alta tasa de crecimiento, y a su vez la capacidad de inhibir el crecimiento micelial de *F. solani* A11 a través de la competencia por nicho y/o nutrientes. En la búsqueda de ACB exitosos, aquellos que muestran diversos mecanismos de antagonismo se consideran candidatos ideales para la inhibición de diversos fitopatógenos fúngicos (Nusaibah y Musa, 2019).

En el caso de los VOCs emitidos por bacterias de la filósfera con actividad antifúngica, estudios previos han reportado la presencia de pirazinas, alcoholes, alquenos y aldehídos. Por ejemplo, Bruisson *et al*. (2019) señalaron que la trimetilpirazina, dihidrocalcona y L.-ácido dihidroxanturénico fueron los principales VOCs emitidos por *B. subtilis* CHP14, *B. cereus* CHP20 y *Frigoribacterium* sp. CHP33, aislados de hoja de uva, en el antagonismo contra *Botrytis cinerea* y el oomiceto *Phytophthora infestans.* Asimismo, Kumar *et al*. (2021) describen los compuestos 2-etil-hexanol, 1-hexadeceno, 2-hexil-decanol, heptanal, furano-diol y octanal, emitidos por *Chryseobacterium* spp., aislados filosféricos de arroz, como potenciales responsables del antagonismo contra *Magnaporthe oryzae*, fitopatógeno responsable del tizón del arroz. Considerando la relevancia de los VOCs para las interacciones microbianas a nivel de la filósfera, recomendamos realizar la caracterización química de los volátiles emitidos por los aislados filosféricos de aguacate para determinar con exactitud aquellos con actividad antifúngica.

En el presente estudio, cada hongo fitopatógeno tuvo un aislado bacteriano en particular que ocasionó el mayor porcentaje de inhibición, sobre todo en los ensayos de antagonismo directo. En este sentido, se ha documentado que la actividad antifúngica de aislados bacterianos varía en función de la especie de hongo fitopatógeno. Por ejemplo, Lyu *et al*. (2017) reportaron que los extractos crudos de *Streptomyces* sp. 3–10 evaluados contra 24 especies diferentes de microorganismos fitopatógenos, incluidas *F. graminearum, F. oxysporum* y *F. moniliforme*, ocasionaron porcentajes de inhibición variando del 1.5 hasta el 100%. De manera similar, Sharma y Manhas (2020), a través de un ensayo de difusión en pozos de agar, reportaron que el sobrenadante de *Streptomyces* sp. M4, aislado de suelo, ocasionó un antagonismo pronunciado contra *Alternaria brassicicola, Alternaria solani, F. oxysporum*, *Colletotrichum acutatum* y *Colletotrichum gloeosporioides*, pero una actividad de moderada a débil contra *F. moniliforme, Alternaria alternata, Cladosporium herbarum* y *Cercospora beticola*. Asimismo, Müller *et al*. (2018) describieron que la actividad antagónica de *Pseudomonas* spp.,

aislados de filósfera de trigo, en ensayos de antagonismo directo, fue mayor en los hongos fitopatógenos del género *Alternaria* que en los hongos del género *Fusarium.*

La inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium* sp. B1, *Fusarium* sp. BM-06 y *F. solani* A11, ocasionada por los aislados B11, B5 y B1, respectivamente, se debe probablemente a la acción específica de los compuestos emitidos por cada aislado bacteriano. Parámetros como la concentración de los compuestos antifúngicos, el tipo de compuesto y la susceptibilidad de los hongos a la exposición de ellos, podrían explicar los porcentajes de inhibición obtenidos. En relación a los ensayos con volátiles, el aislado bacteriano B8, correspondiente a una bacteria Gram +, con morfología bacilar, presentó los porcentajes de inhibición más altos contra *Fusarium* sp. BM-06 (37.13%) y *F. solani* A11 (45.45%) en comparación con los otros aislados bacterianos probados. Lo que sugiere que tanto *Fusarium* sp. BM-06 como *F. solani* A11, son susceptibles a los VOCs emitidos por el aislado bacteriano B8.

Nuestro estudio se incorpora a las investigaciones cuyos principales objetivos son la búsqueda de ACB contra *Fusarium* y la elucidación de los mecanismos de acción que rigen el antagonismo. Hacemos hincapié en la caracterización de los metabolitos involucrados en la interacción antagónica contra *Fusarium* a nivel *in vitro* y en la realización de prueba a nivel de invernadero y campo, para así corroborar la eficiencia de los ACB seleccionados. Aplicar un potencial ACB en invernadero y/o campo permite tomar en consideración factores como las interacciones intra e interespecíficas entre los microorganismos presentes, y la respuesta del posible ACB a las condiciones ambientales. Asimismo, se pueden evidenciar otros mecanismos de interés agrícola como la promoción del crecimiento vegetal, o la inducción del sistema de defensa de la planta.

## 9. CONCLUSIONES

- Las bacterias provenientes de filósfera de aguacate, se presentan como una alternativa viable para el control biológico de hongos fitopatógenos del género *Fusarium*, a nivel *in vitro*, por lo que corroboramos que la filósfera representa un potencial nicho de oportunidad para la búsqueda de ACB.

- Cuando las bacterias de filósfera y rizósfera de aguacate se probaron contra un mismo fitopatógeno, el hongo *Fusarium* sp. A11 proveniente de rizósfera, las bacterias de filósfera ocasionaron porcentajes de inhibición más altos.

- Se observaron mayores porcentajes de inhibición en los ensayos de antagonismo directo que en los ensayos mediante emisión de VOCs, lo cual sugiere la importancia de los compuestos difusibles y/o de la interacción entre compuestos difusibles y VOCs.

- Se sugiere llevar a cabo un análisis molecular para la identificación exacta de las cepas bacterianas de filósfera y un análisis químico de los compuestos difusibles y volátiles que participan en el antagonismo fúngico contra *Fusarium*.

- Los ACB bacterianos más promisorios contra *Fusarium* spp. deben ser probados a nivel de invernadero y campo para verificar su actividad antifúngica.

## 10. LITERATURA CITADA


Ab Rahman, S. F. S., Singh, E., Pieterse, C. M., y Schenk, P. M. (2018). Emerging microbial biocontrol strategies for plant pathogens. *Plant Science*, *267*, 102-111.

Anderson, P. K., Cunningham, A. A., Patel, N. G., Morales, F. J., Epstein, P. R., y Daszak, P. (2004). Emerging infectious diseases of plants: pathogen pollution, climate change and agrotechnology drivers. *Trends in Ecology y Evolution*, *19*(10), 535-544.

Andrews, J. H., y Harris, R. F. (2000). The ecology and biogeography of microorganisms on plant surfaces. *Annual Review of Phytopathology*, *38*(1), 145-180.

Aoki, T., O'Donnell, K., y Geiser, D. M. (2014). Systematics of key phytopathogenic *Fusarium* species: current status and future challenges. *Journal of General Plant Pathology*, *80*(3), 189-201.

Ascencio-Álvarez A., López-Benítez A., Borrego-Escalante F., Rodríguez-Herrera S. A., Flores-Olivas A., Jiménez-Díaz F., y Gámez-Vázquez A. J. (2008). Marchitez vascular del tomate: I. Presencia de razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder y Hansen en Culiacán, Sinaloa, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, *26*(2), 114-120.

Atamna-Ismaeel, N., Finkel, O., Glaser, F., Mering, C., Vorholt, J. A., Koblížek, M., ... y Béjà, O. (2012). Bacterial anoxygenic photosynthesis on plant leaf surfaces. *Environmental Microbiology Reports*, *4*(2), 209-216.

Báez-Vallejo N, Camarena-Pozos D. A., Monribot-Villanueva J. L., Ramírez-Vázquez M., Carrión-Villarnovo G. L., Guerrero-Analco J. A., Partida-Martínez L. P., y Reverchon F. (2020). Forest tree associated bacteria for potential biological control of *Fusarium solani* and of *Fusarium kuroshium*, causal agent of *Fusarium* dieback. *Microbiological Research*, *235*, 126440.

Basurto-Cadena M. L., Vázquez-Arista M., Garcia-Jiménez J., Salcedo-Hernández R., Bideshi D. K., y Barboza-Corona J. E. (2012). Isolation of a new Mexican strain of *Bacillus subtilis* with antifungal and antibacterial activities. *The Scientific World Journal*, 2012, 384978.

