

Antagonismo *in vitro* de bacterias endófitas formadoras de endosporas frente a *Moniliophthora roreri* H.C Evans *et al.*



In vitro antagonism of endophytic endospore-forming bacteria against *Moniliophthora roreri* H.C Evans *et al.*

<https://eqrcode.co/a/VcA2m6>

María Aracely Vera Loor¹, Alexander Bernal Cabrera^{2*}, Danilo Vera Coello¹, Michel Leiva Mora³, Alan Rivero Aragón⁴, Armstrong Edison Agustín Vera Loor⁵

¹Estación Experimental Tropical Pichilingue, Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Km 5 vía Quevedo, El Empalme, Cantón Mocache, Los Ríos, Ecuador, CP: 120224

²Departamento de Agronomía. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Central “Marta Abreu” de las Villas. Carretera a Camajuani. Km 5.5, Santa Clara, Villa Clara, Cuba, CP: 54830

³Laboratorio de Biotecnología, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Técnica de Ambato (UTA). cantón Cevallos vía Quero, sector El Tambo-la Universidad, 1801334, Cevallos, Tungurahua-Ecuador.

⁴Departamento de Biología. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Central “Marta Abreu” de las Villas. Carretera a Camajuani. Km 5.5, Santa Clara, Villa Clara, Cuba, CP: 54830.

⁵Unidad Educativa Quinindé, Vía a Santo Domingo de los Tsáchilas km 1½, Ecuador.

RESUMEN: El presente trabajo tuvo como objetivos determinar el efecto antagonista de bacterias endófitas formadoras de endosporas frente a *Moniliophthora roreri*, así como su identificación. El ensayo se realizó mediante el método de cultivo dual en placas Petri con medio de cultivo Papa-Dextrosa-Agar (PDA). El inóculo bacteriano se dispuso en el centro de la placa y a ambos lados de esta se colocaron discos del hongo patógeno. Se midió el crecimiento de la colonia de *M. roreri* y se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) a los 15 días. Se utilizó un diseño completamente al azar con cinco repeticiones por tratamiento (aislado de bacterias endófitas) y control (*M. roreri*). Además, se caracterizaron las bacterias desde el punto de vista cultural, morfológico y fisiológico, de acuerdo a metodologías recogidas en la literatura científica. En el ensayo de antagonismo, 23 aislados de las bacterias (51,1 %) produjeron un PICR en el patógeno que osciló entre 53,8 y 73,8 %; mientras que, a los 15 días de incubación en la interacción, 22 aislados (48,9 %) estuvieron entre 2,8 y 47,2 %. La descripción de los aislados bacterianos, basada en caracteres culturales y morfofisiológicos, confirmó su ubicación taxonómica en el grupo de las bacterias aerobias formadoras de endosporas, clase Bacilli. Se demuestra el elevado potencial de nuevas cepas de *Bacillus* spp. como antagonistas promisorios para el control biológico de *M. roreri*, agente causal de la moniliasis del cacao.

Palabras clave: *Bacillus*, biocontrol, cacao, inhibición del crecimiento, moniliasis.

ABSTRACT: The aim of this work was to determine the antagonistic effect of the endophytic endospore-forming bacteria against *M. roreri*, as well as its identification. The trial was carried out by dual culture method on Petri dishes containing Potato Dextrose Agar culture medium (PDA). The bacterial inoculum was placed in the center of the plate, and discs of the pathogenic fungus were placed on both sides of the plate. *M. roreri* colony growth was measured and the radial growth inhibition percentage (RGIP) was calculated at 15 days. A completely randomized design was used with five replicates per treatment (isolate from endophytic bacteria) and control (*M. roreri*). Besides, bacteria were characterized from the cultural, morphological and physiological point of view according to methodologies collected in the scientific literature. In the antagonism test, 23 isolates of the bacteria (51.1 %) showed a RGIP in the pathogen ranging from 53.8 to 73.8 %; while 22 isolates (48.9 %) registered a RGIP between 2.8 and 47.2 %, at 15 days of incubation in the interaction. The description of the bacterial isolates based on their cultural and morpho-physiological characteristics confirmed their taxonomic location in the group of the aerobic endospore-forming bacteria, class *Bacilli*. It is demonstrated the high potential of new strains of *Bacillus* spp. as promising candidates for the biological control of *M. roreri*, which is the causal agent of frosty pod rot.

