

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



EVALUACIÓN DE ACTINOMICETOS DE CUATRO
CIENEGAS, COAHUILA, COMO AGENTES DE
BIOCONTROL EN PIMIENTO MORRON (*Capsicum annum*)

POR

PERLA KARINA LOPEZ REYES

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS CON ORIENTACION EN BIOTECNOLOGIA

2026

**EVALUACIÓN DE ACTINOMICETOS DE CUATRO CIENEGAS, COAHUILA,
COMO AGENTES DE BIOCONTROL EN PIMIENTO MORRON (*Capsicum
annuum*).**

Comité de Tesis



Dr. Hamlet Avilés Arnaut
Presidente



Dra. Susana De la Torre Zavala
Secretaria





Dra. Aída Rodríguez García
Vocal



Dra. Isela Quintero Zapata
Vocal



Dra. Elva Teresa Aréchiga Carbajal
Vocal



Dra. Katiushka Arévalo Niño
Subdirección
DE POSGRADO
Subdirector de Posgrado

**EVALUACIÓN DE ACTINOMICETOS DE CUATRO
CIENEGAS, COAHUILA, COMO AGENTES DE
BIOCONTROL EN PIMIENTO MORRON (*Capsicum annuum*).**

Dirección de Tesis



Dr. Hamlet Avilés Arnaut
Director de Tesis



Dr. Raúl Rodríguez Guerra
Asesor Externo

DERECHOS RESERVADOS©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta Tesis está protegido, el uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material contenido que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde se obtuvo mencionando al autor o autores.

Financiamiento

Este trabajo fue financiado por el Programa de Apoyo a la Investigación Científica y Tecnológica PAICyT-UANL (CT729-19, CT-1196-20 y CT1571-21), y PROACTI (67-CA-2023 y 112-CAAFE-2024) y SECIHTI (Beca 924454, Perla Karina López-Reyes)

AGRADECIMIENTOS

A mi familia:

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a mi familia, quienes han sido el pilar fundamental en mi vida. A mis padres, por su amor incondicional, sus consejos sabios y su apoyo constante en cada paso de este camino. Gracias por creer en mí incluso en los momentos en que dudaba de mí misma. A mis hermanas, por ser mi refugio y mi motivación, por estar siempre ahí para escucharme y por celebrar conmigo cada logro, grande o pequeño.

A mis amigos:

A mis amigos, quienes han sido mi red de apoyo emocional durante este proceso, gracias por su paciencia, su comprensión y por recordarme la importancia de disfrutar cada momento. Sus palabras de aliento y su compañía han sido esenciales para que pudiera mantenerme enfocado/a y con fuerzas para seguir adelante.

En especial:

Quiero dedicar un agradecimiento especial a los integrantes del Laboratorio 9: el Dr. Héctor Arocha, Mercedes Cortés, M.C. Cynthia Correa Oviedo, Dr. Max Apolinar y Dra. Janneth Escudero. Su amistad, sus valiosos consejos, su sentido del humor y la confianza que depositaron en mí han sido invaluable a lo largo de este camino. Asimismo, al Dr. Hamlet Avilés, así como la Dra. Susana De la Torre por brindarme la oportunidad de formar parte del equipo y por su gran apoyo y guía. Este logro es tan mío como de ustedes, porque sin su apoyo, paciencia y amor, no habría sido posible llegar hasta aquí.

También agradezco a Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (SECIHTI) por el apoyo económico para realizar este proyecto con el número de beca No. CVU: 924454

DEDICATORIA

A Dios, fuente de fortaleza y guía en todo momento, y a todas las personas que, de alguna manera, formaron parte de este proyecto. Su apoyo, inspiración y confianza fueron fundamentales para convertir este sueño en una realidad. Sin ustedes, este logro no habría sido posible

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	i
DEDICATORIA	ii
ÍNDICE DE TABLAS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS	viii
RESUMEN	ix
ABSTRACT	x
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Importancia de los actinomicetos en la agricultura	1
1.2 Problemática de los fitopatógenos en cultivos agrícolas	1
1.3 Relevancia del pimiento como cultivo agrícola	2
1.4 Justificación del estudio en Cuatro Ciénegas, Coahuila	2
2. ANTECEDENTES	3
2.1 Producción agrícola de pimiento en México	3
2.2 Fitopatógenos que afectan al pimiento (<i>Capsicum annuum</i>)	4
2.2.1 <i>Phytophthora capsici</i>	5
2.2.2 <i>Fusarium</i> spp.	6
2.2.3 <i>Colletotrichum coccodes</i>	7
2.2.4 <i>Sclerotium rolfsii</i>	7
2.2.5 <i>Macrophomina phaseolina</i>	8
2.2.6 <i>Botrytis cinerea</i>	9
2.2.7 <i>Botryosphaeria rhodina</i>	9
2.3 Estrategias para el manejo de <i>Phytophthora capsici</i>	10
2.4 Uso de plaguicidas químicos y sus limitaciones	11
2.5 Bioplaguicidas como alternativa sostenible	13
2.6 Actinobacterias como herramienta de biocontrol	14
2.6.1 Introducción a las actinobacterias y su importancia	15
2.6.2 Género <i>Streptomyces</i> : Características y relevancia	16
2.6.3 Actinomicetos y su aplicación en el control de fitopatógenos	17
2.6.4 Mecanismos de acción de actinomicetos	18
2.6.4.1 Producción de metabolitos secundarios	18
2.6.4.2 Enzimas hidrolíticas	19
2.6.4.2.1 Celulasas	19

2.6.4.2.2 Quitinasas -----	20
2.6.4.2.3 Proteasas-----	21
2.6.4.2.4 Lipasas-----	21
2.6.4.3 Producción de compuestos orgánicos volátiles-----	23
2.6.5 Promoción del crecimiento vegetal por actinomicetos -----	24
2.6.5.1 Producción de sideróforos-----	24
2.6.5.2 Solubilización de fosfato -----	26
2.6.5.3 Fijación de nitrógeno -----	26
2.7 Biocontrol en <i>Capsicum annuum</i> -----	27
2.7.1 Impacto de los fitopatógenos en el cultivo de pimiento -----	28
2.7.2 Estudios previos sobre el uso de actinomicetos en <i>Capsicum annuum</i> -----	29
2.7.3 Potencial del biocontrol en sistemas agrícolas sostenibles -----	30
2.8 Cuatro Ciénegas, Coahuila: Fuente de actinobacterias únicas -----	30
2.8.1 Características del ecosistema de Cuatro Ciénegas -----	31
2.8.2 Diversidad microbiana y endemismo en Cuatro Ciénegas -----	32
2.8.3 Potencial biotecnológico de las actinobacterias de Cuatro Ciénegas -----	32
3. JUSTIFICACIÓN -----	33
4. HIPÓTESIS -----	33
5. OBJETIVOS -----	33
5.1 Objetivo general-----	33
5.2 Objetivos específicos -----	33
6. MATERIALES Y MÉTODOS -----	34
6.1 Obtención de actinobacterias -----	34
6.2 Selección de aislados con actividad antifúngica -----	34
6.3 Actividad antifúngica por compuestos orgánicos volátiles-----	35
6.4 Antagonismo entre actinomicetos -----	36
6.5 Caracterización en medios de cultivo -----	37
6.6 Secuenciación del genoma y análisis bioinformático -----	39
6.7 Producción de enzimas extracelulares y caracterización bioquímica -----	40
6.8 Promoción del crecimiento por compuestos orgánicos volátiles -----	43
6.9 Biocontrol de <i>P. capsici</i> por el aislado PR69 en plantas de pimiento -----	44
6.10 Análisis estadístico -----	45
7. RESULTADOS -----	46

7.1 Evaluación de la actividad antifúngica <i>in vitro</i> -----	46
7.2 Actividad antagónica <i>in vitro</i> de la cepa PR69 -----	46
7.3 Actividad antifúngica por compuestos orgánicos volátiles. -----	49
7.4 Antagonismo entre actinomicetos -----	49
7.5 Caracterización del crecimiento en medios de cultivo -----	50
7.6 Análisis de bioinformática, ensamblaje y secuenciación del genoma -----	54
7.7 Producción de enzimas extracelulares y caracterización bioquímica -----	60
7.8 Promoción del crecimiento por compuestos orgánicos volátiles -----	62
7.9 Biocontrol de <i>P. capsici</i> por PR69 en plantas de pimiento-----	63
8. DISCUSIÓN -----	66
9. CONCLUSIONES -----	76
10. PERSPECTIVAS -----	78
11. BIBLIOGRAFÍA -----	79
ANEXO 1 -----	105
ANEXO 2 -----	108
ANEXO 3 -----	111

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Características de <i>Streptomyces</i> sp. PR69 cultivado en 11 medios sólidos diferentes.....	53
Tabla 2: Características de <i>Streptomyces</i> sp. PR69 cultivado en 11 medios líquidos diferentes.....	53
Tabla 3: Datos de ensamblaje y anotación del genoma de <i>Streptomyces</i> sp. PR69.....	56
Tabla 4: Relación del genoma de <i>Streptomyces</i> sp. PR69 con otros <i>Streptomyces</i> por hibridación ADN-ADN (dDDH) GGDC e Identidad ANI.	57
Tabla 5: Posibles regiones de grupos de genes biosintéticos encontradas en el genoma de <i>Streptomyces</i> sp. PR69 usando antiSMASH.....	59
Tabla 6: Enzimas extracelulares y la promoción del crecimiento	61

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Top 10 países productores de chiles y pimientos verdes en 2023.....	3
Figura 2: <i>Phytophthora capsici</i>	6
Figura 3: <i>Fusarium oxysporum</i>	6
Figura 4: <i>Colletotrichum coccodes</i>	7
Figura 5: <i>Sclerotium rolfsii</i>	8
Figura 6: <i>Macrophomina phaseolina</i>	8
Figura 7: <i>Botrytis cinerea</i>	9
Figura 8: <i>Botryosphaeria rhodina</i>	10
Figura 9: Uso de fungicidas y bactericidas a nivel mundial.	11
Figura 10: Top 10 de países en uso de fungicidas y bactericidas.	11
Figura 11: Uso de fungicidas y bactericidas en México.	12
Figura 12: Mercado de biofungicidas por región del mundo.....	14
Figura 13: Morfología típica de colonias de <i>Streptomyces</i> sp.	16
Figura 14: Compuestos volátiles producidos por especies de <i>Streptomyces</i> con actividad antifúngica.....	24
Figura 15: Escrutinio de actividad antagonica de 60 aislados de actinomicetos contra hongos y oomicetos fitopagógenos.	46
Figura 16: Actividad antagonica del aislado <i>Streptomyces</i> PR69 contra diferentes hongos y oomicetos fitopatógenos en placas con medio ISP4.....	48
Figura 17: Actividad antifúngica mediada por compuestos volátiles orgánicos de PR69.	49

Figura 18: Confrontación de actinomiceto contra actinomiceto por difusión en placa.	50
Figura 19: Confrontación de actinomiceto contra actinomiceto por compuestos volátiles orgánicos en placa.	50
Figura 20: Crecimiento del aislado PR69 en diferentes medios de cultivo sólidos y líquidos.	52
Figura 21: Tinción de Gram del aislado PR69	54
Figura 22: Mapa circular del genoma de <i>Streptomyces</i> sp. PR69 obtenido en la plataforma BV-BRC.	57
Figura 23: Árbol filogenético para la cepa <i>Streptomyces</i> sp. PR69,	58
Figura 24: Pruebas bioquímicas de <i>Streptomyces</i> sp.	61
Figura 25: Pruebas <i>in vitro</i> para evaluar características de promoción crecimiento vegetal por <i>Streptomyces</i> sp. PR69.	62
Figura 26: Promoción del crecimiento de plantas mediada por COV en <i>A. thaliana</i> por <i>Streptomyces</i> sp. PR69.	63
Figura 27: Actividad antifúngica de <i>Streptomyces</i> sp. PR69 en plantas de pimiento infectadas con <i>Phytophthora capsici</i> .	65
Figura 28: Porcentaje de supervivencia de plantas de pimiento morrón en ensayo de actividad antifúngica <i>in vivo</i> de PR69.	66
Figura 29: Promoción de crecimiento de <i>Streptomyces</i> sp. PR69 en plantas de pimiento morrón.	66

LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

ADN: Ácido desoxirribonucleico
°C: Grados Celsius
Ca₃(PO₄)₂: Fosfato de calcio
C: Citocina
CaCO₃: Carbonato de calcio
CaCl₂•2H₂O: Cloruro de calcio di hidrato
CuSO₄•5H₂O: Sulfato de cobre (II) pentahidratado
EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético
EPA: Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos
Fe₂(SO₄)₃: Sulfato férrico
FeSO₄•7H₂O: Sulfato de hierro (II) heptahidratado
FeSO₄: Sulfato de hierro (II)
g: Gramos
G: Guanina
H₃BO₃: Ácido bórico
MgSO₄•7H₂O: Sulfato de magnesio heptahidratado
(NH₄)₂SO₄: Sulfato de amonio
K₂HPO₄: Fosfato dipotásico
K₃PO₄: Fosfato de potasio
KOH: Hidróxido de potasio
l: Litro
M: Molar
MgCl₂: Cloruro de magnesio
MgSO₄•7H₂O: Sulfato de magnesio
mL: Mililitros
mm: Milímetros
mM: Milimolar
Na₂S₂O₃•5H₂O: Sodio tiosulfato
Na₂MoO₄•2H₂O: Molibdato de sodio
NaCl: Cloruro de sodio
(NH₄)₂SO₄: Sulfato de amonio
nm: Nanómetro
p/v: Peso / volumen
rpm: Revoluciones por minuto
SDS: Sodium dodecyl sulfate
UBCG: Plataforma para inferencia de árboles filogenéticos utilizando genes básicos bacterianos
UV: Ultravioleta
ZnSO₄: Sulfato de zinc
ZnSO₄•7H₂O: Sulfato de zinc heptahidratado
ufc/ml: Unidades formadoras de colonias por mililitro

RESUMEN

Los actinomicetos son un grupo de bacterias reconocidas por su potencial como agentes de biocontrol de diversos fitopatógenos y como promotores del crecimiento vegetal. Este estudio se centró en la evaluación de 60 cepas de actinobacterias provenientes de la Cuenca de Cuatro Ciénegas, Coahuila, México, con el objetivo de evaluar su capacidad como agentes de biocontrol contra patógenos de *Capsicum annum*.

Entre las cepas analizadas, el aislado PR69 mostró una actividad antagonista *in vitro* significativa contra ocho fitopatógenos, con tasas de inhibición que oscilaron entre el 44 % y el 73 %, incluyendo al patógeno *Phytophthora capsici*. El análisis genómico de PR69, basado en la secuenciación y ensamblado de su genoma, confirmó su clasificación dentro del género *Streptomyces* mediante un análisis filogenético de secuencias concatenadas de 81 genes centrales bacterianos.

Además, los compuestos volátiles producidos por PR69 promovieron el crecimiento de plántulas de *Arabidopsis thaliana* en condiciones *in vitro*, incrementando el peso de las plántulas, la longitud de la raíz primaria y el número de raíces secundarias. En ensayos con plantas de pimiento (*Capsicum annum*), el tratamiento del suelo con *Streptomyces* sp. PR69 redujo los síntomas de la enfermedad causada por *P. capsici* en un 47.37 % en comparación con plantas inoculadas, pero no tratadas. Las plantas tratadas con PR69 también presentaron un aumento en el peso fresco respecto a los controles.

Estos resultados destacan a *Streptomyces* sp. PR69 como un bioinoculante prometedor, capaz de promover el crecimiento de plantas de pimiento y de controlar de manera eficaz la enfermedad causada por *P. capsici*.

ABSTRACT

Actinomycetes are a group of bacteria that have been reported as potential controllers of several plant pathogens and as plant growth promoting agents. This study focused on the evaluation of 60 strains of actinobacteria from the Cuatro Ciénegas Basin, Coahuila, Mexico, with the objective of evaluating their capacity as biocontrol agents against *Capsicum annum* pathogens. Among the strains tested, the isolate PR69 exhibited significant *in vitro* antagonistic activity against eight plant pathogens, with inhibition rates ranging from 44% to 73%, including *Phytophthora capsici*. The genome of PR69 was sequenced and assembled, confirming its classification as a member of the genus *Streptomyces* through a phylogenetic analysis based on concatenated multiple sequence alignments of 81 core bacterial genes. Additionally, volatile compounds produced by PR69 enhanced the growth of *Arabidopsis thaliana* seedlings *in vitro*, increasing seedling weight, primary root length, and the number of secondary roots. Furthermore, the soil treated with *Streptomyces* sp. PR69 effectively controlled the infection caused by the pathogen *P. capsici* in bell pepper plants, reducing disease symptoms by 47.37% compared to inoculated, but untreated, plants. PR69-treated plants also showed an increase in fresh weight compared to untreated controls. These findings suggest that *Streptomyces* sp. PR69 holds promise as a bioinoculant for promoting pepper plant growth and effectively controlling the disease caused by *P. capsici*.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Importancia de los actinomicetos en la agricultura

Los actinomicetos son la fuente de los antibióticos más relevantes en uso hoy en día (Barka et al., 2016). Las Actinobacterias son microorganismos de gran importancia económica y biotecnológica debido a su impacto en el crecimiento y rendimiento de las plantas. Muchas cepas actúan como solubilizadoras de potasio y fósforo, fijadoras de nitrógeno, promotoras del crecimiento, agentes de biocontrol y mitigadoras del estrés abiótico. En particular, especies del género *Streptomyces* han demostrado contribuir significativamente a la salud y desarrollo de los cultivos agrícolas (Boubekri et al., 2022). Teniendo en cuenta el potencial de las actinobacterias y su prevalencia y dominio en el medio ambiente agrícola, son una herramienta importante para el control de enfermedades de plantas (Vurukonda et al., 2018).

1.2 Problemática de los fitopatógenos en cultivos agrícolas

Desde la domesticación de los cultivos, estos han sido afectados por plagas que han causado pérdidas en el rendimiento y la seguridad alimentaria. Según la FAO, actualmente entre el 10% y el 28% de la producción mundial se pierde debido a plagas, sin considerar las pérdidas postcosecha (IPPC Secretariat, 2021b). De los diversos microorganismos patógenos que atacan a las plantas, como los virus, hongos, bacterias, nemátodos, fitoplasmas, y viroides, los hongos son el grupo que más enfermedades ocasiona, por lo tanto, sobre el que más investigación se ha realizado (Rodríguez Guzman, 2001).

Phytophthora capsici es un oomiceto, un microorganismo similar a los hongos, ampliamente distribuido en diversas regiones del mundo. Se ha identificado como el agente causal de enfermedades en una gran variedad de cultivos de importancia agrícola, como miembros de las familias *Cucurbitaceae*, *Rosaceae*, *Fabaceae*, *Liliaceae* y *Solanaceae*. En cultivos de Chile, este fitopatógeno puede causar daños de hasta el 100% de la producción debido a su rápida propagación en condiciones favorables de campo, lo que causa grandes pérdidas económicas de millones de dólares anuales (Moreira-Morrillo et al., 2022).

El control de *P. capsici* es un reto para los agricultores, ya que requiere estrategias integradas como prácticas culturales, variedades resistentes, rotación de cultivos y fungicidas. Sin embargo, el uso excesivo de químicos ha generado resistencia en el patógeno, reduciendo su efectividad, aumentando los costos de producción y afectando el

medio ambiente (Saltos et al., 2022). Por ello, se están explorando alternativas sustentables, como el uso de agentes de biocontrol, para reducir la dependencia de productos químicos y mitigar los efectos adversos en los ecosistemas agrícolas.

1.3 Relevancia del pimiento como cultivo agrícola

México figura entre los principales productores de pimientos. En 2023, la producción de chile verde alcanzó un promedio de 3,681,061 toneladas, lo que colocó al país en el segundo lugar a nivel mundial. Ese mismo año, México exportó alrededor de 1,180,860 toneladas de chile verde, con un valor aproximado de 1,231 millones de dólares (SIAP, 2024). Al igual que en otros cultivos, la producción de chile es vulnerable a diversas enfermedades, cuyo impacto puede traducirse en considerables pérdidas económicas (Barchenger et al., 2018). Debido a la importancia de este cultivo para el país y la necesidad de su producción, es fundamental aplicar fungicidas de manera oportuna para reducir los danos por este patógeno. Sin embargo, el uso excesivo de productos químicos altamente tóxicos ha generado resistencia en los patógenos, deterioro ambiental (afectando suelo, agua y aire) y un aumento en los costos de producción de los cultivos (González Ortega & Fuentes Ponce, 2022). Como alternativa sustentable, los biofungicidas han surgido como una opción viable, ya que consisten en formulaciones de organismos vivos que ayudan a controlar hongos y bacterias patógenas en las plantas.

1.4 Justificación del estudio en Cuatro Ciénegas, Coahuila

Cuatro Ciénegas, Coahuila, es una región desértica poco explorada, ubicada en el Desierto Chihuahuense. Se distingue por sus numerosas pozas de poca profundidad, cada una con un alto grado de aislamiento geográfico y una gran diversidad biológica. Estas condiciones han favorecido procesos de especiación, dando lugar a un notable endemismo. Diversos estudios han identificado en la zona especies endémicas de *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Exiguobacterium* y *Streptomyces*. Estos hallazgos refuerzan el interés biotecnológico de la región, que se perfila como un área prometedora para el descubrimiento de agentes microbianos con potencial antagónico contra agentes patógenos (Arocha-Garza et al., 2017).

Con el presente estudio se pretende determinar la actividad antifúngica de actinomicetos aislados de Cuatro Ciénegas, Coahuila para su uso como controladores biológicos de hongos fitopatógenos que afectan a los cultivos de pimiento morrón (*Capsicum annuum*).

2. ANTECEDENTES

2.1 Producción agrícola de pimiento en México

En México en el año 2021 se utilizaron 24.6 millones de hectáreas para agricultura. El territorio junto a recursos naturales, infraestructura y trabajadores, permite generar una gran producción agrícola, lo que ubica al país en el 11vo lugar a nivel mundial en producción de cultivos agrícolas. Entre los productos agroalimentarios mexicanos que más presencia tienen en el mundo destacan la cerveza, el aguacate, berries, jitomate, tequila, carne bovino y pimientos (SIAP, 2021). México figura entre los mayores productores de pimientos siendo el segundo lugar en producción a nivel mundial (Figura 1).

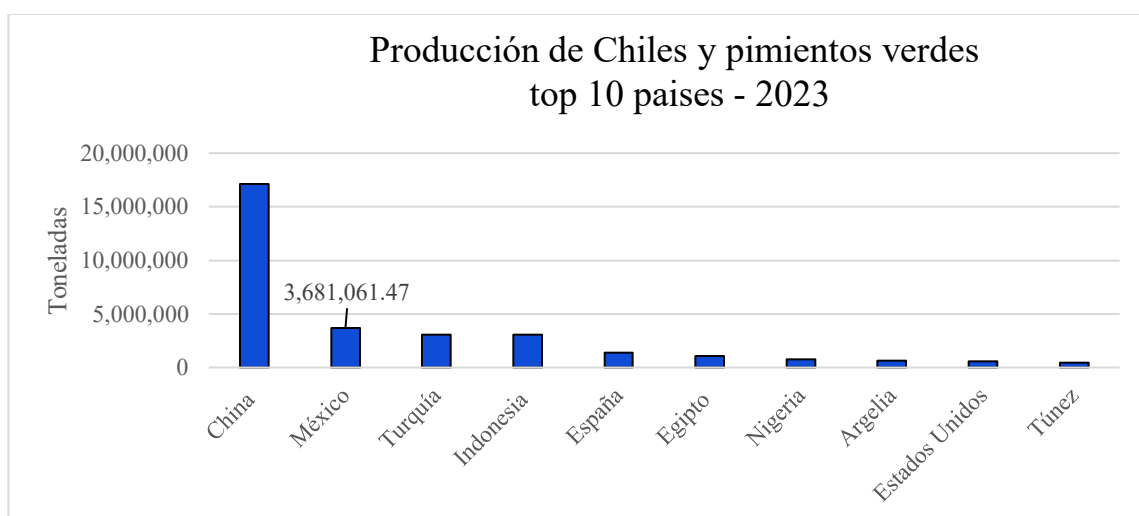


Figura 1: Top 10 países productores de chiles y pimientos verdes en 2023.

Nota. Adaptado de FAOSTAT Crops and livestock products por Food and Agriculture Organization (FAO), 2024 (<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>) (FAOSTAT, 2024b)

A nivel mundial, la producción de chile en 2023 se estimó en 38,310,350 toneladas, lo que refleja la importancia económica y agrícola de este cultivo en diversos países productores. (FAOSTAT, 2024b). El chile junto con el tomate son las hortalizas de mayor importancia cultural, social, nutricional, genética y económica a nivel mundial. México es considerado como el país con mayor variedad de chiles y pimientos, siendo el pimiento morrón uno de los de mayor importancia económica y cuya producción se destina principalmente al mercado de exportación, representando el 86% del volumen total exportado en 2019 (INTAGRI, 2020). El país se ha ubicado en los últimos años como el

principal exportador de pimientos frescos. En el periodo enero-noviembre de 2021 el valor de las exportaciones de pimiento fresco sumó mil 366 millones de dólares (SADER, 2022). El número de destinos de la hortaliza alcanzó 47 naciones, entre ellas, los mayores importadores son Estados Unidos, seguido de Canadá y España.

Del total de la superficie sembrada de pimiento morrón, casi el 50% de su producción en el país se realiza bajo la modalidad de agricultura protegida (invernadero, malla sombra o macro túnel). Esta modalidad permite reducir el efecto negativo del clima, plagas y enfermedades, y esto permite que se coseche prácticamente en todas las épocas del año. Este cultivo se siembra en toda la República Mexicana, siendo Sinaloa el estado con mayor superficie sembrada y principal productor de pimiento a cielo abierto, seguido de Sonora y Guanajuato (Agroproductores, 2020).

2.2 Fitopatógenos que afectan al pimiento (*Capsicum annuum*)

Las frutas y hortalizas son productos susceptibles al ataque de microorganismos antes o después de la cosecha y durante su almacenamiento. Estas plagas y enfermedades son una amenaza para la seguridad alimentaria porque pueden dañar los cultivos, de modo que se reduce tanto la disponibilidad como el acceso a los alimentos y generan un aumento en su costo. Desde su domesticación, los cultivos han sido afectados por plagas que provocan pérdidas globales del 10–28 % de la producción, mayores daños poscosecha y riesgos graves para la salud humana y animal debido a micotoxinas (IPPC Secretariat, 2021b). En la actualidad, gran parte de todas las enfermedades emergentes de las plantas se propagan a través de los viajes y el comercio mundial, mientras que el segundo factor más importante es la propagación natural, asistida por fenómenos meteorológicos. Otro factor importante es el calentamiento global, ya que el cambio climático puede crear nuevas condiciones favorables para el establecimiento de nuevas plagas y las enfermedades vegetales (IPPC Secretariat, 2021a). Latinoamérica es una región afectada por enfermedades emergentes y reemergentes. En los últimos años se ha reportado una cantidad importante de nuevos reportes de patógenos que amplían el rango de hospederos, aparición en distintas áreas geográficas, nuevas especies, variantes, cepas y patovares (Pedraza Herrera et al., 2022).

De los diversos microorganismos patógenos que atacan a las plantas, como los virus, hongos, bacterias, nemátodos, fitoplasmas, y viroides, los hongos son el grupo que más

enfermedades ocasiona y por lo tanto, sobre el que más investigación se ha realizado (Rodríguez Guzman, 2001).

Para que se pueda presentar una enfermedad, es decir que se logre una interacción compatible entre una planta y un fitopatógeno, se deben presentar 3 factores: 1) un patógeno causante de la enfermedad, 2) un huésped susceptible a dicho agente y 3) condiciones ambientales favorables al patógeno para su multiplicación. La mayoría de los hongos fitopatógenos poseen varios mecanismos para proliferar y causar enfermedades en una planta y todas las plantas pueden ser atacadas en alguna etapa de su desarrollo por uno o más patógenos, debido a que la mayoría pueden infectar una o más especies. El número de especies de hongos conocidos es superior a 100,000, de los cuales, alrededor de 8,000 son capaces de causar enfermedades en las plantas (Velásquez-Valle et al., 2017).

El cultivo de pimiento se puede ver afectado por una amplia gama de hongos fitopatógenos, de los cuales los más importantes son: *Phytophthora capsici*, *Rhizoctonia solani*, *Colletotrichum* spp. *Verticillium* spp., *Fusarium* spp., *Botrytis cinerea*, y *Alternaria* spp. (Velásquez-Valle et al., 2013) (Parisi et al., 2020) (Krasnow & Ziv, 2022).

2.2.1 *Phytophthora capsici*

Es un patógeno del reino protista, del filo *Oomycota*, y uno de los patógenos más destructivos del pimiento morrón al que le ocasiona la marchitez o secadera y se desarrolla particularmente donde el suelo es muy húmedo. Este fitopatógeno puede infectar en cualquier etapa de desarrollo de la planta y distintos órganos como: las raíces, flores, tallos, hojas y frutos. En éstos órganos provoca el tizón foliar, la pudrición de frutos y la pudrición de raíz y tallo (Figura 2) (Castro Rocha et al., 2012). Se sabe que infecta una amplia gama de cultivos de hortalizas, incluidos las cucurbitáceas (melón, pepino, calabaza, calabacín), solanáceas (pimientos, tomate, berenjena) y leguminosas (judías verdes, habas) y muchas malas hierbas (Sabaratnam, 2024).

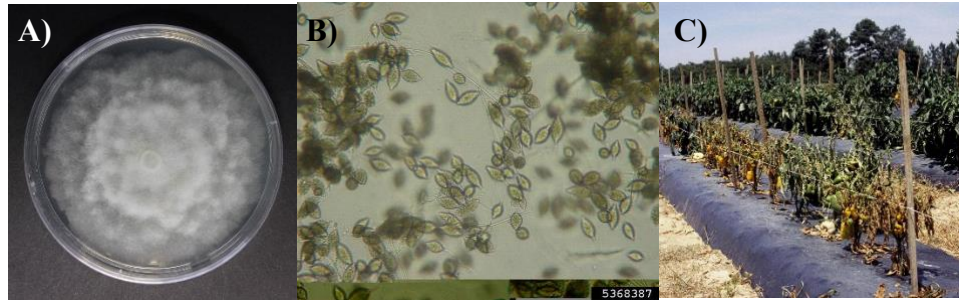


Figura 2: (A) *P. capsici* en placa de Petri cultivado en medio PDA. (B) Esporangios de *Phytophthora capsici* (Paul, 2008). (C) Plantas de *Capsicum annuum* infectadas (Edward, 2021)

Nota. (A) Fuente: Instituto de Biotecnología Laboratorio 9, 2023. (B) Adaptado de *Phytophthora blight (Phytophthora capsici Leonian)*, por Paul Bachi, 2008, Insect Images (<https://www.insectimages.org/browse/image/5368387>). CC BY-NC 3.0. (C) Adaptado de *Phytophthora blight (Phytophthora capsici Leonian)*, por Edward Sikora, 2012, Forestry Images (<https://www.forestryimages.org/browse/image/1568066#javascript:fullscreen>). CC BY-NC 3.0

2.2.2 *Fusarium* spp.

Son hongos filamentosos, con distribución mundial que infectan a una amplia gama de cultivos. *Fusarium* spp. ataca principalmente la zona de la base del tallo, provocando un marchitamiento masivo, necrosis y clorosis de las partes aéreas de la planta, así como crecimiento retardado (Figura 3). Entre las especies más comúnmente reportadas se encuentran *Fusarium solani*, que afecta a diversas hortalizas, principalmente jitomate y pimiento, y *Fusarium oxysporum*, especie en la que se reconocen múltiples formas especiales, definidas por la especie vegetal que infectan, así como razas fisiológicas, que se diferencian por su capacidad para atacar distintos cultivares dentro de una misma especie hospedera (Fertilab, 2018).

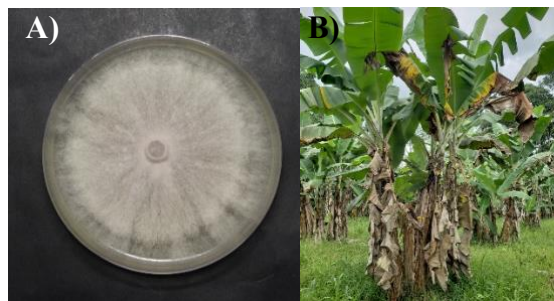


Figura 3: (A) *Fusarium oxysporum* en medio PDA. (B) Planta de plátano infectada con *Fusarium* (Nelson, 2018).

Nota. (A) Fuente: Instituto de Biotecnología Laboratorio 9, 2023. (B) Adaptado de Banana ('Gros Michel'): Fusarium wilt, por Scot Nelson, 2018, Flickr (<https://www.flickr.com/photos/scotnelson/43221089254>). CC0 1.0

2.2.3 *Colletotrichum coccodes*

Es un hongo de la división *Ascomycota* que a nivel mundial ocasiona antracnosis o pudrición negra en solanáceas, cereales, plantas herbáceas, maderables y ornamentales, sobre todo en zonas templadas y tropicales (Rojo-Báez et al., 2017). *Colletotrichum coccodes* afecta al tomate y pimiento, infectando tallos, raíces y frutos, formando una lesión circular, hundida, con oscurecimiento en la parte central y abundante producción de acérvulos, setas y microesclerocios (Figura 4). En Chile, las plantas manifiestan los síntomas típicos de la enfermedad cuando son infectadas durante las primeras etapas de desarrollo, pero son asintomáticas cuando son infectadas en etapas de desarrollo más avanzadas (SENASICA, 2019).

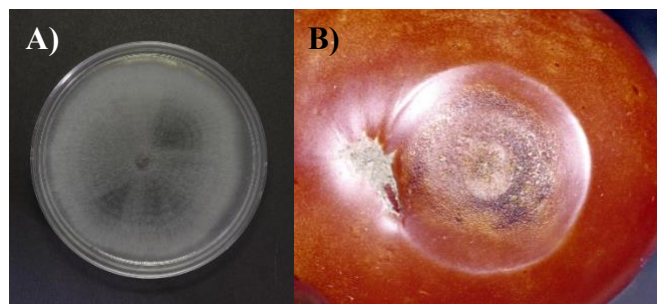


Figura 4: (A) *Colletotrichum coccodes* en medio PDA. (B) Tomate infectado (Clemson University, 2002).

Nota. (A) Fuente: Instituto de Biotecnología Laboratorio 9, 2023. (B) Adaptado de *Colletotrichum coccodes* causing anthracnose on tomato, por Clemson University, 2008, Wikimedia Commons (https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Colletotrichum_coccodes.jpg?uselang=en#Licensing). CC0 1.0

2.2.4 *Sclerotium rolfsii*

Es un patógeno que se clasifica dentro de la división *Basidiomycota* que causa el Tizón sureño. Es una enfermedad fúngica grave que afecta a diversos cultivos en todo el mundo, especialmente en regiones tropicales y subtropicales. El hongo puede atacar las plántulas y plantas maduras. Se caracteriza por una lesión marrón donde se puede ver micelio blanco y producción de numerosos esclerocios del tamaño de una semilla de mostaza, redondos o de color marrón en las partes afectadas de la planta y la superficie del suelo circundante (Figura 5). Esta enfermedad es difícil de controlar, ya que el hongo tiene una amplia gama de huéspedes que incluye más de 500 especies de plantas, y los esclerocios pueden sobrevivir durante varios años en el suelo (Xie & Vallad, 2010).



Figura 5: (A) *Sclerotium rolfsii* en medio PDA. (B) Micelio y producción de esclerocios (CIMMYT, 2010)

Nota. (A) Fuente: Instituto de Biotecnología Laboratorio 9, 2023.

Adaptado de Sclerotium wilt fungus, por International Maize and Wheat Improvement Center, 2010, Flickr (<https://www.flickr.com/photos/cimmyt/5072214316>). CC BY-NC-SA 2.0

2.2.5 *Macrophomina phaseolina*

Es un hongo parte de la división *Ascomycota* presente en el suelo en todo el mundo. Causa la pudrición carbónica, un tipo de pudrición basal del tallo y la pudrición de la raíz, afectando al menos a 500 especies de plantas en más de 100 familias, incluyendo legumbres y hortalizas. Causa cancro del tallo en muchos cultivos que a menudo se conoce como pudrición de carbón, debido a la coloración de tipo carbón de los tejidos de las plantas infectadas (Figura 6). Además de ser un patógeno vegetal oportunista, varios informes clínicos también reportan a *M. phaseolina* como patógeno de humano intermitente, que puede causar infecciones cutáneas y varias infecciones fúngicas (Kaur et al., 2012).

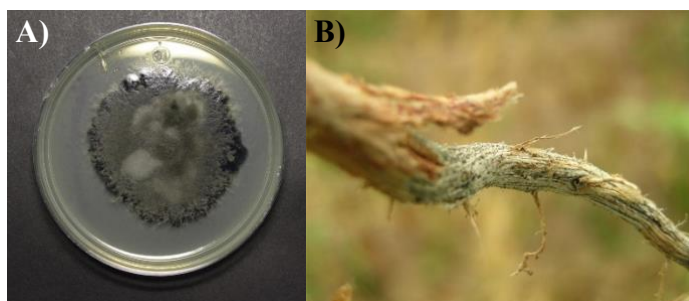


Figura 6: (A) *Macrophomina phaseolina* en medio PDA. (B) Planta de frijol verde infectado con *M. phaseolina* (Photchana, 2014).

Nota. (A) Fuente: Instituto de Biotecnología Laboratorio 9, 2023. (B) Adaptado de Host symptom of *Macrophomina phaseolina* on Mungbean, por Photchana Trakunsukharati, 2014, Wikipedia Commons (https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Host_symptom_of_Macrophomina_phaseolina_on_Mungbean.jpg). CC BY 3.0

2.2.6 *Botrytis cinerea*

También suele llamarse "moho gris" y puede infectar a 170 familias de plantas cultivadas. Causa daños económicos importantes, principalmente en la uva de vino y de mesa, solanáceas (tomate, pimiento, berenjena), cucurbitáceas, fresa, lechuga y otras hortalizas de ensalada, frijoles y plantas ornamentales (Figura 7) (Fillinger & Elad, 2016).

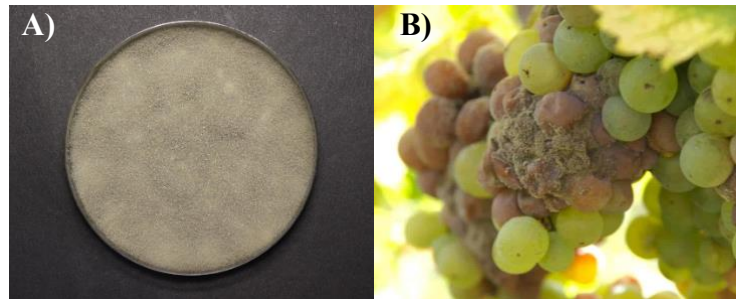


Figura 7: (A) *Botrytis cinerea* en medio PDA. (B) Uvas infectadas con podredumbre noble (Edwin, 2007)

Nota. (A) Fuente: Instituto de Biotecnología Laboratorio 9, 2023. (B) Adaptado de Image of grapes in Sauternes affected with noble rot, por Edwin, 2007, Wikimedia Commons

(https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Sauternes_noble_rot_grapes.jpg). CC BY-SA 2.0

2.2.7 *Botryosphaeria rhodina*

Los hongos de la familia *Botryosphaeriaceae* causan distintas enfermedades en cultivos de importancia económica y tienen amplia distribución cosmopolita. *Botryosphaeria rhodina* es el estado sexual (teleomorfo), poco común, del hongo *Lasiodiplodia theobromae*, el cual se clasifica dentro de los *Ascomycetos* en el orden *Botryosphaeriales* y en la familia *Botryosphaeriaceae*. Se asocia con las plantaciones de eucalipto, teca, melina y meliáceas; también en otros hospedantes de plantaciones comerciales (Figura 8). Este hongo tiene cientos de hospedantes en el mundo, desde coníferas a latifoliadas (Cibrián Tovar, 2016).