Bejarano-Bolívar A. A., Lamelas A., Aguirre von Wobeser E., Sánchez-Rangel D., Méndez-Bravo A., Eskalen A., y Reverchon F. (2021). Shifts in the structure of rhizosphere bacterial communities of avocado after *Fusarium* dieback. *Rhizosphere*, *18*, 100333.

Berg G., Eberl L., y Hartmann A. (2005). The rhizosphere as a reservoir for opportunistic human pathogenic bacteria. *Environmental Microbiology*, *7*, 1673-1685.

Bruisson, S., Zufferey, M., L'Haridon, F., Trutmann, E., Anand, A., Dutartre, A., ... y Weisskopf, L. (2019). Endophytes and epiphytes from the grapevine leaf microbiome as potential biocontrol agents against phytopathogens. *Frontiers in Microbiology*, *10*, 2726.

Bunbury-Blanchette A. L., y Walker A. K. (2019). *Trichoderma* species show biocontrol potential in dual culture and greenhouse bioassays against *Fusarium* basal rot of onion. *Biological Control*, *130*,127-135.

Cabrera R., García-López H., Aguirre-von-Wobeser E., Orozco-Avitia J. A., y Gutiérrez-Saldaña A. H. (2020). *Amycolatopsis* BX17: An actinobacterial strain isolated from soil of a traditional milpa agroecosystem with potential biocontrol against *Fusarium graminearum*. *Biological Control*, *147*, 104285.

Carranza, Y., Morales, L., Pedraza, M., Chávez, A., y Morales, K. (2015). Aislamiento, identificación y patogenicidad de hongos asociados a la tristeza del aguacatero en Michoacán, México. *Plagas y Enfermedades*, 189-192.

Cawoy H., Debois D., Franzil L., De Pauw E., Thonart P., y Ongena M. (2015). Lipopeptides as main ingredients for inhibition of fungal phytopathogens by *Bacillus subtilis/amyloliquefaciens*. *Microbial Biotechnology*, *8*(2), 281-295.

Cazorla F. M., Romero D., Pérez-Garcıa A., Lugtenberg B., Vicente A. D., y Bloemberg G. (2007) Isolation and characterization of antagonistic *Bacillus subtilis* strains from the avocado rhizoplane displaying biocontrol activity. *J Appl Microbiol*, *103*, 1950–1959.

Cazorla F. M., y Mercado-Blanco J. (2016). Biological control of tree and woody plant diseases: an impossible task? *BioControl*, *61*, 233-242.

Ceja-Torres, L., Teliz-Ortíz, D., Osada-Kawasoe, S., y Morales-García, J. (2000). Etiología, distribución e incidencia del cancro del aguacate *Persea americana* Mill en cuatro municipios del estado de Michoacán, México. *Revista Mexicana de Fitopatología, 18*(2), 79-86

Centro de Estudios para el Desarrollo Rural Sustentable y la Soberanía Alimentaria. (2019). El sector agropecuario en el PIB. (Segundo trimestre de 2019).

Cesa-Luna C., Baez A., Aguayo-Acosta A., Llano-Villarreal R. C., Juárez-González V. R., Gaytán P., Bustillos-Cristales M. D., Rivera-Urbalejo A., Muñoz-Rojas J., y Quintero-Hernández V. (2020). Growth inhibition of pathogenic microorganisms by *Pseudomonas protegens* EMM-1 and partial characterization of inhibitory substances. *PloS One*, *15*, e0240545.

Chaudhary, D., Kumar, R., Sihag, K., y Kumari, A. (2017). Phyllospheric microflora and its impact on plant growth: A review. *Agricultural Reviews*, *38*(1), 51-59.

Chen, Y., Wang, J., Yang, N., Wen, Z., Sun, X., Chai, Y., y Ma, Z. (2018). Wheat microbiome bacteria can reduce virulence of a plant pathogenic fungus by altering histone acetylation. *Nature Communications*, 9(1), 1-14.

Chenniappan C., Narayanasamy M., Daniel G. M., Ramaraj G. B., Ponnusamy P., Sekar J., y Ramalingam P. V. (2019). Biocontrol efficiency of native plant growth promoting rhizobacteria against rhizome rot disease of turmeric. *Biological Control*, *129,* 55-64.

Chin-A-Woeng, T. F., Bloemberg, G. V., y Lugtenberg, B. J. (2003). Phenazines and their role in biocontrol by *Pseudomonas* bacteria. *New Phytologist*, *157*(3), 503-523.

Chowdhury, S. K., Majumdar, S., y Mandal, V. (2020a). Biocontrol potential and growth promotion capability of *Bacillus* sp. LBF-1 for management of wilt disease of *Solanum lycopersicum* caused by *Fusarium* sp. *Russian Agricultural Sciences*, *46*, 139-147.

Chowdhury, S. K., Majumdar, S., y Mandal, V. (2020b). Application of *Bacillus* sp. LBF-01 in *Capsicum annuum* plant reduces the fungicide use against *Fusarium oxysporum*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *27*, 101714.

Ciancio A., Pieterse C. M., y Mercado-Blanco J. (2016). Harnessing useful rhizosphere microorganisms for pathogen and pest biocontrol. *Frontiers in Microbiology*, *7*, 1620.

Cob-Calan N. N., Chi-Uluac L. A., Ortiz-Chi F., Cerqueda-García D., Navarrete-Vázquez G., Ruiz-Sánchez E., y Hernández-Núñez E. (2019). Molecular docking and dynamics simulation of protein β-tubulin and antifungal cyclic lipopeptides. *Molecules*, *24*, 3387.

Contreras-Cornejo H. A., Macías-Rodríguez L., Del-Val E. K., y Larsen J. (2016). Ecological functions of *Trichoderma* spp. and their secondary metabolites in the rhizosphere: interactions with plants. *FEMS Microbiology Ecology*, *92*, fiw036.

Córdova-Albores, L. C., Zelaya-Molina, L. X., Ávila-Alistac, N., Valenzuela-Ruíz, V., Cortés-Martínez, N. E., Parra-Cota, F. I., ... y Santos-Villalobos, S. D. L. (2021). Potencial de las ciencias ómicas en la bioprospección de agentes microbianos de control biológico: el caso de la agro-biotecnología mexicana. *Revista Mexicana de Fitopatología*, *39*(1), 147-184.

Corpe, W. A., y Rheem, S. (1989). Ecology of the methylotrophic bacteria on living leaf surfaces. *FEMS Microbiology Ecology*, *5*(4), 243-249.

Corrêa, J. A. F., Orso, P. B., Bordin, K., Hara, R. V., y Luciano, F. B. (2018). Toxicological effects of fumonisin B1 in combination with other *Fusarium* toxins. *Food and Chemical Toxicology*, *121*, 483-494.

Culebro-Ricaldi J. M., Ruiz-Valdiviezo V. M., Rodríguez-Mendiola M. A., Ávila-Miranda M. E., Miceli F. G., Cruz-Rodríguez R. I., Dendooven L., y Montes-Molina J. A. (2017). Antifungal properties of *Beauveria bassiana* strains against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 3 in tomato crop. *Journal of Environmental Biology*, *38*(5), 821-827.

Cutuli, M. T., Gibello, A., Rodriguez-Bertos, A., Blanco, M. M., Villarroel, M., Giraldo, A., y Guarro, J. (2015). Skin and subcutaneous mycoses in tilapia (*Oreochromis niloticus*) caused by *Fusarium oxysporum* in coinfection with *Aeromonas hydrophila*. *Medical Mycology Case Reports*, *9*, 7-11.

Dang H., y Lovell C., R. (2015). Microbial surface colonization and biofilm development in marine environments. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, *80*, 91-138.

Das M. M., Haridas M, y Sabu A. (2019). Biological control of black pepper and ginger pathogens, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* and *Phytophthora capsici*, using *Trichoderma* spp. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *17*,177-183.

Dastogeer, K. M., Tumpa, F. H., Sultana, A., Akter, M. A., y Chakraborty, A. (2020). Plant microbiome–an account of the factors that shape community composition and diversity. *Current Plant Biology*, *23*, 100161.

Delgado-Ramírez C. S., Hernández-Martínez R., y Sepúlveda E. (2021). Rhizobacteria associated with a native Solanaceae promote plant growth and decrease the effects of *Fusarium oxysporum* in tomato. *Agronomy*, *11*, 579.

Delmotte, N., Knief, C., Chaffron, S., Innerebner, G., Roschitzki, B., Schlapbach, R., ... y Vorholt, J. A. (2009). Community proteogenomics reveals insights into the physiology of phyllosphere bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *106*(38), 16428-16433.

