



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERIA

ÁREA ACADEMICA DE QUÍMICA

DOCTORADO EN CIENCIAS AMBIENTALES

TESIS DOCTORAL

EFFECTO ANTIFÚNGICO DE BACTERIAS AISLADAS DE LA MICROBIOTA DE VEGETALES Y SUELO CONTRA *FUSARIUM SP.*, IN VITRO Y EN PLANTA DE JITOMATE (*Solanum Lycopersicum*) COMO ALTERNATIVA AL USO DE FUNGICIDAS QUÍMICOS EN LOS CULTIVOS

Para obtener el grado de Doctora en Ciencias Ambientales

PRESENTA

Biol. Etna Mendoza Buenrostro

Director

Dr. Javier Castro Rosas

Pachuca de Soto, Hgo., México, febrero de 2025



Mineral de la Reforma, Hgo., a 28 de julio de 2025

Número de control: ICBI-D/2112/2025
 Asunto: Autorización de impresión de tesis.

MTRA. OJUKY DEL ROCÍO ISLAS MALDONADO
DIRECTORA DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR DE LA UAEH

Por este conducto le comunico que el comité revisor asignado a la **Biol. Etna Mendoza Buenrostro**, alumna del Doctorado en Ciencias Ambientales (Directo) con número de cuenta **306997**, autoriza la impresión del proyecto de tesis titulado **"Efecto antifúngico de bacterias aisladas de la microbiota de vegetales y suelo contra *Fusarium sp.*, in vitro y en planta de jitomate (*Solanum lycopersicum*) como alternativa al uso de fungicidas químicos en los cultivos"**, en virtud de que se han efectuado las revisiones y correcciones pertinentes.

A continuación, se registran las firmas de conformidad de los integrantes del comité revisor.

PRESIDENTE	Dr. Otilio Arturo Acevedo Sandoval	
SECRETARIO	Dr. Carlos Alberto Gómez Aldapa	
1er VOCAL	Dr. Javier Castro Rosas	
2do VOCAL	Dra. Esmeralda Rangel Vargas	
3er VOCAL	Dr. Rene Velázquez Jiménez	
1er SUPLENTE	Dra. Reyna Nallely Falfán Cortés	
2do SUPLENTE	Dra. Fabiola Araceli Guzmán Ortiz	

Sin otro particular, reitero a Usted la seguridad de mi atenta consideración.

Atentamente
 "Amor, Orden y Progreso"

Mtro. Gabriel Vergara Rodríguez
 Director del ICBI



CRG/SEPC

Carretera del Conocimiento, Carretera Pachuca-Tulaancingo Km. 4.5 Colonia Carboneras, Mineral de la Reforma, Hidalgo, México. C.P. 42184
 Teléfono: 771 71 720 00 Ext. 40001
 dirección_icbi@uaeh.edu.mx, vergara@uaeh.edu.mx

"Amor, Orden y Progreso"



2025



uaeh.edu.mx

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento al Dr. Javier Castro Rosas, mi director de tesis, por su invaluable orientación, apoyo constante y dedicación a lo largo de este proceso. Su experiencia y entusiasmo por la investigación han sido una fuente de inspiración y motivación para mí.

Agradezco también a los miembros de mi comité tutorial: la Dra. Esmeralda Rangel Vargas, el Dr. Carlos Alberto Gómez Aldapa, René Velázquez Jiménez y Otilio Arturo Acevedo Sandoval. Su guía, comentarios y sugerencias han enriquecido significativamente este trabajo y han contribuido a mi crecimiento académico y personal.

Además, agradezco al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías por el financiamiento brindado, lo que ha permitido llevar a cabo esta investigación y avanzar en mis objetivos académicos.

Un reconocimiento especial a la Dra. Claudia Romo Gómez, cuya disposición para escucharme y brindarme apoyo ha sido un pilar importante en mi camino. Su empatía y comprensión me han motivado a seguir adelante.

Finalmente, a todos mis colegas y amigos que han estado a mi lado en este viaje, les agradezco su apoyo y compañía.

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a mis queridos padres, Timoteo Mendoza Jiménez y Clara Buenrostro Zúñiga, cuya amorosa guía y apoyo incondicional me han inspirado a seguir mis sueños y perseguir mis metas académicas. Su sacrificio y dedicación han sido fundamentales en mi formación como persona y profesional.

A mi hermana, Dafne Mendoza Buenrostro, quien, aunque no ha estado a mi lado durante los últimos diez años, siempre ocupa un lugar especial en mi corazón. Su recuerdo me motiva a seguir adelante y a enfrentar los desafíos con valentía.

A Dios, por ser mi guía y fuente de fortaleza en cada paso de este viaje.

Asimismo, dedico este trabajo a la ciencia y a la comunidad, con la esperanza de contribuir al conocimiento y a la mejora de la vida de aquellos que nos rodean. Que este esfuerzo sea un pequeño aporte a un futuro más sostenible, donde la investigación y la innovación beneficien a las generaciones venideras.

RESUMEN

El jitomate (*Solanum lycopersicum*) es una hortaliza de gran valor nutricional y económico, cuya producción se ve afectada por enfermedades causadas por hongos fitopatógenos del género *Fusarium*. El uso de pesticidas químicos ha sido una solución común, aunque sus efectos nocivos sobre la salud humana y el ambiente han motivado la búsqueda de alternativas sostenibles, como el control biológico. Este estudio tuvo como objetivo aislar bacterias de la microbiota de suelo agrícola y de vegetales, identificar su capacidad antifúngica frente a *Fusarium spp.* y explorar los mecanismos implicados en su acción.

Se aislaron 103 cepas bacterianas mediante la técnica de extensión por superficie. Se evaluó su actividad antifúngica in vitro contra *F. oxysporum*, *F. brachygibbosum* y *Fusarium sp.* (HPJ), mediante ensayos de crecimiento dual en medio de cultivo. Dieciséis cepas inhibieron significativamente a *F. oxysporum*, doce a *F. brachygibbosum*, y diecisiete a *Fusarium sp.*. Las cepas más prometedoras (B102, B103, B90 y B92) se evaluaron en plantas de jitomate en diferentes etapas (hojas, germinación y plántulas), tanto de forma individual como en consorcio. Se analizó también la producción de metabolitos antifúngicos, como enzimas líticas y sideróforos, y se determinó la capacidad de inhibición de la germinación de esporas.

Las cepas B102 (*Bacillus velezensis*) y B103 (*Enterobacter sp.*) destacaron por su actividad antagonista, reduciendo el daño en plantas a 44.4% frente al 88.8% observado en el control. La cepa B90 fue especialmente eficaz contra *Fusarium sp.* (HPJ). La combinación B102-B103 mostró un efecto sinérgico, disminuyendo significativamente la germinación de esporas. En pruebas con plántulas, B102 logró una supervivencia del 62% frente a *F. oxysporum* y 83% frente a *F. brachygibbosum*.

Estos resultados respaldan el uso potencial de cepas bacterianas nativas como agentes de control biológico, representando una alternativa ecológica frente al uso de fungicidas sintéticos. Se recomienda continuar con estudios de campo para validar su eficacia en condiciones reales de cultivo.

ABSTRACT

Tomato (*Solanum lycopersicum*) is a vegetable of great nutritional and economic value, whose production is affected by diseases caused by phytopathogenic fungi of the *Fusarium* genus. The use of chemical pesticides has been a common solution, although their harmful effects on human health and the environment have motivated the search for sustainable alternatives, such as biological control. This study aimed to isolate bacteria from the microbiota of agricultural soil and vegetables, identify their antifungal capacity against *Fusarium spp.*, and explore the mechanisms involved in their action.

One hundred and three bacterial strains were isolated using the surface smear technique. Their *in vitro* antifungal activity against *F. oxysporum*, *F. brachygibbosum*, and *Fusarium sp.* (HPJ) was evaluated using dual growth assays in culture media. Sixteen strains significantly inhibited *F. oxysporum*, twelve strains inhibited *F. brachygibbosum*, and seventeen strains inhibited *Fusarium sp.* The most promising strains (B102, B103, B90, and B92) were evaluated on tomato plants at different stages (leaves, germination, and seedlings), both individually and in consortia. The production of antifungal metabolites, such as lytic enzymes and siderophores, was also analyzed, and their ability to inhibit spore germination was determined.

Strains B102 (*Bacillus velezensis*) and B103 (*Enterobacter sp.*) stood out for their antagonistic activity, reducing plant damage to 44.4% compared to 88.8% observed in the control strain. Strain B90 was especially effective against *Fusarium sp.* (HPJ). The B102-B103 combination showed a synergistic effect, significantly decreasing spore germination. In seedling tests, B102 achieved 62% survival against *F. oxysporum* and 83% against *F. brachygibbosum*.

These results support the potential use of native bacterial strains as biological control agents, representing an environmentally friendly alternative to synthetic fungicides. Further field studies are recommended to validate its effectiveness under real-world growing conditions.

ÍNDICE

1.0 INTRODUCCIÓN	12
2.0 ANTECEDENTES	13
2.1 Enfermedades fitopatógenas.....	13
2.2. Control de enfermedades fitopatógenas	13
2.2.1 Pesticidas	13
2.2.2 Uso de pesticidas para el control de enfermedades fitopatógenas.....	16
2.2.3 Impacto de pesticidas en el medio ambiente y en la salud humana.....	17
2.3 Control biológico.....	17
2.3.1 El control biológico como alternativa al uso de pesticidas.....	19
3. Jitomate (<i>Solanum lycopersicum</i>).....	19
3.1. Producción.....	20
3.2. Enfermedades del jitomate causadas por hongos	21
4.0 Enfermedades causadas por bacterias.....	32
4.1 Enfermedades causadas por otros patógenos.....	33
5.0 Control biológico en jitomate	33
5.1 Bacterias con actividad antifúngica	33
5.2 Bacterias con actividad antifúngica en jitomate	35
6.0 <i>Fusarium</i>	38
7.0 Uso de <i>Bacillus velezensis</i> como control biológico	41
8.0 Uso de <i>Enterobacter sp.</i> como control biológico	42
9.0 JUSTIFICACIÓN	43
10.0 OBJETIVOS.....	44
10.1 Objetivo general	44
10.2 Objetivos específicos	44
PLAN METODOLÓGICO	45

11.1 Métodos	45
11.1.2 Aislamiento de bacterias	45
11.1.3 Efecto antifúngico de las bacterias aisladas contra 3 hongos fitopatógenos in vitro ..	46
11.1.4 Actividad antifúngica de las cepas bacterias contra esporas hongos fitopagenos	46
11.1.5 Evaluación de la actividad antifúngica en hojas de jitomate	48
11.1.6 Evaluar la actividad antifúngica en planta de jitomate	48
11.1.7 Evaluación de actividad en plántulas de jitomate	49
11.1.8 Identificación de bacterias con capacidad antifúngica	49
11.2 Actividad enzimática	50
11.2.1 Detección de proteasas	50
11.2.2 Detección de β -1, 3, 6- glucanasas	50
11.2.3 Detección de celulosas.....	51
11.2.4 Detección de quitinasas	51
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	53
12.1 Selección de cepas aisladas con actividad antifúngico	53
12.1.1 Actividad antifúngica de bacterias contra esporas de <i>F. oxysporum</i> y <i>F. bragugibosum</i>	57
12.2 Actividad antifúngica in vivo.....	62
12.2.1 Actividad antifúngica en hojas de jitomate contra <i>F. oxysporum</i> y <i>F. brachygibbosum</i>	62
12.2.2 Resultados del análisis de actividad antifúngica en planta de jitomate	69
12.2.3 Resultados de actividad antifúngica de bacterias contra <i>Fusarium</i> en plántulas de jitomate	76
12.3 Resultados de identificación de cepas bacterianas	85
12.5 Resultados de mecanismos de acción.....	85
10.5.1 Detección de proteasas	85

12.5.2 Detección de β -1,3,6- glucanasas	86
12.5.3 Detección de celulasas	87
12.5.4 Detección de quitinasas	88
12.5.5 Detección de sideróforos.....	89
13.0 CONCLUSIONES	91
14.0 PERSPECTIVAS.....	93
REFERENCIAS	94

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Levadura asesina <i>C. lusitaniae</i> (naranja), contra el patógeno <i>P. digitatum</i> (verde), captado por microscopio electrónico de barrido (Varo, Raya-Ortega, & Trapero, 2016).	18
Figura 2. Síntomas causados por <i>Fusarium oxysporum</i> , en distintos órganos de planta de tomate (FAO, 2013).	22
Figura 3. Mal de los almácigos en plantas de tomate (FAO, 2013).	23
Figura 4. Moho gris en plantas de tomate (FAO, 2013).	24
Figura 5. Oídio en plantas de tomate (FAO, 2013).	25
Figura 6. Moho en hojas de tomate (FAO, 2013).	26
Figura 7. Tizón temprano en frutos y hojas de tomate (FAO, 2013).	27
Figura 8. Tizón tardío en hojas y frutos del tomate (FAO, 2013).	28
Figura 9. Podredumbre en tallo de planta de tomate (FAO, 2013).	29
Figura 10. Moho blanco en planta de tomate (FAO, 2013).	30
Figura 11. Afecciones causadas por <i>Verticillium dahliae</i> en tomate (FAO, 2013).	31
Figura 12. Antracnosis en fruto de tomate (FAO, 2013).	32
Figura 13. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> inoculadas con hogo patógeno del tomate <i>Fusarium oxysporum</i> y <i>Alternaria solani</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> control de <i>Fusarium oxysporum</i> (A) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> control de <i>Alternaria solani</i> (B) (Parasuraman, et al. 2020).	36
Figura 14. Diluciones seriadas de la muestra (Brock & Madigan 1993).	45
Figura 15. Fotos de tinción Gram de algunas cepas aisladas de frutos, hojas y suelo.	53
Figura 16. Actividad inhibitoria de las 16 cepas con mayor efecto fúngico sobre el crecimiento radial de <i>F. oxysporum</i> en medio de cultivo.	54
Figura 17. Actividad inhibitoria de las 12 cepas con mayor efecto fúngico sobre el crecimiento radial de <i>F. brachygibbosum</i> en medio de cultivo.	55
Figura 18. Fotos de la cepa bacteriana B103 en donde se observa su efecto inhibitorio sobre el crecimiento radial de <i>F. brachygibbosum</i>	¡Error! Marcador no definido.
Figura 19. Fotos de la cepa B102 en donde se observa su efecto inhibitorio sobre el crecimiento radial de <i>F. oxysporum</i>	¡Error! Marcador no definido.
Figura 20. Actividad antifúngica de las cepas B102 y B103 contra esporas de <i>F. brachygibbosum</i> . El cálculo de inhibición porcentual se basó en la estimación del número total de conidios germinados y no germinados en doce campos microscópicos.	59

Figura 21. Actividad antifúngica de las cepas B90 y B92 contra esporas de *Fusarium sp.* HPJ. El cálculo de inhibición porcentual se basó en la estimación del número total de conidios germinados y no germinados en doce campos microscópicos..... 60

Figura 22. Plantas de jitomate inoculadas con esporas fúngicas de *F. oxysporum* (control positivo) (A), sin tratamientos (control negativo) (B), con cepa B102 más esporas de *F. oxysporum* (C), con cepa B103 más esporas de *F. oxysporum* (D) y con consorcio (B102 y B103) más esporas de *F. oxysporum* (E). 70

Figura 23. Plántulas de jitomate inoculadas con B92 más esporas de *Fusarium sp.* HPJ (A) y control positivo (B).....**¡Error! Marcador no definido.**

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Fungicidas más utilizados en cultivos, modo de acción, mecanismos y patógenos que afectan. (Modificado de Cabello, 1996).	15
Tabla 2. Taxonomía del jitomate	20
Tabla 3. Recopilación de control de bacterias sobre hongos patógenos de <i>S. lycopersicum</i>	35
Tabla 4. Taxonomía de <i>Fusarium</i>	39
Tabla 5. Resultados obtenidos de plántulas de jitomate tratadas con bacterias y <i>F. oxysporum</i> ..	78
Tabla 6. Resultados obtenidos de plántulas de jitomate tratadas con bacterias y <i>F. brachygibbosum</i>	81
Tabla 7. Resultados obtenidos de plántulas de jitomate tratadas con bacterias y hongo <i>Fusarium</i> <i>sp.</i> HPJ.....	84

1.0 INTRODUCCIÓN

Uno de los principales desafíos del aumento exponencial de la población humana es la creciente demanda de alimentos para satisfacer las necesidades básicas. La agricultura se enfrenta al reto de abastecer a la población con estos recursos, pero también debe lidiar con la grave problemática del daño a los cultivos causado por patógenos. El control biológico es crucial en este contexto, ya que, en México, de las especies descritas, alrededor de 400 son catalogadas como plagas agrícolas (Salazar-Solís & Salas-Araiza, 2003), lo que requiere la implementación de medidas de control efectivas para asegurar las cosechas. Según la FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura), las pérdidas en la producción agrícola mundial debido a plagas varían entre el 20% y el 40%. Estos daños varían en función de la región, la temporada, el cultivo y la plaga, lo que provoca pérdidas económicas significativas, estimadas en millones de dólares anuales (Toral, Rodríguez, Béjar, & Sampedro, 2020).

El jitomate, en particular, se ve afectado por numerosas enfermedades que limitan su rendimiento productivo. Actualmente, es sensible a más de 200 enfermedades (Altaf, et al. 2022), lo que representa una limitación en el rendimiento de la producción. Entre los patógenos que causan estas enfermedades, destacan los hongos fitopatógenos, los cuales generan pérdidas importantes en el rendimiento del cultivo.

Aunque los pesticidas han demostrado ser una opción eficaz para controlar las plagas, sus efectos dañinos están bien documentados, incluyendo la degradación de los recursos naturales, la contaminación ambiental y la toxicidad para los usuarios. Además, el problema de las plagas ha aumentado notablemente. Para revertir la tendencia hacia el uso masivo de productos químicos sintéticos, es necesario adoptar métodos alternativos y no contaminantes, como el control biológico, el uso restringido de productos químicos selectivos y el empleo de cultivos resistentes a las plagas. Estos métodos abordan muchos de los problemas causados por las plagas sin recurrir a productos químicos de amplio espectro, que provocan alteraciones y contaminación ambiental.

En la actualidad, varios estudios han demostrado que ciertas bacterias pueden controlar diversas especies de hongos patógenos en el cultivo de jitomate. El descubrimiento de nuevas especies de bacterias con potencial para controlar hongos patógenos en cultivos de tomate se presenta como una alternativa prometedora para reducir el uso de fungicidas y minimizar su impacto ambiental.

2.0 ANTECEDENTES

2.1 Enfermedades fitopatógenas

"Las enfermedades fitopatógenas representan un factor limitante significativo para la producción agrícola en diversas regiones del mundo. Estas enfermedades pueden ser provocadas por diversos agentes parasitarios, como bacterias, hongos, virus, nematodos, insectos e incluso plantas fanerógamas parásitas. El desarrollo de una enfermedad requiere la interacción de tres elementos fundamentales: un hospedero vegetal susceptible, un agente patógeno y condiciones ambientales favorables. La interacción de estos factores genera alteraciones fisiológicas en la planta, afectando su desarrollo y productividad (Jones 2001).

2.2. Control de enfermedades fitopatógenas

El control de enfermedades fitopatógenas se define como la reducción de su incidencia o severidad en los cultivos. En los ecosistemas naturales, este control ocurre de manera espontánea como resultado del equilibrio ecológico. No obstante, las prácticas agrícolas intensivas suelen reducir la biodiversidad, alterando dicho equilibrio. Ante esta alteración, los ecosistemas responden intentando restaurar la estabilidad perdida. Un ejemplo claro es la sustitución de una pradera natural por un monocultivo; esta simplificación del ecosistema favorece la aparición y proliferación de plagas o patógenos, los cuales pueden desarrollarse de forma explosiva y causar severos daños a los cultivos. En un intento por contrarrestar estos brotes, se recurre al uso de pesticidas, los cuales, si bien controlan a los organismos dañinos, también eliminan a sus enemigos naturales, agravando aún más el desequilibrio ecológico. Esta práctica ha traído consecuencias negativas como la disminución de la productividad agrícola, el incremento de los costos de producción, la contaminación del suelo, aire y agua, así como efectos adversos en la salud humana (Santos et al., 2010).

2.2.1 Pesticidas

La FAO (por sus siglas en inglés: Food and Agriculture Organization), establece que un plaguicida o pesticida "es la sustancia o mezcla de ellas, destinada a prevenir, destruir o controlar plagas, incluyendo los vectores de enfermedad humana o animal; las especies no deseadas de plantas o animales que ocasionan un daño duradero y otras que interfieren con la producción" (FAO, 2013).

Los pesticidas juegan un papel clave en la agricultura convencional, para alcanzar y mantener niveles altos de productividad y rentabilidad (Villacrés, 2014).

Los pesticidas se pueden clasificar de diversas maneras, dependiendo de sus características físicas, químicas y biológicas (Schaaf, A. A. 2015). Algunas de las clasificaciones más comunes incluyen (EarthSally, 2023):

1. Según el tipo de organismo que combaten:

- Fungicidas: Sustancias utilizadas para prevenir o controlar enfermedades causadas por hongos fitopatógenos, como mildiu, roya, moho gris o tizón.
- Insecticidas: Diseñados para eliminar o repeler insectos que afectan los cultivos, ya sea por alimentación directa o por actuar como vectores de enfermedades.
- Herbicidas: Empleados para eliminar o inhibir el crecimiento de malezas que compiten con los cultivos por recursos como agua, luz y nutrientes.
- Nematicidas: Utilizados para controlar nematodos fitoparásitos, que dañan las raíces de las plantas y reducen el rendimiento agrícola.
- Acaricidas: Dirigidos contra ácaros, pequeños artrópodos que también pueden causar daño a hojas, frutos y otras estructuras vegetales.
- Rodenticidas: Usados para controlar roedores que pueden destruir cultivos directamente o contaminar productos almacenados.
- Bactericidas: Agentes diseñados para combatir infecciones bacterianas en las plantas.

2. Según su toxicidad aguda:

Se clasifican con base en el riesgo que representan para los seres humanos y otros organismos no objetivo, variando desde productos de baja hasta alta toxicidad.

3. Según su vida media o persistencia en el ambiente:

- Pesticidas persistentes: Permanecen activos durante largos periodos, lo que aumenta su eficacia pero también su impacto ambiental.
 - Pesticidas no persistentes: Se degradan rápidamente, reduciendo el riesgo de contaminación pero requiriendo aplicaciones más frecuentes.
4. Según su estructura química:
- Organofosforados, carbamatos, organoclorados, piretroides, entre otros, cada uno con distintos mecanismos de acción y perfiles de toxicidad.
5. Según su uso o modo de acción:
- Pueden ser sistémicos, cuando son absorbidos y distribuidos por toda la planta, o de contacto, cuando actúan directamente sobre el organismo al ser aplicados.

Entre los pesticidas más utilizados en la agricultura, los fungicidas destacan por su eficacia en la prevención y control de enfermedades causadas por hongos fitopatógenos. En la Tabla 1 se presentan algunos de los fungicidas más empleados en los cultivos.

Tabla 1. Fungicidas más utilizados en cultivos, modo de acción, mecanismos y patógenos que afectan. (Modificado de Cabello, 1996).

<i>Fungicida</i>	<i>Modo de acción</i>	<i>Mecanismo de acción</i>	<i>Patógeno</i>
Azufre	Contacto	Germicidas, fungicidas, parasiticidas y queratolíticas.	Hongos, ácaros e insectos
Fluopyram	Sistémico	Inhibidor del succinato deshidrogenasa actuando a nivel de la cadena respiratoria del patógeno.	Hongos
Tebuconazole	Contacto y sistémico	Inhibe la biosíntesis del ergosterol del hongo parásito de la planta huésped, impidiendo la multiplicación del hongo.	Hongos

Cobre	Contacto	Inhíbe procesos metabólicos y fisiológicos como la eritropoyesis, fosforilación oxidativa y homeostasis.	Hongos y bacterias
Mancozeb	Contacto	Inactiva los grupos sulfhidrilo de aminoácidos y enzimas en las células fúngicas.	Hongos
Cimoxanilo	Contacto y sistémico	Inhíbe procesos metabólicos en las células de los hongos sensibles (síntesis de ADN y ARN, síntesis de aminoácidos y de lípidos, respiración celular y permeabilidad de la membrana celular).	Hongos
Procimidona	Sistémico	Inhíbe la germinación de esporas, crecimiento micelial y la síntesis de triglicéridos en los hongos.	Hongos

2.2.2 Uso de pesticidas para el control de enfermedades fitopatógenas

Los pesticidas son sustancias químicas de alta complejidad, esenciales para resolver problemas comunes en los cultivos. Según estadísticas de la FAO, dos tercios de la humanidad están subalimentados, lo que ha impulsado un aumento en la producción agrícola para satisfacer las necesidades alimenticias. A nivel mundial, la producción de pesticidas sintéticos se ha incrementado desde el siglo XX como parte del desarrollo industrial. La implementación de agroquímicos, específicamente pesticidas, ha sido fundamental en el crecimiento de la agricultura, resultando en un notable aumento de los rendimientos. Esta intensificación se ha caracterizado también por la adopción de nuevas tecnologías que potencian la producción (Campos, 2018).

En un contexto de producción intensiva, los pesticidas se han convertido en una parte integral de los sistemas agrícolas modernos, contribuyendo significativamente a mejorar la producción de las cosechas y controlando las enfermedades causadas por diversos patógenos en los cultivos. Sin embargo, a pesar de su importante aporte a la agricultura, los pesticidas generan residuos que persisten en el medio ambiente, causando efectos negativos (Bürger et al., 2012).

2.2.3 Impacto de pesticidas en el medio ambiente y en la salud humana

Los plaguicidas, también conocidos como pesticidas, son sustancias deliberadamente tóxicas diseñadas para atacar un sistema biológico en particular. Sin embargo, estas sustancias carecen de especificidad y, además de afectar a la especie patógena, pueden impactar simultáneamente a otras especies de organismos vivos, incluido el ser humano. En términos generales, el comportamiento ambiental de estos pesticidas se considera una contaminación difusa, caracterizada por no originarse en un punto definido, sino en múltiples puntos. Este tipo de contaminación puede, con el tiempo, causar afecciones significativas, ya que estos contaminantes se acumulan en el entorno, afectando de diversas formas tanto al medio ambiente como a la salud humana. Entre los efectos en la salud se incluyen el deterioro funcional debido a su alta toxicidad, lesiones patológicas que afectan el funcionamiento del organismo y reducen su capacidad de respuesta ante factores de estrés o riesgo. Una vez liberados en el ambiente (aire, agua, suelo y biota), los pesticidas siguen una dinámica determinada no solo por sus propiedades químicas y físicas, sino también por las características del entorno (Schaaf, A. A., 2015). Un aumento en el uso de estos químicos genera mayores impactos negativos sobre la salud humana y los ecosistemas, así como la pérdida de especies enemigas naturales de las plagas, que se vuelven más resistentes a los pesticidas de uso frecuente (Ha, 2014).

Cada año, alrededor de un millón de personas en el mundo mueren o enferman debido al envenenamiento causado por residuos de pesticidas. En la comunidad científica existe una creciente preocupación por el impacto de los pesticidas en la disminución de las poblaciones de abejas, lo que a su vez afecta la polinización de los cultivos (Frazier et al., 2015), reduciendo así el rendimiento agrícola y poniendo en riesgo la seguridad alimentaria. Este riesgo se ha incrementado debido al limitado desarrollo tecnológico, que dificulta el monitoreo de pesticidas en alimentos, aire, agua, suelo y otros componentes del ecosistema, lo que impide reconocer la necesidad de mejorar el uso y manejo de estos químicos (Díaz & Aguilar, 2018).

2.3 Control biológico

El control biológico fue concebido a principios del siglo XIX, cuando algunos naturalistas de diferentes países destacaron el papel fundamental de los organismos en la naturaleza. A través de la implementación del control biológico, se busca restablecer el equilibrio ecológico perturbado mediante el uso de organismos vivos o sus metabolitos para eliminar o reducir los daños causados por organismos perjudiciales (Badii & Abreu, 2006).