Key words: *Bacillus*, biocontrol, cacao, growth inhibition, frosty pod rot.

*Autor para correspondencia: Alexander Bernal Cabrera. E-mail: alexanderbc@uclv.edu.cu

Recibido: 24/06/2020

Aceptado: 04/07/2020

INTRODUCCIÓN

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es uno de los cultivos tropicales más importantes a nivel mundial. Las semillas de cacao son la fuente del chocolate y la manteca de cacao (1). Actualmente, la industria chocolatera mundial es valorada en 103 billones USD/año (2).

El mayor factor limitante a nivel mundial de la producción en el cultivo de cacao es una trilogía de importantes enfermedades (3): la pudrición negra de la mazorca, causada por *Phytophthora palmivora* (E. J. Butler) E. J. Butler, *Phytophthora megakarya* Brasier & M.J. Griffin, *Phytophthora capsici* Leonian y *Phytophthora citrophthora* (R.H. Sm. & E. Sm.) Leonian (4), enfermedad que más afecta la producción globalmente; así como la escoba de brujas, provocada por *Moniliophthora perniciosa* (Stahel) Aime y la moniliasis, cuyo agente etiológico es *Moniliophthora roreri* H.C. Evans *et al.*, las cuales tienen el potencial de devastar el suministro mundial de cacao si se diseminan fuera de América (5).

Una de las alternativas más utilizadas para enfrentar este ataque fúngico es el uso de microorganismos biocontroladores, con el objetivo de disminuir el uso de agroquímicos, debido a su impacto negativo sobre el medio ambiente (6), por lo que constantemente se buscan nuevas cepas con estas potencialidades.

El género *Bacillus* incluye bacterias endófitas formadoras de endosporas, miembros de la Clase Bacilli, que contribuyen al crecimiento y la bioprotección de varias especies vegetales (7). Entre los principales mecanismos de acción que presentan se encuentran la excreción de antibióticos, toxinas, sideróforos, enzimas líticas e inducción de resistencia sistémica en la planta (8, 9).

Entre los ingredientes activos de bioplaguicidas microbianos disponibles comercialmente, *Bacillus* es el más explotado en el sector agrícola, con 85 % de los productos bacterianos, debido a su gran versatilidad metabólica, que le permite llevar a cabo el control biológico de plagas por diversos mecanismos. Además, este género bacteriano es capaz de producir endosporas, principal ingrediente activo de los formulados, que le

confiere mayor viabilidad en el tiempo (10). En la actualidad, en el mercado mundial se encuentran disponibles varios bioplaguicidas a base de cepas de *Bacillus* spp., entre ellos: Double Nickel LC (*B. amyloliquefaciens* cepa D747), Pro-MixBiofungicide (*B. subtilis* cepa MBI 600), Serenade Garden (*B. subtilis* cepa QST 713), Sonata (*B. pumilus* cepa QST 2808) y EcoGuard-GN (*B. licheniformis* SB3086), entre otros. Estos formulados se usan fundamentalmente para la prevención de, por lo menos, ocho agentes patógenos, en más de 20 cultivos agrícolas (11).

Los objetivos de este trabajo fueron determinar el efecto antagonista de cepas de bacterias endófitas formadoras de endosporas frente a *Moniliophthora roreri* H.C. Evans *et al.* así como su identificación.

MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se desarrolló en el Laboratorio de Fitopatología del Departamento de Protección Vegetal de la Estación Experimental Tropical Pichilingue, perteneciente al Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), Ecuador. La Estación se encuentra situada en el km 5 vía Quevedo, perteneciente al Cantón Mocache, provincia Los Ríos; geográficamente ubicada en 1° 05' de Latitud Sur y 79° 26' de Longitud Oeste, a una altitud promedio de 75 m.s.n.m. Se aislaron bacterias endófitas formadoras de endosporas a partir de mazorcas del cultivar de cacao *Criollo* tipo Nacional, sin síntomas aparente de la enfermedad. Los procesos de desinfección de la mazorca, aislamiento y verificación de la formación de endosporas se realizaron por el método descrito por Melnick *et al.* (12). La cepa de *M. roreri* utilizada se aisló a partir de mazorcas del clon de cacao EET-103 tipo Nacional (Susceptible), con síntomas típicos de moniliasis, y pertenece a la colección de cultivos microbianos del laboratorio de Fitopatología de la Estación Experimental Tropical Pichilingue.

