



**Centro de Investigación en Alimentación y
Desarrollo, A.C.**

**BIOCONTROL *IN VITRO* DE *Phytophthora capsici* Y
PROMOCIÓN DEL CRECIMIENTO VEGETAL DE *Capsicum
annuum* POR ACTINOBACTERIAS NO ESTREPTOMICETOS**

Por:

Q.B.P Yericka Mares Ponce de León

TESIS APROBADA POR LA

CORDINACIÓN DE FISIOLOGÍA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS DE LA ZONA
TEMPLADA

Como requisito parcial para obtener el grado de

MAESTRA EN CIENCIAS

APROBACIÓN


Los miembros del comité designado para la revisión de la tesis de Yericka Mares Ponce de León la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestra en Ciencias.



Dr. Claudio Rios Velasco
Director de tesis



Dr. Miguel Ángel Salas Marina
Co-director de tesis



Dr. José de Jesús Ornelas Paz
Integrante de comité de Tesis



Dr. Carlos Horacio Acosta Muñiz
Integrante de comité de Tesis


DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

La información generada en la tesis “Biocontrol *In vitro* de *Phytophthora capsici* y Promoción del Crecimiento Vegetal de *Capsicum annuum* por actinobacterias no estreptomicetos” es propiedad intelectual del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD). Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial de la autora Yericka Mares Ponce de León, siempre y cuando se dé crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita de quien ocupe la titularidad de la Dirección General del CIAD.

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa autorización escrita del manuscrito en cuestión del director(a) de tesis.



CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN
ALIMENTACIÓN Y DESARROLLO, A.C.
Coordinación de Programas Académicos


Dr. Pablo Wong González
Director General

AGRADECIMIENTOS

Al CONACYT por el apoyo prestado durante el posgrado.

Al CIAD por el apoyo brindado para la realización del proyecto de investigación.

Al Fondo Sectorial de Investigación para la Educación-Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) (Proyecto de Ciencia Básica 286806) por el apoyo financiero otorgado para la realización de este proyecto

A mi esposo y amigo Alberto Anchondo, gracias, mi amor por todo tu apoyo, por creer en mí. De tu mano todo es posible.

A mi mami, Elvia Ponce de León, eres mi soporte, gracias por estar siempre conmigo sosteniéndome y empujándome para seguir y ser mejor cada día. Te amo

A mis hijos Isabella y Maximiliano, ustedes son mi fuerza, mi motor y mi inspiración.

A mis hermanos Irving e Ileana gracias por todo su amor y apoyo.

Al Dr. Claudio Ríos, gracias por su paciencia, conocimientos y enseñanzas, no terminaría de enlistar lo que he aprendido de usted, pero sobre todo gracias por su comprensión y cariño.

Al Dr. Daniel Pérez, Danny gracias por ser mi compañero, mi amigo y mi confidente, sin ti no habría podido ... otra vez.

A la M.C. Nora Ponce de León, por tus consejos y apoyo.

A mi familia y amigos gracias por ser parte de mi vida y por todas las enseñanzas y el cariño que todos ustedes le dan a mi vida.

A Dios.

DEDICATORIA

El esfuerzo y trabajo realizado durante el desarrollo de este proyecto es una consecuencia del buen ejemplo, las enseñanzas y el amor incondicional de un hombre bueno, trabajador, honesto y amoroso quien entre muchas cosas me enseñó que el trabajo duro rinde frutos y que todo esfuerzo tiene su recompensa, dejaste grandes enseñanzas para mi vida que llevaré siempre en mi corazón, con amor para ti Abuelito.

Nicanor Ponce de León Dozal †

CONTENIDO

APROBACIÓN	2
DECLARACIÓN INSTITUCIONAL	3
AGRADECIMIENTOS	4
DEDICATORIA	5
CONTENIDO	6
LISTA DE FIGURAS	10
LISTA DE CUADROS	13
RESUMEN	12
ABSTRACT	13
1. INTRODUCCIÓN	14
2. ANTECEDENTES	16
2.1. El Chile (<i>Capsicum</i> spp.).....	16
2.1.1. Problemática Fitosanitaria del Chile en México.....	16
2.1.2. Microorganismos Fitopatógenos.....	17
2.2. <i>Phytophthora capsici</i>	17
2.2.1. Características Macro y Microscópicas de <i>Phytophthora capsici</i>	18
2.2.2. Control de <i>Phytophthora capsici</i>	18
2.3. Actinobacterias.....	19
2.3.1. Características Macro y Microscópicas.....	19
2.3.2. Ecología.....	20
2.3.3. Actinobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal.....	20
2.3.4. Actinobacterias como Agentes de Control Biológico.....	22
2.3.5. Actinobacterias no Estreptomicetos.....	23
2.3.5.1. <i>Amycolatopsis</i>	27
2.3.5.2. <i>Nocardioides</i>	27
2.3.5.3. <i>Saccharopolyspora</i> spp.	28
3. HIPÓTESIS	30
4. OBJETIVO	31
4.1. Objetivo General.....	31
4.2. Objetivos Específicos.....	31
5. MATERIALES Y MÉTODOS	32
5.1. Microorganismos, Semillas y Reactivos.....	32
5.2. Caracterización Bioquímica de las Cepas de Actinobacterias.....	33
5.2.1. Fijación de Nitrógeno.....	33
5.2.2. Producción de Sideróforos.....	33
5.2.3. Producción de Ácido Indolacético (AIA).....	35

CONTENIDO (continuación)

5.2.4. Solubilización de Fosfatos.....	37
5.2.5. Actividad Enzimática de Quitinasa.....	38
5.2.6. Actividad Enzimática de Celulasa	40
5.3. Antagonismo <i>in vitro</i> de las Cepas de Actinobacterias Contra <i>Phytophthora capsici</i>	42
5.4. Identificación de Volátiles Producidos por las Cepas de Actinobacterias no Estreptomicetos.....	43
5.5. Promoción del Crecimiento <i>in vitro</i> en Plántulas de <i>Arabidopsis thaliana</i>	44
5.6. Promoción <i>in situ</i> del Crecimiento en Plántulas de Chile Jalapeño.....	45
6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	47
7. RESULTADOS	48
7.1. Caracterización Bioquímica de las Cepas de Actinobacterias.....	48
7.2. Antagonismo de las Cepas de Actinobacterias ante <i>Phytophthora capsici</i>	50
7.3. COVs Producidos por las Cepas de Actinobacterias no Estreptomicetos.....	51
7.4. Promoción del Crecimiento <i>in vitro</i> en Plántulas de <i>Arabidopsis thaliana</i>	57
7.4.1. Peso Fresco de Raíz	57
7.4.2. Peso Fresco del Tallo	58
7.4.3. Número de Hojas	59
7.4.4. Longitud de Raíz.....	60
7.5. Promoción <i>in situ</i> del Crecimiento de Plantas de Chile Jalapeño por Cepas de Actinobacterias	62
7.5.1. Largo y Ancho de las Hojas	62
7.5.2. Longitud de Raíz.....	62
7.5.3. Altura de la Planta.....	62
7.5.4. Diámetro del Tallo	63
7.5.5. Clorofila Total, Número de Frutos y Peso Seco	64
7.5.6. Peso Fresco	64
8. DISCUSIÓN.....	66
9. CONCLUSIONES	78
10. RECOMENDACIONES	79
11. BIBLIOGRAFÍA	80

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Fijación de nitrógeno en agar GNFM por cepas de actinobacterias no estreptomicetos. A) reacción negativa, B) reacción positiva evidenciada por una coloración azul.....	33
2	Producción de sideróforos en agar CAS por cepas de actinobacterias no estreptomicetos. A) reacción negativa, B) reacción positiva evidenciada por una coloración anaranjada alrededor de la colonia.....	34
3	Producción de AIA por cepas de actinobacterias no estreptomicetos. A) reacción positiva evidenciada por un color rosáceo, B) reacción negativa.....	36
4	Concentraciones de 0 a 0.10 mg/mL de AIA usadas para la obtención de la curva de calibración para la medición cuantitativa de AIA producido por las cepas de actinobacterias no estreptomicetos	36
5	Solubilización de fosfatos de calcio en medio PKV por cepas de actinobacterias no estreptomicetos. A) reacción negativa, B) reacción positiva evidenciada por un halo transparente alrededor de la colonia.....	37
6	Concentraciones de 0 a 1 mg/mL de KH_2PO_4 para la obtención de la curva de calibración para la medición cuantitativa de solubilización de fosfatos por las cepas de actinobacterias no estreptomicetos	38
7	Producción de quitinasa por cepas de actinobacterias no estreptomicetos. A) reacción positiva evidenciada por el color amarillo, B) reacción negativa.....	39
8	Producción de celulasa en medio Mandeles-Reese por cepas de actinobacterias no estreptomicetos. A) reacción negativa, B) reacción positiva evidenciada por un halo alrededor de la colonia de la actinobacteria	41
9	Concentraciones de 0 a 1 mg/mL de glucosa para la obtención de la curva de calibración para la medición cuantitativa de la actividad enzimática de celulasa en las cepas de actinobacterias no estreptomicetos	42
10	Plántulas de <i>A. thaliana</i> . A) Crecidas en cajas de Petri sin división y B) crecidas en cajas de Petri con división.....	44
11	Plantas de chile jalapeño “M” (<i>Capsicum annuum</i>) inoculadas con cepas de actinobacterias individuales y en mezcla	46
12	Inhibición <i>in vitro</i> de <i>Phytophthora capsici</i> por cepas de actinobacterias no estreptomicetos (día 10 de confrontación). Superior . A través de COVs. Inferior . Confrontación (cultivo) dual. La cepa de <i>Streptoverticillium reticulum</i> fue usada como testigo positivo	50

LISTA DE FIGURAS (continuación)

Figura		Página
13	Inhibición del crecimiento micelial <i>in vitro</i> de <i>Phytophthora capsici</i> por cepas de actinobacterias no estreptomicetos mediante confrontaciones duales y por compuestos volátiles (COVs). La cepa de <i>Streptoverticillium reticulum</i> fue usada como testigo positivo. Medias con las mismas literales son estadísticamente similares. Las barras finas superiores indican la desviación estándar de las medias	51
14	Promoción <i>in vitro</i> del crecimiento en plántulas de <i>Arabidopsis thaliana</i> por cepas de actinobacterias no estreptomicetos. (Superior) inducido por compuestos difusibles en el medio; (Inferior) inducido por compuestos volátiles. <i>Streptoverticillium reticulum</i> usada como testigo positivo	57
15	Efecto <i>in vitro</i> de cepas de actinobacterias no estreptomicetos sobre el peso fresco de raíces en plantas de <i>Arabidopsis thaliana</i> inducido por compuestos difusibles en el medio (cultivos duales) y compuestos volátiles (COVs) emitidos por las actinobacterias. La cepa de <i>Streptoverticillium reticulum</i> fue usada como testigo positivo. Medias con las mismas literales son estadísticamente similares. Las barras finas superiores indican la desviación estándar de las medias	58
16	Efecto <i>in vitro</i> de cepas de actinobacterias no estreptomicetos sobre el peso fresco del tallo en plantas de <i>Arabidopsis thaliana</i> mediante compuestos difusibles en el medio (cultivos duales) y compuestos volátiles (COVs) emitidos por los actinobacterias. La cepa de <i>Streptoverticillium reticulum</i> fue usada como testigo positivo. Medias con las mismas literales son estadísticamente similares. Las barras finas superiores indican la desviación estándar de las medias	59
17	Efecto <i>in vitro</i> de cepas de actinobacterias no estreptomicetos sobre el número de hojas en plantas de <i>Arabidopsis thaliana</i> mediante compuestos difusibles en el medio (cultivos duales) y compuestos volátiles (COVs) emitidos por los actinobacterias. La cepa de <i>Streptoverticillium reticulum</i> fue usada como testigo positivo. Medias con las mismas literales son estadísticamente similares. Las barras finas superiores indican la desviación estándar de las medias.....	60
18	Efecto <i>in vitro</i> de las cepas de actinobacterias no estreptomicetos sobre la longitud de raíz en plantas de <i>Arabidopsis thaliana</i> mediante compuestos difusibles en el medio (cultivos duales) y compuestos volátiles (COVs) emitidos por las actinobacterias. La cepa de <i>Streptoverticillium reticulum</i> fue usada como testigo positivo. Medias con las mismas literales son estadísticamente similares. Las barras finas superiores indican la desviación estándar de las medias	61

LISTA DE FIGURAS (continuación)

Figura		Página
19	Efecto de las cepas de actinobacterias en algunos parámetros de crecimiento <i>in situ</i> en plantas de chile jalapeño “M”. A) Tamaño (largo y ancho) de hojas, B) Longitud de raíz, C) Altura de la planta, D) Diámetro del tallo. T1 (<i>A. lurida</i>), T2 (<i>S. reticulum</i>) y T3 (<i>A. lurida</i> + <i>S. reticulum</i>). Medias con las mismas literales son estadísticamente similares. Las barras finas superiores indican la desviación estándar de las medias	63
20	Efecto <i>in situ</i> de los tratamientos a base de actinobacterias estreptomicetos y no estreptomicetos en el crecimiento de las plantas chile jalapeño “M”. T1 (<i>A. lurida</i>). T2 (<i>S. reticulum</i>). T3 (<i>A. lurida</i> + <i>S. reticulum</i>)	64
21	Efecto de actinobacterias estreptomicetos y no estreptomicetos en algunos parámetros de crecimiento <i>in situ</i> en plantas de chile jalapeño “M”. A) Clorofila total, B) Número de frutos, C) Peso fresco de la planta, D) Peso seco de la planta. T1 (<i>A. lurida</i>). T2 (<i>S. reticulum</i>). T3 (<i>A. lurida</i> + <i>S. reticulum</i>). Medias con las mismas literales son estadísticamente similares. Las barras finas superiores indican la desviación estándar de las medias.....	65

LISTA DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Principales actinobacterias utilizadas para control biológico de enfermedades en Chile.....	23
2	Actinobacterias no estreptomicetos utilizadas como agentes de control biológico de patógenos en diversos cultivos.....	25
3	Compuestos producidos por las cepas de actinobacterias no estreptomicetos implicados en la promoción del crecimiento vegetal y actividades de quitinasa y celulasa.....	49
4	Compuestos volátiles (COVs) producidos por las cepas de actinobacterias no estreptomicetos.....	53

RESUMEN

Las actinobacterias (actinomicetos), especialmente *Streptomyces* han sido ampliamente probadas como agentes para el biocontrol de fitopatógenos y la promoción del crecimiento vegetal. Sin embargo, cepas de actinobacterias no estreptomicetos han sido poco exploradas en cuanto a esto. El objetivo del presente estudio fue evaluar la actividad de compuestos volátiles (COVs) y no volátiles de las actinobacterias no estreptomicetos *Amycolatopsis umgeniensis*, *Amycolatopsis lexingtonensis*, *Amycolatopsis lurida*, *Nocardioides albertanoniae*, *Saccharopolyspora shandongensis*, y *Streptoverticillium* (= *Streptomyces*) *reticulum* (testigo positivo) en la inhibición del crecimiento *in vitro* de *Phytophthora capsici*, y en la promoción del crecimiento de plántulas de *Arabidopsis thaliana* y *Capsicum annuum*. Las actinobacterias fueron evaluadas en cuanto a su capacidad *in vitro* para producir sideróforos y ácido 3 indol-acético (IAA), solubilizar fosfatos, así como en cuanto a su actividad de quitinasa y celulasa. También se evaluaron los perfiles de COVs emitidos por estas bacterias mediante GC-MS. Adicionalmente, se determinó la actividad *in situ* de *A. lurida* y *S. reticulum*, individualmente y en co-cultivo, en la promoción del crecimiento de plántulas de *C. annuum*. Todas las cepas de actinobacterias inhibieron el crecimiento *in vitro* de *P. capsici* y produjeron AIA y sideróforos. *Amycolatopsis lurida* presentó la mayor actividad de celulasa, solubilizó fosfatos y produjo la mayor cantidad de compuestos implicados en la promoción del crecimiento vegetal, tales como el AIA y sideróforos. La cepa de *S. reticulum* fue la que produjo más sideróforos (52.23 %U). *Saccharopolyspora shandongensis* fue la cepa con la mayor capacidad para solubilizar fosfatos (5.89 mg/mL). Las cepas *A. lexingtonensis* y *A. lurida* presentaron actividad de celulasa. *Streptoverticillium reticulum* inhibió el crecimiento de *P. capsici* por confrontación directa (73%). Las cepas produjeron perfiles diferentes de COVs, llegándose a identificar hasta 64 COVs diferentes. Los COVs de *A. lexingtonensis* inhibieron completamente el crecimiento del fitopatógeno. Las cepas de actinobacterias estudiadas favorecieron el crecimiento *in vitro* de *A. thaliana*. Los COVs de *N. albertanoniae* y *A. lexingtonensis* incrementaron el peso fresco de las raíces, en 13.69 y 12.71 veces, respectivamente, y de 5 a 4.84 veces el peso del tallo. *A. lurida* + *S. reticulum* y *A. lurida* incrementaron significativamente la longitud de raíz y la altura de las plantas de chile jalapeño

Palabras clave: actinobacteria, no estreptomicetos, promoción del crecimiento, metabolitos.

ABSTRACT

Actinobacteria (actinomycetes), especially *Streptomyces*, have extensively been tested as biocontrol agents of phytopathogens and as plant growth promoters. However, non-streptomycete strains of actinobacteria have received little attention in this regard. The aim of this study was to evaluate the activity of volatile (VOCs) and non-volatile compounds from strains of the non-streptomycete actinobacteria *Amycolatopsis umgenensis*, *Amycolatopsis lexingtonensis*, *Amycolatopsis lurida*, *Nocardioides albertanoniae*, *Saccharopolyspora shandongensis*, and *Streptoverticillium* (= *Streptomyces*) *reticulum* (positive control) on the *in vitro* growth inhibition of *Phytophthora capsici* and growth promotion of *Arabidopsis thaliana* and *Capsicum annuum* seedlings. The actinobacteria were evaluated for their *in vitro* ability to produce siderophores and 3-indole-acetic acid (IAA), solubilize phosphates, as well as for their chitinase and cellulase activities. The profiles of VOCs emitted by these bacteria were also evaluated by GC-MS. Additionally, the effects of *A. lurida* and *S. reticulum*, alone and in co-culture, on the growth promotion of *Capsicum annuum* seedlings was determined *in situ*. The six strains of actinobacteria inhibited the growth *in vitro* of *P. capsici* and produced IAA and siderophores. *Amycolatopsis lurida* showed the highest cellulase activity, solubilized phosphates and produced the highest amount of compounds involved in promoting of plant growth, such as IAA and siderophores. *Streptoverticillium reticulum* produced the highest quantity of siderophores (52.23 %U). *Saccharopolyspora shandongensis* caused the highest solubilization of phosphates (5.89 mg/mL). *Amycolatopsis lexingtonensis* and *A. lurida* showed cellulase activity. *Streptoverticillium reticulum* inhibited the growth of the phytopathogen by direct confrontation (73%). The tested strains produced different VOC profiles, with 64 different VOCs being produced for these bacteria. VOCs from *A. lexingtonensis* completely inhibited the growth of the phytopathogen. The strains studied favored the *in vitro* growth of *A. thaliana*. VOCs from *N. albertanoniae* and *A. lexingtonensis* increased by 13.69 and 12.71 times, respectively, the fresh weight of the roots, and from 5 to 4.84 times the weight of the stem. *Amycolatopsis lurida* + *S. reticulum* and *A. lurida* significantly increased root length and height of pepper plants.

Keywords: actinobacteria, non-streptomycetes, growth promotion, metabolites.

1. INTRODUCCIÓN

El chile jalapeño, *Capsicum annuum* L., es uno de los cultivos de mayor importancia en México, y forma parte primordial de la cultura y gastronomía de su población. México es uno de los principales productores, consumidores y exportadores de este fruto. Sin embargo, su producción se ve afectada por diversas plagas insectiles y enfermedades microbianas. Una de las enfermedades más importantes en chile es la pudrición de la raíz, causada por un complejo de hongos patógenos como *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp. y el Oomiceto *Phytophthora capsici*. Este último provoca pérdidas superiores al 60% (Muñoz-Villalobos *et al.*, 2013; Valadez-Gutiérrez y Cervantes-Martínez, 2017). El manejo y control de esta enfermedad se lleva a cabo principalmente mediante la aplicación de fungicidas químicos con resultados satisfactorios (Valadez-Gutiérrez y Cervantes-Martínez, 2017). Sin embargo, se ha documentado ampliamente que el uso desmedido de moléculas químicas ha contribuido a la contaminación ambiental, eliminación de organismos benéficos y al aumento del desarrollo de resistencia de los organismos patógenos hacia los fungicidas químicos, además de afectar la salud humana (Breda *et al.*, 2017; Polat *et al.*, 2018).

Debido a esto, actualmente se le está dando mayor importancia al uso de métodos de control alternativos para el manejo de enfermedades en chile y otros cultivos hortofrutícolas, siendo el uso de microorganismos benéficos como agentes de control microbianos una de las estrategias más prometedoras (Barratt *et al.*, 2018; Begg *et al.*, 2017; Pilkington *et al.*, 2010). Estos microorganismos benéficos se pueden encontrar en la filosfera, rizosfera y raíces de las plantas. Algunas cepas de estos microorganismos, además de ser excelentes agentes de biocontrol, también promueven el crecimiento de las plantas (Dahal *et al.*, 2017; Gupta *et al.*, 2015; Sivasakthi *et al.*, 2014; Pérez-Corral *et al.*, 2020). Las bacterias son el grupo más ampliamente conocido con esta propiedad, razón por la cual se les denomina rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR por sus siglas en inglés), las cuales incluyen también a las actinobacterias (actinomicetos) (Glick, 2012; Kennedy, 1999). Las PGPR sintetizan fitohormonas como el ácido 3 indol-acético (AIA) y sideróforos (Kaewkla y Franco, 2021; Meena *et al.*, 2020; Wahyudi *et al.*, 2019), solubilizan fosfatos y fijan nitrógeno atmosférico (Faried *et al.*, 2019; Franco-Correa *et al.*, 2010; Satyaprakash *et al.*, 2017; Trujillo *et al.*, 2015). Todo esto favorece el crecimiento de la planta mediante diversos mecanismos como descomposición de la materia orgánica, reutilización de

elementos esenciales, solubilización de nutrientes minerales, producción de diversos reguladores del crecimiento vegetal, degradación de contaminantes orgánicos, promoción del crecimiento radicular, aumento de la fertilidad del suelo y el biocontrol de fitopatógenos, mediante la síntesis de antibióticos, compuestos volátiles y enzimas capaces de degradar la pared celular de fitopatógenos e induciendo la resistencia sistémica en la planta (Gupta *et al.*, 2015; Sivasakthi *et al.*, 2014). Dentro de estos microorganismos han destacado las actinobacterias, principalmente del género *Streptomyces* por su capacidad para sintetizar la mayoría de los compuestos arriba descritos, incluidos COVs que también están implicados en la promoción del crecimiento vegetal (Pérez-Corral *et al.*, 2020; Yang *et al.*, 2019). Estas actinobacterias también son altamente eficaces en la inhibición del crecimiento de diversos hongos fitopatógenos como *Alternaria alternata* (Verma *et al.*, 2011), *Rhizoctonia solani* (Goudjal *et al.*, 2014), *Fusarium oxysporum* (Kim *et al.*, 2011), *Fusarium equiseti* (Pérez-Corral *et al.*, 2015), *Fusarium solani* (Pérez-Corral *et al.*, 2020), *Phytophthora drechsleri* (Sadeghi *et al.*, 2017), *Verticillium dahliae*, entre otros (Pérez-Corral *et al.*, 2020). Adicionalmente, tienen la capacidad de producir enzimas líticas (quitinasa y celulasa) que degradan la pared celular de los fitopatógenos, entre otros compuestos anti-fitopatogénicos (volátiles y no volátiles) o inducir/activar el sistema de defensa de las plantas ante el ataque de fitopatógenos (Chen *et al.*, 2007; Harman, 2011). Sin embargo, existen otras actinobacterias pertenecientes a géneros como *Amycolatopsis*, *Nocardioides* y *Saccharopolyspora*, por mencionar algunos, con potencial para ser usados como agentes de biocontrol y como biofertilizantes, que han sido poco estudiados (Saito *et al.*, 2009). Basado en lo anterior, el objetivo de este estudio fue evaluar la capacidad de algunas cepas de actinobacterias no estreptomicetos para inhibir el crecimiento *in vitro* de *Phytophthora capsici* y para promover el crecimiento en plántulas de *Arabidopsis thaliana* y *Capsicum annuum*.