El control biológico se caracteriza por su capacidad para disminuir las poblaciones de enemigos naturales cuando estas aumentan, reduciendo significativamente su número (ver Figura 1). Originalmente, el control biológico se definió como: "la acción de parásitos, depredadores o patógenos que mantienen las poblaciones de otros organismos en un nivel más bajo del que podrían alcanzar en su ausencia" (Guédez, 2008).

La regulación de plagas mediante agentes de control biológico es gestionada por el ser humano con bases ecológicas no dañinas (Van Den Bosch, 1982).

Una definición más actual sobre control biológico es: "el uso de parasitoides, depredadores, patógenos, antagonistas y poblaciones competidoras para suprimir una población de plagas,



Figura 1. Levadura asesina *C. lusitaniae* (naranja), contra el patógeno *P. digitatum* (verde), captado por microscopio electrónico de barrido (Varo, Raya-Ortega, & Trapero, 2016).

haciendo esta menos abundante y por lo tanto menos dañina". A comparación de la definición antes mencionada, esta es mucho más amplia e incluye todos los grupos de organismos con capacidad de mantener o regular poblaciones de patógenos a un nivel mucho menor (Pérez, 2004). En México 1949. registró el primer caso exitoso de control biológico, donde se introdujeron desde India y Pakistan, cuatro parasitoides: *Amitus Hesperidium*, *Encarsia opulenta*, *E.clypealis* y *E.smithi*, para la regulación de poblaciones de mosca prieta de los cítricos *Aleurocanthus woglumi* (Rodríguez, 2007).

2.3.1 El control biológico como alternativa al uso de pesticidas

La incidencia de plagas y enfermedades puede minimizarse mediante el uso de prácticas culturales como la rotación de cultivos y el manejo integrado de plagas y enfermedades. Este último es una alternativa esencial para el desarrollo de una agricultura sustentable que garantice la seguridad alimentaria, ya que combina métodos biológicos, culturales y químicos de manera compatible. En este contexto, destaca el uso de agentes de control biológico, los cuales reducen la resistencia de los organismos fitopatógenos y disminuyen la contaminación del suelo y el agua (Villarreal et al., 2018).

En la actualidad, la gestión responsable del suelo, la sustentabilidad ambiental y el uso de controles biológicos son aspectos de gran relevancia. Muchos de estos agentes de control biológico permiten reducir significativamente el uso de agroquímicos, especialmente en el marco de un manejo integrado de plagas, lo que representa una alternativa sostenible para la protección de los cultivos (Guédez, 2008).

3. Jitomate (*Solanum lycopersicum*)

El jitomate (*Solanum lycopersicum*) pertenece a la familia *Solanaceae* (Tabla 2). Es una planta dicotiledónea y herbácea perenne. Presenta un tallo grueso, pubescente, anguloso y de color verde, que mide entre 2 y 4 cm de ancho, compuesto de epidermis con pelos glandulares, corteza, cilindro vascular y tejido medular. Del tallo se forman tallos secundarios, nuevas hojas y racimos florales y en la porción distal se ubica el meristemo apical. Sus hojas son pinnadas y compuestas, de color verde. Sus flores se agrupan en inflorescencias de tipo racimo y su fruto es una baya bilocular o plurilocular, subesférica globosa o alargada, es de color verde en estado inmaduro y cuando madura su tonalidad cambia a rojo (Escobar & Lee, 2009).

Es originario de centro América (Perú, Bolivia, Ecuador); sin embargo, su domesticación fue en el sur de México y norte de Guatemala. Los nativos lo cultivaban antes de la conquista de América, pero a partir del siglo XIX, es cuando toma gran relevancia económica en todo el mundo (Okumoto, S.1992). La palabra jitomate, es empleada en la región central de nuestro país, procede del náhuatl xictli, ombligo y tomatl, tomate, que significa tomate de ombligo. En otras regiones en México, se emplea de manera común la palabra tomate. El jitomate crece en casi todos los ambientes y suelos, debido a su adaptabilidad, sin embargo, en temperaturas bajas y vientos fuertes suelen afectar de

forma negativa al cultivo. Los principales tipos de jitomate son saladette, bola y Cherry (FAO 2013).

Tabla 2. Taxonomía del jitomate

<i>Reino</i>	<i>Plantae</i>
<i>División</i>	Magnoliophyta
<i>Clase</i>	Magnoliopsida
<i>Subclase</i>	Asteridae
<i>Orden</i>	Solanales
<i>Familia</i>	Solanaceae
<i>Género</i>	<i>Solanum</i>
<i>Especie</i>	<i>Lycopersicum</i>

Fuente: (Semillaria 2015).

3.1. Producción

La producción de jitomate ha ido en aumento a nivel mundial en los últimos años, entre los principales países productores se encuentra México, ocupando el décimo lugar a nivel mundial (FAO 2013, Hernández-Herrera et al., 2014).

En la actualidad, el jitomate se considera como una de las hortalizas más importantes; después de la papa, es la más consumida en el mundo (Blancard, 2011) ya que tiene una alta demanda por su valor nutricional y por su uso a nivel industrial. En el periodo del 2015 – 2016 se registraron 1014 productores, con un área de siembra de 1171,9 hectáreas y una producción de 69 040.45 toneladas (López, L. 2014).

La importancia de la producción del jitomate en México radica en que representa un alto valor comercial, respecto a otro tipo de cultivos. En el estado de Sonora, su producción se ha visto afectada por la aparición de enfermedades, alcanzando pérdidas de hasta 100% de la producción (Martínez-Ruiz, 2016).

En un ámbito mundial la hortaliza es cultivada en más de 100 países, entre los cuales destacan: China, Estados Unidos, India, Turquía y Egipto. A nivel mundial la producción del tomate está en constante crecimiento, no solo por el aumento de cultivos, sino también por el aumento de tecnologías implementadas para elevar los rendimientos. La producción destinada para consumo

en fresco del tomate es del 75%, y el 25% restante se destina para la industria en donde se elaboran productos como: pasta de tomate, salsas y tomate deshidratado (Díaz, V 2014).

3.2. Enfermedades del jitomate causadas por hongos

Muchas de las enfermedades que afectan al jitomate, representan una limitante para el rendimiento de la producción. En la actualidad existen cerca de 58 enfermedades que atacan este cultivo (Fernández-Herrera, E., et al. 2013). Entre los patógenos que originan estas enfermedades destacan los hongos fitopatógenos, los cuales causan pérdidas importantes en el rendimiento del cultivo. Estos se encuentran de manera natural en suelos agrícolas ocasionando destrucción de tejidos de la hoja de la planta huésped, tallo y raíces; conduciendo a el bloqueo del flujo de nutrientes de la planta y como resultado su muerte (Zhang et al., 2015; Lamour et al., 2012)

Parte del ciclo de vida de los hongos se presenta en las plantas, ya que estas les sirven de hospedero y la parte restante de su ciclo lo pasan en suelos. Sin embargo, en muchos hongos todo su ciclo de vida lo transitan en su hospedero y solo las esporas caen al suelo, en espera de ser llevadas a un hospedero para completar su ciclo (Agrios, 2007).

3.2.1 Fusariosis

3.2.1.1 Infección

Esta enfermedad es causada por *Fusarium oxysporum*. El hongo también presenta hospederos alternativos de la familia Solanáceas como el pimiento y la berenjena. En el suelo el patógeno en forma de clamidosporas (forma de resistencia) puede permanecer durante años y después penetrar a través de las raíces hasta el sistema vascular de la planta de tomate. La propagación es mediante conidios, dispersándose por agua o viento. El rango de temperaturas óptimas para su desarrollo es de 18° a 20 ° C y también puede desarrollarse en condiciones de exceso de agua y temperaturas bajas (FAO, 2013).



Figura 2. Síntomas causados por *Fusarium oxysporum*, en distintos órganos de planta de tomate (FAO, 2013).

3.2.1.2 Sintomatología

Inicialmente los síntomas se presentan a través de la caída de los pecíolos de hojas superiores. Las hojas inferiores se vuelven amarillas, avanzando hacia el ápice y mueren. Además, provoca podredumbre de raíces (ver Figura 3). Hay un oscurecimiento de los vasos. Las plantas presentan síntomas similares a los producidos por *Verticilium spp* (FAO, 2013).

3.2.1.3 Ciclo de la enfermedad

El ciclo comienza con la germinación de las clamidosporas presentes en tejidos muertos del hospedante. Las hifas del hongo penetran de forma directa la epidermis de las raíces, pasan por la corteza y la endodermis y entran a los vasos de la xilema, también las hifas pueden penetrar a través de las heridas hechas en forma mecánica o por otros organismos como nematodos o insectos. Sin embargo, la penetración directa a través de las raíces es la forma más común de penetración del patógeno. Ya que el hongo se encuentra dentro de la planta, se va mover hacia el tejido vascular por colonización intracelular a los vasos del xilema y los invade cuando están maduros. La colonización se lleva a cabo por el crecimiento del micelio o por medio de transporte pasivo de microconidas (De Granada, et al. 2001).

3.2.2 Mal de los almácigos

3.2.2.1 Infección

Es una de las principales enfermedades que atacan a las semillas del tomate durante la germinación, a las plántulas y al trasplante en el lote definitivo. Los agentes causales de esta enfermedad son un complejo de hongos: *Rhizoctonia solani*, *Pythium spp.*, *Fusarium spp.*, *Sclerotinia spp.*, *Sclerotium spp.* y *Phytophthora spp.* Este complejo de hongos posee un amplio rango de hospedantes que sobreviven en el suelo. La diseminación de esporas es mediante corrientes de aire y agua de riego. El rango de temperatura óptima para la infección es de 10° a 20°C y elevada humedad relativa. En suelos fríos con exceso de riego, baja luz y escasa ventilación, los ataques por *Pythium spp.*, *Phytophthora spp.*, suelen ser más frecuentes, mientras que con temperaturas más elevadas y suelos más secos predominan las especies *R. solani* y *S. rolfsii* (FAO, 2013).

3.2.2.1 Sintomatología

Se manifiesta por medio de lesiones necróticas profundas de un color pardo oscuro, de aspecto acuoso o seco cuando hay un progreso de la enfermedad. Se va a distribuir la enfermedad por medio de manchones (ver Figura 4) (FAO, 2013).



Figura 3. Mal de los almácigos en plantas de tomate (FAO, 2013).

3.2.3.

Moho gris

3.2.3.1 Infección

Esta es otra de las principales enfermedades que atacan a la planta y fruto del tomate. Su agente causal es *Botrytis cinérea*. Este hongo presenta un amplio rango de hospedantes entre ellos está el pimiento, berenjena, lechuga y poroto. El hongo tiene la capacidad de sobrevivir en el suelo en

forma de micelio, conidios y esclerocios. La propagación de la enfermedad es a través de conidios, los cuales son dispersos por corrientes de agua o aire (FAO, 2013).

3.2.3.2 Sintomatología

Los síntomas se van a manifestar por medio de lesiones deprimidas, elípticas y acuosas que suelen presentar abundante micelio de color gris oscuro pulverulento en los extremos distales de los brotes y ramilletes florales (ver Figura 5). En las hojas se desarrollan manchas grandes apergaminadas, circulares o en forma de llamas de un color castaño- amarillento, son lisas o de numerosos círculos concéntricos castaños con diferentes tonalidades. En los tallos, en puntos de inserción de las ramas y en el cuello, pueden aparecer canchales hundidos de color castaño claro que se cubren de fructificaciones del hongo. El fruto también se ve afectado por el patógeno, donde este produce una podredumbre acuosa de color gris- verdosa, con una evolución muy rápida. También el hongo puede producir deformación de frutos, manchas o anillos translucidos blanco difuso (FAO, 2013).



Figura 4. Moho gris en plantas de tomate (FAO, 2013).

3.2.4 Oídio

3.2.4.1 Infección

Está es una enfermedad de importancia económica del tomate, su dispersión en la planta es bastante rápida. Los agentes causales son: *Leveillula taurica* y *Erysiphe spp*. Estos patógenos atacan solo el follaje provocando defoliación y asolamiento de los frutos. Los hospederos de estos hongos son: pimiento, zapallito de tronco y numerosas malezas. Sus esporas son dispersadas por viento y agua,

además, el hongo sobrevive en el suelo y su rango de temperatura óptima para proliferar es de 20° a 25°C, con una humedad relativa mayor a 75% (FAO, 2013).

3.2.4.2 Sintomatología

La sintomatología se manifiesta a través de machas circulares en el haz de la hoja de un color blanco (ver Figura 6). Las manchas aparecen primero de forma separa y después ya que progresa la enfermedad el área fotosintéticamente activa disminuye (FAO, 2013).



Figura 5. Oídio en plantas de tomate (FAO, 2013).

3.2.5. Moho de las hojas

3.2.5.1 Infección

Esta afección es causada por *Cladosporium fulvum*. El hongo sobrevive como saprofito sobre los restos del cultivo o también como conidios en el suelo. Los conidios pueden sobrevivir hasta por un año y su diseminación por lo general se presenta por corrientes de viento, pero también pueden ser diseminadas por el hombre o insectos. La semilla contaminada por el hongo es la fuente primaria de la infección. El rango de temperatura para que se presente la enfermedad es de 20° a 25° C, pero también puede desarrollarse en rango de temperatura de 4° a 32° C, la humedad relativa debe ser sobre 80% (FAO, 2013).

3.2.5.2 Sintomatología

Se va a presentar síntomas de manchas amarillentas sin contornos definidos, sobre el haz de la hoja en la zona basal a media de la planta (ver Figura 7). La aparición de las machas comienza a ser de forma separada, posteriormente se hacen más cercanas, disminuyendo el área fotosintética activa de la planta. En el envés de la hoja con el transcurso de la enfermedad, hay una aparición del hongo en forma de eflorescencias al principio blanquecinas y después se convierten en pardo oliváceo. Cuando la enfermedad avanza las hojas se vuelven amarillas, se enrollan, se marchitan y se caen. Ocasionalmente también pueden ser atacados tallos, peciolos, pedúnculos, flores y frutos. En el caso de los frutos, son atacados en la zona peduncular presentando machas negras, secas y sin contornos definidos (FAO, 2013).



Figura 6. Moho en hojas de tomate (FAO, 2013).

3.2.6 Tizón temprano

3.2.6.1 Infección

Esta enfermedad ataca el follaje, tallos y frutos del tomate, puede aparecer desde plántulas hasta la madurez del fruto (ver Figura 8). En el caso de ataques graves puede provocar importantes pérdidas y causar caída de hojas. Su agente causal es *Alternaria dauci*. El hongo presenta hospedadores alternativos de las Solanáceas. El hongo sobrevive en el suelo y en la semilla. La infección del patógeno comienza cuando este penetra directamente por la cutícula y a través de heridas. La

propagación es a través de corrientes de aire, agua de riego. El rango de temperatura óptimo para desarrollo de la enfermedad es de 24° a 29 ° C (FAO, 2013).

3.2.6.2 Sintomatología

Los síntomas se presentan en el follaje a través de manchas irregulares circulares de color pardo oscuro, por lo general rodeadas por un halo amarillo y en el interior de la mancha se pueden ver anillos. Las hojas viejas son las primeras en ser atacadas. Cuando las lesiones progresan toda la hoja amarillea y cae. En los tallos, pecíolos y sépalos las manchas son pardo oscuras, alargadas, bien delimitadas y sus centros más oscuros con anillos concéntricos. En el caso de los frutos estos pueden infestarse en estados inmaduros y maduros, presentando manchas necróticas oscuras, cóncavas, deprimidas en la zona peduncular y también en las grietas de crecimiento y en otras heridas (FAO, 2013).



Figura 7. Tizón temprano en frutos y hojas de tomate (FAO, 2013).

3.2.7. Tizón tardío

3.2.7.1 Infección

Esta enfermedad es causada por el hongo *Phytophthora infestans*, la enfermedad se desarrolla entre 15° y 22° C y a una humedad relativamente alta (mayor de 80%). La transmisión del patógeno se presenta por medio de las semillas del tomate y puede sobrevivir en forma de micelio en otras plantas cultivadas o malezas de la familia de las solanáceas o en residuos de cosecha en el suelo. Las esporas son fácilmente diseminadas por el viento o por el agua de riego cuando la infección es alta en hojas y tallos (FAO, 2013).

3.2.7.2 Sintomatología

La sintomatología del tizón tardío, se manifiesta través de manchas grandes húmedas con centros secos y pardos, estos están rodeados de un margen claro que se desarrolla en el envés de la hoja (ver Figura 9). Las hojas infectadas toman una coloración castaña y por lo general mueren rápidamente.

Las lesiones ocasionadas en los tallos se inician generalmente en el punto de inserción de las ramas o en la base de los peciolo de las hojas, extendiéndose de manera longitudinal abarcando el parénquima cortical. En el caso de los frutos, estos pueden manifestar manchas pardas jaspeadas y abollonadas en la superficie del contorno, presentando una tonalidad más oscura en el centro y más clara en la zona de la periferia, con una evolución rápida. Cuando hay una enfermedad más avanzada los frutos se pueden llenar de micelio blanco (FAO, 2013).



Figura 8. Tizón tardío en hojas y frutos del tomate (FAO, 2013).

3.2.8 Podredumbre del tallo y raíz

3.2.8.1 Infección

La infección es causada por el hongo *Phytophthora parasítica*. Este hongo sobrevive de manera libre en el suelo y presenta estructuras de resistencia denominadas clamidosporas, que pueden mantenerse durante 9 a 10 meses. La penetración del patógeno en la planta ocurre por medio de apresorios a través de la epidermis. Las esporas son dispersas por medio de nematodos, agua, viento y lombrices los cuales trasladan el patógeno permitiendo llegar a las esporas a otro sitio.

Las condiciones ideales para la infección son de temperaturas entre los 30° a 32° C, pero también puede ocurrir en una temperatura de 9° a 39° C, aunado a una elevada humedad (FAO, 2013).

3.2.8.2 Sintomatología

Los síntomas se manifiestan a partir del almácigo (sitio donde se siembran las semillas). Cuando hay presencia de ataques más graves en esta enfermedad, puede provocar pérdidas importantes de las plántulas en el almácigo o después del trasplante en el lote definitivo; además, los frutos a nivel del suelo pueden ser afectados (ver Figura 10). Los síntomas pueden dividirse de acuerdo con la etapa por la que esté transitando el cultivo. Cuando la enfermedad se presenta durante el almácigo se observarán fallas en las plántulas. En posteriores ataques al trasplante, se va a observar podredumbre blanda de coloración negra en la zona del cuello de la planta que posteriormente se va a marchitar y morir. Los frutos manifiestan círculos concéntricos de color parduzco (FAO, 2013).



Figura 9. Podredumbre en tallo de planta de tomate (FAO, 2013).

3.2.9 Podredumbre húmeda del tallo o Moho blanco

3.2.9.1 Infección

Esta enfermedad es causada por *Sclerotinia sclerotiorum*. Este puede atacar desde trasplante hasta el desarrollo de planta, disminuyendo la cantidad de plantas y su rendimiento. Este hongo puede atacar a otros cultivos como: pimiento, berenjena, poroto, lechuga, melón y pepino. El patógeno puede a través de los esclerocios puede persistir en el suelo varios años hasta que aparezca un hospedero susceptible. La infección en la parte aérea de la planta aparecen a partir de la floración. En el caso de las ascosporas necesitan de energía externa para comenzar la infección como: pétalos marchitos, tejidos necróticos del tallo). Para la dispersión de la infección las esporas utilizan corrientes de aire y agua. El rango de temperatura ideal para la enfermedad es de 15° a 21° C y una humedad elevada (FAO, 2013).

3.2.9.2 Sintomatología

Los síntomas comienzan a manifestarse a nivel del suelo. Cuando la enfermedad comienza se observan lesiones en las axilas de las hojas o sobre los tallos. El síntoma es una podredumbre húmeda y blanda sobre los tejidos corticales para luego profundizar (ver Figura 11). El área afectada es de color castaño claro que en condiciones de elevada humedad se manifiesta en micelio blanco algodónoso y dentro aparecen esclerocios oscuros de tamaño y forma variable (ver figura 12) (FAO, 2013).



Figura 10. Moho blanco en planta de tomate (FAO, 2013).

3.2.10 *Verticilliosis*

3.2.10.1 *Infección*

El agente causal de la enfermedad es *Verticillium dahliae*. El patógeno puede permanecer por varios años en el suelo. Su diseminación es a través de corrientes de aire y salpicaduras de agua. Su penetración se ve favorecida por las heridas en las raíces, provocando ataques severos y una disminución del rendimiento y tamaño del fruto. La infección se presenta a temperaturas de 20° a 23° C y a baja luminosidad (FAO, 2013).

3.2.10.2 *Sintomatología*

Los síntomas son muy parecidos a Fusarium, por lo que debe de confirmarse con estudios de laboratorio para confirmar el patógeno causal. La sintomatología se manifiesta a través del marchitamiento y las hojas se vuelven amarillas (ver Figura 12) (FAO, 2013).



Figura 11. Afecciones causadas por *Verticillium dahliae* en tomate (FAO, 2013).

3.2.11 *Antracnosis*

3.2.11.1 *Infección*

Esta enfermedad es causada por el hongo *Colletotrichum gloeosporioides*. El hongo se dispersa por agua o aire. Las condiciones que predisponen la enfermedad son temperaturas entre 20° a 24° C, presencia de humedad elevada relativa y días nublados (FAO, 2013).

3.2.11.2 *Sintomatología*

Los síntomas en frutos se presentan mediante manchas circulares que tienen puntuaciones negras en el centro (ver Figura 13). También se presentan pequeñas lesiones necróticas de color pardo en las raíces (FAO, 2013).



Figura 12. Antracnosis en fruto de tomate (FAO, 2013).

4.0 Enfermedades causadas por bacterias

Una de las enfermedades más frecuentes en los cultivos de jitomate es la causada por *Xanthomonas vesicatoria* comúnmente conocida como “mancha bacterial”. La mancha bacterial, es una enfermedad que puede surgir desde la etapa de la semilla. El patógeno induce manchas negras y húmedas en las hojas. La enfermedad comienza en hojas bajas de la planta en forma de manchas o lesiones de un color negro, por el envés de la hoja se presenta una apariencia húmeda. En los frutos ya sean verdes o maduros, la lesión aparece de forma redonda y de color negro a marrón oscuro y se rodea de un leve halo clorótico, (FAO, 2023).

Otra de las enfermedades más comunes es la llamada tallo hueco, causada por el patógeno *Eriwinia chysanthemi*. Esta enfermedad se manifiesta al principio en las hojas superiores, con un ligero marchitamiento. En etapas más avanzadas, el marchitamiento de la planta puede ser total debido al ataque de la bacteria en el tallo principal, donde se observa una lesión húmeda y acuosa, de color café o negro, (FAO, 2023).

De igual manera, el patógeno *Pseudomonas sp.*, es el causal de una de las enfermedades que se presentan con más frecuencia en los cultivos de jitomate. En este caso los síntomas inician con la pudrición de hojas inferiores mediante un marchitamiento parcial. En los tallos de las plantas

afectadas se presentan agrietamientos que pueden llegar hasta los peciolos de las hojas, (FAO, 2023).

4.1 Enfermedades causadas por otros patógenos

Existen una amplia variedad de patógenos en el jitomate, uno de los patógenos que causan terribles daños en los cultivos es un virus llamado Tomato yellow curl virus (TYCV), pero también decenas de Geminivirus causan significativos daños en los cultivos de América Central y de Sudamérica.

Los insectos son otro patógeno que también ha generado diversos tipos de daños en el tomate. Por ejemplo, las chinches ocasionan manchas en los frutos e inducen formación de sabores no agradables, o el insecto plaga del fruto de jitomate *Neoleucinodes elegantalis*, o diversos ácaros y nematodos como el nematodo *Meloidogyne javanica*, que provoca daño radicular (Medeiros, et al., 2017). Estos agentes pueden también ser responsables de graves daños foliares, provocando pérdidas importantes de rendimiento, (Blancard, 2011).

Es claro como numerosos patógenos biológicos o no, pueden dañar los cultivos de jitomate. Identificar el problema es de gran importancia con la finalidad de atacar y generar diferentes medidas para su prevención y control, (Blancard, 2011).

5.0 Control biológico en jitomate

5.1 Bacterias con actividad antifúngica

El uso de productos biológicos para el control de plagas trasciende el mero control de estas, ya que contribuye a la seguridad alimentaria y a la obtención de productos libres de sustancias tóxicas (Cawoy et al., 2011). El éxito en el uso de antagonistas microbianos radica en la utilización de bacterias nativas, las cuales están adaptadas a las condiciones específicas del hábitat en la superficie de la hoja.

Actualmente, existen diversos estudios que evidencian cómo las bacterias pueden controlar distintas especies de hongos patógenos en el cultivo de tomate. Los aislados bacterianos que protegen a las plantas poseen características similares a las de los patógenos virulentos, con la diferencia de que no son capaces de provocar síntomas de enfermedad en las plantas. En ocasiones, presentan características morfológicas o fisiológicas diferentes, como pigmentación reducida, crecimiento más lento, producción de metabolitos secundarios o producción de determinadas

enzimas (Rubio, 2005). Las bacterias emplean diversos mecanismos ante la presencia de patógenos, siendo la antibiosis uno de los más destacados.

El mecanismo de antibiosis ocurre cuando microorganismos competidores secretan enzimas o metabolitos que causan la lisis celular de otro organismo. Los antibióticos, ampliamente estudiados debido a su importancia en medicina, son los mecanismos de antagonismo entre microorganismos que más se han investigado. La mayoría de los antibióticos han sido aislados de microorganismos del suelo; sin embargo, también se han encontrado antibióticos en microorganismos aislados de otros sitios, como ciertas plantas. Por lo general, los antibióticos están presentes de forma activa en ambientes naturales y pueden ser utilizados en el control biológico (Rubio, 2005).

Las bacterias asociadas a la rizosfera de las plantas son capaces de generar una variedad de mecanismos que influyen positivamente en el crecimiento y desarrollo de las plantas. Según diversos autores, se conocen mecanismos directos e indirectos para la promoción del crecimiento vegetal. Los mecanismos directos están relacionados con la producción de fitohormonas como auxinas y giberelinas, o con la regulación de la producción de hormonas por parte de la planta. Las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR, por sus siglas en inglés) inician su acción mediante mecanismos de quimiotaxis, los cuales están relacionados con la presencia de flagelos, quimiorreceptores y sistemas de regulación codificados genéticamente. Estos factores son fundamentales para la capacidad de colonizar la rizosfera y mantener la comunicación entre las células de la raíz y los microorganismos presentes en el suelo (Camelo et al., 2011).

Las bacterias interactúan con las raíces de las plantas, atraídas por las sustancias excretadas por estas, lo que provoca el movimiento de las bacterias hacia la rizosfera y, de esta forma, se establece una relación de beneficio mutuo. Los mecanismos directos de promoción vegetal incluyen varios procesos, como la producción de sustancias orgánicas derivadas del metabolismo secundario de las bacterias, capaces de promover respuestas fisiológicas específicas en las células vegetales. El segundo mecanismo implica la intervención directa de los microorganismos en los ciclos biogeoquímicos, donde facilitan la disponibilidad de compuestos orgánicos e inorgánicos para que las plantas los aprovechen (Camelo et al., 2011).

5.2 Bacterias con actividad antifúngica en jitomate

El control biológico de enfermedades foliares por medio de bacterias es una estrategia con un gran potencial para el control de hongos patógenos del tomate, reportándose varios ejemplos exitosos, (Tabla 3).

Tabla 3. Recopilación de control de bacterias sobre hongos patógenos de *S. lycopersicum*.