La evaluación de la actividad antagonista *in vitro* de las bacterias frente a *M. roreri* se realizó en placas Petri de 90 mm de diámetro con medio de cultivo Papa-Dextrosa-Agar (PDA) (Difco). En los extremos de la placa se colocaron discos

de 5 mm de diámetro de micelio de *M. royeri* que se pusieron a crecer a 25±1°C y oscuridad durante 15 días (13). Transcurrido ese tiempo de incubación, en el centro de las placas se realizó la siembra de la bacteria con un hisopo estéril embebido en una suspensión de 10⁸ células ml⁻¹. También se sembraron discos de micelio de 5 mm de *M. royeri* en los extremos de las placas con PDA sin la bacteria, como tratamiento control. Finalmente, todos los cultivos se incubaron a 28±1°C y oscuridad. (Fig. 1)

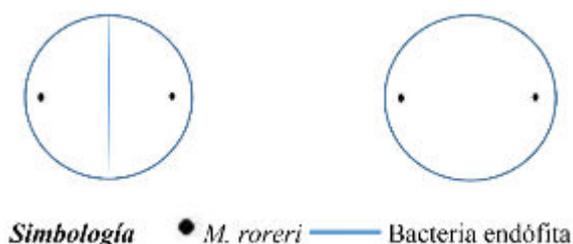


Figura 1. Representación gráfica del enfrentamiento bacteria endófitas-*M. royeri* / Graphic representation between endophytic bacteria-*M. royeri* interaction.

El experimento se realizó bajo un diseño completamente aleatorizado con cinco repeticiones por tratamiento (aislado de bacterias endófitas) y control (*M. royeri*).

Se midió el crecimiento de la colonia de *M. royeri* y se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) para cada tratamiento, mediante la fórmula descrita por Melnick *et al.* (12). Las evaluaciones se realizaron cada 24 horas hasta los 15 días.

$$PICR(\%) = \frac{C.micelial(M.royeri) - C.micelial(M.royeri - bacteria\ endofita)}{C.micelial(M.royeri)} \times 100$$

Los datos correspondientes al porcentaje de inhibición del crecimiento radial del hongo fitopatogénico se procesaron mediante un análisis de conglomerado jerárquico, empleando la distancia Euclidiana y el método de Ward, para lo que se utilizó el paquete estadístico Statistica versión 12.0 sobre Windows (14).

La descripción de los caracteres culturales, morfológicos (forma, agrupación y respuesta a la tinción) y fisiológicos de las bacterias se realizó mediante tinciones simples y tinción de Gram, a través de observaciones al microscopio óptico (Karl Zeiss, Alemania) con aumento 1000 x (15).

A los aislados bacilos Gram positivos se les realizó la prueba de la catalasa (16).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los 45 aislados bacterianos obtenidos tuvieron actividad antifúngica frente a *M. royeri*. El agrupamiento de las mismas dependió de los valores de Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Radial (PICR) que mostraron al enfrentarlas con *M. royeri*.

El análisis de clúster evidenció que los grupos formados se empiezan a ramificar a distancias muy bajas, lo que indica que estos son compactos y que la diversidad intragrupos es muy baja. (Fig. 2)

Al realizar un corte de hasta 10 % al dendrograma, se observa la formación de dos grupos. El grupo 1 aglomeró 23 aislados, que representan el 51,1 % del total y el grupo 2 22 aislados (48,9 %). Además, en el grupo 1 se ubicaron los aislados que mostraron el mayor efecto antagonista sobre el hongo patógeno al alcanzar un PICR entre 53,8-73,8 %; mientras que, en el grupo 2 se situaron los aislados con menor actividad antagonista, al solo alcanzar valores de PICR (2,8 - 47,2 %). (Fig. 2)

En la literatura científica consultada son escasas las investigaciones realizadas con bacterias endófitas como agentes de control biológico en el patosistema *T. cacao* - *M. royeri*. Hasta la fecha, solo se informan los trabajos realizados por Melnick *et al.* (12), quienes evaluaron *in vitro* la acción antagonista de 69

bacterias endófitas formadoras de endosporas aisladas de diferentes órganos de plantas de *T. cacao*, contra tres hongos patógenos que afectan las mazorcas en este árbol. Estos autores obtuvieron que el 42 % de los aislados inhibió a *M. royeri*, 33 % a *M. pernicioso* y 49 % a *P. capsici*. Los resultados obtenidos en el presente trabajo se corresponden con los valores de porcentaje de inhibición informados para *M. royeri* por estos autores.