2. ANTECEDENTES

2.1. El Chile (*Capsicum* spp.)

El chile *Capsicum* spp. (Solanaceae; Solanales) es nativo de América, y es ampliamente utilizado como condimento en los alimentos (Long-Solís, 1986). El chile cuenta con alrededor de 30 especies, las mayormente cultivadas a nivel mundial son; *C. chinense* Jaq., *C. frutescens* L., *C. pubescens* Ruiz y Pav., *C. annuum* L., *C. baccatum* L. (Kraft *et al.*, 2014; Pérez-Castañeda *et al.*, 2015).

Capsicum annuum es la más ampliamente distribuida y cultivada en México y el mundo (Pérez-Castañeda *et al.*, 2008). Esta especie puede cultivarse desde el nivel del mar y hasta 2,500 msnm. Su crecimiento puede ser anual o perenne, sus tallos suelen ser erectos, herbáceos y ramificados de color verde oscuro, la planta tiene una altura promedio de 60 cm, sus hojas son planas, simples y de forma ovoide alargada y sus raíces crecen a profundidades de hasta 1.2 m y 1.2 m de ancho. Las flores son blancas, perfectas (hermafroditas) y se forman en las axilas de las ramas. Su fruto es alargado y comienza a hacerse curvo conforme alcanza su madurez (Barchenger y Bosland, 2019; Pérez-Castañeda *et al.*, 2015).

En México, el chile es de gran importancia cultural y gastronómica. México ocupa el segundo lugar a nivel mundial en cuanto a la producción de chile verde, con 3,047,218.38 ton, y es uno de los principales países exportadores (SIAP-SAGARPA, 2021). Los chiles son consumidos en fresco, cocidos, deshidratados, curtidos, entre otros.

2.1.1. Problemática Fitosanitaria del Chile en México

El cultivo de chile es susceptible a un gran número de enfermedades ocasionadas por diversos fitopatógenos entre los que se encuentran hongos (*Alternaria solani*, *A. alternata*, *Oidiopsis taurica*, *Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium rolfsii* entre

otros), oomicetos (*Phytophthora capsici*, *Pythium* spp.), bacterias como *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, virus (Virus Jaspeado del Tabaco, Virus del Mosaico del Pepino, Virus del Mosaico del Tabaco, Virus Huasteco del Chile, Virus del Chile Jalapeño y Virus Chino del Tomate) y nematodos (*Meloidogyne* spp. y *Nacobbus* spp.). Estos fitopatógenos son los encontrados con mayor frecuencia en México y se estima que pueden ocasionar pérdidas parciales o totales del cultivo, provocando que en algunas regiones se disminuyan la superficie de siembra o incluso se traslade la siembra a otras regiones (Laborde y Pozo, 1984; López y González, 2001)

2.1.2. Microorganismos Fitopatógenos

Se han reportado diversos microorganismos fitopatógenos que afectan a este cultivo, provocando grandes pérdidas para los agricultores. Destacan por su importancia, los Oomicetos *Phytophthora capsici* y *Pythium* spp. (Majid *et al.*, 2017; Nawaz *et al.*, 2015) y varios hongos (*Fusarium* spp. *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum acutatum*, *Colletotrichum capsici* y *Colletotrichum gloeosporioides*), entre otros (Frans *et al.*, 2017; Kumar *et al.*, 2017; Naresh *et al.*, 2017; Than *et al.*, 2008).

2.2. *Phytophthora capsici*

Phytophthora capsici es un Oomiceto fitopatógeno. Su principal hospedero es *C. annuum* (Hausbeck y Lamour, 2004). Este patógeno fue aislado de plantas de Chile con daños y descrito por primera vez por Leonian (1922). La enfermedad causada por *P. capsici* en Chile es conocida como marchitez del Chile, la cual es inicialmente asintomática pero conforme la enfermedad avanza, las raíces y tallos se tornan descoloridos, y se pueden evidenciar lesiones circulares o irregulares color marrón claro en las hojas y frutos (Ristaino y Johnston, 1999; Weber, 1932). Se ha demostrado que puede ocasionar la marchitez y defoliación completa de la planta en pocos días, por ser un patógeno que impide el suministro de nutrientes al bloquear el xilema, especialmente en ambientes con

humedades altas y temperatura de entre 25 y 30 °C (Chew *et al.*, 2008; Hausbeck y Lamour, 2004).

2.2.1. Características Macro y Microscópicas de *Phytophthora capsici*

Macroscópicamente presenta micelio blanquecino cenocítico que puede tornarse oscuro cuando la colonia es vieja. Microscópicamente presenta esporangios ovoides piriformes de entre 33-138 µm de largo y 14- 43 µm de ancho que en medios acuosos producen zoosporas biflageladas (Alconero y Santiago, 1972; Bernhardt y Grogan, 1982). Estas zoosporas flageladas favorecen su diseminación y búsqueda de nuevas plantas hospederas. *Phytophthora capsici* se reproduce sexualmente cuando el anteridio (masculino) y el oogonio (femenino) entran en contacto, dando como resultado las oosporas, estas pueden persistir en el suelo por varios años o sobrevivir en tejido muerto en espera de un nuevo hospedero, lo que las convierte en la primera fuente de inóculo (Lamour y Hausbeck, 2001). Este patógeno produce enzimas como las poligalacturonasas, pectinasas, metilesterasas y pectato liasas que degradan la pared celular de las plantas (Bishop-Hurley *et al.*, 2002; Feng *et al.*, 2010; French *et al.*, 2007; Hardham y Shan, 2009; Nespoulous *et al.*, 1999).

2.2.2. Control de *Phytophthora capsici*

Para el control de este patógeno se implementan diversas estrategias, ya sea solas o en combinación, tales como rotación de cultivos, control cultural, y el uso de fungicidas como el mefenoxam (Metalxyl-M) que inhibe el crecimiento de este Oomiceto por interferencia selectiva con la síntesis de ARN ribosomal. Aunque este producto ha resultado eficiente en la supresión del patógeno, desafortunadamente inducen resistencia parcial o total en los hongos objetivo, aunado a la contaminación ambiental por su uso excesivo (Pons-Hernández *et al.*, 2020).

El control biológico mediante el uso de microorganismos benéficos como hongos (*Trichoderma*), bacterias (*Bacillus*) y actinobacterias (*Streptomyces*) (Pilkington *et al.*, 2010) es una de las

estrategias prometedoras para la prevención y supresión de la marchitez del chile (Barratt *et al.*, 2018; Begg *et al.*, 2017).

2.3. Actinobacterias

Las actinobacterias pertenecen al filo actinobacteria, subclase actinobactereridae, orden de los actinomicetales, en el que se agrupan 14 subórdenes, 49 familias y más de 140 géneros. Son bacterias filamentosas Gram positivas con altos niveles de guanina y citosina en su ADN, tienen una pared celular rígida compuesta de ácido murámico, la gran mayoría de las actinobacterias terrestres son mesófilicas y su desarrollo óptimo ocurre entre 25 a 30 °C y pH neutro, aunque pueden crecer en rangos de 5.0-9.0, algunos pueden ser halófilos (crecen en suelos salinos) o termófilos (crecen por arriba de los 45 °C). Algunas especies de los géneros *Thermoactinomyces* y *Streptomyces* han sido reportadas como termofílicas (55 a 65°C) creciendo en compostas y abonos (Bhatti *et al.*, 2017).

Algunos de los factores importantes que condicionan la abundancia de las actinobacterias en el suelo, son la disponibilidad de nutrientes, abundancia de materia orgánica, salinidad, humedad relativa, temperatura, pH y la vegetación del suelo (Goodfellow y Williams, 1983; McCarthy y Williams, 1990). La mayoría de las actinobacterias tienen la capacidad de producir compuestos bioactivos como antibióticos, antifúngicos, antivirales, enzimas y otros compuestos que pueden ser utilizados en el ámbito médico, agrícola e industrial (Baltz, 2007; Demain y Sanchez, 2009; Kekuda *et al.*, 2010).

2.3.1. Características Macro y Microscópicas

Las actinobacterias tienen dos formas celulares, el crecimiento filamentososo que consta de micelio de substrato y aéreo, en esta forma es donde se da la reproducción y síntesis de compuestos. La segunda forma celular son las esporas (que son las estructuras de resistencia), éstas germinan

cuando las condiciones ambientales son favorables y pasan a la forma vegetativa (Mayfield *et al.*, 1972). El micelio es ramificado, no fragmentado, generalmente con hifas vegetativas de entre 0.2 a 0.8 μm de diámetro, el micelio forma cadenas de esporas cuando madura y pueden ser lisas, espinosas, vellosas, rugosas o granuladas no móviles. Las colonias son secas y serosas, capaces de producir pigmentos, algunos de éstos difusibles en el medio (Goodfellow *et al.*, 2012; Waksman, 1940, 1950).

2.3.2. Ecología

Las actinobacterias se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, incluidos agua salada y cuerpos de agua dulce (Macagnan *et al.*, 2006). La mayoría de las actinobacterias en ecosistemas terrestres son saprófitos estrictos porque su principal reservorio es el suelo, especialmente agrícolas, heno y composta, donde si, las condiciones no son favorables pueden permanecer por periodos largos formando estructuras de supervivencia (artrosporas) que germinarán cuando las condiciones sean óptimas (Moncheva *et al.*, 2002).

El género *Streptomyces* es el más ampliamente distribuido y estudiado de las actinobacterias. Razón por la cual, la frecuencia con la que se aísla es superior al 95%, mientras que el resto corresponde a otros géneros (Barka *et al.*, 2015). Esta tendencia es atribuida principalmente a la selectividad de los métodos utilizados para el aislamiento (Williams, 1982).

2.3.3. Actinobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal

Muchos microorganismos se desarrollan en la rizosfera de las plantas o en el interior de éstas como endófitos. Algunos de estos microorganismos son promotores del crecimiento vegetal, destacando entre ellos las bacterias (incluyendo actinobacterias) extensamente conocidas como rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR, por sus siglas en inglés). Estas bacterias influyen positivamente la salud, el desarrollo y la productividad de las plantas, de manera directa o indirecta.

De manera directa, mediante el aumento en la disponibilidad de nutrientes al solubilizar fosfatos, fijar nitrógeno, y producir sideróforos, lo que le permite a la planta desarrollarse inclusive en suelos con escasos nutrientes (Lugtenberg y Kamilova, 2009; Ortíz-Castro *et al.*, 2009; Pérez-Montaña *et al.*, 2014). La producción de fitohormonas como auxinas, citocinas y enzimas que modifican las redes de señalización hormonal, es otro de los mecanismos mediante los cuales, las PGPR favorecen el crecimiento de las plantas (Glick *et al.*, 2007; Gouvêa *et al.*, 1997; Leveau y Lindow, 2005).

De manera indirecta estas bacterias mejoran el crecimiento vegetal activando los sistemas de defensa de las plantas principalmente las resistencias sistémicas y aliviando el estrés abiótico inducido por sequía y/o salinidad (Cartieaux *et al.*, 2008; Van Wees *et al.*, 1997; Walker *et al.*, 2011).

Estas cualidades posicionan a las PGPR, incluidas las actinobacterias, como una alternativa al uso de fertilizantes minerales. Afortunadamente, esas cualidades han sido recientemente exploradas en la agroindustria y como resultado de esto, a la fecha podemos encontrar una variedad de estos productos disponibles en el mercado, con PGPR como ingrediente activo (Dey *et al.*, 2014; Pérez-Montaña *et al.*, 2014)

Se han reportado diversos géneros bacterianos capaces de promover el crecimiento vegetal, entre los que destacan *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Azospirillum* y *Streptomyces* (actinomicetos/actinobacterias).

Las actinobacterias producen metabolitos que favorecen el crecimiento y nutrición vegetal e inducen los sistemas de defensa de las plantas. Entre estos metabolitos destacan fitohormonas como el ácido 3-indol acético (AIA), sideróforos, además de que dichas bacterias son capaces de solubilizar fosfatos, fijar nitrógeno atmosférico, entre otras (Gopalakrishnan *et al.*, 2014).

El nitrógeno (N) y fósforo (P) son macroelementos indispensables para el desarrollo óptimo de las plantas. El N se encuentra disponible como nitrógeno molecular y solo es metabolizado por pocos microorganismos, entre ellos algunas actinobacterias con la capacidad de reducir el N₂ atmosférico a amonio (NH₄) para que pueda ser absorbido por las plantas (Philippot y Germon, 2005). Mientras que el P, es muy abundante en el suelo, pero se encuentra en forma inorgánica, la cual no puede ser absorbida directamente por las plantas. Usualmente para contrarrestar este problema se aplican fertilizantes a base de fósforo orgánico, pero éste es inmovilizado en el suelo y no puede ser aprovechado en su totalidad por las plantas (Sharma *et al.*, 2013). Afortunadamente muchos

microorganismos, incluidas algunas cepas de actinobacterias solubilizan fosfatos, haciendo disponible el P para las plantas.

Por otra parte, las actinobacterias son capaces de producir sideróforos (quelantes de hierro), permitiendo que el hierro presente en el suelo principalmente en su forma Fe^{3+} pase a Fe^{2+} y pueda ser absorbido por las plantas.

Las fitohormonas que regulan el crecimiento vegetal y el desarrollo de las plantas se clasifican en cinco grupos (auxinas, citocinas, giberelinas, etileno y ácido abscísico). Las auxinas incluyen el AIA, el cual está implicado en la mejora de algunos atributos de calidad de las plantas como el tamaño de los frutos, además de activar la resistencia por parte de la planta a factores ambientales (Shutsrirung *et al.*, 2013).

2.3.4. Actinobacterias como Agentes de Control Biológico

Diversos métodos de control han sido estudiados e implementados para suprimir enfermedades en el cultivo de chile, incluyendo rotación de cultivos, quema de rastrojo, uso de fungicidas químicos y agentes de control biológico, y por supuesto, manejo integrado de enfermedades (MIE). El uso de microorganismos benéficos como agentes microbianos para el control biológico de fitopatógenos ha destacado como una alternativa prometedora, por ser más amigable con el medio ambiente y que además fortalece los esquemas de MIE en los cultivos hortofrutícolas, incluido el chile.

Las actinobacterias son conocidas por su habilidad para suprimir tanto *in vitro* como *in situ* el crecimiento de una gran variedad de hongos fitopatógenos, especialmente, cepas de actinobacterias aisladas de la rizosfera de plantas cultivadas y no cultivadas (Chaurasia *et al.*, 2018). Algunos de los modos de acción que utilizan las actinobacterias para suprimir el crecimiento de fitopatógenos de manera directa son la antibiosis a través de la biosíntesis de compuestos antimicrobianos volátiles y no volátiles, la degradación de las paredes celulares por enzimas líticas, competencia por espacio y nutrientes e hiperparasitismo (Karimi *et al.*, 2012). La forma indirecta ocurre mediante la inducción/activación de los mecanismos de defensa de la planta al producir compuestos elicitores como fitohormonas y señalizadores móviles como el ácido salicílico (Viaene *et al.*, 2016).

Diversas especies de actinobacterias, principalmente del género *Streptomyces* han sido probadas para la supresión de múltiples fitopatógenos en diferentes cultivos agrícolas, incluido el chile (*Capsicum* spp.) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Principales actinobacterias utilizadas para control biológico de enfermedades en Chile.

<i>Actinobacteria</i>	Fitopatógeno	Referencia
<i>Streptomyces</i> sp.	<i>Rhizoctonia solani</i>	(Passari <i>et al.</i> , 2015a)
<i>Leifsonia xyli</i>	<i>Fusarium graminearum</i>	
	<i>F. oxysporum</i>	
<i>Actinobacteria</i>	<i>Colletotrichum acutatum</i>	(Passari <i>et al.</i> , 2016)
<i>Streptomyces hygroscopicus</i>	<i>Sclerotium rolfsii</i>	(Pattanapitpaisal y Kamlandharn, 2012; Saengnak <i>et al.</i> , 2013)
<i>Streptomyces</i> sp.	<i>F. oxysporum</i>	(Saengnak <i>et al.</i> , 2013)
<i>Streptomyces ambofaciens</i>	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	(Heng <i>et al.</i> , 2015)
<i>Streptomyces</i> sp.	<i>Phytophthora capsici</i>	(Balaraju <i>et al.</i> , 2016)
	<i>Pectobacterium carotovorum</i>	
<i>Streptomyces rubrolavendulae</i>	<i>Phytophthora infestans</i>	(Loliam <i>et al.</i> , 2012)

2.3.5. Actinobacterias no Estreptomicetos

Cepas del género *Streptomyces* sp. aisladas de suelo, son las que han sido más estudiadas como agentes de control biológico de hongos fitopatógenos y como promotores del crecimiento vegetal, probablemente, debido a que este género es el más frecuentemente aislado, gracias a que la mayoría de los medios utilizados para el aislamiento de actinobacterias están diseñados para la obtención de cepas de *Streptomyces*. Lo anterior hace que el aislamiento de actinobacterias no estreptomicetos sea menos frecuente y, por ende, que estos microorganismos sean menos estudiados y reportados en la literatura. A pesar de la poca información existente respecto a estas actinobacterias, éstas podrían resultar promisorias como promotoras del crecimiento vegetal y en la supresión de microorganismos patógenos (Cuadro 2).

Por lo anterior, se considera de gran importancia estudiar otros géneros de actinobacterias de las que no existe mucha información como *Amycolatopsis*, *Nocardioides* y *Saccharopolyspora*, con el fin de evaluar su capacidad anti-fitopatógena para ser utilizados como agentes de biocontrol y en la promoción del crecimiento de plantas cultivadas (Pérez-Corral *et al.*, 2015). Se ha evidenciado que algunas cepas del género de *Amycolatopsis* han sido reportados como antagonistas de diversos fitopatógenos como *Leucocoprinus* sp., *Fusarium solani*, *Acrodonium* sp., *Cyphellophora* sp. *Syncephalastrum racemosum*, *Phoma* sp., *Escovopsis* sp, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum* y *Curvularia oryzae* (Saito *et al.*, 2009), además de ser promotores del crecimiento vegetal (Tamreihao *et al.*, 2017). Por su parte, cepas pertenecientes al género *Nocardioides* fueron reportados por su antagonismo contra fitopatógenos como *Alternaria solani*, *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium* spp. y *Fusarium pseudograminearum* (Franco *et al.*, 2007). *Nocardioides* spp. también se considera como un promotor del crecimiento vegetal. *Saccharopolyspora* ha presentado antagonismo contra diversos fitopatógenos como *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *Penicillium digitatum*, *P. pinophilum*, *Alternaria brassicicola*, *Chaetomium globosum*, *Fusarium oxysporum*, *Phytophthora dreselea*, *Rhizoctonia solani*, *Botrytis cinerea* y *Colletotrichum falcatum* (Gangwar *et al.*, 2012a)

Cuadro 2. Actinobacterias no estreptomicetos utilizadas como agentes de control biológico de patógenos en diversos cultivos.

Antagonista	Fitopatógeno	Planta	Enfermedad	Referencia
<i>Actinoplanes</i> spp.	<i>Pythium ultimum</i>	Remolacha	Damping-off	(Khan <i>et al.</i> , 1993)
<i>A. missouriensis</i>	<i>Phytophthora megasperma f. sp. glycinea</i>	Soja	Pudrición de raíz	(Sutherland <i>et al.</i> , 1984)
<i>A. missouriensis</i>	<i>P. megasperma f. sp. glycinea</i>	Soja	Pudrición de raíz	(Filonow y Lockwood, 1985)
<i>A. missouriensis</i>	<i>Plectosporium tabacinum</i>	Lupino	Pudrición de raíz	(El-Tarabily, 2003)
<i>A. philippinensis</i>	<i>Pythium coloratum</i>	Zanahoria	Picado	(El-Tarabily <i>et al.</i> , 1997)
<i>A. philippinensis</i>	<i>Pythium aphanidermatum</i>	Pepino	Damping-off	(El-Tarabily, 2006)
<i>A. utahensis</i>	<i>P. megasperma f. sp. glycinea</i>	Soja	Pudrición de raíz	(Filonow y Lockwood, 1985)
<i>Actinomadura</i> sp.	<i>Phytophthora cinnamomi</i>	Boca de dragón	Pudrición de raíz	(You <i>et al.</i> , 1996)
<i>A. rubra</i>	<i>P. coloratum</i>	Zanahoria	picado	(El-Tarabily <i>et al.</i> , 1997)
<i>Amorphosporangium auranticolor</i>	<i>P. megasperma f. sp. glycinea</i>	Soja	Pudrición de raíz	(Filonow y Lockwood, 1985)
<i>Microbispora</i> sp.	<i>Gaeumannomyces graminis var. tritici</i>	Trigo	Pietín del trigo	(Coombs <i>et al.</i> , 2004)
<i>Microbispora rosea</i>	<i>P. aphanidermatum</i>	Pepino	Damping-off	(El-Tarabily, 2006)
<i>Micromonospora</i> sp.	<i>Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici</i>	Tomate	Marchitez vascular	(Smith, 1957)
<i>Micromonospora</i> sp.	<i>P. megasperma f. sp. glycinea</i>	Soja	Pudrición de raíz	(Filonow y Lockwood, 1985)
<i>Micromonospora</i> sp.	<i>G. graminis var. tritici</i>	Trigo	Pietín del trigo	(Coombs <i>et al.</i> , 2004)
<i>M. carbonacea</i>	<i>P. cinnamomi</i>	<i>Banksia</i> sp.	Pudrición de raíz	(El-Tarabily <i>et al.</i> , 1996)
<i>M. carbonacea</i>	<i>P. coloratum</i>	Zanahoria	Picado	(El-Tarabily <i>et al.</i> , 1997)

<i>M. carbonacea</i>	<i>Sclerotinia minor</i>	Lechuga	Declive basal	(El-Tarabily <i>et al.</i> , 2000)
<i>Micromonospora chalcea</i>	<i>P. aphanidermatum</i>	Pepino	Damping-off	(El-Tarabily, 2006)
<i>M. globosa</i>	<i>Fusarium udum</i>	Frijol chícharo	Marchitez vascular	(Upadhyay y Rai, 1987)
<i>Nocardia globerula</i>	<i>Helminthosporium solani</i>	Papa	Sarna plateada	(Elson <i>et al.</i> , 1997)
<i>Nocardioides</i> sp.	<i>Phytophthora fragariae</i> var. <i>rubi</i>	Frambuesas	Pudrición de raíz	(Valois <i>et al.</i> , 1996)
<i>Nocardioides</i> sp.	<i>G. graminis</i> var. <i>tritici</i>	Trigo	Pietín del trigo	(Coombs <i>et al.</i> , 2004)
<i>Streptosporangium albidum</i>	<i>P. coloratum</i>	Zanahoria	Picado	(El-Tarabily <i>et al.</i> , 1997)
<i>Streptoverticillium netropsis</i>	<i>P. coloratum</i>	Zanahoria	Picado	(El-Tarabily <i>et al.</i> , 1997)

2.3.5.1. *Amycolatopsis*. Género propuesto para las actinobacterias con micelio aéreo estéril e hifas de sustrato que se fragmentan en estructuras en forma de esporas cuadradas u ovaladas; algunos miembros de este género fueron inicialmente clasificados en los géneros *Actinomyces*, *Nocardia*, *Proactinomyces* y *Streptomyces*. Después fueron reclasificadas en *Amycolatopsis*, género conocido por su capacidad para producir metabolitos secundarios bioactivos. Este género ha sido encontrado en múltiples ecosistemas (Nafis *et al.*, 2019; Steven *et al.*, 2008), sin embargo, la mayoría de las cepas de este género han sido aisladas de suelos, incluidos los asociados a raíces, polvos de catacumbas y sedimentos oceánicos, inclusive de suelos contaminados con metales pesados, pero pocas especies de este género han sido reportadas como endófitas.