Especie control	Patógeno	EP ^a	Referencia
<i>B. velezensis</i>	<i>B. cinérea</i>	Pudrición de frutos	(Toral et al., 2020)
<i>P. aeruginosa</i>	<i>F. oxysporum</i> y <i>A. solani</i>	Marchitez y tizón temprano	(Parasuraman, et al. 2020).
<i>Streptomyces</i> <i>sp.</i>	<i>V.dahliae</i>	Marchitez	(Cao, Peng, et al. 2016).
<i>Bacillus</i>	<i>Alternaria, Stemphylium</i> y <i>Corynespora</i>	Marchitez, tizón tardío	(Balatti, et al. 2018)
<i>Paenibacillus</i>	<i>Alternaria, Stemphylium</i> y <i>Corynespora</i>	Marchitez, tizón tardío	(Balatti, et al. 2018)
<i>Psychrobacillus</i>	<i>Alternaria, Stemphylium</i> y <i>Corynespora</i>	Marchitez, tizón tardío	(Balatti, et al. 2018)

^a Efectos del patógeno (EP).

Un estudio realizado con rizobacterias las cuales son promotoras del crecimiento vegetal, menciona como este grupo heterogéneo de bacterias, que se pueden encontrar en la rizosfera; es decir, en superficies radicales o en asociación con raíces, benefician a las plantas promoviendo la producción de hormonas y de nutrientes. Estas fijan el N₂ atmosférico para que la planta lo asimile. Además, muchas de estas bacterias favorecen a la planta contra patógenos mediante la producción de antibióticos. En este estudio se implementaron 4 tratamientos con cepas de rizobacterias en el jitomate, en estos experimentos encontraron un aumento notable del crecimiento de las raíces, midiendo la longitud, diámetro y el total de clorofila (Moustaine, M., et al. 2017). Otro estudio que

demuestra la acción promotora del crecimiento por parte de las rizobacterias en el jitomate fue donde aislaron cepas bacterianas, identificadas como *Pseudomonas aeruginosa*. Estas bacterias mejoraron la producción de compuestos que promueven el crecimiento de las plantas como las fitohormonas y el ácido salicílico. También, inocularon semillas del jitomate con las bacterias y observaron que mejoró significativamente la germinación y el crecimiento de *S. lycopersicum* y demostraron como estas bacterias exhibían un efecto inhibitorio significativo hacia los hongos patógenos: *Fusarium oxysporum* y *Alternaria solani* (ver figura 2) (Parasuraman, et al. 2020).

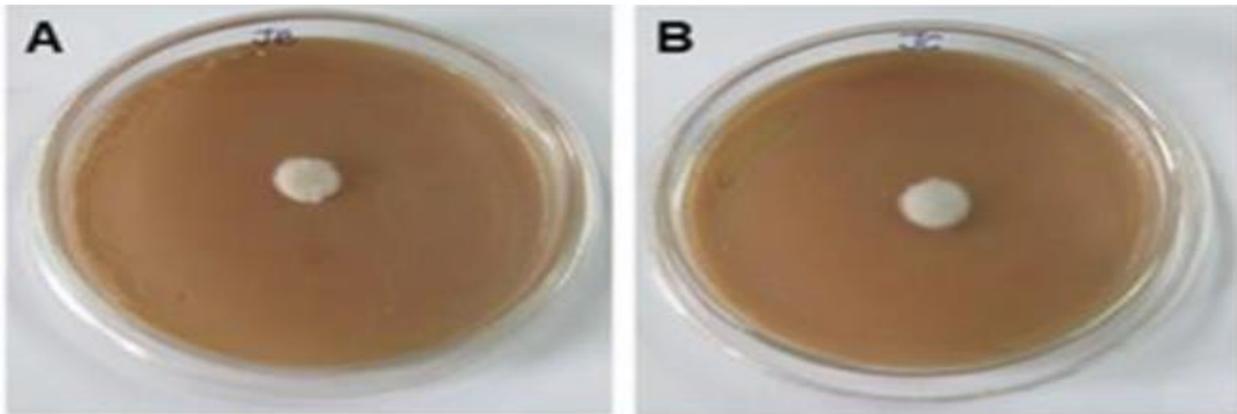


Figura 13. *Pseudomonas aeruginosa* inoculadas con hongo patógeno del tomate *Fusarium oxysporum* y *Alternaria solani*, *Pseudomonas aeruginosa* control de *Fusarium oxysporum* (A) *Pseudomonas aeruginosa* control de *Alternaria solani* (B) (Parasuraman, et al. 2020).

Por otro lado, un estudio realizado con aislados de bacterias de las raíces de *S. lycopersicum*, identificadas como *Streptomyces sp.*, mostró su eficiencia ante la presencia del hongo patógeno *Verticillium* el causante de la marchitez en el jitomate, estas bacterias disminuyeron significativamente la enfermedad, demostrando que las raíces del tomate enfermas pueden ser un reservorio potencial de bacterias con capacidad de control biológico, en este caso la cepa *Streptomyces sp.*, resultó ser un agente de control contra *V.dahliae* (Cao, Peng, et al. 2016).

Otro claro ejemplo de la acción de control en cultivos fue lo reportado por Toral et al., (2020), donde utilizaron la especie *Bacillus velezensis*, contra el patógeno *B. cinérea*, en cultivos de fresa y jitomate. Encontraron que las aplicaciones de la bacteria reducen la infección, también reportan disminución de los parámetros de incidencia y la gravedad de la enfermedad en un 50% y un 60%, respectivamente. El estudio también destaca el potencial de las aplicaciones preventivas de la cepa XT1 para activar mecanismos de defensa en plantas de fresa y jitomate mediante regulación

hormonal. En una revisión sobre el género *Bacillus*, se menciona como se han aislado bacterias de este género de numerosos cultivos de interés económico, los autores mencionan como este género, muestra sus potencialidades en la promoción del crecimiento vegetal y el control biológico de patógenos (Tejera-Hernández, 2011).

6.0 *Fusarium*

El género *Fusarium* se clasifica dentro del filo *Ascomycota*, clase *Sordariomycetes*, orden *Hypocreales* y familia *Nectriaceae* (ver Tabla 4). Entre los hongos filamentosos, *Fusarium* es uno de los géneros más importantes. Descrito por primera vez por Link en 1809, ya había registros desde el siglo XVI basados en observaciones aztecas sobre la podredumbre del maíz causada por especies de *Fusarium*. Los primeros estudios formales sobre los problemas asociados a *Fusarium* comenzaron con la investigación de Martius a mediados del siglo XIX, donde se identificó un hongo de este género como responsable de la podredumbre en papas almacenadas. No obstante, fue a finales del siglo XIX cuando se reconoció su importancia como patógeno de plantas y productor de toxinas. Los estudios iniciales que demostraron la capacidad patogénica de *Fusarium* en plantas vivas fueron publicados entre 1892 y 1899 (Bennett, & Bentley, 2000).

El desarrollo de técnicas de biología molecular ha demostrado una gran heterogeneidad entre las especies del género *Fusarium*. La identificación de estas especies se realiza habitualmente a través de caracteres morfológicos, como los macroconidios. Sin embargo, en el caso de *Fusarium* y otros hongos, los caracteres morfológicos de valor taxonómico son limitados, fácilmente mal interpretables y sujetos a variaciones dependiendo de las condiciones ambientales (Leslie et al., 2001). La reproducción juega un papel crucial en la clasificación de estos hongos. Las formas anamórficas se clasifican según su morfología asexual, aunque se conozca su forma teleomórfica (sexual) (Carlile et al., 2001). Dentro del género *Fusarium*, algunas especies tienen formas de reproducción sexual, como *F. solani*, mientras que otras, como *F. oxysporum*, no tienen esta etapa conocida. Esto complica su clasificación, ya que tradicionalmente las formas sexuales de una especie se han incluido en grupos diferentes con nombres distintos de las formas asexuales (Samuels y Blackwell, 2001). No obstante, en algunas especies asexuales como *F. oxysporum*, se han descrito fenómenos de intercambio genético como la heterocariosis y la parasexualidad. La heterocariosis es una condición en la cual, como resultado de la fertilización o anastomosis, las células de las hifas del hongo contienen núcleos genéticamente distintos (Agrios, 2007).

Tabla 4. Taxonomía de *Fusarium*

<i>Reino</i>	<i>Fungi</i>
<i>División</i>	Ascomycota
<i>Clase</i>	Sordariomycetes
<i>Orden</i>	Hypocreales
<i>Familia</i>	Nectriaceae
<i>Género</i>	<i>Fusarium</i>

Fuente: (Agrios, 1988).

Al estudiar la biología de un patógeno como *F. oxysporum*, surge la dificultad de definir los caracteres distintivos de cada población debido a la falta de criterios morfológicos que permitan una separación intraespecífica. Para organizar y explicar esta variabilidad se utilizan los conceptos de formas especiales, razas patogénicas y grupos de compatibilidad vegetativa (VCG) (Kistler, 2001). Las formas especiales (*f. sp.*) son cepas morfológicamente indistinguibles que se caracterizan por su adaptación a diferentes hospedantes (Deighton et al., 1962). Estas cepas pueden atacar una especie vegetal o varias especies dentro del mismo género. El concepto también se emplea para definir cepas que producen una patología diferente en la misma especie vegetal. Aunque esta definición se basa fundamentalmente en capacidades fisiológicas del hongo y no tiene un valor taxonómico estricto, ha sido útil para los fitopatólogos (Gordon y Martyn, 1997). La nomenclatura para las formas especiales utiliza un trinomio en latín, con el nombre de la especie seguido de una referencia al huésped que parasitan. Algunas de las formas especiales más frecuentes de *F. oxysporum* incluyen *f. sp. melonis*, *f. sp. lycopersici* y *f. sp. radialis-lycopersici*. Se han descrito más de 70 formas especiales dentro de *F. oxysporum* (Armstrong y Armstrong, 1981).

Fusarium spp. es un hongo que vive en el suelo e infecta a las plantas a través de sus raíces, penetrando directamente o a través de heridas. Una vez en contacto con la raíz, el micelio del hongo penetra y se extiende hasta el sistema vascular de la planta (xilema), donde forma microconidios. Posteriormente, el micelio y las esporas ascienden por la corriente de transpiración en la planta. Al finalizar su ciclo, el hongo sobrevive en el suelo o en restos de plantas, en forma de esporas asexuales de pared gruesa denominadas clamidosporas, o bien en forma de micelio o conidios en los restos vegetales infestados (Agrios, 2007). La persistencia de *F. oxysporum* se debe a la

formación de clamidosporas en diversos sustratos, suelo y restos vegetales. Su propagación se facilita por los conidios, producidos en abundancia sobre el cuello de las plantas infectadas, así como por el polvo de suelo contaminado. Estos propágulos pueden ser transportados por el agua (riego, salpicaduras), el viento y las corrientes de aire. Estos hongos parásitos han sido introducidos en algunas plantaciones de tomate a través de sustratos orgánicos o plantas contaminadas (Blancard, 2005).

7.0 Uso de *Bacillus velezensis* como control biológico

El género *Bacillus* destaca por sus características especiales, entre ellas la capacidad de formar endosporas resistentes a condiciones adversas como la desecación, radiación, ácidos grasos y desinfectantes químicos. Estas estructuras le otorgan un papel importante como agente de control biológico. Normalmente, se encuentran en el suelo y forman parte de la rizosfera de las plantas. Gracias a la producción de sustancias como hormonas, antibióticos y otros metabolitos, *Bacillus* se comporta como un colonizador eficaz, permitiéndole ocupar ambientes agrícolas y prevenir la proliferación de microorganismos patógenos (Toral, et al. 2020).

Bacillus velezensis es una bacteria aerobia, grampositiva y formadora de endosporas, que promueve el crecimiento de las plantas. Además, se han identificado numerosas cepas de esta especie que suprimen el desarrollo de patógenos microbianos, incluidos bacterias, hongos y nematodos. *B. velezensis* ha demostrado poseer grupos de genes específicos relacionados con la biosíntesis de metabolitos secundarios, los cuales juegan un papel crucial tanto en la supresión de patógenos como en la promoción del crecimiento vegetal. Específicamente, *B. velezensis* tiene la capacidad genética de sintetizar lipopéptidos cíclicos como surfactina, bacilomicina D, fengycina y bacilibactina, así como policétidos como macrolactina, bacileno y difficidina. Los metabolitos secundarios producidos por *B. velezensis* no solo inducen resistencia sistémica en las plantas, sino que también generan sideróforos, enzimas líticas, bacteriocinas y compuestos orgánicos volátiles (Rabbee et al., 2019).

El uso de *B. velezensis* como agente de control biológico en cultivos de tomate ha sido ampliamente investigado en la literatura debido a su eficacia para combatir diversas enfermedades que afectan a esta planta. Toral et al. (2020) reportan que las aplicaciones de *B. velezensis* reducen la infección causada por *Botrytis cinerea*. Otros estudios resaltan su capacidad para activar mecanismos de defensa en el tomate, incluyendo la producción de hormonas vegetales y compuestos volátiles, como el ácido indolacético (AIA) y el cianuro de hidrógeno (HCN). Además, *B. velezensis* induce la resistencia sistémica (ISR) y afecta la germinación de conidios de hongos patógenos, lo que provoca la muerte celular (Toral et al., 2020). Entre las enfermedades que esta bacteria ayuda a controlar se incluyen la marchitez bacteriana causada por *Ralstonia solanacearum* (Elsayed et al., 2020), la verticilosis causada por *Verticillium dahliae* (Dhouib et al., 2019), el tizón temprano provocado por el hongo *Alternaria solani* (Vignesh et al., 2022), la marchitez causada por

Fusarium oxysporum y *Fusarium graminearum*, el moho gris causado por *Botrytis cinerea*, el tizón tardío causado por *Alternaria alternata* y el moho de la hoja causado por *Fulvia fulva* y *Ustilaginoidea virens* (Myo et al., 2019).

8.0 Uso de *Enterobacter sp.* como control biológico

Enterobacter sp. es una gamma- proteobacteria endófito promotora del crecimiento vegetal, esta bacteria codifica proteínas putativas involucradas en la supervivencia de la rizosfera, para hacer frente al estrés oxidativo o la absorción de nutrientes liberados por las raíces de las plantas, también, brinda protección contra infecciones fúngicas y bacterianas al producir sideróforos y sintetizar algunos compuestos antimicrobianos como 4- hidroxibenzoato y 2- feniletanol (Taghavi, et al., 2010).

En varios estudios se ha demostrado su eficacia de *Enterobacter sp.* para control de plagas en los cultivos, por ejemplo, Alcedo et al., (2018), demostraron que esta cepa es capaz de ejercer un biocontrol contra *Alternaria alternata* en hojas de la planta de jitomate. Otro caso es el mencionado por Xue et al., (2009), ellos mencionan como *Enterobacter sp.* tuvo una eficacia del biocontrol de aproximadamente el 65% contra la marchitez bacteriana provocada por *Ralstonia solanacearum* en planta de jitomate.

9.0 JUSTIFICACIÓN

El daño causado por las plagas en los cultivos varía según la región, la temporada, el tipo de cultivo y la plaga, siendo estos factores determinantes en las pérdidas económicas, que ascienden a millones de dólares anualmente (Toral, et al. 2020).

El uso de pesticidas y fungicidas ha sido una opción viable para el control de plagas en los cultivos. No obstante, su uso excesivo ha generado problemas ambientales. Entre los efectos negativos de este uso irracional se encuentran: la resistencia de las plagas a los plaguicidas, la presencia de residuos en los alimentos y en el medio ambiente (aire, agua y suelo), y la destrucción de especies beneficiosas que actúan como control natural de plagas potenciales. Además, el uso inadecuado de estos productos provoca una reducción de la biodiversidad, así como desequilibrios ecológicos y ambientales (Ramírez González et al., 2016).

Ante la necesidad de mitigar los efectos negativos de los pesticidas y fungicidas sintéticos en el medio ambiente, la agricultura ha comenzado a interesarse por alternativas sostenibles, como el control biológico. Este método no solo busca controlar las plagas, sino también garantizar la seguridad alimentaria y ofrecer productos libres de sustancias tóxicas (Cawoy et al., 2011).

El uso de microorganismos antagonistas como método de control de plagas es una alternativa con gran potencial, ya que las bacterias aisladas que protegen las plantas tienen características similares a las patógenas, pero carecen de la capacidad de producir síntomas de enfermedad en las plantas.

El jitomate (*Solanum lycopersicum*) es considerado una de las hortalizas más importantes; después de la papa, es la más consumida en el mundo (Blancard, 2011) debido a su alta demanda tanto por su valor nutricional como por su uso en la industria para la elaboración de productos como pasta de tomate, salsas y tomate deshidratado. Las enfermedades que afectan al jitomate representan una limitación para el rendimiento de su producción, siendo los hongos fitopatógenos los más perjudiciales, causando pérdidas significativas (Fernández-Herrera, E., et al., 2013). Por ello, el descubrimiento de nuevas bacterias con capacidad inhibidora de hongos en el tomate se presenta como una alternativa sostenible para reducir el uso de pesticidas.

10.0 OBJETIVOS

10.1 Objetivo general

Evaluar el efecto antifúngico de bacterias aisladas de la microbiota de vegetales y suelo, y determinar su efecto antifúngico contra *Fusarium oxysporum*, *in vitro*, planta y fruto de jitomate (*Solanum lycopersicum*).

10.2 Objetivos específicos

1. Aislamiento de bacterias de la microbiota de vegetales y suelo.
2. Determinar el efecto antifúngico de bacterias aisladas de vegetales y suelo, contra *Fusarium oxysporum in vitro*.
3. Identificar las especies de bacterias que presentaron un efecto antifúngico contra *Fusarium oxysporum*.
4. Determinar el potencial efecto antifúngico de bacterias identificadas sobre planta y fruto de jitomate (*Solanum lycopersicum*).
5. Investigar posibles mecanismos del efecto antifúngico que presentan las bacterias identificadas.

PLAN METODOLÓGICO

11.1 Métodos

11.1.2 Aislamiento de bacterias

Se obtuvieron diferentes muestras de frutos, hoja de diferentes árboles y vegetales y suelo de jardín. Para el aislamiento de las bacterias se empleó la metodología descrita por Ghazanfar et al. (2016) con algunas modificaciones:

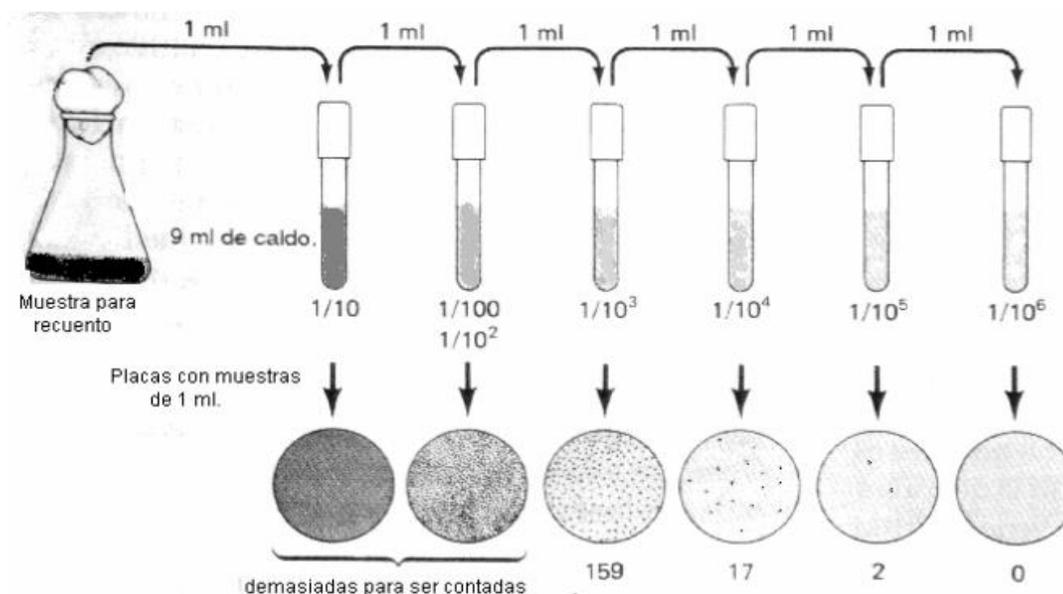


Figura 14. Diluciones seriadas de la muestra (Brock & Madigan 1993).

Las muestras (aprox. 30 g) fueron colocadas en bolsas de plástico; a cada muestra se les adicionó 200 mL de diluyente de peptona y se frotó manualmente desde fuera de la bolsa por 1 minuto. Se realizaron diluciones decimales de las muestras diluidas (ver figura 14). Para hacer una dilución decimal (10^1), se mezcla 1 ml de la muestra con 9 ml del diluyente peptona (DP) *Oxoid*TM (Thermo Fisher Scientific) y así se va haciendo de manera sucesiva hasta llegar a la dilución que se desea. Las diluciones se sembraron (0.1 mL) en cajas que contenían agar para métodos estándar (AME) (DifcoTM Standard Methods Agar) solidificado mediante la técnica de extensión por superficie. Las cajas fueron incubadas a 35° C por 24 horas. A partir con cajas de cultivo con entre 20 a 100 UFC bien separadas, se seleccionaron entre 2 y 4 UFC con características morfológicas diferentes. A cada colonia se le realizó tinción de Gram. Las bacterias aisladas se sembraron en tubos de cultivo con AME inclinado y se incubaron a 35° C por 24 h. Las cepas bacterianas fueron almacenadas en refrigeración hasta su uso.

11.1.3 Efecto antifúngico de las bacterias aisladas contra 3 hongos fitopatógenos in vitro

En todos los estudios se utilizó la cepa de *F. oxysporum* ATCC MYA-1198, *F. brachygibbosum* y un aislamiento fúngico obtenido a partir de una planta de jitomate con síntomas de enfermedad. De esta planta se recolectó micelio fúngico, el cual fue sembrado en una caja con medio Papa Dextrosa Agar (PDA) Merck (Sigma-Aldrich) y posteriormente incubado a temperatura ambiente. La identificación del hongo se realizó mediante características morfológicas, determinándose como un aislamiento perteneciente al género *Fusarium* (*Fusarium sp.*). Cada cepa bacteriana aislada se sembró en tubos de caldo soya tripticaseina (CST) (Difco™) y se incubaron a 35°C por 24 h, posteriormente estas bacterias se probaron contra *F. oxysporum*, *F. brachygibbosum* y *Fusarium sp.* y se determinó mediante la técnica de crecimiento dual descrita por Ghazanfar et al. (2016), con algunas modificaciones. Con un asa bacteriológica se tomó el micelio (a partir de cajas previamente cultivadas), y se sembró en cajas que contenían PDA Merck (Sigma-Aldrich) solidificado. El hongo se sembró sobre la parte central de la caja de cultivo. Después la caja se dividió en 4 cuadrantes imaginarios y a un centímetro de distancia del inóculo del hongo en cada uno de los cuadrantes se inocularon con una concentración de 20 µL de cada bacteria aislada. Como control se incluyeron cajas sembradas de la con el micelio fúngico de cada hongo. Todas las cajas se incubaron a 30° C por 5 a 7 días. Se realizaron observaciones y registro del diámetro de crecimiento fúngico cada día. Posteriormente, las cepas bacterianas que presentaron mayor actividad antifúngica fueron nombradas con la nomenclatura de B102, B103, B90 y B92 y conservadas en tubos con medio CST bajo refrigeración, con el fin de ser utilizadas en estudios posteriores.

11.1.4 Actividad antifúngica de las cepas bacterias contra esporas hongos fitopágenos

Para determinar el efecto antifúngico de las cepas bacterianas contra las esporas de los hongos fitopatógenos, se empleó la metodología de Gutiérrez et al. (2012) con algunas modificaciones:

Para evaluar la influencia de las bacterias en la germinación de esporas fúngicas, se preparó una suspensión de esporas a partir del micelio de los hongos, el cual fue sembrado en frascos inclinados con medio PDA e incubado a temperatura ambiente durante siete días para favorecer la esporulación. Posteriormente, se añadieron 10 mL de Tween 20 estéril a cada frasco y se agitó vigorosamente para facilitar la liberación de las esporas. La suspensión resultante se filtró para eliminar fragmentos de micelio y se almacenó en refrigeración a 4 °C hasta su uso. Esta suspensión

fue utilizada en estudios posteriores para evaluar la actividad antifúngica de las bacterias en sistemas de microcultivo, así como en pruebas con hojas, plántulas y plantas de jitomate.

Para evaluar la actividad antifúngica de las bacterias en la germinación de esporas fúngicas, se realizó una solución con volúmenes iguales de conidios de *F. oxysporum* (600×10^4 esporas por mililitro), de *F. brachygibbosum* (400×10^4 esporas por mililitro) y *Fusarium sp.* (400×10^4 esporas por mililitro); con las bacterias creciendo en caldo soya en una concentración de 205×10^5 u.f.c. /ml para B103, 236×10^5 u.f.c. /ml para B102 las cuales fueron empleadas para *F. oxysporum* y *F. brachygibbosum*; 213×10^5 u.f.c. /ml para B90 y 169×10^5 u.f.c. /ml para B92, bacterias empleadas para *Fusarium sp.* Para cada solución de bacteria se aplicó una tinción con azul de metileno y se colocó aproximadamente 20 μ l en cada portaobjetos. Para el control se empleó la suspensión de conidios combinada con CST y la tinción de azul de metileno. Los portaobjetos se incubaron a 28°C en un ambiente húmedo, colocándolos en una caja Petri con 9 mL de agua. Se realizó un conteo de esporas germinadas a las 0 hrs, 6 hrs, 12 hrs y 24 hrs en 12 campos por portaobjetos. Los ensayos se realizaron por triplicado y los resultados fueron analizados mediante ANOVA factorial usando el programa (GraphPad Prism 8.0.1).

Posteriormente se hizo una combinación de al menos dos bacterias, para evaluar posibles efectos sinérgico, con las esporas fúngicas de *F. oxysporum* y *F. brachygibbosum*, siguiendo la misma metodología previamente descrita.

11.1.5 Evaluación de la actividad antifúngica en hojas de jitomate

Se colocaron hojas de la planta en diferentes cristalizadores. Se inocularon con 20 microlitros de una suspensión de esporas fúngicas de *F. oxysporum* (600×10^4 esporas por mililitro), de *F. brachygibbosum* (400×10^4 esporas por mililitro) y *Fusarium sp.* (400×10^4 esporas por mililitro). Sobre el inoculo de esporas colocado en cada hoja, se colocaron 20 μ L de suspensión de bacterias lavadas de las cepas seleccionadas en pruebas *in vitro*. Para los controles positivos, solo se inocularon las hojas con esporas fúngicas de los hongos patógenos. Para el control negativo, se dejarán solo las hojas sin ningún tratamiento. Todos los cristalizadores se les colocaron 10 mL de agua en el cristalizador, para mantener humedad y se sellaron con Parafilm. Se hizo una observación y registro por 15 días de la actividad antifúngica.

11.1.6 Evaluar la actividad antifúngica en planta de jitomate

Para el caso del análisis de actividad antifúngica en planta de jitomate, se obtuvieron 30 plantas de jitomate de un invernadero de la localidad de Pachuca de Soto Hidalgo. Estas plantas se trasplantaron en macetas con tierra nutritiva con humus de lombriz en un porcentaje aproximado de un 20%. En 2 hojas directas de la planta de jitomate se les provocó una herida y en 2 hojas sin herir se inocularon 20 microlitros de una suspensión de esporas fúngicas de *F. oxysporum* (600×10^4 esporas por mililitro), de *F. brachygibbosum* (400×10^4 esporas por mililitro) y del hongo aislado (400×10^4 esporas por mililitro) en cada hoja. Se inocularon 20 microlitros de una suspensión de bacterias lavadas de las cepas que presentaron mayor efecto en pruebas *in vitro* (B102, B103, B90 y B92) una planta para cada cepa. Para los controles positivos, solo se inocularon las plantas con esporas fúngicas de *F. oxysporum* (600×10^4 esporas por mililitro), de *F. brachygibbosum* (400×10^4 esporas por mililitro) y del hongo aislado (400×10^4 esporas por mililitro). Para el control negativo, se dejaron las plantas sin ningún tratamiento. Las plantas se mantuvieron en condiciones de laboratorio a temperatura ambiente, con 6 horas de sol diarias. Observación y registro durante 14 días de la actividad antifúngica, la intensidad de la enfermedad se calificó en una escala de 0 a 9, donde 9 representa la muerte de la planta debido a una infección y 0 indica que no hay síntomas. La configuración experimental se preparó por separado para cada aislado bacteriano con un diseño de réplicas.