Estudios similares que utilizan el método de difusión en agar han sido desarrollados en otros patosistemas. Orberá *et al.* (17) evaluaron *in vitro*

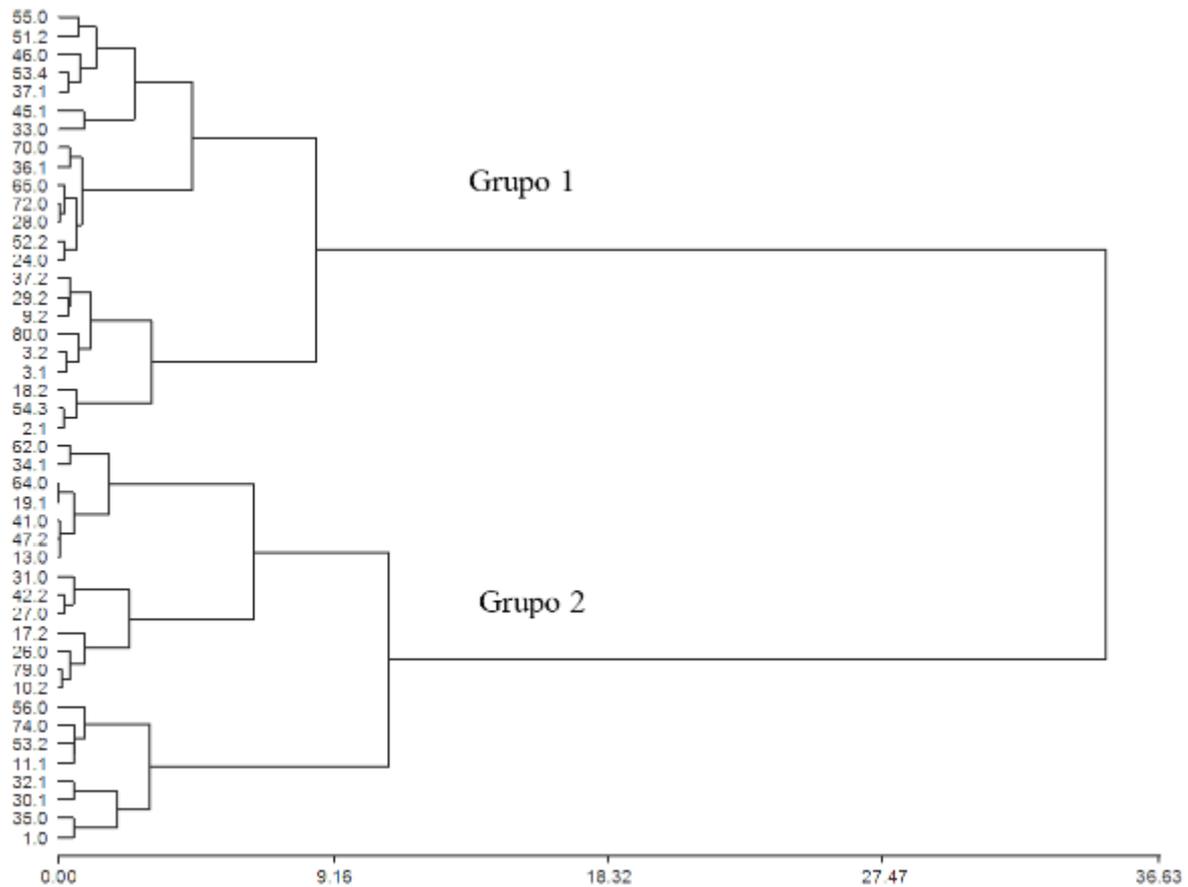


Figura 2. Dendrograma obtenido a partir de los valores de Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Radial (PICR) provocado por las bacterias endófitas sobre *M. roseri* a los 15 días / *Dendrogram obtained from the values of the radial growth inhibition percentage (RGIP) caused by endophytic bacteria on M. roseri at 15 days.*

la actividad inhibitoria que ejercen las bacterias aerobias formadoras de endosporas sobre hongos fitopatógenos aislados de plantas ornamentales. Esto autores seleccionaron cinco cepas que presentaron un PICR sobre los hongos fitopatógenos superior a 50 %.