Dentro del género *Amycolatopsis*, las especies *A. rifamycinica* y *A. orientalis* se han reportado como productoras de rifampicina y vancomicina, respectivamente (Bala *et al.*, 2004; Wink, 2003). También han demostrado potencial antagónico contra múltiples hongos fitopatógenos como *Leucocoprinus* sp., *Fusarium solani*, *Acrodonium* sp., *Phoma* sp., *Escovopsis* sp., *Rhizoctonia solani*, *F. oxysporum* y *Curvularia oryzae* (Sen *et al.*, 2009; Tamreihao *et al.*, 2017). Saito *et al.* (2009) evidenciaron actividad antifúngica de *Amycolatopsis* sp. contra *R. stolonifer*, *M. javanicus*, y *M. racemosus* y la tribuyeron a la capacidad de esta cepa para producir enzimas líticas como quitinasa.

La cepa *Amycolatopsis* sp. BCA-696 aislada de rizosfera de garbanzo (*Cicer arietinum*) por Gopalakrishnan *et al.* (2019) fue capaz de promover el crecimiento vegetal en garbanzo y sorgo, y de suprimir la pudrición de raíz del sorgo causada por el hongo *Macrophomina phaseolina*, en condicionados de invernadero y campo.

Ningthoujam *et al.* (2016) reportaron una cepa de *Amycolatopsis* sp. MBRL 40 capaz de producir compuestos promotores del crecimiento (AIA) y enzimas líticas (queratinasa), además de solubilizar fosfatos. *Amycolatopsis* sp. MBRL 40 también promovió una mayor germinación en semillas de arroz (*Oryza sativa*), así como un mayor índice de vigor germinativo, además se evidenció un aumento considerable en la altura de la planta, y peso seco y fresco de las raíces (Tamreihao *et al.*, 2017).

2.3.5.2. *Nocardioides*. Este género fue propuesto por Prauser (1976) para actinobacterias Gram-positivas, aeróbicas, mesofílicas, nocardioformes, con micelio que se fragmenta en estructuras

redondas o cocos. Este género constaba solamente de dos especies originalmente, subsecuentemente, otras especies fueron agrupadas en este género, basado en sus caracteres morfológicos (O'Donnell *et al.*, 1982). Cepas de este género han sido aisladas de una gran variedad de ecosistemas como suelos, plantas, aguas residuales y lagos (Prauser, 1989) y se ha demostrado su potencial en la degradación de contaminantes, por esta razón son de gran interés en la biorremediación y detoxificación en regiones contaminadas (Männistö *et al.*, 2001).

Algunas cepas de este género han sido aisladas de plantas, especialmente asociadas a la rizosfera, pero también se han reportado cepas endófitas. En algunas cepas de *Nocardioides* sp. como NIMMe6, se ha demostrado su capacidad para producir AIA y ácido salicílico en cantidades considerables, ambos compuestos además de ser promotores del crecimiento vegetal tienen función elicitora y son capaces de sobrevivir en medios pobres en nitrógeno (Meena *et al.*, 2020). Carrer-Filho (2002) reportó una cepa de *Nocardioides thermolilacinus* como agente de control biológico al reducir significativamente la severidad de la mancha negra en tomate causada por *Alternaria solani*. La cepa 3Y27 de *Nocardioides* sp. fue reportada como antagonista a *Botrytis cinerea* y como posible promotora del crecimiento vegetal, al producir AIA y sideróforos (Andreolli *et al.*, 2016). También se ha documentado que algunas cepas de *Nocardioides* sp. pueden proteger a las semillas de trigo (*Triticum*) contra patógenos del suelo como *Rhizoctonia solani*, *Pythium* spp. y *Fusarium pseudograminearum* (Franco *et al.*, 2007)

2.3.5.3. *Saccharopolyspora*. Género propuesto por Lacey y Goodfellow (1975), agrupa a las actinobacterias con micelio aéreo blanco, que forman hifas aéreas ramificadas y que se fragmentan en forma de bastón en esporas circulares con apariencia de perla en cadena dentro de una vaina filamentosa. Las especies de este género son aerobias, no ácido resistentes. Su pared celular está compuesta por ácido diaminopimélico y la célula contiene hidrolizados de arabinosa y galactosa. Actualmente este género consta de 21 especies. Dentro de estas, se encuentran *S. erythraea*, que produce los antibióticos de importancia comercial eritromicina A y eritronolida B (Martin y Rosenbrook, 1967) y *S. aurantica*, que produce compuestos plaguicidas, lo que la hace importante en agricultura (Fabre *et al.*, 1993). Otra especie importante es *S. spinosa* por su acción insecticida al producir macrólidos derivados de policétidos glicosilados, como la espinosina A y D (Hong *et al.*, 2006). Gangwar *et al.* (2012b) reportaron que la cepa *Saccharopolyspora* R39 fue capaz de

producir AIA y solubilizar fosfatos. También se han documentado cepas (R39 y O-9) de *Saccharopolyspora* con actividad antifúngica, especialmente contra los hongos *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *Penicillium digitatum*, *P. pinophilum*, *Alternaria brassicicola*, *Chaetomium globosum*, *Fusarium oxysporum*, *Phytophthora dreselea*, *Rhizoctonia solani*, *Botrytis cinerea* y *Colletotrichum falcatum* (Gangwar *et al.*, 2012b).

3. HIPÓTESIS

Las cepas de actinobacterias no estreptomicetos inhiben eficazmente el crecimiento *in vitro* del Oomiceto *Phytophthora capsici* mediante compuestos volátiles y no volátiles y promueven la acumulación de biomasa en plántulas de *Arabidopsis thaliana* y *Capsicum annuum*.

4. OBJETIVO

4.1. Objetivo General

Evaluar la capacidad de cepas de actinobacterias no estreptomicetos para inhibir el crecimiento de *Phytophthora capsici* mediante compuestos volátiles y no volátiles y promover el crecimiento de plántulas de *Arabidopsis thaliana* y *Capsicum annuum*.

4.2. Objetivos Específicos

- I. Verificar y cuantificar la producción de sideróforos y ácido 3-indol acético por las cepas de actinobacterias.
- II. Evaluar la capacidad de las cepas de actinobacterias para solubilizar fosfatos y fijar nitrógeno atmosférico.
- III. Cuantificar en las cepas de actinobacterias la actividad enzimática de quitinasa y celulasa implicadas en la degradación de la pared celular de *P. capsici*.
- IV. Evaluar la actividad de las actinobacterias en la inhibición del crecimiento *in vitro* de *P. capsici*.
- V. Evaluar la capacidad de las cepas de actinobacterias para promover el crecimiento *in vitro* de *Arabidopsis thaliana* e *in situ* de *Capsicum annuum*
- VI. Identificar los compuestos volátiles emitidos por las cepas de actinobacterias no estreptomicetos que pudieran estar involucrados en la supresión del crecimiento micelial de *P. capsici*.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Microorganismos, Semillas y Reactivos

Todos los reactivos (grado analítico) fueron adquiridos de Sigma Aldrich (St. Louis, MO, EUA). Las cepas de actinobacterias no estreptomicetos: *Amycolatopsis umgeniensis* CIAD-IA16, *Amycolatopsis lexingtonensis* CIAD-CA13, *Amycolatopsis lurida* CIAD-CA30, *Nocardioides albertanoniae* CIAD-CA20, *Saccharopolyspora shandongensis* CIAD-CA15 y la cepa *Streptoverticillium* (= *Streptomyces*) *reticulum* CIAD-IA69 (testigo positivo), fueron proporcionadas por el cepario del CIAD, Unidad Cuauhtémoc. Estas cepas se encuentran dadas de alta en el GenBank bajo las siguientes claves de acceso: MN309761.1, MK968580.1, MK968591.1, MK968585.1, MK968582.1 y MN309769.1, respectivamente. La cepa del fitopatógeno *Phytophthora capsici* CPV-283 (AR26) fue proporcionada por la Dra. Sylvia Patricia Fernández Pavía, obtenida de una colección perteneciente al Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales de la Universidad Michoacana de San Nicolás Hidalgo (UMSNH), Morelia, Michoacán, México. Esta cepa fue aislada de plantas de *C. annuum* en Yurécuaro, Michoacán, México, y seleccionada con base en su capacidad patogénica documentada en un estudio previo (Castro-Rocha *et al.*, 2016). Este oomiceto se mantuvo en agar harina de maíz (CM) y fue sub-cultivado en el medio de cultivo Papa Dextroza Agar (PDA) a 28 ± 1 °C por 7 d, previo a su uso. Las semillas de chile jalapeño “M” *Capsicum annuum* L. se compraron a una empresa local en Delicias, Chih., Méx. Las semillas de *Arabidopsis thaliana* (genotipo salvaje Col-0, usadas como plantas modelo) fueron proporcionadas por Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (CINVESTAV-Irapuato, Guanajuato, México) del Instituto Politécnico Nacional (IPN).

5.2. Caracterización Bioquímica de las Cepas de Actinobacterias

5.2.1. Fijación de Nitrógeno

La capacidad de las cepas de actinobacterias para fijar nitrógeno fue evaluada de forma cualitativa utilizando el medio mineral de glucosa libre de nitrógeno (GNFM, por sus siglas en inglés) con azul de bromotimol (BTB, por sus siglas en inglés). Este medio estuvo compuesto por 10 g de glucosa, 1g de K_2HPO_4 , 0.2g de $MgSO_4$, 0.2g de $NaCl$, 1g de $CaCO_3$, 0.005g de $NaMoO_4$, 0.1g de $FeSO_4$, 20g de agar y 1 L agua destilada (pH 7). Este medio se vació en cajas de Petri (90 × 15 mm), las cuales se inocularon en el centro con cada una de las cepas de actinobacterias y se incubaron a 29 ± 1 °C por 7 d. Se consideraron positivas aquellas cepas que desarrollaron un color azul alrededor de la colonia (Figura 1) (Ahmad *et al.*, 2013).

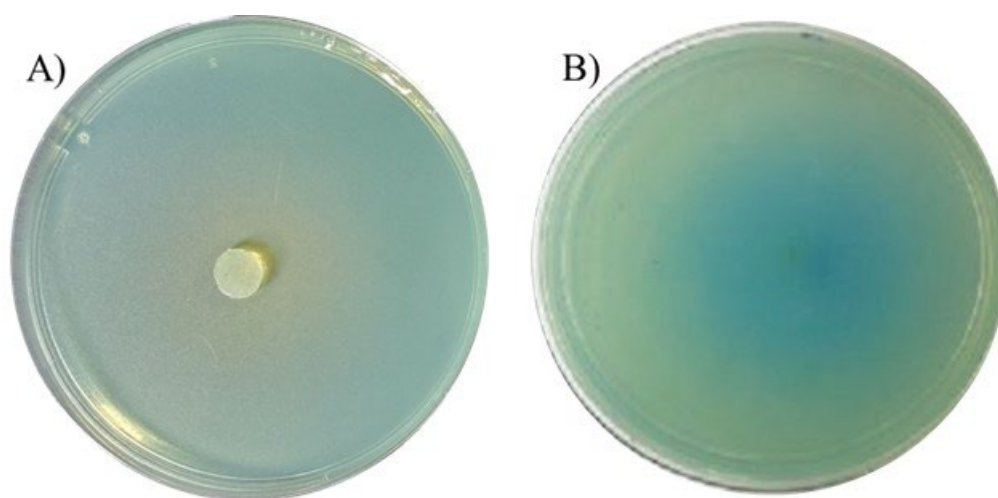


Figura 1. Fijación de nitrógeno en agar GNFM por cepas de actinobacterias no estreptomicetos. A) reacción negativa, B) reacción positiva evidenciada por una coloración azul.

5.2.2. Producción de Sideróforos

La producción de sideróforos por las cepas de actinobacterias se evaluó *in vitro* en agar

cromoazurol de acuerdo con lo propuesto por Alexander y Zuberer (1991). Un explante de 7 mm de diámetro de la actinobacteria con 7 d de crecimiento en Czapek Dox se inoculó en el centro de la caja de Petri (90 × 15 mm) que contenía el agar cromoazurol y se incubó a 29 ± 1 °C por 7 d. Las cepas de actinobacterias que formaron halos con una coloración anaranjada alrededor de la colonia se consideraron positivas a la producción de sideróforos (Figura 2).

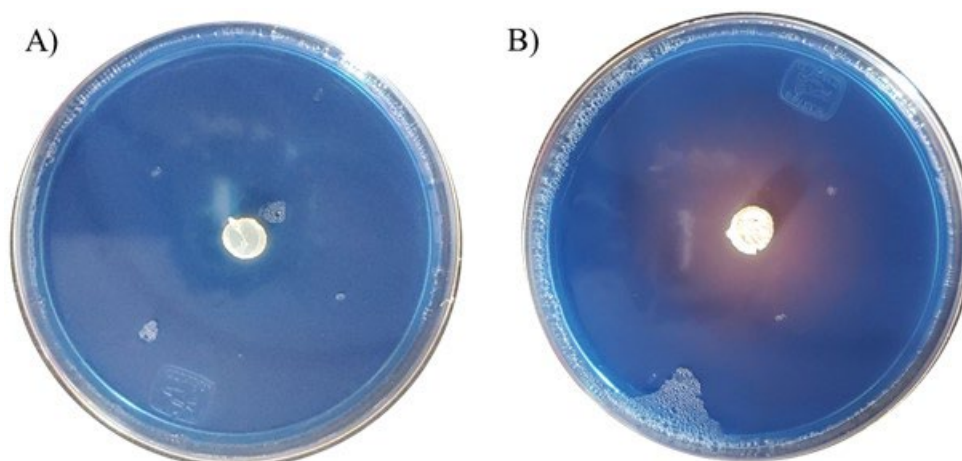


Figura 2. Producción de sideróforos en agar CAS por cepas de actinobacterias no estreptomicetos. A) reacción negativa, B) reacción positiva evidenciada por una coloración anaranjada alrededor de la colonia.

En las cepas de actinobacterias en las que se evidenció la producción de sideróforos, se realizó la cuantificación. Para este propósito, las cepas se crecieron en tubos cónicos que contenían 4 mL de medio ISP4 líquido (Lee *et al.*, 2012), el cual se preparó con algunas modificaciones. Este medio contuvo 4 g/L de almidón soluble, 1 g/L de extracto de levadura, 2 g/L KNO_3 , 0.5 g/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.02 g/L CaCO_3 , 0.01 g/L y 25 g/L de agar y agua destilada. Los tubos se incubaron a 28 ± 1 °C con agitación (180 rpm) por 7 d. Los tubos cónicos que contenían la actinobacteria crecida fueron centrifugados a $10,000 \times g$ por 20 min, se recuperó el sobrenadante y se filtró usando acrodiscos estériles de acetato de celulosa con un tamaño de poro de 0.20 μm (Corning®). Se recuperaron 500 μL del sobrenadante y se mezclaron con una proporción igual (500 μL) del reactivo CAS, el cual se preparó a partir de varias soluciones [(Solución I: HDTMA (Hexadecyltrimethylammonium bromide) 10mM), (Solución II: $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 1 mM diluidos en 10 mM HCl), (Solución III: cromoazurol S 2 mM), (Solución IV: 4.307g de PIPES (piperazine-N,N'-

bis(2-ethanesulfonic acid), piperazine-1,4-bis(2-ethanesulfonic acid), 1,4-piperazinediethanesulfonic acid) disueltos en 10 ADE, a los que se adicionó lentamente y en agitación constante 6.25 mL de HCl 12 M, antes de ajustar su pH a 5.6 con NaOH concentrado)]. En un matraz aforado de 100 ml se adicionaron 6 mL de la solución I y 10 mL de ADE, luego 1.5 mL de la solución II, 7.5 mL de la solución III y el total de la solución IV, aforando con ADE a 100 mL. Finalmente, se adicionó ácido 5-sulfosalicílico en una concentración final de 4 mM. La reacción se incubó por 60 min a temperatura ambiente (21 ± 1 °C). Se midió la absorbancia en un espectrofotómetro (Evolution™ 300 UV-Vis spectrophotometer, Thermo Scientific, EUA) a 630 nm (Lee *et al.*, 2012; Schwyn y Neilands, 1987). El % de unidades de sideróforos producidas por las cepas de actinobacterias se determinó empleando la siguiente ecuación.

$$\%US = \frac{(A_{630M} - A_{630R})}{A_{630R}} \times 100$$

Donde:

%US: es el % de unidades de sideróforos.

A_{630M} : es absorbancia de la muestra a 630 nm.

A_{630R} : es la absorbancia de la referencia a 630 nm.

5.2.3. Producción de Ácido Indolacético (AIA)

Para inducir la producción de AIA por las cepas de actinobacterias, se inoculó 1 mL de un precultivo de la actinobacteria (con 3 d de crecimiento en caldo ISP2) en caldo 4 mL de caldo ISP2 adicionado con L-triptófano (150 mg/L), luego, se incubó a 28 ± 1 °C con agitación (180 rpm) por 7 d. Este cultivo fue centrifugado a $10,000 \times g$ por 5 min, luego se tomó 1 mL del sobrenadante obtenido, se mezcló con 2 mL del reactivo de Salkowski (150 mL de H₂SO₄ concentrado, 250 mL de ADE y 7.5 mL de 0.5 M de FeCl₃.6H₂O) y se incubó por 20 min en obscuridad a temperatura ambiente (21 ± 1 °C). Las cepas que cambiaron de color de amarillo a rosa se consideraron positivas

(Figura 3). Para la cuantificación del AIA producido por las cepas de actinobacterias, se realizó una curva de calibración a partir de un estándar de AIA en concentraciones de 0 a 0.10 mg/mL (Figura 4). La absorbancia se midió en un espectrofotómetro (Evolution™ 300 UV-Vis spectrophotometer, Thermo Scientific, EUA) a 530 nm (de Oliveira-Longatti *et al.*, 2014).

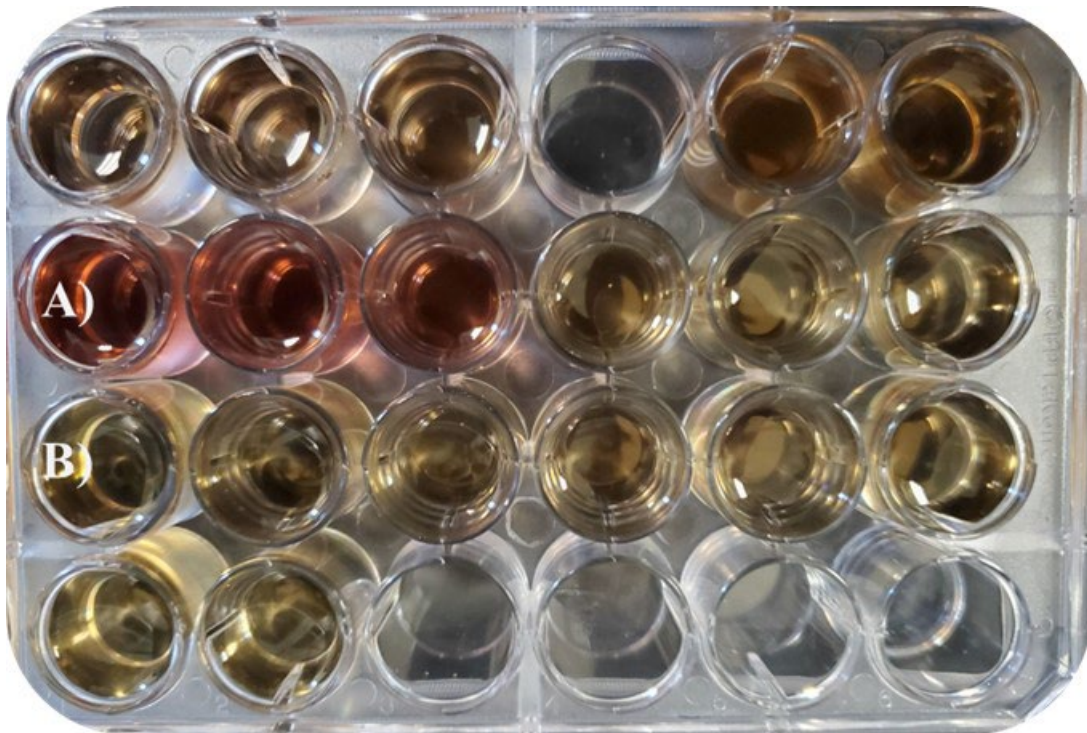


Figura 3. Producción de AIA por cepas de actinobacterias no estreptomicetos. A) reacción positiva evidenciada por un color rosáceo, B) reacción negativa.