Díaz-Gutiérrez C., Arroyave C., Llugany M., Poschenrieder C., Martos S., y Peláez C. (2021). *Trichoderma asperellum* as a preventive and curative agent to control *Fusarium* wilt in *Stevia rebaudiana*. *Biological Control*, *155*, 104537.

Dukare, A., y Paul, S. (2021). Biological control of *Fusarium* wilt and growth promotion in pigeon pea (*Cajanus cajan*) by antagonistic rhizobacteria, displaying multiple modes of pathogen inhibition. Rhizosphere, *17*, 100278.

El-Hassan S. A., y Gowen S. R. (2006). Formulation and delivery of the bacterial antagonist *Bacillus subtilis* for management of lentil vascular wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis*. *Journal of Phytopathology*, *154*, 148-155.

Eskalen, A., Gonzalez, A., Wang, D., Twizeyimana, M., Mayorquin, J., y Lynch, S. (2012) First report of a *Fusarium* sp. and its vector Tea Shot Hole Borer (*Euwallacea fornicatus*) causing *Fusarium* dieback on avocado in California. *Plant Dis*, *96,* 1070.

Eskalen A., Stouthamer R., Lynch S. C., Rugman-Jones P. F., Twizeyimana M., Gonzalez A., Thibault T. (2013) Host range of *Fusarium* dieback and its ambrosia beetle (Coleoptera: Scolytinae) vector in southern California. *Plant Dis*, *97*, 938–951.

FAO. (2019). Análisis del mercado de las principales frutas tropicales de 2019. Rome.

Figueroa-López, A. M., Cordero-Ramírez, J. D., Martínez-Álvarez, J. C., López-Meyer, M., Lizárraga-Sánchez, G. J., Félix-Gastélum, R., Castro-Martínez, C., y Maldonado-Mendoza, I. E. (2016). Rhizospheric bacteria of maize with potential for biocontrol of *Fusarium verticillioides*. *SpringerPlus*, *5*(1), 330.

Fukami J., Cerezini P., y Hungria M. (2018). *Azospirillum*: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation. *AMB Express*, *8*(1)*,* 73.

Fürnkranz, M., Wanek, W., Richter, A., Abell, G., Rasche, F., y Sessitsch, A. (2008). Nitrogen fixation by phyllosphere bacteria associated with higher plants and their colonizing epiphytes of a tropical lowland rainforest of Costa Rica. T*he ISME Journal*, *2*(5), 561-570.

García, O., Perea, S., Rodríguez, A. y Silverio, F. (2017). Enfermedades el aguacate causadas por especies de hongos de la familia Botryosphaeriaceae. Dirección general de agricultura. *Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Aguas, Gobierno de las Canarias*, 3-13.

García-Ortiz V., Hernández-Soberano C., Martínez-Pacheco M., y Ambriz-Parra E. (2020). Protective effect on wood by metabolic extracts from plant growth-promoting rhizobacteria against decay fungi. *Revista Argentina de Microbiología*, *52*(2), 164-165.

Gelderblom, W. C., Jaskiewicz, K., Marasas, W. F., Thiel, P. G., Horak, R. M., Vleggaar, R., y Kriek, N. (1988). Fumonisins--novel mycotoxins with cancer-promoting activity produced by *Fusarium moniliforme*. *Applied and Environmental Microbiology*, *54*(7), 1806-1811.

González-Franco A. C., Robles-Hernández L., y Strap J. L. (2017). Chitinase, chitosanase, and antifungal activities from thermophilic streptomycetes isolated from compost. *Phyton*, *86*,14-27.

Gotor-Vila, A., Teixidó, N., Di Francesco, A., Usall, J., Ugolini, L., Torres, R., y Mari, M., (2017). Antifungal effect of volatile organic compounds produced by *Bacillus amyloliquefaciens* CPA-8 against fruit pathogen decays of cherry. *Food Microbiol*, *64*, 219–225.

Guevara-Avendaño E., Carrillo J. D., Ndinga-Muniania C., Moreno K., Méndez-Bravo A., Guerrero-Analco J. A., Eskalen A., y Reverchon F. (2018). Antifungal activity of avocado rhizobacteria against *Fusarium euwallaceae* and *Graphium* spp., associated with *Euwallacea* spp. nr. *fornicatus*, and *Phytophthora cinnamomi*. *Antonie van Leeuwenhoek*, *111*(4), 563-572.

Guevara-Avendaño E., Bejarano-Bolívar A. A., Kiel-Martínez A. L., Ramírez-Vázquez M., Méndez-Bravo A., von Wobeser E. A., Sánchez-Rangel D., Guerrero-Analco J. A., Eskalen A., y Reverchon, F. (2019). Avocado rhizobacteria emit volatile organic compounds with antifungal activity against *Fusarium solani*, *Fusarium* sp. associated with Kuroshio shot hole borer, and *C. gloeosporioides*. *Microbiological Research*, *219*, 74-83.

Guevara-Avendaño E., Bravo-Castillo K. R., Monribot-Villanueva J. L., Kiel-Martínez A. L., Ramírez-Vázquez M., Guerrero-Analco J. A., y Reverchon F. (2020). Diffusible and volatile organic compounds produced by avocado rhizobacteria exhibit antifungal effects against *Fusarium kuroshium*. *Brazilian Journal of Microbiology*, *51*, 861-873.

Guo Q., Dong W., Li S., Lu X., Wang P., Zhang X., Wang Y., y Ma P. (2014). Fengycin produced by *Bacillus subtilis* NCD-2 plays a major role in biocontrol of cotton seedling damping-off disease. *Microbiological Research*, *169*, 533-540.

Gutiérrez-Ruacho, O., Coronado, M. L., Sánchez-Teyer, F., Sánchez, A., Gutiérrez, A., y Esqueda, M. (2018). Abundance of rhizospheric bacteria and fungi associated with *Fouquieria columnaris* at Punta Cirio, Sonora, Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, *89*(2), 541-552.

Gutiérrez-Santa Ana A., Carrillo-Cerda H. A., Rodríguez-Campos J., Kirchmayr M. R., Contreras-Ramos S. M., y Velázquez-Fernández J. B. (2020a). Volatile emission compounds from plant growth-promoting bacteria are responsible for the antifungal activity against *F. solani*. *3 Biotech*, *10*, 292.

Gutiérrez-Santa Ana A., Carrillo-Cerda H. A., Rodríguez-Campos J., Velázquez-Fernández J. B., Patrón-Soberano O. A., y Contreras-Ramos S. M. (2020b). Dynamics of volatilomes emitted during cross-talking of plant-growth-promoting bacteria and the phytopathogen, *Fusarium solani*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *36*, 152.

Guyer, A., De Vrieze, M., Bönisch, D., Gloor, R., Musa, T., Bodenhausen, N., ... y Weisskopf, L. (2015). The anti-phytophthora effect of selected potato-associated *Pseudomonas* strains: from the laboratory to the field. *Frontiers in Microbiology*, *6*, 1309.

Hernández-Hernández, L., Coutino-Megchun, J. T., Rincon-Molina, C. I., Ruiz-Valdiviezo, V. M., Culebro-Ricaldi, J. M., Cruz-Rodriguez, R. I., ... y Rincon-Rosales, R. (2018). Endophytic bacteria from root nodules of Ormosia macrocalyx with potential as plant growth promoters and antifungal activity. *Journal of Environmental Biology*, *39*(6), 997-1005.

Hernández-Morales A., Martínez-Peniche R. A., Arvizu-Gómez J. L., Arvizu-Medrano S. M., Rodríguez-Ontiveros A., Ramos-López M. A., y Pacheco-Aguilar J. R. (2018). Production of a mixture of fengycins with surfactant and antifungal activities by *Bacillus* sp. MA04, a versatile PGPR. *Indian Journal of Microbiology*, *58*, 208-213.

Hernández-Ochoa J. S., Levin L. N., Hernández-Luna C. E., Contreras-Cordero J. F., Niño-Medina G., Chávez-Montes A., López-Sandin I., y Gutiérrez-Soto G. (2020). Antagonistic potential of *Macrolepiota* sp. against *Alternaria solani* as causal agent of early blight disease in tomato plants. *Gesunde Pflanzen*, *72*, 69-76.