Sosa *et al.* (18) realizaron estudios de antagonismo *in vitro* entre cepas de *Bacillus subtilis* frente a *Rhizoctonia solani* Kühn y seleccionaron, como promisorias, aquellas cepas que presentaron un PICR superior a 75 %.

Los resultados demuestran que existió actividad antagónica de los aislamientos bacterianos sobre *M. roseri*, probablemente por la presencia de antibióticos difundidos volátiles y no volátiles y enzimas líticas producidas por *Bacillus*, los cuales inhibieron el crecimiento micelial de *M. roseri*. (Fig. 3)

En el presente trabajo, aunque no se determinaron los compuestos responsables de

este efecto inhibitorio, se infiere que este pudiera estar dado por la gran variedad de antibióticos que producen las cepas de *Bacillus* spp., que tienen la capacidad de inhibir el crecimiento de agentes fitopatógenos (19, 20). Entre estos compuestos, los lipopéptidos, fundamentalmente de las familias de las iturinas, fengicinas y surfactinas, han sido ampliamente estudiados por su actividad antibacteriana y antifúngica (21, 22).

Otros autores, como Rojas *et al.* (23), evaluaron el efecto antagónico *in vitro* de 14 aislados de *Bacillus* frente a los hongos fitopatógenos *Fusarium oxysporum* (Schldtl) y *Fusarium moniliforme* (Sheld), que afectan cultivos hortícolas. Estos investigadores hallaron que solo nueve aislados de *Bacillus* mostraron inhibición sobre *F. oxysporum* por encima de 80 %, así como que seis aislados fueron capaces de inhibir el crecimiento de *F. moniliforme* después de los 15 días de incubación. Ese estudio

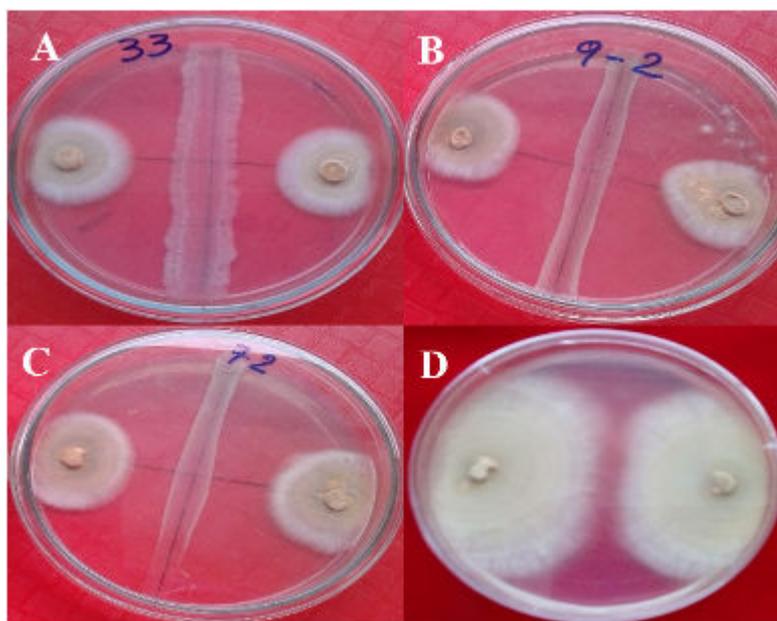


Figura 3. Interacción bacterias endófitas - *M. roreri* en medio de cultivo PDA a los 15 días A) aislado # 33; B) aislado # 9-2; C) aislado # 72; D) *M. roreri* (control) / *Endophytic bacteria - M. roreri* interaction in PDA culture medium at 15 days A) Isolate # 33; B) Isolate # 9-2; C) Isolate # 72; D) *M. roreri* (control).

demonstró el elevado potencial de cepas de *Bacillus* como antagonistas de *Fusarium*, fitopatógeno de cultivos hortícolas y permitió la selección de los aislados RCGr32, RCQ7 y RCGr33 como promisorios para el control biológico de estos hongos.