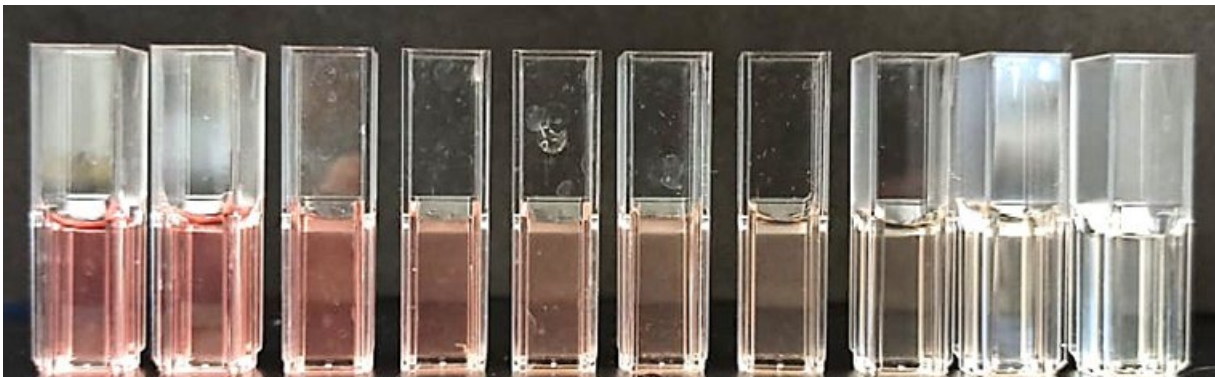


Figura 4. Concentraciones de 0 a 0.10 mg/mL de AIA usadas para la obtención de la curva de calibración para la medición cuantitativa de AIA producido por las cepas de actinobacterias no estreptomicetos.

5.2.4. Solubilización de Fosfatos

La capacidad de las cepas de actinobacterias para solubilizar fosfatos, en especial fosfato de calcio $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, se evaluó en medio Pikovskayas (PKV), el cual estuvo compuesto por 0.5 g/L de extracto de levadura, 10 g/L de dextrosa, 5 g/L de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, 0.5 g/L de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, g/L de KCl 0.2, 0.1 g/L de MgSO_4 , 0.0001 g/L de MnSO_4 , 0.0001 g/L de FeSO_4 y 15 g/L de agar y agua destilada. El pH del medio se ajustó a 7.2. Un explante de 7 mm de diámetro de la actinobacteria con 7 d de crecimiento en medio Czapek Dox, se inoculó en el centro de la caja de Petri con el medio de cultivo arriba descrito y se incubó a 29 ± 1 °C por 7 d. Las cepas que desarrollaron un halo transparente alrededor de la colonia se consideraron positivas (Figura 5) (Soltani *et al.*, 2010).

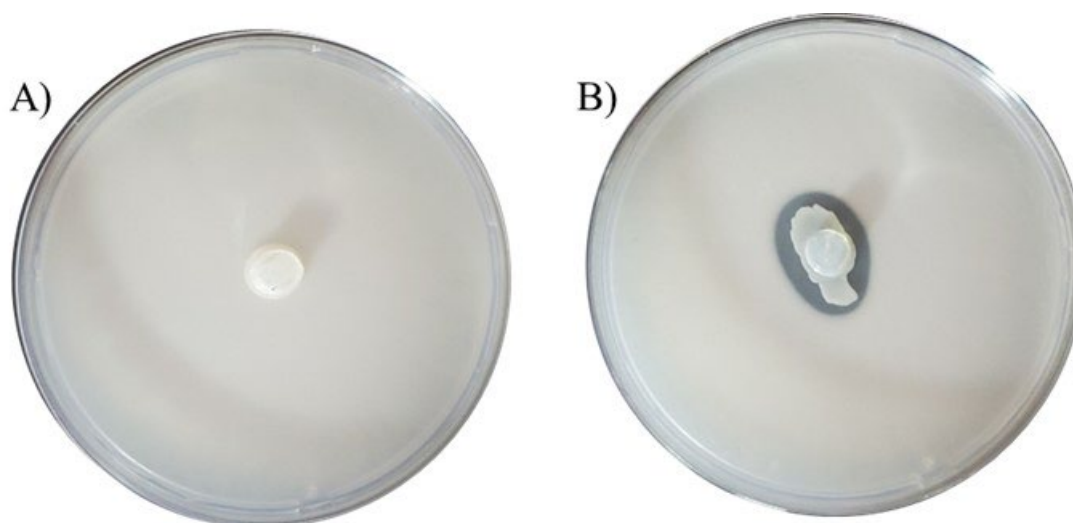


Figura 5. Solubilización de fosfatos de calcio en medio PKV por cepas de actinobacterias no estreptomicetos. A) reacción negativa, B) reacción positiva evidenciada por un halo transparente alrededor de la colonia.

Para la evaluación cuantitativa de la solubilización de fosfatos, se tomaron 200 μL de un precultivo de las actinobacterias previamente crecidas en caldo ISP2 y se inocularon en tubos cónicos que contenían 4 mL de medio NBRIP líquido (10 g de glucosa, 5 g de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, 5 g de $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0.25 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.2 g de KCl, y 0.1 g de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 1 L de ADE) y se incubaron a 28 ± 1 °C en agitación constante a 180 rpm por 7 d. Luego, los tubos con crecimiento de actinobacterias

se centrifugaron a $10,000 \times g$ por 10 min, el sobrenadante se utilizó para determinar la concentración de fósforo soluble. Se usaron 3 mL del sobrenadante y se mezclaron con 4 mL de la solución de Bray que consistió en lo siguiente (1.11 g de NH_4F en 16.64 mL de HCl 0.1 M, aforado a 1 L), 2 mL de una solución de molibdato de amonio (60 g de molibdato de amonio en 200 mL de ADE, luego, se adicionaron 1.455 g de tartrato de antimonio y potasio, 700 mL de H_2SO_4 concentrado, agitando suavemente y se aforó a 1 L) y 1 mL de cloruro de estaño (II). La mezcla final, se agitó por inversión por 1 min y se incubó a temperatura ambiente ($21 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$) por 15 min. Previo a la medición de la absorbancia, se realizó una curva de calibración de KH_2PO_4 con concentraciones de 0 a 1 mg/mL (Figura 6). La absorbancia fue leída en un espectrofotómetro (Evolution™ 300 UV-Vis spectrophotometer, Thermo Scientific, EUA) a 660 nm (Rodríguez Gámez *et al.*, 2013).

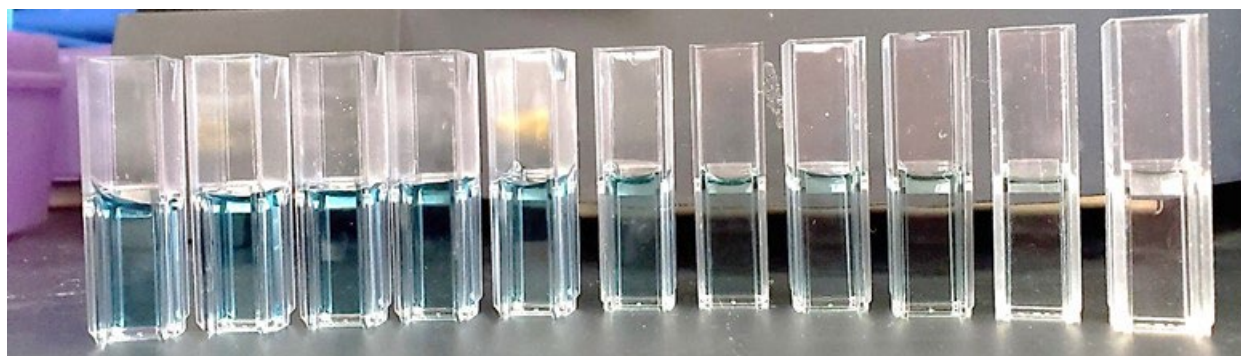


Figura 6. Concentraciones de 0 a 1 mg/mL de KH_2PO_4 para la obtención de la curva de calibración para la medición cuantitativa de solubilización de fosfatos por las cepas de actinobacterias no estreptomicetos.

5.2.5. Actividad Enzimática de Quitinasa

La evaluación cuantitativa y cualitativa de la producción de quitinasa por las cepas de actinobacterias no estreptomicetos, se realizó mediante el método descrito por Narayana y Vijayalakshmi (2009). Se inocularon 2 mL de un pre-cultivo de 3 d de crecimiento en ISP2 en tubos cónicos que contenían 4 mL del medio de cultivo líquido chitin-yeast extract-salts (CYS), que se preparó con quitina al 1%/V, 0.5 g/L de extracto de levadura, 2 g/L de K_2HPO_4 , 1 g/L de

MgSO₄·7H₂O y 0.1 g/L de FeSO₄·7H₂O. El pH del medio se ajustó a 7 con NaOH (5M). Los tubos se incubaron a 28 °C por 5 d y luego, se centrifugaron a 10,000 ×g por 10 min. El sobrenadante se filtró a través de acrodiscos estériles de acetato de celulosa con un tamaño de poro de 0.20 μm (Corning®) y se utilizó como extracto enzimático. La actividad extracelular de exoquitinasa se calculó utilizando el kit CS0980 Chitinase Assay Kit de Sigma Aldrich (St. Louis, MO, EUA), utilizando el 4-Nitrofenil N-acetyl-β-D-glucosaminidasa como sustrato (1 mg/mL), siguiendo las instrucciones del fabricante. Los ensayos se realizaron por triplicado en placas de 96 celdas. Para este propósito, se mezclaron 90 μL del sustrato con 10 μL del extracto enzimático, se incubaron a 37 °C por 30 min y luego se le adicionaron 20 μL de la solución stop (solución de Na₂CO₃). Como testigo positivo se utilizó una mezcla de 90 μL de sustrato y 10 μL de control (quitinasa purificada de *Trichoderma viride* C6242). Todos los reactivos mencionados estuvieron incluidos en el Chitinase Assay Kit. Se tomó como indicador de reacción positiva el desarrollo de color amarillo en el medio de reacción (Figura 7). La cuantificación se hizo mediante la medición de la absorbancia a 405 nm en un espectrofotómetro (Evolution™ 300 UV-Vis spectrophotometer, Thermo Scientific, EUA).

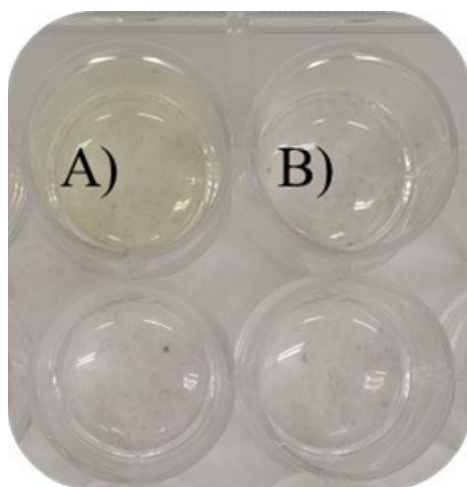


Figura 7. Producción de quitinasa por cepas de actinobacterias no estreptomicetos. A) reacción positiva evidenciada por el color amarillo, B) reacción negativa.

Para cuantificar la actividad de quitinasa, se utilizó la siguiente ecuación:

$$\frac{UA_o}{U/mL} = \frac{(A_{405M} - A_{405B}) \times (0.05) \times (0.3) \times DF}{A_{405S} \times T \times Venz}$$

Donde:

A_{405M} ; es la absorbancia de la muestra a 405 nm.

A_{405B} ; es la absorbancia del blanco a 405 nm.

0.05; son los μ moles/mL de *p*-nitrophenol en la solución estándar

0.3; es el volumen final de la reacción en mL, después de agregar la solución stop.

DF; es el factor de dilución utilizado en las muestras.

A_{405S} ; Absorbancia del estándar a 405 nm.

T; es el tiempo de incubación en min.

Venz; es el volumen de la muestra en mL.

5.2.6. Actividad Enzimática de la Celulasa

La actividad de la enzima celulasa en las cepas de actinobacterias se evaluó utilizando el medio de Mandeles-Reese con carboximetilcelulosa (CMC) como única fuente de carbono (0.4 g/L de KH_2PO_4 , 0.02 g/L de $CaCl_2$, 0.02 g/L de NaCl, 0.02 g/L de $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, 2.5 g/L de CMC y 15 g de agar) ajustado a un pH de 7.2 con NaOH (5M) (Samira *et al.*, 2009). En las cajas de Petri de 90 mm de diámetro que contenían el medio arriba descrito, se colocó un explante de agar Czapek Dox (7 mm de diámetro) con crecimiento de las cepas de actinobacterias de 7 d de edad y se incubaron a 28 ± 1 °C por 7 d. Luego, con el fin de observar la zona de hidrólisis se adicionaron 5 mL de la solución de rojo Congo al 1% hasta cubrir la superficie del medio y se dejó con esta solución por 20 min. Luego se adicionaron 5 mL de una solución 1 M de NaCl, hasta cubrir todo el medio, y se dejaron reposar por 15 min. Las cepas de actinobacterias que formaron un halo alrededor de la colonia se consideraron positivas para la producción de celulasa (Figura 8).

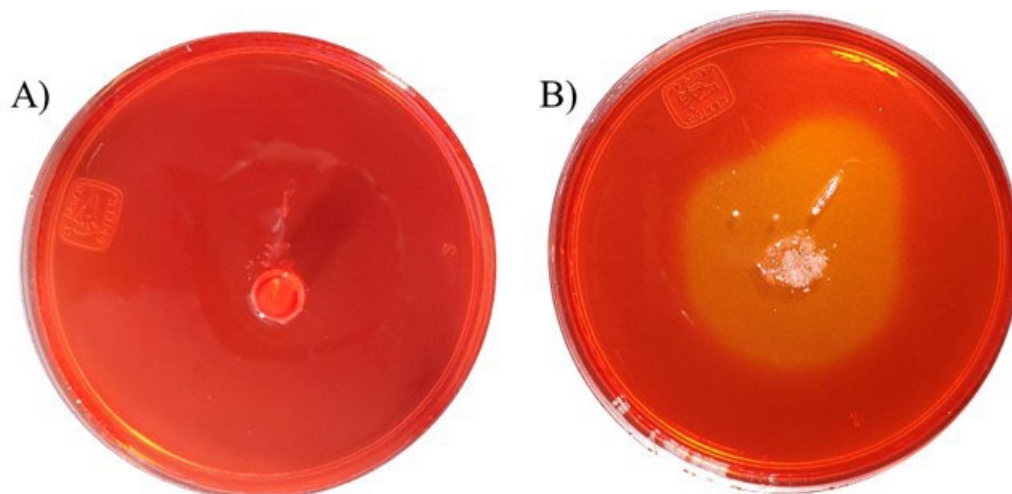


Figura 8. Producción de celulasa en medio Mandel-Reese por cepas de actinobacterias no estreptomicetos. A) reacción negativa, B) reacción positiva evidenciada por un halo alrededor de la colonia de la actinobacteria.

La cuantificación de la actividad enzimática de celulasa se hizo mediante el método del ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) descrito por Da Vinha *et al.* (2011). Las cepas de actinobacterias se inocularon en tubos cónicos que contenían 4 mL de medio líquido de sales minerales (0.4 g/L de KH_2PO_4 , 0.02 g/L de CaCl_2 , 0.02 g/L de NaCl , 0.02 g/L de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) y con 10 g (1%) de salvado de trigo como única fuente de carbono. Se incubaron a 29 ± 1 °C y se mantuvieron en agitación constante a 200 rpm por 5 d. Los tubos cónicos con crecimiento de actinobacterias se centrifugaron a $7,000 \times g$ por 10 min a 4 ± 1 °C, y el sobrenadante resultante se utilizó como recurso enzimático. Se mezclaron 200 μL del sobrenadante con 1.8 mL de carboximetil celulosa (CMC) al 0.5 % en amortiguador de fosfatos 50mM a pH 7 y se incubaron a 37 ± 1 °C en agitación constante a 180 rpm por 30 min. La reacción se finalizó agregando 3 mL del reactivo de ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS), previamente preparado (1.49 g de ácido dinitrosalicílico y 2.79 g de NaOH en 200 mL de ADE), esta reacción se disolvió a baño maría a 80 °C, una vez disuelta, se adicionaron 50 g de sal de Rochelle y 1 mL de fenol a 50 °C, se filtró a través de acrodiscos estériles de acetato de celulosa con un tamaño de poro de 0.20 μm (Corning®). Para inducir el desarrollo de color, de naranja a marrón se llevó la reacción a ebullición por 5 min. Se realizó una curva de calibración con glucosa a concentraciones de 0 a 1 mg/mL. La absorbancia se midió a 540 nm en un espectrofotómetro (Evolution™ 300 UV-Vis spectrophotometer, Thermo Scientific, EUA).

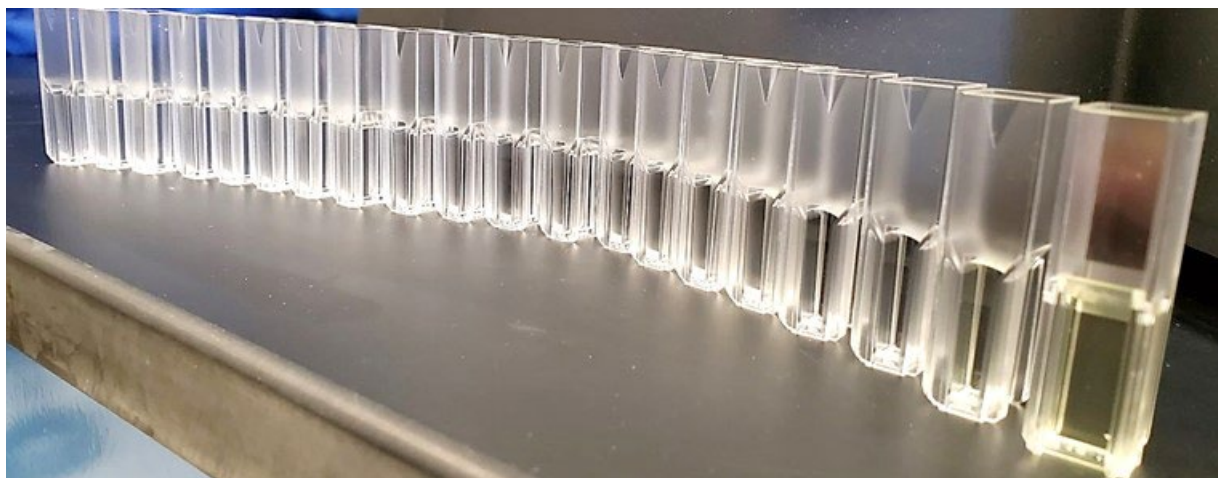


Figura 9. Concentraciones de 0 a 1 mg/mL de glucosa para la obtención de la curva de calibración para la medición cuantitativa de la actividad enzimática de celulasa en las cepas de actinobacterias no estreptomicetos.

5.3. Antagonismo *in vitro* de las Cepas de Actinobacterias contra *Phytophthora capsici*

La evaluación de la actividad antifúngica *in vitro* de cepas de actinobacterias contra *P. capsici* se realizó mediante confrontaciones (cultivos) duales y por compuestos volátiles (COVs) emitidos por las cepas de actinobacterias. Las confrontaciones (cultivos) duales se hicieron colocando cuatro explantes de 6 mm de diámetro de las actinobacterias, previamente crecidos en medio ISP4 en los puntos cardinales de las cajas de Petri (90 × 15 mm) que contenían medio Czapek Dox, y se incubaron a 28 °C por 10 d. Posteriormente, se situó un explante de PDA de 6 mm de diámetro con micelio de *P. capsici* (7 d de crecimiento) en el centro de la caja de Petri y se incubaron a 28±1 °C. El crecimiento radial del patógeno se midió cada 24 h hasta que el patógeno testigo llenó por completo la caja de Petri. La inhibición del crecimiento radial (ICR) fue medida usando la fórmula descrita por Evangelista-Martínez *et al.* (2020). Donde $ICR = (R1 - R2) / R1 \times 100$, donde R1 es el radio del patógeno testigo y R2 es el radio del patógeno en la confrontación.

La evaluación de la actividad antifúngica *in vitro* por confrontación a través de COVs emitidos por las cepas de actinobacterias en cultivo con *P. capsici* se llevó a cabo mediante la técnica de fondos cubiertos, para lo cual, se colocaron 25 g de trigo (previamente cocidos y autoclaveados por 1 h a 121 ± 1 °C) (Boukaew *et al.*, 2013; Wan *et al.*, 2008) en frascos graduados (Corning) de vidrio de 250 mL y se inocularon con 4 mL de un pre-cultivo de 3 d de crecimiento en caldo de cultivo ISP2.

Los frascos se incubaron por 10 d a 28 ± 1 °C en agitación constante (180 rpm) y al día 10 se transfirieron 15 g del trigo con crecimiento de actinobacterias a cajas de Petri (60 × 15 mm) y en otra caja de iguales dimensiones, se colocó en el centro un explante de 6 mm de diámetro del fitopatógeno, luego, se unieron los fondos (sin tapa) de ambas cajas de Petri y se sellaron con Parafilm. Los microorganismos en cultivo dual, se incubaron a 28 ± 1 °C y se midió el crecimiento radial cada 24 h. Como testigos, se colocaron en el centro de las cajas de Petri (60 × 15mm) un explante de PDA de 6 mm con crecimiento de *P. capsici* y se unieron con el fondo de las cajas de Petri con trigo sin inóculo del antagonista (Yang *et al.*, 2019).

5.4. Identificación de Volátiles Producidos por las Cepas de Actinobacterias no Estreptomicetos

La identificación de los COVs emitidos por las seis cepas de actinobacterias se llevó a cabo de acuerdo con lo descrito por Wan *et al.* (2008), con modificaciones. Se pre-cocieron 250 g de granos de trigo con 5 L de ADE a ebullición por 25 min. Posteriormente, se colocaron 25 g de trigo precocido junto con 35 mL de ADE en frascos de vidrio de 250 mL y se autoclavearon por 1h a 121 ± 1 °C. El trigo cocido se inoculó con 4 mL de un precultivo de 3 d de crecimiento en ISP2 de las actinobacterias y se incubó a 28 ± 1 °C en agitación a 180 rpm por 10 d. Transcurrido este tiempo, se le adicionaron 100 mL de una solución concentrada (5 M de cloruro de sodio estéril) y se mantuvo a 60 ± 1 °C en agitación (400 rpm) por 60 min. Los COVs se colectaron durante 40 min con ayuda de una fibra DVB/CAR/PDMS (50/30 µm espesor) (Supelco®) y analizadas por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (Varian Saturn 2100D, CA, EUA). Los COVs fueron liberados a 240 °C y separados en una columna Hewlett Packard HP-5 (30 m × 0.25 mm, 0.25 µm). La temperatura inicial del horno fue de 40 °C, la cual aumentó a 150 °C a una velocidad de 2 °C/min, luego a 280 °C a una velocidad de 100 °C por 7 min, manteniéndose a 280 °C por 2 min. Se utilizó He como gas acarreador a un flujo de 1 mL/min.

La identificación de los COVs en los cultivos se llevó a cabo comparando sus espectros con los de la base de datos del National Institute of Standards and Technology (NIST).

Se realizaron tres réplicas para cada cepa y se utilizó como testigo un frasco de vidrio con trigo inoculado con caldo de cultivo ISP2 sin crecimiento de las actinobacterias.