Hernández-Salmerón J. E., Prieto-Barajas C. M., Valencia-Cantero E., Moreno-Hagelsieb G., y Santoyo G. (2014). Isolation and characterization of genetic variability in

bacteria with β-hemolytic and antifungal activity isolated from the rhizosphere of *Medicago truncatula* plants. *Genetics and Molecular Research*, *13*, 4967-4975.

Herrera-Quiterio A., Toledo-Hernández E., Aguirre-Noyola J. L., Romero Y., Ramos J., Palemón-Alberto F., y Toribio-Jiménez J. (2020). Antagonic and plant growth-promoting effects of bacteria isolated from mine tailings at El Fraile, Mexico. *Revista Argentina de Microbiología*, *52*, 231-239.

Herrera-Téllez V. I., Cruz-Olmedo A. K., Plasencia J., Gavilanes-Ruíz M., Arce-Cervantes O., Hernández-León S., y Saucedo-García M. (2019). The protective effect of *Trichoderma asperellum* on tomato plants against *Fusarium oxysporum* and *Botrytis cinerea* diseases involves inhibition of reactive oxygen species production. *International Journal of Molecular Sciences*, *20*(8), 2007.

Hung R., Lee S., y Bennett J. W. (2015). Fungal volatile organic compounds and their role in ecosystems. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *99*, 3395-3405.

Janakiev, T., Dimkić, I., Unković, N., Ljaljević Grbić, M., Opsenica, D., Gašić, U., ... y Berić, T. (2019). Phyllosphere fungal communities of plum and antifungal activity of indigenous phenazine-producing *Pseudomonas synxantha* against *Monilinia laxa*. *Frontiers in Microbiology*, *10*, 2287.

Jangir, M., Pathak, R., Sharma, S., y Sharma, S. (2018). Biocontrol mechanisms of *Bacillus* sp., isolated from tomato rhizosphere, against *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici. *Biological Control*, *123*, 60-70.

Jiang L., Jeong J. C., Lee J. S., Park J. M., Yang J. W., Lee M. H., Choi S. H., Kim C. Y., Kim D. H., Kim S. W., y Lee J. (2019). Potential of *Pantoea dispersa* as an effective biocontrol agent for black rot in sweet potato. *Scientific Reports*, 9, 16354.

Khan, N., Martínez-Hidalgo, P., Ice, T. A., Maymon, M., Humm, E. A., Nejat, N., ... y Hirsch, A. M. (2018). Antifungal activity of *Bacillus* species against *Fusarium* and analysis of the potential mechanisms used in biocontrol. *Frontiers in Microbiology*, *9*, 2363.

Knief, C., Delmotte, N., Chaffron, S., Stark, M., Innerebner, G., Wassmann, R., ... y Vorholt, J. A. (2012). Metaproteogenomic analysis of microbial communities in the phyllosphere and rhizosphere of rice. *The ISME Journal*, *6*(7), 1378-1390.

Kommedahl, T., Abbas, H. K., Burnes, P. M., y Mirocha, C. J. (1988). Prevalence and toxigenicity of *Fusarium* species from soils of Norway near the Arctic Circle. *Mycologia*, *80*(6), 790-794.

Kruijt, M., Tran, H., y Raaijmakers, J. M. (2009). Functional, genetic and chemical characterization of biosurfactants produced by plant growth-promoting *Pseudomonas putida* 267. *Journal of applied microbiology*, *107*(2), 546-556.

Kumar, M., Charishma, K., Sahu, K. P., Sheoran, N., Patel, A., Kundu, A., y Kumar, A. (2021). Rice leaf associated *Chryseobacterium* species: An untapped antagonistic flavobacterium displays volatile mediated suppression of rice blast disease. *Biological Control*, *161*, 104703.

Laurence, M. H., Walsh, J. L., Shuttleworth, L. A., Robinson, D. M., Johansen, R. M., Petrovic, T., ... y Liew, E. C. Y. (2016). Six novel species of *Fusarium* from natural ecosystems in Australia. *Fungal Diversity*, *77*(1), 349-366.

Lawrence, D., Peduto, F., Gulber, W. y Trouillas, F. (2017). Botryosphaeriaceae species associated with dieback of bay laurel in northern California with the description of *Dothiorella californica* sp. nov. *Fungal Biology*, *121*, 347-360.

Legein, M., Smets, W., Vandenheuvel, D., Eilers, T., Muyshondt, B., Prinsen, E., ... y Lebeer, S. (2020). Modes of action of microbial biocontrol in the phyllosphere. Frontiers in Microbiology, 11, 1619.

Legrand, F., Picot, A., Cobo-Díaz, J. F., Chen, W., y Le Floch, G. (2017). Challenges facing the biological control strategies for the management of *Fusarium* Head Blight of cereals caused by *F. graminearum*. *Biological Control*, *113*, 26-38.

Leslie, J. F., y Summerell, B. A. (2006). The Fusarium Laboratory Manual. Blackwell Publishing. Ames, Iowa.

Lindow, S. E., y Brandl, M. T. (2003). Microbiology of the phyllosphere. *Applied and environmental microbiology*, *69*(4), 1875-1883.

Lizárraga-Sánchez G. J., Leyva-Madrigal K. Y., Sánchez-Peña P., Quiroz-Figueroa F. R., y Maldonado-Mendoza I. E. (2015). *Bacillus cereus sensu lato* strain B25 controls maize stalk and ear rot in Sinaloa, Mexico. *Field Crops Research*, *176*, 11-21.

López-Reyes L., Carcaño-Montiel M. G., Tapia-López L., Medina-de la Rosa G., y Tapia-Hernández R. A. (2017). Antifungal and growth-promoting activity of *Azospirillum brasilense* in *Zea mays* L. ssp. *mexicana*. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, *50*, 727-743.

Lyu, A., Liu, H., Che, H., Yang, L., Zhang, J., Wu, M., ... y Li, G. (2017). Reveromycins A and B from *Streptomyces* sp. 3–10: antifungal activity against plant pathogenic fungi *in vitro* and in a strawberry food model system. *Frontiers in Microbiology*, *8*, 550.

Ma, L. J., Geiser, D. M., Proctor, R. H., Rooney, A. P., O'Donnell, K., Trail, F., ... y Kazan, K. (2013). *Fusarium* pathogenomics. *Annual Review of Microbiology*, *67*, 399-416.

Malfanova N., Franzil L., Lugtenberg B., Chebotar V., y Ongena M. (2012). Cyclic lipopeptide profile of the plant-beneficial endophytic bacterium *Bacillus subtilis* HC8. *Archives of Microbiology*, *194*, 893-899.

Marín Guiot, M. (2019). Evaluación de la actividad antifúngica de bacterias asociadas a la corteza de *Persea americana* contra hongos del género *Fusarium*. [Tesis de licenciatura no publicada]. Universidad Veracruzana.

Mariscal-Amaro, L. A., Rivera-Yerena, A., Dávalos-González, P. A., y Ávila-Martínez, D. (2017). Situación actual de hongos asociados a la secadera de la fresa (*Fragaria*× *ananassa* duch.) en Guanajuato, México. *Agrociencia*, *51*(6), 673-681.

Martínez-Álvarez J. C., Castro-Martínez C., Sánchez-Peña P., Gutiérrez-Dorado R., y Maldonado-Mendoza I. E. (2016). Development of a powder formulation based on *Bacillus cereus sensu lato* strain B25 spores for biological control of *Fusarium verticillioides* in maize plants. *World Journal of Microbiology and Biotechnology, 32*, 75.

Martínez-Raudales, I., De La Cruz-Rodríguez, Y., Alvarado-Gutiérrez, A., Vega-Arreguín, J., Fraire-Mayorga, A., Alvarado-Rodríguez, M., Balderas-Hernández, V., y Fraire-Velázquez, S. (2017). Draft genome sequence of *Bacillus velezensis* 2A-2B strain: a rhizospheric inhabitant of *Sporobolus airoides* (Torr.) Torr., with antifungal activity against root rot causing phytopathogens. *Standards in Genomic Sciences*, *12*(1), 73

McDonald, V., Lynch, S. y Eskalen, A. (2009). First report of *Neofusicoccum australe*, *N. luteum* and *N. parvum* associated with avocado branch canker in California. *The American Phytopathological Society*. *93*(9) p: 967

Medina-de la Rosa G., López-Reyes L., Carcaño-Montiel M. G., López-Olguín J. F., Hernández-Espinosa M. Á., y Rivera-Tapia J. A. (2016). Rhizosphere bacteria of maize with chitinolytic activity and its potential in the control of phytopathogenic fungi. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, *49*, 310-321.