Figura 8: (A) *Botryosphaeria rhodina* en PDA. (B) Fresno verde infectado con *B. rhodina* (Theodor, 2001).
Nota. (A) Fuente: Instituto de Biotecnología Laboratorio 9, 2023. (B) Adaptado de Canker on a green ash tree (*Fraxinus pennsylvanica*) caused by the fungal plant pathogen *Botryosphaeria rhodina*, por Theodor D. Leininger, 2001, Wikimedia Commons (https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Botryosphaeria_rhodina.jpg). CC BY 3.0

2.3 Estrategias para el manejo de *Phytophthora capsici*

Phytophthora capsici es considerado el patógeno más devastador para la producción mundial de Chile, y las estrategias de manejo actuales han demostrado no ser 100% eficaces. Las estrategias de manejo buscan principalmente minimizar las pérdidas asociadas, ya que una vez establecido, *P. capsici* es extremadamente difícil de erradicar. Las prácticas utilizadas incluyen la creación de variedades resistentes, así como estrategias químicas, culturales y de manejo agrícola. Estas abarcan el control del riego, la rotación de cultivos, la solarización del suelo y el uso de fungicidas (Barchenger et al., 2018).

Durante décadas, se han empleado diversos grupos de fungicidas con diferentes modos de acción para controlar las enfermedades causadas por *Phytophthora*, como metalaxil, benalaxil (Wang et al., 2021), oxatiapirolina, fluopicolida, mandipropamida, etaboxam (Adaskaveg et al., 2024), mefenoxam, dimetomorf y ciazofamida para diversos cultivos en Estados Unidos. Sin embargo, aunque los fungicidas químicos son las herramientas de manejo más comunes y eficaces, se han reportado casos de resistencia en aislamientos de *P. capsici* frente a productos como mefenoxam, fluopicolida, oxatiapirolina y ciazofamida, lo que plantea un desafío adicional para su control efectivo (Siegenthaler & Hansen, 2021).

2.4 Uso de plaguicidas químicos y sus limitaciones

Según datos de la Food and Agriculture Organization (FAO), a nivel mundial la utilización de fungicidas y bactericidas ha mostrado una tendencia a la baja, registrando una disminución entre los años 2022 y 2023 (Figura 9).

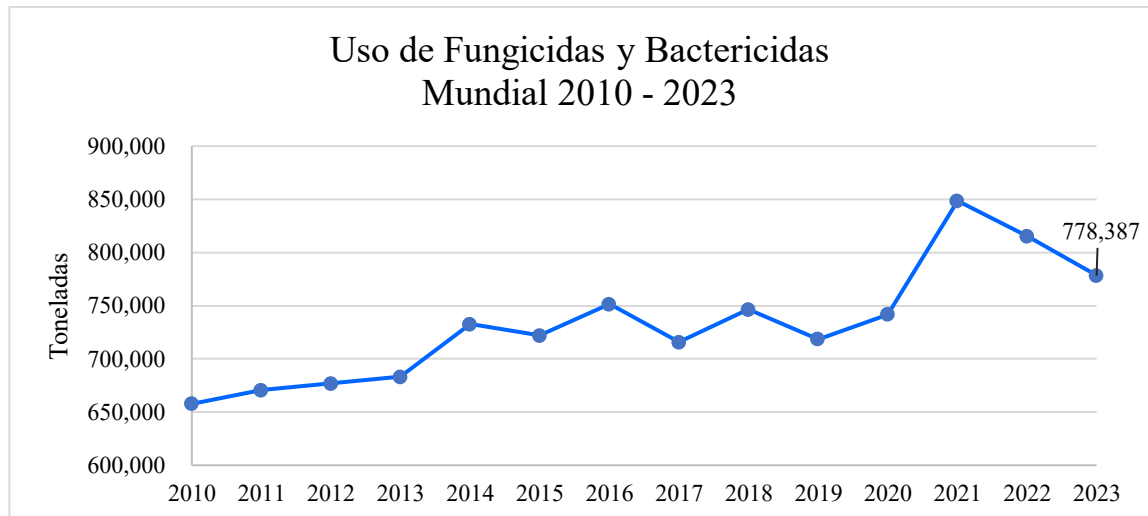


Figura 9: Uso de fungicidas y bactericidas a nivel mundial.

Nota. Adaptado de FAOSTAT Pesticides Use por Food and Agriculture Organization (FAO), 2024. (<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>) (FAOSTAT, 2024a)

Entre los años 2010 a 2023 Brasil fue el principal consumidor con 95,792.79 toneladas, seguido de China con 80,089.79 toneladas, Indonesia 39,139.29 toneladas y México ocupando el octavo lugar con 26,695.93 toneladas (Figura 10) (FAOSTAT, 2024a).

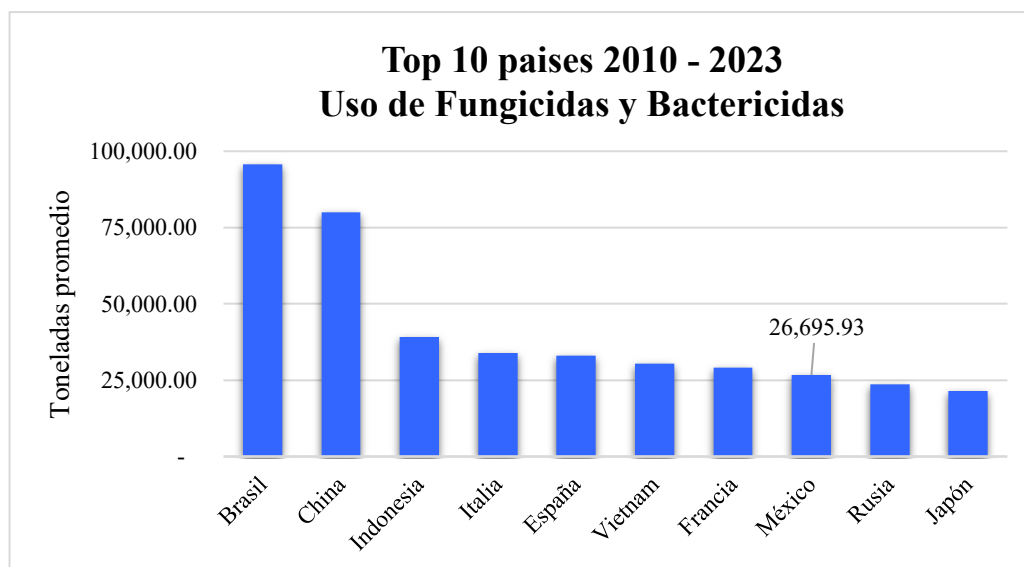


Figura 10: Top 10 de países en uso de fungicidas y bactericidas.

Nota. Adaptado de FAOSTAT Pesticides Use por Food and Agriculture Organization (FAO), 2024. (<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>) (FAOSTAT, 2024a)

México es de los mayores productores de alimentos a nivel mundial, detectando más de 200 plagas agrícolas que amenazan la productividad del campo (SENASICA, 2019). En México, el uso de fungicidas y bactericidas ha mostrado una tendencia a la baja desde 2018; sin embargo, en 2023 se registró un aumento en su uso (Figura 11). Los cultivos a los que se le aplican el mayor número de plaguicidas son el maíz, chile, jitomate, caña de azúcar y sorgo. En México hay una falta de datos sobre cuáles plaguicidas se aplican, dónde se usan y qué cantidades son aplicadas; esta información es importante para poder comprender y tener claridad sobre la magnitud de los riesgos e impactos que están generando los plaguicidas y también poder tener control sobre su uso (Ávila Romero et al., 2022).

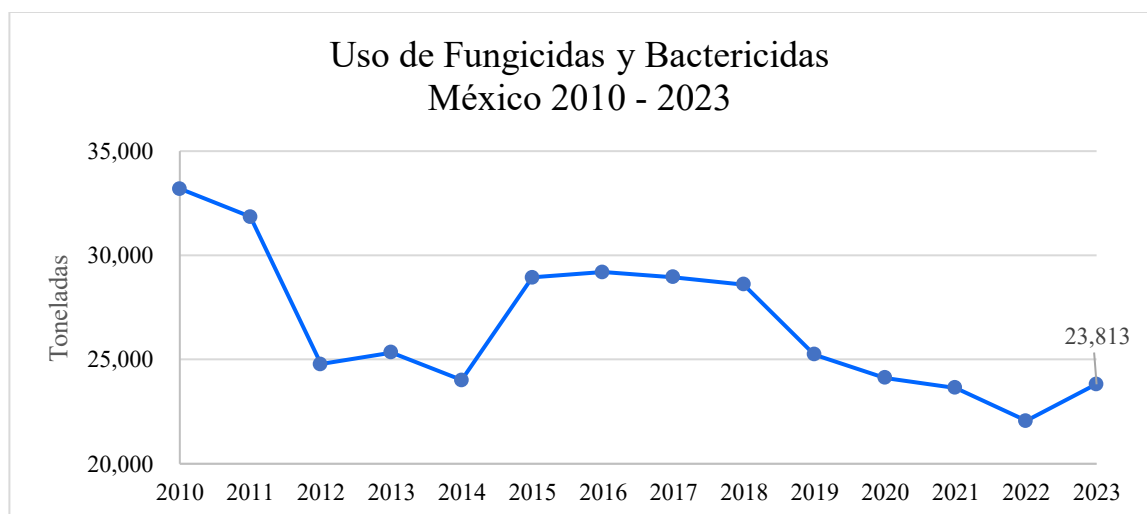


Figura 11: Uso de fungicidas y bactericidas en México.

Nota. Adaptado de FAOSTAT Pesticides Use por Food and Agriculture Organization (FAO), 2024. (<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>) (FAOSTAT, 2024a)

Actualmente la protección principal y más efectiva de cultivos contra plagas agrícolas se basa en la aplicación de plaguicidas, sin embargo el uso y abuso de ellos han ocasionado daños a los ecosistemas, salud humana y animal, además de acelerar el desarrollo de la resistencia de las plagas e incrementar los costos de producción (Lemus Soriano, 2018). El uso inapropiado de plaguicidas genera más riesgos que beneficios, ya que estos pueden

tener grandes efectos negativos en las especies a las que no son su objetivo, afectando la biodiversidad, las cadenas alimentarias y los ecosistemas, tanto acuáticos como terrestres. Entre el 80 y el 90 % de los plaguicidas aplicados por rociadores pueden volatilizarse en unos pocos días de aplicación, estos se evaporan en el aire y pueden causar daños a humanos y a otras especies que no son su objetivo. Los plaguicidas que se aplican en la tierra pueden llegar a los ecosistemas acuáticos por escorrentía o lixiviación a través del suelo y allí son tóxicos para los peces y otros organismos (Hakeem et al., 2016).

Como ya se mencionó, el uso de plaguicidas químicos es la actividad de manejo de plagas más común que puede tener un impacto negativo en el medio ambiente, pero su uso es necesario cada vez más, debido a la intensificación de la agricultura. Es necesario implementar estrategias para su manejo apropiado o para minimizar su uso y así evitar sus efectos dañinos. Una solución que promueve la FAO a esta problemática es el Manejo Integrado de Plagas (MIP). Este método busca reducir el riesgo utilizando los plaguicidas químicos solo cuando es necesario (SADER-SENASICA, 2019). Dentro de las técnicas que pueden aplicarse en el MIP están: control cultural, rotación de cultivos y cultivos intercalados, manejo de fechas de siembra y cosecha, cuarentena y control reglamentario, variedades de plantas resistentes y control biológico. El control biológico es considerado la técnica (que no utiliza químicos sintéticos) más exitosa para el manejo de plagas (Peshin & Dhawan, 2009).

2.5 Bioplaguicidas como alternativa sostenible

Una de las alternativas al uso de control químico es el control biológico, el cual consiste en la aplicación de enemigos vivos (o de sus metabolitos) para prevenir y combatir el desarrollo de fitopatógenos. La United States Environmental Protection Agency (EPA) define a los bioplaguicidas como plaguicidas derivados de materiales naturales como animales, plantas, bacterias y ciertos minerales. La ventaja de los bioplaguicidas sobre los plaguicidas químicos es que los bioplaguicidas suelen ser menos tóxicos, a menudo son efectivos en menores cantidades que se descomponen rápidamente, lo que resulta en menor exposición, evitando en gran medida los problemas de contaminación y generalmente solo afectan a la plaga objetivo (EPA, 2022). Dentro de este grupo, los biofungicidas representan una de las categorías de mucho interés y desarrollo, impulsada por la necesidad de alternativas sostenibles para el manejo de enfermedades de origen fúngico. En este contexto, se estima que el incremento en la demanda de productos

orgánicos, la regulación gubernamental del uso de agroquímicos y la creciente concienciación de los agricultores sobre los beneficios de adoptar biofungicidas fomentarán el crecimiento del mercado global. Se prevé que la industria de biofungicidas crezca a una tasa de crecimiento anual compuesto (CARG) del 16.1%, para alcanzar un valor de USD 3,4 billones para 2025 (Figura 12) (MarketsandMarkets, 2020).

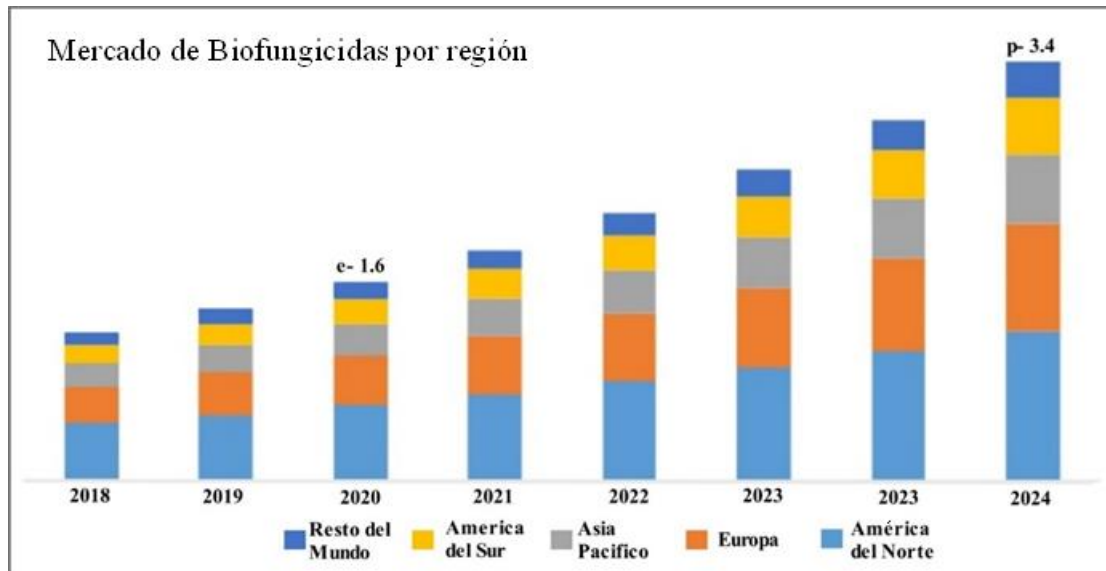


Figura 12: Mercado de biofungicidas por región del mundo. e- Estimado y p- Proyectado en billones de dólares.

Nota. Adaptado de Biofungicide Market — Global Forecast to 2025, por MarketsandMarkets, (2020). (<https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/biofungicide-market-8734417.html>) (MarketsandMarkets, 2020)

2.6 Actinobacterias como herramienta de biocontrol

En los últimos años, han aumentado los estudios sobre el uso de bacterias antagónicas para el control de enfermedades fúngicas y bacterianas en plantas. Algunos de los microorganismos antagonistas más estudiados pertenecen al género *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp. y *Streptomyces* spp., de los cuales ya existen algunos productos comerciales (Bonaterra et al., 2022). Aunque ha aumentado la investigación de nuevos microorganismos como bioplaguicidas potenciales, la verdad es que pocas formulaciones de biocontrol que contienen actinobacterias como ingredientes activos han salido al mercado. Algunos ejemplos son: Castell® con *Streptomyces jofer* 383 y *Streptomyces jalisciencis* 030 contra enfermedad de Damping Off (*Pythium* sp. / *Rhizoctonia solani* /

Fusarium sp.); PHC BioPak-F® que contiene *Streptomyces griseoviridis* para el biocontrol y prevención de enfermedades ocasionadas por *Fusarium*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia* y *Verticillium*; Actinovate con *Streptomyces lydicus* WYEC 108 contra fitopatógenos radiculares (*Pythium* spp., *Phytophthora* spp., *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Verticillium*, *Sclerotinia* spp. entre otras) y Mycostop® con *Streptomyces* K61, que es eficaz para combatir hongos de la raíz que causan el marchitamiento de las plantas: (*Fusarium* y *Pythium*) (Vurukonda et al., 2018).

2.6.1 Introducción a las actinobacterias y su importancia

El filo *Actinobacteria* representa uno de los filos más grandes dentro del dominio *Bacteria*. Hay 6 clases, 18 órdenes, 14 subórdenes, 63 familias y 374 géneros registrados en este filo y forman parte del mayor grupo de bacterias enormemente explorado por su gran potencial para producir importantes compuestos activos con aplicaciones médicas, industriales y agrícolas (Subramani & Sipkema, 2019).

Los actinomicetos son bacterias pertenecientes al filo *Actinobacteria*, Grampositivas, aerobias, formadoras de esporas, caracterizadas por crecimiento de micelio, con alto contenido de guanina-citosina (G+C) en su ADN. Poseen un ciclo de vida complejo, son cosmopolitas y producen el característico olor a tierra húmeda. El nombre "*Actinomycetes*" se derivó del griego "*atkis*" (un rayo) y "*mykes*" (hongo), debido a que tienen características tanto de bacterias como de hongos. Anteriormente se les consideraron hongos, debido a muchas semejanzas que comparten, como la formación de micelio filamentoso y producción de esporas. Sin embargo, el micelio de los actinomicetos es más delgado que el de los hongos y su pared consta de una gran variedad de compuestos complejos que incluyen peptidoglicano, ácido teicoico, teicurónico y polisacáridos (Chaudhary et al., 2013). Se cree que el complejo ciclo de desarrollo de los actinomicetos ayuda a su supervivencia en entorno extremos y competitivos. La formación de esporas latentes y sus paredes gruesas contribuyen a su capacidad de soportar períodos prolongados de estrés biótico y abiótico, como la sequía y la deficiencia de nutrientes, así como la resistencia de los antibióticos por parte de los competidores (Van der Meij et al., 2017).

2.6.2 Género *Streptomyces*: Características y relevancia

Streptomyces es el género más extenso dentro de las actinobacterias y el más comúnmente aislado en diversos ambientes (Figura 13). *Streptomyces* son procariotas dominantes en el suelo y diversos hábitats acuáticos y marinos. Su amplia distribución se debe a su producción de enzimas y metabolitos secundarios, además de su forma filamentosa, que les permite competir y adaptarse a distintos entornos, incluidos suelos desérticos (Chouyia et al., 2022). Su relevancia radica en su notable capacidad para sintetizar una amplia gama de metabolitos secundarios con actividad antibacteriana, antifúngica, antiviral, inmunosupresora, anticancerígena y antioxidante. Se estima que aproximadamente el 39% de las actinobacterias han sido fuente de nuevos productos naturales, de los cuales alrededor del 80% provienen del género *Streptomyces*, lo que resalta su papel fundamental en la biotecnología y el desarrollo de fármacos (Donald et al., 2022).

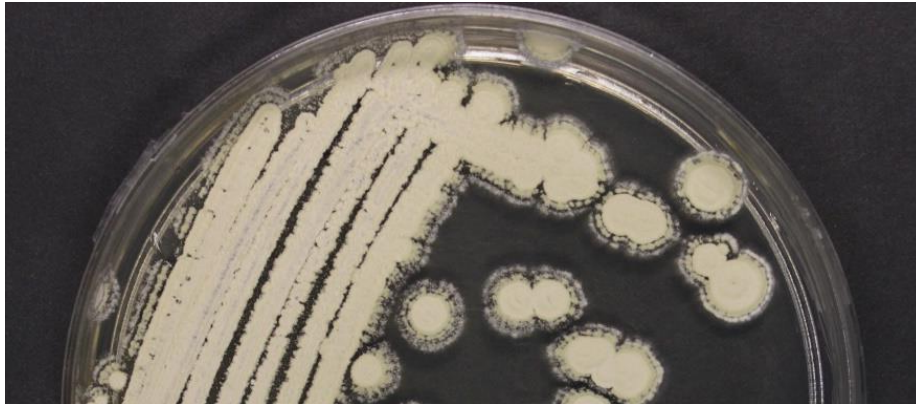


Figura 13: Morfología típica de colonias de *Streptomyces* sp.

El género *Streptomyces* se caracteriza por su metabolismo altamente versátil, lo que le permite degradar una amplia variedad de compuestos orgánicos complejos. Esta capacidad se debe a su extenso repertorio enzimático, que incluye proteasas, lipasas o quitinasas y otras hidrolasas especializadas en la descomposición de polímeros recalcitrantes (Khan et al., 2023). Gracias a la producción de una amplia variedad de enzimas hidrolíticas y oxidativas, estos microorganismos desempeñan un papel fundamental en la biodegradación y el reciclaje de nutrientes en los ecosistemas terrestres (Vurukonda et al., 2018). Su capacidad para descomponer materia orgánica en el suelo, incluyendo restos vegetales y compuestos poliméricos complejos facilita la liberación de nutrientes esenciales como carbono, nitrógeno y fósforo, promoviendo la fertilidad del

suelo y el equilibrio. Su potencial degradador también ha sido estudiado en biotecnología para la producción de biofertilizantes (Kaari et al., 2023), la biorremediación de suelos contaminados (Behera & Das, 2023) y el aprovechamiento de residuos agroindustriales (Ousaadi et al., 2021).

El género *Streptomyces* ha sido ampliamente estudiado y explotado en biotecnología debido a su sofisticada maquinaria genética, la cual ha sido aprovechada en ingeniería genética para la producción de fármacos, enzimas industriales y otros compuestos de alto valor agregado. Su capacidad natural para sintetizar una gran diversidad de metabolitos secundarios ha permitido el desarrollo de antibióticos, inmunosupresores, agentes anticancerígenos y antifúngicos, esenciales en la medicina moderna. Además, mediante técnicas de biología sintética y manipulación genética, se han optimizado cepas de *Streptomyces* para incrementar la producción de estos compuestos (Del Carratore et al., 2022) o expresar nuevas moléculas con aplicaciones terapéuticas (Alam et al., 2022). Su versatilidad metabólica ha sido ampliamente explotada en biotecnología para la producción de antibióticos, enzimas industriales y su aplicación en biorremediación y sostenibilidad, lo que resalta su enorme potencial en los ámbitos ambiental e industrial.

2.6.3 Actinomicetos y su aplicación en el control de fitopatógenos

Las bacterias del género *Streptomyces* han sido ampliamente estudiadas y utilizadas en el control biológico de hongos fitopatógenos debido a su capacidad para producir metabolitos secundarios con actividad antifúngica, como la lucensomicina contra moho gris (*Botrytis cinerea*) (Kim et al., 2020), la fluvirucina B6 contra la marchitez por *Fusarium* (Chen et al., 2024) y la antimycin A₁₇ contra *Colletotrichum nigrum* (Chen et al., 2005).

Numerosos estudios han identificado diversas especies de *Streptomyces* con alta efectividad en el control de patógenos que afectan cultivos agrícolas. Por ejemplo, se ha evaluado el potencial de *Streptomyces griseus* y *Streptomyces albulus* NJZJSA2 en la supresión de *Fusarium oxysporum*, un hongo responsable de la marchitez vascular en múltiples especies de plantas. Además, diversas cepas de *Streptomyces* han demostrado su capacidad para reducir la incidencia de importantes fitopatógenos, como *Phytophthora capsici*, *Alternaria* spp., *Rhizoctonia* spp., *Sclerotium rolfsii*, *Colletotrichum* spp., *Pythium* spp., *Pyricularia oryzae*, *Botrytis cinerea*, *Ceratocystis fimbriata*, *Rhizoctonia*

solani, *Fusarium cucumerinum*, *Magnaporthe grisea*, *Puccinia triticina* y *Curvularia lunata*.(Khan et al., 2023). Estas investigaciones resaltan el potencial de los *Streptomyces* como agentes biocontroladores en la agricultura sostenible.

2.6.4 Mecanismos de acción de actinomicetos

Los actinomicetos producen un gran número de enzimas hidrolíticas extracelulares del tipo proteasas, nucleasas, lipasas, fosfolipasas, amilasas, quitinasas, lignina-hidrolasas, celulasas, pectinasas, entre muchas otras, las cuales juegan un papel muy importante en la descomposición de la materia orgánica y que ayudan a la disponibilidad de los nutrientes al ambiente, pero también en el combate de microorganismos patógenos (Evangelista Martínez et al., 2017). La capacidad del género *Streptomyces* para producir una gran variedad de metabolitos secundarios ha sido una ventaja evolutiva que facilita su adaptación a diferentes situaciones de estrés con la capacidad de colonizar diferentes hábitats (Pacios-Michelena et al., 2021). Los metabolitos secundarios son compuestos orgánicos que no están directamente asociados con el crecimiento, desarrollo o reproducción de un organismo, pero desempeñan un papel clave en las interacciones entre especies, ya sea como moléculas de comunicación o como mecanismos defensivos que permiten a los microorganismos protegerse frente a competidores. La actividad metabólica de los actinomicetos frecuentemente está acompañada por la producción de una gran variedad de metabolitos secundarios (MS) que desempeñan un papel importante en el mantenimiento, señalización y colonización de su hábitat (Parada et al., 2017)

2.6.4.1 Producción de metabolitos secundarios

En los campos agrícolas, las cepas de *Streptomyces* son muy estudiadas debido a su alta producción de compuestos bioactivos que se utilizan como mecanismos de defensa contra diferentes hongos patógenos de plantas y que además pueden inhibir o promover la relación simbiótica de fijación de nitrógeno entre plantas y bacterias (Sharma et al., 2020). Sus habilidades para controlar los patógenos de las plantas provienen de la capacidad de producir antibióticos, sintetizar reguladores de crecimiento de las plantas, producir sideróforos, secretar compuestos volátiles y competir por nutrientes (Olanrewaju & Babalola, 2019). Para que un agente de control biológico sea eficaz debe actuar directamente en el lugar donde se encuentra el organismo patógeno, generalmente combinando diferentes modos de acción. Los microorganismos antagonistas no tienen un único modo de acción y la multiplicidad de estos es una característica importante para su

selección como agentes de control biológico. Si el antagonista posee varios modos de acción reduce los riesgos de desarrollo de resistencia en el patógeno (Köhl et al., 2019).

2.6.4.2 Enzimas hidrolíticas

Las bacterias de biocontrol emplean una variedad de estrategias antagónicas para combatir a los fitopatógenos, lo que les permite desempeñar un papel fundamental en la protección de las plantas contra enfermedades. Entre estas estrategias se incluyen la síntesis y liberación de enzimas líticas, la producción de antibióticos y compuestos orgánicos volátiles, la secreción de sideróforos para captar hierro, la competencia por el espacio y los nutrientes en el entorno, así como la inducción de respuestas de resistencia sistémica en la planta. (Saberri Riseh et al., 2024). Dentro de estos mecanismos, están las enzimas extracelulares, comúnmente conocidas como enzimas hidrolíticas, que son sintetizadas por diversas bacterias con capacidad de proteger las raíces del ataque de patógenos, incluidos los hongos. Estas enzimas tienen un impacto directo sobre los fitopatógenos, ya que son capaces de generar alteraciones en la estructura de la pared celular de los microorganismos patógenos, como la quitina, el peptidoglucano y la celulosa. Como resultado, los patógenos se vuelven más vulnerables tanto a la acción de otros mecanismos de defensa de las bacterias de biocontrol como a las respuestas inmunológicas inducidas en la planta huésped (Jadhav et al., 2017).

2.6.4.2.1 Celulasas

Las celulasas son enzimas de mucha importancia industrial ya que juegan un papel importante en el ciclo global del carbono al degradar la celulosa insoluble en azúcares solubles. Son capaces de hidrolizar enlaces glucosídicos de celulosa, un homopolímero de cadena lineal de D-glucosa unido con enlaces β -glucosídicos, y derivados de celulosa en oligosacáridos solubles y glucosa sin producir subproductos peligrosos. Estas enzimas se utilizan principalmente como suplemento en detergentes, textiles, aditivos animales y la industria del papel y la pulpa (Barzkar & Sohail, 2020). La celulosa es el componente principal de las paredes celulares de las plantas y el compuesto orgánico más abundante en los ecosistemas terrestres. La celulosa es el componente principal de la pared celular del fitopatógeno oomiceto *P. capsici* que lo diferencia de los hongos fitopatógenos, que tienen paredes celulares a base de quitina, que es importante para la integridad celular y para las interacciones con los organismos huéspedes (Pang et al., 2020).

Los microorganismos con actividad celulítica abundan en el suelo como descomponedores y también se asocian comúnmente con eucariotas herbívoros. Por su abundancia en suelo, las actinobacterias del género *Streptomyces* tienen un papel importante en la destrucción de la biomasa vegetal (Book et al., 2016). Se han logrado aislar actinomicetos con potencial celulítico de diversos ambientes como *Streptomyces* F1 y F7, con actividades de endoglucanasa y endoxilanasas aisladas de muestras de suelo de Brasil (de Melo et al., 2018), *Streptomyces* DpondAA-B6 (SDPB6) y *Streptomyces* SirexAA-E (SACTE) aislados de insectos herbívoros (Book et al., 2014), *Streptomyces* sp. CC48 aislada de un entorno oligotrófico (Celaya-Herrera et al., 2021) y la cepa WDHS-02 de *Micromonospora* sp. aislada de los sedimentos del lago Donghu (H. Zhang et al., 2021).

2.6.4.2.2 Quitinasas

La quitina es un polisacárido de N-acetilglucosamina con enlaces β -1,4. Es el segundo biopolímero más abundante en la naturaleza y es el material de construcción que da fuerza a los exoesqueletos de crustáceos, insectos y las paredes celulares de los hongos (Lacombe-Harvey et al., 2018). Las quitinasas son enzimas que degradan quitina y que también contribuyen a la generación de carbono y nitrógeno en el ecosistema. Son utilizadas en el área médica especialmente en problemas de alergias y enfermedades como el asma, y han tomado relevancia en el área agrícola como control de patógenos (Hamid et al., 2013).

Se ha demostrado que las quitinasas aisladas de especies de *Streptomyces* tienen actividad antifúngica *in vitro* contra un amplio espectro de hongos fitopatógenos y oomicetos, incluidos géneros económicamente importantes, como *Fusarium*, *Rhizoctania* y *Pythium*. Por ejemplo, la quitinasa de *Streptomyces lydicus* WYEC108, que es el ingrediente activo del agente de control biológico disponible comercialmente Actinovate®, pueden lisar las paredes celulares de varios hongos fitopatógenos, incluidas varias especies de *Pythium* (Newitt et al., 2019). La enzima cruda obtenida de *Streptomyces luridiscabiei* U05 logró inhibir el crecimiento de *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *Botrytis cinerea*, *F. culmorum* y *Penicillium verrucosum* (Swiontek Brzezinska et al., 2019). También en un estudio realizado en Nigeria, se logró aislar distintas especies de *Streptomyces* (*S. rimosus*, *S. fumosus*, *S. albus* y *S. flavogriseus*) que demostraron producir quitinasa. Se probó que el filtrado de cultivo de *Streptomyces albus* pudo inhibir el

crecimiento de *Magnaporthe oryzae*, *Fusarium graminearum*, *Rhizoctonia solani*, especies de *Puccinia* y *Botrytis cinerea* (Ekundayo et al., 2022).

2.6.4.2.3 Proteasas

Las proteasas son enzimas que degradan proteínas y muestran especificidad y selectividad en la modificación de proteínas hidrolizando el enlace peptídico presente en la cadena polipeptídica de los aminoácidos. Las proteasas son uno de los grupos más grandes de enzimas industriales y representan el 20% del 60% de las enzimas comercializadas a nivel mundial. Son utilizadas en diferentes sectores como textil, detergente, cuero, piensos, residuos, y otros (Razzaq et al., 2019). Las enzimas proteolíticas se dividen en 271 familias, que se ensamblan en 56 clanes. Las proteasas alcalinas son preferidas debido a su capacidad para mantenerse bajo el pH alcalino sin perder la especificidad de acción. Las proteasas alcalinas son activas en un rango de pH neutro a alcalino y requieren Asp-His-Ser (serina proteasa) o iones metálicos (metaloproteasa) para actuar sobre el sustrato (Pawar et al., 2023).

Las proteasas juegan un papel importante en la lisis de la pared celular de hongos fitopatógenos, ya que la quitina y las fibrillas de β -glucano están dentro de la matriz proteica. Las proteasas hidrolizan las proteínas, específicamente las manoproteínas, que componen la pared celular de los hongos y descomponen las principales proteínas en cadenas peptídicas y/o sus aminoácidos constituyentes por lo tanto destruyen su capacidad de actuar sobre las células vegetales (Jadhav et al., 2017).

Se ha demostrado la actividad antifúngica de proteasas producidas por *Streptomyces*, como la proteasa purificada obtenida de *Streptomyces* sp. A6, que exhibió actividad antifúngica contra *Fusarium udum*, *Rhizoctonia* sp. y *Alternaria* sp. al inhibir la germinación de esporas y la extensión de hifas (Singh & Chhatpar, 2011). También las proteasas extracelulares de *Streptomyces phaeopurpureus* ExPro138 que inhibió la germinación de esporas, la adhesión de esporas y la formación de apresorios en *Colletotrichum Coccodes* (Palaniyandi et al., 2013).

2.6.4.2.4 Lipasas

Las lipasas constituyen la tercera familia más grande de enzimas digestivas después de las proteasas y las enzimas que degradan a los carbohidratos. Las lipasas son enzimas responsables de catalizar la hidrólisis o descomposición de grasas y aceites insolubles

(triglicéridos), y pueden liberar monoglicéridos, diglicéridos, glicerol y ácidos grasos libres sobre una interfase aceite-agua. Además, las lipasas son esterasas de ácidos carboxílicos que pertenecen a la familia de las serina-hidrolasas y no requieren ningún cofactor para catalizar las reacciones. Las lipasas son muy diversas y se pueden encontrar en animales, plantas y microorganismos. Las lipasas microbianas han ganado mayor atención industrialmente debido a sus características, principalmente por la versatilidad de sus propiedades aplicadas, la facilidad de producción en grandes cantidades y que constituyen un grupo importante de enzimas biotecnológicamente valiosas (Kumar et al., 2023).

Las lipasas se usan comúnmente en la industria alimentaria y desempeñan un papel importante en la fabricación de una variedad de productos como productos horneados, jugos y alimentos fermentados. También son utilizadas en las industrias de limpieza, procesamiento de cuero, cosméticos, papel, detergentes, y otras aplicaciones de gran importancia como biosensores, producción de biodiesel, aplicaciones biomédicas y biorremediación (Ali et al., 2023). La secreción de lipasas fúngicas y bacterianas puede estar relacionada con la absorción de nutrientes de fuentes externas. Las bacterias patógenas secretan lipasas para persistencia y colonización de un nuevo huésped mientras que en los hongos se ha demostrado que las lipasas influyen en el crecimiento, la morfología, la adherencia y la diseminación en el huésped. Las lipasas son enzimas que pueden descomponer las grasas en moléculas más pequeñas, como ácidos grasos y glicerol. Estas no degradan directamente las paredes celulares y normalmente no se usan como agentes antifúngicos, pero varios tipos de plagas de insectos han sido ampliamente controlados por lipasas extracelulares que pueden degradar la cutícula de los insectos ya que realizan la hidrólisis de los enlaces éster de lipoproteínas, grasas y ceras que se encuentran en la parte interior del tegumento del insecto (Naz et al., 2022).

Algunos de los productores de lipasa más importantes son de género *Bacillus*, *Pseudomonas* y *Burkholderia*. El tipo de lipasa, junto con la concentración de fuentes de carbono y nitrógeno y la temperatura, juegan un papel importante en la producción de lipasas. Generalmente se producen en una fuente de carbono lipídico, como aceites, ácidos grasos, glicerol o Tween y en presencia de una fuente de nitrógeno orgánico (Gupta et al., 2004). También se han encontrado pocas cepas de *Streptomyces* productoras de lipasas extracelulares como: *Streptomyces rimosus* R6-554W, cuya lipasa extracelular demostró

una alta estabilidad en un amplio rango de pH de 4 a 10 y fue bastante termoestable (Abramić et al., 1999); también la lipasa de *Streptomyces* sp. OC 119-7 mostró actividad óptima a pH 8,0 y 50 °C, con estabilidad en un rango de temperatura de 40–60 °C y a pH ≥ 7 (Ayaz et al., 2015) y la lipasa de *Streptomyces* sp. AU-10, que exhibió una actividad máxima a pH 9,0 y 40 °C (Boran, 2018).

2.6.4.3 Producción de compuestos orgánicos volátiles

Los compuestos orgánicos volátiles (COV) son compuestos de bajo peso molecular que pueden difundirse rápidamente a través de agua y aire, por lo que pueden actuar como señales de mayor alcance. Los compuestos volátiles se reconocen cada vez más como compuestos importantes para la nutrición y las comunidades del suelo. Los COV pueden alterar los perfiles de resistencia a los antibióticos de las bacterias, actuar como compuestos antimicrobianos, promover comportamientos grupales como la motilidad, formación de biopelículas e inducir cambios generalizados en la expresión génica de los microbios cercanos (Jones et al., 2019). Los compuestos orgánicos volátiles que se han identificado que tienen actividad antifúngica son pironas y sesquiterpeno, 6-pentil-a-pirona (6-PAP), 1-octen-3-ol, 3-octanona, 3-octanol y 1-octen-3 -uno (Inayati et al., 2019).

Las bacterias del género *Streptomyces* son bien conocidas por su producción de geosmina, el COV que da el distintivo aroma a tierra mojada, pero su repertorio de compuestos volátiles se extiende mucho más allá. Actualmente existen estudios donde se demuestra la producción de compuestos volátiles con actividad antifúngica (Figura 14) (Jones & Elliot, 2017). En un estudio realizado por Wang, C. (Wang et al., 2013) se demostró que volátiles generados por *S. alboflavus* TD-1 pueden inhibir distintos hongos de almacenamiento como *Fusarium moniliforme* Sheldon, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus niger* y *Penicillium citrinum* *in vitro*. En varias especies de *Streptomyces* spp. aisladas del suelo, los compuestos volátiles 2-metilpentanoato de metilo y 1,3,5-tricloro-2-metoxibenceno han demostrado que inhiben el desarrollo de *R. solani* (Cordovez et al., 2015). En otro estudio se identificaron varias actinobacterias marinas, entre ellas, el aislado *Streptomyces* sp. (PNM-149), el cual demostró actividad antifúngica contra *Colletotrichum gloeosporioides* a través de 2-aminobenzoato de metilo y 1,2,7,7-tetrametilbicyclo [2.2.1]heptan-2-ol (Gómez et al., 2021). Se han encontrado cuatro cepas de *Streptomyces* con actividad antifúngica contra *Fusarium solani*, *Alternaria alternata*,

Phytophthora capsici, *Pythium aphanidermatum* y *Phytophthium vexans*. Se identificaron varios COV antifúngicos de los cuales trans-2-hexenal fue el más efectivo, inhibiendo completamente el crecimiento de los fitopatógenos probados (Pérez-Corral et al., 2020).