11.1.7 Evaluación de actividad en plántulas de jitomate

Para evaluar la actividad antifúngica en plántulas de jitomate se empleó la siguiente metodología previamente descrita por Parasuraman et al, (2020) con ligeras adaptaciones:

Las semillas fueron tratadas con 800 μL de aislamientos bacterianos y sembrados en charolas germinativas con sustrato orgánico de la marca Eco Sustrato previamente estéril por autoclave, 1 charola de 10 cavidades por cepa bacteriana, cada cavidad se sembró con 4 semillas tratadas con bacterias.

Después a partir de una suspensión de esporas fúngicas de *F. oxysporum* (600×10^4 esporas por mililitro), de *F. brachygibbosum* (400×10^4 esporas por mililitro) y del hongo aislado (400×10^4 esporas por mililitro); sobre las charolas germinativas que contienen semillas de tomate se inocularon 20 μL de la suspensión por plántula, después de la germinación.

Se realizaron experimentos de control con las semillas de tomate sembradas en suelo estéril inoculado con los hongos. Los síntomas de la enfermedad serán observados a intervalos de 10 días y la intensidad de la enfermedad se calificó en una escala de 0 a 9, donde 9 representa la muerte de la planta debido a una infección y 0 indica que no hay síntomas. La configuración experimental se va a preparar por separado para cada aislado bacteriano con un diseño de réplicas. Para analizar los resultados, se hizo mediante la prueba estadística ANOVA, mediante el programa GraphPad Prims 8.0.1.

11.1.8 Identificación de bacterias con capacidad antifúngica

Las cepas B102 y B103, se enviaron al CENTRO DE INVESTIGACION DE ESTUDIOS AVANZADOS DEL I.P.N., donde emplearon la siguiente metodología para su identificación:

A partir de aproximadamente 500 mg de biomasa de las cepas, procedieron para la extracción de ADN, por medio del kit ZR Fungal/Bacterial DNA MiniPrep. La cantidad de ADN obtenido se determinó a partir del espectrofotómetro de microplacas Epoch (Biotek).

Del ADN total obtenido, se amplificó el gen 16s ARNr con los oligonucleótidos universales 27F (5' AGAGTTTGATCMTGGCTCAG 3') y 1492R (5' TACGGYTACCTTGTTACGACTT 3') de acuerdo con las condiciones previamente descritas por Lane (1991). Se utilizó un gel de agarosa al 1% para comprobar el tamaño del fragmento esperado (1500 nt) por una hora a 100V.

La secuenciación del gen 16s ARNr fue realizada por el Laboratorio de Servicios Genómicos del LANGEBIO con el cual obtuvieron dos secuencias por cada muestra. Las secuencias fueron

editadas manualmente por medio del programa Chromas 2.4 (2012) conformando una secuencia consenso, por cada aislamiento. Las secuencias consenso de cada una de las muestras las compararon con el programa nucleotide BLAST del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI) para encontrar similitudes entre secuencias biológicas.

Las secuencias consenso se alinearon junto con las resultantes de la búsqueda BLAST, con el programa Clustal W incluido dentro del programa MEGA 6.0 (Tamura, et al. 2013) para realizar un dendograma con el método de Neighbor-Joining para observar las similitudes entre secuencias de especies tipos definidas, que resultaron relacionadas con el programa de BLAST

La secuencia consenso se alineó junto con las resultantes de la búsqueda BLAST, con el programa Clustal W incluido dentro del programa MEGA 6.0 (Tamura, et al. 2013) para realizar un dendograma con el método de Neighbor-Joining para observar las similitudes entre secuencias de especies tipos definidas, que resultaron relacionadas con el programa de BLAST. Finalmente realizaron un dendograma a partir del algoritmo de Neighbor-Joining para observar las relaciones filogenéticas, con distintas secuencias de holotipos de especies definidas.

11.2 Actividad enzimática

11.2.1 Detección de proteasas

Para la detección de proteasas, se empleó la metodología previamente descrita por Zhou et al., (2022), donde se sembraron 20 μ L en tres puntos de las cepas con mayor efecto, en un medio preparado con 15 g de glucosa, más 20 g de polvo de caseína marca SIGMA, más 0.5 g de KCl, 0.5 g de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, más 15 g de agar y el medio se ajustó a un pH 7. Se llevaron a incubar a una temperatura de 37 °C durante 7 días. Los resultados fueron interpretados por los halos de hidrolisis del medio alrededor de la colonia.

11.2.2 Detección de β -1, 3, 6- glucanasas

Para la detección de β -1, 3, 6- glucanasas, se empleó la metodología previamente descrita por Zhou et al., (2022), donde se sembraron 20 μ L de las bacterias con mayor efecto en la parte central de un medio preparado con 5 g de β -1, 3, 6- glucano, más 2 g de $NaNO_3$, más 1.0 g de K_2HPO_4 , 0.5 g de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, con 0.5 g de KCl, más 15 g de agar. Se ajustó a un pH 7 y se llevó a esterilizar en autoclave. Las cajas se llevaron a incubar a una temperatura de 37 °C durante 7 días,

posteriormente se realizó una tinción con Rojo de Congo. Los resultados fueron interpretados por los halos de hidrolisis del medio alrededor de la colonia.

11.2.3 Detección de celulosas

Para la detección de celulosas, se empleó la metodología previamente descrita por Zhou et al., (2022), donde se sembraron 20 µL de las bacterias con mayor efecto en la parte central de un medio preparado con 5 g de peptona, más 1.0 g de K₂HPO₄, 0.5 g de MgSO₄·7H₂O, con 5.0 g de carboximetilcelulosa (CMC), más 1.0 g de extracto de levadura y 15 g de agar. Se ajustó a un pH 7 y se llevó a esterilizar en autoclave. Las cajas se llevaron a incubar a una temperatura de 37 °C durante 7 días, posteriormente se realizó una tinción con Rojo de Congo. Los resultados fueron interpretados por los halos de hidrolisis del medio alrededor de la colonia.

11.2.4 Detección de quitinasas

La prueba de detección de quitinasas se realiza para identificar la capacidad de ciertos microorganismos, como bacterias o hongos, para producir enzimas quitinasas, las cuales degradan la quitina, un componente estructural esencial de las paredes celulares de muchos hongos.

La quitina coloidal fue preparada por medio del método de Hsu y Lockwood (1975) con ligeras modificaciones, el cual consiste en disolver 40 g de quitina en 400 ml de HCl concentrado en agitación constante durante 50 min. Posteriormente, se añadieron 2 litros de agua destilada fría. La mezcla fue dejada en agitación continua durante 12 horas a temperatura ambiente. Después se procedió a filtrar al vacío el precipitado obtenido y se efectuaron sucesivos lavados con agua destilada de acuerdo con el volumen inicial usado, con el fin de eliminar el ácido. La pasta obtenida, de consistencia gelatinosa, se esterilizó en autoclave y luego se almacenó en refrigeración a 4 °C hasta su posterior uso.

Una vez preparada la quitina coloidal se preparó el medio según la metodología previamente descrita por Zhou et al., (2022), en donde se sembraron 20 µL de las bacterias seleccionadas en la parte central de un medio preparado con 5.0 g de peptona, más 1.0 g de NH₄H₂PO₄, 0.2 g de MgSO₄·7H₂O, con 0.2 g de KCl, más 10 g de quitina coloidal y 15 g de agar. Se ajustó a un pH 7 y se llevó a esterilizar en autoclave. Las cajas se llevaron a incubar a una temperatura de 37 °C durante 7 días, posteriormente se realizó una tinción con Rojo de Congo. Los resultados fueron interpretados por los halos de hidrolisis del medio alrededor de la colonia.

11.2.5 Detección de sideróforos

Se empleo el medio Chrome-azurol S (CAS) para detectar la capacidad de las bacterias antagonistas para producción de sideróforos. La suspensión de las bacterias antagonistas se inoculó 20 μ L de las bacterias con mayor efecto en la parte central de un medio CAS y se cultivó a 37 °C durante 2 – 4 días. Se considero que el halo amarillo-anaranjado alrededor de las colonias era causado por la presencia de sideróforos (Zhou et al. 2022).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

12.1 Selección de cepas aisladas con actividad antifúngica

Se aislaron 103 cepas bacterianas con características macroscópicas y microscópicas variadas (Las colonias observadas en las cajas de cultivo presentaron distintas morfologías, como planas, elevadas, mucoides y con un crecimiento en patrón de "swarming". A nivel microscópico, se evidenciaron diversas formas celulares, lo que refleja la diversidad de microorganismos aislados (Figura 15).



Figura 15. Fotos de tinción Gram de algunas cepas aisladas de frutos, hojas y suelo.

Se evaluó el efecto antifúngico de las 103 cepas bacterianas las cuales mostraron algún efecto antifúngico de contra *F. oxysporum*, *F. brachygibbosum*; no obstante, solo 16 cepas tuvieron los mayores niveles de efecto antifúngico contra *F. oxysporum* (Figura 16) 12 cepas para *F. brachygibbosum* (Figura 17), en ambos gráficos se presentan, en el eje x, los tratamientos bacterianos evaluados por día, y en el eje y, el crecimiento radial del micelio fúngico expresado en centímetros. Es importante destacar que todas las cepas bacterianas mostraron un efecto significativo en la inhibición del crecimiento radial del micelio de ambos hongos. Sin embargo, las cepas B102 y B103 sobresalieron por su alta eficacia, logrando inhibir casi por completo el desarrollo fúngico. En el caso de *Fusarium oxysporum*, el experimento concluyó al séptimo día, cuando el hongo en las cajas de control (sin bacterias) había alcanzado las paredes del medio de cultivo al sexto día de incubación. Por otro lado, en el caso de *Fusarium brachygibbosum*, el experimento concluyó al sexto día, lo que sugiere que la tasa de crecimiento de este hongo fue ligeramente más rápida en comparación con *F. oxysporum* bajo las mismas condiciones.

En cuanto a las pruebas *in vitro* con *Fusarium sp.*, el estudio también se concluyó al sexto día, una vez que el hongo en el control había cubierto completamente el diámetro de la caja Petri. En este caso, las cepas B90 y B92 sobresalieron por su antagonismo contra el hongo, demostrando ser las

más eficaces en inhibir su crecimiento (Figura 18). Estas cepas fueron aisladas de suelo agrícola, lo que sugiere que podrían estar asociadas a las raíces de plantas y actuar como rizobacterias promotoras de crecimiento o agentes de biocontrol en la rizosfera. Este origen podría ser clave en su capacidad para competir con patógenos del suelo y proteger las raíces de los cultivos.

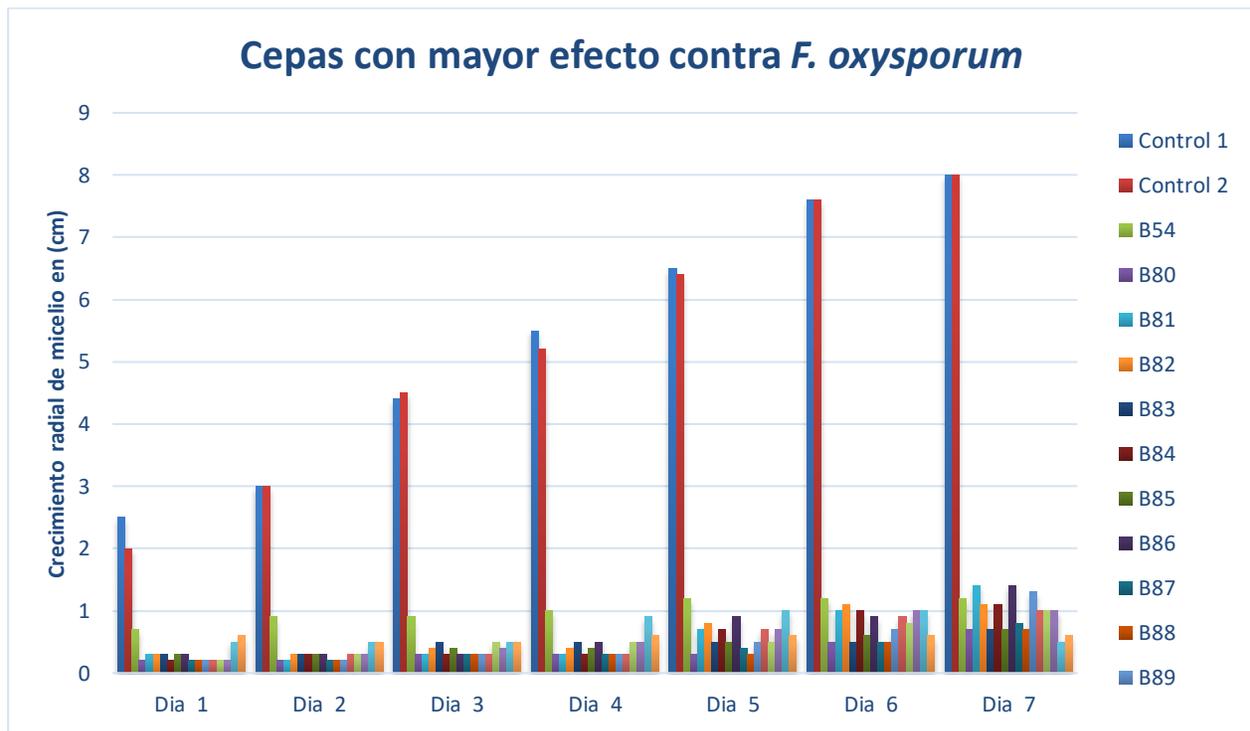


Figura 16. Actividad inhibitoria de las 16 cepas con mayor efecto fúngico sobre el crecimiento radial de *F. oxysporum* en medio de cultivo.

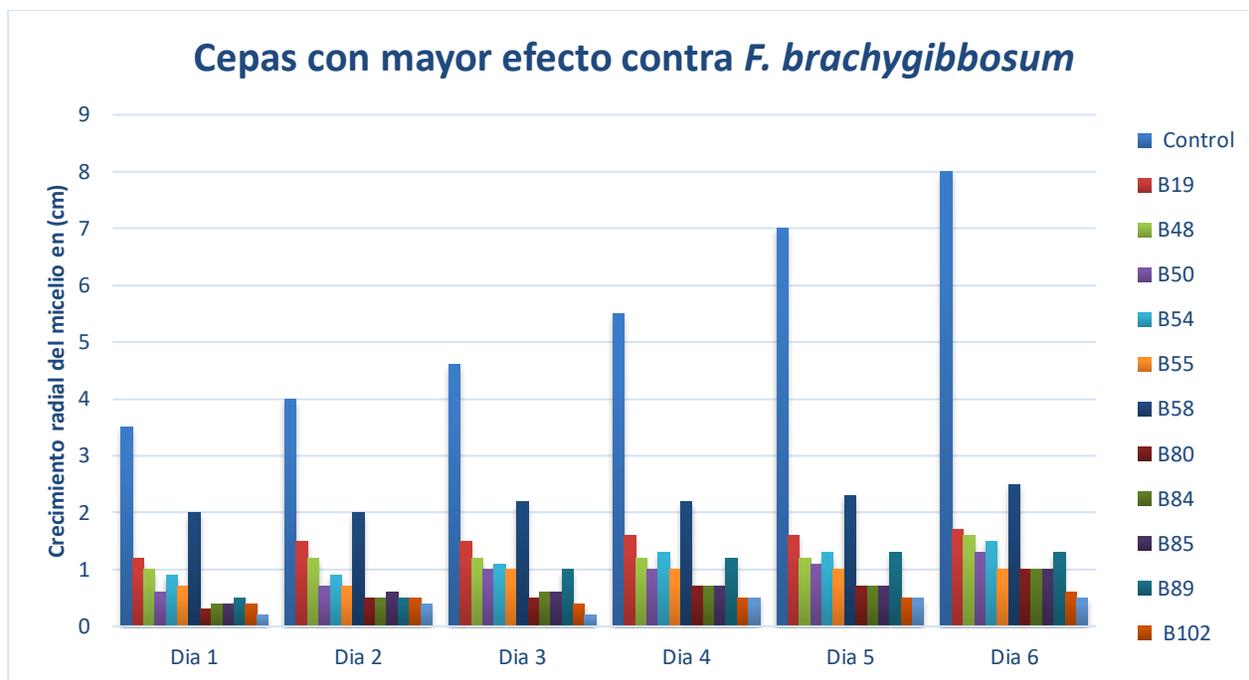


Figura 17. Actividad inhibitoria de las 12 cepas con mayor efecto fúngico sobre el crecimiento radial de *F. brachygibbosum* en medio de cultivo.

Las cepas bacterianas **B102** y **B103** fueron las que presentaron mayor actividad antifúngica frente a *Fusarium oxysporum* y *F. brachygibbosum*. Es importante destacar que ambas cepas fueron aisladas de hojas de higo, lo que sugiere que no se encontraban únicamente como microorganismos ambientales pasajeros, sino que probablemente colonizaban activamente los tejidos vegetales, incluyendo hojas y frutos. Esta observación plantea la posibilidad de que estas bacterias mantuvieran una relación simbiótica o comensal con la planta huésped, lo cual resulta clave para comprender su adaptabilidad y eficacia potencial como agentes de biocontrol en sistemas agrícolas.

Resultados similares fueron reportados por Karthik et al. (2017), quienes demostraron que cepas de *Bacillus* aisladas de la rizosfera de diversas plantas mostraron una fuerte capacidad antifúngica contra *F. oxysporum*, atribuida a la producción de metabolitos secundarios y enzimas líticas como quitinasas y glucanasas. Esta coincidencia refuerza la hipótesis de que microorganismos adaptados a convivir con plantas pueden desarrollar mecanismos eficientes para inhibir patógenos fúngicos, ya sea mediante competencia, antibiosis o inducción de resistencia sistémica.

Este comportamiento sugiere la presencia de mecanismos de acción específicos que afectan a los fitopatógenos, tales como la producción de compuestos antimicrobianos o la competencia por

nutrientes. Sin embargo, es crucial realizar estudios adicionales para identificar con precisión los mecanismos que estas bacterias emplean para inhibir el crecimiento de *Fusarium*. Entre estos mecanismos podrían estar la producción de metabolitos secundarios, la competencia por el espacio o la inducción de resistencia sistémica en la planta huésped.

La capacidad de B90 y B92 para inhibir el crecimiento de *Fusarium sp.*, confirma su potencial para ser utilizadas como agentes de control biológico en el manejo de enfermedades en cultivos de jitomate. Esto es especialmente relevante en el contexto agrícola actual, donde se busca reducir el uso de fungicidas químicos y adoptar prácticas más sostenibles.

Es notable que tanto las cepas B102 y B103, como B90 y B92, aisladas de un ambiente foliar, y de suelos agrícolas respectivamente, mostraran un alto potencial como agentes de biocontrol, lo que sugiere que diferentes nichos ecológicos pueden proporcionar bacterias con propiedades antifúngicas. Esto destaca la importancia de explorar múltiples fuentes para encontrar microorganismos con capacidades antagonistas.

La interacción entre bacterias y hongos fitopatógenos es compleja y multifactorial, y los resultados obtenidos en este estudio abren la puerta a investigaciones más detalladas sobre los mecanismos subyacentes de antagonismo. Las cepas de bacterias que actúan contra *Fusarium* no solo podrían inhibir el crecimiento del hongo, sino también inducir una respuesta de defensa en la planta, lo que podría hacerlas aún más efectivas en un entorno agrícola.

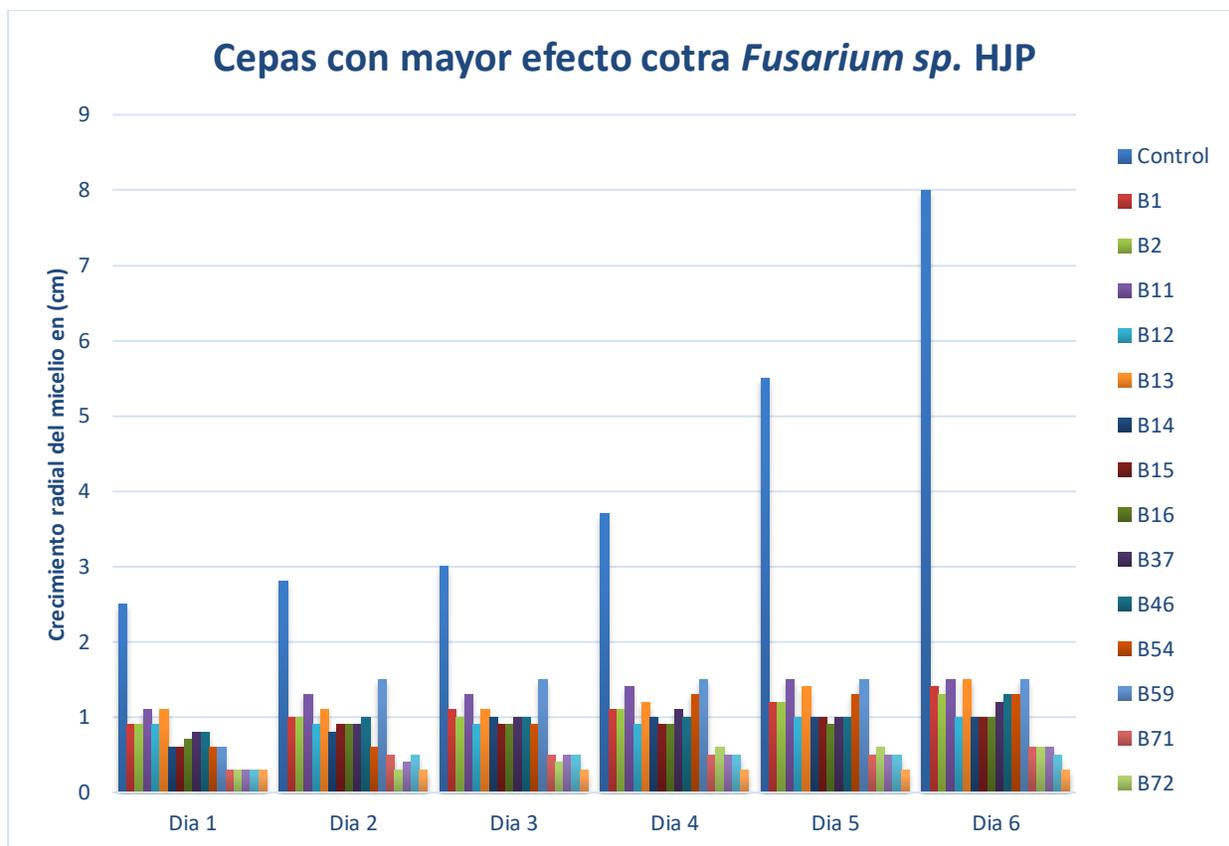


Figura 18. Actividad inhibitoria de las 17 cepas con mayor efecto fúngico sobre el crecimiento radial de *Fusarium sp.* HPJ en medio de cultivo.

12.1.1 Actividad antifúngica de bacterias contra esporas de *F. oxysporum* y *F. braggibosum*

En el análisis de la actividad antifúngica de las cepas B102 y B103 contra las esporas de *F. oxysporum*, se observó una inhibición significativa de la germinación de esporas, lo cual sugiere que estas cepas tienen un efecto inhibitorio notable sobre este hongo fitopatógeno (Figura 18). El análisis factorial ANOVA confirma que, a las 24 horas, la cepa B103 mostró el mayor efecto con un porcentaje de inhibición de 76.6 % (alfa=0.009), mientras que B102, aunque menos efectiva que B103, también mostró un efecto significativo con un 51.4 % de inhibición (alfa=0.01). Ambos valores están significativamente por encima del control, que solo alcanzó una inhibición del 22.7 %.

Esto indica que tanto B102 como B103 son capaces de inhibir la germinación de esporas de *F. oxysporum*, pero B103 parece ser más eficiente en este proceso (Figura 19). Esta diferencia podría estar relacionada con variaciones en los mecanismos de acción antifúngica entre las dos cepas, como la producción de metabolitos secundario, compuestos volátiles o enzimas líticas que atacan

las estructuras fúngicas. El hecho de que ambas cepas superen ampliamente al control refuerza la hipótesis de su potencial como agentes de control biológico.

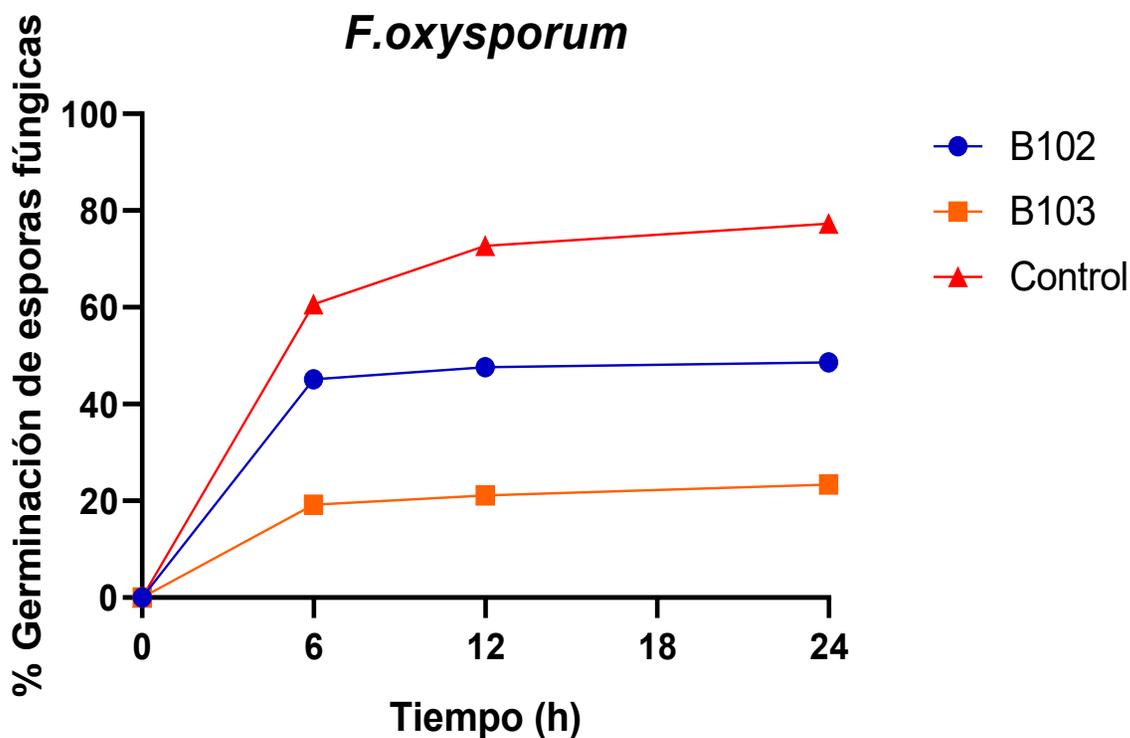


Figura 19. Actividad antifúngica de las cepas B102 y B103 contra esporas de *F. oxysporum*. El cálculo de inhibición porcentual se basó en la estimación del número total de conidios germinados y no germinados en doce campos microscópicos.

En el caso de *F. brachygibbosum*, los resultados son consistentes con lo observado en *F. oxysporum*. La cepa B103 también se destacó como la más efectiva, con un 64.3 % de inhibición de la germinación a las 24 horas ($\alpha=0.0015$), mientras que B102 alcanzó un 45.7 % de inhibición ($\alpha=0.0189$). Nuevamente, ambos valores están por encima del control (27.5 %) (Figura 20), lo que confirma que las cepas B102 y B103 tienen un efecto inhibitorio considerable no solo contra *F. oxysporum*, sino también contra *F. brachygibbosum*. Estos resultados son especialmente importantes ya que muestran que ambas cepas tienen un espectro de acción relativamente amplio, siendo eficaces contra múltiples especies de hongos patógenos.