Medina-Romero, Y. M., Roque-Flores, G., y Macías-Rubalcava, M. L. (2017). Volatile organic compounds from endophytic fungi as innovative postharvest control of *Fusarium oxysporum* in cherry tomato fruits. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *101*(22), 8209-8222.

Méndez-Bravo A., Cortazar-Murillo E. M., Guevara-Avendaño E., Ceballos-Luna O., Rodríguez-Haas B., Kiel-Martínez A. L., Hernández-Cristóbal O., Guerrero-Analco J. A., y Reverchon F. (2018). Plant growth-promoting rhizobacteria associated with avocado display antagonistic activity against *Phytophthora cinnamomi* through volatile emissions. *PLoS ONE, 13*(3), e0194665

Méndez-Santiago E. W., Gómez-Rodríguez O., Sánchez-Cruz R., Folch-Mallol J. L., Hernández-Velázquez V. M., Villar-Luna E., Aguilar-Marcelino L. y Wong-Villarreal A. (2021). *Serratia* sp., an endophyte of *Mimosa pudica* nodules with nematicidal, antifungal activity and growth-promoting characteristics. *Archives of Microbiology*, *203*, 549-59.

Metzler, M., Pfeiffer, E., y Hildebrand, A. (2010). Zearalenone and its metabolites as endocrine disrupting chemicals. *World Mycotoxin Journal*, *3*(4), 385-401.

Mnif, I., Hammami, I., Triki, M. A., Azabou, M. C., Ellouze-Chaabouni, S., y Ghribi, D. (2015). Antifungal efficiency of a lipopeptide biosurfactant derived from *Bacillus subtilis* SPB1 versus the phytopathogenic fungus, *Fusarium solani*. *Environmental Science and Pollution Research*, *22*(22), 18137-18147.

Möller, M., y Stukenbrock, E. H. (2017). Evolution and genome architecture in fungal plant pathogens. *Nature Reviews Microbiology*, 15(12), 756-771.

Morales de la Vega L., Barboza-Corona J. E., Aguilar-Uscanga M. G., y Ramírez-Lepe M. (2006). Purification and characterization of an exochitinase from *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* and its action against phytopathogenic fungi. *Canadian Journal of Microbiology*, *52*, 651-657.

Morales-Cedeño, L. R., de Los Santos-Villalobos, S., y Santoyo, G. (2021). Functional and genomic analysis of *Rouxiella badensis* SER3 as a novel biocontrol agent of fungal pathogens. *Frontiers in Microbiology*, *12*, 2184.

Morales-Ruiz E., Priego-Rivera R., Figueroa-López A. M., Cazares-Álvarez J.E, y Maldonado-Mendoza I. E. (2021) Biochemical characterization of two chitinases from *Bacillus cereus sensu lato* B25 with antifungal activity against *Fusarium verticillioides* P03. *FEMS Microbiology Letters*, *368*, fnaa218.

Müller, T., Ruppel, S., Behrendt, U., Lentzsch, P., y Müller, M. E. (2018). Antagonistic potential of fluorescent *Pseudomonads* colonizing wheat heads against mycotoxin producing *Alternaria* and *Fusarium*. *Frontiers in Microbiology*, *9*, 2124.

Munkvold G. P. (2017) Fusarium Species and Their Associated Mycotoxins. In: Moretti A., Susca A. (eds) Mycotoxigenic Fungi. Methods in Molecular Biology, vol 1542. Humana Press, New York, NY.

Nadarajah, K. K. (2017). Microbial volatiles and plant Defense. In Volatiles and Food Security (pp. 355-373). Springer, Singapore.

Nelson, P. E., Dignani, M. C., y Anaissie, E. J. (1994). Taxonomy, biology, and clinical aspects of *Fusarium* species. *Clinical Microbiology Reviews*, *7*(4), 479-504.

Nusaibah, S. A., y Musa, H. A. (2019). Review report on the mechanism of *Trichoderma* spp. as biological control agent of the Basal Stem Rot (BSR) disease of *Elaeis guineensis*. *Trichoderma*-The Most Widely Used Fungicide, 79.

O'Donnell, K., Libeskind-Hadas, R., Hulcr, J., Bateman, C., Kasson, M. T., Ploetz, R. C., ... y Rooney, A. P. (2016). Invasive Asian *Fusarium*–Euwallacea ambrosia beetle mutualists pose a serious threat to forests, urban landscapes and the avocado industry. *Phytoparasitica*, *44*(4), 435-442.

Ongena, M., y Jacques, P. (2008). *Bacillus* lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol. Trends in Microbiology, *16*(3), 115-125.

Orozco-Mosqueda, M., Valencia-Cantero, E., López-Albarrán, P., Martínez-Pacheco, M., y Velázquez-Becerra, C. (2015). La bacteria *Arthrobacter agilis* UMCV2 y diversas aminas inhiben el crecimiento *in vitro* de hongos destructores de madera. *Revista argentina de microbiología*, *47*(3), 219-228.

Ortega-Morales, B. O., Ortega-Morales, F. N., Lara-Reyna, J., De la Rosa-García, S. C., Martínez-Hernández, A., y Montero-m, J. (2009). Antagonism of *Bacillus* spp. isolated from marine biofilms against terrestrial phytopathogenic fungi. *Marine biotechnology*, *11*(3), 375-383.

Ownley, B. H., Griffin, M. R., Klingeman, W. E., Gwinn, K. D., Moulton, J. K., y Pereira, R. M. (2008). *Beauveria bassiana*: endophytic colonization and plant disease control. *Journal of invertebrate pathology*, *98*(3), 267-270.

Palmero, D., Iglesias, C., De Cara, M., Lomas, T., Santos, M., y Tello, J. C. (2009). Species of *Fusarium* isolated from river and sea water of southeastern Spain and pathogenicity on four plant species. *Plant disease*, *93*(4), 377-385.

Pandey, A., Trivedi, P., Kumar, B., y Palni, L. M. S. (2006). Characterization of a phosphate solubilizing and antagonistic strain of *Pseudomonas putida* (B0) isolated from a sub-alpine location in the Indian Central Himalaya. *Current microbiology*, *53*(2), 102-107.

Peraica, M., Radić, B., Lucić, A., y Pavlović, M. (1999). Toxic effects of mycotoxins in humans. *Bulletin of the World Health Organization*, *77*(9), 754.

Perincherry, L., Lalak-Kańczugowska, J., y Stępień, Ł. (2019). *Fusarium*-produced mycotoxins in plant-pathogen interactions. *Toxins*, *11*(11), 664.

Philippot, L., Raaijmakers, J. M., Lemanceau, P., y Van Der Putten, W. H. (2013). Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere. *Nature Reviews Microbiology*, *11*(11), 789-799.

Pineda-Suazo, D., Montero-Vargas, J. M., Ordaz-Ortiz, J. J., y Vázquez-Marrufo, G. (2021). Growth Inhibition of Phytopathogenic Fungi and Oomycetes by Basidiomycete *Irpex lacteus* and Identification of its Antimicrobial Extracellular Metabolites. *Polish Journal of Microbiology*, *70*(1), 131.

Quintana-Rodriguez, E., Rivera-Macias, L. E., Adame-Alvarez, R. M., Torres, J. M., y Heil, M. (2018). Shared weapons in fungus-fungus and fungus-plant interactions? Volatile organic compounds of plant or fungal origin exert direct antifungal activity *in vitro*. *Fungal Ecology, 33*, 115-121.

Raaijmakers, J. M., Leeman, M., Van Oorschot, M. M., Van der Sluis, I., Schippers, B., y Bakker, P. A. H. M. (1995). Dose-response relationships in biological control of *Fusarium* wilt of radish by *Pseudomonas* spp. *Phytopathology*, *85*(10), 1075-1080.

Raaijmakers, J. M., De Bruijn, I., Nybroe, O., y Ongena, M. (2010). Natural functions of lipopeptides from *Bacillus* and *Pseudomonas*: more than surfactants and antibiotics. *FEMS microbiology reviews*, *34*(6), 1037-1062.

Ramírez-Cariño, H. F., Guadarrama-Mendoza, P. C., Sánchez-López, V., Cuervo-Parra, J. A., Ramírez-Reyes, T., Dunlap, C. A., y Valadez-Blanco, R. (2020). Biocontrol of *Alternaria alternata* and *Fusarium oxysporum* by *Trichoderma asperelloides* and *Bacillus paralicheniformis* in tomato plants. *Antonie van Leeuwenhoek, 113*(9), 1247-1261.