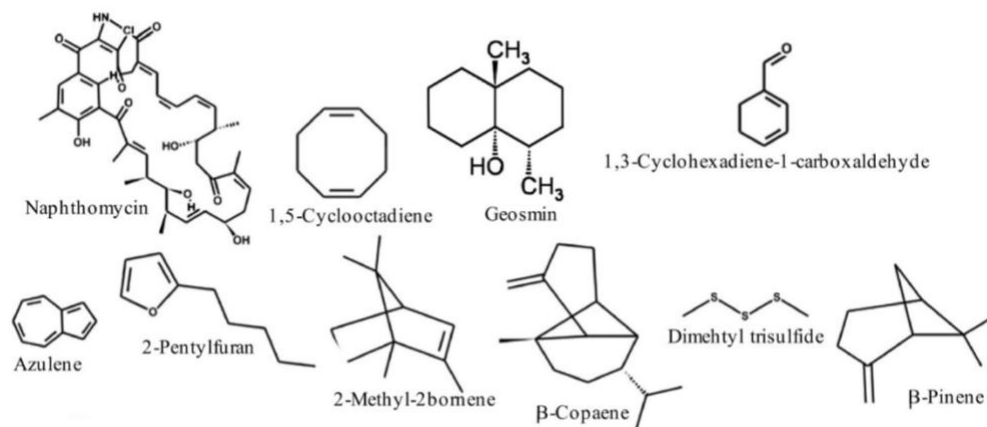


Figura 14: Compuestos volátiles producidos por especies de *Streptomyces* con actividad antifúngica (Sharma et al., 2020).

2.6.5 Promoción del crecimiento vegetal por actinomicetos

En el sector agrícola, los microorganismos antagonistas de patógenos también se utilizan para promover el crecimiento de plantas. Hoy en día, varias bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV) se han comercializado como agentes de biocontrol o biofertilizantes. Las BPCV promueven el crecimiento de las plantas mediante mecanismos directos, como la producción de fitohormonas y la mejora de la nutrición, y mecanismos indirectos, que incluyen la producción de antibióticos, la competencia con patógenos, la inducción de resistencia y otros procesos de biocontrol. (Olanrewaju et al., 2017). Dado que *Streptomyces* puede tener una relación simbiótica beneficiosa con las plantas, se han realizado muchos estudios sobre la contribución de estas bacterias en la nutrición, la salud y el estado físico de las plantas.

2.6.5.1 Producción de sideróforos

El hierro es un componente clave de varias rutas metabólicas en la célula. El par Fe^{+2}/Fe^{+3} participa en la canalización de una amplia gama de reacciones redox y en los sistemas de transferencia de electrones. Los iones Fe también son necesarios para la síntesis de clorofila y el funcionamiento general del aparato fotosintético. Además, sirve como un

cofactor en la síntesis de muchas hormonas vegetales. Dado que el Fe^{+2} libre se oxida rápidamente a Fe^{+3} , este no está biodisponible debido a su baja solubilidad por lo que la cantidad de Fe soluble es extremadamente limitada. Los sideróforos son compuestos quelantes con gran afinidad por el Fe^{+3} por lo tanto, la función principal de los sideróforos es convertir el Fe unido a proteínas o compuestos solubles en una forma accesible para los microorganismos (Timofeeva et al., 2022). La producción de sideróforos puede actuar como un mecanismo antagónico al eliminar el hierro limitado del entorno del suelo, reduciendo la cantidad de hierro disponible para otros organismos (Tyc et al., 2017).

Actualmente hay muchos estudios sobre el potencial de los sideróforos de *Streptomyces* como promotores de crecimiento y biocontrol. Muchas especies de *Streptomyces* producen sideróforos, como por ejemplo *Streptomyces rochei*, *Streptomyces carpinensis*, *Streptomyces thermolilacinus* y *Streptomyces tendae* (Amaresan et al., 2018). La cepa *Streptomyces* sp. MBRL 10, aislada de piedra caliza, mostró un antagonismo significativo contra patógenos fúngicos del arroz *Rhizoctonia solani*, *Rhizoctonia oryzae-sativae*, *Bipolaris oryzae*, *Pyricularia oryzae*, *Fusarium oxysporum* y *Curvularia oryzae*, donde obtuvo la mayor inhibición del crecimiento micelial contra *Rhizoctonia solani*. También mostró una promoción prometedora del crecimiento de las plantas de arroz. Se demostró que la cepa produce sideróforo de tipo hidroxamato, y que también puede producir IAA y solubilizar fósforo (Tamreihao et al., 2018). La cepa *Streptomyces morookaensis* Sm4-1986 inhibió significativamente el crecimiento micelial y la germinación de esporas del patógeno *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. La cepa es capaz de producir sideróforos, y el escaneo espectrométrico confirmó que los sideróforos producidos pertenecen al tipo carboxilato (Z. Zhu et al., 2021). También se siguen investigando microorganismos en la búsqueda de nuevos sideróforos. En un estudio reciente se logró el aislamiento y la caracterización de dos nuevos sideróforos derivados de desferrioxamina de la cepa *Streptomyces* sp. MA37, que se denominaron legonoxamina A1 y B2 (Maglangit et al., 2019). Se descubrió que la cepa de *Streptomyces* sp. FIMYZ-003 de origen marino produce dos nuevos sideróforos de tipo α -hidroxicarboxilato, las fradiaminas C y D (también llamadas tipo 3 y 4), junto con dos sideróforos relacionados conocidos, las fradiaminas A y B (también llamadas tipo 1 y 2) (Chen et al., 2023).

2.6.5.2 Solubilización de fosfato

El fósforo es el segundo macronutriente más crítico después del nitrógeno, indispensable para procesos metabólicos clave en las plantas, como la división celular, la generación de energía, biosíntesis de macromoléculas, integridad de membrana, transducción de señales y fotosíntesis en las plantas. A pesar de la abundancia de fósforo, tanto en formas orgánicas como inorgánicas, en el suelo solo el 0.1% está disponible para la absorción de las plantas debido a su unión con iones metálicos en el suelo (Rawat et al., 2021). Las principales fuentes de fósforo orgánico en el suelo son materiales orgánicos en forma de hexafosfato de inositol (fitato). Otros compuestos orgánicos de fósforo incluyen fosfomonoésteres, fosfodiésteres, fosfolípidos, ácidos nucleicos y fosfotriésteres.

Los microorganismos que solubilizan fosfato convierten el fosfato orgánico e inorgánico insolubles a una forma más aceptable para las plantas y que no es nocivo para el medio ambiente. Los solubilizadores de fosfato más potentes son de los géneros *Bacillus*, *Rhizobium* y *Pseudomonas* (Olanrewaju et al., 2017). Las bacterias del género *Streptomyces* también han demostrado su gran potencial como solubilizadoras de fósforo. En condiciones de invernadero, las plantas de cebada inoculadas con *Streptomyces roseocinereus MSIB15* mostraron un aumento significativo de la longitud de los brotes y espigas, por lo que los resultados generales mostraron que la cepa puede representar un candidato potencial como biofertilizante para aumentar el crecimiento de las plantas y la absorción de P (Chouyia et al., 2020). *Streptomyces* sp. NEAU-S7GS2 demostró una excelente actividad inhibidora contra el crecimiento micelial y la germinación de esclerocios de *Sclerotium sclerotiorum* de soja y promueve el crecimiento de soja a través de la solubilización de fosfato inorgánico y la producción de 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) desaminasa e indol acético ácido (IAA) (Liu et al., 2019).

2.6.5.3 Fijación de nitrógeno

El nitrógeno es el gas atmosférico más abundante pero que no está presente en el suelo. Por lo tanto, el aporte de nitrógeno al suelo para la nutrición de las plantas depende en gran medida de la degradación de la materia orgánica, las aplicaciones de fertilizantes sintéticos y la fijación biológica de nitrógeno (BNF) a través de la actividad de la enzima nitrogenasa (Mahmud et al., 2020). Las plantas no pueden utilizar el gas dinitrógeno (N₂) atmosférico, por lo que requieren la conversión de nitrógeno en una forma utilizable para la planta. Los microorganismos fijadores de nitrógeno reducen el N₂ utilizando la enzima

nitrogenasa para convertir el nitrógeno atmosférico en amoníaco (Amaresan et al., 2018). Se han estudiado una amplia gama de bacterias fijadoras de nitrógeno, microorganismos de vida libre, como *Acetobacter* spp., *Azospirillum* spp., *Azotobacter* spp., *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp., *Clostridium* spp., *Citrobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp. o *Streptomyces* spp., y también microorganismos simbióticos con plantas específicas, como *Rhizobium* spp. *Frankia* spp., *Herbaspirillum* spp., *Azoarcus* spp. y *Azospirillum* spp. (Fahde et al., 2023). El nitrógeno es esencial para todos los seres vivos, ya que es una parte integral de las proteínas y los ácidos nucleicos. El metabolismo del nitrógeno y su eliminación son procesos vitales para organismos saprofitos como *Streptomyces* y otras actinobacterias (Romero-Rodríguez et al., 2018). En investigaciones recientes se buscan microorganismos fijadores de nitrógeno para la elaboración de nuevos y más eficientes fertilizantes. En un estudio se demostró que la co-inoculación de bacterias fijadoras de nitrógeno con bacterias promotoras del crecimiento vegetal *Bradyrhizobium japonicum* SAY3-7 y la *Streptomyces griseoflavus* P4 en el cultivar de soja 'Yezin-6' mejoró significativamente el crecimiento de las plantas, nodulación, fijación de nitrógeno y absorción de N, P, K, Ca y Mg (Htwe et al., 2018). En otro estudio, una bacteria del género *Streptomyces* sp. con capacidad fijadora de nitrógeno, fue inmovilizada en un biocompuesto de hidrotalcita y alginato de calcio que actuó como biofertilizante de liberación controlada, logrando un incremento significativo en el crecimiento de las plantas de lechuga en comparación con las plantas no tratadas. (Velázquez-Herrera et al., 2022).

2.7 Biocontrol en *Capsicum annuum*

A pesar de que existen muchos estudios sobre bacterias antagónicas, los agentes de control biológico (BCA) representan menos del 5% del mercado de protección de cultivos, debido a la baja transferencia de tecnología, lo que limita su adopción, especialmente en países en desarrollo. La falta de conocimiento suficiente de los métodos de investigación específicos del organismo dificulta su producción en masa y encarece el proceso. También su aplicación efectiva enfrenta retos, como la necesidad de aplicaciones continuas y la influencia de su formulación y método de aplicación. Finalmente, al ser organismos no nativos, su introducción conlleva riesgos ecológicos, pues podrían volverse invasivos y causar daños ambientales.

Entre los pocos productos comerciales que se pueden utilizar en pimiento se encuentran Serenade (*Bacillus subtilis* QST 713) contra patógenos foliares, podredumbres, fuego bacteriano y plagas; AtEze *Pseudomonas chlororaphis* cepa 63–28 contra *Pythium*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*; Bio–Ject/Spot Less *Pseudomonas aureofaciens* strain TX-1 contra *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia homeocarpa*, *Colletotrichum graminicola*, *Pythium aphanidermatum*, *Microdochium nival*; Actinovate AG (*Streptomyces lydicus*) contra enfermedades radiculares y foliares; y Mycostop (*Streptomyces griseoviridis* K61) contra Damping-off causado por diversos hongos, como *Rhizoctonia solani* también marchitez y enfermedades de la raíz causadas por *Fusarium*, *Phytophthora* y *Pythium* (Lahlali et al., 2022).

2.7.1 Impacto de los fitopatógenos en el cultivo de pimiento

El crecimiento y desarrollo del *Capsicum* pueden verse afectados por una variedad de factores abióticos y bióticos, lo que impacta directamente la producción y calidad de sus frutos. Entre los factores bióticos más relevantes se encuentran los invertebrados, como insectos plaga que se alimentan de la planta, los patógenos, que incluyen hongos, bacterias y virus capaces de causar enfermedades, y las malezas, que compiten por nutrientes, agua y luz. Se estima que las pérdidas ocasionadas por factores bióticos pueden variar entre un 27 y un 42%, las cuales aumentarían a entre un 48 y un 83% si los cultivos no estuvieran protegidos, comprometiendo significativamente el rendimiento y la viabilidad económica del cultivo (Barra-Bucarei & Ortiz, 2020).

Las principales enfermedades fúngicas de los cultivos de pimiento son el marchitamiento fúngico (*Pythium aphanidermatum* y *Phytophthora* spp.), la podredumbre del fruto y el tizón foliar (*Phytophthora* spp.), las manchas foliares (*Cercospora capsici* y *Alternaria solani*), la antracnosis y la podredumbre madura (*Colletotrichum capsici*), el marchitamiento (*Fusarium oxysporum*), la podredumbre seca (*Sclerotium rolfsii*) y la podredumbre del fruto (*Phomopsis* spp.), la podredumbre de ojo de rana (*Phaeoramularia capsicicola*) la podredumbre del tallo (*Macrophomina phaseoli*), el mildiú polvoriento (*Erysiphe cichoracearum* y *Leveillula taurica*), el tizón temprano (*A. solani*), la mancha foliar (*Septoria lycopersici*) y la mancha del fruto (*Phoma destructiva*). Las pudriciones poscosecha son causadas por *Aspergillus terreus*, *A. candidus*, *A. niger*, *F. verticillioides*, *F. sporotrichoides*, *Paecilomyces variotii* y *Penicillium corylophilum* (Jadon et al., 2016).

Dentro de esas enfermedades destaca *Phytophthora capsici* que es un patógeno de gran impacto en cultivos solanáceos (como *Capsicum annuum*) y cucurbitáceos a nivel mundial. Afecta la producción de numerosos cultivos anuales y perennes cultivados en sistemas de campo e invernadero. La capacidad única de *P. capsici* de provocar pérdidas económicas en los cultivos se debe, a la producción de estructuras reproductivas que facilitan su persistencia, diseminación e infección (Sanogo et al., 2023).

2.7.2 Estudios previos sobre el uso de actinomicetos en *Capsicum annuum*

El género *Streptomyces* ha sido ampliamente estudiado para la promoción de crecimiento y el control biológico de bacterias y hongos fitopatógenos, gracias a sus compuestos bioactivos. Numerosas cepas exhiben una amplia variedad de sustancias bioactivas altamente efectivas que demuestran efectividad contra diversos hongos patógenos *in vitro*. Sin embargo, su aplicación a gran escala enfrenta desafíos para replicar los resultados de laboratorio al campo, por lo que su investigación es clave para una agricultura más sostenible (Khan et al., 2023).

Algunos ejemplos de actinobacterias que se han probado en *Capsicum annuum* son *Streptomyces rochei* Ziyani, que en plantas de pimiento redujo el marchitamiento por *P. capsici* (Ezziyyani et al., 2004); el caldo de cultivo de *Streptomyces halstedii* AJ-7 suprimió el crecimiento de *P. capsici* en el pimiento rojo (Joo, 2005); *Streptomyces* sp. A1022 SC (concentrado sólido) resultó eficaz para suprimir la incidencia de *C. gloeosporioides* en plantas de pimiento (cv. Longdari 35) y aumentar la longitud de la raíz de la planta (Lee et al., 2012). El cultivo filtrado de *Streptomyces plicatus* B4-7 mostró una supresión de la enfermedad de *P. capsici* en pimiento morrón (Chen et al., 2016), mientras que *Streptomyces* sp. KP109810 tuvo efecto antagónico contra *R. solani* y *M. phaseolina* en diversos genotipos de pimiento (Alaa Fathalla, 2020). Por otra parte, *Streptomyces griseocarneus* R132 controló el desarrollo de los síntomas de antracnosis causados por *Colletotrichum gloeosporioides* MPU99 y promovió el crecimiento de semillas de plantas de pimiento del cultivar *C. annuum* Ikeda (Liotti et al., 2019) y finalmente *Streptomyces* sp. (GETU-1 y GIG-1) mejoraron el crecimiento de plantas de chile (*Capsicum flutescens* L.) (Chaiya et al., 2021);

2.7.3 Potencial del biocontrol en sistemas agrícolas sostenibles

La creciente preocupación mundial por los efectos negativos del uso excesivo de plaguicidas sintéticos en la salud humana, el medio ambiente, la biodiversidad y la seguridad alimentaria ha generado un rechazo generalizado al control químico de plagas en la agricultura. Las investigaciones actuales están dirigidas para reducir el impacto ambiental de estos productos y avanzar hacia un sistema alimentario más sostenible y saludable. En este contexto, el biocontrol se presenta como una alternativa eficaz y equilibrada, desempeñando un papel clave en la transición hacia una agricultura más sostenible (Hulot & Hiller, 2021). *Streptomyces* es el género más destacado de Actinobacteria, reconocido principalmente por su capacidad de producir metabolitos secundarios con aplicaciones industriales. Su uso en la promoción del crecimiento vegetal, el control biológico y la mitigación del estrés abiótico resalta su papel en el desarrollo de una agricultura más sostenible y productiva. Debido a estos beneficios, diversos estudios han señalado que este género bacteriano como una herramienta biotecnológica prometedora para la agricultura sustentable.

2.8 Cuatro Ciénegas, Coahuila: Fuente de actinobacterias únicas

Con la rápida aparición de microorganismos resistentes a antibióticos de amplio espectro, es cada vez más importante el aislamiento de nuevas clases de compuestos antimicrobianos. Desde el primer informe de la capacidad de *Streptomyces* para producir antibióticos en la década de 1940, se ha caracterizado un número significativo de nuevos antibióticos. La mayoría de las clases de antibióticos actualmente disponibles se descubrieron y produjeron a partir de especies de *Streptomyces* aisladas entre 1940 y 1960. Sin embargo, la tasa de redescubrimiento de especies y compuestos conocidos alcanzó el 99 % a fines de la década de 1980 y no se han aprobado nuevas clases de antibióticos desde entonces. Esta búsqueda de nuevos productos bioactivos ha revivido el interés en la investigación de *Streptomyces* (Lee et al., 2020).

La forma más tradicional para la obtención de nuevos compuestos bioactivos, especialmente con estructuras químicas únicas y significado biológico, se basa en el aislamiento de distintos microorganismos de diferentes entornos extremos y poco explorados. Los hábitats extremos como cuevas, desiertos o ecosistemas antárticos son fuentes valiosas de microorganismos que pueden producir nuevos metabolitos de importancia (Jakubiec-Krzesniak et al., 2018).

En los últimos años, los investigadores se han enfocado en la exploración de medio ambientes extremos como fuente potente de nuevas especies de Antinobacterias con actividad biológica. Los ambientes extremos se caracterizan por condiciones como alta salinidad, pH alto o bajo, condiciones áridas, bajo contenido de nutrientes y oxígeno, temperaturas altas o bajas y alta exposición a los rayos UV. Las condiciones ambientales y la variedad de hábitats influyen de manera importante en la diversidad y producción de compuestos bioactivos de los microorganismos, por lo que las *Streptomyces* de ambientes poco explorados se consideran una fuente potencial de nuevos compuestos naturales. (Donald et al., 2022). En los últimos años, se han reconocido a los suelos extremos como, suelos áridos, suelos hipersalinos, suelos rojos, sedimentos intermareales y los sedimentos de aguas profundas como fuentes de nuevas *Streptomyces*. En ambientes desérticos los microorganismos se encuentran en condiciones extremas de desecación, temperatura extremos, radiación intensa, bajos niveles de nutrientes, baja actividad del agua y alta salinidad que sirven como una fuente de características novedosas (Sivakala et al., 2021).

Los hábitats hipersalinos se conocen como entornos extremos típicos que incluyen suelos hipersalinos que contienen de 9 a 23% de sales, lagos salinos, y salinas (lugar donde se obtiene la sal de agua de mar evaporada). De estas fuentes hipersalinas se han logrado aislar actinomicetos que mostraron actividad antifúngica contra *Fusarium solani*, *Aspergillus niger*, and *Cryptococcus* sp. y actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* (Selim et al., 2021).

2.8.1 Características del ecosistema de Cuatro Ciénegas

El valle de Cuatro Ciénegas es considerado un ambiente extremo de gran importancia dentro del desierto de Chihuahua y uno de los humedales más relevantes de México. El valle de Cuatro Ciénegas es considerado un ambiente extremo de gran relevancia dentro del desierto de Chihuahua y uno de los humedales más importantes de México; a nivel internacional, está reconocido como un humedal de alta importancia designado bajo la Convención RAMSAR. La Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad lo incluye entre los sitios prioritarios para la conservación (Ortiz Acosta & Romo Aguilar, 2016).

Es una región desértica ubicada en el estado de Coahuila, México, reconocida por su clima extremo y su rica biodiversidad. Esta área presenta un clima seco caracterizado por temperaturas extremas que pueden superar los 50 °C durante el verano, mientras que en invierno descienden frecuentemente por debajo de los 0 °C, lo que genera condiciones ambientales extremas (Peralta-García et al., 2016). Este valle único es reconocido por tener numerosas pozas aisladas de poca profundidad, cada una con características únicas. Cada poza alberga comunidades biológicas distintivas, moldeadas por un conjunto de factores ambientales específicos como los niveles de arsénico, el pH, la temperatura y la salinidad. Estas condiciones varían significativamente entre las pozas, creando microhábitats únicos que favorecen la evolución de especies altamente especializadas y, en muchos casos, endémicas (García-Ulloa et al., 2022). Estas características climáticas, junto con la limitada disponibilidad de agua y la elevada salinidad en algunas zonas, contribuyen a la singularidad ecológica de la región, convirtiéndola en un laboratorio natural para el estudio de adaptaciones biológicas.

2.8.2 Diversidad microbiana y endemismo en Cuatro Ciénegas

Recientemente se ha descubierto un alto grado de diversidad y endemismo en este ambiente extremo donde se han identificado especies endémicas de *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Exiguobacterium* y *Streptomyces* (Arocha-Garza et al., 2017). Actualmente se cuenta con un banco de actinobacterias conservado en el Instituto de Biotecnología, Laboratorio 9, las cuales representan un gran atractivo para su estudio desde el punto de vista biotecnológico, debido a que estos microorganismos han desarrollado resistencia a las condiciones ambientales agresivas de su entorno. Este hecho despierta un notable interés tanto para comprender los mecanismos de resistencia que presentan como para explorar su potencial en el desarrollo de aplicaciones industriales.

2.8.3 Potencial biotecnológico de las actinobacterias de Cuatro Ciénegas

Con base en este contexto, se plantea la hipótesis de que las condiciones ambientales extremas del valle de Cuatro Ciénegas han favorecido el establecimiento de comunidades microbianas diversas y singulares, dentro de las cuales las actinobacterias previamente aisladas y conservadas presentan el potencial de promover el crecimiento vegetal y de ejercer actividad antimicrobiana frente a patógenos de plantas.

3. JUSTIFICACIÓN

Actualmente existe la necesidad de alternativas para plaguicidas que sean de bajo costo y que no tenga un impacto negativo al medio ambiente. La diversidad de los actinomicetos desempeña un papel ecológico importante y representan un área prometedora para buscar contribuciones al descubrimiento de nuevos productos naturales. Su gran capacidad para producir una amplia gama de compuestos bioactivos las hace excelentes candidatas para explorar su uso en el control de patógenos que causan daños severos en los cultivos de importancia económica. Es necesario realizar esfuerzos de bioprospección de microorganismos presentes en lugares poco explorados o con un alto grado de endemismo, como el valle de Cuatro Ciénegas, Coahuila, el cual sin duda será una fuente inmensa para cultivar microorganismos productores de metabolitos que no hayan sido reportados anteriormente y que puedan ser utilizados.

4. HIPÓTESIS

Algunos aislados de actinomicetos de Cuatro Ciénegas presentarán actividad antifúngica contra *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento morrón.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Evaluar la actividad antifúngica de 60 aislados de actinomicetos provenientes de Cuatro Ciénegas, Coahuila contra patógenos que afectan al pimiento morrón.

5.2 Objetivos específicos

- Evaluar la actividad antifúngica *in vitro* de actinomicetos provenientes de Cuatro Ciénegas.
- Caracterizar la morfología y las condiciones de cultivo del aislado con mayor actividad antagonista.
- Identificar genes asociados a la biosíntesis de metabolitos secundarios mediante minería genómica.

- Evaluar la capacidad de promoción del crecimiento vegetal *in vitro* del aislado seleccionado.
- Evaluar la capacidad de biocontrol *in vivo* del aislado en plantas de pimiento morrón (*Capsicum annuum*).

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Obtención de actinobacterias

Se utilizaron sesenta cepas de la colección de Actinobacterias de Cuatro Ciénegas, Coahuila, México del Instituto de Biotecnología de la Universidad Autónoma de Nuevo León (Anexo 1), que fueron reactivadas en medio de cultivo ISP2 (agar extracto de malta). Los fitopatógenos utilizados en este estudio fueron *Phytophthora capsici*, *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium lateritium*, *Macrophomina phaseolina*, *Colletotrichum coccodes*, *Botryosphaeria rhodina*, *Botrytis cinerea* y *Sclerotium rolfsii*, los cuales fueron proporcionados por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) y el Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD).

6.2 Selección de aislados con actividad antifúngica

Se realizó una preselección (sin repeticiones) en la que se evaluó la capacidad inhibitoria de sesenta cepas de actinobacterias contra 7 fitopatógenos (*Phytophthora capsici*, *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium lateritium*, *Macrophomina phaseolina*, *Colletotrichum coccodes* y *Sclerotium rolfsii*) utilizando la técnica de cultivo dual. Se colocó un disco de micelio (6 mm) de un patógeno en el centro de una placa Petri con medio sólido ISP2. Posteriormente, se inoculó un disco de micelio de una cepa diferente de actinobacteria cultivada durante 7 días previos en ISP4 en cuatro puntos equidistantes del patógeno. Las placas testigo contenían únicamente el inóculo del patógeno. La placa se incubó a 27 °C durante 10 días y se registraron las actinobacterias que presentaron halos de inhibición de crecimiento frente al patógeno. Se seleccionaron las actinobacterias que presentaron antagonismo frente al mayor número de fitopatógenos, así como los porcentajes más altos de inhibición, con el fin de realizar una segunda ronda de selección mediante la técnica de cultivo dual.

Para la segunda ronda de selección, se evaluó la capacidad de los aislados de actinomicetos seleccionados individualmente para inhibir el crecimiento de 9 fitopatógenos (*P. capsici*, *F. solani*, *F. oxysporum*, *F. lateritium*, *M. phaseolina*, *C. coccodes*, *B. rhodina*, *B. cinerea* y *S. rolfsii*) utilizando la técnica de cultivo dual. Las esporas de actinomicetos se sembraron en dos líneas paralelas, cada una a 1.5 cm del borde de la placa con ISP4 (agar de sal de almidón inorgánico), y se incubaron durante 3 días a 27°C. Luego se colocó un disco de micelio de una colonia de cada patógeno en el centro de la placa ISP4 entre las líneas del actinomiceto (Figura 16). Como tratamiento testigo se colocó otro disco de micelio de cada patógeno en otra placa de ISP4 libre de actinomicetos. Las placas se dejaron incubando a 27 °C durante 10 días. Se midió el crecimiento fúngico radial de cada patógeno en la dirección del actinomiceto y también se midió el crecimiento radial de cada patógeno sin actinomiceto. Se calculó el porcentaje de reducción en el radio de la colonia en comparación con el control: porcentaje % de inhibición = $[(D-d) \times 100]/D$, donde D es el diámetro del micelio en las placas de control y d es el diámetro del micelio que crece frente a las actinobacterias (Liotti et al., 2019). El experimento se realizó por triplicado.

6.3 Actividad antifúngica por compuestos orgánicos volátiles

La actividad antifúngica de los compuestos orgánicos volátiles del aislado seleccionado PR69 se evaluó mediante la técnica de placa sobre placa, utilizando un sistema de doble placa Petri colocadas de manera enfrentada.

Preparación de las placas: En una placa con medio ISP4, se sembró el actinomiceto cubriendo toda la superficie de la placa. En otra placa con ISP4, se colocó en el centro un disco de micelio obtenido con un sacabocado a partir de una colonia en crecimiento del fitopatógeno.

Ambas placas, sin tapa, se colocaron enfrentándose y se sellaron con Parafilm, asegurando que la placa con el fitopatógeno quedara arriba y la del actinomiceto abajo. Como control negativo se incluyó uno donde solo se incubó el fitopatógeno con una placa de ISP4 sin actinomiceto. Se incubaron a 28 °C durante 10 días. La evaluación de la inhibición se realizó midiendo el diámetro de la colonia del fitopatógeno para determinar su crecimiento en presencia del actinomiceto y compararlo con el control. Todos los ensayos se efectuaron por triplicado.

6.4 Antagonismo entre actinomicetos

Se evaluó la actividad antagonista entre los aislados de actinomicetos seleccionados de 2 maneras. uno para analizar la interacción por contacto directo y otro para evaluar el efecto de sus compuestos volátiles. Cada experimento se realizó por triplicado.

1) Ensayo de antagonismo por interacción directa en medio

Cada aislado de actinomiceto se cultivó en medio ISP2 durante 7 días o hasta alcanzar la esporulación. La suspensión de esporas se obtuvo mediante el raspado de las placas y la resuspensión del material en 10 mL de agua bidestilada estéril, y la concentración de esporas se determinó utilizando una cámara de Neubauer. Para la siembra por vertido en placa, se añadió 1 mL de la suspensión de esporas de un actinomiceto (actino A) a 9 mL de medio ISP2 fundido, asegurando una distribución homogénea del inóculo. Posteriormente, en la misma placa, se inoculó el actinomiceto PR69 (actino B) mediante dos métodos: en un extremo de la placa se colocó un disco de micelio de 6 mm de diámetro obtenido con un sacabocado, mientras que en el extremo opuesto se realizó un orificio de 6 mm en el que se adicionaron 10 µL de una suspensión de esporas del mismo actinomiceto PR69. La placa testigo consistió en Se preparó una placa con medio ISP2 sin la adición de la suspensión de esporas del actinomiceto A. En la placa se inoculó únicamente el actinomiceto PR69 empleando los mismos métodos y condiciones que en el tratamiento. Las placas se incubaron a 27 °C durante 10 días.

Esta disposición permitió evaluar la interacción entre ambos actinomicetos en el medio ISP2 (Figura 18).

2) Ensayo de antagonismo mediado por compuestos volátiles

Cada aislado de actinomiceto se cultivó en medio ISP2 durante 7 días o hasta que alcanzara la esporulación. La suspensión de esporas se preparó raspando cada placa y resuspendiendo las esporas en 10 mL de agua bidestilada estéril. La concentración de esporas se determinó utilizando una cámara de Neubauer.

En una placa de ISP2, se inoculó un actinomiceto (actino A) de la siguiente manera: Un disco de micelio de 6 mm obtenido con un sacabocado, colocado al lado izquierdo del disco central del actinomiceto B. Un agujero de 6 mm a la derecha del disco central de actinomiceto B, en el que se añadió 10 μ L de suspensión de esporas del actinomiceto A.

En la misma placa, se inoculó el actinomiceto PR69 (actinomiceto B) en tres puntos dispuestos verticalmente: en la parte superior se realizó un orificio de 6 mm de diámetro, en el centro se colocó un disco de micelio de 6 mm y en la parte inferior se realizó un segundo orificio de 6 mm. En los orificios se agregaron 10 μ L o 15 μ L de la suspensión de esporas del mismo aislado, realizándose experimentos independientes para cada volumen.

Para las placas testigo se preparó una placa con medio ISP2 en la que se inoculó únicamente el actinomiceto A, utilizando la misma disposición y condiciones empleadas en el tratamiento experimental y se preparó otra placa con medio ISP2 en la que se inoculó únicamente con el actinomiceto B, utilizando la misma disposición y los mismos volúmenes empleados en el tratamiento experimental.

Esta disposición permitió evaluar la interacción de los compuestos volátiles entre ambos actinomicetos (Figura 19).

6.5 Caracterización en medios de cultivo

Las características de crecimiento de la colonia y fisiológicas de la cepa seleccionada PR69 se determinó en 11 diferentes medios de cultivo en sólidos y líquidos:

ISP1 (Extracto de levadura de triptona) por litro; 5 g caseína hidrolizada, 3 g extracto de levadura, 20 g agar bacteriológico;

ISP2 (agar de extracto de malta) por litro: 5 g extracto de levadura, 10 g extracto de malta, 4 g dextrosa, 25 g sales marinas de Kent (Atkinson & Bingman, 1997), 20 g agar bacteriológico;

ISP3 (agar de avena) ISP3 (agar de avena) por litro: 20 g harina de avena, 0.001 g sulfato férrico ($\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$), 0.001g cloruro de manganeso (MgCl_2), 0.001 g sulfato de zinc (ZnSO_4), 18 g agar bacteriológico;

ISP4 (agar de sal de almidón inorgánico) por litro: 10 g almidón, 1 g fosfato dipotásico (K_2HPO_4), 1 g sulfato de magnesio heptahidratado ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$), 1 g cloruro de sodio NaCl, 2 g sulfato de amonio ($(NH_4)_2SO_4$), 2 g carbonato de calcio ($CaCO_3$), 0.001 g sulfato ferroso heptahidratado ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$), 0.001 g cloruro de manganeso ($MgCl_2$), 0.001 g sulfato de zinc ($ZnSO_4$), 20 g de agar bacteriológico;

ISP5 (agar glicerol asparagina) por litro: 1 g L-asparagina, 1 g fosfato de potasio K_2HPO_4 , 0.001 g sulfato ferroso ($FeSO_4$), 0.001 g cloruro de manganeso ($MnCl_2$), 0.001 g sulfato de zinc ($ZnSO_4$), 20 g agar bacteriológico y 10 mL glicerol al 100%

ISP6 (agar de hierro con extracto de levadura de peptona) por litro: 15 g de peptona de carne, 5 g de peptona de proteasa, 1 g de extracto de levadura, 0.5 g de citrato de amonio férrico ($C_6H_{11}FeNO_7$), 1 g de fosfato dipotásico (K_2HPO_4), 0.08 g de tiosulfato de sodio ($Na_2S_2O_3$), 15 g agar bacteriológico;

ISP7 (agar tirosina) por litro: 1 g L-Asparagina, 0.05 g L-Tirosina, 0.05 g fosfato dipotásico K_2HPO_4 , 0.05 g sulfato de magnesio heptahidratado ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$), 0.05 g cloruro de sodio NaCl, 1.360 mg sulfato ferroso heptahidratado ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$), 0.027 mg cloruro de cobre dihidratado ($CuCl_2 \cdot 2H_2O$), 0.04 mg cloruro de cobalto ($CoCl_2$), 0.025 mg Molibdato de sodio dihidratado ($Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$), 0.02 mg cloruro de zinc ($ZnCl_2$), 2.850 mg ácido bórico H_3BO_3 , 1.8 mg cloruro de magnesio tetrahidratado ($MgCl_2 \cdot 4H_2O$), 1.77 mg tartrato de sodio ($C_4H_4Na_2O_6$), 15 mL glicerol 100%, 20 g agar bacteriológico;

SFM (manitol de harina de soya) por litro: 20 g manitol, 20 g harina de soya, 25 g mezcla de sales marinas de Kent, 20 g de agar;

M1 por litro: 50 mL stock de sales, 5 g manitol, 5 g glicerol, 15 g agar bacteriológico;

M3 por litro: 8 g bacto Peptona, 1 g almidón y 15 g agar bacteriológico;

Quitina por litro: 10 g quitina, 25 g sales marinas de Kent, 16 g agar bacteriológico

El aislado PR69 se reactivó en medio ISP2 durante 10 días. Los medios sólidos se inocularon mediante estría cruzada y se incubaron a 27 °C por 14 días, mientras que los medios líquidos se inocularon colocando un disco de micelio de 6 mm de diámetro en matraces de 50 mL que contenían 15 mL de medio, los cuales se incubaron a 27 °C con agitación constante a 125 rpm durante 14 días. Durante el cultivo se observó el crecimiento, la presencia de micelio vegetativo, que se desarrolla sobre o dentro del medio

(pellets en medio líquido), también micelio aéreo, que emerge sobre la superficie del micelio vegetativo, así como el color de la colonia, la producción de pigmentos difusibles y la esporulación.

La morfología celular se evaluó mediante tinción de Gram siguiendo un método estándar.

6.6 Secuenciación del genoma y análisis bioinformático

El ADN genómico del aislado seleccionado PR69 se extrajo utilizando el método con fenol/cloroformo modificado según Arocha (Arocha-Garza et al., 2017):

El aislado PR69 se cultivó en medio ISP2 a 27 °C durante 4 días, para utilizarse antes de su esporulación. El micelio del actinomiceto se raspó de las placas de agar y se transfirió a tubos Eppendorf estériles. Posteriormente, el micelio se lavó dos veces con 1 mL de solución de sacarosa al 10%, centrifugando a $12,879 \times g$ durante 5 min.

La pastilla celular se resuspendió en 800 μ L de tampón de extracción QTP, compuesto por 400 μ L Triton X-100 al 4%, 1 mL SDS al 20%, 200 μ L NaCl 5 M, 100 μ L Tris-HCl 2 M (pH 8) y 70 μ L EDTA 500 mM (pH 8), preparado y ajustado a un volumen final de 10 mL con agua Milli-Q.

A la suspensión celular se añadieron perlas de vidrio de 0.1 mm y la mezcla se sometió a disrupción mecánica utilizando un disruptor celular a 5000 rpm durante 2 min, aplicando ciclos de 30 s de agitación y 30 s de enfriamiento en hielo hasta completar el tiempo total. Finalizada la lisis, el lisado se centrifugó a $12,879 \times g$ durante 15 min a 4 °C.

La fase acuosa, que contenía el ADN, se transfirió cuidadosamente a un tubo nuevo y se mezcló con un volumen igual de fenol:cloroformo (1:1), seguido de centrifugación a $12,879 \times g$ durante 15 min. La fase acuosa se recuperó nuevamente y se lavó con un volumen igual de cloroformo, centrifugándose bajo las mismas condiciones.

Posteriormente, el ADN se precipitó añadiendo dos volúmenes de etanol GBM frío y 1/10 del volumen de acetato de sodio 3 M, y se incubó a -20 °C toda la noche. Tras la incubación, el ADN se sedimentó mediante centrifugación a $12,879 \times g$ durante 10 min a 4 °C. La pastilla obtenida se lavó dos veces con etanol al 70%, se secó al aire y finalmente se resuspendió en agua Milli-Q estéril con ARNasa.

La secuenciación se realizó en la plataforma Illumina Mi-Seq 2 \times 300 en CINVESTAV-LANGEBIO (Irapuato, México). Las lecturas obtenidas se ensamblaron utilizando Unicycler en la plataforma BV-BRC. Después del ensamblaje se extrajo la secuencia

parcial del 16S ARNr y se realizó una comparación con la base de datos GenBank de NCBI utilizando la herramienta BLASTn (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) para determinar el género. Para el análisis filogenético se usaron 96 genomas descargados de GenBank, 95 de *Streptomyces* y uno de *Micromonospora aurantiaca* (Anexo 2). El árbol filogenético se realizó basado en 81 genes centrales de secuencias genómicas utilizando la herramienta UBCG2 (Kim et al., 2021). UBCG2 utiliza Prodigal y HMMER para identificar y extraer las secuencias de 81 genes centrales bacterianos (genes de una sola copia que se encuentran en la mayoría de los genomas bacterianos) (Anexo 3), MAFFT para realizar múltiples alineaciones de secuencias y RAxML para realizar la reconstrucción filogenética. El árbol filogenético se infirió por el método de máxima verosimilitud con el modelo GTR+CATI. Se comparó la cepa *Streptomyces* sp. PR69 con las cepas más estrechamente relacionadas utilizando la Identidad de Nucleótidos Promedio (ANI: Average Nucleotide Identity) el cual analiza la similitud de las secuencias de ADN entre dos cepas bacterianas con la herramienta EzBioCloud ANI (<https://www.ezbiocloud.net/tools/ani>) (Yoon et al., 2017) y Kostas Lab ANI (<http://enve-omics.ce.gatech.edu/ani/>) (Rodriguez-R & Konstantinidis, 2016). Además se utilizó GGDC Genome-to-Genome Distance Calculator 3.0 (<https://ggdc.dsmz.de/ggdc.php#>) para medir la capacidad de las cadenas de ADN para unirse y determinar si dos cepas pertenecen a la misma especie (Meier-Kolthoff et al., 2022). La anotación del genoma ensamblado se hizo con la herramienta RAST v2.0 (Rapid Annotation using Subsystem Technology) (<https://rast.nmpdr.org/rast.cgi>) (Aziz et al., 2008). La identificación de posibles grupos de genes biosintéticos (BGC) se llevó a cabo con la herramienta antiSmash bacterial7.0 (<https://antismash.secondarymetabolites.org/#!/start>) (Blin et al., 2023).