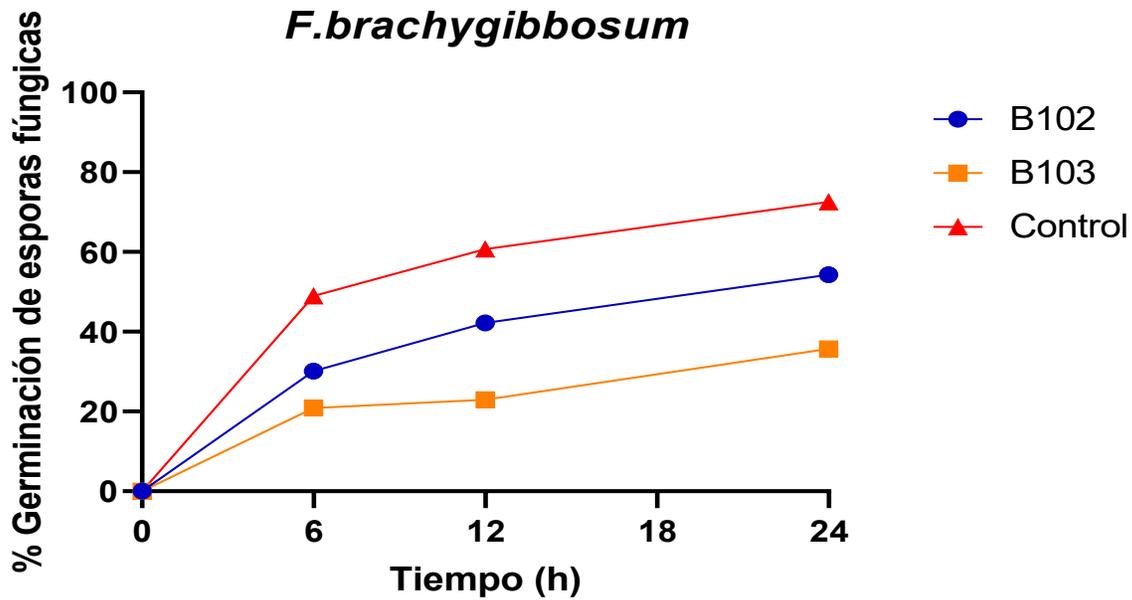


Figura 18. Actividad antifúngica de las cepas B102 y B103 contra esporas de *F. brachygibbosum*. El cálculo de inhibición porcentual se basó en la estimación del número total de conidios germinados y no germinados en doce campos microscópicos.

El análisis de la actividad antifúngica de las cepas B90 y B92, empleadas contra *Fusarium sp.* HPJ, también arrojó resultados prometedores. En este caso, la cepa B90 que presentó mayor porcentaje de inhibición (43.8 %) a las 24 horas (alfa=0.05) (Figura 21). Cabe destacar que B90 presentó un potencial inhibitorio comparable al de las cepas B102 y B103 contra *Fusarium sp.* Estos resultados sugieren que B90 podría tener una estrategia de control efectiva que podría ser similar o complementaria a la de B102 y B103. Además, el uso de B92 también mostró potencial como agente de control, aunque con menor eficacia. Esta diferencia podría deberse a variaciones en la producción de los distintos metabolitos entre las cepas.

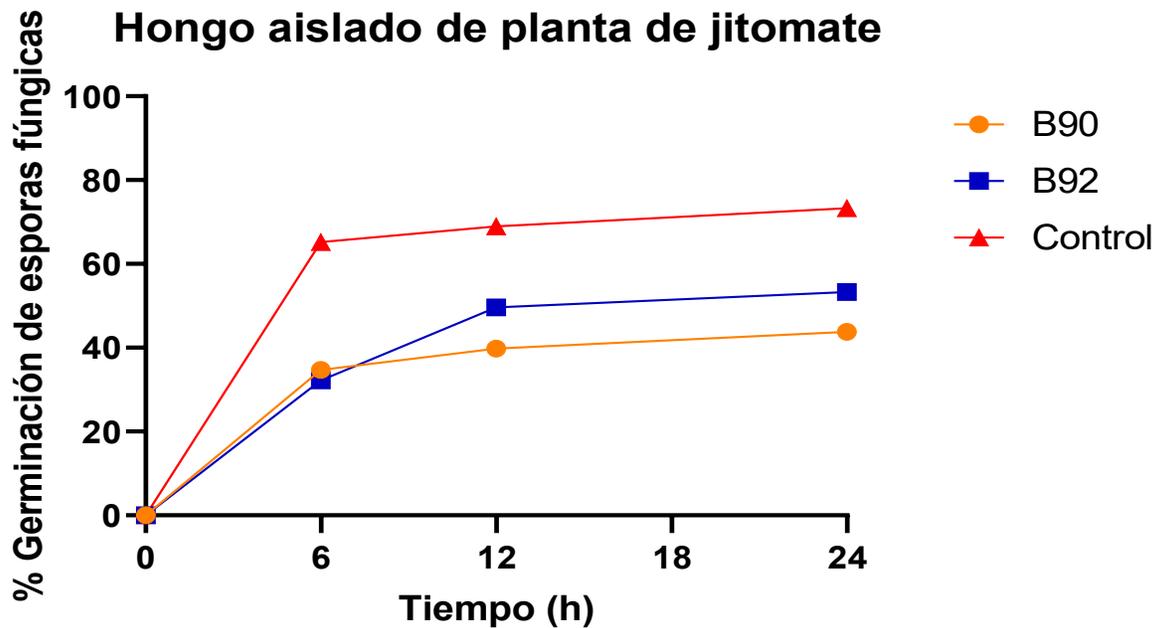


Figura 19. Actividad antifúngica de las cepas B90 y B92 contra esporas de *Fusarium sp.* HPJ. El cálculo de inhibición porcentual se basó en la estimación del número total de conidios germinados y no germinados en doce campos microscópicos.

Un aspecto particularmente interesante de estos estudios es la sinergia observada cuando B102 y B103 se emplearon en conjunto para inhibir la germinación de esporas de *F. oxysporum* y *F. brachygibbosum*. En ambos casos, los resultados fueron significativamente superiores a los obtenidos al usar las cepas de forma individual (Figura 22 y 23). En *F. oxysporum*, el consorcio alcanzó un 92.94 % de inhibición de esporas a las 48 horas ($\alpha=0.013$), mientras que el control solo logró un 11.4 % de inhibición. Para *F. brachygibbosum*, el consorcio alcanzó un 95.8 % de inhibición a las 48 horas ($\alpha=0.04$), comparado con el 4.17 % del control.

Estos resultados sugieren que las cepas B102 y B103, cuando se combinan, potencian sus mecanismos de acción. Es probable que esta sinergia se deba a la complementariedad de los compuestos o enzimas producidos por cada cepa, lo que resulta en una mayor capacidad para atacar diferentes puntos críticos en el ciclo de vida del hongo. Este hallazgo es de gran relevancia, ya que resalta el potencial del uso de consorcios microbianos como una estrategia más efectiva para el control biológico de plagas en comparación con el uso de cepas individuales.

La sinergia observada sugiere que las cepas B102 y B103 podrían estar combinando mecanismos como la competencia por nutrientes, la producción de antibióticos o la interrupción de la comunicación celular (quorum sensing) en los hongos, lo que inhibe su crecimiento de manera más efectiva que cuando actúan por separado. Esto abre nuevas oportunidades para el desarrollo de bioplaguicidas más eficaces basados en consorcios microbianos.

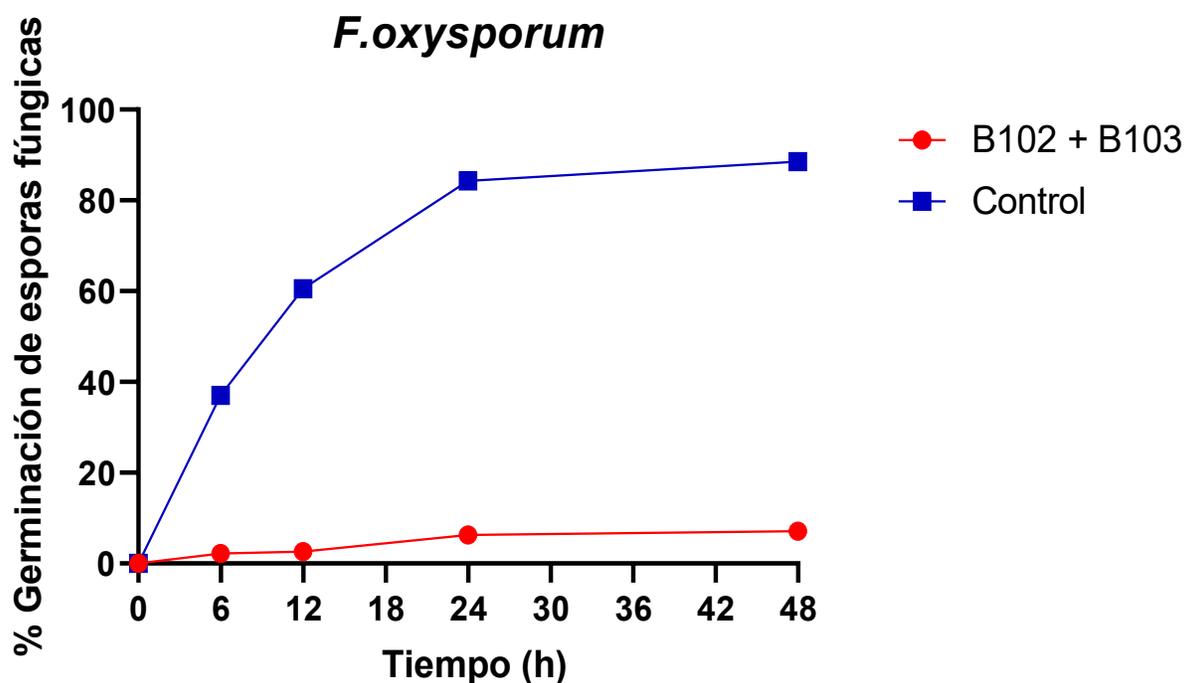


Figura 22. Actividad antifúngica de la combinación de las cepas B102 y B103 contra esporas de *F. oxysporum*. El cálculo de inhibición porcentual se basó en la estimación del número total de conidios germinados y no germinados en doce campos microscópicos.

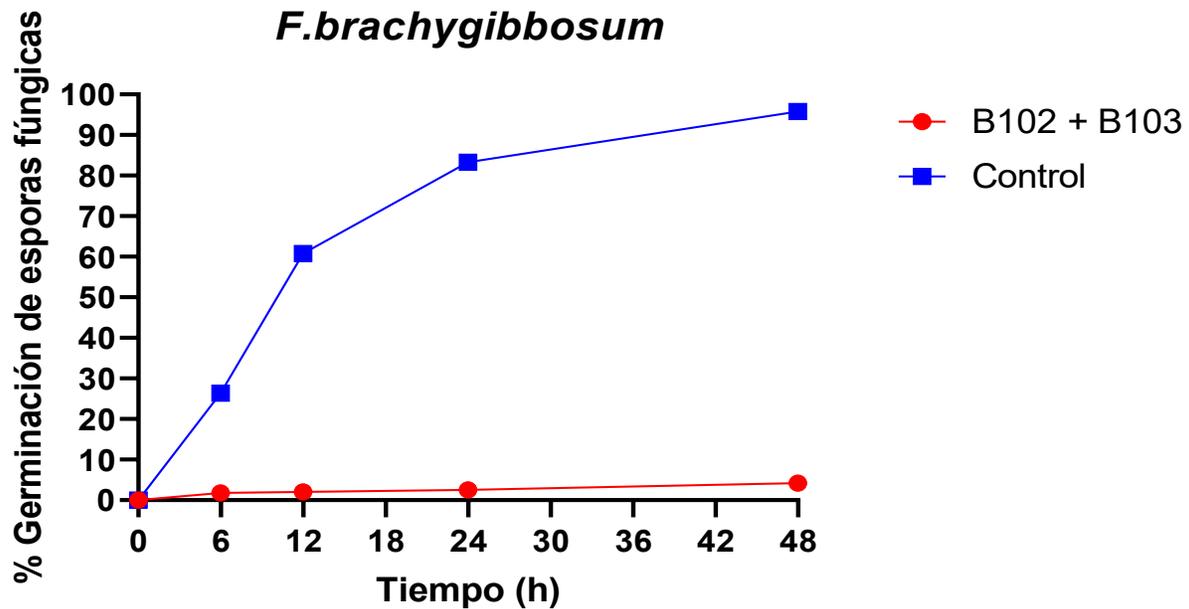


Figura 23. Actividad antifúngica de la combinación de las cepas B102 y B103 contra esporas de *F. brachygibbosum*. El cálculo de inhibición porcentual se basó en la estimación del número total de conidios germinados y no germinados en doce campos microscópicos.

12.2 Actividad antifúngica in vivo

12.2.1 Actividad antifúngica en hojas de jitomate contra *F. oxysporum* y *F. brachygibbosum*

Al realizar los estudios con las cepas B102 y B103 en hojas de jitomate infectadas con *F. oxysporum*, se observó que, a los 7 días, los efectos visibles en las hojas eran mínimos, limitándose a una ligera pérdida de clorofila. Sin embargo, a los 14 días, el daño en las hojas fue claramente evidente, particularmente en el control positivo. En 3 de las 4 hojas estaban gravemente afectadas por el hongo, con un porcentaje de daño del 88.8 %, de acuerdo con la escala de daño propuesta por Parasuraman et al. (2020). Esta escala califica la intensidad de la enfermedad de 0 a 9, donde 9 representa la muerte de la planta debido a la infección, y 0 indica la ausencia de síntomas. En contraste o contraparte las hojas del control negativo solo mostraron una ligera pérdida de clorofila, con un porcentaje de daño del 22.2 %, lo que sugiere que, en ausencia del hongo o tratamiento, el jitomate no presentó una afectación grave. Lo cual indica que el hongo es el principal causante del daño observado en la hoja.

En cuanto a los tratamientos con las cepas, los resultados fueron consistentes con los experimentos de inhibición de la germinación de esporas. Las hojas tratadas con el consorcio de las cepas B102

y B103 mostraron el menor daño, con un porcentaje de daño del 44.4 % (Figura 24 a y b respectivamente.), lo que sugiere una sinergia entre ambas cepas que les permite proteger las hojas de manera más efectiva que cuando se usan individualmente.

Por otro lado, las hojas tratadas con las cepas de manera individual presentaron un daño ligeramente mayor, con un porcentaje de 55.5 %. Aunque sigue siendo considerablemente menor que en el control positivo, estos resultados sugieren que las cepas, cuando se usan de manera aislada, tienen un efecto protector menor en comparación con su uso en consorcio. Esto refuerza la hipótesis de que la combinación de B102 y B103 potencia los mecanismos de defensa y control sobre el patógeno, tal vez a través de una mayor producción de compuestos antimicrobianos, una competencia más eficiente por recursos o la estimulación de respuestas defensivas en la planta.



Figura 24. Hojas de jitomate sin tratamientos (control negativo) (A), hojas inoculadas con esporas de *F. oxysporum* (control positivo) (B), hojas tratadas con cepa B103 más esporas de *F. oxysporum* (C) y hojas tratadas con consorcio de B102 más B103 y esporas de *F. oxysporum* (D) a los 14 días de tratamiento.

Para el caso de *F. brachygibbosum*, los resultados obtenidos a los 7 días tras los tratamientos con las cepas B102 y B103 fueron poco sobresalientes, ya que solo se observó una ligera pérdida de

clorofila en todas las hojas tratadas, incluyendo el control positivo. Este último mostró un daño leve, con un porcentaje de daño asignado del 33.3 %. Sin embargo, después de los 14 días, el daño en las hojas se hizo más evidente, especialmente en el control positivo, que alcanzó un porcentaje de daño del 88.8 %, lo que indica que la infección por *F. brachygibbosum* se desarrolló de manera significativa a lo largo del tiempo.

En contraste, el control negativo no mostró un daño tan marcado, con un porcentaje de daño del 22.2 %, lo que sugiere que, en ausencia del hongo, las hojas permanecieron relativamente sanas. Esto refuerza el papel del hongo como principal agente patógeno en este estudio y la capacidad del control negativo para mantener las condiciones sin daño significativo.

En cuanto a los tratamientos con las cepas bacterianas, los resultados a los 14 días fueron consistentes con lo observado en los estudios de germinación de esporas. El tratamiento más efectivo fue el consorcio de B102 y B103, con un porcentaje de daño del 44.4 % (Figura 25), lo que indica que la combinación de estas cepas ofrece una protección más eficaz contra *F. brachygibbosum* que las cepas utilizadas de manera individual. Estos resultados también refuerzan la idea de que el uso de consorcios microbianos proporciona una defensa más robusta, posiblemente debido a la combinación de mecanismos de acción complementarios, como la producción de metabolitos antifúngicos o la competencia por recursos esenciales para el hongo.

Entre los tratamientos individuales, la cepa B103 fue la más efectiva, con un daño relativamente ligero en las hojas y una pérdida de clorofila atribuida principalmente al paso del tiempo. A esta cepa se le asignó un porcentaje de daño del 55.5 % (Figura 25). Este resultado es coherente con los estudios de germinación de esporas, donde B103 también mostró una mayor capacidad inhibidora en comparación con B102. La consistencia de estos resultados en diferentes etapas del estudio apoya la efectividad de B103 como agente biológico para el control de *F. brachygibbosum*.

Los resultados de este estudio subrayan la importancia del uso de consorcios microbianos para el control biológico de *F. brachygibbosum* y *F. oxysporum*. Aunque las cepas B102 y B103, utilizadas de manera individual, lograron una reducción significativa del daño en las hojas en comparación con el control positivo, el consorcio de ambas cepas fue claramente más eficaz. Este hallazgo

respalda la hipótesis de que la combinación de cepas ofrece un control más efectivo debido a la posible complementariedad de sus mecanismos de acción, que podrían incluir la producción de diferentes tipos de compuestos antimicrobianos o la estimulación de diferentes respuestas inmunitarias en las plantas.

El hecho de que B103 haya demostrado ser la cepa más efectiva en el tratamiento individual es notable y coincide con los resultados obtenidos en estudios anteriores de inhibición de esporas. Esto sugiere que B103 podría tener características superiores, como una mayor producción de metabolitos antifúngicos o una mejor capacidad para colonizar el tejido de la planta, lo que le confiere una ventaja en la protección contra *F. brachygibbosum* y *F. oxysporum*.

En cuanto al consorcio B102 + B103, los resultados muestran una vez más que la combinación de estas cepas tiene un efecto sinérgico, reduciendo el daño en las hojas de jitomate de manera más efectiva que cada cepa por separado. Este resultado es consistente con los estudios realizados en la germinación de esporas y refuerza la idea de que el uso de consorcios bacterianos puede ser una estrategia eficaz para el control biológico, proporcionando una solución sostenible frente al uso de pesticidas químicos.

En resumen, estos estudios destacan la efectividad del consorcio B102 + B103 para mitigar el daño causado por *F. brachygibbosum* y *F. oxysporum* en plantas de jitomate, posicionándolo como una alternativa prometedora en el control biológico de este hongo. La reducción significativa del daño en las hojas tratadas con el consorcio indica que estas bacterias tienen un alto potencial para su aplicación en el manejo de enfermedades agrícolas, ofreciendo una solución respetuosa con el medio ambiente y efectiva para proteger los cultivos.

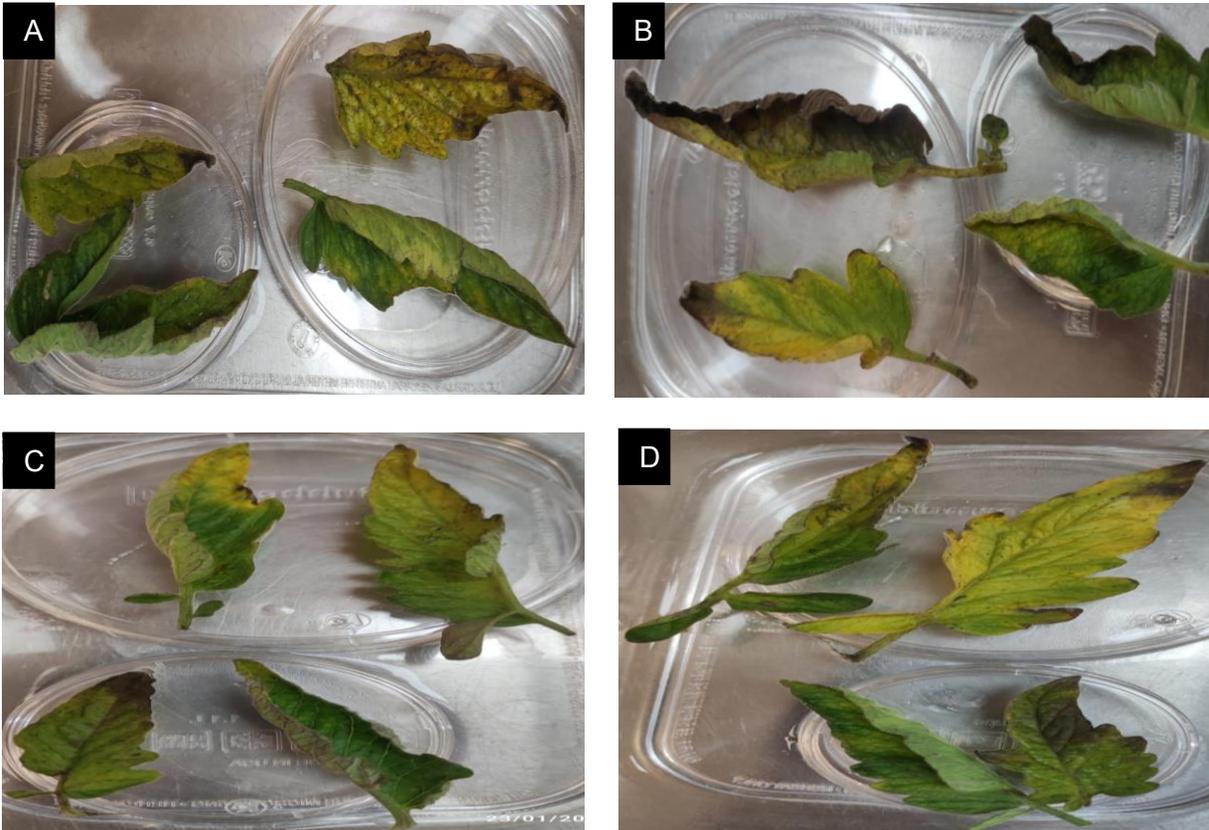


Figura 25. Hojas de jitomate sin tratamiento (A), hojas de jitomate con esporas fúngicas de *F. brachygibbosum* (B), hojas de jitomate tratadas con consorcio B102 más B103 y esporas fúngicas de *F. brachygibbosum* (C) y hojas tratadas con cepa B103 más esporas de *F. brachygibbosum* (D), después de 14 días.

En los tratamientos realizados en hojas de jitomate infectadas con *Fusarium sp.* HPJ, se observó un daño significativo a los 7 días, en contraste con los experimentos previos con *F. oxysporum* y *F. brachygibbosum*. Este aumento en el daño podría estar asociado a las condiciones ambientales, particularmente a las temperaturas más elevadas durante el periodo en que se realizó este estudio. Las temperaturas más altas pueden acelerar el desarrollo de algunos patógenos, lo que podría explicar por qué *Fusarium sp.* HPJ causó un daño más severo en las hojas de jitomate en comparación con los otros hongos estudiados.

En el control positivo, se asignó un porcentaje de daño del 77.7 %, lo que indica un daño extenso en las hojas infectadas. Este resultado sugiere que *Fusarium sp.* HPJ es altamente patógeno bajo las condiciones experimentales y que las hojas de jitomate son particularmente vulnerables en ambientes cálidos. En contraste, el control negativo solo mostró una ligera pérdida de clorofila y

un leve marchitamiento en las hojas, con un porcentaje de daño del 22.2 %. Estos resultados son consistentes con los controles negativos de los estudios anteriores, donde la ausencia del patógeno permitió que las hojas permanecieran en gran medida sanas.

En cuanto a los tratamientos con las cepas bacterianas, los resultados mostraron que ambas cepas proporcionaron cierta protección contra *Fusarium sp.* HPJ, aunque no tan efectiva como se observó en los experimentos con *F. oxysporum* y *F. brachygibbosum*. La cepa B90 mostró un desempeño moderado, con una notable pérdida de clorofila y un daño incipiente en las hojas. Se asignó a este tratamiento un porcentaje de daño del 66.6 %, lo que sugiere que B90 fue capaz de retardar el progreso de la infección, pero no de detenerla por completo.

Por otro lado, la cepa B92 fue la más efectiva, con un daño muy ligero en las hojas y una pérdida de clorofila menos pronunciada. A esta cepa se le asignó un porcentaje de daño del 55.5 % (ver Figura 26). Este resultado indica que B92 tiene un mejor desempeño en la protección de las hojas contra *Fusarium sp.* HPJ en comparación con B90, posiblemente debido a su capacidad para producir compuestos antifúngicos más eficaces o a una mejor capacidad de colonización de la superficie foliar.

Los resultados obtenidos con *Fusarium sp.* HPJ sugieren que las condiciones ambientales, particularmente la temperatura, pueden jugar un papel clave en la severidad del daño causado por los patógenos en las plantas. El daño significativo observado en las hojas infectadas con *Fusarium sp.* HPJ a los 7 días, comparado con los experimentos previos con *F. oxysporum* y *F. brachygibbosum*, refuerza la hipótesis de que algunos hongos son más agresivos en climas cálidos, lo que subraya la importancia de ajustar las estrategias de control biológico a las condiciones ambientales locales.

En cuanto a las cepas bacterianas, tanto B90 como B92 lograron mitigar el daño en las hojas infectadas con *Fusarium sp.* HPJ, aunque en diferente medida. La cepa B92 demostró ser la más prometedora, con una reducción significativa del daño en comparación con B90. Este resultado es consistente con los estudios de germinación de esporas, donde B92 también mostró una mayor capacidad para inhibir el crecimiento del hongo. La efectividad de B92 sugiere que podría tener un

papel importante en el control biológico de este patógeno, especialmente en condiciones de altas temperaturas.

La diferencia de efectividad entre las cepas B90 y B92 también puede estar relacionada con las características específicas de cada cepa, como la producción de metabolitos antifúngicos o la capacidad para inducir respuestas defensivas en la planta. Es posible que B92 produzca compuestos que son más eficaces en la inhibición de *Fusarium sp.* HPJ, o que sea más eficiente en la colonización de la superficie de las hojas, protegiéndolas de la infección.

En resumen, los tratamientos con las cepas bacterianas B90 y B92 proporcionaron cierto nivel de protección contra *Fusarium sp.* HPJ, con B92 siendo la cepa más efectiva. Estos resultados refuerzan la importancia de considerar las condiciones ambientales al diseñar estrategias de control biológico y sugieren que B92 podría ser una candidata prometedora para su uso en programas de manejo integrado de plagas, especialmente en climas cálidos.