De Almeida *et al.* (24), en una investigación de selección de bacterias endófitas como agentes de control biológico contra los principales microorganismos patógenos asociados al cultivo de la soya, informaron a los géneros *Bacillus* sp. y *Burkholderia* sp. como los más efectivos *in vitro* para controlar los hongos patógenos *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, *Phomopsis sojae* Lehman y *R. solani*. Estos autores adjudican este efecto, principalmente, a la producción de antibióticos.

Los resultados obtenidos se corresponden con varios autores que informaron a las especies del género *Bacillus* (*B. subtilis*, *B. pumilus*, *B. amyloliquefaciens*, *B. cereus*, *B. licheniformis*, entre otras) con potencialidades para mitigar la incidencia de enfermedades de importancia agrícola (25, 26, 27).

Por otro lado, se observó que las colonias de bacterias aisladas en TSA a las 72 h tenían

características culturales y morfológicas macroscópicas semejantes a las del género *Bacillus*, como son el tamaño de mediano-grande, el borde irregular, la elevación planoconvexa y el color blanquecino (Fig. 4 A). Después de realizar la tinción de Gram se constató, a nivel microscópico, que todos los aislados resultaron ser bacilos Gram positivos (Fig. 4 B), formadores de endosporas (Fig. 5 A) y catalasas positivas. (Fig. 5 B)

Se confirmaron las características de este grupo: la presencia de endosporas, la forma bacilar y la producción de enzimas catalasa (12).

El presente trabajo demuestra la actividad inhibitoria *in vitro* de nuevos aislados de bacterias endófitas formadoras de endosporas, pertenecientes a la clase Bacilli, con potencialidades para el control biológico del agente etiológico de la moniliasis del cacao. Estos resultados constituyen el primer paso hacia la selección de cepas eficientes para el biocontrol de este hongo fitopatógeno, por lo que continuarán los estudios para esclarecer los mecanismos de acción responsables del antagonismo, así como su comportamiento en la interacción con la planta.

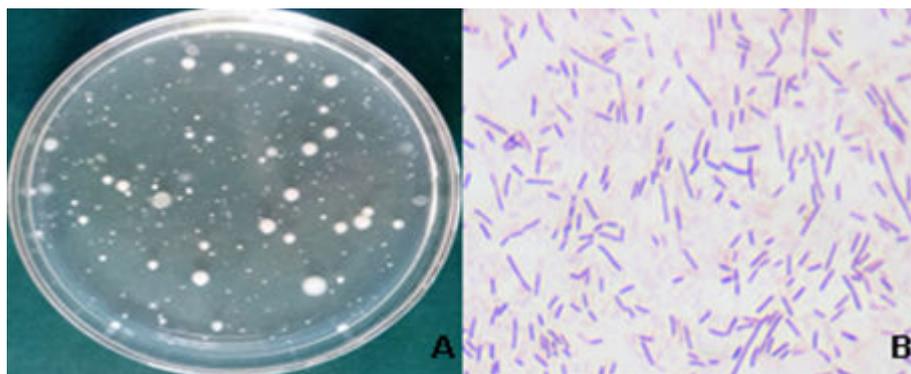


Figura 4. Características culturales y morfológicas de *Bacillus* sp. (aislado # 33), con aumento de 1000 X. A) Morfología macroscópica; B) Células bacilares Gram positivas / *Cultural and morphological characteristics of Bacillus* sp. (isolate # 33), with 1000 X magnification A) Macroscopic morphology; B) Gram-positive bacillary cells.