6.7 Producción de enzimas extracelulares y caracterización bioquímica

Se realizaron pruebas cualitativas para detectar la producción de enzimas como celulasa, proteasa, lipasa y quitinasa. Además, se evaluaron características que favorecen el crecimiento de las plantas, como la producción de sideróforos, la solubilización de fosfatos y la fijación de nitrógeno. Cada experimento se realizó por triplicado.

Celulasa: Agar descarboximetilcelulosa (CMC). En agua bidestilada caliente a 80°C se disolvió poco a poco 10 g/L de carboximetilcelulosa CMC, 2 g/L fosfato dipotásico K_2HPO_4 , 0.35 g/L Sulfato de amonio $(NH_4)_2SO_4$, 0.0748 g/L Urea y 25 g/L sales marinas de Kent, manteniendo agitación constante. Posteriormente, el pH del medio se ajustó a un rango de 6.8–7.0 y se añadieron 15 g/L de agar bacteriológico. En el centro de cada placa con el medio se colocó un disco de micelio del actinomiceto (aislado 561 como control +). Después de incubar por 7 días a 27 °C, se agregó el reactivo Rojo Congo al 1% (p/v), para evidenciar la actividad celulolítica. La actividad celulolítica positiva fue detectada por la formación de un halo claro alrededor de la colonia.

Lipasa: Rodamina B agar (250 µL de Tween al 20%, 30 mL aceite vegetal (extra virgen), 20 mL de Rodamina B al 0.02% p/v). En condiciones estériles dentro de la campana de flujo laminar, se preparó el medio ISP2 con agitación. Se calentó ligeramente el aceite y se añadió al medio mientras se mantenía la agitación. Posteriormente, se añadió Tween 20% para facilitar la emulsificación. Antes de que el medio se solidificara, pero aún tibio, se agregó Rodamina B. Al solidificar se sembró la muestra con una estría en medio de la placa (*Bacillus* B2-5 como control +) y se dejó incubando a 27 °C durante 7 días. Después las placas se observaron bajo luz ultravioleta a 350 nm. La intensidad del halo fluorescente naranja alrededor de las colonias por exposición a luz UV indica la actividad lipolítica positiva (Ortiz Lechuga et al., 2016).

Proteasa: Se preparó un medio de cultivo a base de agar nutritivo suplementado con leche descremada al 20 % (p/v). Para ello, se elaboró una solución madre disolviendo leche descremada en polvo (marca Svelty) al 20 % (p/v), la cual se mezcló con agar nutritivo hasta alcanzar una concentración final del 2 % (p/v). Posteriormente, se inocularon las muestras (*B. subtilis* y actinomiceto aislado PR12 como control +) en el centro de las placas y se incubaron a 27 °C durante 7 días. Un resultado positivo se evidenció por la formación de un halo claro alrededor de la colonia, indicando la actividad enzimática sobre la leche descremada.

Quitinasa: Medio agar quitina coloidal. El sustrato quitina coloidal se preparó con el método de (Shaun & Suma, 2017) modificado, el cual consistió en disolver 10 g de quitina en 120 mL de ácido fosfórico (H_3PO_4 al 85%) y dejar en agitación por 24 horas a

temperatura ambiente. Posteriormente se añadieron 400 mL de etanol frío al 95% y se centrifugó a 4,000 rpm por 20 minutos a 10 °C. Se eliminó el etanol y se recuperó el precipitado. Después se realizaron lavados con filtración al vacío, añadiendo agua bidestilada hasta llegar a pH 7. Las placas se inocularon con las muestras (actinomiceto aislado 571 como control +) y se incubaron por 7 días a 27 °C. La aparición de un halo claro alrededor de la colonia indicó la actividad enzimática.

Producción de sideróforos: Medio azul Cromo Azurol S (CAS). Se inocularon placas de agar ISP2 con un disco de micelio de actinomiceto en el centro y se incubaron a 27 °C durante 10 días. Después sobre el medio ISP2 se agregó 5 ml de solución Cromo Azurol S (60.5 mg cromo azurol S; 72.9 mg HDTMA, 30.29 g PIPES y agarosa 0.9% en agua MiliQ) (Hu & Xu, 2011) hasta cubrir toda la superficie del medio ISP2 y se dejaron incubar 1 hora en oscuridad a temperatura ambiente. Se consideró positivo el cambio en la coloración del reactivo CAS de azul a naranja alrededor de la colonia.

Solubilización de fosfato: Medio Pikovskaya (PVK) (0.5 g de extracto de levadura, 10 g dextrosa, 5 g fosfato de calcio $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, 5 g sulfato de amonio $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0.2 g de cloruro de potasio KCl, 0.1 g de sulfato de magnesio MgSO_4 , 0.001 g de sulfato de manganeso MnSO_4 , 0.001 g de sulfato ferroso FeSO_4 , y 15 g de agar bacteriológico). Primero se cultivó el aislado en medio ISP2 durante 7 días (sin dejar que esporule). Después, del aislado no esporulado, se sacaron 3 discos de micelio y se colocaron en 3 puntos de las placas de medio PVK y se dejó incubar a 27 °C durante 10 días. La solubilización de fósforo inorgánico se observó por la aparición de una zona clara (halo) alrededor de la colonia.

Fijación de nitrógeno: Medio libre de nitrógeno NFB (5 g de ácido málico, 15 g de sacarosa, 0.5 g de fosfato dipotásico K_2HPO_4 , 0.2 g de sulfato de magnesio monohidrato $\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 0.1 g de cloruro de sodio NaCl, 0.2 g de cloruro de calcio monohidratado $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 2 mL de azul de bromotimol, 4 mL de solución de Fe-EDTA al 1%, 0.4 g de hidróxido de potasio KOH, 2 mL solución de macronutrientes, 1 mL de solución de vitaminas, 15 g de agar bacteriológico). La solución de micronutrientes y solución de vitaminas se agregan después de esterilizar. La solución de macronutrientes contiene: 0.2 g de molibdato de sodio dihidratado $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.235 g de sulfato de magnesio

MnSO₄, 0.28 g de ácido bórico H₃BO₃ y 0.008 g de sulfato de cobre pentahidratado CuSO₄•5H₂O. La solución de vitaminas contiene: 0.1 g de biotina, 0.2 g de piridoxal-HCl. La preparación de solución Fe-EDTA contiene 0.305 g de FeCl₃•7H₂O y 0.420 g de NaEDTA en 100 ml de agua. Cada colonia se inoculó en un medio de agar sin nitrógeno que se incubó a 27 °C durante 10 días. El resultado es positivo si la colonia tiene crecimiento.

6.8 Promoción del crecimiento por compuestos orgánicos volátiles

Para evaluar el efecto de los compuestos volátiles de actinobacterias en el crecimiento vegetal, se expusieron plantas de *Arabidopsis thaliana* a estos volátiles en un sistema cerrado.

Primero se sembraron placas Petri de 35 mm x 10 mm con el aislado PR69 en ISP4 y se dejaron incubar 7 días a 27 °C. Las semillas de *Arabidopsis thaliana* se desinfectaron superficialmente mediante inmersión en etanol al 70 % durante 1 min, seguida de una solución de hipoclorito de sodio al 1 % durante 2 min, y posteriormente se enjuagaron tres veces con agua bidestilada estéril. Posteriormente, se sembraron ocho semillas por placa en placas Petri de 90 × 15 mm que contenían medio Murashige y Skoog (MS) al 50 %, compuesto por 2.21 g de sales MS, 15 g de sacarosa y 15 g de agar bacteriológico, ajustado a pH 5.8. Tras cuatro días de crecimiento, las plántulas se expusieron a los compuestos volátiles producidos por el aislado PR69 mediante un sistema de doble placa sellado, mientras que el tratamiento control consistió en plántulas incubadas en presencia de placas con medio ISP4 sin actinobacteria.

Todo el sistema anterior se colocó dentro de una placa de Petri de vidrio de 150 x 20 mm. Una placa de 90 mm con semillas de *A. thaliana* se colocó en el extremo superior (sin tapa) y debajo de ésta una pequeña placa Petri con el cultivo de PR69 de 7 días (sin tapa) o medio agar (control negativo) (Figura 26). La placa de vidrio de 150 x 20 mm se selló con plástico y se colocó de manera vertical, de tal manera que los posibles compuestos volátiles producidos del aislado PR69 pudieran llegar con las plantas y que las raíces de las plantas crecieran en forma vertical. Se dejaron en crecimiento 7 días a 23 °C con 16 horas/luz y 8 horas oscuridad. El experimento se realizó por triplicado y los efectos se determinaron midiendo la longitud de la raíz principal, el número de raíces secundarias y el peso fresco.

Todo el sistema experimental se ensambló dentro de una placa Petri de vidrio de 150 × 20 mm. En el extremo superior se colocó, sin tapa, una placa Petri de 90 mm que contenía las plántulas de *A. thaliana*, y debajo de esta se situó una placa Petri pequeña, también sin tapa, con el cultivo del aislado PR69 incubado durante 7 días en medio ISP4 o, en el caso del control negativo, una placa con medio de agar sin actinobacteria (Figura 26). La placa de vidrio se selló herméticamente con plástico y se colocó en posición vertical, permitiendo tanto la difusión de los posibles compuestos orgánicos volátiles producidos por el aislado PR69 hacia las plántulas como el crecimiento vertical de las raíces.

Se dejó incubar durante 7 días a 23 °C, bajo un fotoperiodo de 16 h de luz y 8 h de oscuridad. Se realizaron tres experimentos independientes, cada uno con tres repeticiones por tratamiento. Cada repetición consistió en un sistema experimental conformado por una placa de vidrio que contenía una placa con ocho plántulas de *A. thaliana* con el cultivo del aislado PR69 o con medio de agar (control). Al finalizar el periodo de incubación, los efectos sobre el crecimiento vegetal se evaluaron mediante la medición de la longitud de la raíz principal y el número de raíces laterales utilizando el programa ImageJ, así como del peso fresco de las plántulas.

6.9 Biocontrol de *P. capsici* por el aislado PR69 en plantas de pimiento

El aislado PR69 se cultivó en medio líquido SFM con agitación a 125 rpm durante 10 días a 30 °C. La biomasa alrededor del matraz se recolectó y se resuspendió en agua destilada estéril para preparar una suspensión de esporas con una concentración de 10^6 ufc/mL.

Se esterilizaron semillas de chile (*Capsicum annum*) con alcohol al 97 %, hipoclorito de sodio al 0.75 % y luego tres lavados con agua bidestilada estéril. Las semillas se sembraron en semilleros con mezcla de tierra Sunshine #3, inoculadas con 1 mL de suspensión de esporas de *Streptomyces* sp. PR69. Las semillas germinadas se sembraron en macetas inoculadas con 10 ml de suspensión de *Streptomyces* sp. PR69 y se mantuvieron en un ambiente controlado bajo un fotoperiodo de 16 h de luz y 8 h de oscuridad, con temperaturas establecidas a 27-30 °C durante la fase de luz. La iluminación fue proporcionada por luces LED de 42W (Estevez) a una intensidad de aproximadamente $110 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Una semana después de la inoculación de *Streptomyces* sp. PR69, cada maceta se inoculó con 10 mL de suspensión de zoosporas (aproximadamente 1×10^6 zoosporas / mL) de *P.*

capsici. La preparación de suspensión de zoosporas de *P. capsici* se preparó usando cultivos de *P. capsici* en PDA (agar papa dextrosa) incubados por 14 días a 30 °C, a las cuales se les agregó agua bidestilada estéril, hasta cubrir todo el cultivo, y se dejaron 24 h a temperatura ambiente. Luego se refrigeraron a 4 °C durante 1 hora, y después se dejaron a 30 °C durante 1 hora para la liberación de zoosporas. Finalmente se recolectó el agua de las placas y la concentración se ajustó a 1×10^6 zoosporas / mL con un hemocitómetro. Una semana después de la inoculación del patógeno, cada maceta se inoculó nuevamente con 10 mL de suspensión de *Streptomyces* sp. PR69. Se realizaron cuatro tratamientos, cada uno con 10 plantas, y se repitió tres veces para asegurar la consistencia de los resultados. El Tratamiento 1 consistió en macetas inoculadas únicamente con la suspensión de *Streptomyces* sp. PR69. El Tratamiento 2 incluyó macetas inoculadas con una mezcla de *Streptomyces* sp. PR69 y *Phytophthora capsici*. El Tratamiento 3 consistió en macetas inoculadas solo con esporas de *P. capsici*. Finalmente, el Control consistió en macetas sin ninguna inoculación. Los tratamientos fueron observados diariamente durante 20 días después de la inoculación del patógeno, para evaluar la evolución de la interacción entre la cepa y el patógeno. El criterio para evaluar la supervivencia se estableció considerando muertas las plantas con marchitez total. Cada tratamiento se replicó tres veces mediante un diseño completamente aleatorizado (DCA), con cada unidad experimental compuesta por una sola planta por maceta.

6.10 Análisis estadístico

En el ensayo con *A. thaliana*, se analizaron datos sobre longitud de raíz, número de raíces secundarias y peso fresco. Mientras que, para las pruebas en pimiento, se analizaron datos sobre supervivencia y peso fresco de plantas completas. La normalidad de los datos se evaluó mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Para los conjuntos de datos que se desviaron de una distribución normal, se aplicó la transformación de potencia (x2) para lograr la normalidad. Los datos se analizaron utilizando la prueba *t* de Student o ANOVA, con comparaciones de medias realizadas utilizando la prueba de Tukey ($p < 0.05$). Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando Minitab 18. Todos los experimentos se realizaron por triplicado.

7. RESULTADOS

7.1 Evaluación de la actividad antifúngica *in vitro*

Se realizó un escrutinio inicial para evaluar la capacidad inhibitoria de 60 cepas de actinomicetos de Cuatro Ciénegas, Coahuila contra siete fitopatógenos. De los 60 aislados de actinomicetos, 29 mostraron actividad antagónica contra al menos uno de los 7 primeros fitopatógenos probados. El patógeno más susceptible fue *Macrophomina phaseolina* seguido de *Colletotrichum coccodes*, *Fusarium lateritium*, *Phytophthora capsici*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, y por último ninguno mostró actividad antifúngica contra *Sclerotium rolfii* (Figura 15).

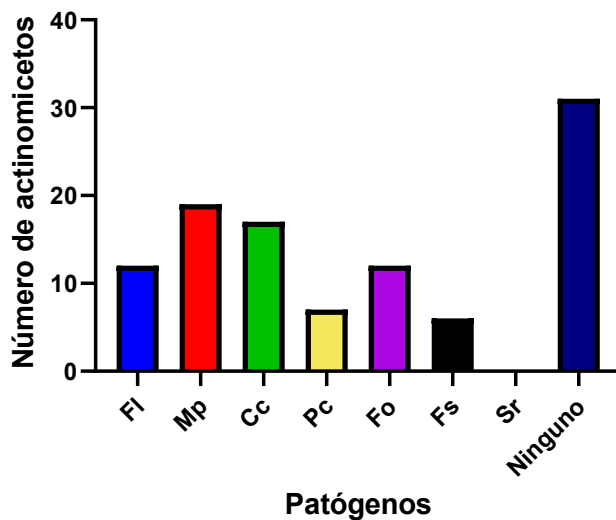


Figura 15: Escrutinio de actividad antagónica de 60 aislados de actinomicetos contra hongos y oomicetos fitopatógenos. Fl: *Fusarium lateritium*, Mp: *Macrophomina phaseolina*, Cc: *Colletotrichum coccodes*, Pc: *Phytophthora capsici*, Fo: *Fusarium oxysporum*, Fs: *Fusarium solani* y Sr: *Sclerotium rolfii*

Durante este primer escrutinio, se observó que el aislado PR69 mostró la mayor actividad antagónica contra 6 de los 7 patógenos evaluados, por lo que se decidió realizar el resto de los ensayos utilizando a este aislado como la cepa seleccionada.

7.2 Actividad antagónica *in vitro* del aislado PR69

Para determinar qué patógenos eran más sensibles al efecto inhibitorio del aislado PR69, se realizó una prueba de inhibición en el crecimiento de varios hongos y oomicetos patógenos de plantas. El crecimiento radial de los fitopatógenos en las placas testigo, utilizadas como referencia para el cálculo del porcentaje de inhibición, fue de 8.298 cm

para *P. capsici*, 8.425 cm para *M. phaseolina*, 6.122 cm para *F. lateritium*, 8.770 cm para *F. solani*, 7.460 cm para *F. oxysporum*, 8.770 cm para *B. rhodina*, 8.586 cm para *B. cinerea* y 8.811 cm para *S. rolfsii*.

El aislado PR69 mostró un mayor porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de *Colletotrichum coccodes* (73.63 %) y *Phytophthora capsici* (71.09 %), seguido de *Botrytis cinerea* (69.76 %), *Botryosphaeria rhodina* (65.46 %) y *Macrophomina phaseolina* (63.92 %). Asimismo, se observó una inhibición moderada frente a *Fusarium lateritium* (52.59 %), *Fusarium solani* (50.43 %) y *Fusarium oxysporum* (44.85 %). En contraste, no se detectó actividad inhibitoria contra *Sclerotium rolfsii* (Figura 16).

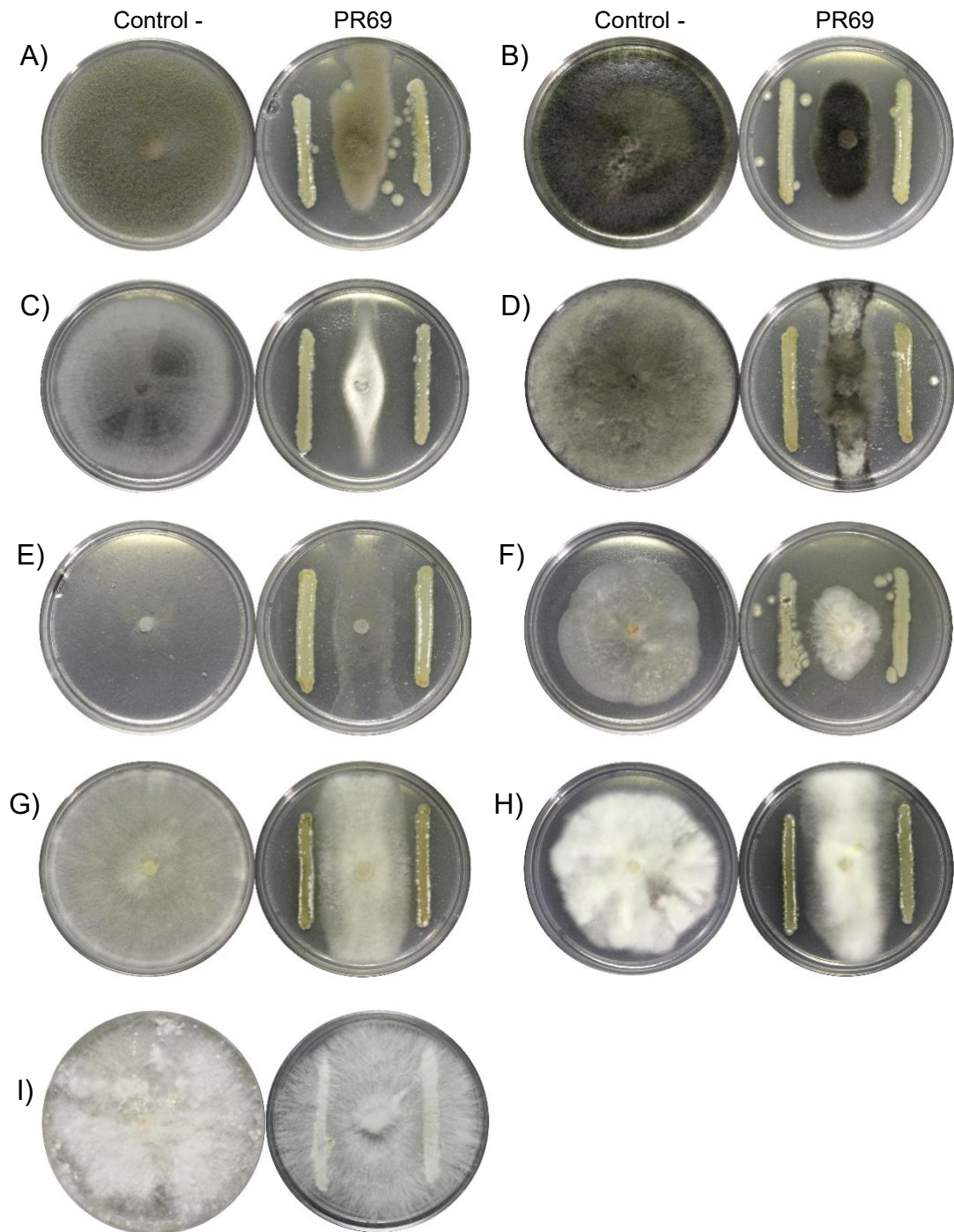


Figura 16: Actividad antagónica del aislado *Streptomyces* PR69 contra diferentes hongos y oomicetos fitopatógenos en placas con medio ISP4. A) *Botrytis cinerea*, B) *Botryosphaeria rhodina*, C) *Colletotrichum coccodes*, D) *Macrophomina phaseolina*, E) *Phytophthora capsici*, F) *Fusarium lateritium*, G) *Fusarium solani*, H) *Fusarium oxysporum* y I) *Sclerotium rolfsii*

7.3 Actividad antifúngica por compuestos orgánicos volátiles.

Los compuestos orgánicos volátiles (COV) producidos por la cepa *Streptomyces sp.* PR69 en medio agar ISP4 no mostraron un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de los fitopatógenos evaluados, en comparación con los controles, como se observa en la Figura 17.

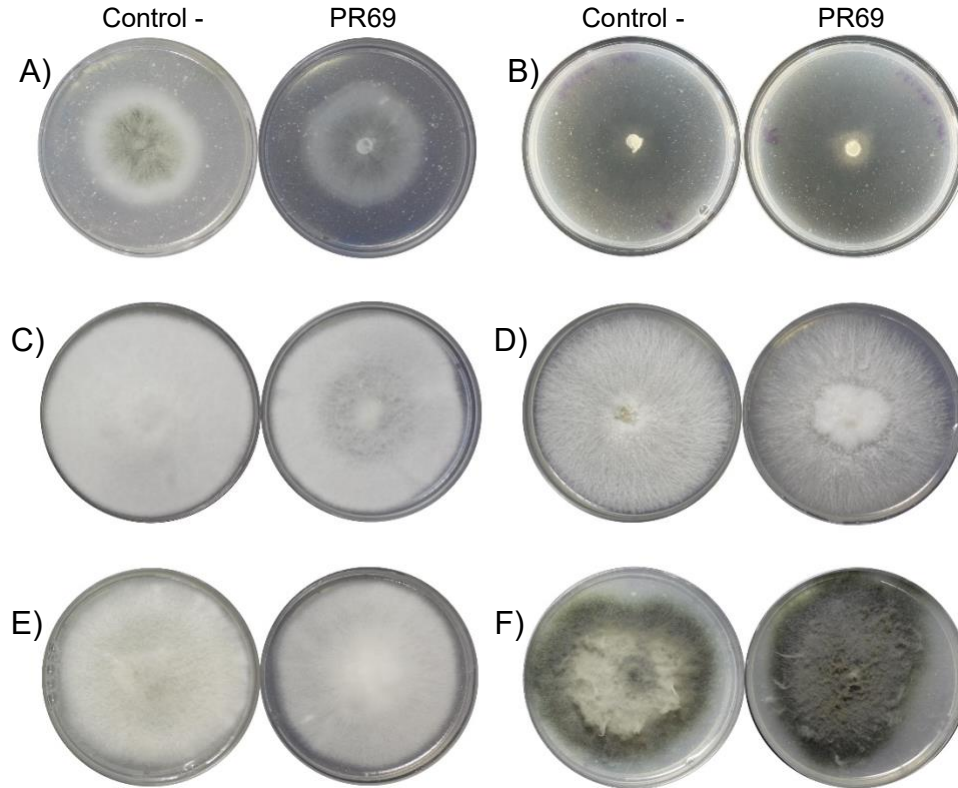


Figura 17: Actividad antifúngica mediada por compuestos volátiles orgánicos de PR69 contra A) *Colletotrichum coccodes* B) *Phytophthora capsici* C) *Fusarium oxysporum* D) *Sclerotium rolfsii* E) *Fusarium solani* F) *Macrophomina phaseolina*. Control - placas con patógeno sin volátiles de actinomicetos. PR69 placas con patógeno cultivado en presencia de volátiles de PR69.

7.4 Antagonismo entre actinomicetos

Con el objetivo de evaluar en el futuro el efecto combinado de las cinco cepas de *Streptomyces* como consorcio, se realizaron pruebas en placa para analizar si hay efecto antagónico entre el asilado PR69 y cinco actinobacterias. En la prueba de contacto directo, los actinobacterias mostraron crecimiento en presencia de la suspensión de esporas de *Streptomyces sp.* PR69. Sin embargo, al confrontar el disco de micelio de PR69, el asilado 567 presentó un halo de inhibición de 3 mm, lo que indica que PR69, al estar en contacto directo con la cepa 567, inhibe su crecimiento (Figura 18). En el ensayo de compuestos volátiles (COV) producidos por *Streptomyces sp.* PR69, no se observó inhibición en otras

cepas de actinobacterias, lo que sugiere que PR69 no produce compuestos volátiles que inhiban el crecimiento de las *Streptomyces* probadas (Figura 19).

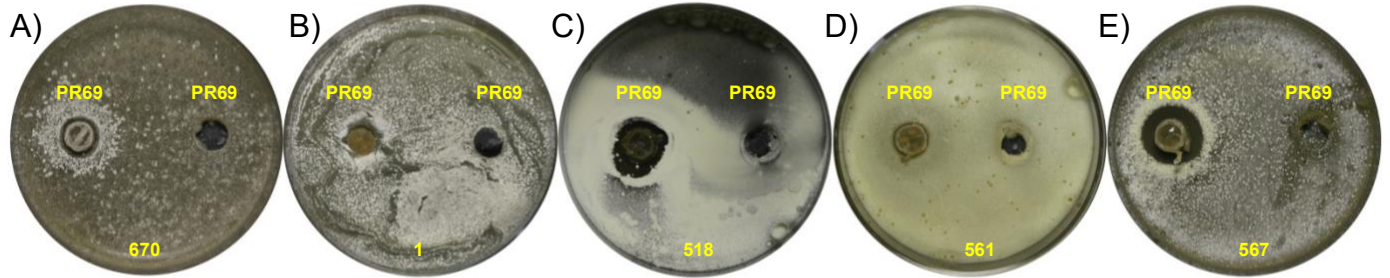


Figura 18: Confrontación de actinomiceto contra actinomiceto por difusión en placa. De lado izquierdo discos de micelio en cada placa y derecho una suspensión de esporas (10 μ L) la cepa PR69. En el medio (agar), una suspensión de esporas de un actinomiceto diferente A) PR69 vs 670, B) PR69 vs 1, C) PR69 vs 518, D) PR69 vs 561 y E) PR69 vs 567

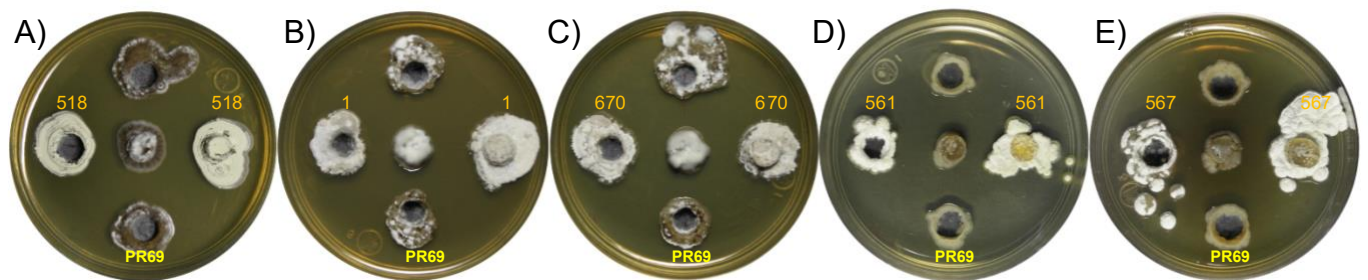


Figura 19: Confrontación de actinomiceto contra actinomiceto por compuestos volátiles orgánicos en placa. En el centro un disco de micelio de PR69 y arriba y abajo suspensión de esporas (10 μ L) de PR69 en cada pozo de agar. En los laterales izquierda suspensión de esporas (10 μ L) y derecha un disco de micelio de un actino diferente. A) PR69 vs 518, B) PR69 vs 1, C) PR69 vs 670, D) PR69 vs 561 y E) PR69 vs 567

7.5 Caracterización del crecimiento en medios de cultivo

Se cultivó la cepa PR69 en diferentes medios líquidos y sólidos (Figura 20) con el objetivo de evaluar cómo las condiciones de crecimiento, como las fuentes de carbono y nutrientes, afectan diversos aspectos del comportamiento de la cepa, tales como el crecimiento, la morfología y la producción de esporas. Para ello, se utilizaron medios ISP, desarrollados como parte de un proyecto internacional para facilitar el aislamiento, clasificación y estudio de las cepas de *Streptomyces*. Estos medios son ampliamente utilizados en

estudios microbiológicos, especialmente en investigaciones relacionadas con *Streptomyces*. Cada uno de los medios ISP (International Streptomyces Project) 1-7 tiene una composición específica que favorece diferentes aspectos del crecimiento y la esporulación de las cepas. El medio M1, también conocido como *Bennett's medium*, es uno de los más comunes para el cultivo de *Streptomyces* y otras actinobacterias, destacándose por su composición más sencilla en comparación con otros medios ISP. El medio M3, o almidón agar, se utiliza para cultivos de *Streptomyces* capaces de hidrolizar almidón, mientras que el medio Quitina agar es adecuado para el cultivo de bacterias que degradan quitina, como las bacterias marinas. También el medio SFM es un medio de cultivo que utiliza harina de soya como fuente principal de nutrientes, que es rica en proteínas, lípidos y otros compuestos.

En los medios sólidos, el aislado PR69 fue capaz de crecer en los 11 tipos de medios de cultivo evaluados: ISP1 a ISP7, M1, M2, SFM y Quitina, mostrando un mayor crecimiento y esporulación en el medio SFM y un menor crecimiento en ISP5. Las colonias presentaron formas circulares, elevadas e irregulares, y se observó que la morfología de las colonias variaba mínimamente entre los diferentes medios. Además, se notó la excreción de pigmentos: marrón oscuro (probablemente melanina o melanoide) en los medios ISP1, ISP6, ISP7 y M3; marrón claro en ISP2 y SFM; y pigmento amarillo en el medio Quitina. La cepa produjo micelio aéreo blanco y micelio vegetativo de color crema.

Por otro lado, en cultivos líquidos, las actinobacterias, debido a su morfología filamentosa y a diversos factores asociados con las condiciones de cultivo, tienden a formar pellets, que son agregados o conglomerados de filamentos bacterianos que se agrupan durante su crecimiento. En el medio ISP5, se observó un menor crecimiento, tanto en cultivo líquido como sólido, mientras que en el medio SFM se produjo una mayor formación de pellets y esporas, por lo que se seleccionó este medio para futuras pruebas (Tabla 2). El medio SFM es rico en proteínas, lípidos y otros compuestos que favorecen el crecimiento y la esporulación de muchas cepas de *Streptomyces*. En los medios ISP1, ISP6, ISP7 y M3, se observó la excreción de pigmento marrón oscuro, mientras que en ISP2 y SFM se observó pigmento marrón claro, y en el medio Quitina, pigmento amarillo, comportamiento similar al observado en los medios sólidos. Posteriormente el aislado se tiñó y la observación bajo el microscopio de la cepa mostró que es Gram-positiva y filamentosa (Figura 21), coincidiendo con la característica típica de un actinomiceto

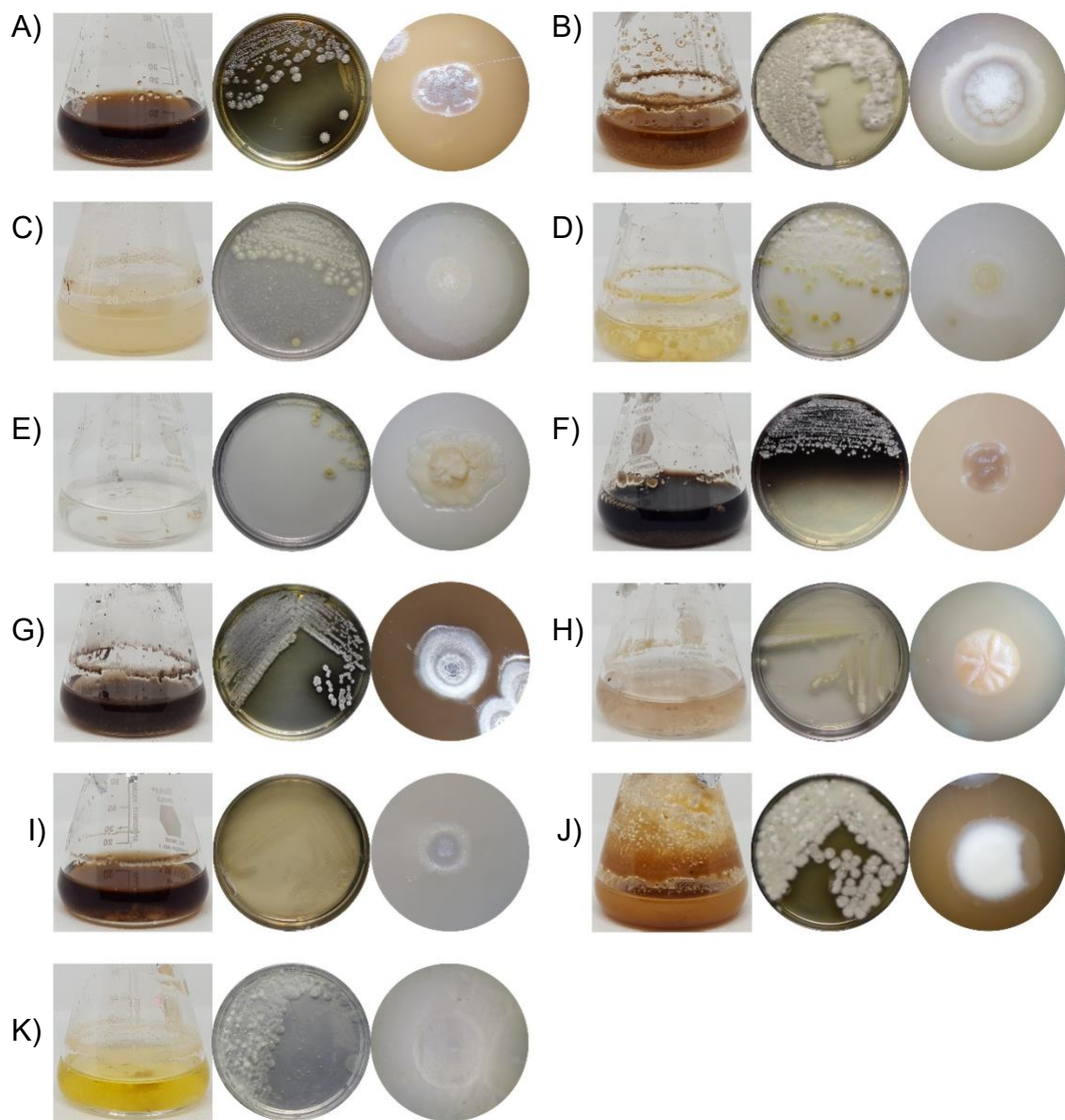


Figura 20: Crecimiento del aislado PR69 en diferentes medios de cultivo sólidos y líquidos. A) ISP1, B) ISP2, C) ISP3, D) ISP4, E) ISP5, F) ISP6, G) ISP7, H) M1, I) M3, J) SFM y K) Quitina

Tabla 1: Características de *Streptomyces* sp. PR69 cultivado en 11 medios sólidos diferentes

Medio	Micelio aéreo	Micelio vegetativo	Pigmento difusible	Esporulación
ISP1	No	Crema	Café	No
ISP2	Blanco	Crema	Café	Si
ISP3	Blanco	Crema	No	Si
ISP4	Blanco	Crema	No	Si
ISP5	No	Crema	No	Si
ISP6	No	Crema	Café	No
ISP7	Blanco	Crema	Café	Si
SFM	Blanco	Crema	Café	Si
M1	No	Crema	No	Si
M3	No	Crema	No	No
Quitina	Blanco	Crema	No	Si

Tabla 2: Características de *Streptomyces* sp. PR69 cultivado en 11 medios líquidos diferentes

Medio	Micelio aéreo	Micelio vegetativo	Pigmento	Esporulación
ISP1	No	pellets poco	marrón oscuro	No
ISP2	Si	pellet abundante	marrón	No
ISP3	No	pellet abundante	No	No
ISP4	No	pellet abundante	amarillo	No
ISP5	No	pellets poco	No	No
ISP6	No	pellets poco	marrón oscuro	Si
ISP7	No	pellets poco	marrón oscuro	No
SFM	Si	pellet abundante	marrón	Si
M1	No	pellet abundante	No	No
M3	No	pellets poco	marrón oscuro	No
Quitina	No	pellet abundante	amarillo	No



Figura 21: Tinción de Gram del aislado PR69 con un aumento de (1000x).

7.6 Análisis de bioinformática, ensamblaje y secuenciación del genoma

Se llevó a cabo la secuenciación completa del genoma de la cepa PR69 con el propósito de identificar y caracterizar los genes involucrados en la producción de metabolitos secundarios. Además, se realizó una comparación exhaustiva entre el genoma completo de PR69 y otros genomas de *Streptomyces* presentes en bases de datos, junto con un análisis del gen 16S rRNA, con el fin de determinar su posición filogenética y confirmar su correcta identificación. Esto nos permitió no solo clasificar taxonómicamente a la cepa, sino también obtener una comprensión más profunda de su diversidad genética y su potencial para la producción de compuestos de interés biotecnológico.

La secuenciación del ADN mediante la plataforma Illumina, el genoma del aislado PR69 se ensambló con éxito, revelando una estructura genómica que comprende 105 contigs con una longitud total de 6,570,163 pares de bases (Tabla 3). El contenido promedio de G+C del genoma es notablemente alto, 71.51%, un rasgo característico de muchos genomas de *Streptomyces*. No se encontraron secuencias de plásmidos (Figura 22). La secuencia genómica del aislado PR69 se depositó en la base de datos NCBI GenBank con el ID GCA_026420845. El ensamblaje del genoma está disponible buscando en la base de

datos de NCBI como ASM2642084v1 para facilitar futuras investigaciones y análisis comparativos con otros genomas microbianos.