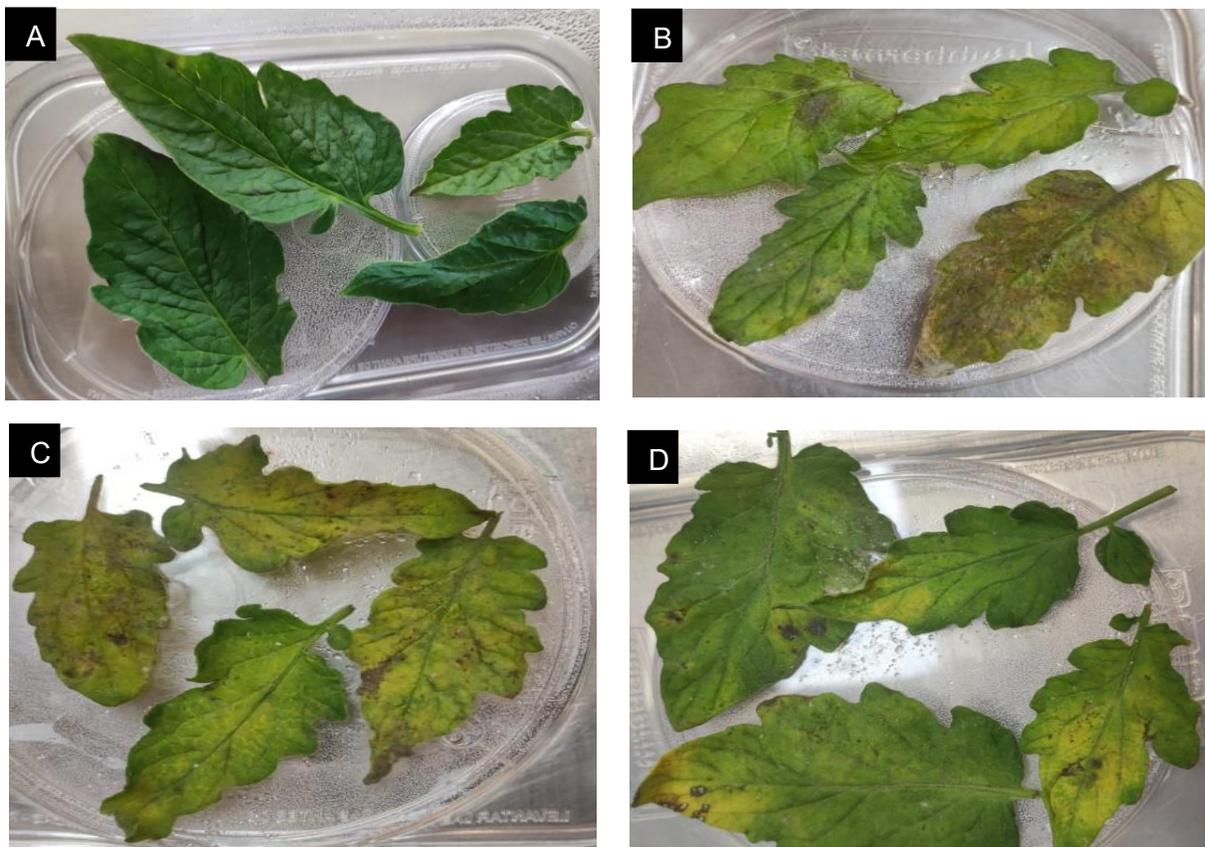


Figura 26. Hojas de jitomate sin tratamientos (control negativo) (A), hojas de jitomate tratadas con esporas de *Fusarium sp.* HPJ (B), hojas inoculadas con cepa B90 (C), cepa B92 (D) más esporas de *Fusarium sp.* HPJ, después de 7 días.

12.2.2 Resultados del análisis de actividad antifúngica en planta de jitomate

En el análisis de actividad antifúngica en plantas de jitomate contra *F. oxysporum*, se observó que a los 14 días la planta inoculada solo con las esporas fúngicas (control positivo) presentó un marchitamiento severo, con un porcentaje de daño del 88.8 %. Este resultado refleja la alta patogenicidad de *F. oxysporum*, que afecta gravemente el sistema vascular de la planta, provocando síntomas típicos como la marchitez. En contraste, el control negativo, donde la planta no fue inoculada con el patógeno, mostró un daño mínimo, con un porcentaje de marchitamiento del 44.4 %, lo cual puede estar relacionado con el estrés general de la planta, pero no directamente con la infección por el hongo.

En cuanto a los tratamientos con las cepas bacterianas, los resultados muestran que las cepas lograron reducir la severidad de la enfermedad causada por *F. oxysporum* en distintas proporciones. Las plantas tratadas con la cepa B103 más las esporas fúngicas de *F. oxysporum* presentaron un ligero marchitamiento a los 14 días, pero significativamente menor en comparación con el control positivo, con un porcentaje de daño del 66.6 %. Este resultado sugiere que la cepa B103 fue capaz de ejercer cierto grado de control biológico, probablemente a través de la inhibición del crecimiento del hongo o mediante la estimulación de las defensas naturales de la planta (Figura 27).

La cepa B102, por otro lado, mostró un efecto más sobresaliente, ya que las plantas tratadas con esta bacteria se mantuvieron prácticamente sanas, con solo un ligero marchitamiento en las hojas inferiores. Este resultado fue particularmente sorprendente, ya que en las pruebas *in vitro*, la cepa B103 había mostrado un mayor potencial antifúngico. Sin embargo, en este estudio en planta, B102 demostró ser más efectiva, con un porcentaje de daño del 44.4 %. Esta discrepancia entre los resultados *in vitro* e *in vivo* podría atribuirse a una mejor adaptación de la cepa B102 a las condiciones de la planta, lo que le permitió interactuar de manera más eficiente con el sistema radicular o foliar de la planta, promoviendo su salud y resistencia al hongo.

El consorcio de las cepas B102 y B103 resultó ser la opción más eficaz para reducir el daño causado por *F. oxysporum*, con un porcentaje de daño del 33.3 % a los 14 días. Esto confirma los resultados de los estudios *in vitro*, donde el consorcio mostró una capacidad superior para inhibir la germinación de esporas y reducir el crecimiento fúngico. El éxito del consorcio puede deberse a la combinación de mecanismos de acción complementarios entre ambas cepas, como la producción

de metabolitos antifúngicos, la competencia por nutrientes o la inducción de respuestas defensivas en la planta. Estos resultados sugieren que la aplicación conjunta de estas bacterias puede ser una estrategia efectiva y sustentable para el manejo de *F. oxysporum* en cultivos de jitomate.

Los resultados obtenidos en este estudio son prometedores y apoyan la idea de que el uso de bacterias antagonistas como B102 y B103 puede ser una alternativa viable al uso de pesticidas sintéticos en la agricultura. La capacidad de B102 para reducir significativamente el daño en plantas infectadas sugiere que esta cepa tiene un gran potencial para su uso en campo, a pesar de haber mostrado un rendimiento menor en condiciones *in vitro*. Esto refuerza la importancia de realizar estudios *in vivo* para evaluar la verdadera eficacia de los agentes de control biológico, ya que las condiciones en la planta pueden influir en el comportamiento de las cepas bacterianas de maneras que no se pueden predecir completamente en ensayos *in vitro*.

El éxito del consorcio (B102 + B103) también es particularmente relevante, ya que subraya el valor de combinar cepas bacterianas con diferentes mecanismos de acción para obtener un control más eficaz de las enfermedades. La capacidad de este consorcio para minimizar el daño en las plantas de jitomate infectadas con *F. oxysporum* a solo un 33.3 % de daño sugiere que podría ser una herramienta clave en el manejo integrado de plagas, reduciendo la dependencia de pesticidas químicos y mejorando la sostenibilidad de los cultivos.

En resumen, los tratamientos con las cepas B102, B103 y su consorcio ofrecen una solución prometedora para el control biológico de *F. oxysporum* en el cultivo de jitomate. Los resultados *in vivo* destacan la efectividad de estas bacterias para proteger las plantas, y la superioridad del consorcio sugiere que la sinergia entre cepas podría ser una estrategia clave para mejorar la resistencia de las plantas a patógenos de alta severidad.

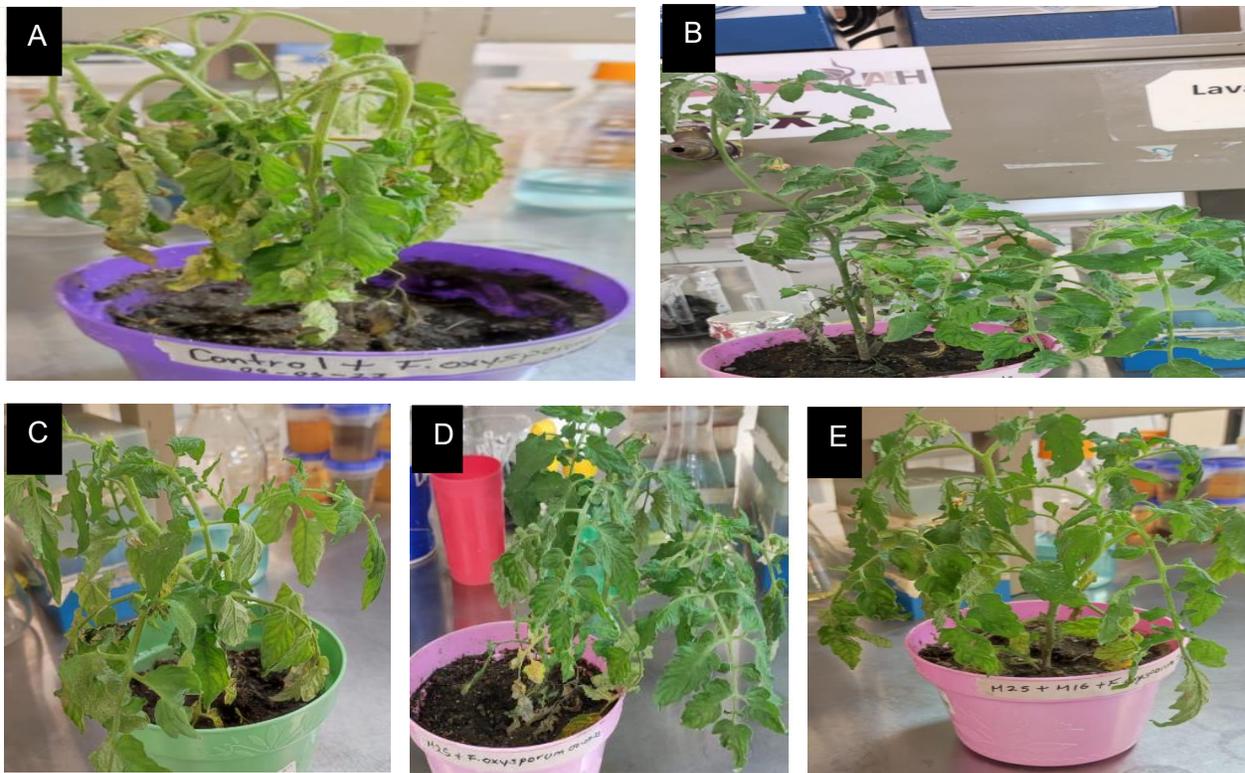


Figura 27. Plantas de jitomate inoculadas con esporas fúngicas de *F. oxysporum* (control positivo) (A), sin tratamientos (control negativo) (B), con cepa B102 más esporas de *F. oxysporum* (C), con cepa B103 más esporas de *F. oxysporum* (D) y con consorcio (B102 y B103) más esporas de *F. oxysporum* (E).

En los resultados obtenidos para *F. brachygibbosum*, se observó un marchitamiento casi completo en las plantas inoculadas con las esporas fúngicas (control positivo), con un porcentaje de daño del 88.8 %. Este resultado destaca la agresividad de *F. brachygibbosum* como patógeno en las plantas de jitomate, causando una rápida descomposición y daño sistémico. En contraste, el control negativo, donde no se introdujo el hongo, mostró solo un ligero marchitamiento, con un porcentaje de daño del 22.2 %, lo que indica que el ambiente experimental pudo haber generado cierto nivel de estrés, pero sin la intervención del hongo, el daño fue mínimo.

En cuanto a las plantas tratadas con las cepas bacterianas, los resultados variaron en cuanto al grado de control de la enfermedad. La planta tratada con la cepa B102 mostró un daño limitado a las hojas inferiores, mientras que las hojas superiores permanecieron mayormente sanas. A este tratamiento se le asignó un porcentaje de daño del 55.5 %, lo que indica que, aunque la cepa B102 logró cierto nivel de protección, su efectividad fue moderada en comparación con los otros tratamientos.

Por otro lado, la cepa B103 presentó un control más notable de la enfermedad, con un porcentaje de daño del 44.4 %. Esto sugiere que B103 tiene un mayor potencial para inhibir el avance de *F. brachygibbosum* en la planta de jitomate, probablemente a través de la producción de compuestos antifúngicos o la inducción de defensas sistémicas en la planta, lo cual reduce el impacto del hongo en el sistema vascular de la planta.

El tratamiento con el consorcio de B102 y B103 también mostró un control efectivo, asignándose un porcentaje de daño del 44.4 %, similar al observado con la cepa B103 de manera individual (Figura 28). Este resultado confirma los hallazgos obtenidos en las pruebas *in vitro*, donde el consorcio de cepas había mostrado un alto potencial antifúngico. La combinación de ambas cepas parece ofrecer un control adicional sobre la enfermedad, lo que sugiere una interacción sinérgica entre los mecanismos de acción de las cepas, como la competencia por nutrientes, la producción de metabolitos antifúngicos, o la estimulación de las defensas naturales de la planta.

Los resultados de este estudio sugieren que tanto las cepas B102 y B103, como su consorcio, tienen un alto potencial como alternativas biológicas al uso de fungicidas químicos en el control de *F. brachygibbosum* en el cultivo de jitomate. La capacidad de B103 para reducir significativamente el daño en comparación con el control positivo demuestra su eficacia como agente de control biológico. Sin embargo, la diferencia observada entre B102 y B103 también señala que las cepas bacterianas pueden tener un impacto variable dependiendo de su interacción con el patógeno y el ambiente en el que se utilicen.

El éxito del consorcio (B102 + B103) en replicar el control de la cepa B103, pero sin mejorar notablemente los resultados, puede ser un indicativo de que, en este caso particular, la combinación de cepas no ofrece una ventaja adicional sobre el uso individual de B103. No obstante, el hecho de que ambas cepas, ya sea individualmente o en consorcio, hayan mostrado una reducción significativa del daño causado por *F. brachygibbosum* refuerza la viabilidad de su uso como agentes de control biológico en situaciones de campo, especialmente cuando se busca reducir el uso de fungicidas químicos y promover prácticas agrícolas más sostenibles.

En conclusión, las cepas B102 y B103, y especialmente su consorcio, representan una alternativa prometedora para el manejo de *F. brachygibbosum* en jitomate. Estos resultados son alentadores y sugieren que, con más estudios en campo, estas cepas podrían convertirse en herramientas clave

para la agricultura sostenible, disminuyendo la dependencia de productos químicos y reduciendo los impactos negativos en el medio ambiente y la salud humana.



Figura 28. Plantas de jitomate inoculadas con esporas fúngicas de *F. brachygibbosum* (control positivo) (A), sin tratamientos (control negativo) (B), con cepa B102 más esporas de *F. brachygibbosum* (C), con cepa B103 más esporas de *F. brachygibbosum* (D) y con consorcio (B102 y B103) más esporas de *F. brachygibbosum* (E).

En los tratamientos empleados para combatir *Fusarium sp.* HPJ, aislado de la planta enferma de jitomate, se observó que, a los 14 días, el control positivo mostró un daño extremo, con la planta prácticamente muerta y un porcentaje de daño asignado del 99.9 %. Este resultado confirma la virulencia y el efecto devastador de *Fusarium sp.* HPJ en el jitomate cuando no se emplean métodos de control.

En contraste, el control negativo, en el cual no se introdujo el hongo, mostró un porcentaje de daño del 33.3 %. Este nivel de daño sugiere que, aunque no se presentó la infección por el hongo, el ambiente experimental y posiblemente otros factores como el estrés hídrico o las condiciones ambientales pudieron contribuir a un leve marchitamiento de las plantas. Aun así, la diferencia respecto al control positivo es evidente, lo que subraya la importancia de encontrar soluciones efectivas para el control de este patógeno.

En cuanto a los tratamientos con bacterias, la cepa B90 fue la más representativa en cuanto a su capacidad para controlar la enfermedad en la planta de jitomate. A los 14 días, las plantas tratadas con B90 mostraron solo un ligero marchitamiento, lo que sugiere que esta cepa logró ejercer un control parcial sobre la enfermedad, con un porcentaje de daño asignado del 66.6 %. Este resultado es alentador, ya que indica que B90 tiene potencial como agente de control biológico contra *Fusarium sp.* HPJ, posiblemente debido a su capacidad para competir por nutrientes, producir metabolitos antifúngicos, o inducir las defensas naturales de la planta.

Por otro lado, la cepa B92 no mostró el mismo nivel de control. Las plantas tratadas con B92 presentaron una marchitez severa y estaban al borde de la muerte, con un porcentaje de daño del 88.8 %. Esto sugiere que B92 no logró adaptarse adecuadamente a las condiciones ambientales de la planta o al entorno experimental, lo que podría haber provocado su muerte o una reducción en su efectividad como agente de control biológico. La falta de adaptación puede deberse a varios factores, como la temperatura, humedad, o la interacción con otros microorganismos presentes en el entorno de la planta.

Estos resultados resaltan la importancia de las condiciones ambientales en la efectividad de los agentes de control biológico. Mientras que la cepa B90 demostró tener un cierto nivel de control sobre *Fusarium sp.* HPJ, B92 no fue capaz de ofrecer la misma protección, lo que podría estar relacionado con su incapacidad para adaptarse al entorno de la planta. Esta variabilidad en los resultados sugiere que, aunque el control biológico tiene un gran potencial, la selección y adaptación de las cepas bacterianas es crucial para maximizar su efectividad en el campo.

El hecho de que B90 haya mostrado un control parcial pero significativo sugiere que podría ser una candidata prometedora para el desarrollo de estrategias de control biológico más robustas, especialmente si se optimizan las condiciones para su uso, como la concentración de la bacteria, el

momento de aplicación, o la combinación con otras estrategias de manejo. Por otro lado, los resultados de B92 indican que no todas las cepas bacterianas tienen el mismo potencial para adaptarse y controlar los patógenos de manera efectiva, lo que subraya la importancia de continuar investigando nuevas cepas y combinaciones que puedan ofrecer un control más confiable y consistente.

En conclusión, aunque B90 parece tener un potencial significativo para combatir *Fusarium sp.* HPJ, los resultados obtenidos con B92 indican que no todas las bacterias funcionan igualmente bien en condiciones de campo. Estos hallazgos refuerzan la necesidad de seguir investigando las condiciones óptimas de aplicación y las interacciones ambientales que influyen en la efectividad de las bacterias como agentes de control biológico.

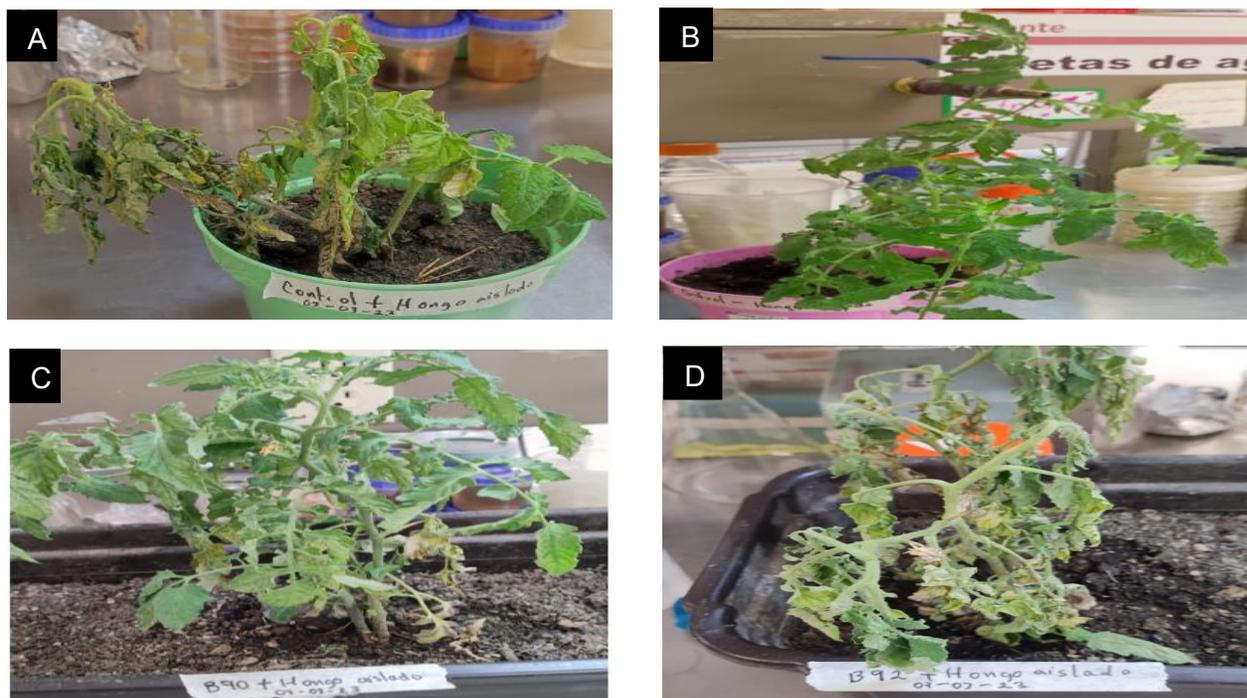


Figura 29. Plantas de jitomate inoculadas con esporas fúngicas de *Fusarium sp.* HPJ (control positivo) (A), sin tratamientos (control negativo) (B), con cepa B90 más esporas de *Fusarium sp.* HPJ (C), con cepa B92 más esporas de *Fusarium sp.* HPJ (D).

12.2.3 Resultados de actividad antifúngica de bacterias contra Fusarium en plántulas de jitomate

Los resultados obtenidos tras 20 días desde la germinación de las plántulas de *S. lycopersicum* (jitomate) mostraron un control significativo de la enfermedad del marchitamiento causada por *F. oxysporum*. El tratamiento más efectivo fue el de la cepa *Bacillus velezensis* (B102), con un porcentaje de sobrevivencia de 62%, lo que subraya su gran potencial como agente de control biológico contra este patógeno (Figura 31).

Asimismo, los tratamientos con la cepa *Enterobacter sp.* (B103) y el consorcio de B102 y B103 también demostraron ser efectivos, con porcentajes de sobrevivencia de 57% y 50%, respectivamente. Estos resultados sugieren que ambas cepas, tanto de manera individual como en combinación, tienen la capacidad de ejercer un control sustancial sobre *F. oxysporum*, aliviando significativamente el daño causado por este hongo en las plántulas de jitomate.

Al comparar estos porcentajes de sobrevivencia con el control positivo, donde el porcentaje de sobrevivencia fue de solo 11%, es evidente la alta eficacia de estos tratamientos. El control positivo, que no recibió ningún tratamiento bacteriano, mostró una alta susceptibilidad a la enfermedad, confirmando la virulencia de *F. oxysporum* cuando no se implementan medidas de control biológico.

Los análisis estadísticos mediante la prueba ANOVA corroboraron la significancia de los resultados obtenidos, destacando que las diferencias observadas entre los tratamientos y el control positivo son estadísticamente relevantes. Esto refuerza la confiabilidad y solidez del estudio (Figura 30), indicando que el uso de estas cepas bacterianas tiene un efecto comprobado en la reducción del impacto de la enfermedad del marchitamiento en las plántulas de jitomate.

Estos resultados confirman la efectividad de las cepas *Bacillus velezensis* (B102) y *Enterobacter sp.* (B103) como agentes de control biológico para reducir la incidencia de la enfermedad causada por *F. oxysporum*. La capacidad de B102 para mantener una sobrevivencia del 62% en las plántulas destaca su alto potencial para su uso en estrategias de biocontrol, lo cual puede ser atribuido a sus mecanismos de acción, que incluyen la producción de compuestos antimicrobianos, la competencia por nutrientes y espacio, y la inducción de defensas sistémicas en la planta.

Por otro lado, el consorcio B102 + B103 mostró un porcentaje de sobrevivencia del 50%, lo cual es algo inferior a los resultados obtenidos con las cepas individuales (Tabla 5). Este resultado plantea preguntas interesantes sobre la posible interacción entre ambas cepas cuando se aplican conjuntamente, ya que, aunque ambas cepas demostraron eficacia de manera individual, su combinación no produjo un efecto sinérgico superior. Una posible explicación es que la competencia entre las cepas podría haber limitado su desempeño conjunto, lo que sugiere que una optimización en las proporciones de las cepas o en las condiciones de aplicación podría mejorar el rendimiento del consorcio.

Esta competencia microbiana podría haber afectado la capacidad de las dos cepas para colonizar eficazmente las raíces o las hojas y ejercer su efecto antagonista contra *F. oxysporum*. En cambio, en las pruebas con plantas de jitomate, estas cepas podrían haberse adaptado mejor al microbioma natural de ese tipo específico de planta, lo que les permitió tener un mayor éxito en el control de la enfermedad.

Esta competencia microbiana podría haber afectado la capacidad de las dos cepas para colonizar eficazmente las raíces o las hojas y ejercer su efecto antagonista contra *F. oxysporum*. En cambio, en las pruebas con plantas de jitomate, estas cepas podrían haberse adaptado mejor al microbioma natural de ese tipo específico de planta, lo que les permitió tener un mayor éxito en el control de la enfermedad.

Otro factor para considerar es la interacción con el microbioma nativo de la planta. Las plantas albergan una comunidad compleja de microorganismos en sus raíces y hojas, que juegan un papel crucial en su salud y resistencia a patógenos. En las pruebas in vivo, el consorcio de B102 y B103 podría haber tenido que competir no solo entre ellas, sino también con otros microorganismos beneficiosos o neutrales presentes en el entorno natural de las plantas.

La elevada eficacia de B103, con un porcentaje de 57%, también subraya su potencial como agente biocontrolador, lo que abre la puerta a su uso en programas integrados de manejo de plagas. Sin embargo, la adaptación de esta cepa a condiciones de campo podría ser un área de estudio futura para maximizar su eficiencia en diferentes ambientes agrícolas.

En resumen, los resultados de este estudio no solo confirman estudios previos que mostraban la efectividad de estas cepas en hojas y plantas de jitomate, sino que también sugieren que el uso de

Bacillus velezensis y *Enterobacter sp.* puede representar una alternativa prometedora al uso de fungicidas químicos. Estas bacterias pueden contribuir a una agricultura más sustentable, reduciendo el uso de productos químicos dañinos y disminuyendo el impacto ambiental en los cultivos de jitomate.

Tabla 5. Resultados obtenidos de plántulas de jitomate tratadas con bacterias y *F. oxysporum*.

<i>F. oxysporum</i>	<i>Plántulas germinadas</i>	<i>Después de 10 días</i>	<i>Después de 20 días</i>	<i>Porcentaje de sobrevivencia</i>
Control positivo	24	20	18	75 %
Control negativo	28	17	3	11 %
<i>B. velezensis</i> (B102)	26	23	16	62 %
<i>Enterobacter sp.</i> (B103)	21	19	12	57 %
Consorcio	25	20	12	50 %

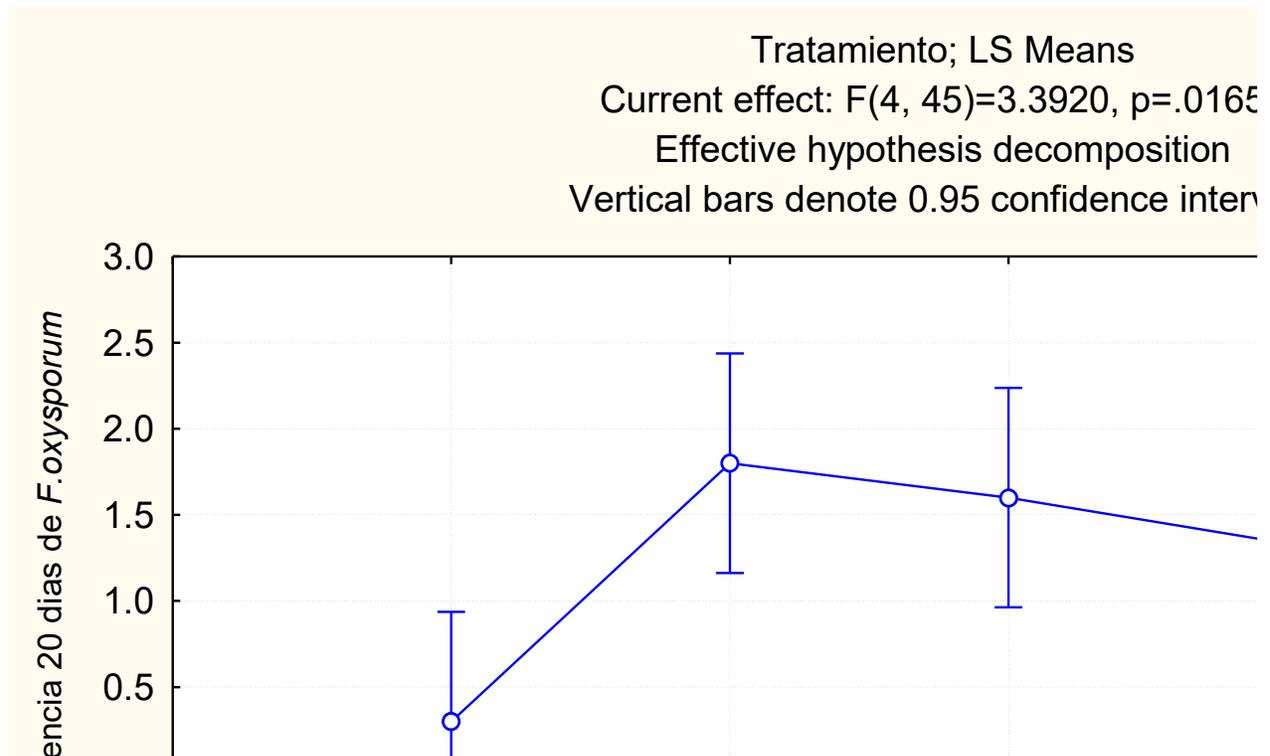


Figura 30. Actividad antifúngica de *B. velezensis* (B102) y *Enterobacter sp.* (B103), contra esporas fúngicas de *F. oxysporum*, resultados de ANOVA.