Rastogi, G., Sbodio, A., Tech, J. J., Suslow, T. V., Coaker, G. L., y Leveau, J. H. (2012). Leaf microbiota in an agroecosystem: spatiotemporal variation in bacterial community composition on field-grown lettuce. *The ISME Journal, 6*(10), 1812-1822.

Reverchon, F., García-Quiroz, W., Guevara-Avendaño, E., Solís-García, I. A., Ferrera-Rodríguez, O., y Lorea-Hernández, F. (2019). Antifungal potential of Lauraceae rhizobacteria from a tropical montane cloud forest against Fusarium spp. *Brazilian Journal of Microbiology*, *50*(3), 583-592.

Reverchon F., Escudero-Osorio Y. S., Morteo-Zavaleta J., Guevara-Avendaño E., y Ramírez-Vázquez M. (2020). Inhibición de *Fusarium solani* por bacterias de la filósfera y rizósfera de árboles del bosque mesófilo de montaña. *Biotecnología y Sustentabilidad*, *5*(1): 3-18

Reverchon, F., y Méndez-Bravo, A. (2021). Plant-Mediated Above-Belowground Interactions: A Phytobiome Story. In *Plant-Animal Interactions* (pp. 205-231). Springer, Cham.

Reyes-Estebanez, M., Sanmartin, P., Camacho-Chab, J. C., Susana, C., Chan-Bacab, M. J., Águila-Ramírez, R. N., ... y Ortega-Morales, B. O. (2020). Characterization of a native *Bacillus velezensis*-like strain for the potential biocontrol of tropical fruit pathogens. *Biological Control, 141*, 104127.

Reyes-Ramírez, A., Escudero-Abarca, B. I., Aguilar-Uscanga, G., Hayward-Jones, P. M., y Barboza-Corona, J. E. (2004). Antifungal activity of *Bacillus thuringiensis* chitinase and its potential for the biocontrol of phytopathogenic fungi in soybean seeds. *Journal of Food Science*, *69*(5), M131-M134.

Robles-Hernández, L., Hernández-Huerta, J., González-Franco, A. C., Hernández-Rodríguez, O. A., Núñez-Barrios, A., y Pérez-Leal, R. (2015). *Streptomyces* PRIO41 como promotor de crecimiento en plantas de chile jalapeño y agente de control biológico de *Fusarium*. *Phyton*, *84*(2), 253-261

Rodríguez-Campos, J., Escobedo-Reyes, A., y Lugo-Melchor, O. (2017). Inocuidad en Aguacate. En *Inocuidad y trazabilidad en los Alimentos Mexicanos* (pp. 165-186). Guadalajara: CIATEJ.

Rogowska, A., Pomastowski, P., Sagandykova, G., y Buszewski, B. (2019). Zearalenone and its metabolites: Effect on human health, metabolism and neutralisation methods. *Toxicon*, *162*, 46-56.

Rojas-Solis, D., Vences-Guzmán, M. A., Sohlenkamp, C., y Santoyo, G. (2020). *Bacillus toyonensis* COPE52 modifies lipid and fatty acid composition, exhibits antifungal activity, and stimulates growth of tomato plants under saline conditions. *Current Microbiology*, *77*, 2735-2744.

Rojas-Solis, D., Vences-Guzmán, M. Á., Sohlenkamp, C., y Santoyo, G. (2020). Antifungal and plant growth–promoting bacillus under saline stress modify their membrane composition. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 20*(3), 1549-1559.

Sagredo-Beltrán, J., De La Cruz-Rodríguez, Y., Alvarado-Rodríguez, M., Vega-Arreguín, J., Rodríguez-Guerra, R., Alvarado-Gutiérrez, A., y Fraire-Velázquez, S. (2018). Genome sequence of *Bacillus halotolerans* strain MS50-18A with antifungal activity against phytopathogens, isolated from saline soil in San Luís Potosí, Mexico. *Genome Announcements*, 6(10), e00135-18.

Salazar, F., Ortiz, A., y Sansinenea, E. (2020). A strong antifungal activity of 7-O-succinyl macrolactin A vs Macrolactin A from *Bacillus amyloliquefaciens* ELI149. *Current Microbiology*, *77*(11), 3409-3413.

Sánchez-Fernández, R. E., Sánchez-Fuentes, R., Rangel-Sánchez, H., Hernández-Ortega, S., López-Cortés, J. G., y Macías-Rubalcava, M. L. (2020). Antifungal and antioomycete activities and modes of action of isobenzofuranones isolated from the endophytic fungus *Hypoxylon anthochroum* strain Gseg1. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, *169*, 104670.

Sánchez-Ortiz, B. L., Sánchez-Fernández, R. E., Duarte, G., Lappe-Oliveras, P., y Macías-Rubalcava, M. L. (2016). Antifungal, anti-oomycete and phytotoxic effects of volatile organic compounds from the endophytic fungus *Xylaria* sp. strain PB 3f3 isolated from *Haematoxylon brasiletto*. *Journal of applied microbiology*, *120*(5), 1313-1325.

Sansinenea, E., Almaraz, M., Ramírez, M. D., y Ortiz, A. (2016). Cellular damage of plant pathogenic fungi by antifungal compounds produced by *Bacillus* spp. isolates. *Chemistry and Ecology*, *32*(8), 722-732.

Santoyo, G., Orozco-Mosqueda, M. D. C., y Govindappa, M. (2012). Mechanisms of biocontrol and plant growth-promoting activity in soil bacterial species of *Bacillus* and *Pseudomonas*: a review. *Biocontrol Science and Technology*, *22*(8), 855-872.

Sarma, B. K., Yadav, S. K., Singh, S., y Singh, H. B. (2015). Microbial consortium-mediated plant defense against phytopathogens: readdressing for enhancing efficacy. *Soil Biology and Biochemistry*, *87*, 25-33.

Sato, I., Yoshida, S., Iwamoto, Y., Aino, M., Hyakumachi, M., Shimizu, M., ... y Tsushima, S. (2014). Suppressive potential of *Paenibacillus* strains isolated from the tomato phyllosphere against *Fusarium* crown and root rot of tomato. Microbes and Environments, ME13172.

Schulz-Bohm, K., Martín-Sánchez, L., y Garbeva, P. (2017). Microbial volatiles: small molecules with an important role in intra-and inter-kingdom interactions. *Frontiers in microbiology*, *8*, 2484.

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), (2016).

Shantharaj, D., Williams, M. A., Potnis, N. S., y Liles, M. R. (2021). *Burkholderia gladioli* C101 metabolites protect tomato plants against *Xanthomonas perforans* infection. *Journal of Plant Diseases and Protection*, *128*(2), 379-390.

Sharma, M., y Manhas, R. K. (2020). Purification and characterization of salvianolic acid B from *Streptomyces* sp. M4 possessing antifungal activity against fungal phytopathogens. *Microbiological Research, 237*, 126478.

Solís-García, I. A., Ceballos-Luna, O., Cortazar-Murillo, E. M., Desgarennes, D., Garay-Serrano, E., Patiño-Conde, V., ... y Reverchon, F. (2021). *Phytophthora* root rot modifies the composition of the avocado rhizosphere microbiome and increases the abundance of opportunistic fungal pathogens. *Frontiers in Microbiology*, *11*, 3484.

Stone, B. W., Weingarten, E. A., y Jackson, C. R. (2018). The role of the phyllosphere microbiome in plant health and function. *Annual Plant Reviews* online, 533-556.

Tamayo, P. (2007). Enfermedades del aguacate. *Politécnica*. (4):51-70.

Tang, F. H., Lenzen, M., McBratney, A., y Maggi, F. (2021). Risk of pesticide pollution at the global scale. *Nature Geoscience*, *14*(4), 206-210.

Tenorio-Salgado, S., Tinoco, R., Vazquez-Duhalt, R., Caballero-Mellado, J., y Perez-Rueda, E. (2013). Identification of volatile compounds produced by the bacterium *Burkholderia tropica* that inhibit the growth of fungal pathogens. *Bioengineered*, *4*(4), 236-243.

Thapa, S., y Prasanna, R. (2018). Prospecting the characteristics and significance of the phyllosphere microbiome. *Annals of Microbiology, 68*(5), 229-245.

Tuesta-Popolizio, D. A., Velázquez-Fernández, J. B., Rodriguez-Campos, J., y Contreras-Ramos, S. M. (2021). Isolation and Identification of Extremophilic Bacteria with Potential as Plant Growth Promoters (Pgpb) of A Geothermal Site: A Case Study. *Geomicrobiology Journal*, *38*(5), 436-450.