La identificación taxonómica del aislado PR69 se realizó inicialmente mediante el gen parcial del 16S rRNA. Este gen 16S rRNA se utiliza para clasificar, identificar y caracterizar bacterias y comunidades bacterianas, así como para estudios filogenéticos y taxonómicos, debido a su secuencia conservada con regiones variables que permiten diferenciar especies y géneros. Utilizando BLASTn, se comparó la secuencia nucleotídica del gen 16S del aislado PR69 con la base de datos de nucleótidos del NCBI (NCBI nt), lo que reveló que el aislado pertenece al género *Streptomyces*. Además, el análisis filogenético, realizado con 95 genomas de *Streptomyces*, mostró que *Streptomyces* sp. PR69 forma un clado con *Streptomyces spongiicola* HNM0071 y *Streptomyces tirandamycinicus* HNM0039, dos cepas con potencial biosintético en la producción de nuevos metabolitos, previamente aislados de esponjas marinas.

Se llevó a cabo un análisis genómico comparativo entre *Streptomyces* sp. PR69 y varias especies estrechamente relacionadas, basándose en los resultados del análisis taxonómico, que incluyeron *Streptomyces tirandamycinicus* HNM0039, *Streptomyces spongiicola* HNM0071, *Streptomyces pristinaespiralis* HCCB10218, *Streptomyces peucetius caesius* ATCC_27952 y *Streptomyces* sp. Tu6071. Mediante la prueba de hibridación ADN-ADN (dDDH por sus siglas en inglés), que mide la capacidad de las cadenas de ADN de dos cepas para hibridarse, se obtuvo un resultado del 20%. Este valor está muy por debajo del umbral del 70%, generalmente utilizado para clasificar las cepas dentro de la misma especie, lo que sugiere que *Streptomyces* sp. PR69 es distinta de las cepas comparadas. Además, utilizando la prueba de Identidad Promedio de Nucleótidos (ANI por sus siglas en inglés) que evalúa la similitud de las secuencias de ADN entre dos cepas bacterianas, se obtuvo un resultado del 80%, que también se encuentra por debajo del umbral estándar de 95-96% utilizado para la delimitación de especies (Tabla 4). Estos resultados refuerzan la distinción de *Streptomyces* sp. PR69 como una cepa única, diferente de las especies comparadas.

Para la identificación de genes asociados a la biosíntesis de metabolitos secundarios, se realizó un análisis genómico mediante el software antiSMASH, el cual permite la detección y caracterización de clústeres de genes biosintéticos (BGCs por sus siglas en

inglés) a partir de secuencias genómicas, proporcionando información sobre su organización, tipo y similitud con clústeres previamente descritos. El análisis reveló la presencia de 28 clústeres de genes biosintéticos distintos en el genoma de *Streptomyces* sp. PR69, lo que evidencia un amplio potencial biosintético, como se muestra en la Tabla 5. Estos clústeres corresponden a diferentes clases de metabolitos secundarios, varios de ellos con posible interés para aplicaciones agrícolas.

Tabla 3: Datos de ensamblaje y anotación del genoma de la cepa *Streptomyces* sp. PR69

Contigs	105
Longitud del genoma	6,570,163bp
G+C %	71.51
ContigL50	12
ContigN50	186,895
CDS	5,956
tRNA	63
rRNA	4
Proteína con asignaciones funcionales	3,898
Resistencia a antibióticos	43
(source CARD, NDARO,PATRIC)	

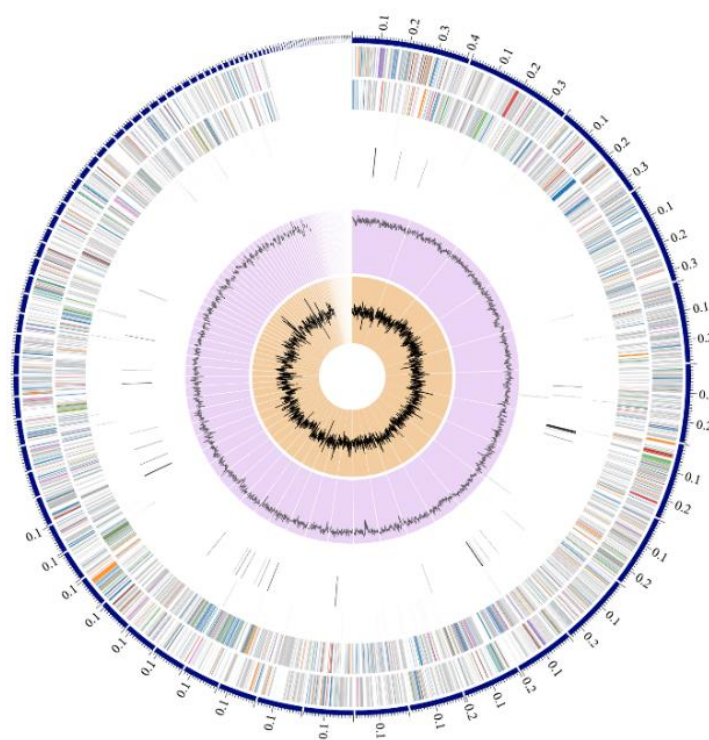


Figura 22: Mapa circular del genoma de *Streptomyces* sp. PR69 obtenido en la plataforma BV-BRC. Esto incluye, desde los anillos externos a los internos, los contigs, los CDS (secuencias codificantes de proteínas) en la cadena directa, los CDS en la cadena inversa, los genes de ARN, los CDS con homología a genes de resistencia antimicrobianos conocidos, CDS con homología para los factores de virulencia y el contenido de G+C.

Tabla 4: Relación del genoma de *Streptomyces* sp. PR69 con otros *Streptomyces* por hibridación ADN-ADN (dDDH) GGDC e Identidad de nucleótido promedio (ANI).

Genoma	ANI calculator %	ANI OrthoANIu %	GGDC %
<i>S. tirandamycinicus</i> HNM0039	82.80	80.53	24.70
<i>S. spongiicola</i> HNM0071	82.65	80.02	23.10
<i>S. pristinaespiralis</i> HCCB10218	82.83	81.13	24.60
<i>S. peucetius caesius</i> ATCC_27952	82.90	80.88	24.60
<i>Streptomyces</i> sp. Tu6071	80.82	77.04	23.00

ANI calculator: Calculadora ANI% de Kostas lab; ANI OrthoANIu%: Calculadora ANI% de EZBioCloud; GGDC: Calculadora de distancia de genoma a genoma 3.0 del Instituto DSMZ



Figura 23: Árbol filogenético para la cepa *Streptomyces* sp. PR69, inferido mediante el método de máxima verosimilitud a partir de 81 genes centrales obtenidos con UBCG2. Este árbol ilustra la posición taxonómica de PR69 en relación con 95 genomas de *Streptomyces* y un genoma de *Micromonospora* (un actinobacteria no estreptomiceto). El análisis filogenético se llevó a cabo utilizando el modelo GTR+GAMMA+I, y los círculos en el árbol representan un valor de soporte del 100%, lo que indica que la relación evolutiva mostrada en esa rama es altamente probable y está firmemente respaldada por los datos. Los números de acceso de GenBank para las secuencias del genoma se encuentran en el Anexo 2

Tabla 5: Posibles regiones de grupos de genes biosintéticos encontradas en el genoma de *Streptomyces* sp. PR69 usando antiSMASH (Versión 7.0)

Cluster	Tipo de gen	Comienzo y final de la secuencia de grupos		Cluster conocido más similar		Semejanza
		Comienzo	final	Componente	Tipo	
Region 1.1	Ectoína	324,766	335,164	ectoína	Otro	100%
Region 8.1	melanina	85,744	96,241	melanina	Otro	100%
Region 9.2	terpeno	223,129	244,059	geosmina	Terpeno	100%
Region 19.1	T3PKS	1	39,280	naringenina	Policétido: Policétido tipo III	100%
Region 31.2	lantipeptid-class-iii	28,816	51,518	SapB	RiPP: Lanthipéptido	100%
Region 47.1	terpeno	1	16,602	pristinol	Terpeno	100%
Region 31.1	similar a NRPS, NRPS	1	28,694	antidolor	NRP	83%
Region 4.3	NRP-metalóforo, NRPS, cofactor redox	278,062	337,959	mirubactina	NRP	78%
Region 3.3	terpeno	263,573	290,198	hopene	Terpeno	76%
Region 4.2	melanina	101,546	111,953	grixazona A	Terpeno	61%
Region 3.2	NRP-metalóforo, NRPS, T1PKS	160,886	250,379	peucechelin	NRP	55%
Region 5.2	T1PKS, T2PKS, similar a RiPP	160,514	249,283	xantolipina	Policétido	51%
Region 36.1	NRPS	1	37,748	netropsina	NRP	40%
Region 11.1	fenazina	20,316	40,780	endofenazina A/endofenazina B	Otro: Fenazina	33%
Region 9.1	melanina	170,575	180,985	melanina	Otro	28%
Region 20.1	T3PKS, NRPS	79,735	109,902	totopotensamida A/totopotensamida B	NRP + Policétido	28%
Region 45.1	NRPS, similar a NRPS	1	36,960	disgocidina/distamicina/congocidina	NRP	28%
Region 3.1	similar a NRPS	12,279	53,110	labiosestatina	NRP	21%
Region 16.1	terpeno	24,797	46,026	legonindolizidina A6	NRP + Alcaloide	12%
Region 11.2	NI-sideróforo	132,640	147,396	sinecobactina C9/ C11/ 13/ 14/ 16/ A/ B/ C	Otro	9%
Region 4.1	similar a NRPS	43,673	85,050	chejuenólido A/chejuenólido B	Policétido	7%
Region 5.1	similar a RiPP	151,678	160,095	hexacosalactona A	Otro	4%
Region 16.2	similar a NRPS	109,671	132,257	sangliferina A	NRP + Policétido	4%
Region 32.1	tioamitidas	1	13,147	prejadomicina/rabelomicina/gaudimicina C/gaudimicina D/UWM6/gaudimicina A	Policétido: Policétido tipo II + Sacárido: Híbrido/sacárido de sastrería	4%
Region 18.1	otro	90,844	113,876	A-503083 A/A-503083 B/A-503083 E/A-503083 F	NRP	3%
Region 28.1	terpeno	54,693	71,392	bombixamicina A/bombixamicina B	Policétido	3%
Region 19.2	CDPS	66,910	87,659			
Region 27.1	indol	1	19,239			

7.7 Producción de enzimas extracelulares y caracterización bioquímica

Varios estudios previos han señalado que algunas cepas de *Streptomyces* deben sus propiedades antifúngicas a su capacidad para producir enzimas que degradan biomoléculas complejas como celulosa, proteínas, lípidos y quitosano. Además, sus propiedades promotoras de crecimiento se asocian con la producción de sideróforos, la fijación de nitrógeno y la solubilización de fósforo. Con el objetivo de evaluar el potencial funcional y biotecnológico de *Streptomyces* sp. PR69, se realizaron pruebas bioquímicas para determinar su capacidad en estos aspectos clave.

La evaluación cualitativa de las actividades enzimáticas en *Streptomyces* sp. PR69 reveló capacidades bioquímicas específicas (Tabla 6). Entre las enzimas analizadas, solo se detectó actividad de lipasa, como se observa en los resultados de la Figura 24 D. Este hallazgo sugiere el potencial del aislado PR69 para la degradación de lípidos y que su capacidad antagonica contra *P. capsici* no está relacionada con la producción de celulasas, quitinasas y proteasas (Figura 24 B y C). Por otra parte, en el ensayo de cromo azurol, el aislado *Streptomyces* sp. PR69 mostró un cambio de color en el medio que va de color azul a naranja (Figura 25 inciso A), lo que indica que es capaz de producir sideróforos. Los sideróforos son agentes clave en la quelación del hierro, un proceso crítico en la adquisición microbiana de hierro. La capacidad del aislado para solubilizar fosfato se investigó utilizando el medio Pikovskaya. En este medio, PR69 no presentó una zona clara alrededor de la colonia, lo que indica que no es capaz de solubilizar fosfato (Figura 25 B). También se evaluó la capacidad de PR69 para fijar nitrógeno utilizando un medio de crecimiento libre de nitrógeno. El crecimiento observable del aislado en este medio, como se muestra en la Figura 25 C, sugiere fuertemente su capacidad para fijar nitrógeno atmosférico. Este rasgo resalta el potencial del aislado para mejorar la disponibilidad de nitrógeno en diversos entornos ecológicos o agrícolas. Además, de acuerdo con datos preliminares de un estudio en preparación, la cepa *Streptomyces* sp. PR69 ha mostrado capacidad para producir ácido indolacético (AIA), una fitohormona que estimula el crecimiento celular y la formación de raíces, lo que favorece una mayor captación de nutrientes y, en consecuencia, promueve el crecimiento y rendimiento de los cultivos. (Apolinar-Hernández et al., 2023) [Manuscrito no publicado].

Tabla 6: Características de las enzimas extracelulares y la promoción del crecimiento

Característica	<i>Streptomyces</i> sp. PR69
Celulasas	-
Proteasas	-
Quitinasas	-
Lipasas	+
Sideróforos	+
Fijación de nitrógeno	+
Solubilización de fosfato	-
Ácido indol acético	+

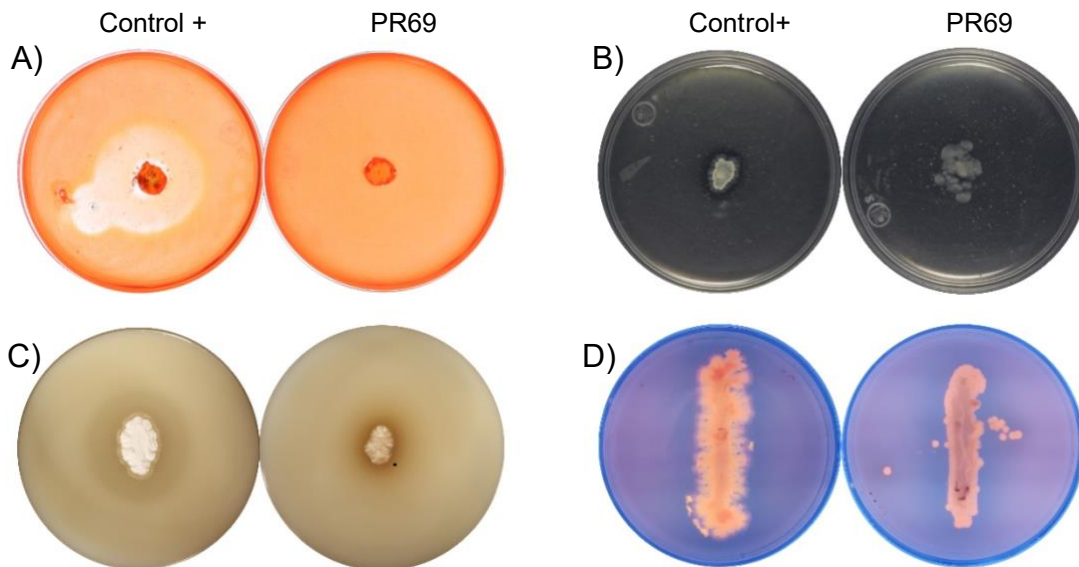


Figura 24: Pruebas bioquímicas de *Streptomyces* sp. PR69 **A)** Celulasa usando el aislado 561 como control +, **B)** Quitinasa aislado 567 como control +, **C)** Proteasa usando el aislado PR12 como control + y **D)** Lipasa usando el *Bacillus* B2-5 como control +.

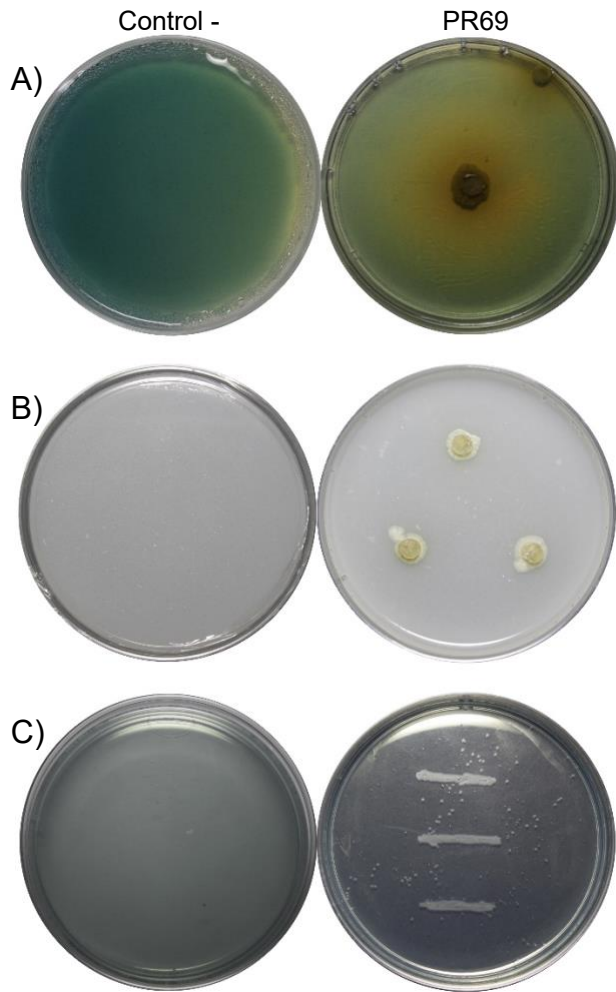


Figura 25: Pruebas *in vitro* para evaluar características de promoción crecimiento vegetal por *Streptomyces* sp. PR69 en **A)** ensayo de cromo azulol para biosíntesis de sideróforos, **B)** medio agar Pikovskaya para solubilización de fosfato y **C)** Medio libre de nitrógeno para fijación de nitrógeno.

7.8 Promoción del crecimiento por compuestos orgánicos volátiles

El impacto de los compuestos orgánicos volátiles (COV) emitidos por *Streptomyces* sp. PR69 sobre el crecimiento de *Arabidopsis thaliana* se evaluó mediante el análisis de diversas variables de crecimiento, incluyendo el peso fresco, la longitud de la raíz principal y el número de raíces secundarias. Estas variables se compararon con plantas del control negativo, que no fueron expuestas a los COV de PR69. La exposición a COV de *Streptomyces* sp. PR69 resultó en una mejora significativa ($p < 0.05$) de varias variables de crecimiento en *Arabidopsis thaliana*. Se observó que estas plantas eran más grandes y tenían sistemas de raíces secundarias más desarrollados. Hubo un aumento significativo en el peso fresco del 80%, la longitud de las raíces del 19 % y el desarrollo de las raíces secundarias 7 veces mayor comparadas con el control (Figura 26). Esto sugiere que los

COV de *Streptomyces* sp. PR69 no sólo promueve el crecimiento general de las plantas, sino que también mejora específicamente el desarrollo del sistema radicular.

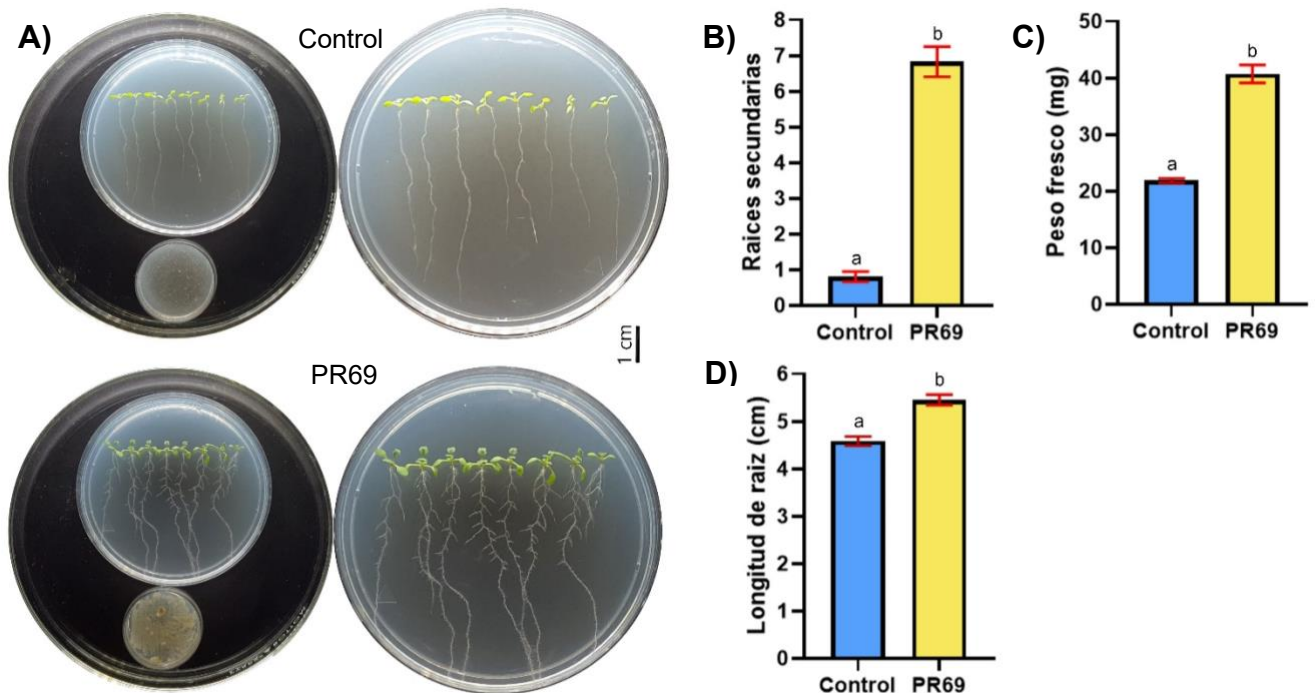


Figura 26: Promoción del crecimiento de plantas mediada por COV en *A. thaliana* por *Streptomyces* sp. PR69 (A) Arriba: plantas de control sin actinomicetos. Abajo: plantas expuestas a COV de *Streptomyces* sp. PR69. La barra de escala representa 1 cm. Comparación de (B) número de raíces secundarias, (C) peso fresco y (D) longitud de la raíz principal. Las barras de error indican errores estándar de las medias de tres experimentos con 3 repeticiones. Las letras diferentes indican una diferencia estadística en comparación con los controles utilizando la prueba *t* de Student ($p < 0.05$).

7.9 Biocontrol de *P. capsici* por PR69 en plantas de pimiento

La cepa *Streptomyces* sp. PR69 ha demostrado previamente actividad antifúngica *in vitro* contra diversos patógenos, incluyendo *Phytophthora capsici*, responsable de la enfermedad en pimientos, así como efectos promotores de crecimiento en *Arabidopsis thaliana*. Con base en estos resultados, se realizó un experimento en macetas con pimiento morrón para evaluar el potencial de *Streptomyces* sp. PR69 en control de la enfermedad causada por *P. capsici*, al mismo tiempo de su capacidad para estimular el crecimiento de las plantas en condiciones más parecidas a invernadero o campo.

Las plantas de pimiento morrón utilizadas en este experimento fueron tratadas de la siguiente manera: el Tratamiento 1 consistió en macetas inoculadas únicamente con la suspensión de esporas de *Streptomyces* sp. PR69 (concentración de 10^6 ufc/mL). El Tratamiento 2 incluyó macetas inoculadas con una mezcla de la suspensión de esporas de *Streptomyces* sp. PR69 y la suspensión de zoosporas de *Phytophthora capsici* (concentración aproximada de 1×10^6 zoosporas / mL). El Tratamiento 3 consistió en macetas inoculadas solo con la suspensión de zoosporas de *P. capsici*. Finalmente, el Control consistió en macetas sin ninguna inoculación.

Después de la inoculación de las plantas de pimiento se monitoreo la progresión de los síntomas de la enfermedad. Los síntomas de pudrición de tallo atribuibles a la enfermedad causada por *P. capsici* se observaron a partir del día 10 después de la inoculación. Para el día 20 se observó una disminución notable en la incidencia de infección en las plantas inoculadas con el actinomiceto *Streptomyces* sp. PR69 comparadas con las plantas control (Figura 27). El tratamiento del suelo con *P. capsici* y *Streptomyces* sp. PR69 resultó en una reducción significativa de los síntomas de la enfermedad. Hubo una disminución del 47% en la mortalidad de las plantas tratadas en comparación con aquellos inoculados únicamente con *Phytophthora capsici*, el patógeno responsable de la enfermedad ($p < 0.05$) (Figura 28). También se midieron el tallo, la raíz y el peso fresco de las plantas para evaluar la capacidad de *Streptomyces* sp. PR69 para estimular el crecimiento de las plantas de pimiento. Se observó una diferencia significativa ($p < 0.05$) de aproximadamente un 30% en el peso fresco de las plantas tratadas con *Streptomyces* sp. PR69 en comparación con el grupo de control negativo no inoculado (Figura 29). Este resultado sugiere que, además de su efecto en la supresión de enfermedades, *Streptomyces* sp. PR69 puede tener un impacto positivo en los parámetros de crecimiento de las plantas.



Figura 27: Actividad antifúngica de *Streptomyces* sp. PR69 en plantas de pimienta infectadas con *Phytophthora capsici*. Las plantas de pimienta morrón fueron tratadas de la siguiente manera: (A) inoculación con *Streptomyces* sp. PR69 y suspensión de *Phytophthora capsici* y (B) inoculación solo con suspensión de *P. capsici* (patógeno). Cada fila representa una repetición del experimento.

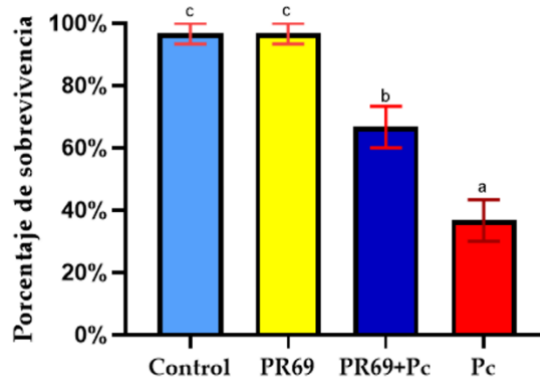


Figura 28: Porcentaje de supervivencia de plantas de pimiento morrón en ensayo de actividad antifúngica *in vivo* de PR69. Control, plantas sin tratamiento. Pc, *Phytophthora capsici*. Las medias \pm errores estándar para cada tratamiento etiquetado con letras diferentes indican diferencias significativas determinadas por ANOVA y la prueba de Tukey.



Figura 29: Promoción de crecimiento de *Streptomyces* sp. PR69 en plantas de pimiento morrón. Se evaluó el peso fresco de plantas completas. Las barras de error representan el error estándar de la media de tres experimentos independientes. Las letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas, según lo determinado por la prueba t de Student ($p < 0.05$).

8. DISCUSIÓN

Los fungicidas químicos se utilizan en la agricultura para disminuir el daño de las enfermedades causadas por hongos en los cultivos, sin embargo, se sabe que el uso continuo de estos productos químicos causa daños persistentes al suelo y que pueden llegar a perjudicar la salud humana. Ante esta problemática, los biofungicidas han surgido como una alternativa más sostenible. Estos productos contienen organismos vivos, como bacterias u hongos, que pueden ayudar a controlar enfermedades de las plantas y, al mismo tiempo, contrarrestar la creciente resistencia de los hongos a los fungicidas sintéticos. Entre los microorganismos con potencial biofungicida, las actinobacterias destacan como el grupo más prolífico en la producción de antibióticos y otras sustancias bioactivas. Diversos estudios respaldan la idea de que los ecosistemas extremos, como la Antártida y ciertos desiertos, son hábitats ideales para descubrir actinobacterias con propiedades biofungicidas, ofreciendo alternativas naturales en el control de enfermedades de plantas y contribuyendo al desarrollo de productos biotecnológicos innovadores. Tomando en

cuenta la necesidad de encontrar aislados microbianos capaces de ser utilizados como biofungicidas en la agricultura, y al mismo tiempo provenir de un ambiente extremo, el objetivo de nuestro estudio fue evaluar la cepa *Streptomyces* sp. PR69 aislada de Cuatro Ciénegas, Coahuila, como biofungicida contra el fitopatógeno *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento morrón. Este trabajo de investigación inició con un escrutinio de 60 aislados de actinomicetos en los que los ensayos preliminares de confrontación *in vitro* mostraron que el 50% de los actinomicetos aislados de Cuatro Ciénegas tuvieron actividad antifúngica con al menos uno de los 7 patógenos iniciales probados. De todos los actinomicetos evaluados, se destacó la cepa *Streptomyces* sp. PR69, que inhibió el crecimiento de 8 fitopatógenos: *Botrytis cinerea*, *Botryosphaeria rhodina*, *Colletotrichum coccodes*, *Macrophomina phaseolina*, *Phytophthora capsici*, *Fusarium lateritium*, *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum*; demostrando una actividad antifúngica significativa contra una amplia gama de hongos fitopatógenos. El porcentaje de inhibición de PR69 contra *Phytophthora capsici* fue de 71.09%, lo cual es un resultado mayor, comparado con otras cepas de *Streptomyces* reportadas, como *Streptomyces griseus* H7602, que mostró 53.33% de inhibición del crecimiento de *P. capsici* (Nguyen et al., 2012), *S. rochei* IT20 y *S. vinaceusdrappus* SS14 con un 69% y 63% (Abbasi et al., 2020) y *Streptomyces* sp. ABV38 y ABV45 inhibiendo 51 y 50 %, respectivamente contra *P. capsici* CH11 (Trinidad-Cruz et al., 2021). En el análisis de escrutinio inicial, otras actinobacterias también mostraron una significativa actividad antifúngica, como los aislados 670, 1, 518 y 567. Estas cepas podrían ser consideradas en el futuro para la elaboración de un consorcio destinado a la formulación de un biofungicida, con la excepción de la cepa 567, que presentó antagonismo contra *Streptomyces* sp. PR69.

Por su capacidad antagónica, la cepa *Streptomyces* sp. PR69 se seleccionó para más evaluaciones. Se realizó la secuenciación completa de su genoma con el objetivo de comparar su genoma con el de otras cepas de *Streptomyces*, con el fin de determinar su posición filogenética y confirmar su correcta identificación. Además, se buscaron e identificaron los genes implicados en la producción de metabolitos secundarios, permitiendo una caracterización más precisa de su potencial biosintético. Esta cepa posee un genoma lineal de 6,570,163pb (pares de bases), con un contenido de G+C del 71.51%. El tamaño del genoma de PR69 es más pequeño comparado con el promedio de otros *Streptomyces*, cuyas longitudes varían entre 6 y 12Mpb ((Nikolaidis et al., 2023). Por otra

parte, el genoma de PR69 es considerablemente mayor que el de *Streptomyces xiamenensis* 318 (aislado de un manglar), cuyo genoma es de 5.96 Mpb, siendo el más pequeño reportado hasta ahora (Caicedo-Montoya et al., 2021). Otro de los genomas más pequeños dentro del género *Streptomyces* corresponde a *Streptomyces albus*, con 6.8 Mpb, aunque destaca por tener el contenido de G+C más alto conocido, con un 73.3% (Zaburanyi et al., 2014). Un alto contenido de G+C (del 70% al 74%) y una gran cantidad de secuencias repetitivas es un rasgo característico de los genomas de *Streptomyces*. Esta característica influye en su estabilidad genética y en la producción de metabolitos secundarios, pero hace que sea difícil ensamblarlos completamente a partir de lecturas cortas, por lo que la mayoría de los genomas disponibles solo están en estado de borrador (Sharma et al., 2021). El contenido genómico de G+C varía ampliamente entre los genomas de procariotas por distintas razones. Se han propuesto muchas hipótesis para explicar cómo las bacterias pueden mantener genomas con altos porcentajes de G+C, incluido el tamaño del genoma, la transferencia horizontal de genes (HGT), la temperatura de crecimiento, las condiciones anaeróbicas y la fijación de nitrógeno. Aunque cada uno de estos factores probablemente influye en el contenido de G+C genómico hasta cierto punto, aun no se tiene una explicación exacta para la variación observada en el contenido de G+C genómico dentro del reino bacteriano (Ely, 2021). Algunos ambientes, como los suelos y el ambiente aeróbico, están asociados con un alto contenido de G+C genómico, ya que inducen tasas relativamente altas de daño al ADN en forma de roturas de doble cadena (DSB) que requieren reparación. Esto puede suponer que el daño al ADN puede ser un factor fundamental del contenido de G+C y que puede ser una adaptación selectiva a hábitats particulares (Weissman et al., 2019). A pesar de los estudios limitados sobre adaptaciones marinas, la genómica comparativa reciente ha revelado que los *Streptomyces* de origen marino generalmente tienen genoma de menor tamaño y tienen un contenido de G+C ligeramente mayor en comparación con *Streptomyces* de otros entornos. Además, se ha encontrado que los metabolitos marinos de *Streptomyces* se producen por vías metabólicas diferentes en comparación con sus homólogos terrestres. (Undabarrena et al., 2017). También estudios genómicos comparativos recientes de *Streptomyces* y otras actinobacterias han revelado que cepas de la misma especie aisladas de diferentes entornos poseen conjuntos distintos de grupos de genes de biosíntesis de metabolitos secundarios (BGC) (Guerrero-Garzón et al., 2020). Se ha demostrado que los aislados marinos de

Streptomyces producen compuestos bioactivos únicos que no se encuentran en sus homólogos terrestres, destacando sus capacidades metabólicas en entornos marinos (Lacey & Rutledge, 2022).

Con base en el análisis de la secuencia parcial del 16S rRNA, así como de las características morfológicas, se identificó la cepa PR69 como un miembro del género *Streptomyces*. El análisis filogenético, utilizando el genoma completo, reveló que la cepa *Streptomyces* sp. PR69 está estrechamente relacionada con *Streptomyces tirandamycinicus* HNM0039; una actinobacteria aislada de una esponja marina, cuyo extracto crudo exhibió una potente actividad antibacteriana contra *Streptococcus agalactiae* (Huang et al., 2019). También está relacionada con *Streptomyces spongiicola* HNM0071, otra actinobacteria aislada de una esponja marina que produce metabolitos antitumorales como estaurosporina y echinomicina (Zhou et al., 2019). La relación de la cepa PR69 con bacterias marinas no es sorprendente dada su fuente de aislamiento. Cuatro Ciénegas es reconocida por sus ecosistemas acuáticos únicos, incluidas Pozas Rojas. Donde con poco fósforo y nutrientes pero mucho azufre y magnesio, estas condiciones imitan a las que se encontraban en los antiguos mares de finales del Precámbrico y que albergan diversas comunidades microbianas. Investigaciones anteriores sobre biodiversidad bacteriana en Cuatro Ciénegas han reportado el aislamiento de genomas de algunos *Bacillus* (Souza et al., 2018) y Actinobacterias (Arocha-Garza et al., 2017) estrechamente relacionadas con cepas de origen marino, lo que indica su importancia ecológica en estos ecosistemas.

A pesar de estar relacionada con estas cepas de origen marino, los análisis *in silico* de la identidad de nucleótidos promedio (ANI por sus siglas en inglés) y de hibridación ADN-ADN digital (dDDH por sus siglas en inglés) se han utilizado ampliamente para determinar si dos cepas pertenecen a una misma especie, siendo el límite de ANI mayor de 95% y dDDH mayor al 70%. Entre *Streptomyces* sp. PR69 y otras especies de *Streptomyces* estrechamente relacionadas, se obtuvieron valores de ANI de 80%. Mientras que para dDDH se obtuvieron resultados de 20%, muy por debajo del límite de 70%. Lo anterior sugiere que *Streptomyces* sp. PR69 es distinta de estas cepas con las que está relacionada. Dentro del genoma de la cepa *Streptomyces* sp. PR69 se identificaron 28 supuestos grupos de genes biosintéticos (BGC por sus siglas en inglés), los cuales son un subconjunto de genes consecutivos presentes en una variedad de organismos y que producen metabolitos especializados con diversas funciones. En los actinomicetos, el promedio de los BGC

abarca 1.64 Mbp, que codifican 35 metabolitos secundarios y se ha encontrado que las cepas que codifican el mayor número de productos naturales son *Kutzneria albida*, *S. bingchengensis* y *S. rapamycinicus* las cuales dedican de 2.5 a 3.09 Mbp para codificar entre 48 y 53 metabolitos secundarios (Jakubiec-Krzesniak et al., 2018). En la cepa *Streptomyces* sp. PR69, de los 28 supuestos BGCs identificados, 7 de estos presentan una similitud arriba del 80%, mientras que los otros 21 presentan una similitud muy baja, es decir, tienen un porcentaje bajo de genes que coinciden con el compuesto conocido más cercano. Lamentablemente, aunque *Streptomyces* tiene una gran cantidad de grupos de genes biosintéticos de metabolitos secundarios que pueden codificar productos naturales, la mayoría de estos BGC no se logran expresar en condiciones de laboratorio (Liu et al., 2021). Los BGCs que se encontraron con 100% similitud con metabolitos conocidos están: la ectoína, melanina, SapB, geosmina, naringenina y pristinol. A continuación, describiremos algunas características importantes de cada metabolito, así como su posible función biológica en el aislado PR69.

La ectoína (ácido 1,4,5,6-tetrahidro-2-metil-4-pirimidincarboxílico), es un compuesto natural que se encuentra en bacterias halófilas como *Ectothiorhodospira halochloris*. Ayuda a los microorganismos con el equilibrio osmótico en las células sin interrumpir los procesos metabólicos celulares y con su fuerte capacidad estabilizadora. A menudo actúa como un protector térmico y contra condiciones extremas de congelación, secado y calentamiento (Ng et al., 2023). La ectoína tiene muchos usos en la industria. Se utiliza como ingrediente activo en productos cosméticos para el cuidado de la piel, para evitar resequedad y prevenir el daño celular inducido por los rayos UV en las células; también se usa para estabilizar la actividad enzimática *in vitro*, para promover el plegamiento de proteínas *in vivo*, para proteger moléculas y células contra los ciclos de congelación y descongelación, para promover su resistencia a la desecación, para mejorar la resistencia de las células y el ADN contra la radiación ionizante y el daño provocado por UV, como protectores del estrés oxidativo y térmico, para prevenir el deterioro de las funciones de la membrana celular, para la citoprotección de células y órganos, e incluso se han evaluado como protectores contra enfermedades neurodegenerativas (Czech et al., 2018). Cepas de *Streptomyces* comúnmente producen ectoínas como respuesta a condiciones de estrés osmótico (Sadeghi et al., 2014). La ectoína podría ser un compuesto clave que ayude a *Streptomyces* sp. PR69 en su supervivencia a las condiciones de estequiometría de

nutrientes extremadamente desequilibrada y minerales de azufre y magnesio que replican la osmolaridad marina de los océanos antiguos que se encuentran en Cuatro Ciénegas (Souza et al., 2018). Por otra parte, las melaninas protegen a los microorganismos de factores estresantes ambientales como la radiación ultravioleta, los metales pesados tóxicos y el estrés oxidativo. También pueden influir en las interacciones bacterianas con otros organismos y son cruciales para la supervivencia y patogénesis bacteriana en diversos entornos (Pavan et al., 2020). En las pruebas de crecimiento en distintos medios de cultivo, *Streptomyces* sp. PR69 mostró una gran producción de pigmento tipo melanina que podría permitirle una mayor adaptación en el desierto con alta radiación ultravioleta y estrés oxidativo. De entre los medios utilizados, se destacó el medio ISP6 para la producción de melanina en PR69. Las diversas propiedades de las melaninas han impulsado un gran número de aplicaciones y recientemente se han realizado esfuerzos para producir el pigmento a una escala biotecnológicamente relevante. Dentro de estas pruebas con distintos medios de cultivo, se destacó el medio SFM donde el aislado PR69 además de producir melanina, también desarrolló abundante micelio aéreo. Esto coincide con el BCG SapB encontrado dentro de su genoma. SapB es un péptido hidrofóbico que desempeña un papel crucial en el proceso de formación de hifas aéreas y esporulación en especies de *Streptomyces*. Se cree que este actúa como surfactante durante la morfogénesis aérea, reduciendo la tensión superficial permitiendo que las hifas crezcan hacia arriba (McCormick & Flärdh, 2012). Estos procesos de desarrollo son clave en *Streptomyces* que lleva a la producción de esporas, para colonizar nuevos hábitats y sobrevivir a condiciones adversas.