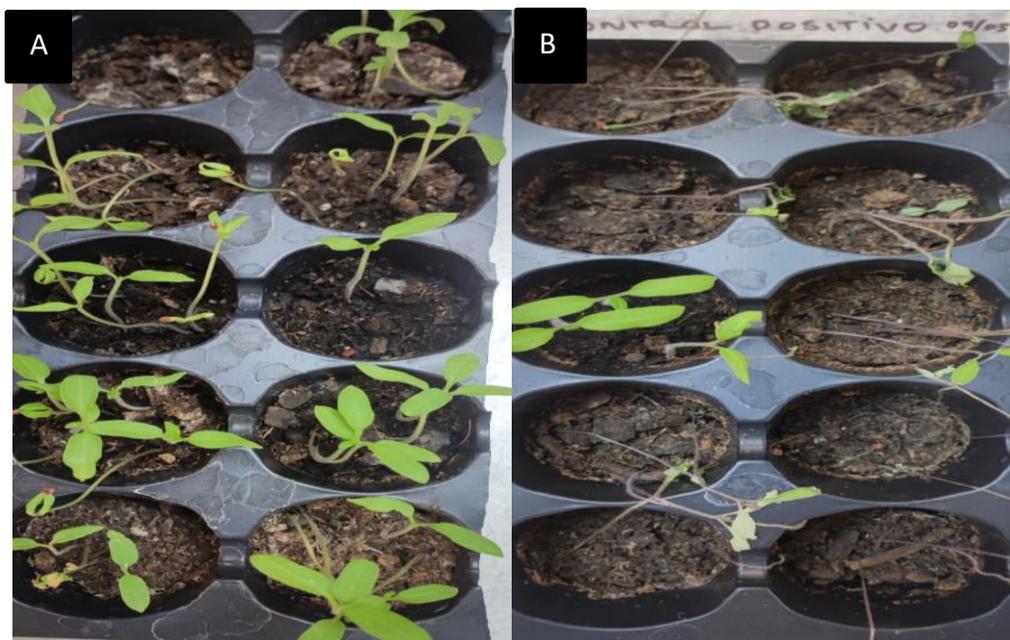


Figura 31. Plántulas de jitomate inoculadas con *B. velezensis* más esporas *F. oxysporum* (A) y control positivo (B).

Los resultados obtenidos para *F. brachygibbosum* tras 20 días mostraron un control notable de la enfermedad del marchitamiento en plántulas de *S. lycopersicum*. El tratamiento más efectivo fue el de la cepa *B. velezensis* (B102), con una tasa de supervivencia del 83%, lo que destaca la capacidad de esta bacteria para proteger las plántulas frente a la infección por *F. brachygibbosum* (Figuras 32 y 33). Esta eficacia podría deberse a la producción de compuestos bioactivos, como lipopeptidos antimicrobianos, y la competencia por espacio y nutrientes en la rizosfera, que son características bien documentadas de *B. velezensis*.

Por su parte, *Enterobacter sp.* (B103) también mostró un buen control de la enfermedad, con una tasa de supervivencia del 68%. Aunque inferior a *B. velezensis*, estos resultados sugieren que B103 tiene un impacto positivo al reducir la incidencia de la enfermedad, probablemente a través de mecanismos como la producción de sideróforos o la inhibición directa del crecimiento fúngico. Sin embargo, es importante señalar que la diferencia en eficacia entre estas dos cepas puede estar relacionada con sus diferentes modos de acción. *B. velezensis* es conocida por su producción activa de antibióticos, mientras que *Enterobacter sp.* podría tener un papel más secundario en la competencia por nutrientes y espacio, lo cual puede haber limitado su eficacia en este experimento (Tabla 6).

En cuanto al consorcio de B102 y B103, la tasa de supervivencia fue del 64%, lo cual, aunque satisfactorio, fue inferior a los resultados obtenidos cuando las cepas fueron utilizadas individualmente. Este resultado contrasta con los estudios *in vitro*, donde el consorcio demostró una mayor capacidad de inhibir el crecimiento fúngico. La diferencia observada en las pruebas *in vivo* puede estar relacionada con las complejidades de la interacción entre ambas cepas en el entorno de la planta. Es posible que, en lugar de trabajar sinérgicamente, las dos cepas estén compitiendo por los mismos recursos, reduciendo así su eficacia global.

Otro factor que considerar es que el ambiente de las pruebas *in vivo* introduce variables adicionales, como las condiciones del suelo, la disponibilidad de nutrientes y las interacciones con otros microorganismos presentes en la rizosfera. Estos factores pueden haber afectado negativamente la interacción entre las cepas B102 y B103, disminuyendo el potencial sinérgico que se observó en condiciones controladas de laboratorio. Esta diferencia sugiere que, aunque el consorcio tiene un potencial interesante, su comportamiento en campo real debe ser evaluado cuidadosamente para optimizar su eficacia como tratamiento biológico.

En resumen, los resultados confirman la eficacia de *B. velezensis* (B102) y *Enterobacter sp.* (B103) como biocontroladores de *F. brachygibbosum* en plántulas de jitomate, con un rendimiento ligeramente inferior en el caso del consorcio. Esto subraya la importancia de realizar estudios adicionales para entender mejor las interacciones entre cepas en condiciones de campo y desarrollar estrategias de aplicación más efectivas.

Tabla 6. Resultados obtenidos de plántulas de jitomate tratadas con bacterias y *F. brachygibbosum*.

<i>F. brachygibbosum</i>	Plántulas germinadas	Después de 10 días	Después de 20 días	Porcentaje de sobrevivencia
Control positivo	24	24	22	92 %
Control negativo	30	6	2	7 %
<i>B. velezensis</i> (B102)	29	26	24	83 %
<i>Enterobacter sp.</i> (B103)	22	20	15	68 %
Consortio	22	18	14	64 %

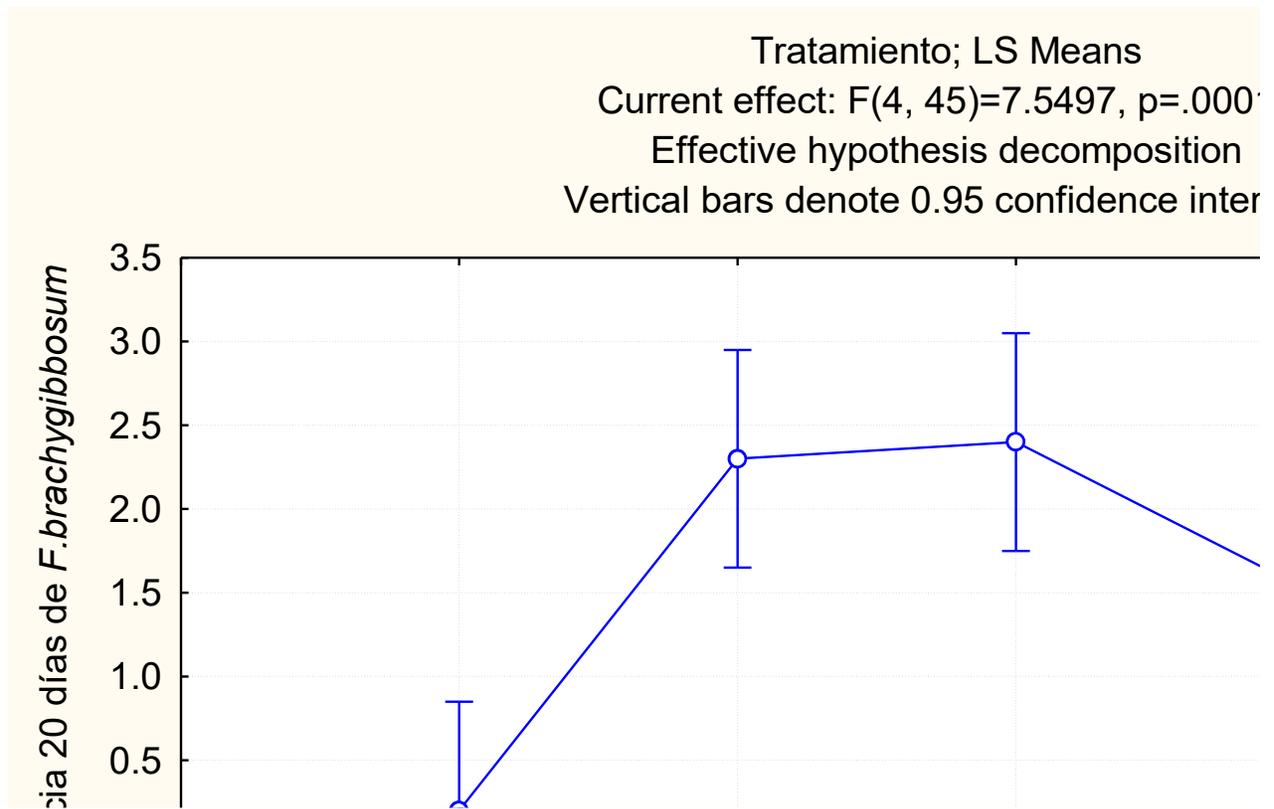


Figura 32. Actividad antifúngica de *B. velezensis* más *Enterobacter sp.*, contra esporas fúngicas de *F. brachygibbosum*, resultados de ANOVA.

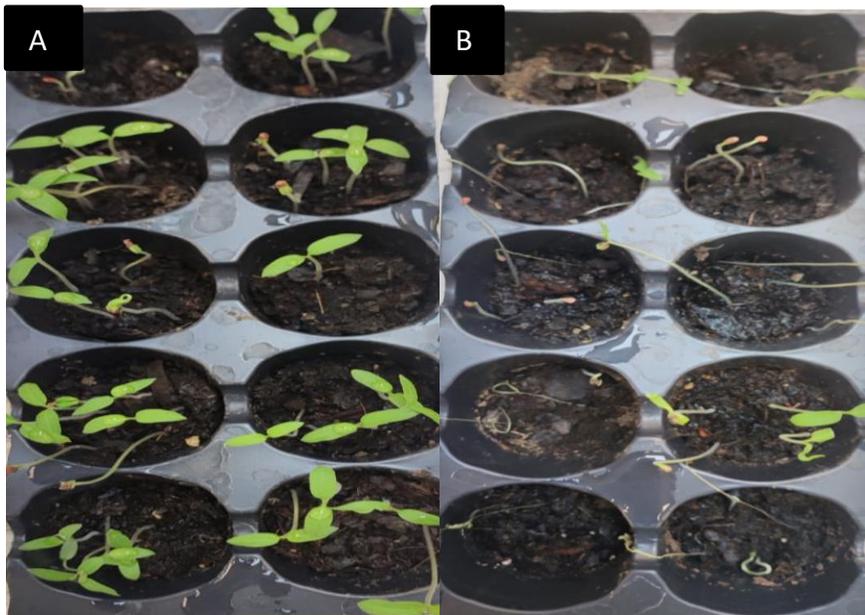


Figura 33. Plántulas de jitomate inoculadas con *B. velezensis* más esporas *F. brachygibbosum* (A) y control positivo (B).

Los resultados obtenidos para *Fusarium sp.* HPJ indican que las plántulas tratadas con la cepa B92 lograron un control notable de la enfermedad, alcanzando un porcentaje de sobrevivencia del 90% a los 20 días (Tabla 7). Este resultado sugiere que la cepa B92 tiene un efecto altamente benéfico en la salud de las plántulas de jitomate, posiblemente debido a su capacidad para inhibir la proliferación del hongo y promover un ambiente más favorable para el crecimiento vegetal.

En comparación, el control positivo mostró un porcentaje de sobrevivencia significativamente bajo, del 21.1%, lo que resalta la eficacia de la cepa B92 frente a la infección por *Fusarium sp.* HPJ. Esta diferencia considerable subraya la importancia de elegir cepas adecuadas en estrategias de control biológico, ya que el uso de tratamientos ineficaces puede resultar en bajas tasas de sobrevivencia y, en consecuencia, en pérdidas económicas para los cultivos.

Asimismo, la cepa B90 también presentó resultados prometedores, con un porcentaje de sobrevivencia del 75% a los 20 días (Figura 34). Aunque inferior al de la cepa B92, este resultado es significativo y sugiere que B90 podría ser una alternativa viable en situaciones donde B92 no esté disponible o no se pueda aplicar por alguna razón. La capacidad de ambas cepas para superar al control negativo, que mostró un porcentaje de sobrevivencia del 56.4%, es indicativa de su potencial en la mitigación de la enfermedad, lo que resulta relevante en el contexto de la agricultura sostenible.

Es fundamental destacar que la corroboración de estos resultados mediante la prueba estadística ANOVA proporciona un respaldo sólido a nuestras conclusiones (Figura 35). Los datos muestran que las diferencias en la sobrevivencia entre las plántulas tratadas y los controles son estadísticamente significativas. Esto no solo valida la eficacia de las cepas B92 y B90, sino que también enfatiza la necesidad de realizar más estudios para entender los mecanismos a través de los cuales estas cepas ejercen su efecto protector.

En conclusión, los hallazgos sugieren que el uso de cepas específicas como B92 y B90 puede ser una estrategia efectiva para el control biológico de *Fusarium sp.* HPJ en plántulas de jitomate. Este enfoque no solo podría mejorar las tasas de sobrevivencia de las plántulas, sino también contribuir a prácticas agrícolas más sostenibles y menos dependientes de fungicidas químicos, lo que podría tener un impacto positivo en la salud del ecosistema agrícola.

Tabla 7. Resultados obtenidos de plántulas de jitomate tratadas con bacterias y hongo *Fusarium sp.* HPJ.

<i>Fusarium sp.</i> HPJ	Plántulas germinadas	Después de 10 días	Después de 20 días	Porcentaje de sobrevivencia
Control positivo	38	17	8	21.1 %
Control negativo	39	37	22	56.4 %
B90	40	32	30	75 %
B103	40	39	36	90 %

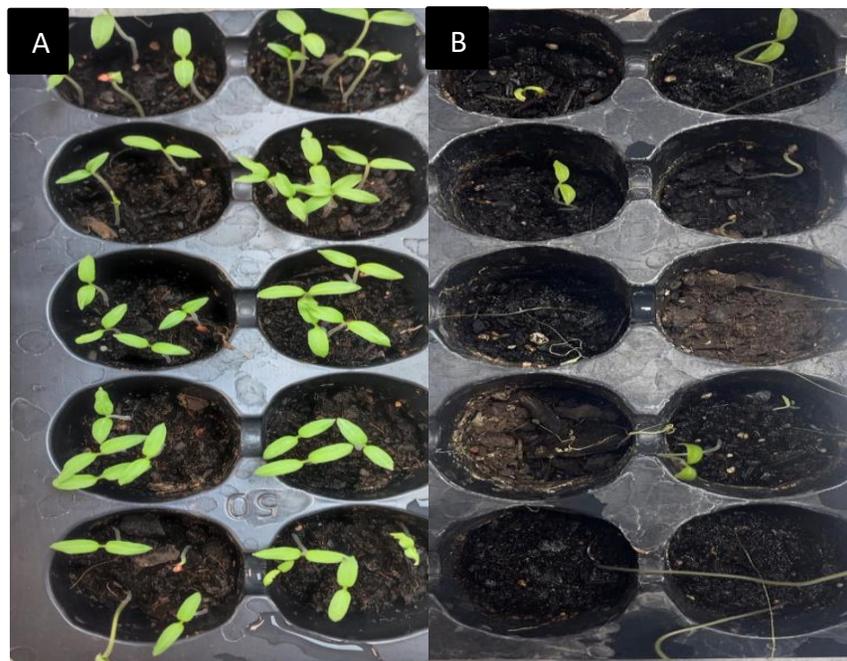


Figura 34. Plántulas de jitomate inoculadas con B92 más esporas de *Fusarium sp.* HPJ (A) y control positivo (B).

12.3 Resultados de identificación de cepas bacterianas

El análisis molecular más similar con la cepa B102 de acuerdo con la búsqueda BLAST del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI), fue la especie *Bacillus velezensis*, con una cobertura de la secuencia del 100% y una identidad del 100%. Para el caso de la cepa B103, fue la especie *Enterobacter sp.*, con una cobertura de la secuencia del 98.56%.

12.5 Resultados de mecanismos de acción

Los resultados obtenidos en las pruebas de detección de proteasas, β -1,3,6-glucanasas, celulasas y quitinasas ofrecen una comprensión más detallada sobre los mecanismos de acción de las cepas bacterianas estudiadas, en particular *Bacillus velezensis*, contra los hongos fitopatógenos *Fusarium oxysporum* y *Fusarium brachygibbosum*. La capacidad de estas cepas para producir diversas enzimas líticas es clave en su potencial para ser empleadas como agentes de control biológico.

10.5.1 Detección de proteasas

La detección de actividad proteolítica en *B. velezensis* sugiere que esta cepa tiene la capacidad de degradar proteínas presentes en la pared celular de los hongos (Figura 35). Las proteasas desempeñan un papel esencial en la descomposición de las proteínas de la pared celular fúngica, debilitando la estructura de la célula y haciéndola más susceptible a otros mecanismos de ataque. Esto coincide con estudios previos que han señalado la capacidad de *B. velezensis* para producir estas enzimas. El hallazgo es relevante, ya que las proteínas de la pared celular en los hongos son fundamentales para la adhesión celular y la comunicación, procesos críticos para el crecimiento y la patogenicidad de los hongos. La capacidad de degradar estas proteínas sugiere que *B. velezensis* podría afectar significativamente la integridad celular del hongo, contribuyendo a su control.

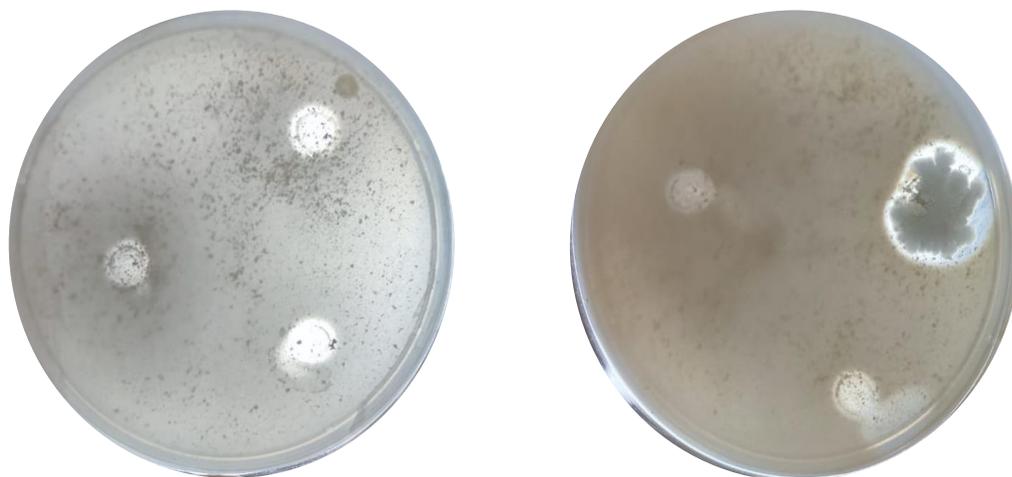


Figura 35. Medio específico para detección de proteasas después de 7 días de incubación, con cepa *B. velezensis*.

12.5.2 Detección de β -1,3,6- glucanasas

Las cepas *B. velezensis*, B90 y B92 mostraron actividad positiva en la producción de β -1,3,6- glucanasas, lo que refuerza la idea de que estas bacterias pueden utilizar múltiples rutas para debilitar la pared celular fúngica (Figura 36). Los glucanos, en particular los β -glucanos, son componentes estructurales cruciales en las paredes celulares de los hongos, por lo que su degradación puede afectar la estabilidad y resistencia de las células fúngicas. Este mecanismo es de gran importancia en el control de *Fusarium* debido a que la descomposición de los β -glucanos debilita la pared celular, provocando la lisis del hongo y limitando su capacidad de infectar plantas. La acción conjunta de las glucanasas con otras enzimas como las proteasas y celulasas podría amplificar el efecto antifúngico, haciendo a estas cepas altamente eficaces en el control biológico.

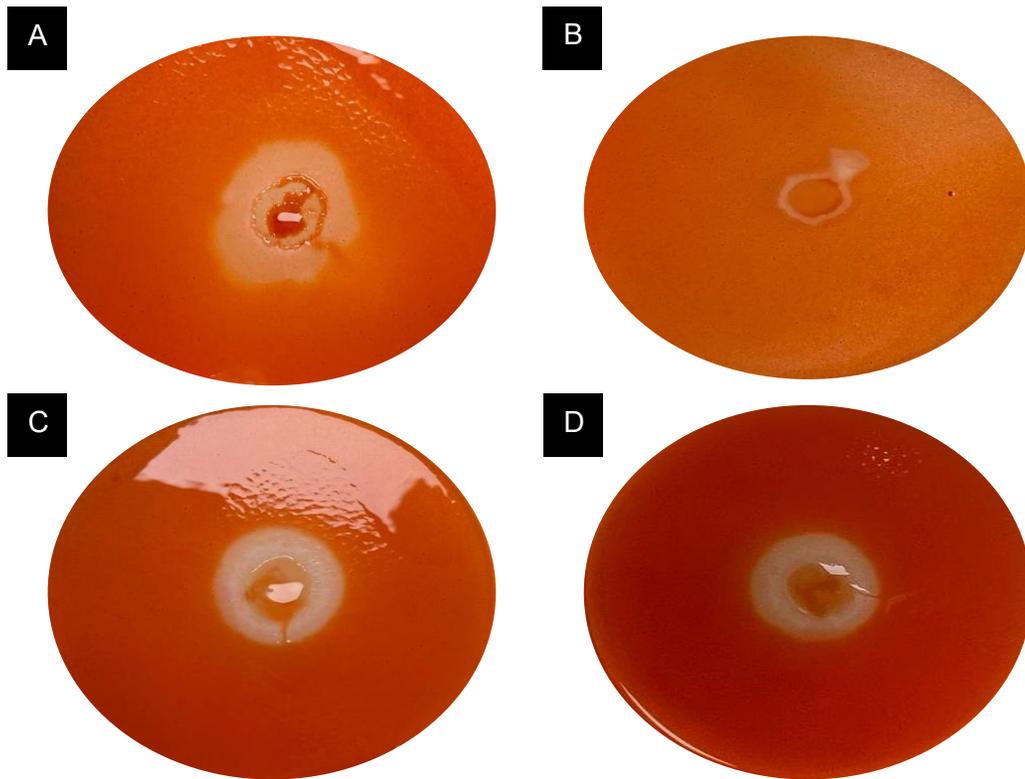


Figura 36. Medio específico para la detección de β -1,3,6- glucanasas después de 7 días de incubación, con cepa *B. velezensis* (A), *Enterobacter sp.* (B), B90 (C) y B92 (D).

12.5.3 Detección de celulasas

Las pruebas de detección de celulasas indicaron que *B. velezensis*, *Enterobacter sp.* y B90 tienen la capacidad de producir estas enzimas, las cuales degradan celulosa, un componente que proporciona rigidez y estructura a las paredes celulares fúngicas (Figura 37). Si bien la celulosa no es un componente principal de las paredes celulares de *Fusarium*, sí juega un rol en otros hongos, lo que resalta la versatilidad de estas bacterias en su capacidad de actuar sobre una amplia gama de fitopatógenos. La producción de celulasas por parte de *B. velezensis* podría estar contribuyendo a un ataque multifactorial, debilitando varias capas de la estructura celular fúngica. Este aspecto es particularmente importante si consideramos que *Fusarium* puede colonizar diferentes partes de la planta, y la celulosa está presente en diversos tejidos.

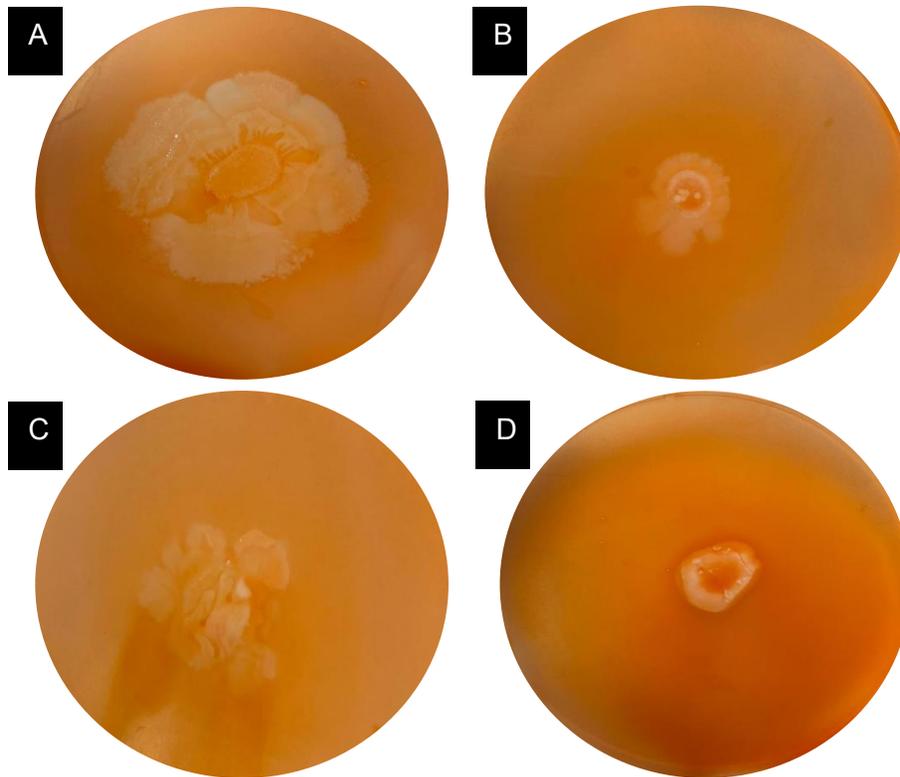


Figura 37. Medio específico para la detección de celulasas después de 7 días de incubación, con cepa *B. velezensis* (A), *Enterobacter sp.* (B), B90 (C) y B92 (D).

12.5.4 Detección de quitinasas

La producción de quitinasas por parte de *B. velezensis* representa uno de los mecanismos de acción más relevantes, ya que la quitina es uno de los principales componentes estructurales de la pared celular de los hongos del género *Fusarium* (Figura 38). La quitina proporciona rigidez y resistencia mecánica, por lo que su degradación es un factor clave en el debilitamiento del hongo y su eventual destrucción. La actividad quitinolítica observada en *B. velezensis* es consistente con su potencial como agente de control biológico, pues la eliminación de la quitina debilita directamente las paredes celulares, facilitando la acción de otras enzimas como las proteasas y celulasas.