Turner, T. R., James, E. K., y Poole, P. S. (2013). The plant microbiome. *Genome Biology, 14*(6), 1-10.

Vásquez-López, A., Tlapal Bolaños, B., Yáñez Morales, M., Pérez Pacheco, R., y Quintos Escalante, M. (2009). Etiología de la marchitez del 'chile de agua'(*Capsicum annuum* L.) en Oaxaca, México. *Revista Fitotecnia Mexicana*, *32*(2), 127-134.

Vega-Gutiérrez, T. A., López-Orona, C. A., López-Urquídez, G. A., Velarde-Félix, S., Amarillas-Bueno, L. A., Martínez-Campos, A. R., y Allende-Molar, R. (2019). Foot rot and wilt in tomato caused by *Fusarium falciforme* (FSSC 3+ 4) in Mexico. *Plant Disease*, *103*(1), 157.

Velázquez-Becerra, C., Macías-Rodríguez, L. I., López-Bucio, J., Flores-Cortez, I., Santoyo, G., Hernández-Soberano, C., y Valencia-Cantero, E. (2013). The rhizobacterium *Arthrobacter agilis* produces dimethylhexadecylamine, a compound

that inhibits growth of phytopathogenic fungi *in vitro*. *Protoplasma*, *250*(6), 1251-1262.

Viaene, T., Langendries, S., Beirinckx, S., Maes, M., y Goormachtig, S. (2016). *Streptomyces* as a plant's best friend?. *FEMS microbiology ecology*, *92*(8).

Villarreal-Delgado, M. F., Villa-Rodríguez, E. D., Cira-Chávez, L. A., Estrada-Alvarado, M. I., Parra-Cota, F. I., y Santos-Villalobos, S. D. L. (2018). El género *Bacillus* como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. *Revista mexicana de fitopatología*, *36*(1), 95-130.

Vorholt, J. A. (2012). Microbial life in the phyllosphere. *Nature Reviews Microbiology*, 10(12), 828-840.

Wang, H., Wang, Z., Liu, Z., Wang, K., y Xu, W. (2021). Membrane disruption of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* induced by myriocin from *Bacillus amyloliquefaciens* LZN01. *Microbial Biotechnology, 14*(2), 517-534.

Wang, Z., Sui, Y., Li, J., Tian, X., y Wang, Q. (2020). Biological control of postharvest fungal decays in citrus: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-10.

Whipps, J., Hand, P., Pink, D., y Bending, G. D. (2008). Phyllosphere microbiology with special reference to diversity and plant genotype. *Journal of Applied Microbiology, 105*(6), 1744-1755.

Wiraswati, S. M., Nawangsih, A. A., Rusmana, I., y Wahyudi, A. T. (2020). Rice phyllosphere bacteria producing antifungal compounds as biological control agents of blast disease. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, *21*(4).

Wu, J. J., Huang, J. W., y Deng, W. L. (2020). Phenylacetic Acid and Methylphenyl Acetate From the Biocontrol Bacterium *Bacillus* mycoides BM02 Suppress Spore Germination in *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici. *Frontiers in Microbiology, 11*, 3022.

Wu, Y., Zhou, J., Li, C., y Ma, Y. (2019). Antifungal and plant growth promotion activity of volatile organic compounds produced by *Bacillus amyloliquefaciens*. *MicrobiologyOpen*, *8*(8), e00813.

Yuan, J., Raza, W., Shen, Q., y Huang, Q. (2012). Antifungal activity of *Bacillus amyloliquefaciens* NJN-6 volatile compounds against *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense. *Applied and environmental microbiology*, *78*(16), 5942-5944.

Zang, C., Lin, Q., Xie, J., Lin, Y., Yu, S., Zhao, K., y Liang, C. (2019). The biological control of the grapevine downy mildew disease using *Ochrobactrum* sp. *Plant Protection Science, 56*(1), 52-61.

## 11. Anexos

Anexo 1. Versión extendida del Cuadro 3.

| Agentes bacterianos de control biológico | Hongos fitopatógenos | Porcentaje máximo de inhibición reportado | Proveniencia del aislado bacteriano | Referencias |
|---|---|---|---|---|
| *Bacillus sp. ELI149* | *F. avenaceum*<br>*F. equiseti*<br>*F. oxysporum* | 41%<br>36%<br>43% | Suelo | Sansinenea *et al*., 2016 |
| *Burkholderia tropica* (varias cepas) | *F. culmorum*<br>*F. oxysporum* | 74%<br>50% | Plantas de maíz, café y teocintle | Tenorio-Salgado *et al*., 2013 |
| *Bacillus* spp. (varias cepas) | *F. euwallaceae* | 46% | Rizosfera de aguacate | Guevara-Avendaño *et al*., 2018 |
| *Amycolatopsis* sp. BX17 / *Streptomyces* spp. | *F. graminearum* | ---- | Suelo de milpa | Cabrera *et al*., 2020 |
| *Bacillus* spp. INECOL-6004, -6005, -6006 | *F. kuroshium* | 49% | Rizosfera de aguacate | Guevara-Avendaño *et al*., 2020 |
| *Arthrobacter* sp. / *Bacillus* spp. / *Curtobacterium* spp. / | *F. kuroshium*<br>*F. solani* | 74%<br>63% | Rizosfera y filosfera de *Lauráceas silvestres* | Báez-Vallejo *et al*., 2020 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| *Erwinia* sp. / *Hafnia* sp. / *Methylobacterium* spp. / *Microbacterium* sp. / *Pseudomonas* spp. | | | | |
| *B. velezensis* TS3B-45 | *F. nivale*<br>*F. solani* | 61%<br>66% | Hoja de mango | Reyes-Estebanez *et al*., 2019 |
| *Bacillus* spp. rbES245, rbES262, rbES182 / *Glutamicibacter* sp. rbES331 *Streptomyces* sp. rbES158 | *F. oxysporum* | 50% | Rizosfera de *Solanum hindsianum* | Delgado-Ramírez *et al*., 2021 |
| *Streptomyces* spp. AC4, AC7 | *F. oxysporum* | 60% | Composta | González-Franco *et al*., 2017 |
| *B. pumilus* UM24 / *B. subtilis* UM15 | *F. oxysporum* | ---- | Rizosfera de *Medicago truncatula* | Hernández-Salmerón *et al*., 2014 |
| *B. mojavensis* MC3B-22 | *F. oxysporum* | 77% | Biopelículas marinas | Ortega-Morales *et al*., 2009 |
| *B. paralicheniformis* KJ-16 | *F. oxysporum* | ---- | Rizosfera de maíz | Ramírez-Cariño *et al*., 2020 |
| *Bacillus* spp. CR71, E25 | *F. oxysporum* | 20% | Endófitas de raíz de tomate | Rojas-Solis *et al*., 2020a |
| *B. toyonensis* COPE52 | *F. oxysporum* | 11% | Endófito de raíz de zarzamora | Rojas-Solis *et al*., 2020b |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| *B. velezensis* 2A-2B | *F. oxysporum*<br>*F. solani* | 60% | Rizosfera de *Sporobolus airoides* | Martínez-Raudales *et al*., 2017 |
| *Arthrobacter* sp. INECOL-27 / *Pseudomonas sp*. INECOL-21 / *Staphylococcus* spp. (varias cepas) / *Streptomyces* sp. INECOL-8 | *F. oxysporum*<br>*F. solani* | 20%<br>31% | Rizosfera de lauráceas silvestres | Reverchon *et al*., 2019 |
| *B. halotolerans* MS50-18A | *F. oxysporum*<br>*F. solani* | 60 % | Suelo salino | Sagredo-Beltrán *et al*., 2018 |
| *Bacillus* sp. CA-11 / *Citrobacter* sp. CA-15 / *Ensifer* sp. CA-14 / *Enterobacter* sp. CA-03 / *Paenibacillus* sp. CA-12 / *Pantoea* sp. CA-02 | *F. oxysporum,*<br>*F. solani*<br>*F. verticillioides* | 40%<br>39%<br>29% | Nódulos de raíz de *Ormosia macrocalyx* | Hernández-Hernández *et al*., 2018 |
| *Bacillus* spp. / *Pseudomonas* spp. / *Staphylococcus* sp. | *F. solani* | 70% | Suelo agrícola, suelo contaminado con hidrocarburos, y aire | Gutiérrez-Santa Ana *et al*., 2020a |
| *B. subtilis* 21 | *F. verticillioides* | ---- | Rizosfera de fresa | Basurto-Cadena *et al*., 2012 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| *Acinetobacter* spp. / *Agrobacterium* spp. / *Anaerobranca* spp. / *Aquaspirillum* spp. / *Arthrobacter* spp. / *Bacillus* spp. / *Brevibacillus* spp. / *Enterobacter* spp. / *Geobacillus spp.* / *Klebsiella* spp. / *Lysinibacillus spp.* / *Paenibacillus* spp. / *Pantoea* spp. / *Pseudomonas* spp. / *Stenotrophomonas spp.* / *Terribacillus spp.* | *F. verticillioides* | 99% | Rizosfera de maíz | Figueroa-López *et al*., 2016 |
| *B. megaterium* UMCV1 / *B. subtilis* BS-MIA02 / *Bacillus* spp. BA, SS, BM | *F. verticillioides* | 72% | Desconocido | García-Ortiz *et al*., 2020 |
| *B. megaterium* B5 / *B. cereus* sensu lato B25 / *Bacillus* sp. B35 | *F. verticillioides* | ---- | Rizosfera de maíz | Lizárraga-Sánchez *et al*., 2015 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| *Pseudomonas protegens* EMM-1 | *Fusarium sp.* | ---- | Rizosfera de maíz rojo | Cesa-Luna *et al*., 2020 |
| *Bacillus* spp. / *Pseudomonas* spp. / *Serratia* spp. | *Fusarium sp.* | 17% | Rizosfera de *Acacia farnesiana* | Herrera-Quiterio *et al*., 2021 |
| *Azospirillum brasilense* (varias cepas) | *Fusarium* sp. | ---- | Rizosfera, endosfera y semillas de maíz | López-Reyes *et al*., 2017 |
| *Burkholderia cepacia* BUAP-CA50 / *Burkholderia gladioli* BUAP-CA47 / *P. putida* BUAP-CA48 / *Paenibacillus* sp. BUAP-AM43 / *Stenotrophomonas* spp. | *Fusarium* sp. | ---- | Rizosfera de maíz | Medina-de la Rosa *et al*., 2016 |
| *Serratia* sp. NOD15 | *Fusarium sp.* | ---- | Nódulos de *Mimosa púdica* | Méndez-Santiago *et al*., 2021 |
| *Streptomyces* sp. PRIO41 | *Fusarium* sp. | 58% | Desconocido | Robles-Hernández *et al*., 2015 |