Otro metabolito que se encuentra comúnmente en *Streptomyces* es la geosmina. La geosmina es un metabolito volátil conocido por su característico olor a tierra mojada. Es producida por varios microorganismos, incluyendo la mayoría de los *Streptomyces* y varias especies de cianobacterias, mixobacterias y hongos (Jiang et al., 2007). El gen que codifica la geosmina se conserva en prácticamente todos los genomas secuenciados de *Streptomyces*. La geosmina participa principalmente en la mediación de las interacciones entre los microorganismos y su entorno. Puede influir en la composición y dinámica de la comunidad microbiana en el suelo. Esto, a su vez, puede afectar el ciclo de nutrientes, la estructura del suelo y la disponibilidad de recursos para los organismos a su alrededor (Becher et al., 2020). Algunos estudios indican que la síntesis de geosmina y otros

compuestos orgánicos volátiles, podría estar relacionada con mecanismos de defensa/ofensa hacia otros microorganismos. La alta conservación de la disposición del cluster podría indicar así su gran importancia en el control de la adaptación ambiental, sin embargo, aún se desconoce la función exacta de este compuesto y la ventaja este grupo de genes en las bacterias (Churro et al., 2020). Durante el cultivo de *Streptomyces* sp. PR69 en placas de Petri, el olor a tierra mojada en esas placas reveló la síntesis de geosmina típica de la mayoría de las *Streptomyces*, así como otros compuestos volátiles. Para determinar la producción de otros compuestos volátiles por PR69 y su posible efecto sobre el crecimiento vegetal, se realizó un ensayo en el que se confirmó que compuestos volátiles de PR69 promovieron un incremento del 86.36% del peso fresco total en plántulas de *A. thaliana*, especialmente por el aumento en el número de raíces secundarias, las cuales aumentaron 7 veces más comparadas con las plantas control. Nuestros resultados son comparables con varios estudios que han expuesto la capacidad de *Streptomyces* para producir compuestos volátiles que promuevan el crecimiento de raíces secundarias en *A. thaliana*, como en los experimentos de Pérez-Corra y colaboradores (Pérez-Corral et al., 2022), quienes demostraron que sus cepas de *Streptomyces* mejoraron notablemente el crecimiento *in vitro* de plántulas de *A. thaliana*, aumentando particularmente el peso fresco de las raíces entre un 94 - 300%. También Cordovez y colaboradores (Cordovez et al., 2015) reportaron un aumento de más del 100% en el peso fresco de plántulas de *A. thaliana* expuestas a los COV de *Streptomyces lividans* 1326, mencionando la acetoína (3-hidroxi-2-butanona) como posible responsable. En otro estudio plántulas de *A. thaliana* Col-0 expuestas a compuestos volátiles emitidos por *Streptomyces coelicolor* M145 exhibieron cambios morfológicos significativos. En este experimento se identificó la 3-octanona bacteriana volátil como el componente bioactivo responsable de este efecto. Específicamente, se vio un aumento significativo de peso fresco tanto en raíces (65%) como en brotes (63%), así como hojas más expandidas y pecíolos más largos en comparación con el control con la exposición más alta de *S. coelicolor* M145. Curiosamente, las raíces primarias respondieron de manera opuesta. Si bien las raíces laterales mostraron un mayor crecimiento, el crecimiento de las raíces primarias (PRG) se inhibió notablemente en comparación con los controles no tratados (Dotson et al., 2020). El crecimiento de raíces secundarias puede tener un papel importante con respecto a la adquisición y el transporte de recursos del suelo, las interacciones con los organismos del

suelo y la competencia de las plantas bajo estrés abiótico y biótico (Strock & Lynch, 2020). En este sentido, los compuestos volátiles de *Streptomyces* sp. PR69 representan un posible mecanismo de acción mediante el cual las plantas de *Arabidopsis* (y quizá otros cultivos) pudieran incrementar su superficie de absorción, mejorar su nutrición y aumentar el crecimiento vegetal general. Estos resultados sugieren que el aislado PR69 pudiera ser utilizado como una bacteria promotora de crecimiento en algunos cultivos y bajo condiciones de aplicación y formulación específicas.

Además de compuestos volátiles, las bacterias promotoras de crecimiento tienen más mecanismos para favorecer el crecimiento de las plantas, como la producción de fitohormonas (auxinas), una mejor adquisición de nutrientes (fijación de nitrógeno) y la supresión de enfermedades de las plantas (sideróforos) (Sousa & Olivares, 2016). La cepa *Streptomyces* sp. PR69 fue capaz de crecer en medio libre de nitrógeno mostrando la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico. El nitrógeno es la parte central de los aminoácidos y las proteínas, juega un papel crucial en todos los organismos vivos. Las actinobacterias se conocen como bacterias promotoras del crecimiento de las plantas (PGP) ya que pueden ayudar a metabolizar el nitrógeno, de modo que este sea transformado en compuestos que puedan ser absorbidos por las plantas (Kumar et al., 2022). Las plantas no tienen la maquinaria necesaria para obtener el nitrógeno del aire por sí mismas, sino que dependen principalmente de bacterias de vida libre en el suelo o bacterias que viven simbióticamente en nódulos en las raíces que suministran el nitrógeno combinado en forma de amoníaco o nitratos resultante de la fijación de nitrógeno (Cocking, 2000).

Además de fijación de nitrógeno, *Streptomyces* sp. PR69 también fue capaz de sintetizar sideróforos en el ensayo Chrome Azurol S (CAS)c que es un método colorimétrico universal que detecta sideróforos independientemente de su estructura. Dependiendo de su naturaleza química, los sideróforos se clasifican en catecolatos y fenolatos, hidroxamatos, carboxilatos y sideróforos de tipo mixto (Timofeeva et al., 2022). La tipificación del sideróforo en hidroxamato, carboxilato y catecoles se puede determinar mediante la prueba de tetrazolio, la prueba de perclorato de hierro, el ensayo de Csaky, la prueba de perclorato de hierro, la prueba de Arnou y la prueba espectrofotométrica (Patel, 2022). Los compuestos sideróforos pueden ser promotores del crecimiento de las plantas y supresores de enfermedades. Muchos estudios han demostrado que las bacterias que producen sideróforos aumentan el rendimiento de varias especies de plantas al mejorar la absorción

de Fe^+ y que también funcionan como antagonistas impidiendo que el hierro esté disponible para los patógenos (Swarnalatha et al., 2022). Este potencial de *Streptomyces* sp. PR69 para producir sideróforos abre la posibilidad de su aplicación en el desarrollo de productos biotecnológicos para la protección y promoción del crecimiento de cultivos, contribuyendo así a la agricultura sostenible.

Basado en los resultados previos de la cepa *Streptomyces* sp. PR69, que demostraron su capacidad antagonista, fijación de nitrógeno y producción de sideróforos (características comunes en bacterias promotoras del crecimiento vegetal), así como su capacidad para promover el crecimiento de *A. thaliana* mediado por compuestos volátiles, se llevó a cabo un experimento en macetas con pimiento morrón. El objetivo fue evaluar el potencial de *Streptomyces* sp. PR69 para reducir el impacto de *P. capsici* sobre las plantas y, al mismo tiempo, analizar su capacidad para estimular el crecimiento vegetal en condiciones más cercanas a las de un invernadero o campo. Los resultados en el experimento *in vivo* con plantas de pimiento morrón, la aplicación de *Streptomyces* sp. PR69 mostró una diferencia significativa en el peso fresco de las plantas de pimiento entre el grupo de tratamiento que recibió *Streptomyces* sp. PR69 y el grupo control no inoculado. A pesar de que *Streptomyces* sp. PR69 produjo compuestos volátiles que aumentaron la longitud de la raíz y el número de raíces laterales en las pruebas con *A. thaliana.*, es necesario realizar ensayos adicionales para determinar si PR69 también pudiera estar sintetizando moléculas parecidas a las hormonas tipo auxina, giberelina, citocininas u otras hormonas vegetales relacionadas con el crecimiento. Esto puede ser la razón del aumento en el peso fresco de las plantas de pimiento morrón. Lo que nos indica que tiene potencial como promotora de crecimiento, pero es necesario más evaluaciones para evaluar su eficiencia y el método que utiliza para favorecer el crecimiento.

Cuando se evaluó la actividad antifúngica de *Streptomyces* sp. PR69 en las plantas de pimiento morrón, el aislado logró disminuir un 47.37% la mortalidad por marchitez de la raíz (o secadera) causada por *Phytophthora capsici* y también mostró un aumento en el peso fresco de las plantas. Se encontraron efectos antagónicos similares de *Streptomyces* en el control de *P. capsici* en los resultados de Abbasi et al (Abbasi et al., 2020) donde el tratamiento del suelo con las especies *Streptomyces rochei* IT20 y *S. vinaceus drappus* SS14 disminuyó del 40 al 60% los síntomas de la enfermedad en comparación con el control. Además, demostraron que al cocultivar estas dos cepas *Streptomyces rochei* IT20

y *Streptomyces vinaceus drappus* SS14, tienen mayor inhibición (un 75%). Algunos ensayos indican que tratar el suelo con el propio microorganismo da como resultado una menor actividad antifúngica en comparación con tratar el suelo con el sobrenadante del microorganismo. Chen y colaboradores (Chen et al., 2016) demostraron que la aplicación del filtrado del medio de cultivo de *Streptomyces plicatus* B4-7, realizada tres horas después de la inoculación con *P. capsici* en plantas de pimiento, resultó en una reducción aproximada del 75 % en la severidad de la pudrición de la corona, evaluada mediante una escala de síntomas, en comparación con el control inoculado sin tratamiento. Otro resultado es la evaluación *in vivo* realizada por Trinidad-Cruz et al. (Trinidad-Cruz et al., 2021), donde el sobrenadante del cultivo de las cepas *Streptomyces* ABV38 y *Streptomyces* ABV45 mostraron un efecto supresor de la marchitez en plantas de chile serrano, con una supervivencia de 77 y 94%. Aunque nuestros resultados de inhibición de síntomas en pimiento son menores a los encontrados en la literatura, se necesitan ensayos adicionales para identificar el compuesto responsable de la actividad antifúngica. El aislamiento y la caracterización de estos metabolitos bioactivos permitirán comprender mejor el mecanismo de acción involucrado y podría dirigir a un tratamiento antifúngico más efectivo. Aunque no está confirmado, un metabolito que pudiera participar en la actividad antifúngica de PR69 es la naringenina. En el genoma de *Streptomyces* spp. PR69 se pudo encontrar la naringenina con un BCG con 100% de similitud. La naringenina es un metabolito flavonoide típico de las plantas, pero en un estudio reciente se logró identificar en *Streptomyces clavuligerus* (Álvarez-Álvarez et al., 2015). La naringenina extraída de plantas ha demostrado tener varias propiedades como antioxidante, antiinflamatoria, anticancerígena, antiviral (Salehi et al., 2019) y también actividad antifúngica contra *Candida albicans* (Soberón et al., 2020). Estos resultados indican que se requieren más experimentos para determinar si la actividad antifúngica de la cepa *Streptomyces* sp. PR69 se debe a la capacidad de síntesis de naringenina u a otro mecanismo.

Aunque se han realizado muchas investigaciones sobre microorganismos que suprimen el crecimiento de *P. capsici*, incluidos *Streptomyces* spp., *Bacillus* spp. *Paenibacillus* spp., *Trichoderma* sp., *Clitocybe nuda* y *Aspergillus* sp. (Chen et al., 2016) y que pueden ser utilizados como agentes para control biológico, la aplicación en campo se ve limitada debido a la inestable y deficiente actividad antimicrobiana en suelo. Por esta razón, el descubrimiento de cepas de *Streptomyces* antagonistas de amplio espectro y altamente

eficientes sigue siendo de importancia para el desarrollo de mejores agentes de biocontrol (L. Zhang et al., 2021). La falta de eficacia al momento de la aplicación en campo puede deber a que numerosas interacciones pueden afectar la eficacia el microorganismo, como la variabilidad de planta a planta, huerto, año y otros microorganismos. También la eficacia de un agente de biocontrol bacteriano contra las enfermedades de las plantas depende del agente microbiano (mecanismo de acción, acondicionamiento, dosis, métodos de aplicación), patógenos objetivos (sensibilidad), huésped (tipo de cultivo, propiedades físicas) y condiciones ambientales (factores bióticos y abióticos, residuos químicos, disponibilidad de nutrientes, temperatura, humedad) (Bonaterra et al., 2022). El descubrimiento de microorganismos con potencial actividad antifúngica presenta posibilidades interesantes para avances en los campos agrícola. Los investigadores son optimistas acerca de su aplicación en el control de hongos patógenos que afectan los cultivos, lo que podría conducir a un aumento del rendimiento agrícola y una menor dependencia de fungicidas químicos. La búsqueda de bacterias que produzcan nuevos compuestos antifúngicos es un campo que está creciendo en el área agrícola. A medida que los hongos patógenos desarrollan cada vez más resistencia a los agentes antifúngicos existentes, la necesidad de nuevos compuestos se vuelve más urgente. La cepa *Streptomyces* sp. PR69 ha demostrado una actividad antifúngica significativa contra varios patógenos de plantas tanto en pruebas *in vitro* como en macetas. Las investigaciones futuras tienen como objetivo explorar todo el potencial de esta bacteria, incluida su aplicación en diversos cultivos y condiciones ambientales. Es necesario futuras pruebas de campo para evaluar más a fondo su eficacia. Estas pruebas implicarán evaluar el desempeño de la cepa en diversos entornos ambientales, comprender sus interacciones con otros microorganismos y evaluar su impacto en especies no objetivo. Los resultados exitosos podrían ayudar en el manejo de enfermedades de plantas, ofreciendo una solución ecológica y eficiente.

9. CONCLUSIONES

En esta tesis doctoral se analizó una fracción representativa de la diversidad microbiana del Valle de Cuatro Ciénegas, Coahuila, con el objetivo de identificar actinobacterias con potencial biotecnológico para el control biológico de *Phytophthora capsici* y la promoción

del crecimiento vegetal. A partir del análisis de 60 aislados, la cepa PR69, proveniente de la región de Pozas Rojas, fue identificada como un microorganismo sobresaliente por su amplio espectro de antagonismo in vitro frente a fitopatógenos de relevancia agrícola y por su capacidad para atenuar la severidad de la enfermedad en plantas de pimiento morrón (*Capsicum annuum*).

El aislado PR69 mostró actividad antifúngica contra ocho fitopatógenos importantes en agricultura: *Botrytis cinérea* (69.76%), *Botryosphaeria rhodina* (65.46%), *Colletotrichum coccodes* (63.92%), *Macrophomina phaseolina* (52.59%), *Phytophthora capsici* (73.63%), *Fusarium lateritium* (50.43%), *Fusarium solani* (44.85%) y *Fusarium oxysporum* (65.46%). Además, PR69 disminuyó en 47% la mortalidad de *P. capsici* en plantas de pimiento bajo condiciones controladas. Estos resultados sugieren que los actinomicetos provenientes de ambientes extremos, como Cuatro Ciénegas, constituyen una fuente valiosa de microorganismos con actividad antagonista y potencial aplicación en el manejo sustentable de enfermedades de plantas.

La caracterización morfológica comprobó que se trata de un actinomiceto esporulado, filamentoso, Gram positivo y que produce mayor biomasa y esporas cuando se cultiva en medio SFM. El análisis filogenético del aislado PR69 confirmó su identidad dentro del género *Streptomyces*. Además, la secuenciación del genoma de PR69 reveló un tamaño de 6.57 Mpb con 71.5% de G+C y la presencia de 6 grupos de genes con 100% de similitud con genes que codifican metabolitos con posibles propiedades de adaptación al ambiente y actividad antimicrobiana: la ectoína, melanina, SapB, geosmina, naringenina y pristinol.

Un análisis bioquímico demostró que PR69 puede sintetizar lipasas y que tiene capacidades típicas de bacterias promotoras del crecimiento vegetal, incluyendo la producción de sideróforos, y fijación de nitrógeno, pero no es capaz de solubilizar fósforo. Su eficacia como bacteria promotora del crecimiento vegetal se comprobó cuando sus compuestos volátiles incrementaron en 80% el peso fresco, 19% a la longitud de la raíz principal y en 700% el número de raíces secundarias en plántulas de *Arabidopsis thaliana*. Estos efectos se reflejaron también en plantas de pimiento morrón, donde se observó un aumento del 30% en el peso fresco.

En conjunto, los resultados de este trabajo indican que *Streptomyces* sp. PR69 tiene un alto potencial, tanto para el control biológico de *P. capsici* como para la promoción del crecimiento vegetal. Sin embargo, serán necesarios estudios adicionales para identificar los metabolitos responsables de estos efectos y evaluar su desempeño en condiciones de invernadero y campo, antes de considerar su aplicación a mayor escala en sistemas agrícolas.

10. PERSPECTIVAS

La cepa *Streptomyces* sp. PR69 mostró un alto potencial como promotora del crecimiento vegetal y agente de control biológico en condiciones de laboratorio; sin embargo, es necesario realizar más pruebas en invernadero y campo para confirmar su eficacia. Estos estudios permitirán determinar su viabilidad como agente de biocontrol y, eventualmente, realizar el escalamiento de su producción para el desarrollo de un biofungicida comercial.

Investigaciones futuras deberán centrarse en la identificación de los mecanismos de acción y de los metabolitos específicos responsables de la promoción del crecimiento vegetal y de biocontrol. Asimismo, será necesario desarrollar formulaciones optimizadas, así como evaluar su desempeño frente a una mayor diversidad de patógenos y cultivos de interés agrícola.

De igual manera, un análisis genómico más profundo podría permitir la identificación de nuevos clústeres de genes asociados a la biosíntesis de metabolitos secundarios con potencial aplicación no solo en agricultura, sino también en otras áreas de la biotecnología. En conjunto, estos resultados resaltan la importancia de continuar explorando ambientes extremos como Cuatro Ciénegas, Coahuila, y de ampliar el estudio a otros actinomicetos de la colección, así como a microorganismos poco comunes o raros, como una estrategia para el descubrimiento de nuevos recursos microbianos con valor biotecnológico.

11. BIBLIOGRAFÍA

- Abbasi, S., Safaie, N., Sadeghi, A., & Shamsbakhsh, M. (2020). Tissue-specific synergistic bio-priming of pepper by two *Streptomyces* species against *Phytophthora capsici*. *PLoS ONE*, *15*, e0230531. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0230531>
- Abramić, M., Leščić, I., Korica, T., Vitale, L., Saenger, W., & Pigac, J. (1999). Purification and properties of extracellular lipase from *Streptomyces rimosus*. *Enzyme and Microbial Technology*, *25*, 522-529. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(99\)00077-0](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(99)00077-0)
- Adaskaveg, J. E., Förster, H., & O'Fallon, C. (2024). New fungicides for managing *Phytophthora* diseases of tree crops with foliar and soil applications. *Journal of Plant Diseases and Protection*, *131*, 1203-1209. <https://doi.org/10.1007/s41348-024-00873-6>
- Agroproductores. (2020). *Evolución de la producción de pimiento morrón en México*. Retrieved Noviembre 2021 from <https://agroproductores.com/evolucion-produccion-pimineto-morrón-mexico/>
- Ai, L., Geng, M., Ma, M., & Bai, L. (2019). Complete genome sequence of the ebosin-producing strain *Streptomyces* sp. 139. *Microbiology Resource Announcements*, *8*, 10.1128/mra.01283-01219. <https://doi.org/10.1128/MRA.01283-19>
- Alaa Fathalla, A. M. A. E.-M. E. E. S. E.-S. (2020). Biological control using *Streptomyces* sp. Kp109810 and different genotypes of pepper (*Capsicum annuum* L.) on root rot diseases. *Journal of Applied Plant Protection*, *9*, 25-38. <https://doi.org/10.21608/japp.2020.130645>
- Alam, K., Mazumder, A., Sikdar, S., Zhao, Y.-M., Hao, J., Song, C.,...Li, A. (2022). *Streptomyces*: The biofactory of secondary metabolites. *Frontiers in Microbiology*, *13*, 968053. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.968053>
- Ali, S., Khan, S. A., Hamayun, M., & Lee, I.-J. (2023). The recent advances in the utility of microbial lipases: a review. *Microorganisms*, *11*. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11020510>
- Álvarez-Álvarez, R., Botas, A., Albillos, S. M., Rumbero, A., Martín, J. F., & Liras, P. (2015). Molecular genetics of naringeninbiosynthesis, a typical plant secondary metabolite produced by *Streptomyces clavuligerus*. *Microbial Cell Factories*, *14*, 178. <https://doi.org/10.1186/s12934-015-0373-7>
- Amareesan, N., Kumar, K., Naik, J. H., Bapatla, K. G., & Mishra, R. K. (2018). Chapter 8 - *Streptomyces* in plant growth promotion: mechanisms and role. In B. P. Singh, V. K. Gupta, & A. K. Passari (Eds.), *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering* (pp. 125-135). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63994-3.00008-4>

- Apolinar-Hernández, M. M., De la Torre-Zavala, S., & Aviles-Arnaut, H. (2023). *Bioprospecting and effect of cell-free filtering strain Streptomyces sp. 510.1 from Cuatro Ciénegas Coahuila in the plant growth-promoting and NaCl tolerance in vitro from Arabidopsis thaliana*. Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Arocha-Garza, H. F., Canales-Del Castillo, R., Eguiarte, L. E., Souza, V., & De la Torre-Zavala, S. (2017). High diversity and suggested endemicity of culturable Actinobacteria in an extremely oligotrophic desert oasis. *PeerJ*, 5, e3247. <https://doi.org/10.7717/peerj.3247>
- Atkinson, M. J., & Bingman, C. (1997). Elemental composition of commercial seasalts. *Journal of Aquaculture and Aquatic Sciences, Volume VIII*, 39-43.
- Ávila Romero, A., Ruíz Suárez, L. G., Gavilán García, A., Mendoza Cantú, A., Franco Lares, B. S., Ocotzi Elías, M. I., & Garibo Noguera, P. (2022). *Estudios sobre el uso de plaguicidas en México compilación 1980-2018*. Medio Ambiente - INECC. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/728079/141_2022_Estudios_plaguicidas_Mexico_1980-2018.pdf
- Ayaz, B., Ugur, A., & Boran, R. (2015). Purification and characterization of organic solvent-tolerant lipase from *Streptomyces* sp. OC119-7 for biodiesel production. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 4, 103-108. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bcab.2014.11.007>
- Aziz, R. K., Bartels, D., Best, A. A., DeJongh, M., Disz, T., Edwards, R. A.,...Zagnitko, O. (2008). The RAST Server: Rapid Annotations using Subsystems Technology. *BMC Genomics*, 9, 75. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-75>
- Badalamenti, J. P., Erickson, J. D., & Salomon, C. E. (2016). Complete genome sequence of *Streptomyces albus* SM254, a potent antagonist of bat white-nose syndrome pathogen *Pseudogymnoascus destructans*. *Genome Announcements*, 4, 10.1128/genomea.00290-00216. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00290-16>
- Barbe, V., Bouzon, M., Mangenot, S., Badet, B., Poulain, J., Segurens, B.,...Weissenbach, J. (2011). Complete genome sequence of *Streptomyces cattleya* NRRL 8057, a producer of antibiotics and fluorometabolites. *Journal of Bacteriology*, 193, 5055-5056. <https://doi.org/10.1128/JB.05583-11>
- Barchenger, D. W., Lamour, K. H., & Bosland, P. W. (2018). Challenges and strategies for breeding resistance in *Capsicum annuum* to the multifarious pathogen, *Phytophthora capsici*. *Frontiers in Plant Science*, 9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00628>
- Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Klenk, H.-P.,...van Weze, G. P. (2016). Taxonomy, physiology, and natural products of actinobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80, 1-43. <https://doi.org/10.1128/mnbr.00019-15>

- Barra-Bucarei, L., & Ortiz, J. (2020). Biological control in *Capsicum* with microbial agents. In A. Dekebo (Ed.), *Capsicum* (pp. Ch. 4). IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.93509>
- Barreiro, C., Prieto, C., Sola-Landa, A., Solera, E., Martínez-Castro, M., Pérez-Redondo, R.,...Martín, J. F. (2012). Draft genome of *Streptomyces tsukubaensis* NRRL 18488, the producer of the clinically important immunosuppressant tacrolimus (FK506). *Journal of Bacteriology*, *194*, 3756-3757. <https://doi.org/10.1128/JB.00692-12>
- Barry, C. P., Gillane, R., Talbo, G. H., Plan, M., Palfreyman, R., Haber-Stuk, A. K.,...Marcellin, E. (2022). Multi-omic characterisation of *Streptomyces hygroscopicus* NRRL 30439: detailed assessment of its secondary metabolic potential. *Molecular Omics*, *18*, 226-236. <https://doi.org/10.1039/D1MO00150G>
- Barzkar, N., & Sohail, M. (2020). An overview on marine cellulolytic enzymes and their potential applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *104*, 6873-6892. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10692-y>
- Becher, P. G., Verschut, V., Bibb, M. J., Bush, M. J., Molnár, B. P., Barane, E.,...Flärdh, K. (2020). Developmentally regulated volatiles geosmin and 2-methylisoborneol attract a soil arthropod to *Streptomyces* bacteria promoting spore dispersal. *Nature Microbiology*, *5*(6), 821-829. <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0697-x>
- Behera, S., & Das, S. (2023). Potential and prospects of Actinobacteria in the bioremediation of environmental pollutants: Cellular mechanisms and genetic regulations. *Microbiological Research*, *273*, 127399. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.micres.2023.127399>
- Bentley, S. D., Chater, K. F., Cerdeño-Tárraga, A. M., Challis, G. L., Thomson, N. R., James, K. D.,...Hopwood, D. A. (2002). Complete genome sequence of the model actinomycete *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Nature*, *417*, 141-147. <https://doi.org/10.1038/417141a>
- Bignell, D. R. D., Selpke, R. F., Huguet-Tapla, J. C., Chambers, A. H., Parry, R. J., & Lorla, R. (2010). *Streptomyces scabies* 87-22 contains a coronafacic acid-like biosynthetic cluster that contributes to plant-microbe interactions. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, *23*, 161-175. <https://doi.org/10.1094/MPMI-23-2-0161>
- Blin, K., Shaw, S., Augustijn, H. E., Reitz, Z. L., Biermann, F., Alanjary, M.,...Weber, T. (2023). antiSMASH 7.0: new and improved predictions for detection, regulation, chemical structures and visualisation. *Nucleic Acids Research*, *51*, W46-W50. <https://doi.org/10.1093/nar/gkad344>
- Bonaterra, A., Badosa, E., Daranas, N., Francés, J., Roselló, G., & Montesinos, E. (2022). Bacteria as biological control agents of plant diseases. *Microorganisms*, *10*, 1759. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10091759>
- Book, A. J., Lewin, G. R., McDonald, B. R., Takasuka, T. E., Doering, D. T., Adams, A. S.,...Currie, C. R. (2014). Cellulolytic *Streptomyces* strains associated with

- herbivorous insects share a phylogenetically linked capacity to degrade lignocellulose. *Applied and Environmental Microbiology*, 80, 4692-4701. <https://doi.org/https://doi.org/10.1128/AEM.01133-14>
- Book, A. J., Lewin, G. R., McDonald, B. R., Takasuka, T. E., Wendt-Pienkowski, E., Doering, D. T.,...Currie, C. R. (2016). Evolution of high cellulolytic activity in symbiotic *Streptomyces* through selection of expanded gene content and coordinated gene expression. *PLOS Biology*, 14, e1002475.
- Boran, R. (2018). Detergent compatible extracellular lipase from *Streptomyces cellulosa* AU-10: A green alternative for the detergent industry. *Journal of Surfactants and Detergents*, 21, 565-573. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jsde.12049>
- Boubekri, K., Soumare, A., Mardad, I., Lyamlouli, K., Ouhdouch, Y., Hafidi, M., & Kouisni, L. (2022). Multifunctional role of Actinobacteria in agricultural production sustainability: A review. *Microbiological Research*, 261, 127059. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127059>
- Bown, L., & Bignell, D. R. D. (2017). Draft genome sequence of the plant pathogen *Streptomyces* sp. strain 11-1-2. *Genome Announcements*, 5, 10.1128/genomea.00968-00917. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00968-17>
- Brautaset, T., Sekurova, O. N., Sletta, H., Ellingsen, T. E., Strøm, A. R., Valla, S., & Zotchev, S. B. (2000). Biosynthesis of the polyene antifungal antibiotic nystatin in *Streptomyces noursei* ATCC 11455: Analysis of the gene cluster and deduction of the biosynthetic pathway. *Chemistry and Biology*, 7, 395-403. [https://doi.org/10.1016/S1074-5521\(00\)00120-4](https://doi.org/10.1016/S1074-5521(00)00120-4)
- Busche, T., Novakova, R., Al'Dilaimi, A., Homerova, D., Feckova, L., Rezuchova, B.,...Rückert, C. (2018). Complete genome sequence of *Streptomyces lavendulae* subsp. *lavendulae* CCM 3239 (formerly "*Streptomyces aureofaciens* CCM 3239"), a producer of the angucycline-type antibiotic auricin. *Genome Announcements*, 6, 10.1128/genomea.00103-00118. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00103-18>
- Caicedo-Montoya, C., Manzo-Ruiz, M., & Ríos-Estapa, R. (2021). Pan-genome of the genus *Streptomyces* and prioritization of biosynthetic gene clusters with potential to produce antibiotic compounds. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.677558>
- Castro Rocha, A., Fernández Pavía, S. P., & Osuna Ávila, P. (2012). Mecanismos de defensa del chile en el patosistema *Capsicum annum-Phytophthora capsici*. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 30, 49-65.
- Celaya-Herrera, S., Casados-Vázquez, L. E., Valdez-Vazquez, I., Barona-Gómez, F., Bideshi, D. K., & Barboza-Corona, J. E. (2021). A cellulolytic *Streptomyces* Sp. isolated from a highly oligotrophic niche shows potential for hydrolyzing agricultural wastes. *BioEnergy Research*, 14, 333-343. <https://doi.org/10.1007/s12155-020-10174-z>

- Isolation, characterization, and efficacy of Actinobacteria associated with arbuscular mycorrhizal spores in promoting plant growth of chili (*Capsicum flutescens* L.), 9 (2021).
- Chaudhary, H. S., Soni, B., Shrivastava, A. R., & Shrivastava, S. (2013). Diversity and versatility of actinomycetes and its role in antibiotic production. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2013.38.S14>
- Chen, C., Ye, Y., Wang, R., Zhang, Y., Wu, C., Debnath, S. C.,...Wu, M. (2018). *Streptomyces nigra* sp. nov. Is a novel actinobacterium isolated from mangrove soil and exerts a potent antitumor activity in vitro. *Frontiers in Microbiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01587>
- Chen, G., Lin, B., Lin, Y., Xie, F., Lu, W., & Fong, W.-F. (2005). A new fungicide produced by a *Streptomyces* sp. GAAS7310. *The Journal of Antibiotics*, 58, 519-522. <https://doi.org/10.1038/ja.2005.70>
- Chen, J., Guo, Y., Wu, Q., Wang, W., Pan, J., Chen, M.,...Wang, H. (2023). Discovery of new siderophores from a marine *Streptomyces* sp. via combined metabolomics and analysis of iron-chelating activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 71, 6584-6593. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c00234>
- Chen, J., Hu, L., Chen, N., Jia, R., Ma, Q., & Wang, Y. (2021). The biocontrol and plant growth-promoting properties of *Streptomyces alfalfae* XN-04 revealed by functional and genomic analysis. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.745766>
- Chen, Y., Li, X., Zhou, D., Wei, Y., Feng, J., Cai, B.,...Xie, J. (2024). *Streptomyces* - secreted fluvirucin B6 as a potential bio-fungicide for managing banana *Fusarium* Wilt and mycotoxins and modulating the soil microbial community structure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 72, 17890-17902. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.4c04077>
- Chen, Y. Y., Chen, P. C., & Tsay, T. T. (2016). The biocontrol efficacy and antibiotic activity of *Streptomyces plicatus* on the oomycete *Phytophthora capsici*. *Biological Control*, 98, 34-42. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.02.011>
- Chouyia, F. E., Romano, I., Fechtali, T., Fagnano, M., Fiorentino, N., Visconti, D.,...Pepe, O. (2020). P-solubilizing *Streptomyces roseocinereus* MS1B15 with multiple plant growth-promoting traits enhance barley development and regulate rhizosphere microbial population. *Frontiers in Plant Science*, 11. <https://doi.org/https://doi.org/10.3389/fpls.2020.01137>
- Chouyia, F. E., Ventorino, V., & Pepe, O. (2022). Diversity, mechanisms and beneficial features of phosphate-solubilizing *Streptomyces* in sustainable agriculture: A review [Review]. *Frontiers in Plant Science*, 13.
- Chung, Y.-H., Kim, H., Ji, C.-H., Je, H.-W., Lee, D., Shim, S. H.,...Kang, H.-S. (2021). Comparative genomics reveals a remarkable biosynthetic potential of the *Streptomyces* phylogenetic lineage associated with rugose-ornamented spores

- Churro, C., Semedo-Aguiar, A. P., Silva, A. D., Pereira-Leal, J. B., & Leite, R. B. (2020). A novel cyanobacterial geosmin producer, revising GeoA distribution and dispersion patterns in Bacteria. *Scientific Reports*, 10, 8679. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-64774-y>
- Cibrián Tovar, D. (2016). *Manual para la identificación y manejo de plagas en plantaciones forestales comerciales* (Primera ed.).
- CIMMYT. (2010). Sclerotia produced by the wheat disease *Sclerotium* wilt (*Athelia rolfsii*). . In. <https://www.flickr.com/photos/cimmyt/5072214316>: Flickr.
- Clemson University. (2002). *Colletotrichum coccodes* causing anthracnose on tomato. In. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Colletotrichum_coccodes.jpg?uselang=en#Licensing: Forestry Images, The Bugwood Network, University of Georgia y USDA Forest Service.
- Cocking, E. C. (2000). Helping plants get more nitrogen from the air. *European Review*, 8(2), 193-200. <https://doi.org/10.1017/S1062798700004762>
- Cordovez, V., Carrion, V. J., Etalo, D. W., Mumm, R., Zhu, H., van Wezel, G. P., & Raaijmakers, J. M. (2015). Diversity and functions of volatile organic compounds produced by *Streptomyces* from a disease-suppressive soil. *Frontiers in Microbiology*, 6. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01081>
- Czech, L., Hermann, L., Stöveken, N., Richter, A. A., Höppner, A., Smits, S. H. J.,...Bremer, E. (2018). Role of the extremolytes ectoine and hydroxyectoine as stress protectants and nutrients: Genetics, phylogenomics, biochemistry, and structural analysis. *Genes*, 9. <https://doi.org/10.3390/genes9040177>
- de Melo, R. R., Tomazetto, G., Persinoti, G. F., Sato, H. H., Ruller, R., & Squina, F. M. (2018). Unraveling the cellulolytic and hemicellulolytic potential of two novel *Streptomyces* strains. *Annals of Microbiology*, 68, 677-688. <https://doi.org/10.1007/s13213-018-1374-7>
- Del Carratore, F., Hanko, E. K. R., Breitling, R., & Takano, E. (2022). Biotechnological application of *Streptomyces* for the production of clinical drugs and other bioactive molecules. *Current Opinion in Biotechnology*, 77, 102762. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.copbio.2022.102762>
- Deng, M. R., Guo, J., Ma, L. Y., Li, Y. X., Feng, G. D., Mo, C. Y., & Zhu, H. H. (2015). Complete genome sequence of *Streptomyces vietnamensis* GIMV4.0001 T , a genetically manipulable producer of the benzoisochromanquinone antibiotic granaticin. *Journal of Biotechnology*, 200, 6-7. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2015.02.009>
- Dhakal, D., Lim, S. K., Kim, D. H., Kim, B. G., Yamaguchi, T., & Sohng, J. K. (2018). Complete genome sequence of *Streptomyces peuceitius* ATCC 27952, the producer

- of anticancer anthracyclines and diverse secondary metabolites. *Journal of Biotechnology*, 267, 50-54. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2017.12.024>
- Doi, K., Fujino, Y., Nagayoshi, Y., Ohshima, T., & Ogata, S. (2016). Complete genome sequence of thiostrepton-producing *Streptomyces laurentii* ATCC 31255D. *Genome Announcements*, 4, 10.1128/genomea.00360-00316. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00360-16>
- Donald, L., Pipite, A., Subramani, R., Owen, J., Keyzers, R. A., & Taufa, T. (2022). *Streptomyces*: Still the biggest producer of new natural secondary metabolites, a current perspective. *Microbiology Research*, 13, 418-465. <https://doi.org/10.3390/microbiolres13030031>
- Dotson, B. R., Verschut, V., Flärdh, K., Becher, P. G., & Rasmusson, A. G. (2020). The *Streptomyces* volatile 3-octanone alters auxin/cytokinin and growth in *Arabidopsis thaliana* via the gene family KISS ME DEADLY. *bioRxiv*, 2020.2002.2015.949685. <https://doi.org/10.1101/2020.02.15.949685>
- Duan, Z., Liao, L., & Chen, B. (2022). Complete genome analysis reveals secondary metabolite biosynthetic capabilities of *Streptomyces* sp. R527F isolated from the Arctic Ocean. *Marine Genomics*, 63, 100949. <https://doi.org/10.1016/j.margen.2022.100949>
- Edward, S. (2021). *Capsicum annuum*" with "*Phytophthora capsici*. In. [https://www.forestryimages.org/browse/image/1568066#javascript:fullscreen\(\):](https://www.forestryimages.org/browse/image/1568066#javascript:fullscreen():) Auburn University, Bugwood.org
- Edwin. (2007). Image of grapes in Sauternes affected with noble rot. In. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Sauternes_noble_rot_grapes.jpg: Flickr.
- Ekundayo, F. O., Folorunsho, A. E., Ibanmi, T. A., & Olabanji, O. B. (2022). Antifungal activity of chitinase produced by *Streptomyces* species isolated from grassland soils in Futa Area, Akure. *Bulletin of the National Research Centre*, 46, 95. <https://doi.org/10.1186/s42269-022-00782-4>
- Ely, B. (2021). Genomic GC content drifts downward in most bacterial genomes. *PLOS ONE*, 16, e0244163.
- EPA. (2022). *What are Biopesticides?* EPA United states environmental protection agency. <https://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/what-are-biopesticides>
- Erxleben, A., Wunsch-Palasis, J., Grüning, B. A., Luzhetska, M., Bechthold, A., & Günther, S. (2011). Genome sequence of *Streptomyces* sp. strain Tü6071. *Journal of Bacteriology*, 193, 4278-4279. <https://doi.org/10.1128/JB.00377-11>
- Evangelista Martínez, Z., Quiñones Aguilar, E. E., & Rincón Enríquez, G. (2017). Potencial biotecnológico de las actinobacterias aisladas de suelos de México como fuente natural de moléculas bioactivas: compuestos antimicrobianos y enzimas hidrolíticas. *Temas de Ciencia y Tecnología*, 21, 39 - 51.