Figura 38. Medio específico para la detección de quitinasas después de 7 días de incubación, con cepa *B. velezensis*.

12.5.5 Detección de sideróforos

Las pruebas realizadas demostraron que *Bacillus velezensis*, *Enterobacter sp.*, así como las cepas B90 y B92, tienen la capacidad de producir sideróforos (Figura 39). Estas moléculas, de bajo peso molecular (rango entre 0.5 y 1.0 kDa), son agentes quelantes específicos para Fe^{3+} . Esta característica es crucial en ecosistemas terrestres, donde la disponibilidad de hierro suele estar limitada debido a su baja solubilidad en condiciones aeróbicas y pH neutro o alcalino (Aguado-Santacruz et al., 2012).

La producción de sideróforos por bacterias del suelo desempeña un papel esencial en el ciclo del hierro, permitiendo a las plantas acceder a este elemento indispensable para procesos como la fotosíntesis y la síntesis de clorofila. Diversos estudios han señalado que las bacterias que sintetizan sideróforos no solo favorecen la nutrición de las plantas, sino que también promueven su crecimiento al mejorar su resistencia al estrés abiótico (por ejemplo, suelos pobres en nutrientes o contaminados) (Aguado-Santacruz et al., 2012).

En este contexto, la capacidad de estas bacterias para generar sideróforos resalta su potencial como bioinoculantes en sistemas agrícolas sustentables. Al incrementar la disponibilidad de hierro para las plantas, estas bacterias no solo contribuyen a mejorar la productividad agrícola, sino que

también podrían reducir la necesidad de fertilizantes químicos. Este enfoque no solo es ecológicamente viable, sino también económicamente atractivo.

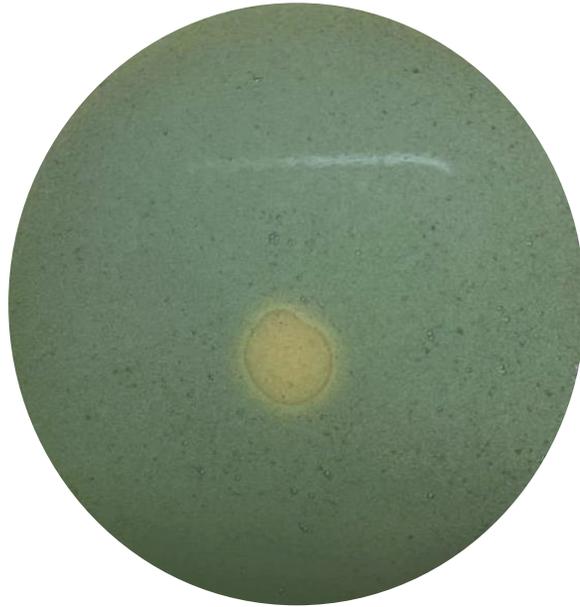


Figura 39. Medio específico para la detección de sideróforos después de 7 días de incubación, con cepa *Enterobacter sp.*

Los mecanismos de acción detectados en estas cepas bacterianas confirman que *B. velezensis* es una cepa altamente prometedora para el control biológico de hongos fitopatógenos, especialmente del género *Fusarium*. La producción de proteasas, β -1,3,6-glucanasas, celulasas, quitinasas y sideróforos sugiere que estas bacterias tienen la capacidad de atacar múltiples componentes de la pared celular de los hongos, debilitando su estructura y limitando su capacidad de infección. En particular, la capacidad de producir quitinasas y glucanasas posiciona a *B. velezensis* como un agente con un modo de acción robusto y multifuncional.

El uso de estos mecanismos biológicos como alternativa al uso de fungicidas químicos representa un enfoque sostenible y eficiente para el manejo de enfermedades en cultivos de tomate, además de contribuir a la reducción del impacto ambiental y la resistencia de los patógenos a tratamientos químicos.

13.0 CONCLUSIONES

De las 103 cepas bacterianas aisladas, solo un grupo reducido exhibió actividad antifúngica significativa. En total, 16 cepas inhibieron el crecimiento radial de *Fusarium oxysporum*, 12 mostraron actividad contra *Fusarium brachygibbosum* y 17 fueron efectivas contra el hongo *Fusarium sp.* HPJ, aislado de plantas de jitomate. Entre ellas, *Bacillus velezensis* (B102) y *Enterobacter sp.* (B103) destacaron por su marcada actividad antagónica frente a *F. oxysporum* y *F. brachygibbosum*, mientras que las cepas B90 y B92 fueron las más eficientes en la inhibición de *Fusarium sp.* HPJ en ensayos *in vitro*.

El efecto antifúngico de estas cepas fue confirmado mediante pruebas de germinación de esporas fúngicas, donde las cepas B102, B103, B90 y B92 provocaron una reducción significativa ($p \leq 0.05$) en la germinación en comparación con los controles.

La mezcla (consorcio) de las cepas B102 y B103, provocó un efecto sinérgico, con reducciones sustanciales en la germinación de esporas de *F. oxysporum* y *F. brachygibbosum* en comparación con las cepas individuales. Este consorcio también demostró ser el tratamiento más eficaz en ensayos realizados en hojas de jitomate, reduciendo el daño en un 44.4% según una escala de severidad de 0 a 9, donde 0 indica ausencia de daño y 9 representa la muerte de la planta. En comparación, el control positivo presentó un daño del 88.8%, lo que resalta el potencial del consorcio como alternativa biológica a los fungicidas convencionales.

En cuanto a *Fusarium sp.* HPJ, la cepa B92 logró una inhibición significativa *in vitro*; sin embargo, su eficacia en condiciones de campo fue limitada, alcanzando un daño del 88.8% en plantas infectadas. Esto sugiere que factores ambientales o la microbiota de la planta pudieron afectar su desempeño. En contraste, la cepa B90 demostró una mayor adaptabilidad a condiciones de campo, lo que la posiciona como una opción prometedora para el control de este patógeno.

El análisis molecular confirmó que la cepa B102 está estrechamente relacionada con *Bacillus velezensis*, con una cobertura y una identidad del 100%. Por su parte, la cepa B103 fue identificada como *Enterobacter sp.*, con una cobertura del 98.56%. Además, *B. velezensis* (B102) mostró una robusta producción de metabolitos con actividad antifúngica, incluyendo proteasas, glucanasas, celulasas, quitinasas y sideróforos, los cuales desempeñan un papel clave en la degradación de las

paredes celulares de los hongos patógenos y su inhibición. Estos hallazgos refuerzan su potencial como una alternativa biológica viable y sostenible frente a los fungicidas químicos tradicionales.

La cepa *Enterobacter sp.* (B103) también demostró eficacia en la reducción del daño en plántulas de jitomate, aunque en menor medida que B102. Las tasas de supervivencia de plántulas infectadas con *F. oxysporum* y *F. brachygibbosum* fueron del 57% y 68%, respectivamente, mientras que el consorcio B102-B103 alcanzó tasas del 50% y 64%. Estos resultados sugieren que, aunque el consorcio es efectivo, podría existir competencia entre las cepas, lo que podría limitar su sinergia y resalta la necesidad de optimizar sus proporciones para mejorar su efectividad.

Los hallazgos de este estudio subrayan el potencial de las cepas bacterianas como agentes de control biológico en el cultivo de jitomate, particularmente frente a patógenos fúngicos como *F. oxysporum*, *F. brachygibbosum* y *Fusarium sp.* HPJ. Si bien las cepas B102 y B103 mostraron eficacia en la reducción del daño causado por *Fusarium*, la combinación de ambas no siempre representó una ventaja adicional.

En relación con *Fusarium sp.* HPJ, la variabilidad en la eficacia de las cepas evaluadas resalta la importancia de seleccionar microorganismos con alta adaptabilidad a condiciones de campo para maximizar su potencial como biocontroladores. La cepa B90 demostró ser una alternativa viable en este contexto, mientras que B92 no logró replicar su desempeño *in vitro* en condiciones agrícolas.

La aplicación de *B. velezensis*, *Enterobacter sp.* y B90 en el manejo biológico de enfermedades fúngicas en jitomate representa una estrategia prometedora para una agricultura más sostenible, reduciendo la dependencia de fungicidas sintéticos y minimizando el impacto ambiental. Sin embargo, es esencial continuar con estudios a nivel de campo para optimizar las condiciones de aplicación y mejorar la eficacia de estos agentes biológicos en escenarios agrícolas reales.

14.0 PERSPECTIVAS

Los resultados obtenidos en este estudio abren múltiples líneas de investigación orientadas al desarrollo de estrategias sostenibles para el manejo de enfermedades fúngicas en el cultivo de jitomate. La identificación de cepas bacterianas con actividad antifúngica significativa, como *Bacillus velezensis* (B102), *Enterobacter* sp. (B103) y la cepa B90, destaca su potencial como agentes de biocontrol. No obstante, para maximizar su eficacia en condiciones de campo, será necesario avanzar en los siguientes aspectos:

1. Optimización de consorcios bacterianos

Si bien la combinación de B102 y B103 mostró un efecto sinérgico en la inhibición fúngica, también se observó una posible competencia entre las cepas que podría limitar su efectividad. Se requieren estudios adicionales para determinar las proporciones óptimas, condiciones de co-cultivo y compatibilidad metabólica entre cepas para mejorar su rendimiento conjunto.

2. Evaluación en condiciones de campo a mayor escala

La eficacia de las cepas evaluadas debe ser validada en diferentes contextos agroclimáticos, considerando factores como tipo de suelo, microbiota nativa y condiciones ambientales variables. Esto permitirá identificar las mejores condiciones de aplicación y establecer protocolos de uso más robustos.

3. Estudios de compatibilidad con prácticas agrícolas y otros insumos

Se recomienda evaluar la interacción de las cepas seleccionadas con fertilizantes, pesticidas o prácticas agrícolas convencionales, a fin de asegurar su viabilidad y compatibilidad en sistemas agrícolas reales.

4. Investigación sobre *Fusarium* sp. HPJ

La baja eficacia de algunas cepas frente a este patógeno bajo condiciones de campo sugiere la necesidad de continuar con el aislamiento y evaluación de nuevas cepas con mayor adaptabilidad y persistencia. Asimismo, se plantea como prioridad identificar con precisión taxonómica a *Fusarium* sp. HPJ, para comprender mejor sus características fisiológicas y su interacción con la microbiota vegetal.

En conjunto, estas perspectivas refuerzan la necesidad de un enfoque integral que combine la microbiología, la agronomía y la biotecnología para el desarrollo de bioinsumos eficientes y sostenibles. La implementación exitosa de agentes de biocontrol como los propuestos en esta investigación podría contribuir significativamente a reducir la dependencia de fungicidas químicos y fomentar una agricultura más respetuosa con el ambiente.

REFERENCIAS

- Alcedo, Y. C., & Reyes, I. (2018). Microorganismos promotores de crecimiento en el biocontrol de *Alternaria alternata* en tomate (*Solanum lycopersicum* L.). *Bioagro*, 30(1), 59-66.
- Altaf, M. A., Shahid, R., Ren, M. X., Naz, S., Altaf, M. M., Khan, L. U., Tiwari, R. K., Lal, M. K., Shahid, M. A., Kumar, R., Nawaz, M. A., Jahan, M. S., Jan, B. L., & Ahmad, P. (2022). Melatonin Improves Drought Stress Tolerance of Tomato by Modulating Plant Growth, Root Architecture, Photosynthesis, and Antioxidant Defense System. *Antioxidants* (Basel, Switzerland), 11(2), 309. <https://doi.org/10.3390/antiox11020309>
- Agrios, G. N. (2007). *Fitopatología*. editorial Limusa. DF México. 67-671
- Agrios, G.N. (1988). *Plant Pathology*, 3rd. ed. Academic Press, Inc.: New York. 803pp.
- Armstrong, G. M. and Armstrong, J. K. (1981). *Formae speciales and races of Fusarium oxysporum causing wilt diseases*. En *Fusarium: diseases, biology and taxonomy.*, pp. 391-399. Edited by Nelson, P. E., Tousson, T. A. and Cook, R. J.: The Pennsylvania State University Press.
- Blancard, D. (2011). *Enfermedades del tomate*. Mundi-Prensa Libros. Madrid España. p. 307
- Balatti, P. A., López, S. M. Y., Franco, M. E. E., Lucentini, C. G., Medina, R., & Saparrat, M. C. N. (2018). Tomate: hongos patógenos, bacterias endófitas y biocontrol. In *I Encuentro de Centros Propios y Asociados de la CIC* (Mar del Plata, 2018).
- Badii, M. H., & Abreu, J. L. (2006). Control biológico una forma sustentable de control de plagas (Biological control a sustainable way of pest control). *Daena: international journal of good conscience*, 1(1), 82-89.
- Badii, M.H. & Abreu, J.L. (2006). Control biológico una forma sustentable de control de plagas. *Servicios ecosistémicos: Un enfoque introductorio con experiencias del occidente Colombiano* (pp.201-211).
- Bennett, J. W., & Bentley, R. (2000). Seeing red: the story of prodigiosin. *Advances in applied microbiology*, 47, 1–32. [https://doi.org/10.1016/s0065-2164\(00\)47000-0](https://doi.org/10.1016/s0065-2164(00)47000-0)
- Booth, C. 1984.

- The Fusarium problem: historical, economic, and taxonomic aspects. The applied mycology of Fusarium, pp. 1-13. Moss, M. O. and Smith, J. E. (eds.). Press Syndicate of the University of Cambridge.
- Bürger, J.; Günther, A.; de Mol, F. y Gerowitt, B. (2012). Analysing the influence of crop management on pesticide use intensity while controlling for external sources of variability with Linear Mixed Effects Models. *Agricultural Systems*, 111:13-22. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.agsy.2012.05.002>
- BROCK, T. & M. MADIGAN.(1993). Microbiología. 6ta Edición. Prentice Hall Hispanoamérica S. A. México.
- Cao, P., Liu, C., Sun, P., Fu, X., Wang, S., Wu, F., & Wang, X. (2016). An endophytic *Streptomyces* sp. strain DHV3-2 from diseased root as a potential biocontrol agent against *Verticillium dahliae* and growth elicitor in tomato (*Solanum lycopersicum*). *Antonie van Leeuwenhoek*, 109(12), 1573-1582. Doi: 10.1007/s10482-016-0758-6
- Cawoy, H., Bettiol, W., Fickers, P., & Onge, M. (2011). *Bacillus*-Based Biological Control of Plant Diseases. InTech. doi: 10.5772/17184
- Cabello, T. (1996). Utilización de pesticidas en cultivos en invernaderos del sur de España y análisis de los riesgos toxicológicos y medio ambientales. *Phytoma*, 75, 11-19.
- Campos, M. A. R. (2018). El uso de pesticidas en la agricultura y su desorden ambiental. *Revista Enfermería la Vanguardia*, 6(2), 40-47.
- Camelo, M., Vera, S. P., & Bonilla, R. R. (2011). Mecanismos de acción de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. *Ciencia Y Tecnología Agropecuaria*, 12(2), 159–166. https://doi.org/10.21930/rcta.vol12_num2_art:227
- Carlile, M. J., Watkinson, S. C. and Gooday, G. (2001). *The Fungi*. Academic Press, London. p. 46.
- De Granada, E. G., De Amezquita, M. C. O., Mendoza, G. R. B., & Zapata, H. A. V. (2001). *Fusarium oxysporum* el hongo que nos falta conocer. *Acta biológica colombiana*, 6(1), 7-25.
- Deighton, F. C., Stevenson, J. A. y Cummins, G. B. (1962). *Formae speciales and the code*. *Taxon* 11:70-71.

- Díaz, V. (2014). Perfil comercial tomate. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación, Guatemala. 11 p.
- Díaz, O., & Aguilar, C. C. R. B. (2018). Los pesticidas; clasificación, necesidad de un manejo integrado y alternativas para reducir su consumo indebido: una revisión. *Revista Científica Agroecosistemas*, 6(2), 14-30.
- Dhouib, H., Zouari, I., Abdallah, D. B., Belbahri, L., Taktak, W., Triki, M. A. y Tounsi, S. (2019). Potencial de un nuevo *Bacillus velezensis* endófito en la promoción del crecimiento del tomate y la protección contra la enfermedad de marchitamiento por verticilosis. *Control biológico*, 139, 104092.
- Escobar, H; Lee, R. (2009). Manual de producción de tomate bajo invernadero. v.2. 2 ed. Bogotá, Colombia. 180 p.
- Elsayed, T.R., Jacquiod, S., Nour, E.H., Sørensen, S.J., & Smalla, K. (2020). Biocontrol of Bacterial Wilt Disease Through Complex Interaction Between Tomato Plant, Antagonists, the Indigenous Rhizosphere Microbiota, and *Ralstonia solanacearum*. *Frontiers in Microbiology*, 10.
- FAO. (2013). El cultivo de tomate con buenas prácticas agrícolas en la agricultura urbana y periurbana. Recuperado de <http://www.fao.org/3/a-i3359s.pdf>.
- Fernández-Herrera, E., Ruiz, J. G., Puente, E. R., & Ramos, M. A. (2013). Patógenos y síntomas asociados a la marchitez del tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en Texcoco México. *Biotecnia*, 15(3), 46-50.
- Ghazanfar, M. U., Hussain, M., Hamid, M. I., & Ansari, S. U. (2016). Utilization of biological control agents for the management of postharvest pathogens of tomato. *Pak. J. Bot*, 48(5), 2093-2100.
- Gordon, T. R. y Martyn, R. D. (1997). The Evolutionary Biology of *Fusarium oxysporum*. *Annual Review of Phytopathology* 35:111-128.
- Guédez, C., Castillo, C., Cañizales, L., & Olivar, R. (2008). Control biológico: una herramienta para el desarrollo sustentable y sostenible. *Academia*, 7, 1-25.
- Gutiérrez-Román, M. I., Holguín-Meléndez, F., Bello-Mendoza, R., Guillén-Navarro, K., Dunn, M. F., & Huerta-Palacios, G. (2012). Production of prodigiosin and chitinases by tropical *Serratia marcescens* strains with potential to control plant pathogens. *World Journal of*

Microbiology and Biotechnology, 28, 145-153. Doi: <https://doi.org/10.1007/s11274-011-0803-6>

Ha, T. M. (2014). A review on the Development of Integrated Pest Management and Its Integration in Modern Agriculture. *Asian Journal of Agriculture and Food Science*, 2(4), 336-340. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/281052725_Developing_an_Integrated_Pest_Management_Program_for_Tomatoes_in_The_Red_River_Delta_of_Vietnam_A_mini_review

Hernández-Herrera, R. M., Santacruz-Ruvalcaba, F., Ruiz-López, M. A., Norrie, J., & Hernández-Carmona, G. (2014). Effect of liquid seaweed extracts on growth of tomato seedlings (*Solanum lycopersicum* L.). *Journal of applied phycology*, 26(1), 619-628. Doi: 10.1007/s10811-013-0078-4

Hsu, S., and Lockwood, J. (1975). *Applied Microbiology*, 29 (3): 422-426.

Jones, J. B. (2001). Plagas y enfermedades del tomate. 4-6 Consultado en: bibliotecavirtual.fundacionvalles.org/bitstream/handle/123456789/55/Plagas_y_enfermedades_del_tomate.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Karthik, C., Aravind, R., & Ramkumar, G. (2017). Biocontrol potential of *Bacillus* spp. isolated from rhizosphere against *Fusarium oxysporum* causing wilt in tomato. *Journal of Plant Pathology*, 99(3), 733–741. <https://doi.org/10.4454/jpp.v99i3.3957>

Kistler, H. C. (2001). Evolution in host specificity in *Fusarium oxysporum*. *Fusarium*. APS Press, USA. Lamour, K.H., Stam, R., Jupe, J. y Huitema, E. 2012. The oomycete broad-host-range pathogen *Phytophthora capsici*. *Molecular Plant Pathology* 13:329-337. Doi: 10.1111/J.1364-3703.2011.00754.X

Lane DJ. (1991). 16S/23S rRNA sequencing. In: Stackebrandt E, Goodfellow M (eds). *Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics*. John Wiley & Sons: New York, NY, USA. pp 115–147.

Lamour, K. H., Stam, R., Jupe, J., & Huitema, E. (2012). The oomycete broad-host-range pathogen *Phytophthora capsici*. *Molecular plant pathology*, 13(4), 329–337. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2011.00754.x>

Leslie, J. F., Zeller, K. A., and Summerell, A. (2001). Icebergs and species in populations of *Fusarium*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 59:107-117.

- López, L. (2014). Evaluación del comportamiento agronómico de 6 cultivares de tomate (*Solanum lycopersicum*) en San Francisco, Cartago. Región Central Oriental de Costa Rica. Informe final. San José, Costa Rica. Proyecto PRIICA-INTA. Cartago, Costa Rica. 21 p.
- Martínez-Ruiz, F. E., Cervantes-Díaz, L., Aíl-Catzím, C. E., Hernández-Montiel, L. G., Sánchez, C. L. D. T., & Rueda-Puente, E. O. (2016). Hongos fitopatógenos asociados al tomate (*Solanum Lycopersicum* L.) en la Zona Árida del noroeste De México: la importancia de su diagnóstico. *European Scientific Journal*, 12(18). Doi: 10.19044/esj.2016.v12n18p232
- Myo, E. M., Liu, B., Ma, J., Shi, L., Jiang, M., Zhang, K., & Ge, B. (2019). Evaluation of *Bacillus velezensis* NKG-2 for bio-control activities against fungal diseases and potential plant growth promotion. *Biological Control*, 134, 23-31.
- Medeiros, M. D. G. D. A., Carvalho, L. D., & Franco, R. M. (2017). Perception of hygiene of food handlers and the microbiological profile in a university kitchen. *Ciência & Saúde Coletiva*, 2017, Vol. 22, No. 2, 383-392 ref. 29. DOI: 10.1590/1413-81232017222.17282015
- Moustaine M., Elkahkahi R., Benbouazza A., Benkirane R., and Achbani E. H. (2017). "Effect of plant growth promoting rhizobacterial (PGPR) inoculation on growth in tomato (*Solanum lycopersicum* l.) and characterization for direct PGP abilities in Morocco." *International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology*, vol. 2, no. 2.
- Okumoto, S. (1992). Efecto de enmiendas sobre bacterias antagónicas a *Alternaria solani* en tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). Tesis de maestría. Consultado en: <https://repositorio.catie.ac.cr/handle/11554/4857>
- Parasuraman, P., Pattnaik, S. S., Busi, S., Marraiki, N., Elgorban, A. M., & Syed, A. (2020). Isolation and characterization of plant growth promoting rhizobacteria and their biocontrol efficacy against phytopathogens of tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Plant Biosystems- An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 1-7. Doi: 10.1080/11263504.2020.1845842
- Perez Consuegra, N. (2004). Manejo ecológico de plagas. En: *Transformando el campo cubano. Avances de la Agricultura Sostenible*. Ed. ACTAF. La Habana. Pp. 191-223. 2001
- Ramírez González, S. I., López Báez, O., Espinosa Zaragoza, S., & Wong Villarreal, A. (2016). Actividad antifúngica de hidrodestilados y aceites sobre *Alternaria solani*, *Fusarium*

- oxysporum* y *Colletotrichum gloesporioides*. Revista mexicana de ciencias agrícolas, 7(8), 1879-1891.
- Rabbee, M. F., Ali, M. S., Choi, J., Hwang, B. S., Jeong, S. C., & Baek, K. H. (2019). *Bacillus velezensis*: Un miembro valioso de las moléculas bioactivas dentro de los microbiomas de las plantas. *Molecules* (Basilea, Suiza), 24(6), 1046. <https://doi.org/10.3390/molecules24061046>
- Rodríguez, A. (2007). Teoría y aplicación del control biológico. . Sociedad Mexicana de Control Biológico., 1-310.
- Rubio, V., & Fereres, A. (2005). Control biológico de plagas y enfermedades de los cultivos., Centro de Ciencias Medioambientales (CCMA-CSIC).1-16.
- Salazar-Solís, E., & Salas-Araiza, M. D. (2003). Importancia del uso Adecuado de Agentes de Control Biológico. *Acta Universitaria*, 13(1), 29-35. doi:10.15174/au.2003.271
- Santos, M., Diánez, F., de Cara, M., Camacho, F., & Tello, J. (2010). El control biológico de plagas y enfermedades. Un encuadre crítico. *Cuad. Estud. Agroaliment*, 1, 61-72.
- Schaaf, A. A. (2015). Valoración de impacto ambiental por pesticidas agrícolas. *Observatorio Medioambiental*, 18, 87. Doi: http://dx.doi.org/10.5209/rev_OBMD.2015.v18.51283
- Samuels GJ, Brayford D (1993) Phragmosporous *Nectria* species with *Cylindrocarpon* anamorphs. *Sydowia* 45: 55–80
- Semillaria, (2015). Clasificación taxonómica de tomate. (en línea). s.p. Consultado 23 de Mayo. 2023. Disponible en: <http://semillaria.es/index.php/cultivos/94-taxonomia>
- Taghavi, S., van der Lelie, D., Hoffman, A., Zhang, Y. B., Walla, M. D., Vangronsveld, J., ... & Monchy, S. (2010). Genome sequence of the plant growth promoting endophytic bacterium *Enterobacter* sp. 638. *PLoS genetics*, 6(5), e1000943.
- Toral, L., Rodríguez, M., Béjar, V., & Sampedro, I. (2020). Crop protection against botrytis cinerea by rhizosphere biological control agent *Bacillus velezensis* XT1. *Microorganisms*, 8(7), 1-17. Doi:10.3390/microorganisms8070992
- Tejera-Hernández, B., Rojas-Badía, M. M., & Heydrich-Pérez, M. (2011). Potencialidades del género *Bacillus* en la promoción del crecimiento vegetal y el control biológico de hongos fitopatógenos. . *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 42, 131-138.

- Varo, A., Raya-Ortega, M. C., & Trapero, A. (2016). Selection and evaluation of micro-organisms for biocontrol of *Verticillium dahliae* in olive. *Journal of Applied Microbiology*, 121(3), 767-777. doi:10.1111/jam.13199
- Van Den Bosch, (1982). An introduction to biological control. Plenum Press, pp, 130 - 140.
- Villarreal-Delgado, M. F., Villa-Rodríguez, E. D., Cira-Chávez, L. A., Estrada-Alvarado, M. I., Parra-Cota, F. I., & 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.
- Villacres, N. (2014). El uso de plaguicidas químicos en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) su relación con el medio ambiente y la salud. (Tesis maestría). Tungurahua: Universidad Técnica de Ambato. Consultado en: <http://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/7003>
- Vignesh, M., Shankar, S. R. M., MubarakAli, D., & Hari, B. N. V. (2022). A Novel Rhizospheric Bacterium: *Bacillus velezensis* NKMV-3 as a Biocontrol Agent Against *Alternaria* Leaf Blight in Tomato. *Applied biochemistry and biotechnology*, 194(1), 1–17. <https://doi.org/10.1007/s12010-021-03684-9>
- Xue, Q. Y., Chen, Y., Li, S. M., Chen, L. F., Ding, G. C., Guo, D. W., & Guo, J. H. (2009). Evaluation of the strains of *Acinetobacter* and *Enterobacter* as potential biocontrol agents against *Ralstonia* wilt of tomato. *Biological Control*, 48(3), 252-258.
- Zhang, Q., Yang, L., Zhang, J., Wu, M., Chen, W., Jiang, D., & Li, G. (2015). Production of anti-fungal volatiles by non-pathogenic *Fusarium oxysporum* and its efficacy in suppression of *Verticillium* wilt of cotton. *Plant and Soil*, 392(1-2), 101-114. doi:10.1007/s11104-015-2448-y
- Zhou, J., Xie, Y., Liao, Y., Li, X., Li, Y., Li, S., ... & He, Y. Q. (2022). Characterization of a *Bacillus velezensis* strain isolated from *Bolbostemmatidis* Rhizoma displaying strong antagonistic activities against a variety of rice pathogens. *Frontiers in microbiology*, 13, 983781.