5.5. Promoción del Crecimiento *in vitro* de Plántulas de *Arabidopsis thaliana*

Se evaluó la capacidad *in vitro* de compuestos no volátiles y COVs emitidos por las cepas de actinobacterias para promover el crecimiento de plántulas de *A. thaliana*. Las semillas de *A. thaliana* fueron previamente desinfectadas con hipoclorito de sodio al 3% (tres lavados de 5 min), alcohol al 70% (un lavado por 5 min), y enjuagadas tres veces con ADE. Para la evaluación del efecto de COVs, se colocaron tres semillas en cada caja de Petri de (90 × 15 mm) divididas, conteniendo medio Murashige y Skoog (MS) y Phytigel (4.4 y 5 g/L, respectivamente) en un lado de la caja y conteniendo Czapek Dox en el otro lado de la caja de Petri (Figura 10B). Las semillas se depositaron en el área que contenía el medio MS y Phytigel, las cajas en cultivo se colocaron en un ángulo de 65° y se incubaron a 28°C, con un fotoperiodo de 16:8 h luz/obscuridad, hasta su germinación (≈ 3 d). Después de la germinación, se inoculó la otra área de la caja de Petri que contenía Czapek Dox con 200μL de un pre-cultivo de la actinobacteria de 3 d de crecimiento en caldo ISP2. En seguida, las cajas de Petri se incubaron por 15 d bajo las condiciones arriba descritas.

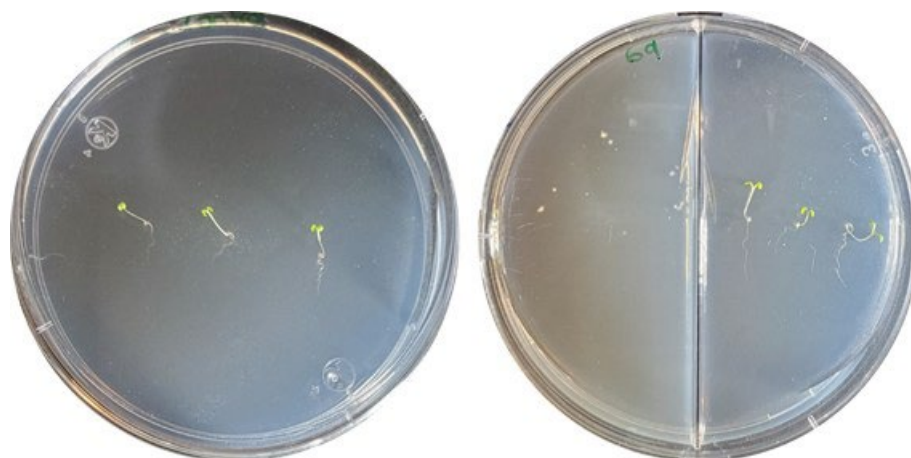


Figura 10. Plántulas de *A. thaliana*. A) Crecidas en cajas de Petri sin división y B) crecidas en cajas de Petri con división.

Para la evaluación del efecto directo de las actinobacterias, se colocaron 3 semillas en cajas de Petri (90 × 15 mm) sin división (Figura 10A) conteniendo medio Murashige y Skoog (MS) y Phytigel

(4.4 y 5 g/L). Las cajas se incubaron a 28°C en un ángulo de 65°, con un fotoperiodo de 16:8h luz/obscuridad al momento de la germinación hasta su germinación (\approx 3 d). En la parte inferior de la caja se colocaron por estriado 100 μ L de un precultivo de la actinobacteria de 3 d de crecimiento en caldo ISP2. Las cajas de Petri se incubaron por 15 d en las condiciones descritas anteriormente. Al día 15 se midieron los siguientes parámetros de crecimiento en las plantas de *A. thaliana*: longitud de raíz, peso fresco de raíz y tallo, y número de hojas

5.6. Promoción *in situ* del Crecimiento de Plántulas de Chile Jalapeño

Para los experimentos *in situ* se seleccionaron las cepas *Amycolatopsis lurida* (no estreptomiceto) y *Streptoverticillium reticulum* (streptomiceto) por presentar el mayor antagonismo *in vitro* contra *P. capsici* y por su mayor producción de compuestos relacionados con la promoción del crecimiento vegetal, respectivamente. Ambas cepas de actinobacterias se inocularon individualmente y juntos en mezcla (ambas cepas se inocularon en la misma proporción) en el sustrato de crecimiento de las plántulas de chile jalapeño “M”. Este experimento, consistió en tres tratamientos con seis repeticiones por tratamiento, donde cada planta se consideró como una unidad experimental. El tratamiento T1 correspondió a la cepa de *A. lurida*, el tratamiento T2 a la cepa de *S. reticulum*. Mientras que el tratamiento T3 consistió en una mezcla de ambas cepas en igual volumen (3.5 mL de la suspensión de esporas de cada cepa).

Plántulas de chile de 6 semanas de edad se trasplantaron a macetas de 10 \times 17 cm que contenían una mezcla de suelo franco, peat moss, vermiculita y perlita en proporción 2:1:1:1, previamente autoclaveada. Las plántulas se crecieron en una cámara de crecimiento bajo condiciones de luz artificial con un fotoperiodo de 16:8 h luz/obscuridad a 26 °C y regadas cada tercer día con agua corriente.

Siete días después del trasplante de las plántulas de chile, se inoculó el sustrato de crecimiento con un precultivo de las actinobacterias de 5 d de crecimiento en caldo ISP2 (Abbasi *et al.*, 2019). El inóculo de *A. lurida* y *S. reticulum* se ajustó a una D.O. de 6 en un espectrofotómetro (Evolution™ 300 UV-Vis spectrophotometer, Thermo Scientific, EUA). El inóculo (7 mL del precultivo) se depositó a aproximadamente 1 cm de profundidad alrededor de la raíz de la plántula (Figura 11).

Las plántulas del T3 se inocularon con 3.5 mL del precultivo de cada una de las cepas de actinobacterias seleccionadas, dando un total de 7 mL. Las plantas se mantuvieron bajo condiciones ambientales controladas (26 °C, fotoperiodo de 16:8 h luz/obscuridad) y se regaron cada tercer día con agua corriente.

Treinta días después de la inoculación, se midió la altura de la planta, tamaño de las hojas (ancho y largo), longitud de raíz, diámetro del tallo, número de frutos, peso fresco y seco de la planta. Además, se determinó el contenido de clorofila total (Fieldscout® Spad 502).



Figura 11. Plantas de chile jalapeño “M” (*Capsicum annuum*) inoculadas con cepas de actinobacterias individuales y en mezcla.

6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todas las pruebas bioquímicas cualitativas y cuantitativas consistieron en al menos tres repeticiones experimentales. Las pruebas de antagonismo *in vitro* (actinobacterias vs *P. capsici*) consistieron en 10 repeticiones. Las pruebas de promoción de crecimiento *in vitro* de *A. thaliana* consistieron en nueve repeticiones. Mientras que el experimento *in situ* de seis repeticiones (tomando a cada planta de *C. annuum* como unidad experimental). Los datos de ICR, y los parámetros de crecimiento medidos en plántulas de *A. thaliana* y *C. annuum* se sometieron a análisis de varianza (ANDEVA) usando el Statistical Analysis System versión 9.0 (SAS, 2002), y la separación de medias se realizó mediante la prueba Tukey ($p= 0.05$).

7. RESULTADOS

7.1. Caracterización Bioquímica de las Cepas de Actinobacterias

Los resultados de la caracterización bioquímica de las cepas de actinobacterias *A. lexingtonensis*, *A. lurida*, *A. umgeniensis*, *N. albertanoniae*, *S. shandongensis* y *S. reticulum* se muestran en el Cuadro 3. Todas las cepas fueron capaces de producir AIA y sideróforos (Cuadro 3). La cepa de *Amycolatopsis lurida* produjo el mayor número de compuestos implicados en la promoción del crecimiento vegetal como el AIA (10 mg/L) y sideróforos (21.52 %U). Además, fue capaz de solubilizar fosfatos (2.56 mg/L), y producir celulasa (0.55 U/mL). *Saccharopolyspora shandongensis*, fue la cepa que mostró el valor más alto (5.89 mg/L) en cuanto a la solubilización de fosfatos. *Amycolatopsis lexingtonensis* produjo 36.6 mg/L y 0.03 U/mL de AIA y celulasa, respectivamente. Mientras que la cepa de *S. reticulum* fue la mayor productora de sideróforos (52.23 %U)

Cuadro 3. Compuestos producidos por las cepas de actinobacterias no estreptomicetos implicados en la promoción del crecimiento vegetal y actividades de quitinasa y celulasa.

Cepa	Sustancias promotoras del crecimiento vegetal				Actividad enzimática	
	Fijación de N	Solubilización de fosfatos (mg/L)	Producción de AIA (mg/L)	Producción de sideróforos (%U)	Quitinasa (U/mL)	Celulasa (U/mL)
<i>A. lexingtonensis</i>	-	-	36.66±0.01	16.97±1.58	-	0.03±0.02
<i>A. lurida</i>	-	2.56 ± 0.09	10±0.00	21.52±5.05	-	0.55±0.12
<i>A. umgeniensis</i>	-	-	10±0.00	9.47±2.96	-	-
<i>N. albertanoniae</i>	-	-	63.33±0.00	17.52±1.25	-	-
<i>S. reticulum</i> (Testigo positivo)	-	-	10±0.00	52.23±3.36	-	-
<i>S. shandongensis</i>	-	5.89 ± 0.24	20±0.00	20.02±5.62	-	-

7.2. Antagonismo de las Cepas de Actinobacterias ante *Phytophthora capsici*

Los COVs producidos por la cepa de *A. lexingtonensis* inhibieron por completo (100%) el crecimiento *in vitro* del patógeno *P. capsici*. Las cepas de *A. umgeniensis* y *A. lurida*, inhibieron el crecimiento del patógeno en un 56 y 53%, respectivamente. Mientras que, las cepas de *S. shandongensis*, *N. albertanoniae* y *S. reticulum* inhibieron el crecimiento del patógeno, pero en menor proporción ($\leq 12.7\%$) (Figura 12).

En las confrontaciones duales *in vitro*, la cepa de *S. reticulum* fue la que inhibió el crecimiento del patógeno en 73%. El resto de las cepas lo inhibieron en menor proporción (≤ 12.5) (Figura 12).

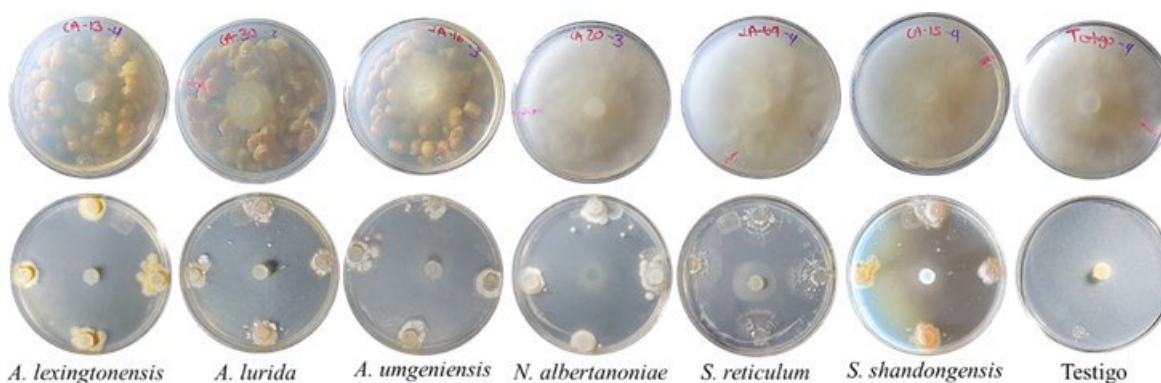


Figura 12. Inhibición *in vitro* de *Phytophthora capsici* por cepas de actinobacterias no estreptomicetos (día 10 de confrontación). **Superior.** A través de COVs. **Inferior.** Confrontación (cultivo) dual. La cepa de *Streptoverticillium reticulum* fue usada como testigo positivo.

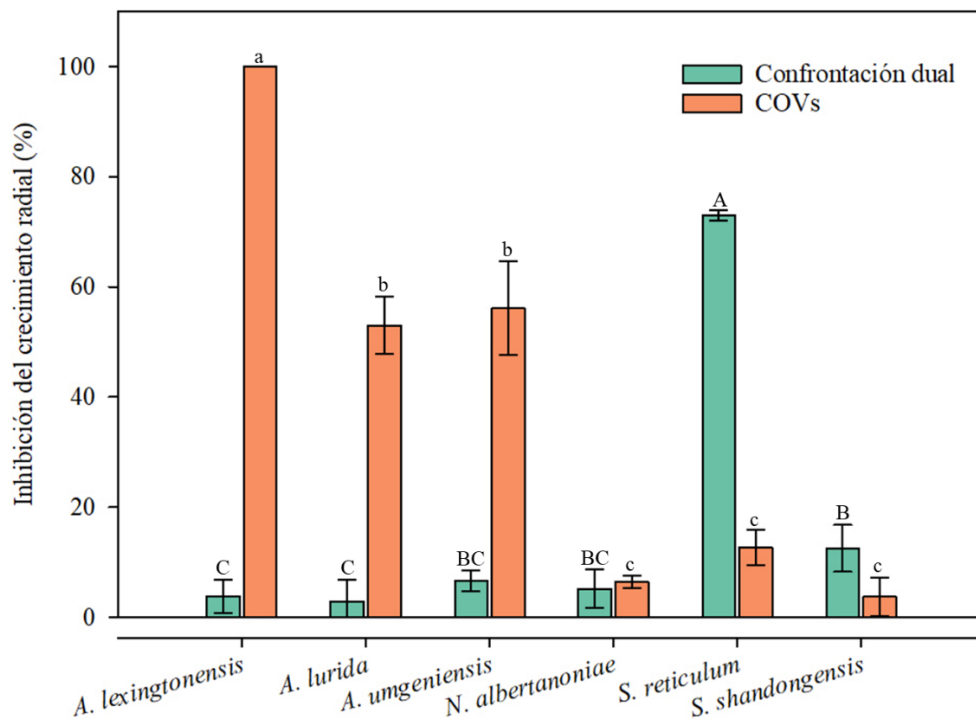


Figura 13. Inhibición del crecimiento micelial *in vitro* de *Phytophthora capsici* por cepas de actinobacterias no estreptomicetos mediante confrontaciones duales y por compuestos volátiles (COVs). La cepa de *Streptoverticillium reticulum* fue usada como testigo positivo. Medias con las mismas literales son estadísticamente similares. Las barras finas superiores indican la desviación estándar de las medias.

7.3. COVs Producidos por las Cepas de Actinobacterias no Estreptomicetos

El número de COVs identificados para las cepas de *S. reticulum*, *A. lurida*, *S. shandongensis*, *A. umgeniensis*, *A. lexingtonensis* y *N. albertanoniae* fue de 25, 17, 13, 13, 12 y 11, respectivamente (Cuadro 4). Destacaron los compuestos pertenecientes a las cetonas, aldeídos, ésteres, tioésteres, terpenos y alcoholes. Los COVs cyclopentasiloxane, decamethyl- y 2-pentanone fueron los únicos compuestos producidos por las seis cepas de actinobacterias, incluido el testigo positivo (*S. reticulum*). La cepa *A. lexingtonensis*, produjo los COVs dimethyl trisulfide y cyclopentasiloxane, decamethyl- en mayor proporción con 9.76 y 9.41% de area bajo el pico, respectivamente. Coincidentemente, esta cepa fue la que inhibió por completo el crecimiento micelial *in vitro* de *P. capsici* mediante COVs. Por su parte, la cepa *S. reticulum* (testigo positivo) que inhibió en más de 70% el crecimiento micelial del patógeno en confrontación dual, produjo en mayor porcentaje el

COV 3(2H)-Furanone, 4-methoxy-2,5-dimethyl- (11.66 %). La cepa *N. albertanoniae* produjo en mayor proporción el COV 3-Octanone (4.92 %) y *A. lexingtonensis* el cyclopentasiloxane, decamethyl- (4.64 %). Cabe hacer mención, que ambas cepas promovieron significativamente algunos parámetros de crecimiento *in vitro* en *A. thaliana*.

Cuadro 4. Compuestos volátiles (COVs) producidos por las cepas de actinobacterias no estreptomicetos.

Compuesto	Tiempo de retención (min)	Área de pico (%)					
		<i>A. lexingtonensis</i>	<i>A. lurida</i>	<i>A. umgeniensis</i>	<i>N. albertanoniae</i>	<i>S. reticulum</i> (testigo positivo)	<i>S. shandongensis</i>
Oxirane, (2,2-dimethylpropyl)-	2.282	1.814	--	--	--	--	--
Oxirane, 2-methyl-3-(1-methylethyl)-	2.331	--	--	--	--	0.106	--
2-Butanone, 3-methyl-	2.501	--	0.316	0.600	--	--	--
Hexane	2.617	--	--	--	0.389	--	--
2-Pentanone	2.633	1.208	0.698	0.636	0.987	0.061	3.352
Pentafluoropropionic acid, pentyl ester	3.225	1.440	--	0.417	--	--	--
Oxirane, 2-(1.1-dimethylethyl)-3-methyl-	3.307	--	--	--	--	--	0.275
Oxirane, (2-methylbutyl)-	3.317	2.875	--	--	--	--	--
Disulfide, dimethyl	3.347	--	2.082	1.519	--	--	--
Toluene	3.795	--	--	0.304	--	--	--
Cyclobutene, 2-propenylidene-	3.797	--	--	--	2.663	--	--
Acetic acid, 2-methylpropyl ester	4.060	--	--	--	--	0.061	--
2-Propenoic acid, 4-methylpentyl ester	4.432	--	--	--	--	0.037	--

2-Hexanone, 5-methyl	6.545	--	0.168	--	--	--	--
4,4 Dimethylpent-2-enal	6.724	--	--	--	--	0.047	--
p-Xylene	6.872	--	--	--	--	0.036	--
2-Heptanone	7.893	--	--	0.250	--	--	--
2-n-Butyl furan	7.909	--	--	--	--	0.022	1.543
Benzene, methoxy	8.805	--	0.655	--	--	0.147	--
Oxime-, methoxy-phenyl-	9.033	1.697	--	0.061	1.434	0.085	--
Pentanethioic acid, S-ethyl ester	10.099	--	--	--	--	0.224	--
Dimethyl trisulfide	11.397	9.716	1.354	0.117	--	--	--
2-Heptanone, 5-methyl-	11.653	--	--	0.113	--	--	--
Benzene, 1-ethoxy-4-ethyl-	12.069	--	--	--	--	1.627	--
2-Methylenebornane	12.360	--	1.525	2.202	--	2.336	--
3-Octanone	12.851	--	--	--	4.923	--	--
5-Hepten-2-one, 6-methyl-	12.909	1.857	--	--	--	--	--
Benzene, 1,3-dichloro-	13.946	--	--	0.315	--	--	--
2-Methyl-2-bornene	14.191	--	2.741	--	--	4.889	--
Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (S)	15.051	1.529	--	--	--	--	0.302
2-Hexanol, 2-ethyl-	15.461	--	--	--	--	--	--
3(2H)-Furanone, 4-methoxy-2,5-dimethyl-	15.692	--	--	--	--	11.666	--
Hexanoic acid, 2-ethyl-, methyl ester	16.348	--	0.083	--	--	--	--
Bicyclo[3.1.0]hexan-3-ol, 4-methyl-1-(methylethyl)-	18.851	--	--	--	--	--	0.144

2-Nonane	19.424	--	--	--	--	--	0.671
1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl- Phenylethyl Alcohol	19.902	2.570	--	--	1.472	--	--
	20.732	--	--	--	--	0.146	--
Benzaldehyde, 2-5- bis(trimethylsilyloxy)-	22.346	--	0.059	--	--	--	8.616
Benzene, 1-ethenyl-4-methoxy-	23.108	--	--	--	--	0.041	--
Benzene, 1,4-dimethoxy-	23.548	--	--	--	--	0.301	--
Cyclopentasiloxane, decamethyl-	24.287	9.411	1.600	4.544	14.648	0.809	18.632
2,5-Dimethyl-3,3a-dithia-4- oxapentalene	25.923	--	0.758	--	--	--	--
Tetrasulfide, dimethyl	26.759	0.574	--	--	--	--	--
Cis-1,4-dimethyladamantane	27.460	--	0.287	--	--	1.966	--
Benzene, 1-methoxy-4-methyl-2-(1- methylethyl)-	28.894	--	--	--	--	--	0.037
Cyclohexane, 1,1,4,4-tetramethyl-2,6- bis(methylene)-	29.550	--	0.059	--	--	--	--
Cyclohexasiloxane, dodecamethyl-	35.403	--	--	--	--	--	3.241
1,2,4-Trimethoxybenzene	37.619	--	--	--	--	0.058	--
trans-1-10-Dimethyl-trans-9-decalinol	38.618	--	--	0.414	--	--	2.448
trans-1,10-Dimethyl-trans-9-decalol	38.648	--	--	--	--	2.166	--
Caryophyllene	39.869	0.719	--	--	--	--	--
(+)-Epi-bicyclosesquiphellandrene	42.524	--	--	--	--	0.035	--
Cedran-diol, 8S, 14-	42.657	--	--	--	--	0.051	--

2,5-Cyclohexadiene-1,4-dione, 2,6-bis(1, 1-dimethylethyl)-	42.948	--	--	--	1.629	--	0.598
Nonadecane	43.397	--	0.271	--	--	--	
1-Chloroundecane	44.209	--		--	--	--	0.908
Dodecane, 1-chloro-	44.656	1.776	0.326	--	--	--	
Naphthalene, 1,2,3,4-tetrahydro-1,6-dimethyl-4-(1-methylethyl)-, (1S-cis)-	46.135	--	--	--	--	0.126	--
Naphthalene, 1,2,4a,5,8,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-, [1S-(1.alpha.,4a.beta.,8a.alpha.)]	46.300	--	--	--	--	0.053	--
Cycloheptasiloxane, tetradecamethyl-	50.628	--	--	--	--	--	1.161
Cyclooctasiloxane, hexadecanethyl-	55.525	--	--	--	2.433	--	--
Cyclononasiloxane, octadecamethyl-	58.641	--	--	--	0.707	--	--
Homosalate	58.858	--	--	--	1.275	--	--
Cyclodecasiloxane, eicosamethyl	59.248	--	--	--	0.170	--	--
Tetracosamethyl-cyclododecasiloxane	59.657	--	0.040	--	--	--	--

7.4. Promoción del Crecimiento *in vitro* en Plántulas de *Arabidopsis thaliana*

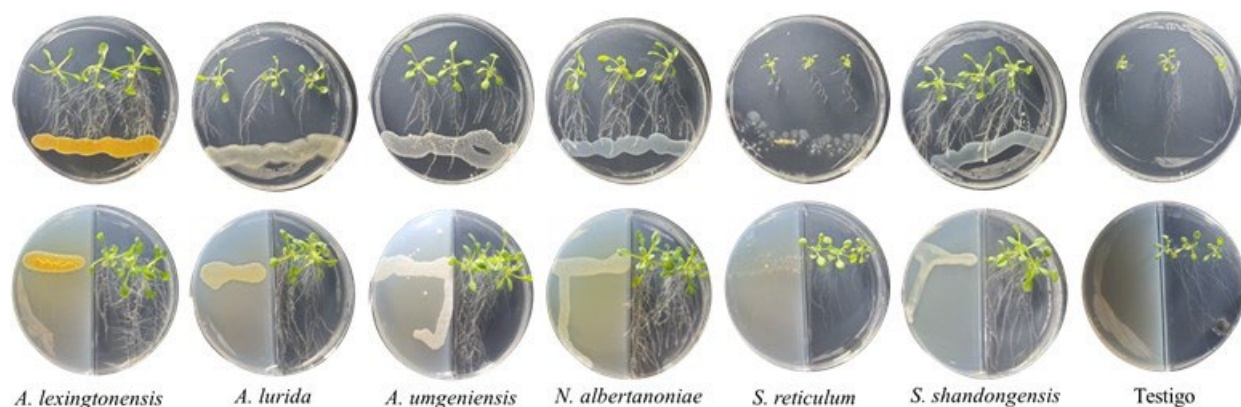


Figura 14. Promoción *in vitro* del crecimiento en plántulas de *Arabidopsis thaliana* por cepas de actinobacterias no estreptomicetos. (Superior) inducido por compuestos difusibles en el medio; (Inferior) inducido por compuestos volátiles. *Streptoverticillium reticulum* usada como testigo positivo

7.4.1. Peso Fresco de la Raíz

El peso fresco de las raíces en plántulas de *A. thaliana* aumentó considerablemente (Figura 14) después de la exposición directa a los microorganismos probados o a sus COVs (Figura 14).