- Ezziyani, M., Sánchez Pérez, C., Requena, M. E., Rubio, L., & Candela, M. E. (2004). Biocontrol por *Streptomyces rochei* –Ziyani–, de la podredumbre del pimiento (*Capsicum annuum* L.) causada por *Phytophthora capsici*. *Anales de Biología*, pp. 61-68.
- Fahde, S., Boughribil, S., Sijilmassi, B., & Amri, A. (2023). Rhizobia: A promising source of plant growth-promoting molecules and their non-legume interactions: examining applications and mechanisms. *Agriculture*, 13. <https://doi.org/10.3390/agriculture13071279>
- FAOSTAT. (2024a). *FAOSTAT Pesticides Use. Fungicides + Bactericides + Total. Agriculture use. World+ Total.* <https://www.fao.org/faostat/en/#data/RP/visualize>
- FAOSTAT. (2024b). *FAOSTAT Production/Yield quantities of Chillies and peppers, green (Capsicum spp. and Pimenta spp.) in World + (Total)Database.* <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>
- Feng, S., Tang, S., Jian, Y., Huang, X., Jin, L., Zhu, Z.,...Li, Z. (2022). Complete genome sequence data of a novel *Streptomyces* sp. strain A2-16, a potential biological control agent for potato late blight. *Plant Disease*, 106, 723-726. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-21-0858-A>
- Fertilab. (2018). *Identificación y síntomas de Fusarium Oxysporum y Fusarium Solani.* <https://www.fertilab.com.mx/Sitio/notas/NTF-LF01-Identificacion-y-sintomas-de-Fusarium-Oxysporum-y-Fusarium-Solani.pdf>
- Fillinger, S., & Elad, Y. (2016). *Botrytis – the fungus, the pathogen and its management in agricultural systems.* Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-23371-0>
- Fu, J., Zhong, C., Zhao, Z., Zong, G., & Cao, G. (2017). Complete genome sequence of a natural compounds producer, *Streptomyces violaceus* S21. *Genomics Data*, 12, 116-117. <https://doi.org/10.1016/j.gdata.2017.04.002>
- García-Ulloa, M., Souza, V., Esquivel-Hernández, D. A., Sánchez-Pérez, J., Espinosa-Asuar, L., Viladomat, M.,...Eguiarte, L. E. (2022). Recent differentiation of aquatic bacterial communities in a hydrological system in the Cuatro Ciénegas basin, after a natural perturbation. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.825167>
- Gomez-Escribano, J. P., Holmes, N. A., Schlimpert, S., Bibb, M. J., Chandra, G., Wilkinson, B.,...Bibb, M. J. (2021). *Streptomyces venezuelae* NRRL B-65442: genome sequence of a model strain used to study morphological differentiation in filamentous actinobacteria. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 48, kuab035. <https://doi.org/10.1093/jimb/kuab035>
- Gómez, Á. G., Ramos, F. A., & Sinuco, D. C. (2021). Screening of volatile organic compounds from actinobacteria for the control of phytopathogen *Colletotrichum gloeosporioides*. *Biocontrol Science and Technology*, 31, 1067-1079. <https://doi.org/10.1080/09583157.2021.1918635>

- González Ortega, E., & Fuentes Ponce, M. H. (2022). Dinámica del glifosato en el suelo y sus efectos en la microbiota. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 38. <https://doi.org/https://doi.org/10.20937/rica.54197>
- Gu, Y., Yang, C., Wang, X., Geng, W., Sun, Y., Feng, J.,...Wang, S. (2014). Genome sequence of the ϵ -poly-L-lysine-producing strain *Streptomyces albulus* NK660, isolated from soil in Gutian, Fujian Province, China. *Genome Announcements*, 2, 10.1128/genomea.00532-00514. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00532-14>
- Guerrero-Garzón, J. F., Zehl, M., Schneider, O., Rückert, C., Busche, T., Kalinowski, J.,...Zotchev, S. B. (2020). *Streptomyces* spp. from the marine sponge *Antho dichotoma*: Analyses of secondary metabolite biosynthesis gene clusters and some of their products. *Frontiers in Microbiology*, 11.
- Gupta, R., Gupta, N., & Rathi, P. (2004). Bacterial lipases: an overview of production, purification and biochemical properties. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 64, 763-781. <https://doi.org/10.1007/s00253-004-1568-8>
- Hakeem, K. R., Akhtar, M. S., & Abdullah, S. N. A. (2016). *Plant, soil and microbes*. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-27455-3>
- Hamid, R., Khan, M. A., Ahmad, M., Ahmad, M. M., Abdin, M. Z., Musarrat, J., & Javed, S. (2013). Chitinases: An update. *Journal of pharmacy & bioallied sciences*, 5, 21-29. <https://doi.org/10.4103/0975-7406.106559>
- Hamm, P. S., Dunlap, C. A., Mallowney, M. W., Caimi, N. A., Kelleher, N. L., Thomson, R. J.,...Northup, D. E. (2020). *Streptomyces buecherae* sp. nov., an actinomycete isolated from multiple bat species. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 113, 2213-2221. <https://doi.org/10.1007/s10482-020-01493-4>
- Han, X., Li, M., Ding, Z., Zhao, J., Ji, K., Wen, M., & Lu, T. (2012). Genome sequence of *Streptomyces auratus* strain AGR0001, a phoslactomycin-producing actinomycete. *Journal of Bacteriology*, 194, 5472-5473. <https://doi.org/10.1128/JB.01155-12>
- Holmes, N. A., Devine, R., Qin, Z., Seipke, R. F., Wilkinson, B., & Hutchings, M. I. (2018). Complete genome sequence of *Streptomyces formicae* KY5, the formicamycin producer. *Journal of Biotechnology*, 265, 116-118. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2017.11.011>
- Hrab, P., Rückert, C., Busche, T., Ostash, I., Kalinowski, J., Fedorenko, V.,...Ostash, B. (2021). Complete genome sequence of *Streptomyces cyanogenus* S136, producer of anticancer angucycline landomycin A. *3 Biotech*, 11, 282. <https://doi.org/10.1007/s13205-021-02834-4>
- Htwe, A. Z., Moh, S. M., Moe, K., & Yamakawa, T. (2018). Effects of co-inoculation of *Bradyrhizobium japonicum* SAY3-7 and *Streptomyces griseoflavus* P4 on plant growth, nodulation, nitrogen fixation, nutrient uptake, and yield of soybean in a field condition. *Soil Science and Plant Nutrition*, 64, 222-229. <https://doi.org/10.1080/00380768.2017.1421436>

- Hu, Q.-P., & Xu, J.-G. (2011). A simple double-layered chrome azurol S agar (SD-CASA) plate assay to optimize the production of siderophores by a potential biocontrol agent *Bacillus*. *African Journal of Microbiology Research*, 5. <https://doi.org/10.5897/AJMR11.238>
- Huang, X., Kong, F., Zhou, S., Huang, D., Zheng, J., & Zhu, W. (2019). *Streptomyces tirandamycinicus* sp. Nov., a novel marine sponge-derived actinobacterium with antibacterial potential against *Streptococcus agalactiae*. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00482>
- Hulot, J.-F., & Hiller, N. (2021). *Exploring the benefits of biocontrol for sustainable agriculture - A literature review on biocontrol in light of the European Green Deal*. Institute for European Environmental Policy.
- Hwang, S., Lee, N., Jeong, Y., Lee, Y., Kim, W., Cho, S.,...Cho, B.-K. (2019). Primary transcriptome and translome analysis determines transcriptional and translational regulatory elements encoded in the *Streptomyces clavuligerus* genome. *Nucleic Acids Research*, 47, 6114-6129. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz471>
- Inayati, A., Sulistyowati, L., Aini, L. Q., & Yusnawan, E. (2019). Antifungal activity of volatile organic compounds from *Trichoderma virens*. *AIP Conference Proceedings*, 2120, 80012. <https://doi.org/10.1063/1.5115750>
- INTAGRI. (2020). Cultivo de chile en México. *Artículos Técnicos de INTAGRI. Serie Hortalizas, Num. 21*, 6.
- IPPC Secretariat. (2021a). Effects of climate change on agriculture, forestry and ecosystems. In *Scientific review of the impact of climate change on plant pests* (1 ed.). FAO on behalf of the IPPC Secretariat. <https://doi.org/10.4060/cb4769en>
- IPPC Secretariat. (2021b). Global pests affecting crops, forestry and ecosystems. In F. o. b. o. t. I. S. ; (Ed.), *Scientific review of the impact of climate change on plant pests – A global challenge to prevent and mitigate plant pest risks in agriculture, forestry and ecosystems*. (1 ed., pp. 88 p.). <https://doi.org/https://doi.org/10.4060/cb4769en>
- Ishikawa, S., Huang, M., Tomita, A., Kurihara, Y., Watanabe, R., Iwai, H., & Arakawa, K. (2022). Complete genome sequences of four bacteria isolated from the gut of a spiny ant (*Polyrhachis lamellidens*) *Microbiology Resource Announcements*, 11, e00333-00322. <https://doi.org/10.1128/mra.00333-22>
- Jadhav, H. P., Shaikh, S. S., & Sayyed, R. Z. (2017). Role of hydrolytic enzymes of rhizoflora in biocontrol of fungal phytopathogens: An overview. In S. Mehnaz (Ed.), *Rhizotrophs: Plant growth promotion to bioremediation* (pp. 183-203). Springer Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-10-4862-3_9
- Jadon, K. S., Shah, R., Gour, H. N., & Sharma, P. (2016). Management of blight of bell pepper (*Capsicum annuum* var. *grossum*) caused by *Drechslera bicolor*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 47, 1020-1029. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.04.032>

- Jakubiec-Krzesniak, K., Rajniesz-Mateusiak, A., Guspiel, A., Ziemska, J., & Solecka, J. (2018). Secondary metabolites of actinomycetes and their antibacterial, antifungal and antiviral properties. *Polish Journal of Microbiology*, *67*, 259-272. <https://doi.org/10.21307/pjm-2018-048>
- Jankowitsch, F., Schwarz, J., Rückert, C., Gust, B., Szczepanowski, R., Blom, J.,...Mack, M. (2012). Genome sequence of the bacterium *Streptomyces davawensis* JCM 4913 and heterologous production of the unique antibiotic roseoflavin. *Journal of Bacteriology*, *194*, 6818-6827. <https://doi.org/10.1128/JB.01592-12>
- Jiang, J., He, X., & Cane, D. E. (2007). Biosynthesis of the earthy odorant geosmin by a bifunctional *Streptomyces coelicolor* enzyme. *Nature Chemical Biology*, *3*, 711-715. <https://doi.org/10.1038/nchembio.2007.29>
- Jiang, L., Pu, H., Xiang, J., Su, M., Yan, X., Yang, D.,...Huang, Y. (2018). Huanglongmycin A-C, cytotoxic polyketides biosynthesized by a putative type II polyketide synthase from *Streptomyces* sp. CB09001. *Frontiers in Chemistry*, *6*. <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00254>
- Jones, S. E., & Elliot, M. A. (2017). *Streptomyces* exploration: Competition, volatile communication and new bacterial behaviours. *Trends in Microbiology*, *25*, 522-531. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2017.02.001>
- Jones, S. E., Pham, C. A., Zambri, M. P., McKillip, J., Carlson, E. E., & Elliot, M. A. (2019). *Streptomyces* volatile compounds influence exploration and microbial community dynamics by altering iron availability. *mBio*, *10*, 10.1128/mbio.00171-00119. <https://doi.org/https://doi.org/10.1128/mbio.00171-19>
- Joo, G.-J. (2005). Production of an anti-fungal substance for biological control of *Phytophthora capsici* causing phytophthora blight in red-peppers by *Streptomyces halstedii*. *Biotechnology Letters*, *27*, 201-205. <https://doi.org/10.1007/s10529-004-7879-0>
- Kaari, M., Manikkam, R., Annamalai, K. K., & Joseph, J. (2023). Actinobacteria as a source of biofertilizer/biocontrol agents for bio-organic agriculture. *Journal of Applied Microbiology*, *134*(2), 1xac047. <https://doi.org/10.1093/jambio/1xac047>
- Kaur, S., Dhillon, G. S., Brar, S. K., Vallad, G. E., Chand, R., & Chauhan, V. B. (2012). Emerging phytopathogen *Macrophomina phaseolina* : biology, economic importance and current diagnostic trends. *Critical Reviews in Microbiology*, *38*, 136-151. <https://doi.org/10.3109/1040841X.2011.640977>
- Khan, S., Srivastava, S., Karnwal, A., & Malik, T. (2023). *Streptomyces* as a promising biological control agents for plant pathogens. *Frontiers in Microbiology*, *14*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1285543>
- Kim, J., Na, S.-I., Kim, D., & Chun, J. (2021). UBCG2: Up-to-date bacterial core genes and pipeline for phylogenomic analysis. *Journal of Microbiology*, *59*, 609-615. <https://doi.org/10.1007/s12275-021-1231-4>

- Kim, J. D., Kang, J. E., & Kim, B. S. (2020). Postharvest disease control efficacy of the polyene macrolide lucensomycin produced by *Streptomyces plumbeus* strain CA5 against gray mold on grapes. *Postharvest Biology and Technology*, *162*, 111115. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2019.111115>
- Kim, M. K., Kang, H. J., Roh, S. G., Park, J. S., & Kim, S. B. (2019). *Streptomyces fodineus* sp. nov., an actinobacterium with antifungal activity isolated from mine area soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *69*, 1350-1354. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003353>
- Köhl, J., Kolnaar, R., & Ravensberg, W. J. (2019). Mode of action of microbial biological control agents against plant diseases: Relevance beyond efficacy. *Frontiers in Plant Science*, *10*.
- Krasnow, C., & Ziv, C. (2022). Non-chemical approaches to control postharvest gray mold disease in bell peppers. *Agronomy*, *12*, 216. <https://doi.org/10.3390/agronomy12010216>
- Kumar, A., Verma, V., Dubey, V. K., Srivastava, A., Garg, S. K., Singh, V. P., & Arora, P. K. (2023). Industrial applications of fungal lipases: A review. *Frontiers in Microbiology*, *14*.
- Kumar, M., Kumar, P., Das, P., Solanki, R., & Kapur, M. K. (2022). Proactive role of *Streptomyces* spp. in plant growth stimulation and management of chemical pesticides and fertilizers. *International Journal of Environmental Science and Technology*, *19*, 10457-10476. <https://doi.org/10.1007/s13762-021-03473-1>
- Labana, P., Gosse, J. T., & Boddy, C. N. (2018). Draft genome sequence of the type strain *Streptomyces armeniacus* ATCC 15676. *Microbiology Resource Announcements*, *7*, 10.1128/mra.01107-01118. <https://doi.org/10.1128/mra.01107-18>
- Lacey, H. J., & Rutledge, P. J. (2022). Recently discovered secondary metabolites from *Streptomyces* species. *Molecules*, *27*, 887. <https://doi.org/10.3390/molecules27030887>
- Lacombe-Harvey, M.-È., Brzezinski, R., & Beaulieu, C. (2018). Chitinolytic functions in actinobacteria: ecology, enzymes, and evolution. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *102*, 7219-7230. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9149-4>
- Lahlali, R., Ezrari, S., Radouane, N., Kenfaoui, J., Esmaeel, Q., El Hamss, H.,... Barka, E. A. (2022). Biological control of plant pathogens: A global perspective. *Microorganisms*, *10*. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10030596>
- Lee, E. J., Ahn, Y.-J., Lee, H.-S., & Chung, N. (2012). Biocontrol of pepper anthracnose by a new *Streptomyces* sp. A1022 under greenhouse condition. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, *55*, 447-449. <https://doi.org/10.1007/s13765-012-2077-6>
- Lee, J. Y., Lee, J. Y., Jung, H. W., & Hwang, B. K. (2005). *Streptomyces koyangensis* sp. nov., a novel actinomycete that produces 4-phenyl-3-butenoic acid. *International*

Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 55, 257-262.
<https://doi.org/10.1099/ijs.0.63168-0>

- Lee, N., Hwang, S., Kim, J., Cho, S., Palsson, B., & Cho, B.-K. (2020). Mini review: Genome mining approaches for the identification of secondary metabolite biosynthetic gene clusters in *Streptomyces*. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 18, 1548-1556.
<https://doi.org/10.1016/j.csbj.2020.06.024>
- Lemus Soriano, B. A. (2018). Importancia del manejo biorracional de plagas y enfermedades en la agricultura actual. *Artículos Técnicos de INTAGRI*, 104.
- Li, K., Tang, X., Zhao, J., Guo, Y., Tang, Y., & Gao, J. (2019). *Streptomyces cadmiisoli* sp. nov., a novel actinomycete isolated from cadmium-contaminated soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 69, 1024-1029. <https://doi.org/10.1099/ijssem.0.003262>
- Li, Y., Li, J., Ye, Z., & Lu, L. (2021). Enhancement of angucycline production by combined UV mutagenesis and ribosome engineering and fermentation optimization in *Streptomyces dengpaensis* XZHG99T. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 51, 173-182. <https://doi.org/10.1080/10826068.2020.1805754>
- Li, Y., Zhang, C., Liu, C., Ju, J., & Ma, J. (2018). Genome sequencing of *Streptomyces atratus* SCSIOZH16 and activation production of nocardamine via metabolic engineering. *Frontiers in Microbiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01269>
- Liotti, R. G., da Silva Figueiredo, M. I., & Soares, M. A. (2019). *Streptomyces griseocarneus* R132 controls phytopathogens and promotes growth of pepper (*Capsicum annuum*). *Biological Control*, 138, 104065. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.104065>
- Liu, D., Yan, R., Fu, Y., Wang, X., Zhang, J., & Xiang, W. (2019). Antifungal, plant growth-promoting, and genomic properties of an endophytic actinobacterium *Streptomyces* sp. NEAU-S7GS2. *Frontiers in Microbiology*, 10.
- Liu, W., Sun, F., & Hu, Y. (2018). Genome mining - mediated discovery of a new avermipeptin analogue in *Streptomyces actuosus* ATCC 25421. *ChemistryOpen*, 7, 558-561. <https://doi.org/10.1002/open.201800130>
- Liu, Z., Zhao, Y., Huang, C., & Luo, Y. (2021). Recent advances in silent gene cluster activation in *Streptomyces*. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.632230>
- Lu, C., Zhang, X., Jiang, M., & Bai, L. (2016). Enhanced salinomycin production by adjusting the supply of polyketide extender units in *Streptomyces albus*. *Metabolic Engineering*, 35, 129-137. <https://doi.org/10.1016/j.ymben.2016.02.012>
- Ma, L., Zhang, W., Liu, Z., Huang, Y., Zhang, Q., Tian, X.,...Zhu, Y. (2021). Complete genome sequence of *Streptomyces* sp. SCSIO 03032 isolated from Indian Ocean

- sediment, producing diverse bioactive natural products. *Marine Genomics*, 55, 100803. <https://doi.org/10.1016/j.margen.2020.100803>
- Maciejewska, M., Pessi, I. S., Arguelles-Arias, A., Noirfalise, P., Luis, G., Ongena, M.,...Rigali, S. (2015). *Streptomyces lunaelactis* sp. nov., a novel ferroverdin A-producing *Streptomyces* species isolated from a moonmilk speleothem. *Antonie van Leeuwenhoek*, 107, 519-531. <https://doi.org/10.1007/s10482-014-0348-4>
- Maglangit, F., Fang, Q., Leman, V., Soldatou, S., Ebel, R., Kyeremeh, K., & Deng, H. (2019). Accramycin A, a new aromatic polyketide, from the soil bacterium, *Streptomyces* sp. MA37. *Molecules*, 24. <https://doi.org/10.3390/molecules24183384>
- Mahmud, K., Makaju, S., Ibrahim, R., & Missaoui, A. (2020). Current progress in nitrogen fixing plants and microbiome research. *Plants*, 9. <https://doi.org/10.3390/plants9010097>
- MarketsandMarkets. (2020). *Biofungicides market by type (microbial species, botanical), mode of application (soil treatment), foliar application, seed treatment), species (Bacillus, Trichoderma, Streptomyces, Pseudomonas), crop type, formulation, and region - Global Forecast to 2025*. <https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/biofungicide-market-8734417.html>
- McCormick, J. R., & Flärdh, K. (2012). Signals and regulators that govern *Streptomyces* development. *FEMS Microbiology Reviews*, 36, 206-231. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00317.x>
- Meier-Kolthoff, J. P., Carbasse, J. S., Peinado-Olarte, R. L., & Göker, M. (2022). TYGS and LPSN: a database tandem for fast and reliable genome-based classification and nomenclature of prokaryotes. *Nucleic Acids Research*, 50, D801-D807. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab902>
- Mo, P., Liu, J., Zhao, Y., & Xu, Z. (2020). *Streptomyces phaeolivaceus* sp. nov. and *Streptomyces broussonetiae* sp. nov., isolated from the leaves and rhizosphere soil of *Broussonetia papyrifera*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70, 6458-6467. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004556>
- Moreira-Morrillo, A., Monteros Altamirano, Á., Reis, A., & Garcés Fiallos, F. (2022). *Phytophthora capsici* on *Capsicum* plants: A destructive pathogen in chili and pepper crops. Ch. 4. <https://doi.org/10.5772/intechopen.104726>
- Myo, E. M., Ge, B., Ma, J., Cui, H., Liu, B., Shi, L.,...Zhang, K. (2019). Indole-3-acetic acid production by *Streptomyces fradiae* NKZ-259 and its formulation to enhance plant growth. *BMC Microbiology*, 19, 155. <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1528-1>
- Myronovskyi, M., Tokovenko, B., Manderscheid, N., Petzke, L., & Luzhetskyy, A. (2013). Complete genome sequence of *Streptomyces fulvissimus*. *Journal of Biotechnology*, 168, 117-118. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2013.08.013>

- Naz, F., Khan, I., Islam, A., & Khan, L. A. (2022). Interaction of fungal lipase with potential phytotherapeutics. *PLOS ONE*, *17*, e0264460.
- Nelson, S. (2018). Banana ('Gros Michel'): *Fusarium* wilt. In. <https://www.flickr.com/photos/scotnelson/43221089254/>: Flickr.
- Newitt, J. T., Prudence, S. M. M., Hutchings, M. I., & Worsley, S. F. (2019). Biocontrol of cereal crop diseases using *Streptomyces*. *Pathogens*, *8*. <https://doi.org/10.3390/pathogens8020078>
- Ng, H. S., Wan, P. K., Kondo, A., Chang, J. S., & Lan, J. C. W. (2023). Production and recovery of ectoine: A review of current state and future prospects. *Processes*, *11*, 339. <https://doi.org/10.3390/pr11020339>
- Nguyen, X.-H., Naing, K.-W., Lee, Y.-S., Tindwa, H., Lee, G.-H., Jeong, B.-K.,...Kim, K.-Y. (2012). Biocontrol potential of *Streptomyces griseus* H7602 against root rot disease (*Phytophthora capsici*) in pepper. *The Plant Pathology Journal*, *28*, 282-289. <https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.03.2012.0040>
- Nikolaidis, M., Hesketh, A., Frangou, N., Mossialos, D., Van de Peer, Y., Oliver, S. G., & Amoutzias, G. D. (2023). A panoramic view of the genomic landscape of the genus *Streptomyces*. *Microbial Genomics*, *9*(6). <https://doi.org/https://doi.org/10.1099/mgen.0.001028>
- Nishizawa, T., Miura, T., Harada, C., Guo, Y., Narisawa, K., Ohta, H.,...Shirai, M. (2016). Complete genome sequence of *Streptomyces parvulus* 2297, integrating site-specifically with actinophage R4. *Genome Announcements*, *4*, 10.1128/genomea.00875-00816. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00875-16>
- Ohnishi, Y., Ishikawa, J., Hara, H., Suzuki, H., Ikenoya, M., Ikeda, H.,...Horinouchi, S. (2008). Genome sequence of the streptomycin-producing microorganism *Streptomyces griseus* IFO 13350. *Journal of Bacteriology*, *190*, 4050-4060. <https://doi.org/10.1128/JB.00204-08>
- Olanrewaju, O. S., & Babalola, O. O. (2019). *Streptomyces*: implications and interactions in plant growth promotion. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *103*, 1179-1188. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-09577-y>
- Olanrewaju, O. S., Glick, B. R., & Babalola, O. O. (2017). Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *33*, 197. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2364-9>
- Omura, S., Ikeda, H., Ishikawa, J., Hanamoto, A., Takahashi, C., Shinose, M.,...Hattori, M. (2001). Genome sequence of an industrial microorganism *Streptomyces avermitilis*: Deducing the ability of producing secondary metabolites. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *98*, 12215-12220. <https://doi.org/10.1073/pnas.211433198>
- Ortiz Acosta, S. E., & Romo Aguilar, M. d. L. (2016). Impactos socioambientales de la gestión del agua en el área natural protegida de Cuatro Ciénegas, Coahuila. *Región y sociedad*, *28*, 195-230.

- Ortiz Lechuga, E. G., Quintero Zapata, I., & Arévalo Niño, K. (2016). Detection of extracellular enzymatic activity in microorganisms isolated from waste vegetable oil contaminated soil using plate methodologies. *African Journal of Biotechnology*, *15*, 408-416. <https://doi.org/10.5897/AJB2015.14991>
- Ortseifen, V., Winkler, A., Albersmeier, A., Wendler, S., Pühler, A., Kalinowski, J., & Rückert, C. (2015). Complete genome sequence of the actinobacterium *Streptomyces glaucescens* GLA.O (DSM 40922) consisting of a linear chromosome and one linear plasmid. *Journal of Biotechnology*, *194*, 81-83. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2014.11.036>
- Ousaadi, M. I., Merouane, F., Berkani, M., Almomani, F., Vasseghian, Y., & Kitouni, M. (2021). Valorization and optimization of agro-industrial orange waste for the production of enzyme by halophilic *Streptomyces* sp. *Environmental Research*, *201*, 111494. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.111494>
- Pacios-Michelena, S., Aguilar González, C. N., Alvarez-Perez, O. B., Rodriguez-Herrera, R., Chávez-González, M., Arredondo Valdés, R.,...Ilyina, A. (2021). Application of *Streptomyces* antimicrobial compounds for the control of phytopathogens. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, *5*.
- Palaniyandi, S. A., Yang, S. H., & Suh, J.-W. (2013). Extracellular proteases from *Streptomyces phaeopurpureus* ExPro138 inhibit spore adhesion, germination and appressorium formation in *Colletotrichum coccodes*. *Journal of Applied Microbiology*, *115*, 207-217. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jam.12212>
- Pang, Z., McKee, L. S., Srivastava, V., Kliner, S., Díaz-Moreno, S. M., Orlean, P.,...Bulone, V. (2020). Analysis of a cellulose synthase catalytic subunit from the oomycete pathogen of crops *Phytophthora capsici*. *Cellulose*, *27*, 8551-8565. <https://doi.org/10.1007/s10570-020-03362-9>
- Parada, R. B., Marguet, E. R., & Vallejo, M. (2017). Aislamiento y caracterización parcial de actinomicetos de suelos con actividad antimicrobiana contra bacterias multidrogo-resistentes. *Revista Colombiana de Biotecnología*, *19*, 17-23. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v19n2.64098>
- Parisi, M., Alioto, D., & Tripodi, P. (2020). Overview of biotic stresses in pepper (*Capsicum* spp.): sources of genetic resistance, molecular breeding and genomics. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*, 2587. <https://doi.org/10.3390/ijms21072587>
- Park, J. S., Kim, D. E., Hong, S. C., Kim, S. Y., Kwon, H. C., Hyun, C. G., & Choi, J. (2021). Genome analysis of *Streptomyces nojiriensis* jcm 3382 and distribution of gene clusters for three antibiotics and an azasugar across the genus *Streptomyces*. *Microorganisms*, *9*, 1802. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9091802>
- Patel, N. (2022). Siderophores In N. Amaresan, P. Patel, & D. Amin (Eds.), *Practical Handbook on Agricultural Microbiology* (pp. 351-359). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1724-3_47

- Paul, B. (2008). Detached sporangia of *Phytophthora capsici*. In. <https://www.insectimages.org/browse/image/5368387>: University of Kentucky.
- Pavan, M. E., López, N. I., & Pettinari, M. J. (2020). Melanin biosynthesis in bacteria, regulation and production perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *104*, 1357-1370. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-10245-y>
- Pawar, K. S., Singh, P. N., & Singh, S. K. (2023). Fungal alkaline proteases and their potential applications in different industries [Review]. *Frontiers in Microbiology*, *14*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1138401>
- Pedraza Herrera, L. A., Sánchez, F., Arias Avila, V., Moreno, M. F., & Sánchez Leal, L. C. (2022). Enfermedades emergentes y reemergentes de plantas en Latinoamérica: Una revisión. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, *13*, 15-51. <https://doi.org/10.22490/21456453.4639>
- Peralta-García, C., Sánchez-Coronado, M. E., Orozco-Segovia, A., Orozco-Segovia, S., & Pisanty-Baruch, I. (2016). Germination of four riparian species in a disturbed semi-arid ecosystem. *South African Journal of Botany*, *106*, 110-118. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2016.06.006>
- Pérez-Corral, D. A., Ornelas-Paz, J. d. J., Olivas-Orozco, G. I., Acosta-Muñiz, C. H., Salas-Marina, M. Á., Ruiz-Cisneros, M. F.,...Rios-Velasco, C. (2020). Antagonistic effect of volatile and non-volatile compounds from *Streptomyces* strains on cultures of several phytopathogenic fungi. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, *32*, 879-889. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2020.v32.i12.2222>
- Pérez-Corral, D. A., Ornelas-Paz, J. d. J., Olivas, G. I., Acosta-Muñiz, C. H., Salas-Marina, M. Á., Berlanga-Reyes, D. I.,...Rios-Velasco, C. (2022). Growth promotion of *Phaseolus vulgaris* and *Arabidopsis thaliana* seedlings by *Streptomyces* volatile compounds. *Plants*, *11*, 875. <https://doi.org/10.3390/plants11070875>
- Peshin, R., & Dhawan, A. K. (2009). *Integrated pest management volume 1: Innovation-development process* (1 ed.). Springer Dordrecht. <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8992-3>
- Pethick, F. E., MacFadyen, A. C., Tang, Z., Sangal, V., Liu, T. T., Chu, J.,...Hunter, I. S. (2013). Draft genome sequence of the oxytetracycline-producing bacterium *Streptomyces rimosus* ATCC 10970. *Genome Announcements*, *1*, 10.1128/genomea.00063-00013. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00063-13>
- Photchana, T. (2014). Host symptom of *Macrophomina phaseolina* on mungbean. In. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Host_symptom_of_Macrophomina_phaseolina_on_Mungbean.jpg: Wikimedia Commons.
- Ramesh, C., Anwesh, M., Vinithkumar, N. V., Kirubakaran, R., & Dufossé, L. (2021). Complete genome analysis of undecylprodigiosin pigment biosynthesizing marine *Streptomyces* species displaying potential bioactive applications. *Microorganisms*, *9*, 2249. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9112249>

- Rawat, P., Das, S., Shankhdhar, D., & Shankhdhar, S. C. (2021). Phosphate-solubilizing microorganisms: Mechanism and their role in phosphate solubilization and uptake. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 21, 49-68. <https://doi.org/10.1007/s42729-020-00342-7>
- Razzaq, A., Shamsi, S., Ali, A., Ali, Q., Sajjad, M., Malik, A., & Ashraf, M. (2019). Microbial proteases applications. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 7.
- Risdian, C., Landwehr, W., Rohde, M., Schumann, P., Hahnke, R. L., Spröer, C.,...Wink, J. (2021). *Streptomyces bathyalis* sp. nov., an actinobacterium isolated from the sponge in a deep sea. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 114, 425-435. <https://doi.org/10.1007/s10482-021-01528-4>
- Rodriguez-R, L., & Konstantinidis, K. (2016). The enveomics collection: a toolbox for specialized analyses of microbial genomes and metagenomes. *PeerJ Preprints*. <https://doi.org/10.7287/peerj.preprints.1900v1>
- Rodriguez Guzman, M. D. P. (2001). Biodiversidad de los hongos fitopatógenos del suelo de México. *ACTA ZOOLOGICA MEXICANA (N.S.)*, 53-78. <https://doi.org/10.21829/azm.2001.8401846>
- Rajo-Báez, I., Álvarez-Rodríguez, B., García-Estrada, R. S., León-Félix, J., Sañudo-Barajas, A., & Allende-Molar, R. (2017). Situación actual de *Colletotrichums* spp. en México: Taxonomía, caracterización, patogénesis y control. *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*, 35. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1703-9>
- Romero-Rodríguez, A., Maldonado-Carmona, N., Ruiz-Villafán, B., Koirala, N., Rocha, D., & Sánchez, S. (2018). Interplay between carbon, nitrogen and phosphate utilization in the control of secondary metabolite production in *Streptomyces*. *Antonie van Leeuwenhoek*, 111, 761-781. <https://doi.org/10.1007/s10482-018-1073-1>
- Rückert, C., Albersmeier, A., Busche, T., Jaenicke, S., Winkler, A., Friðjónsson, Ó. H.,...Kalinowski, J. (2015). Complete genome sequence of *Streptomyces lividans* TK24. *Journal of Biotechnology*, 199, 21-22. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2015.02.004>
- Rückert, C., Szczepanowski, R., Albersmeier, A., Goesmann, A., Iftime, D., Musiol, E. M.,...Weber, T. (2013). Complete genome sequence of the kirromycin producer *Streptomyces collinus* Tü 365 consisting of a linear chromosome and two linear plasmids. *Journal of Biotechnology*, 168, 739-740. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2013.10.004>
- Sabaratnam, S. (2024). *Phytophthora* blight of cucurbits and pepper. *British Columbia. Ministry of Agriculture and Food*, 6.

- Saberi Riseh, R., Vatankhah, M., Hassanisaadi, M., & Barka, E. A. (2024). Unveiling the role of hydrolytic enzymes from soil biocontrol bacteria in sustainable phytopathogen management. *Frontiers in Bioscience-Landmark*, 29. <https://doi.org/10.31083/j.fbl2903105>
- Sadeghi, A., Soltani, B. M., Nekouei, M. K., Jouzani, G. S., Mirzaei, H. H., & Sadeghizadeh, M. (2014). Diversity of the ectoines biosynthesis genes in the salt tolerant *Streptomyces* and evidence for inductive effect of ectoines on their accumulation. *Microbiological Research*, 169, 699-708. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2014.02.005>
- SADER-SENASICA. (2019). *Manual para el buen uso y anejo de plaguicidas en campo* (Primera ed.).
- SADER. (2022). *México, principal exportador mundial de pimientos frescos: Agricultura*. <https://www.gob.mx/agricultura/prensa/mexico-principal-exportador-mundial-de-pimientos-frescos-agricultura?idiom=es>
- Salehi, B., Fokou, P. V. T., Sharifi-Rad, M., Zucca, P., Pezzani, R., Martins, N., & Sharifi-Rad, J. (2019). The therapeutic potential of naringenin: A review of clinical trials. *Pharmaceuticals*, 12, 11. <https://doi.org/10.3390/ph12010011>
- Saltos, L. A., Monteros-Altamirano, Á., Reis, A., & Garcés-Fiallos, F. R. (2022). *Phytophthora capsici*: the diseases it causes and management strategies to produce healthier vegetable crops. *Horticultura Brasileira*, 40, 5-17. <https://doi.org/10.1590/s0102-0536-20220101>
- Sanogo, S., Lamour, K., Kousik, C. S., Lozada, D. N., Parada-Rojas, C. H., Quesada-Ocampo, L. M.,...Miller, S. A. (2023). *Phytophthora capsici*, 100 years later: Research mile markers from 1922 to 2022. *Phytopathology*®, 113, 921-930. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-08-22-0297-RVW>
- Schneider, B., Pfeiffer, F., Dyll-Smith, M., & Kunte, H.-J. (2022). Genome sequence of *Micromonospora aurantiaca* strain G9, a member of a bacterial consortium capable of polyethylene degradation. *Microbiology Resource Announcements*, 11, e01148-01121. <https://doi.org/10.1128/mra.01148-21>
- Selim, M. S. M., Abdelhamid, S. A., & Mohamed, S. S. (2021). Secondary metabolites and biodiversity of actinomycetes. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 19, 72. <https://doi.org/https://doi.org/10.1186/s43141-021-00156-9>
- SENASICA. (2019). Protocolo de diagnóstico: *Colletotrichum coccodes* (Antracnosis del tomate y chile). 26.
- Shao, H., Chen, M., Fei, X., Zhang, R., Zhong, Y., Ni, W.,...Tan, X. (2019). Complete genome sequence and characterization of a polyethylene biodegradation strain, *Streptomyces albogriseolus* LBX-2. *Microorganisms*, 7, 379. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7100379>

- Sharma, V., Kaur, R., & Salwan, R. (2021). *Streptomyces*: host for refactoring of diverse bioactive secondary metabolites. *3 Biotech*, *11*, 340. <https://doi.org/10.1007/s13205-021-02872-y>
- Sharma, V., Sharma, A., Malannavar, A. B., & Salwan, R. (2020). Molecular aspects of biocontrol species of *Streptomyces* in agricultural crops. In V. Sharma, R. Salwan, & L. K. T. Al-Ani (Eds.), *Molecular Aspects of Plant Beneficial Microbes in Agriculture* (pp. 89-109). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818469-1.00008-0>
- Shaun, J., & Suma, S. (2017). An efficient method of production of colloidal chitin for enumeration of chitinase producing bacteria. *Mapana - Journal of Sciences*, *16*, 37-45. <https://doi.org/10.12723/mjs.43.4>
- SIAP. (2021). *Panorama Agroalimentario* 2021. https://nube.siap.gob.mx/gobmx_publicaciones_siap/pag/2021/Panorama-Agroalimentario-2021
- SIAP. (2024). *Panorama Agroalimentario* 2018-2024. <https://panorama.agricultura.gob.mx/vista/productos.php>
- Sichtig, H., Minogue, T., Yan, Y., Stefan, C., Hall, A., Tallon, L.,...Scherf, U. (2019). FDA-ARGOS is a database with public quality-controlled reference genomes for diagnostic use and regulatory science. *Nature Communications*, *10*, 3313. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-11306-6>
- Siegenthaler, T. B., & Hansen, Z. R. (2021). Sensitivity of *Phytophthora capsici* from tennessee to mefenoxam, fluopicolide, oxathiapiprolin, dimethomorph, mandipropamid, and cyazofamid. *Plant Disease*, *105*, 3000-3007. <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-20-1805-RE>
- Singh, A. K., & Chhatpar, H. S. (2011). Purification, characterization and thermodynamics of antifungal protease from *Streptomyces* sp. A6. *Journal of Basic Microbiology*, *51*, 424-432. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jobm.201000310>
- Sinha, A., Phillips-Salemka, S., Niraula, T. A., Short, K. A., & Niraula, N. P. (2019). The complete genomic sequence of *Streptomyces spectabilis* NRRL-2792 and identification of secondary metabolite biosynthetic gene clusters. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, *46*, 1217-1223. <https://doi.org/10.1007/s10295-019-02172-8>
- Sivakala, K. K., Gutiérrez-García, K., Jose, P. A., Thinesh, T., Anandham, R., Barona-Gómez, F., & Sivakumar, N. (2021). Desert environments facilitate unique evolution of biosynthetic potential in *Streptomyces*. *Molecules*, *26*(3).
- Soberón, J. R., Sgariglia, M. A., Carabajal Torrez, J. A., Aguilar, F. A., Pero, E. J. I., Sampietro, D. A.,...Labadie, G. R. (2020). Antifungal activity and toxicity studies of flavanones isolated from *Tessaria dodoneifolia* aerial parts. *Heliyon*, *6*, e05174. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05174>

- Sousa, J. A. d. J., & Olivares, F. L. (2016). Plant growth promotion by streptomycetes: ecophysiology, mechanisms and applications. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 3, 24. <https://doi.org/10.1186/s40538-016-0073-5>
- Souza, V., Moreno-Letelier, A., Trivisano, M., Alcaraz, L. D., Olmedo, G., & Eguiarte, L. E. (2018). The lost world of Cuatro Ciénegas basin, a relictual bacterial niche in a desert oasis. *eLife*, 7, e38278. <https://doi.org/10.7554/eLife.38278>
- Strock, C. F., & Lynch, J. P. (2020). Root secondary growth: an unexplored component of soil resource acquisition. *Annals of Botany*, 126, 205-218. <https://doi.org/10.1093/aob/mcaa068>
- Subramani, R., & Sipkema, D. (2019). Marine rare actinomycetes: A promising source of structurally diverse and unique novel natural products. *Marine Drugs*, 17, 249. <https://doi.org/10.3390/md17050249>
- Sun, J., Zhao, G., O'Connor, R. D., Davison, J. R., & Bewley, C. A. (2021). Vertirhodins A-F, C-linked pyrrolidine-iminosugar-containing pyranonaphthoquinones from *Streptomyces* sp. B15-008. *Organic Letters*, 23, 682-686. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.0c03825>
- Swarnalatha, G. V., Goudar, V., Reddy, E. C. R. G. S., Al Tawaha, A. R. M., & Sayyed, R. Z. (2022). Siderophores and their applications in sustainable management of plant diseases. In R. Z. Sayyed & V. G. Uarrota (Eds.), *Secondary Metabolites and Volatiles of PGPR in Plant-Growth Promotion* (pp. 289-302). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-031-07559-9_14
- Sweeney, P., Murphy, C. D., & Caffrey, P. (2016). Exploiting the genome sequence of *Streptomyces nodosus* for enhanced antibiotic production. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100, 1285-1295. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-7060-9>
- Swiontek Brzezinska, M., Jankiewicz, U., Kalwasińska, A., Świątczak, J., & Żero, K. (2019). Characterization of chitinase from *Streptomyces luridiscabiei* U05 and its antagonist potential against fungal plant pathogens. *Journal of Phytopathology*, 167, 404-412. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jph.12809>
- Tamreihao, K., Nimaichand, S., Chanu, S. B., Devi, K. A., Lynda, R., Jeeniita, N., & Ningthoujam, D. S. (2018). Acidotolerant *Streptomyces* sp. MBRL 10 from limestone quarry site showing antagonism against fungal pathogens and growth promotion in rice plants. *Journal of King Saud University - Science*, 30, 143-152. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jksus.2016.10.003>
- Tang, X., Zhao, J., Li, K., Chen, Z., Sun, Y., & Gao, J. (2019). *Streptomyces cyaneochromogenes* sp. nov., a blue pigment-producing actinomycete from manganese-contaminated soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 69, 2202-2207. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003406>
- Theodor, D. L. (2001). Canker on a green ash tree (*Fraxinus pennsylvanica*) caused by the fungal plant pathogen *Botryosphaeria rhodina*. In.

https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Botryosphaeria_rhodina.jpg: USDA Forest Service, Bugwood.org.