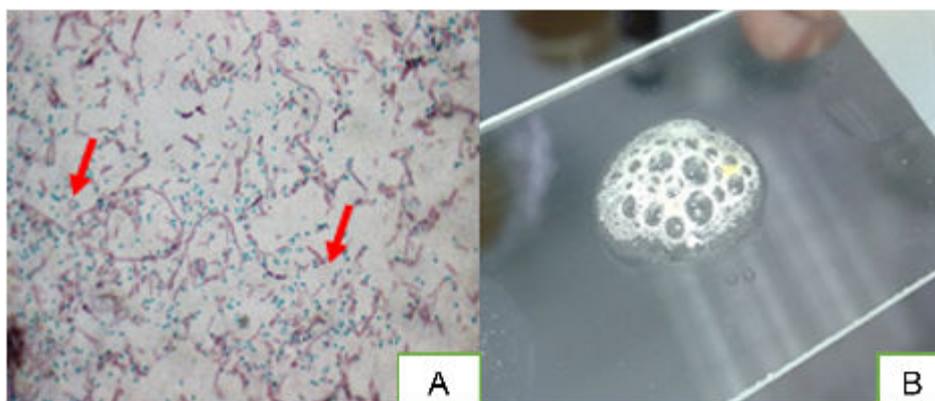


Figura 5. Características fisiológicas de *Bacillus* sp. (aislado # 33), con aumento de 1000 X. A) endosporas (flechas rojas); B) prueba de la enzima catalasa (positiva) / *Physiological characteristics of Bacillus* sp. (strain # 33), with 1000 X magnification A) endospores (red arrows); B) Catalase enzyme test (positive).

REFERENCIAS

1. Marelli JP, Guest DI, Bailey BA, Evans HC, Brown JK, Junaid M, *et al.* Chocolate under threat from old and new cacao diseases. *Phytopathology*. 2019; 109 (8):1331-1343.
2. Zion Market Research. Chocolate market by type of chocolate (dark, milk and white) and by sales category (everyday chocolate, premium chocolate and seasonal chocolate): Global industry perspective, comprehensive analysis and forecast 2017-2024. 2018; <http://www.zionmarketresearch.com/report/chocolate-market>.
3. Ploetz RC. The Impact of diseases on cacao production: A global overview. Part I, Chapter 2, In: B. A. Bailey.; L.W. Meinhardt (eds.). *Cacao Diseases: A History of Old Enemies and New Encounters*. Springer International Publishing Switzerland. 2016; 33-59.
4. Bailey BA, Meinhardt LW. *Cacao Diseases: A History of Old Enemies and New Encounters*. Springer Cham Heidelberg New York Dordrecht London. 2016; 630 pp.
5. Evans HC. Frosty pod rot (*Moniliophthora roreri*) Part II, Chapter 3, In: B. A. Bailey .; L.W. Meinhardt (eds.). *Cacao Diseases: A History of Old Enemies and New Encounters*. Springer International Publishing Switzerland. 2016; 63-96.
6. Qiao J, Wu H, Huo R, Gao X, Borriss R. Stimulation and biocontrol by *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* FZB42 engineered for improved action. *Chem. Biol. Technol. Agric.* 2014;1(12): 2-14.