Los COVs emitidos por las cepas de *N. albertanoniae* y *A. lexiingtonensis* incrementaron significativamente el peso fresco de la raíz de las plántulas de *A. thaliana* en 13.69 y 12.71 veces, respectivamente (Figura 15). En menor proporción, pero de manera significativa lo hicieron las cepas *A. lurida*, *S. shandongensis* y *A. umgeniensis*, con incrementos de 8.2, 7.6 y 5.8 veces, respectivamente, en comparación con lo observado en las plantas control.

Las cepas de actinobacterias cultivadas directamente con las plántulas de *A. thaliana* también influenciaron positivamente a algunos de sus parámetros de crecimiento medidos. La cepa *A. lexiingtonensis* fue la que incrementó significativamente el peso fresco de raíz con valores de 18.87 mg, seguido de las cepas *S. shandongensis*, *N. albertanoniae*, *A. umgeniensis* y *A. lurida* con aumentos de 20.34, 20.07, 15.45, 9.87 veces, respectivamente. La cepa usada como testigo positivo (*S. reticulum*) no influenció este parámetro de crecimiento (Figura 15).

7.4.2 Peso Fresco del Tallo

El peso fresco del tallo en *A. thaliana* se incrementó considerablemente al interactuar *in vitro* con todas las cepas de actinobacterias tanto por cultivo dual como a través de COVs (Figura 16). La cepa de *S. reticulum* (usada como testigo positivo) fue la menos eficaz en promover este parámetro de crecimiento, como se observó en el caso del peso fresco de la raíz (Figuras 14 y 15).

Los valores más altos en peso fresco del tallo de *A. thaliana* se obtuvieron en las interacciones a través de COVs emitidos por las cepas de *N. albertanoniae* y *A. lexingtonensis* aumentando este parámetro en 5.0 y 4.84 veces, seguido por las cepas de *A. lurida*, *S. shandongensis* y *A. umgeniensis* con incrementos de 3.98, 3.26 y 2.4 veces en comparación con lo observado en las plantas control (Figura 16).

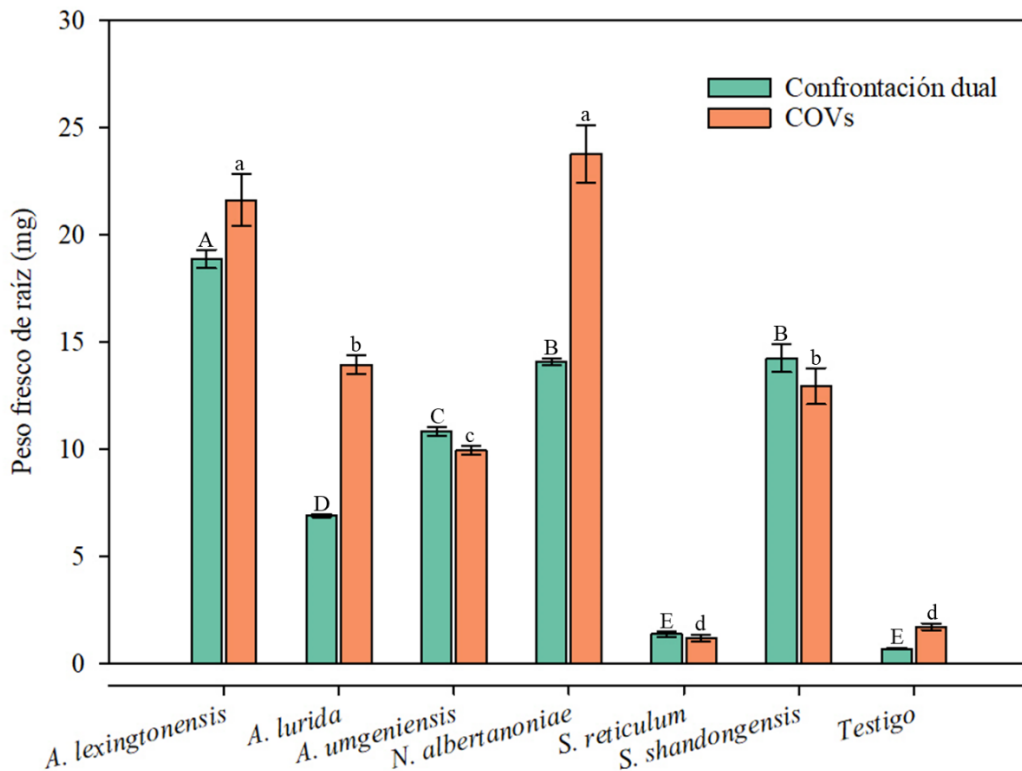


Figura 15. Efecto *in vitro* de cepas de actinobacterias no estreptomicetos sobre el peso fresco de raíces en plantas de *Arabidopsis thaliana* inducido por compuestos difusibles en el medio (cultivos duales) y compuestos volátiles (COVs) emitidos por las actinobacterias. La cepa de *Streptovercillium reticulum* fue usada como testigo positivo. Medias con las mismas literales son estadísticamente similares. Las barras finas superiores indican la desviación estándar de las medias.

Al exponerse directamente las plantas de *A. thaliana* a los compuestos difusibles en el medio emitidos por las cepas de actinobacterias, las cinco cepas no estreptomicetos (*S. shandongensis*, *A. lexingtonensis*, *N. albertanoniae*, *A. umgeniensis* y *A. lurida*) incrementaron significativamente el peso fresco del tallo en 4.44, 4.15, 4.10, 3.59 y 2.84 veces respectivamente, en comparación a lo observado en las plantas control (Figura 16). La cepa de *S. reticulum* (testigo positivo) fue la menos eficaz en la promoción de este parámetro de crecimiento (Figura 16).

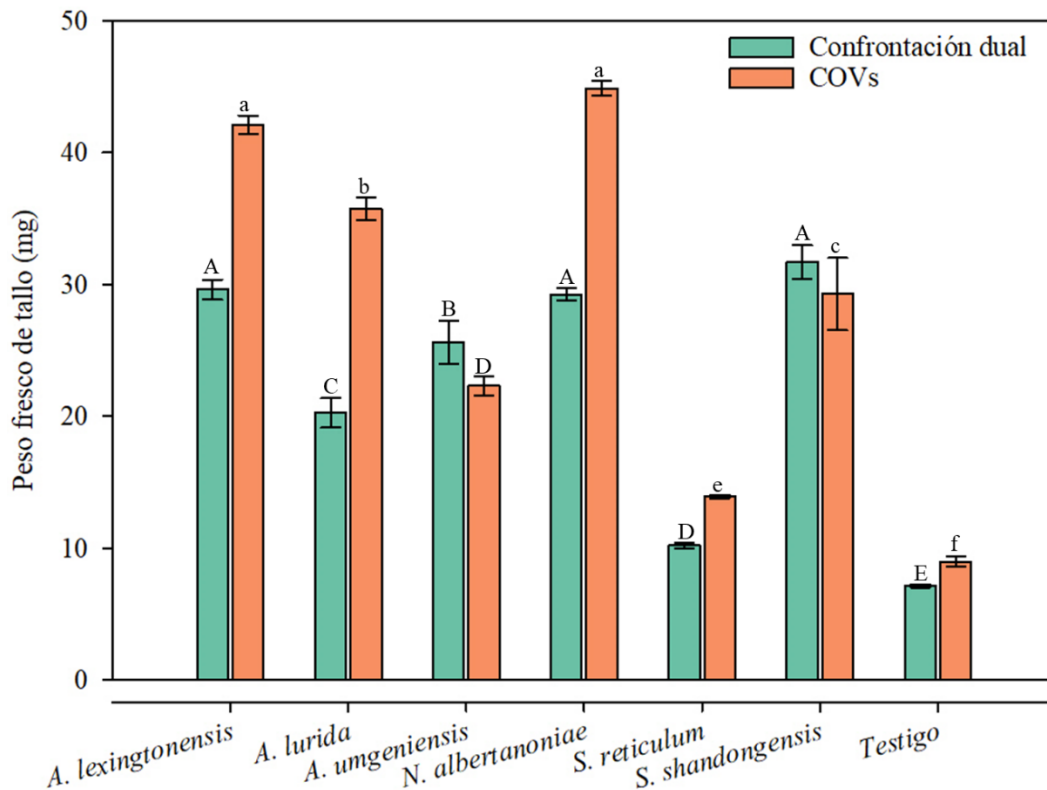


Figura 16. Efecto *in vitro* de cepas de actinobacterias no estreptomicetos sobre el peso fresco del tallo en plantas de *Arabidopsis thaliana* mediante compuestos difusibles en el medio (cultivos duales) y compuestos volátiles (COVs) emitidos por los actinobacterias. La cepa de *Streptoverticillium reticulum* fue usada como testigo positivo. Medias con las mismas literales son estadísticamente similares. Las barras finas superiores indican la desviación estándar de las medias.

7.4.3. Número de Hojas

Las seis cepas de actinobacterias, incluyendo a la cepa testigo (*S. reticulum*), incrementaron

significativamente el número de hojas en *A. thaliana*, tanto por COVs como por compuestos difusibles en el medio (Figura 17). Las cepas *S. shandongensis* y *N. albertanoniae* incrementaron mayormente este parámetro mediante ambos mecanismos.

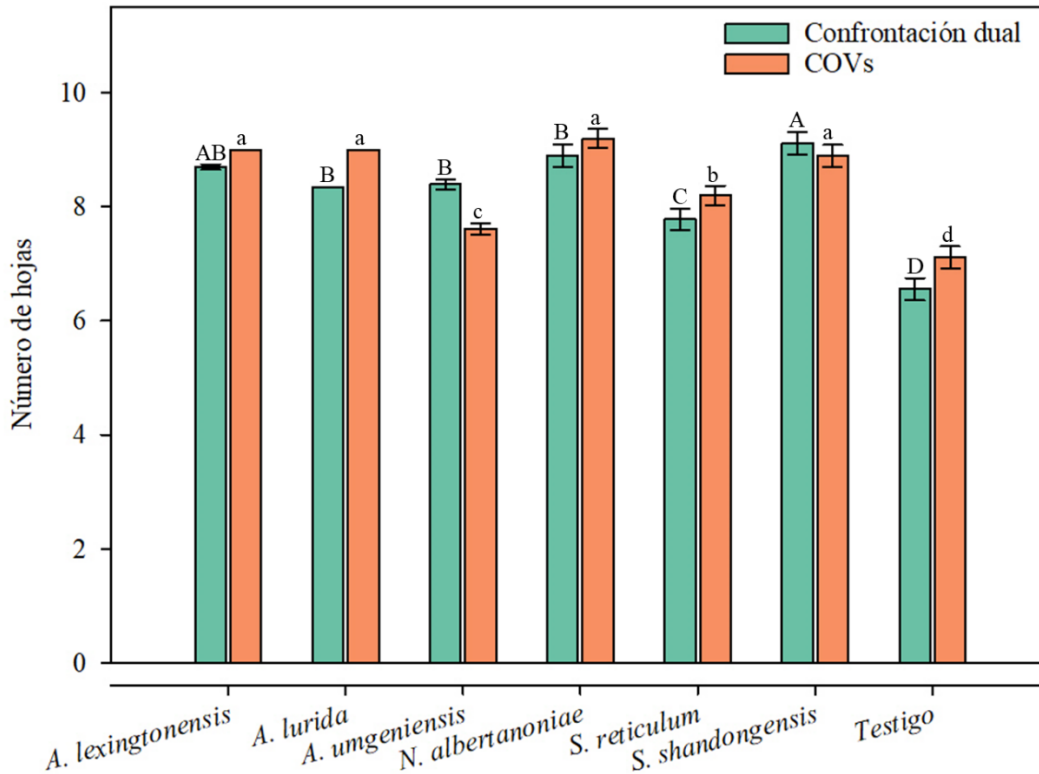


Figura 17. Efecto *in vitro* de cepas de actinobacterias no estreptomicetos sobre el número de hojas en plantas de *Arabidopsis thaliana* mediante compuestos difusibles en el medio (cultivos duales) y compuestos volátiles (COVs) emitidos por los actinobacterias. La cepa de *Streptoverticillium reticulum* fue usada como testigo positivo. Medias con las mismas literales son estadísticamente similares. Las barras finas superiores indican la desviación estándar de las medias.

7.4.4 Longitud de Raíz

La longitud de raíz en las plantas de *A. thaliana* también se vio incrementada significativamente al interactuar con las cepas de actinobacterias. Las seis bacterias promovieron el crecimiento longitudinal de la raíz a través de los COVs y cuatro de ellas mediante compuestos difusibles en el medio (Figura 18).

Las cepas *A. lurida* y *A. umgeniensis* promovieron más eficientemente la longitud de raíz en las plantas de *A. thaliana* a través de COVs con valores de 66.13 y 63.14 mm, respectivamente; seguidas por las cepas *A. lexingtonensis*, *S. shandongensis*, *S. reticulum* y *N. albertanoniae* con valores de 57.24, 58.12, 53.67 y 52.64 mm. Esta variable en las plantas testigos mostró un valor de 49.96 mm. La cepa *A. umgeniensis* fue la que promovió significativamente este parámetro en plantas de *A. thaliana* al exponerse directamente a los compuestos difusibles en el medio, con un valor de 59.12 mm, seguida por las cepas, *S. shandongensis*, *A. lurida* y *N. albertanoniae* con valores de 54.84, 51.58 y 48.873 mm, respectivamente. Las cepas *A. lexingtonensis* y *S. reticulum* fueron ineficientes en la promoción de este parámetro (Figura 18).

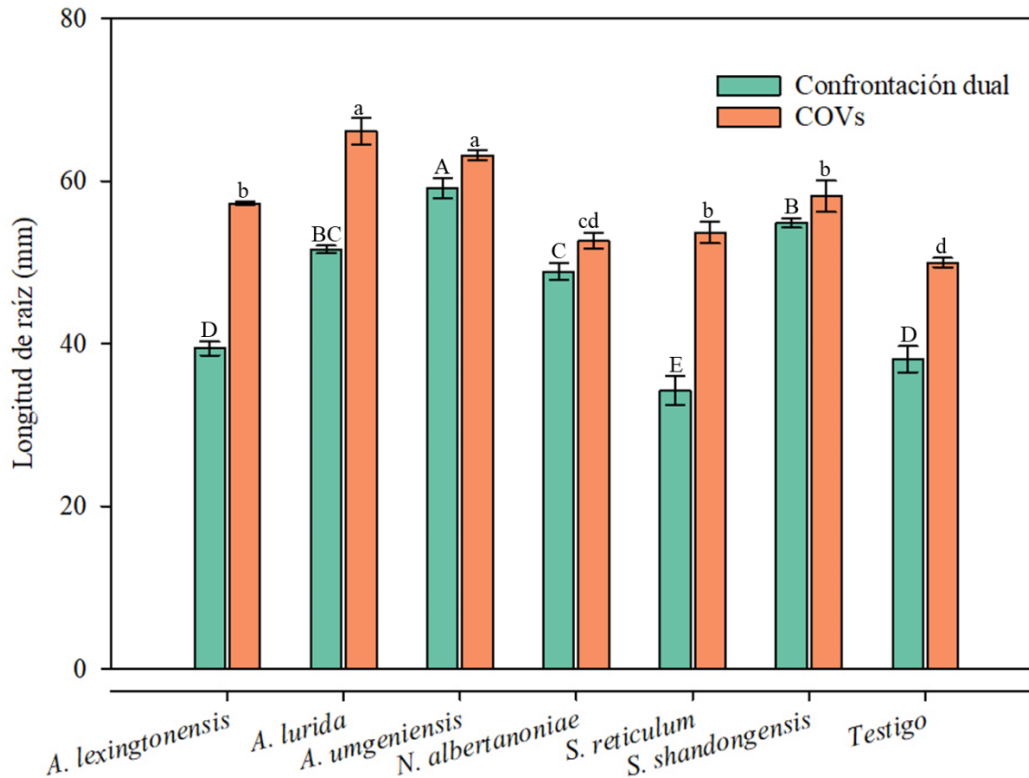


Figura 18. Efecto *in vitro* de las cepas de actinobacterias no estreptomicetos sobre la longitud de raíz en plantas de *Arabidopsis thaliana* mediante compuestos difusibles en el medio (cultivos duales) y compuestos volátiles (COVs) emitidos por las actinobacterias. La cepa de *Streptoverticillium reticulum* fue usada como testigo positivo. Medias con las mismas literales son estadísticamente similares. Las barras finas superiores indican la desviación estándar de las medias.

7.5. Promoción *in situ* del Crecimiento de Plantas de Chile Jalapeño por Cepas de Actinobacterias

7.5.1. Largo y ancho de las hojas

Los resultados obtenidos con las dos cepas de actinobacterias evaluadas individualmente y en mezcla fueron variables. El T3 (*A. lurida* + *S. reticulum*) incidió significativamente en el ancho de las hojas de chile jalapeño con un valor de 3.24 cm (Figura 7A). Los valores de 3.18 y 3.12 cm obtenidos con los T1 (*A. lurida*) y T2 (*S. reticulum*) fueron significativamente mayores al valor obtenido en las plantas testigo (3.01 cm) (Figura 19 A).

7.5.2. Longitud de raíz

Este parámetro se incrementó con los tres tratamientos. Sin embargo, solo en las plantas inoculadas con el T3 (*A. lurida* + *S. reticulum*) y T1 (*A. lurida*) se evidenciaron incrementos significativos en la longitud de raíz de las plantas de chile jalapeño con valores de 21.67 y 20.92 cm (Figura 19 B). El valor (19.06 cm) obtenido con el T2 fue estadísticamente similar (16.78 cm) al registrado en las plantas testigo.

7.5.3. Altura de la planta

Este parámetro fue incrementado significativamente en las plantas de chile jalapeño por los tres tratamientos probados. En las plantas de los tratamientos T1 (*A. lurida*), T3 (*A. lurida* + *S. reticulum*) y T2 (*S. reticulum*) se registraron valores de 35.78, 34.98 y 34.22 cm, respectivamente (Figura 19 C).

7.5.4. Diámetro del tallo

Este parámetro no fue significativamente influenciado por los tratamientos evaluados (Figura 19 D).

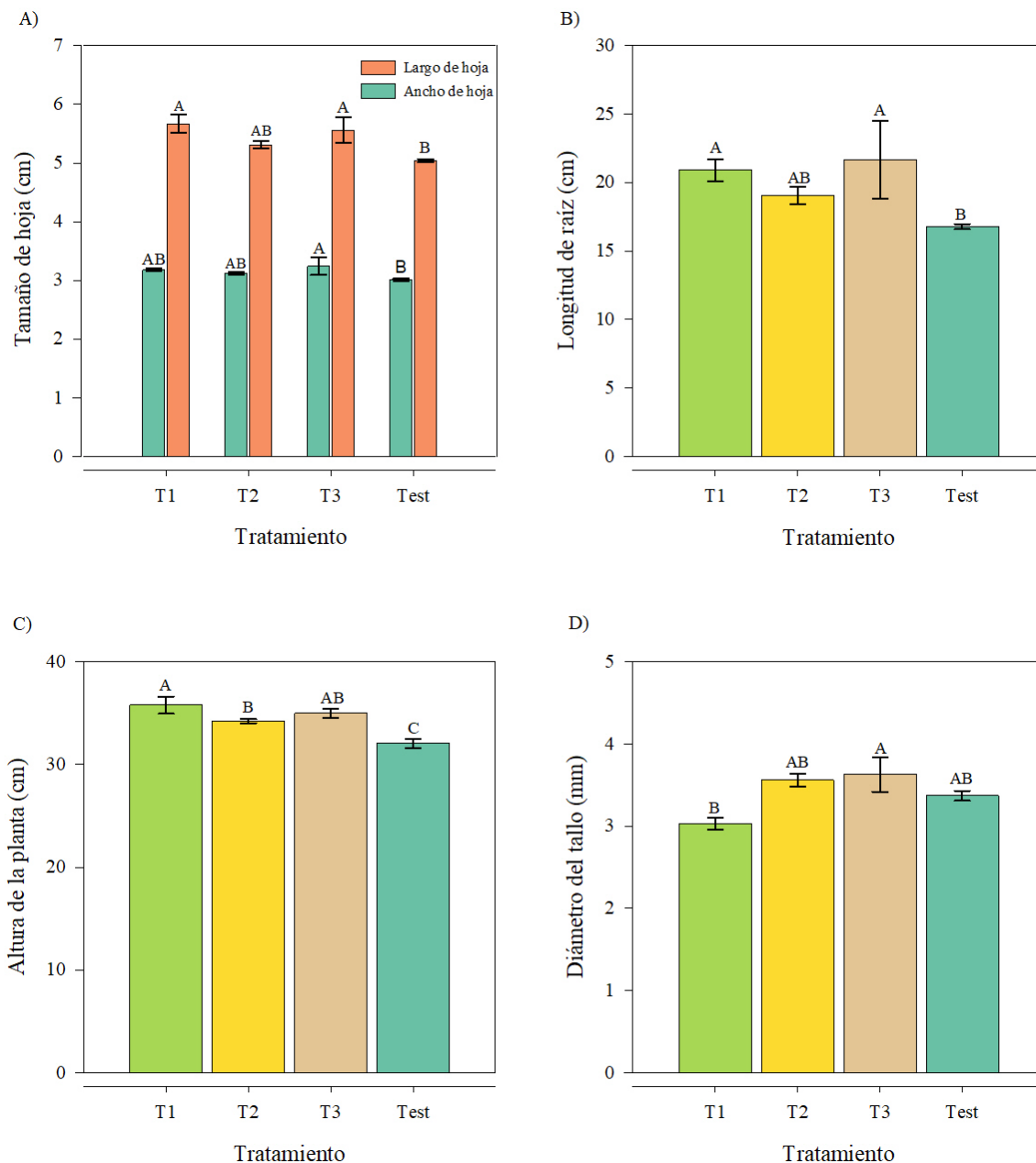


Figura 19. Efecto de las cepas de actinobacterias en algunos parámetros de crecimiento *in situ* en plantas de chile jalapeño “M”. A) Tamaño (largo y ancho) de hojas, B) Longitud de raíz, C) Altura de la planta, D) Diámetro del tallo. T1 (*A. lurida*), T2 (*S. reticulum*) y T3 (*A. lurida* + *S. reticulum*). Medias con las mismas literales son estadísticamente similares. Las barras finas superiores indican la desviación estándar de las medias.