---- No se especifica

Anexo 2. Versión extendida del Cuadro 4.

| **Agentes fúngicos de control biológico** | **Hongos fitopatógenos** | **Porcentaje máximo de inhibición** | **Referencias** |
|---|---|---|---|
| *Beauveria bassiana* | *F. oxysporum* | 72% | Culebro-Ricaldi *et al*., 2017 |
| *Trichoderma asperellum* | *F. oxysporum* | ---- | Herrera-Téllez *et al*., 2019 |
| *Trichoderma asperelloides* | *F. oxysporum* | ---- | Ramírez-Cariño *et al*., 2020 |
| *Xylaria* sp. PB3f3 | *F. oxysporum* | 90% | Sánchez-Ortiz *et al*., 2016 |
| *Macrolepiota* spp. CS185, RS9 | *F. oxysporum*<br>*F. solani* | 22%<br>28% | Hernández-Ochoa *et al*., 2020 |
| *Irpex lacteus* CMU 8413 | *F. mexicanum*<br>*F. pseudocircinatum* | 17%<br>46% | Pineda-Sauzo *et al.,* 2021 |

---- No se especifica

Anexo 3. Versión extendida de Cuadro 5.

| **Productos naturales antifúngicos** | **Organismo fuente del producto natural** | **Hongos fitopatógenos** | **Porcentaje máximo de inhibición** | **Referencias** |
|---|---|---|---|---|
| Compuestos extracelulares no especificados | *Amycolatopsis* sp. BX17 | *F. graminearum* | 100% | Cabrera *et al*., 2020 |
| Compuestos extracelulares: terpenos, aldehídos, xantonas | *Irpex lacteus* | *F. mexicanum*<br>*F. pseudocircinatum* | 60.4%<br>54.6% | Pineda-Sauzo *et al.,* 2021 |
| Extractos crudos | *Bacillus* sp. ELI149 | *F. avanaceum*<br>*F. equiseti*<br>*F. oxysporum* | ---- | Sansinenea *et al*., 2016 |
| Extractos crudos | *Xylaria* sp. PB3f3 | *F. oxysporum* | 17.6% | Sánchez-Ortiz *et al*., 2016 |
| Extractos crudos | *Bacillus* sp. SS | *F. verticillioides* | 98.7% | García-Ortiz *et al*., 2020 |
| Extractos crudos | *Pseudomonas protegens* EMM-1 | *Fusarium* sp. | 10% | Cesa-Luna *et al*., 2020 |
| Quitinasa | *Bacillus thuringiensis* subsp. aizawai | *Fusarium* sp. | 24% | Morales de la Vega *et al*., 2006 |
| Quitinasa | *Bacillus cereus sensu lato* B25 | *F. verticillioides* | 78% | Morales-Ruiz *et al.*, 2021 |
| Quitinasa | *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* ITV20 | *Fusarium* sp. | 60% | Reyes-Ramírez *et al*., 2004 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Quitinasas y<br>β-1,3-glucanasas | *Beauveria bassiana* 1215 | *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* raza 3 | 21% | Culebro-Ricaldi *et al*., 2017 |
| Macrolactinas | *Bacillus amyloliquefaciens* ELI149 | *F. oxysporum*<br>*F. proliferatum*<br>*Fusarium* sp. | 44%<br>44%<br>74% | Salazar *et al.,* 2020 |
| Isobenzofuranonas | *Hypoxylon anthochroum* | *F. oxysporum* | 50% | Sánchez-Fernández *et al*., 2020 |
| Lipopéptidos | *Bacillus* sp. MA04 | *F. stilboides* | 84% | Hernández-Morales *et al*., 2018 |
| Lipopéptidos y VOCs (cetonas, alcoholes y compuestos azufrados) | *Bacillus* sp. CCeRi1-002<br>*Pseudomonas* sp. CCe Ri5-020 | *F. kuroshium*<br>*F. solani* | ----<br>65% | Báez-Vallejo *et al*., 2020 |
| Lipopéptidos y VOCs (cetonas, pirazinas) | *Bacillus* spp. INECOL-6004, -6005 y -6006 | *F. kuroshium* | 70% | Guevara-Avendaño *et al*., 2020 |
| VOCs: terpenoides, compuestos azufrados, etc. | *Burkholderia tropica* MTo293, TTe203 y MTo431 | *F. culmorum*<br>*F. oxysporum* | 22%<br>54% | Tenorio-Salgado *et al*., 2013 |
| VOCs: cetonas, pirazinas, compuestos azufrados | *Bacillus* spp.<br>*Pseudomonas* sp. | *F. kuroshium*<br>*F. solani* | 39%<br>55% | Guevara Avendaño *et al*., 2019 |
| VOCs: cetonas, monoterpenoides, ácidos grasos, sesquiterpenos, etc. | *Bacillus* sp. S18 | *F. solani* | 24% | Gutiérrez-Santa Ana *et al*., 2020a |
| VOCs: cetonas, sesquiterpenos, | *Bacillus* spp. | *F. solani* | 24% | Gutiérrez-Santa Ana *et al*., 2020b |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| monoterpenoides, ácidos carboxílicos, etc. | | | | |
| VOCs sintéticos: alcoholes, monoterpenos | *Hypoxylon anthochroum* | *F. oxysporum* | 100% | Medina-Romero *et al*. 2017 |
| VOCs: aminas | *Arthrobacter agilis* UMCV2 | *Fusarium* sp. UMTM13 | 67% | Orozco-Mosqueda *et al*., 2015 |
| VOCs no identificados | *Bacillus* spp. E25 y CR71 | *F. oxysporum* | 8% | Rojas-Solís *et al*., 2020a |
| VOCs no identificados | *Arthrobacter* sp. INECOL-27<br>*Pseudomonas* sp. INECOL-21<br>*Staphylococcus* spp. INECOL-11, -57, -65.2<br>*Streptomyces* sp. INECOL-8 | *F. solani*<br>*F. oxysporum* | 37%<br>12% | Reverchon *et al*. 2019 |

---- No se especifica