7. Prameela Jha, Panwar J, Nath Jha P. Mechanistic insights on plant root colonization by bacterial endophytes: a symbiotic relationship for sustainable agriculture. *Environmental Sustainability*. 2018; 1:25-38.
8. Olanrewaju OS, Glic BR, Babalola OO. Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2017; 33(11):197.
9. Singh M, Singh D, Gupta A, Pandey KD, Singh PK, Kumar A. Plant Growth Promoting Rhizobacteria: Application in Biofertilizers and Biocontrol of Phytopathogens. Chapter three. In: PGPR Amelioration in Sustainable Agriculture. 2019; 41-66.
10. Ongena M, Jacques P. *Bacillus lipopeptides: Versatile Weapons for Plant Disease Biocontrol*. *Trends in Microbiology*. 2008; 16: 115-125.
11. Thakur P, Singh I. Biocontrol of soilborne root pathogens: An Overview. In: B. Giri, *et al.* (eds.), *Root Biology, Soil Biology* 52, Springer International Publishing AG, part of Springer Nature. 2018;184-185.
12. Melnick RL, Suarez C, Bailey BA, Backman PA. Isolation of endophytic endospore-forming bacteria from *Theobroma cacao* as potential biological control agents of cacao diseases. *Biological Control*. 2011; 57: 236-245.
13. Reyes O, Ortiz CF, Torres M, Lagunes L, Valdovinos G. Especies de *Trichoderma* del agroecosistema cacao con potencial de biocontrol sobre *Moniliophthora roreri*. *Rev. Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*. 2016; 22(2):149-163.
14. StatSoft, Inc. (2014). STATISTICA (data analysis software system), version 12. <http://www.statsoft.com>.
15. Cruz M. Potencial de cepas de *Bacillus* spp. aisladas de la filósfera de *Musa* spp. como agentes de biocontrol de *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. [Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas]. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas. 2015; 100 pp.
16. Reiner K. Catalase test protocol. American Society for Microbiology, ASM Microbe Library. 2010.
17. Orberá TM, Serrat MJ, González Z. Potencialidades de bacterias aerobias formadoras de endosporas para el biocontrol en plantas ornamentales. *Fitosanidad*. 2009; 13(2): 95-100.
18. Sosa A, Pazos V, Torres D, Casadesús L. Identificación y caracterización de seis aislados pertenecientes al género *Bacillus* promisorios para el control de *Rhizoctonia solani* Kühn y *Sclerotium rolfsii* Sacc. *Fitosanidad*. 2011;15(1): 39-43.
19. Falardeau J, Wise C, Novitsky L, Avis TJ. Ecological and mechanistic insights into the direct and indirect antimicrobial properties of *Bacillus subtilis* lipopeptides on plant pathogens. *Journal of Chemical Ecology*. 2013; 39:869-878.
20. Gao P, Qin J, Li D, Zhou S. Inhibitory effect and possible mechanism of a *Pseudomonas* strain QBA5 against gray mold on tomato leaves and fruits caused by *Botrytis cinerea*. *PLoS One*. 2018; 13.
21. Meena KR, Kanwar SS. Lipopeptides as the antifungal and antibacterial agents: Applications in Food safety and therapeutics. *BioMed Research International*. 2015;19. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/473050>.
22. Harwood CR, Mouillon JM, Pohl S, Arnau J. Secondary metabolite production and the safety of industrially important members of the *Bacillus subtilis* group. *FEMS Microbiology Reviews*. 2018; 42(6): 721-738.
23. Rojas MM, Sánchez D, Rosales K, Lugo D. Antagonismo de *Bacillus* frente a hongos fitopatógenos de cultivos hortícolas. *Rev. Protección Vegetal*. 2017; 32(2):1-9.
24. de Almeida KB, Carpentieri V, Fira D, Balatti PA, Yanil SM, Oro TH, *et al.* Screening of bacterial endophytes as potential biocontrol agents against soybean diseases. *Journal of Applied Microbiology*. 2018; doi: 10.1111/jam.14041.
25. Pila FES. Importancia de los lipopéptidos de *Bacillus subtilis* en el control biológico de enfermedades en cultivos de gran valor económico. *Bionatura*. 2016; 1(3): 135-138.
26. Muthukumar A, Udhayakumar R, Naveenkumar R. Role of bacterial endophytes in plant disease control. Chapter 7, p. 138-140. In: D.K. Maheshwari y K. Annapurna (eds.),

- Endophytes: Crop productivity and protection, Sustainable Development and Biodiversity. 2017; 16, doi: 10.1007/978-3-319-66544-3-7.
27. Villarreal-Delgado MF, Villa-Rodríguez ED, Cira-Chávez LA, Estrada-Alvarado MI, Parra-Cota FI, De los Santos-Villalobos S. The genus *Bacillus* as a biological control agent and its implications in the agricultural biosecurity. Rev. Mexicana de Fitopatología. 2017; 36(1): 95-130.

Declaración de conflicto de intereses: Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

Contribución de los autores: **María Aracely Vera Looor:** Concibió la idea de la investigación. Colaboró en el diseño de la investigación. Participó en la búsqueda de información. Participó en el análisis e interpretación de los resultados. **Alexander Bernal Cabrera:** Concibió la idea de la investigación. Realizó contribuciones en el análisis e interpretación de los datos. Participó en la búsqueda de información, en el diseño de la investigación, en la recolección de los datos. Realizó pruebas para evaluar los resultados. Participó en el análisis, revisión y redacción del manuscrito final. **Danilo Vera Coello:** Colaboró en la investigación. Participó en la búsqueda de información, en el diseño de la investigación. Participó en el análisis de los resultados y la revisión crítica del contenido del manuscrito para la aprobación final. **Michel Leiva Mora:** Participó en la búsqueda de información. Participó en el análisis de los resultados y la revisión crítica del contenido del manuscrito para la aprobación final. **Alan Rivero Aragón:** Participó en el procesamiento estadístico de los datos e interpretación de los resultados. **Amstrong Edison Agustín Vera Looor:** Colaboró en la investigación. Participó en la búsqueda de información, en el diseño de la investigación.

Este artículo se encuentra bajo licencia [Creative Commons Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional \(CC BY-NC 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)