7.5.5. Clorofila total, número de frutos y peso seco

Estos parámetros de crecimiento en las plantas de chile jalapeño “M” no fueron influenciados por los tratamientos evaluados (Figura 21 A, B y D).

7.5.6. Peso fresco

El peso fresco de las plantas de chile jalapeño se incrementó significativamente con el T3 (*A. lurida* + *S. reticulum*) (Figura 21 C).



Figura 20. Efecto *in situ* de los tratamientos a base de actinobacterias estreptomicetos y no estreptomicetos en el crecimiento de las plantas chile jalapeño “M”. T1 (*A. lurida*). T2 (*S. reticulum*). T3 (*A. lurida* + *S. reticulum*).

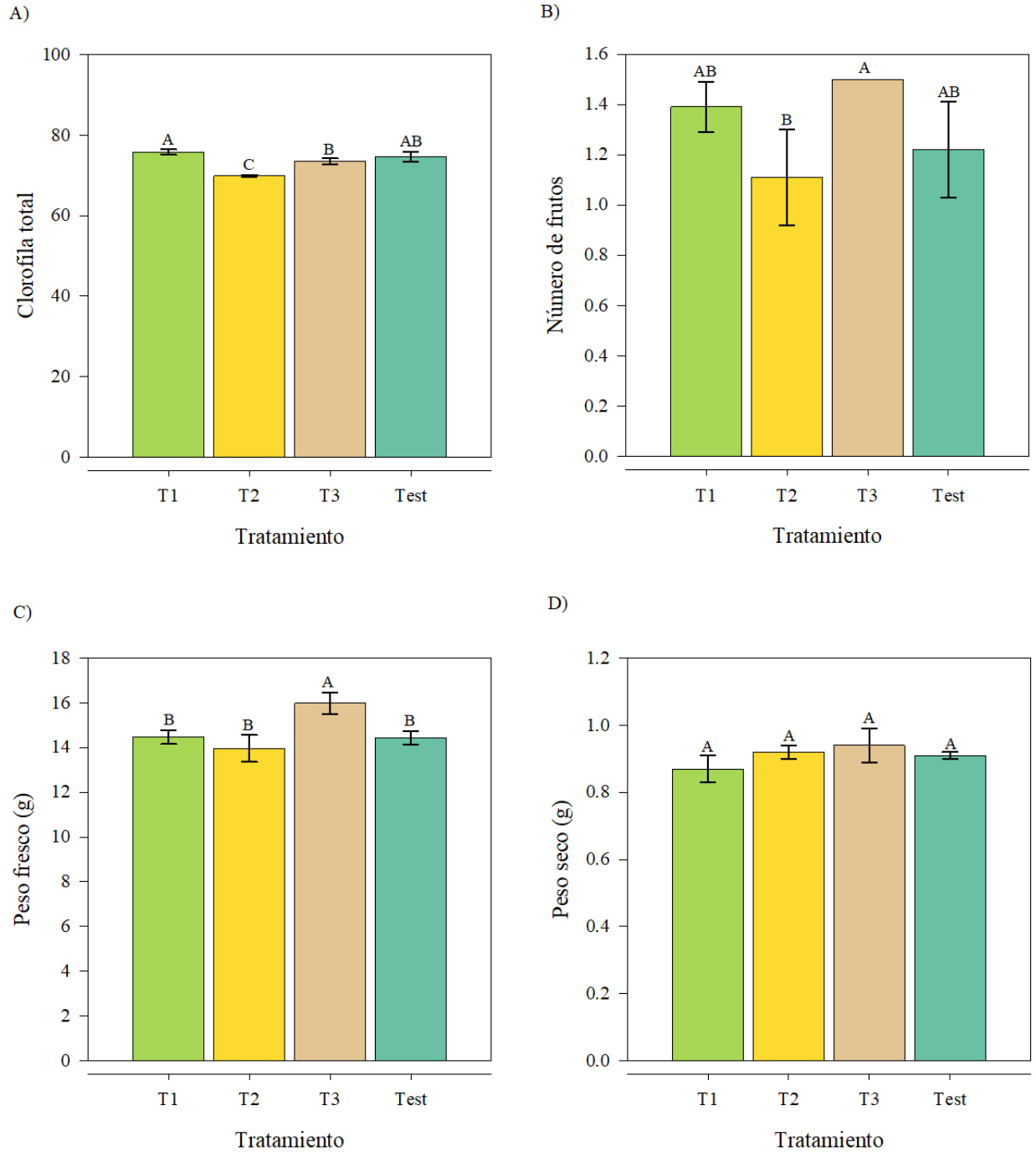


Figura 21. Efecto de actinobacterias estreptomicetos y no estreptomicetos en algunos parámetros de crecimiento *in situ* en plantas de chile jalapeño “M”. A) Clorofila total, B) Número de frutos, C) Peso fresco de la planta, D) Peso seco de la planta. T1 (*A. lurida*). T2 (*S. reticulum*). T3 (*A. lurida* + *S. reticulum*). Medias con las mismas literales son estadísticamente similares. Las barras finas superiores indican la desviación estándar de las medias.

8. DISCUSIÓN

Una gran diversidad de microorganismos benéficos asociados a suelos cercanos a la rizosfera de plantas cultivadas y no cultivadas tienen un rol importante en la interacción planta-microorganismo, especialmente, las bacterias PGPR, en las cuales se incluyen a las actinobacterias. Muchas de éstas, además de su capacidad para suprimir fitopatógenos (Dahal *et al.*, 2017; Goudjal *et al.*, 2014; Pérez-Corral *et al.*, 2020; Sadeghi *et al.*, 2012), también sintetizan compuestos como fitohormonas (AIA) y sideróforos (Kaewkla y Franco, 2021; Meena *et al.*, 2020; Wahyudi *et al.*, 2019), solubilizan fosfatos y fijan nitrógeno atmosférico (Faried *et al.*, 2019; Franco-Correa *et al.*, 2010; Satyaprakash *et al.*, 2017; Trujillo *et al.*, 2015), descomponen la materia orgánica, favorecen la reutilización de elementos esenciales, solubilizan nutrientes minerales, producen diversos reguladores del crecimiento vegetal, degradan contaminantes orgánicos, promueven el crecimiento radicular, aumentan la fertilidad del suelo e inducen la resistencia sistémica en la planta (Gupta *et al.*, 2015; Sivasakthi *et al.*, 2014). Todos estos efectos de las actinobacterias benefician a las plantas. Un gran número de cepas de actinobacterias, en especial del género *Streptomyces* tienen la capacidad de sintetizar la mayoría de los compuestos arriba descritos, incluidos COVs implicados en la promoción del crecimiento vegetal (Pérez-Corral *et al.*, 2020; Yang *et al.*, 2019). Adicionalmente, tienen la capacidad de producir enzimas líticas (quitinasa y celulasa) que degradan la pared celular de los fitopatógenos, entre otros compuestos anti-fitopatogénicos (volátiles y no volátiles) o inducir/activar el sistema defensivo de las plantas ante el ataque de fitopatógenos (Chen *et al.*, 2007; Harman, 2011).

La capacidad de las bacterias, incluyendo a las actinobacterias de crecer en medios pobres en nitrógeno, se ha sugerido como un indicativo de su capacidad para fijar nitrógeno, especialmente atmosférico. *Streptomyces thermoautotrophicus* fue la primera especie de actinobacteria reportada como fijadora de nitrógeno (Valdés *et al.*, 2005). Desafortunadamente, las cepas de actinobacterias no estreptomicetos usadas en nuestro estudio resultaron incapaces de fijar nitrógeno, al menos en el medio de cultivo usado (GNFM), que también fue pobre en nitrógeno (Ahmad *et al.*, 2013). Sin embargo, la información existente sobre otros géneros de actinobacterias diferentes a *Streptomyces* con esta capacidad es limitada. Moscol *et al.* (2020) reportaron que el 85% de sus cepas de actinobacterias aisladas de rizosfera de *S. tuberosum* fueron capaces de fijar nitrógeno. Así mismo,

García-Rojas *et al.* (2019) reportaron que el 100% de sus cepas de *Streptomyces* probadas fue capaz de crecer en medios pobres en nitrógeno. Contrastantemente, Franco Correa (2008) reportó un porcentaje menor ($\approx 33\%$) de cepas de *Streptomyces* con esta capacidad. A pesar de que la mayoría de los reportes de actinobacterias fijadoras de nitrógeno esta específicamente dirigida a *Streptomyces*, algunos estudios han reportado actinobacterias no estreptomicetos como *Micromonospora* con esta capacidad (Trujillo *et al.*, 2015). La capacidad de fijar nitrógeno por estos microorganismos se atribuye principalmente a la presencia de los genes *nifH*, *nifD*, y *nifK* responsables de la síntesis de las enzimas nitrogenasas (Gaby y Buckley, 2012).

Por otra parte, los microorganismos han desarrollado mecanismos especializados para asimilar el hierro presente en el suelo, ya que generalmente este elemento se encuentra en formas no disponibles para los microorganismos y las plantas, dentro de estos mecanismos se encuentran los sideróforos que son moléculas quelantes de hierro de bajo peso molecular, encargadas de transportar este elemento, favoreciendo así el desarrollo de las plantas de manera directa (Arora *et al.*, 2013). Los sideróforos también favorecen el desarrollo de las plantas de manera indirecta, especialmente aquellos producidos por microorganismos como las actinobacterias; éstas secuestran el hierro disponible en la rizosfera, que es esencial para su desarrollo, haciéndolo poco disponible para otros microorganismos, incluyendo a los patógenos (Mehnaz, 2013). Todas las cepas de actinobacterias no estreptomicetos evaluadas en nuestro estudio fueron capaces de producir sideróforos en concentraciones de 9.47 a 52.23%U, siendo la cepa *S. reticulum* (testigo positivo) la que la produjo en mayor abundancia. Nuestros resultados coinciden con los valores reportados en otros estudios para actinobacterias estreptomicetos y no estreptomicetos. Kaewkla y Franco (2021) y Wu *et al.* (2018) reportaron cepas de *Amycolatopsis* capaces de producir este compuesto. Mientras que, Meena *et al.* (2020) reportaron cepas del género *Nocardioides* con esta misma capacidad.

Por otra parte, García-Rojas *et al.* (2019) reportaron cepas de *Streptomyces* spp. productoras de sideróforos en rangos de 7.8 a 39.2 %U. Chukwuneme *et al.* (2020) encontraron cepas de *Streptomyces*. que produjeron sideróforos en concentraciones de 38.3 y 48.6%U. Mientras que, Lahmyed *et al.* (2021) aislaron de rizosfera de tomate a cepas de actinobacterias productoras de sideróforos en concentraciones de 2 a 43%U.

Se ha reportado que el 80% de las PGPR aisladas de cultivos agrícolas son capaces de sintetizar AIA a partir de L-triptofano (Narayana *et al.*, 2009). Dentro de las PGPR se encuentran las

actinobacterias con rangos de producción moderado de esta auxina de 0.2 a 136 mg/L (Narayana *et al.*, 2009; Nimnoi *et al.*, 2010). El 100% de las cepas de actinobacterias evaluadas en este estudio, incluida la cepa positiva (*S. reticulum*), fueron capaces de producir AIA en concentraciones de 10 mg/L a 63.3 mg/L, siendo la mayor productora, la cepa de *N. albertanoniae*. Algunas actinobacterias de los géneros evaluados en este estudio han sido reportadas como productoras de esta auxina. Alekhya y Gopalakrishnan (2016) reportaron que *Amycolatopsis* BCA-696 fue capaz de producirla en concentraciones de 107 mg/L. Mientras que, Andreolli *et al.* (2016) reportaron especies de *Nocardioides* productoras de esta auxina en concentraciones de hasta a 0.0456 mg/L. Sin embargo, en cepas de *Streptomyces* se han conducido la mayoría de los estudios respecto a su capacidad para producir AIA. Wahyudi *et al.* (2019) reportaron que el 31% de las cepas de *Streptomyces* que aislaron en su estudio, fueron capaces de producir esta auxina en un rango de 2.08 a 16.70 mg/L (Jog *et al.*, 2012) aislaron e identificaron cepas de *Streptomyces* de la rizosfera de plantas de trigo (*Triticum* sp.), de las cuales, el 78% produjeron AIA en concentraciones de 2.6 a 19.22 mg/L. Jog *et al.* (2014) reportaron una producción de AIA de 136 mg/L por *Streptomyces* sp. Sreevidya *et al.* (2016) aislaron actinobacterias productoras de esta auxina en rangos de 3.6 a 14.6 mg/L. Se ha sugerido que el mecanismo más común para la biosíntesis de AIA por las PGPR se lleva a cabo a través de la ruta metabólica del ácido indol-3-pirúvico e indol 3-aldehído acético, por lo que, el aumento en estas vías metabólicas implica un aumento en la síntesis de AIA (Shilev, 2013).

Las actinobacterias han recibido atención como potenciales solubilizadores de fosfatos, implicados en la promoción del crecimiento vegetal. En nuestro estudio, solamente el 33.3% de las actinobacterias fue capaz de solubilizar fosfatos, siendo las cepas de *S. shandongensis* y *A. lurida* las que mostraron esta capacidad con valores de 5.89 y 2.56 mg/L, respectivamente. Se ha sugerido que solo \approx 20% de las cepas de actinobacterias tiene esta capacidad (Satyaprakash *et al.*, 2017). Aunque en otros estudios se han informado porcentajes mayores. Faried *et al.* (2019) reportaron que el 50% de sus cepas de *Streptomyces* fueron capaces de solubilizar fosfatos en un rango 32 a 78 mg/L. Por su parte, Abbasi *et al.* (2019) documentaron que el 73% de sus cepas de *Streptomyces* evaluadas en su estudio fueron capaces de solubilizar fosfatos. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Franco-Correa *et al.* (2010) quienes reportaron que el 70% de las cepas de *Streptomyces* aisladas en su estudio solubilizaron fosfatos en concentraciones de 2.05 a 2.72 mg/L. La capacidad de estos microorganismos para solubilizar fosfatos puede deberse a la liberación de

ácidos orgánicos en el medio, lo que causa su acidificación o a la producción de compuestos como los sideróforos que forman complejos con el fósforo (Welch *et al.*, 2002; Whitelaw, 1999).

La producción de quitinasa en medio de cultivo se atribuye principalmente a la capacidad de los microorganismos para utilizar los sustratos presentes en el medio como principal fuente de carbono (Stoykov *et al.*, 2015) y al grado de hidrólisis de quitina coloidal por los microorganismos, a las condiciones en las que se conducen los experimentos, destacando, la concentración del sustrato, el tiempo de incubación y las condiciones fisicoquímicas como pH, aireación y temperatura, entre otras. Desafortunadamente, las cepas de actinobacterias seleccionadas para nuestro estudio fueron incapaces de sintetizar quitinasa. Sin embargo, algunas cepas de actinobacterias, especialmente del género *Streptomyces* han sido reportadas como productoras de quitinasa en concentraciones de 0.47 a 09 U/mL. Ramírez-Hernández *et al.* (2019), Singh y Gaur (2016) reportaron que el 65% de sus cepas de actinobacterias evaluadas cualitativamente fueron capaces de producir esta enzima. Por su parte, Gupta *et al.* (1995) reportaron cepas de *Streptomyces* capaces de producir de 0.09 a 0.23 U/mL de quitinasa.

La capacidad de producir quitinasa por las actinobacterias se ha asociado a su potencial en el biocontrol de hongos fitopatógenos, especialmente porque las quitinasa degradan la pared celular de los hongos, y se ha sugerido que estas también participan activamente en el antagonismo (Nagpure y Gupta, 2013).

La habilidad de las actinobacterias para producir celulasa ha sido explorada desde que se descubrió este potencial en estos y otros microorganismos. Diversos estudios han evidenciado la capacidad de las actinobacterias para degradar celulosa. Los valores de producción de esta enzima encontrados en cepas de actinobacterias fluctúan de 0.32 a 39.5 U/mL. El 33.3% de las cepas de actinobacterias de nuestro estudio, fue capaz de sintetizar celulasa, especialmente por las cepas *A. lexingtonensis* y *A. lurida* en concentraciones de 0.03 y 0.55 U/mL, respectivamente. George *et al.* (2001) aislaron una cepa de *Thermomonospora* capaz de producir hasta 23 U/mL de celulasa. Das *et al.* (2014), encontraron que el 94% de sus aislados de *Streptomyces* produjeron esta enzima, aunque en menores concentraciones (0.324 a 0.756 U/mL). El-Sersy *et al.* (2010) reportaron que el 100% de las cepas de actinobacterias aisladas fueron capaces de producir esta enzima en concentraciones de entre 17.9 a 39.5 U/mL, una de estas fue *Nocardiosis aegyptia*. Se ha sugerido, que los microorganismos capaces de producir celulasa pueden ser utilizados como agentes de biocontrol, especialmente de Oomicetos patógenos, ya que las celulasa dañan a las paredes

celulares de estos y una vez que esto ocurre, los fitopatógenos son más susceptibles a otros metabolitos antifúngicos producido por los microorganismos antagonistas (El-Tarabily *et al.*, 1996).

A la fecha, se ha reportado un número considerable de cepas de actinobacterias aisladas de la rizosfera de plantas cultivadas y no cultivadas con capacidad anti-fitopatogénica, dada por su capacidad para producir compuestos bioactivos (volátiles y no volátiles) que les confieren esta actividad antagonista (Barka *et al.*, 2015; Toumatia *et al.*, 2015).

De las cepas evaluadas en nuestro estudio, solo la cepa de *S. reticulum* (testigo positivo) inhibió significativamente el crecimiento *in vitro* de *P. capsici* en un 73% en confrontación (cultivo) dual. He *et al.* (2020), reportaron actinobacterias no estreptomicetos antagonistas a fitopatógenos, incluyendo a *S. lienomycini* que inhibió el crecimiento de *P. capsici* en un 76.16%. Pérez-Corral *et al.* (2020) reportaron cepas de *Streptomyces* antagonistas a *P. capsici* que inhibieron su crecimiento *in vitro* por confrontación dual (directa) desde un 70.76 hasta un 92.10 %. Otros autores han reportado reducciones significativas del crecimiento *in vitro* por cepas de *Streptomyces*, desde 30.75 hasta 62.73 en otros hongos fitopatógenos como *Colletotrichum* sp., *Alternaria* sp., *Botrytis* sp., *Aspergillus* sp., *Rhizopus* sp. y *Rhizoctonia* sp. (Evangelista-Martínez *et al.*, 2020). Andargie y Li (2019) reportaron una cepa de *S. morookaense* que inhibió el 100% del crecimiento micelial de los fitopatógenos *Ustilaginoidea virens* y *Bipolaris maydis* además de suprimir la germinación de sus conidias, esta capacidad antifúngica la atribuyeron a los compuestos antibióticos producidos por esta cepa de actinobacteria. La actividad antagonista *in vitro* de las actinobacterias en confrontaciones directas contra diversos fitopatógenos es atribuida a la capacidad de estos para producir una gran variedad de compuestos antibióticos y antifúngicos, además de metabolitos secundarios bioactivos volátiles y enzimas líticas (Danaei *et al.*, 2014; Gopalakrishnan *et al.*, 2011; Passari *et al.*, 2015b). La cepa *S. reticulum* (testigo positivo) en nuestro estudio, fue la que produjo la mayor cantidad de sideróforos y la que presentó la mayor inhibición en las confrontaciones directas. Se ha sugerido que los microorganismos capaces de producir sideróforos previenen el crecimiento de microorganismos fitopatógenos al secuestrar el Fe³⁺ disponible en el medio de crecimiento (Mehnaz, 2013). Al respecto, Mokrani (2020) evidenciaron a los sideróforos como los responsables de la inhibición del crecimiento *in vitro* de hongos fitopatógenos como *Fusarium* spp., *Pythium sulcatum*, *Alternaria solani*, *Rhizoctonia solani*, *Verticillium dahliae*, *Sclerotinia sclerotiorum*, en rangos de 34.32 a 95.24%, además de demostrar cambios morfológicos en el

micelio fúngico y suprimir la esporulación de fitopatógenos como *F. oxysporum* por sideróforos. Por otra parte, las actinobacterias son excelentes productoras de compuestos volátiles antifúngicos. Pérez-Corral *et al.* (2020) analizaron el potencial antagónico de COVs producidos por cepas de *Streptomyces*, encontrando inhibiciones significativas del crecimiento micelial de hongos (*Alternaria alternata*, *Fusarium solani*) y oomicetos (*Phytophthora capsici*, *Phytophythium vexans* y *Pythium aphanidermatum*) fitopatógenos. El Oomiceto *Phytophthora capsici* fue inhibido desde 48.11 hasta 80.35%. Los mismos autores reportaron índices de inhibición por COVs puros de 51.6 a 100 % contra este fitopatógeno, destacando el compuesto volátil trans-2-hexenal a una concentración de 100 µl/L, como el responsable de la inhibición completa de este patógeno y de los otros patógenos arriba descritos. En nuestro estudio, resaltó la cepa de *A. lexingtonensis* al inhibir por completo a este fitopatógeno a través de COVs, mientras que las cepas de *A. umgeniensis* y *A. lurida* lo inhibieron en 56.12 y 53.02%, respectivamente. Este efecto inhibitorio pudo deberse presumiblemente a la producción de algún o algunos COVs antifúngicos por nuestras cepas de actinobacterias (Bouizgarne, 2013). Pérez-Corral *et al.* (2020) reportaron algunos COVs producidos por cepas de *Streptomyces* como responsables de la inhibición del crecimiento micelial de hongos fitopatógenos, tales como (2-pentanone, 2-(methylthio) ethanol, 2,5- dimethylfuran, α -pinene, 2-methyl-3-pentanone, 3-methyl-2-butanol, geosmin + 2-methylisoborneol, valencene). Rouissi *et al.* (2013) y Wang *et al.* (2013) también documentaron que *P. capsici*, fue más susceptible a estos COVs que otros oomicetos fitopatógenos como *Phytophythium vexans* y *Pythium aphanidermatum* evaluados en su estudio.

Dentro de los COVs producidos por las cepas de actinobacterias de nuestro estudio, se encuentran algunos producidos por otras PGPR, previamente reportados como promotores del crecimiento vegetal y con actividad antifúngica.