- Thibessard, A., Haas, D., Gerbaud, C., Aigle, B., Lautru, S., Pernodet, J. L., & Leblond, P. (2015). Complete genome sequence of *Streptomyces ambofaciens* ATCC 23877, the spiramycin producer. *Journal of Biotechnology*, 214, 117-118. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2015.09.020>
- Tian, J., Yang, J., Li, L., Ruan, L., Wei, W., Zheng, G.,...Lu, Y. (2015). The complete genome sequence of a high pristinomycin-producing strain *Streptomyces pristinaespiralis* HCCB10218. *Journal of Biotechnology*, 214, 45-46. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2015.09.010>
- Timofeeva, A. M., Galyamova, M. R., & Sedykh, S. E. (2022). Bacterial siderophores: classification, biosynthesis, perspectives of use in agriculture. *Plants*, 11, 3065. <https://doi.org/10.3390/plants11223065>
- Trinidad-Cruz, J. R., Rincón-Enríquez, G., Evangelista-Martínez, Z., & Quiñones-Aguilar, E. E. (2021). Control biorracional de *Phytophthora capsici* en plantas de chile mediante *Streptomyces* spp. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 27. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2020.06.014>
- Tyc, O., Song, C., Dickschat, J. S., Vos, M., & Garbeva, P. (2017). The ecological role of volatile and soluble secondary metabolites produced by soil bacteria. *Trends in Microbiology*, 25, 280-292. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.12.002>
- Undabarrena, A., Ugalde, J. A., Seeger, M., & Cámara, B. (2017). Genomic data mining of the marine actinobacteria *Streptomyces* sp. H-KF8 unveils insights into multi-stress related genes and metabolic pathways involved in antimicrobial synthesis. *PeerJ*, 5, e2912. <https://doi.org/10.7717/peerj.2912>
- Van der Meij, A., Worsley, S. F., Hutchings, M. I., & van Wezel, G. P. (2017). Chemical ecology of antibiotic production by actinomycetes. *FEMS Microbiology Reviews*, 41, 392-416. <https://doi.org/10.1093/femsre/fux005>
- Vargas Hoyos, H. A., Santos, S. N., Padilla, G., & Melo, I. S. (2019). Genome sequence of *Streptomyces cavourensis* 1AS2a, a rhizobacterium isolated from the Brazilian Cerrado Biome. *Microbiology Resource Announcements*, 8, 10.1128/mra.00065-00019. <https://doi.org/10.1128/mra.00065-19>
- Velásquez-Valle, R., Reveles-Torres, L. R., & Reveles-Hernandez, M. (2017). Identificación de enfermedades causadas por bacterias y nematodos en cultivos de Aguascalientes, Durango y Zacatecas. *Folleto Técnico Núm 90*, 86.
- Velásquez-Valle, R., Reveles-Torres, L. R., & Reveles-Hernández, M. (2013). *Manejo de las principales enfermedades del chile para secado en el norte centro de México* (Primera ed.)
- Velázquez-Herrera, F. D., Lobo-Sánchez, M., Carranza-Cuautle, G. M., Sampieri, Á., del Rocío Bustillos-Cristales, M., & Fetter, G. (2022). Novel bio-fertilizer based on

- nitrogen-fixing bacterium immobilized in a hydrotalcite/alginate composite material. *Environmental Science and Pollution Research*, 29, 32220-32226. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-17943-z>
- Vurukonda, S. S. K. P., Giovanardi, D., & Stefani, E. (2018). Plant growth promoting and biocontrol activity of *Streptomyces* spp. as endophytes. *International Journal of Molecular Sciences*, 19. <https://doi.org/10.3390/ijms19040952>
- Wang, B., Li, P., Xu, S., Liu, L., Xu, Y., Feng, X.,...Chen, Y. (2021). Inhibitory effects of the natural product esculetin on *Phytophthora capsici* and its possible mechanism. *Plant Disease*, 105, 1814-1822. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-20-2054-RE>
- Wang, C., Wang, Y., Ma, J., Hou, Q., Liu, K., Ding, Y., & Du, B. (2018). Screening and whole-genome sequencing of two *Streptomyces* species from the rhizosphere soil of peony reveal their characteristics as plant growth-promoting rhizobacteria. *BioMed Research International*, 2018, 1-11. <https://doi.org/10.1155/2018/2419686>
- Wang, C., Wang, Z., Qiao, X., Li, Z., Li, F., Chen, M.,...Cui, H. (2013). Antifungal activity of volatile organic compounds from *Streptomyces alboflavus* TD-1. *FEMS microbiology letters*, 341, 45-51. <https://doi.org/10.1111/1574-6968.12088>
- Wang, L., Wang, S., He, Q., Yu, T., Li, Q., & Hong, B. (2012). Draft genome sequence of *Streptomyces globisporus* C-1027, which produces an antitumor antibiotic consisting of a nine-membered enediyne with a chromoprotein. *Journal of Bacteriology*, 194, 4144-4144. <https://doi.org/10.1128/JB.00797-12>
- Wang, X., Ning, X., Zhao, Q., Kang, Q., & Bai, L. (2017). Improved PKS gene expression with strong endogenous promoter resulted in geldanamycin yield increase. *Biotechnology Journal*, 12, 1700321. <https://doi.org/10.1002/biot.201700321>
- Wang, X. J., Yan, Y. J., Zhang, B., An, J., Wang, J. J., Tian, J.,...Xiang, W. S. (2010). Genome sequence of the milbemycin-producing bacterium *Streptomyces bingchengensis*. *Journal of Bacteriology*, 192, 4526-4527. <https://doi.org/10.1128/JB.00596-10>
- Weissman, J. L., Fagan, W. F., & Johnson, P. L. F. (2019). Linking high GC content to the repair of double strand breaks in prokaryotic genomes. *PLoS Genetics*, 15, e1008493. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1008493>
- Wu, H., Liu, W., Shi, L., Si, K., Liu, T., Dong, D.,...Liang, Y. (2017). Comparative genomic and regulatory analyses of natamycin production of *Streptomyces lydicus* A02. *Scientific Reports*, 7, 9114. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-09532-3>
- Wu, H., Qu, S., Lu, C., Zheng, H., Zhou, X., Bai, L., & Deng, Z. (2012). Genomic and transcriptomic insights into the thermo-regulated biosynthesis of validamycin in *Streptomyces hygroscopicus* 5008. *BMC Genomics*, 13, 337. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-337>
- Wu, L., Chen, G., & Feng, G. (2017). Complete genome sequence of *Streptomyces griseochromogenes* ATCC 14511T, a producer of nucleoside compounds and

- diverse secondary metabolites. *Journal of Biotechnology*, 249, 16-19. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2017.03.017>
- Xie, C., & Vallad, G. (2010). Integrated management of southern blight in vegetable production. *EDIS*, 2010. <https://doi.org/10.32473/edis-pp272-2010>
- Xu, Y., Tan, G., Ke, M., Li, J., Tang, Y., Meng, S.,...Zhang, B. (2018). Enhanced lincomycin production by co-overexpression of metK1 and metK2 in *Streptomyces lincolnensis*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 45, 345-355. <https://doi.org/10.1007/s10295-018-2029-1>
- Yin, M., Jiang, M., Ren, Z., Dong, Y., & Lu, T. (2017). The complete genome sequence of *Streptomyces autolyticus* CGMCC 0516, the producer of geldanamycin, autolytimycin, reblastatin and elaiophylin. *Journal of Biotechnology*, 252, 27-31. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2017.04.037>
- Yoon, S.-H., Ha, S.-m., Lim, J., Kwon, S., & Chun, J. (2017). A large-scale evaluation of algorithms to calculate average nucleotide identity. *Antonie van Leeuwenhoek*, 110, 1281-1286. <https://doi.org/10.1007/s10482-017-0844-4>
- Zaburannyi, N., Rabyk, M., Ostash, B., Fedorenko, V., & Luzhetskyy, A. (2014). Insights into naturally minimised *Streptomyces albus* J1074 genome. *BMC Genomics*, 15, 97. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-97>
- Zhang, B., Tang, S., Chen, X., Zhang, G., Zhang, W., Chen, T.,...Dyson, P. (2018). *Streptomyces qaidamensis* sp. nov., isolated from sand in the Qaidam Basin, China. *The Journal of Antibiotics*, 71, 880-886. <https://doi.org/10.1038/s41429-018-0080-9>
- Zhang, B., Tang, S., Yang, R., Chen, X., Zhang, D., Zhang, W.,...Dyson, P. (2019). *Streptomyces dangxiogensis* sp. nov., isolated from soil of Qinghai-Tibet Plateau. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 69, 2729-2734. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003550>
- Zhang, C., Ding, W., Qin, X., & Ju, J. (2019). Genome sequencing of *Streptomyces olivaceus* SCSIO T05 and activated production of lobophorin CR4 via metabolic engineering and genome mining. *Marine Drugs*, 17, 593. <https://doi.org/10.3390/md17100593>
- Zhang, H., Li, Q., Zhao, Y., Zhang, M., Xu, D., Wu, Z., & Zhou, Q. (2021). Endoglucanase activity of cellulolytic bacteria from lake sediments and its application in hydrophyte degradation. *FEMS Microbiology Letters*, 367, fnaa200. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnaa200>
- Zhang, H. Y., Xie, Z. P., Lou, T. T., & Wang, S. Y. (2019). Complete genome sequence of *Streptomyces olivoreticuli* ATCC 31159 which can produce anticancer bestatin and show diverse secondary metabolic potentials. *Current Microbiology*, 76, 370-375. <https://doi.org/10.1007/s00284-019-01638-3>
- Zhang, J., Chen, J., Hu, L., Jia, R., Ma, Q., Tang, J., & Wang, Y. (2021). Antagonistic action of *Streptomyces pratensis* S10 on *Fusarium graminearum* and its complete

- genome sequence. *Environmental Microbiology*, 23, 1925-1940. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15282>
- Zhang, J., He, Z., Xu, J., Song, S., Zhu, Q., Wu, G.,...Zhang, H. (2020). Semi-rational mutagenesis of an industrial *Streptomyces fungicidicus* strain for improved enduracidin productivity. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104, 3459-3471. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10488-0>
- Zhang, L., Zhang, H., Huang, Y., Peng, J., Xie, J., & Wang, W. (2021). Isolation and evaluation of rhizosphere actinomycetes with potential application for biocontrolling *Fusarium* wilt of banana caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense tropical race 4. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.763038>
- Zhao, J., Tang, X., Li, K., Guo, Y., Feng, M., & Gao, J. (2020). *Streptomyces paludis* sp. nov., isolated from an alpine wetland soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70, 773-778. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003821>
- Zhao, X., & Yang, T. (2011). Draft genome sequence of the marine sediment-derived actinomycete *Streptomyces xinghaiensis* NRRL B24674 T. *Journal of Bacteriology*, 193, 5543-5543. <https://doi.org/10.1128/JB.05689-11>
- Zheng, S., Zhu, Y., Liu, K., & Li, J. (2020). Complete genome sequence analysis of a novel granaticin producer, *Streptomyces* sp. A1013Y. <https://doi.org/10.21203/rs.2.20111/v1>
- Zhou, S., Xiao, K., Huang, D., Wu, W., Xu, Y., Xia, W., & Huang, X. (2019). Complete genome sequence of *Streptomyces spongiicola* HNM0071T, a marine sponge-associated actinomycete producing staurosporine and echinomycin. *Marine Genomics*, 43, 61-64. <https://doi.org/10.1016/j.margen.2018.08.002>
- Zhou, S., Yang, X., Huang, D., & Huang, X. (2017). *Streptomyces solisilvae* sp. nov., isolated from tropical forest soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 67, 3553-3558. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002166>
- Zhu, P., Xu, Y., Fu, J., & Liao, Y. (2020). *Streptomyces qinzhouensis* sp. nov., a mangrove soil actinobacterium. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70, 1800-1804. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003974>
- Zhu, Q., Cheng, W., Song, Y., He, Q., Ju, J., & Li, Q. (2021). Complete genome sequence of the deep South China Sea-derived *Streptomyces niveus* SCSIO 3406, the producer of cytotoxic and antibacterial marfuraquinocins. *PLoS ONE*, 16, e0248404. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0248404>
- Zhu, Z., Tian, Z., & Li, J. (2021). A *Streptomyces morookaensis* strain promotes plant growth and suppresses *Fusarium* wilt of banana. *Tropical Plant Pathology*, 46, 175-185. <https://doi.org/10.1007/s40858-020-00396-z>
- Zong, G., Zhong, C., Fu, J., Zhao, Z., & Cao, G. (2018). Complete genome sequence of the high-natamycin-producing strain *Streptomyces gilvosporeus* F607. *Genome*

Announcements, 6,
<https://doi.org/10.1128/genomeA.01402-17>

10.1128/genomea.01402-01417.

ANEXO 1

Tabla: Evaluación de la actividad antagonica de 60 aislados de actinomicetos contra siete fitopatógenos. Los símbolos indican las zonas de inhibición: - sin zona de inhibición; + zona de inhibición menor de 2 mm; y ++ zona de inhibición mayor de 2 mm.

Número cepa	Medio	RNA 16S	Número de acceso	<i>S. rolfsii</i>	<i>F. lateritium</i>	<i>M. phaseolina</i>	<i>C. coccodes</i>	<i>P. capici</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. salani</i>
1	ISP2			-	-	+	++	-	++	-
12	AESM			-	-	-	-	-	-	-
168	SFM			-	++	++	++	-	-	-
176	Q1			-	-	-	-	-	-	-
196	Almidón	<i>Streptomyces sp.</i>	KY440748.1	-	-	++	++	-	-	-
209	SFM	<i>Streptomyces sp.</i>	KY441440.1	-	-	+	+	-	+	+
217	Almidón			-	-	-	-	-	-	-
222	Q1			-	-	++	-	-	-	-
235	Almidón	<i>Streptomyces sp.</i>	KY441441.1	-	-	+	-	-	-	-
400				-	-	-	-	-	-	-
407	Almidón	<i>Streptomyces sp.</i>	KY441443.1	-	++	-	-	-	-	-
410	SFM			-	++	-	-	-	-	-
510	SFM			-	-	+	++	-	+	-
511	SFM			-	-	++	++	-	-	-
516		<i>Streptomyces sp.</i>	KY445386.1	-	+	-	++	-	-	-
518	SFM			-	++	++	++	-	++	-
561	M2			-	-	+	++	++	++	++
562	SFM			-	-	-	-	-	-	-
563	Q1			-	-	+	++	-	+	-
567	Almidón			-	-	++	++	-	+	-
568	M2			-	-	-	-	-	-	-
572	SFM			-	-	-	-	-	-	-
575	SFM			-	-	-	-	-	-	-
577	SFM	<i>Streptomyces sp.</i>	KY445388.1	-	-	-	-	-	-	-

583	SFM		-	++	-	-	-	-	-
592	SFM		-	-	++	++	+	-	+
602	SFM		-	-	-	-	-	-	-
603	ISP4		-	+	+	++	+	-	-
605	SFM	<i>Streptomyces sp.</i> KY445918.1	-	-	-	-	-	-	-
607	Q1		-	-	-	-	-	-	-
608	ISP3		-	-	-	-	-	-	-
612	Q1	<i>Streptomyces sp.</i> KY445919	-	-	-	-	-	-	-
613	Q1		-	-	-	-	-	-	-
616	Q1		-	-	-	-	-	-	-
625	Q1		-	-	-	-	-	-	-
636	Q1	<i>Streptomyces sp.</i> KY508961	-	-	-	-	-	-	-
640	Almidón		-	-	-	-	-	-	-
650	Almidón		-	-	-	-	-	-	-
660	SFM		-	-	-	-	-	-	-
665	Q1	<i>Streptomyces sp.</i> KY453992	-	-	-	-	-	-	-
666	SFM		-	-	++	-	-	-	+
667	ISP4		-	-	-	-	-	-	-
668	ISP4		-	+	-	-	-	-	-
669	ISP4		-	-	-	-	-	-	-
670	ISP4		-	-	-	++	+	++	-
672	ISP3		-	-	-	-	-	-	-
673	Q1	<i>Streptomyces sp.</i> KY453994.1	-	-	++	++	-	-	-
674	ISP4		-	-	-	-	-	-	-
676	ISP3	<i>Streptomyces sp.</i> KY453995	-	-	-	-	-	-	+
677			-	-	-	-	-	-	-
678	ISP3	<i>Streptomyces sp.</i> KY457841	-	-	-	-	-	-	-
698	Q1	<i>Streptomyces sp.</i> KY454014	-	+	-	++	-	+	-
PR12	ISP2		-	++	++	-	+	-	-

PR60		-	-	-	-	-	-	-
PR69	MBQ	-	++	++	++	++	+	++
PR79	MBQ	-	-	-	-	-	-	-
PR105		-	-	-	-	-	-	-
PR106		-	-	-	-	+	++	-
PR107		-	-	-	-	-	-	-
PR108		-	-	+	-	-	-	-

ANEXO 2

Tabla: Lista de genomas utilizados para análisis filogenético

	Nombre	NCBI Genbank	Aislamiento	Referencia
1	<i>Streptomyces actuosus</i> ATCC25421	CP029788.1	suelo de Argentina	(Liu et al., 2018)
2	<i>Streptomyces albidoflavus</i> SM254	CP014485.1	Sedimentos con alto contenido de cobre en la mina de hierro de Sudán	(Badalamenti et al., 2016)
3	<i>Streptomyces albireticuli</i> MDJK11	CP021744.1	Suelo rizosfera de peonía en Shandong, China.	(Wang et al., 2018)
4	<i>Streptomyces albogriseolus</i> LBX-2	CP042594.1	Suelo de Chengdu, China	(Shao et al., 2019)
5	<i>Streptomyces albulus</i> NK660	CP007574.1	Suelo de Gutian, Provincia Fujian, China	(Gu et al., 2014)
6	<i>Streptomyces albus</i> DSM 41398	CP010519.1	suelo	(Lu et al., 2016)
7	<i>Streptomyces alfalfae</i> XN-04	CP060742.1	suelo rizosfera en china	(Chen et al., 2021)
8	<i>Streptomyces ambofaciens</i> ATCC 23877	CP012382.1	suelo	(Thibessard et al., 2015)
9	<i>Streptomyces armeniacus</i> ATCC15676	CP031320.1	Suelo de Armenia	(Labana et al., 2018)
10	<i>Streptomyces atratus</i> SCSIO ZH16	CP027306.1	Muestra de sedimento recogida del Mar de China Meridional	(Li et al., 2018)
11	<i>Streptomyces aurantiacus</i> JCM 4677	AP023440.1		Datos de NCBI
12	<i>Streptomyces auratus</i> AGR0001	CP072931.1	Suelo de la Provincia Yunnan, China	(Han et al., 2012)
13	<i>Streptomyces autolyticus</i> CGMCC0516	CP019458.1	Suelo de la Provincia Yunnan, China	(Yin et al., 2017)
14	<i>Streptomyces avermitilis</i> NBRC 14893	BA000030.4	Suelo de Ito, Japon	(Omura et al., 2001)
15	<i>Streptomyces bathyalis</i> ASO4wet	CP048882.1	Esponja no identificada (SO4) en las profundidades marinas del Atlántico Norte	(Risidian et al., 2021)
16	<i>Streptomyces bingchenggensis</i> BCW-1	CP002047.1	Suelo de Harbin, China	(Wang et al., 2010)
17	<i>Streptomyces broussonetiae</i> T44	CP047020.1	suelo rizosfera de <i>Broussonetia papyrifera</i>	(Mo et al., 2020)
18	<i>Streptomyces buecheriae</i> AC541	CP060404.1	Murciélago miotis (<i>Myotis velifer</i>) en el sureste de Nuevo México	(Hamm et al., 2020)
19	<i>Streptomyces cadmiisoli</i> ZFG47	CP030073.1	suelo contaminado con cadmio	(Li et al., 2019)
20	<i>Streptomyces cattleya</i> NRRL 8057	FQ859185.1	suelo	(Barbe et al., 2011)
21	<i>Streptomyces californicus</i> FDAARGOS 1209	CP070242.1	suelo	(Sichtig et al., 2019)
22	<i>Streptomyces cavourensis</i> 1AS2a	CP024957.1	Rizosfera de trigo en la sabana neotropical brasileña	(Vargas Hoyos et al., 2019)
23	<i>Streptomyces clavuligerus</i> ATCC 27064	CP027858.1	Suelo de América del Sur	(Hwang et al., 2019)
24	<i>Streptomyces coelicolor</i> A3	AL645882.2	suelo	(Bentley et al., 2002)

25	<i>Streptomyces collinus</i> Tu 365	CP006259.1	Suelo del río Níger cerca de Kouroussa, Guinea	(Rückert et al., 2013)
26	<i>Streptomyces cyaneochromogenes</i> MK-45	CP034539.1	Suelo en una zona contaminada con manganeso en Xiangtan, China	(Tang et al., 2019)
27	<i>Streptomyces cyanogenus</i> S136	CP071839.1	Datos de NCBI	(Hrab et al., 2021)
28	<i>Streptomyces dangxiongensis</i> Z022	CP033073.1	Tierra de Dangxiong en el Tíbet	(B. Zhang et al., 2019)
29	<i>Streptomyces davawensis</i> JCM 4913	HE971709.1	suelo de filipinas	(Jankowitsch et al., 2012)
30	<i>Streptomyces decoyicus</i> NRRL_2666	CP082301.1	Tierra de jardín en California, Estados Unidos	(Chung et al., 2021)
31	<i>Streptomyces dengpaensis</i> XZHG99	CP026652.1	Suelo del desierto de Color, distrito de Dengpa, región autónoma del Tíbet, China	(Li et al., 2021)
32	<i>Streptomyces exfoliatus</i> A1013Y	CP040244.1	Suelo de una planta lechera en la provincia de Henan	(Zheng et al., 2020)
33	<i>Streptomyces fodineus</i> TW1S1	CP017248.1	Suelo de una mina de carbón abandonada en la ciudad de Cheongju, República de Corea	(Kim et al., 2019)
34	<i>Streptomyces formicae</i> KY5	CP022685.1	Aislada de la hormiga africana <i>Tetraoponera penzigi</i>	(Holmes et al., 2018)
35	<i>Streptomyces fradiae</i> strain NKZ-259	CP032266.1	Suelo de la montaña Qilian, Qinghai, China	(Myo et al., 2019)
36	<i>Streptomyces fulvissimus</i> DSM 40593	CP005080.1	suelo	(Myronovskiy et al., 2013)
37	<i>Streptomyces fungicidicus</i> TXX3120	CP023407.1	Cepa industrial	(Zhang et al., 2020)
38	<i>Streptomyces gilvosporeus</i> F607	CP020569.1	Datos de NCBI	(Zong et al., 2018)
39	<i>Streptomyces glaucescens</i> GLA.O (DSM 40922)	CP009438.1	Muestra de suelo obtenida de Haiderabad/Hindustan en India	(Ortseifen et al., 2015)
40	<i>Streptomyces globisporus</i> C-1027	CP013738.1	Muestra de suelo de la provincia de Hubei, China	(Wang et al., 2012)
41	<i>Streptomyces griseochromogenes</i> strain ATCC 14511	CP016279.1	Tierra de Gaza Ki, prefectura de Wakayama, Japón	(L. Wu et al., 2017)
42	<i>Streptomyces griseoviridis</i> K61	CP029078.1	suelo en Finlandia	Datos en NCBI
43	<i>Streptomyces griseus</i> subsp. <i>griseus</i> NBRC 13350	NC_010572.1	suelo	(Ohnishi et al., 2008)
44	<i>Streptomyces hygrosopicus</i> XM201	CP018627.1	Suelo en China	(Wang et al., 2017)
45	<i>Streptomyces hygrosopicus</i> subsp. <i>jinggangensis</i> 5008	CP003275.1	Zona montañosa de Jinggang en China	(Wu et al., 2012)
46	<i>Streptomyces inhibens</i> NRRL30439	CP084681.1	Datos de NCBI	(Barry et al., 2022)
47	<i>Streptomyces kanamyceticus</i> ATCC 12853	CP023699.1	Suelo de Japón	ATCC genoma Portal
48	<i>Streptomyces koyangensis</i> VK-A60T	CP031742.1	Tierra de Koyang, Corea	(Lee et al., 2005)
49	<i>Streptomyces laurentii</i> ATCC 31255	AP017424.1	Suelo	(Doi et al., 2016)
50	<i>Streptomyces lavendulae</i> subsp. <i>lavendulae</i> sCCM 3239	CP024985.1	Suelo	(Busche et al., 2018)

51	<i>Streptomyces lincolnensis</i> LC-G	CP022744.1	Suelo	(Xu et al., 2018)
52	<i>Streptomyces lividans</i> TK24	CP009124.1	suelo	(Rückert et al., 2015)
53	<i>Streptomyces lunaelactis</i> MM109	CP026304.1	de un depósito de leche de luna recogido en la cueva ‘Grotte des Collemboles’ situada en Comblain-au-Pont, Bélgica.	(Maciejewska et al., 2015)
54	<i>Streptomyces lydicus</i> A02	CP007699.2	Datos de NCBI	(H. Wu et al., 2017)
55	<i>Streptomyces marincola</i> SCSIO 03032	CP021121.1	Muestra de sedimento de aguas profundas del Océano Índico	(Ma et al., 2021)
56	<i>Streptomyces nigra</i> 452	CP029043.1	Suelo rizosfera del manglar <i>Avicennia marina</i> en China	(Chen et al., 2018)
57	<i>Streptomyces niveus</i> SCSIO 3406	CP018047.1	sedimento del mar de China Meridional	(Q. Zhu et al., 2021)
58	<i>Streptomyces nodosus</i> ATCC 14899	CP009313.1	Suelo del río Orinoco	(Sweeney et al., 2016)
59	<i>Streptomyces nojiriensis</i> JCM 3382	CP071139.1	suelo en Nojiri, Japón	(Park et al., 2021)
60	<i>Streptomyces noursei</i> ATCC 11455	CP011533.1	suelo	(Brautaset et al., 2000)
61	<i>Streptomyces olivaceus</i> SCSIO T05	CP043317.1	Sedimentos derivados de las profundidades marinas del océano Índico	(C. Zhang et al., 2019)
62	<i>Streptomyces olivoreticuli</i> subsp. <i>olivoreticuli</i> ATCC 31159	CP031455.1	Suelo	(H. Y. Zhang et al., 2019)
63	<i>Streptomyces pactum</i> ACT12	CP019724.1	Suelo	Data deposited in NCBI
64	<i>Streptomyces paludis</i> GSSD-12	CP031194.1	suelo de humedal alpino	(Zhao et al., 2020)
65	<i>Streptomyces parvulus</i> 2297	CP015866.1	derivado de la cepa ATCC 12434 ^T	(Nishizawa et al., 2016)
66	<i>Streptomyces peucetius</i> subsp. <i>caesius</i> ATCC 27952	CP022438.1	suelo	(Dhakal et al., 2018)
67	<i>Streptomyces pratensis</i> S10	CP051486.1	moho de hoja de tomate	(J. Zhang et al., 2021)
68	<i>Streptomyces pristinaespiralis</i> ATCC 25486	CM000950.1	Ambientes terrestres y acuáticos	(Tian et al., 2015)
69	<i>Streptomyces qaidamensis</i> S10	CP015098.1	Muestra de arena recogida de la cuenca de Qaidam en la provincia de Qinghai, China.	(Zhang et al., 2018)
70	<i>Streptomyces qinzhouensis</i> SSL-25	CP042266.1	Muestreo de suelo de manglares en la bahía de Qinzhou, República Popular China	(Zhu et al., 2020)
71	<i>Streptomyces rectiverticillatus</i> B15-08	CP040752.1	Suelo	(Sun et al., 2021)
72	<i>Streptomyces rimosus</i> ATCC 10970	CP023688.1	Suelo	(Pethick et al., 2013)
73	<i>Streptomyces roseirectus</i> CRXT-G-22	CP060828.1	Semillas de la planta medicinal <i>Xanthium sibiricum</i>	(Liu et al., 2021)
74	<i>Streptomyces scabiei</i> 87.22	FN554889.1	patatas	(Bignell et al., 2010)
75	<i>Streptomyces solisilvae</i> HNM0141	CP065050.1	Suelo de bosque tropical de la montaña Bawangling de la isla de Hainan, República Popular China	(Zhou et al., 2017)

76	<i>Streptomyces</i> sp. A2-16	CP063808.1	Suelo de la zona de raíces de la papa E-Shu No. 5 en el condado de Wuxi de la ciudad de Chongqing	(Feng et al., 2022)
77	<i>Streptomyces</i> sp. 11-1-2	CP022545.1	Lesión de sarna común en un tubérculo de patata	(Bown & Bignell, 2017)
78	<i>Streptomyces</i> sp. BSE6.1	CP085300.1	Sedimento marino de la costa de Burmanallah, islas Andamán del Sur, India	(Ramesh et al., 2021)
79	<i>Streptomyces</i> sp. CB09001	CP026730.1	cueva en Xiangxi, China	(Jiang et al., 2018)
80	<i>Streptomyces</i> sp. PLM4	AP025692.1	Contenido intestinal de una hormiga espinosa (<i>Polyrhachis lamellidens</i>)	(Ishikawa et al., 2022)
81	<i>Streptomyces</i> sp. R527F	CP090837.1	Océano Ártico	(Duan et al., 2022)
82	<i>Streptomyces</i> sp. Tu6071	CM001165.1	suelo en Cape Coast, Ghana	(Erxleben et al., 2011)
83	<i>Streptomyces spectabilis</i> NRRL 2792	CP040916.1	suelo	(Sinha et al., 2019)
84	<i>Streptomyces spongiicola</i> HNM0071	CP029254.1	Esponja marina	(Zhou et al., 2019)
85	<i>Streptomyces</i> tendae 139	CP043959.1	suelo	(Ai et al., 2019)
86	<i>Streptomyces tirandamycinicus</i> HNM0039	CP029188.1	Esponja marina en Wenchang, Hainan, China	(Huang et al., 2019)
87	<i>Streptomyces tsukubensis</i> NRRL 18488	CP020700.1	Tierra de Japón	(Barreiro et al., 2012)
88	<i>Streptomyces venezuelae</i> ATCC 10712	CP029197.1	suelo de Venezuela	(Gomez-Escribano et al., 2021)
89	<i>Streptomyces venezuelae</i> NRRL B-65442	CP018074.1	suelo	(Gomez-Escribano et al., 2021)
90	<i>Streptomyces vietnamensis</i> GIM4.0001	CP010407.1	suelo de bosque tropical	(Deng et al., 2015)
91	<i>Streptomyces vinaceus</i> ATCC 27476	CP023692.1		Data deposited in NCBI
92	<i>Streptomyces violaceoruber</i> S21	CP020570.1	suelo forestal	(Fu et al., 2017)
93	<i>Streptomyces xanthii</i> CRXT-Y-14	CP061281.1	hojas de una planta medicinal <i>Xanthium sibiricum</i> .	(Liu et al., 2021)
94	<i>Streptomyces xinghaiensis</i> S187	CP023202.1	Sedimento marino de la bahía de Xinghai, Dalian, China	(Zhao & Yang, 2011)
95	<i>Streptomyces yatensis</i> DSM 41771	CP072941.1	suelo	(Chung et al., 2021)
96	<i>Micromonospora aurantiaca</i> G9	CP084582.1	Antiguo vertedero de plásticos en Alemania	(Schneider et al., 2022)

ANEXO 3

Tabla: Lista de 81 genes utilizados por UBCGv2

No.	Gen	Función	Marcador ID
1	alaS	alanina--ligasa de ARNt	TIGR00344

2	cgtA	Familia Obg GTPasa CgtA	TIGR02729
3	dnaG	ADN primasa	TIGR01391
4	dnaX	ADN polimerasa III, subunidad gamma y tau	TIGR02397
5	engA	GTPasa asociada al ribosoma EngA	TIGR03594
6	era	Proteína de unión a GTP Era	TIGR00436
7	ffh	partícula de reconocimiento de señal proteína	TIGR00959
8	fmt	metionil-ARNt formiltransferasa	TIGR00460
9	frr	factor de reciclaje de ribosomas	TIGR00496
10	ftsY	proteína de acoplamiento de partículas de reconocimiento de señales FtsY	TIGR00064
11	gmk	guanilato quinasa	TIGR03263
12	hisS	histidina--ligasa ARNt	TIGR00442
13	ileS	isoleucina-ligasa de ARNt	TIGR00392
14	infB	factor de iniciación de la traducción IF-2	TIGR00487
15	infC	factor de iniciación de la traducción IF-3	TIGR00168
16	ksgA	subunidad pequeña de metiltransferasa A del ARN ribosómico	TIGR00755
17	lepA	factor de alargamiento 4	TIGR01393
18	leuS	ligasa de leucina-ARNt	TIGR00396
19	nusA	factor de terminación de la transcripción NusA	TIGR01953
20	nusG	factor de terminación/antiterminación de la transcripción NusG	TIGR00922
21	pheS	fenilalanina--ligasa de ARNt, subunidad alfa	TIGR00468
22	pheT	fenilalanina--ligasa de ARNt, subunidad beta	TIGR00472
23	prfA	factor de liberación de cadena peptídica 1	TIGR00019
24	recA	proteína RecA	TIGR02012
25	rplA	proteína ribosomal L1	TIGR01169
26	rplB	proteína ribosomal L2	TIGR01171
27	rplC	proteína ribosomal L3	TIGR03625
28	rplD	proteína ribosomal L4	TIGR03953

29	rplE	proteína ribosomal L5	PF00281.18
30	rplF	proteína ribosomal L6	TIGR03654
31	rplI	proteína ribosomal L9	TIGR00158
32	rplJ	proteína ribosomal L10	PF00466.19
33	rplK	proteína ribosomal L11	TIGR01632
34	rplL	proteína ribosomal L7/L12	TIGR00855
35	rplM	proteína ribosomal L13	TIGR01066
36	rplN	proteína ribosomal L14	TIGR01067
37	rplO	proteína ribosomal L15	TIGR01071
38	rplP	proteína ribosomal L16	TIGR01164
39	rplQ	proteína ribosomal L17	TIGR00059
40	rplR	proteína ribosomal L18	TIGR00060
41	rplS	proteína ribosomal L19	TIGR01024
42	rplT	proteína ribosomal L20	TIGR01032
43	rplU	proteína ribosomal L21	TIGR00061
44	rplV	proteína ribosomal L22	TIGR01044
45	rplW	proteína ribosomal L23	PF00276.19
46	rplX	proteína ribosomal L24	TIGR01079
47	rpmA	proteína ribosomal L27	TIGR00062
48	rpmC	proteína ribosomal L29	TIGR00012
49	rpmI	proteína ribosomal L35	TIGR00001
50	rpoA	Subunidad alfa de la ARN polimerasa dirigida por ADN	TIGR02027
51	rpoB	Subunidad beta de la ARN polimerasa dirigida por ADN	TIGR02013
52	rpsB	proteína ribosomal S2	TIGR01011
53	rpsC	proteína ribosomal S3	TIGR01009
54	rpsD	proteína ribosomal S4	TIGR01017
55	rpsE	proteína ribosomal S5	TIGR01021

56	rpsF	proteína ribosomal S6	TIGR00166
57	rpsG	proteína ribosomal S7	TIGR01029
58	rpsH	proteína ribosomal S8	PF00410.18
59	rpsI	proteína ribosomal S9/S16	PF00380.18
60	rpsJ	proteína ribosomal S10	TIGR01049
61	rpsL	proteína ribosomal S12	TIGR00981
62	rpsM	proteína ribosomal S13	TIGR03631
63	rpsO	proteína ribosomal S15	TIGR00952
64	rpsP	proteína ribosomal S16	TIGR00002
65	rpsQ	proteína ribosomal S17	TIGR03635
66	rpsR	proteína ribosomal S18	TIGR00165
67	rpsS	proteína ribosomal S19	TIGR01050
68	rpsT	proteína ribosomal S20	TIGR00029
69	rsmH	16S rRNA (citosina(1402)-N(4))-metiltransferasa	TIGR00006
70	ruvB	ADN helicasa de la unión Holliday RuvB	TIGR00635
71	secA	preproteína translocasa, subunidad SecA	TIGR00963
72	secY	preproteína translocasa, subunidad SecY	TIGR00967
73	serS	serina-ligasa de ARNt	TIGR00414
74	smpB	Proteína de unión a SsrA	TIGR00086
75	tilS	ARNt(Ile)-lisidina sintetasa	TIGR02432
76	trmD	ARNt (guanina(37)-N(1))-metiltransferasa	TIGR00088
77	truB	ARNt pseudouridina (55) sintasa	TIGR00431
78	tsaD	Proteína de modificación de la adenosina treonilcarbamoil ARNt TsaD	TIGR03723
79	tsf	factor de elongación de traducción Ts	TIGR00116
80	ybeY	probable factor de maduración del ARNr YbeY	TIGR00043
81	ychF	Proteína de unión a GTP YchF	TIGR00092