Las cepas *A. lurida* y *A. umgeniensis* produjeron el COV disulfide, dimethyl (DMDS). Este COV ha sobresalido por su capacidad antifúngica (incluso a concentraciones micromolares) y por su capacidad para promover el crecimiento vegetal y activar la resistencia sistémica inducida en plantas (Asari *et al.*, 2016; Rojas-Solís *et al.*, 2018). Pérez-Corral *et al.* (2020) reportaron que este COV producido por las cepas de *Streptomyces* de su estudio, inhibió el crecimiento de *P. capsici* en un 62.6 % a una concentración de 100µL/L. También se ha reportado como promotor del crecimiento en plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum*), además de inducir cambios en la arquitectura de la raíz de estas plantas (Meldau *et al.*, 2013). Otros estudios, también han

demostrado la actividad antifúngica *in vitro* de este COV contra otros fitopatógenos como *Fusarium oxysporum* y *Phytophthora* spp., *Sclerotium rolfsii*, *Verticillium dahliae* y *Rhizoctonia solani*, entre otros (Mao *et al.*, 2014; Papazlatani *et al.*, 2016). Concordantemente, los COVs emitidos por *A. umgeniensis* inhibieron el crecimiento *in vitro* de *P. capsici* en más del 57% (Figura 12). Por su parte, *A. lurida* incrementó algunos parámetros de crecimiento en plantas de *A. thaliana*, tales como el peso fresco de raíz y tallo, longitud de raíz y el número de hojas (Figura 14). Mientras que, en las plantas de chile jalapeño aumentó la longitud de raíz y altura de la planta. Basado en lo anterior, los efectos positivos tanto en la inhibición de *P. capsici*, como en la promoción del crecimiento de algunos parámetros *in vitro* e *in situ* en plantas de *A. thaliana* y *C. annuum*, respectivamente, inducidos por la cepa *A. lurida* podrían atribuirse a la producción de este COV. Pero en las plantas de *A. thaliana* en cultivo *in vitro* con los COVs emitidos por *A. umgeniensis* se registró un efecto menor en el crecimiento (Figura 13). Esto podría atribuirse a la baja producción del COV DMDS por la cepa, ya que el área bajo el pico observada para este COV fue mucho mayor en *A. lurida* (2.08 %) que en *A. umgeniensis* (1.51%) (Cuadro 4). Por su parte, Asari *et al.* (2016) y Rojas-Solís *et al.* (2018) reportaron que concentraciones altas de DMDS pueden inhibir el crecimiento de las plantas, mientras que concentraciones micromolares (50 μ M) lo favorecen. Este efecto podría ser el caso de lo evidenciado en las plantas de *A. thaliana* en presencia de la cepa *A. lurida*. Tyagi *et al.* (2019) reportaron que el DMDS a concentraciones de más de 200 μ M, retarda el crecimiento de *A. thaliana*, sin embargo, también evidenciaron un aumento de 2.5 y 3 veces en el número de raíces laterales y de pelos radiculares, respectivamente.

Streptoverticillium reticulum (testigo positivo) fue la cepa que inhibió mayormente el crecimiento micelial del patógeno en confrontación dual. Dentro de los COVs producidos por *S. reticulum* a los que podría atribuirse su capacidad anti-fúngica contra *P. capsici* se encuentran el acetic acid, 2-methylpropyl ester y phenylethyl alcohol (PEA), que han sido previamente reportados e identificados por su capacidad para inhibir el crecimiento de hongos. Guo *et al.* (2019) reportaron a acetic acid, 2-methylpropyl ester como el COV responsable de inhibir el crecimiento de *B. cinerea*. Por su parte, el PEA ha sido reportado por su capacidad para inhibir el crecimiento de hongos fitopatógenos como *F. incarnatum*, *Penicillium digitatum*, *P. italicum* y *Neurospora crassa*, específicamente al inhibir la síntesis de ADN y ARN (Angel *et al.*, 2016; Lester, 1965; Mo y Sung, 2007).

Amycolatopsis umgeniensis fue la única cepa capaz de producir el COV 2-heptanone. Este COV

ha sido reportado con actividades anti-fitopatogénicas, insecticidas y como promotor del crecimiento vegetal. Este COV fue reportado por (Cole *et al.*, 1975) como capaz de inhibir el crecimiento y la formación de esporas en fitopatógenos como *Pythium irregulare*, *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum*. Jiang *et al.* (2019) demostraron la capacidad de este COV para promover el crecimiento en *A. thaliana*, aumentado especialmente, el peso fresco de las plantas en más 3.75 veces a una concentración de 10 ng/ μ L. Cabe señalar, que *A. umgeniensis* inhibió a *P. capsici* en un 57%, además de incrementar significativamente la longitud de raíz y el peso fresco (de raíces y tallos) en las plantas de *A. thaliana* en 63, 5.8, 2.4 veces, respectivamente, al exponerse *in vitro* a los COVs emitidos por esta cepa. Basado en lo expuesto anteriormente, el efecto antifúngico contra *P. capsici* y en el incremento de algunos parámetros de crecimiento medidos en *A. thaliana* podrían atribuirse a la producción del COV 2-heptanone.

Otro COV producido por las cepas *A. lexingtonensis*, *A. umgeniensis* y *S. reticulum* (testigo positivo) fue el dimethyl trisulfide (DMTS). Este COV ha sido reportado como antifúngico especialmente contra Oomicetos, pero también inhibe hongos. Agisha *et al.* (2019) reportaron la inhibición completa de los fitopatógenos *Phytophthora capsici*, *Pythium myriotylum*, *Athelia rolfsii*, *Rhizoctonia solani*, *Gibberella moniliformis*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Magnaporthe grisea* al exponerse a este COV en concentraciones de 21 a 679 μ g/cm³. Se ha evidenciado que este COV daña a la membrana e integridad de las esporas de los hongos, además de inducir cambios en la morfología del micelio (Tang *et al.*, 2019). *Amycolatopsis lexingtonensis* evaluada en nuestro estudio, fue la cepa que produjo la mayor cantidad de este COV (9.71%) y coincidentemente fue la que inhibió por completo el crecimiento micelial y germinación de esporas *in vitro* en *P. capsici* en los bioensayos a través de COVs. La inhibición *in vitro* (56.12 y 53.02%) del crecimiento de *P. capsici* por las cepas *A. umgeniensis* y *A. lurida*, respectivamente, podría atribuirse a la producción de este COV, y este porcentaje de inhibición podría estar correlacionado con la cantidad relativamente baja (0.11 y 1.35%) de este COV producido por ambas cepas, respectivamente. Cabe destacar, que las tres cepas productoras de DMTS fueron las que inhibieron significativamente el crecimiento micelial de *P. capsici* en las confrontaciones a través de COVs emitidos por estas, por lo que, presumiblemente su actividad antifúngica podría atribuirse a la producción de este COV.

La cepa de *N. albertanoniae* produjo los COVs 3-octanone y 2-pentanone, previamente reportados en otros estudios como promotores del crecimiento vegetal e inhibidores de hongos fitopatógenos.

Gamboa-Becerra *et al.* (2021) reportaron incrementos en la longitud de raíz primaria y la densidad de raíces laterales, en plantas de *A. thaliana* al someterse a concentraciones de 25 μM de 3-octanone; sin embargo, los mismos autores reportan una reducción progresiva en la promoción del crecimiento conforme se aumenta la concentración de este COV. Cordovez *et al.* (2017) también evidenciaron que concentraciones altas (100 μM y 1 mg) de este COV inhiben el crecimiento de plantas de *A. thaliana*. Por otra parte, otros autores han considerado que el 3-octanone tiene potencial como agente de biocontrol de fitopatógenos (Holighaus *et al.*, 2014; Naznin *et al.*, 2014). Contrariamente, la cepa *N. albertanoniae* que fue la que produjo este COV, fue ineficaz en la inhibición de *P. capsici*. El 2-pentanone ha sido reportado como promotor del crecimiento y con actividad antifúngica. Lee *et al.* (2019) reportaron un aumento en el peso fresco del 20 al 30% y de la clorofila total de 20 a 50% en *A. thaliana*, al estar en contacto con este COV a concentraciones de 100 μM . Sidorova *et al.* (2022), reportaron un incremento del peso seco de *A. thaliana* en 1.5 a 2 veces a concentraciones de 200 μmol . También se ha demostrado la capacidad de este COV en la inhibición de hongos como *Alternaria alternata* y Oomicetos (*Phytophthora vexans*, *Pythium aphanidermatum* y *Phytophthora capsici*) fitopatógenos (Pérez-Corral *et al.*, 2020). Coincidentemente, *N. albertanoniae* fue la cepa que promovió mayormente el crecimiento de la mayoría de los parámetros de crecimiento evaluados en plantas de *A. thaliana*, por lo que, este efecto positivo de promoción en *A. thaliana* podría atribuirse a la acción conjunta de los COVs 3-octanone y 2-pentanone, producidos por esta cepa.

Aunado a la actividad anti-fitopatogénica extensamente documentada en PGPR, incluidas las actinobacterias, cuando estas entran en contacto directo con las plantas también promueven el desarrollo y crecimiento mediante la producción de fitohormonas, además de hacer disponibles los nutrientes como hierro y nitrógeno (Brink, 2016; Pieterse *et al.*, 2016). Inclusive, algunas PGPR favorecen indirectamente el desarrollo de la planta, mediante mecanismos como la síntesis de COVs que al ser detectados por las plantas favorecen su desarrollo (Gutiérrez-Luna *et al.*, 2010; Ryu *et al.*, 2003; Zhang *et al.*, 2007).

En nuestro estudio, las cepas de *N. albertanoniae*, *A. lexingtonensis* y *A. lurida* aumentaron en mayor medida el peso fresco de raíz, tallo y número de hojas en plantas de *A. thaliana* (Figura 2A, B, D) tanto en interacción *in vitro* por COVs como en cultivo dual (interacción directa). Estos efectos positivos pudieran deberse a la capacidad demostrada por estas cepas para producir AIA. Ya que, esta fitohormona es conocida ampliamente por incrementar el desarrollo de las raíces

laterales y aéreas de las plantas, además de favorecer la absorción de nutrientes, que en consecuencia se refleja en el mayor desarrollo de la planta (Duca *et al.*, 2014).

Rahmoune *et al.* (2017) también reportaron un aumento en el número y tamaño de las hojas de *A. thaliana* al estar en contacto con microorganismos como *Bacillus* sp. y *Lysinibacillus fusiformis*. En nuestro estudio, también se evidenció un incremento significativo en los parámetros de crecimiento (peso fresco de raíz, diámetro del tallo, número de hojas y longitud de raíz principal), por las cinco cepas de actinobacterias no estreptomicetos evaluadas (Figura 14). Resultados similares fueron obtenidos por López-Bucio *et al.* (2007) al exponer plantas de *A. thaliana* ante *Bacillus megaterium*, ellos atribuyeron estos efectos a la capacidad de esta bacteria para producir compuestos que reducen la proliferación del tejido meristemático y que limitan la elongación de las células del meristemo apical.

Se ha demostrado que los COVs microbianos, pueden producir cambios en los patrones de crecimiento de las plantas (Bailly y Weisskopf, 2017). Interacciones entre plantas y COVs fueron reportadas por primera vez por Ryu *et al.* (2004), quienes observaron que los COVs producidos por *Bacillus* sp., promovieron el crecimiento de plantas y activaron la resistencia sistémica en plantas de *A. thaliana*. Las cepas de actinobacterias de nuestro estudio que mostraron los mejores resultados para la promoción de crecimiento mediante COVs fueron *A. lexingtonensis*, *S. shandongensis*, *N. albertanoniae* y *A. lurida*. *A. lexingtonensis* aumentó el peso fresco de raíz y tallo en 13.69 y 5 veces, respectivamente, *S. shandongensis* aumentó el número de hojas en 1.2 veces y *A. umgeniensis* incrementó notablemente la longitud de raíz hasta en 66.13 veces con respecto a las plantas testigo.

Pérez-Flores *et al.* (2017) evaluaron la capacidad de cepas de PGPR en la promoción del crecimiento en plantas de *A. thaliana* y observaron un aumento en el crecimiento y desarrollo de estas; especialmente en el número de hojas (1.4 veces), peso fresco de raíz y tallo (2.25 y 1.8 veces, respectivamente) longitud de raíz (1 vez). Estos valores fueron mucho menores a los obtenidos con las cepas de nuestro estudio. Por su parte, Zhou *et al.* (2016) reportaron un incremento de más de 5 veces en el peso fresco en plantas de *A. thaliana* al estar en interacción con COVs emitidos por *B. cereus*. En nuestro estudio, el peso fresco aumentó en mayor medida hasta 4.4 veces. Algunos autores atribuyen la capacidad de las PGPR para promover el crecimiento de las plantas mediante COVs al “diálogo molecular” que se da entre estas y las plantas, induciendo la biosíntesis de AIA, que en consecuencia, aumentan los niveles de esta fitohormona en la planta y se activan

simultáneamente los mecanismos de transporte de auxinas, para que esta, pueda llegar a los diferentes tejidos de la planta (Zhou *et al.*, 2016). Ryu *et al.* (2003) reportaron a los COVs (2,3-butanediol y acetoin) como los responsables de promover el crecimiento en plantas de *A. thaliana*, producidos por algunas cepas de *Pseudomonas syringae*. Cabe mencionar que los mecanismos de señalización utilizados por los COVs han sido poco estudiados y documentados (Tyagi *et al.*, 2018), por lo que, aún se conoce poco.

Se ha demostrado que las actinobacterias son capaces de promover el crecimiento vegetal de diversos cultivos, esta capacidad se atribuye principalmente a su capacidad para producir sideróforos, fitohormonas (p.e. AIA) y a su capacidad para fijar nitrógeno y solubilizar fosfatos (Monteiro *et al.*, 2017). En nuestro estudio, los parámetros de crecimiento medidos en las plantas de chile jalapeño “M” después de ser tratadas con las dos cepas de actinobacterias no estreptomycetos evaluados individualmente y en mezcla, fueron variables. El peso fresco de las plantas del T3 (*A. lurida* + *S. reticulum*) fue el único que se incrementó significativamente con respecto a las plantas testigo. La altura de las plantas de chile jalapeño fue significativamente diferente en los tres tratamientos, que en aquellas plantas testigo; con incrementos de 11.56%, 9% y 6.7%, por los tratamientos T1 (*A. lurida*), T2 (*S. reticulum*) y T3 (*A. lurida* + *S. reticulum*), respectivamente. El diámetro del tallo fue incrementado en 7.1% por el T3 (*A. lurida* + *S. reticulum*). La longitud de raíz se incrementó en 24.6 y 29.1% con los tratamientos T1 (*A. lurida*) y T3 (*A. lurida* y *S. reticulum*), respectivamente. Nimnoi y Ruanpanun (2020) documentaron cepas de *Streptomyces* capaces de promover el crecimiento de plantas de chile (*C. flutescens* L. cultivar Thai) en más de 75.47% para longitud del tallo, 88.37% en longitud de raíz, 56.78% en peso del tallo, y hasta 141.84 % en peso de raíz. Por otra parte, Abbasi *et al.* (2019) reportaron una cepa de *Streptomyces* sp. responsable de aumentar significativamente la altura de la planta de tomate (*Solanum lycopersicum* L. cv. Rio Grande) en 20%, y el peso fresco y seco del tallo en 36 y 37%, respectivamente; sin embargo, no observaron un aumento en el peso seco y fresco de la raíz en sus plantas de tomate, pero aumentó la formación de pelos radiculares. Esto también se evidenció en nuestro estudio tanto en *A. thaliana* como en *P. vulgaris*, que, aunque no se evaluó la cantidad de pelos radiculares, visualmente se evidencia el mayor número de pelos radiculares en las plantas tratadas con actinobacterias que en las plantas testigo (Figura 19). Por otra parte, también se ha reportado el potencial de otras PGPR en la promoción del crecimiento vegetal tanto en chile como en otros cultivos. Thilagar *et al.* (2018) reportaron incrementos en más del 36% en el peso seco en

plantas de Chile (*C. annuum*) por *Bacillus sonorensis*. Gou *et al.* (2020) evidenciaron que al tratar plantas de *C. annuum* con biofertilizantes cuyo principal ingrediente activo fueron cepas de PGPR (*Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., *Sinorhizobium meliloti*) se aumentó significativamente su altura entre un 12 y 58%, el diámetro del tallo de la planta entre un 11 y 31% y el ancho de las hojas en un 10 a 13%. Es importante destacar, que el aumento de la biomasa de raíces favorece la capacidad de las plantas para asimilar los nutrientes del suelo, ya que permite un mayor contacto de las plantas con suelo (Antoun y Prévost, 2005). El tratamiento T3 (*A. lurida* y *S. reticulum*) mostró un aumento en el ancho de las hojas de 7.6%, en los T1 (*A. lurida*) y T2 (*S. reticulum*) se observó un aumento de 12.5 y 10.3% para el ancho de las hojas, respectivamente. Se ha sugerido, que la promoción del crecimiento de las plantas por microorganismos benéficos, incluidas las actinobacterias se lleva a cabo mediante diversos mecanismos directos e indirectos; de manera directa al hacer disponibles los nutrientes necesarios (nitrógeno, fósforo, hierro, entre otros) para el desarrollo de las plantas o mediante la producción de reguladores del crecimiento de estos, como fitohormonas (auxinas y citocininas) (El-Tarabily y Sivasithamparam, 2006). Los mecanismos indirectos favorecen el crecimiento de las plantas al protegerlas del estrés biótico y suprimiendo la actividad de microorganismos patógenos (Gupta *et al.*, 2015). La producción de metabolitos como antibióticos, es considerada uno de los mejores mecanismos indirectos para el biocontrol de fitopatógenos, la producción de enzimas líticas, es otro mecanismo utilizado mediante el cual suprimen microorganismos fitopatógenos y al activar la resistencia sistémica inducida, fenómeno conocido como “biopriming” que protege a las plantas contra un gran número de patógenos, esta puede ser activada por las PGPR o componentes individuales de estas, como lipopolisacáridos, sideróforos, lipopéptidos cíclicos y volátiles (acetoin y 2, 3-butanediol) (Pérez-Flores *et al.*, 2017).

9. CONCLUSIONES

Algunas cepas de actinobacterias no estreptomicetos inhibieron el crecimiento *in vitro* del Oomiceto *Phytophthora capsici*, produjeron sustancias promotoras del crecimiento vegetal y fueron capaces de mejorar algunos de los parámetros de crecimiento *in vitro* en plántulas de *Arabidopsis thaliana* e *in situ* en plántulas *Capsicum annuum*.

Las cepas de actinobacterias de nuestro estudio fueron capaces de producir sideróforos y ácido 3 – indol acético, pero fueron incapaces de fijar nitrógeno y producir de quitinasa.

Las cepas *A. lurida* y *S. shandongensis* fueron las únicas capaces de solubilizar fosfatos.

Las cepas *A. lexingtonensis* y *S. shandongensis* produjeron celulasa.

Los COVs de *A. lexingtonensis* inhibieron totalmente (100%) el crecimiento micelial *in vitro* de *P. capsici*, mientras que en confrontación directa la más eficaz en inhibir a este patógeno fue la cepa *S. reticulum*.

Todas las cepas de actinobacterias promovieron el crecimiento *in vitro* de las plantas de *Arabidopsis thaliana*, siendo el peso fresco de tallo y raíz, los parámetros de crecimiento mayormente incrementados, especialmente por la cepa *A. lexingtonensis*.

Las actinobacterias (*A. lurida*+*S. reticulum*) en mezcla, promovieron eficazmente el crecimiento *in situ* de la longitud de raíz y la altura de la planta de *Capsicum annuum*.

Se identificaron algunos compuestos volátiles, pertenecientes a los grupos cetonas, aldeídos, ésteres, tioésteres terpeno y alcoholes producidos por las cepas de actinobacterias no estreptomicetos que podrían estar implicados tanto en la promoción del crecimiento vegetal como en la inhibición de fitopatógenos.

10. RECOMENDACIONES

El uso de cepas de actinobacterias no estreptomicetos como agentes de control biológico de fitopatógenos y/o biofertilizantes es una alternativa prometedora al uso de productos sintéticos/minerales, para la protección de cultivos hortofrutícolas. Basado en la capacidad de algunas cepas de actinobacterias no estreptomicetos evaluados en este estudio, para inhibir fitopatógenos y promover el crecimiento vegetal, se recomienda conducir estudios en condiciones de invernadero o campo abierto para comprobar los resultados obtenidos *in vitro* e *in situ*. Nuestro estudio evidenció que los COVs emitidos por las actinobacterias juegan un papel importante en la promoción del crecimiento de plantas e inhibición de patógenos, por lo que, identificar al o los COVs responsables de estos efectos será de gran utilidad, además de conducir estudios transcriptómicos para determinar si estos compuestos son capaces de activar la resistencia sistémica en las plantas

11. BIBLIOGRAFÍA

- Abbasi, S., Safaie, N., Sadeghi, A., y Shamsbakhsh, M. (2019). *Streptomyces* strains induce resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Race 3 in tomato through different molecular mechanisms. *Frontiers in Microbiology*, 10(1505). doi:10.3389/fmicb.2019.01505
- Agisha, V. N., Kumar, A., Eapen, S. J., Sheoran, N., y Suseelabhai, R. (2019). Broad-spectrum antimicrobial activity of volatile organic compounds from endophytic *Pseudomonas putida* BP25 against diverse plant pathogens. *Biocontrol Science and Technology*, 29(11), 1069-1089. doi:10.1080/09583157.2019.1657067
- Ahmad, B., Nigar, S., Malik, N. A., Bashir, S., Ali, J., Yousaf, S., et al. (2013). Isolation and characterization of cellulolytic nitrogen fixing *Azotobacter* species from wheat rhizosphere of *Khyber Pakhtunkhwa*. *World Applied Sciences Journal*, 27(1), 51-60. doi:10.5829/idosi.wasj.2013.27.01.81120
- Alconero, R., y Santiago, A. (1972). Characteristics of asexual sporulation in *Phytophthora palmivora* and *Phytophthora parasitica nicotianae*. *Phytopathology*, 62, 993-997.
- Alekhya, G., y Gopalakrishnan, S. (2016). Exploiting plant growth-promoting *Amycolatopsis* sp. in chickpea and sorghum for improving growth and yield. *Journal of Food Legumes*, 29(3and4), 225-231.
- Alexander, D. B., y Zuberer, D. A. (1991). Use of chrome azurol S reagents to evaluate siderophore production by rhizosphere bacteria. *Biology and Fertility of Soils*, 12(1), 39-45. doi:10.1007/BF00369386
- Andargie, M., y Li, J. (2019). Antifungal activity against plant pathogens by compounds from *Streptovercillium morookaense*. *Journal of Plant Pathology*, 101(3), 547-558. doi:10.1007/s42161-018-00234-x
- Andreolli, M., Lampis, S., Zapparoli, G., Angelini, E., y Vallini, G. (2016). Diversity of bacterial endophytes in 3 and 15 year-old grapevines of *Vitis vinifera* cv. *Corvina* and their potential for plant growth promotion and phytopathogen control. *Microbiological Research*, 183, 42-52. doi:org/10.1016/j.micres.2015.11.009
- Angel, L. P. L., Yusof, M. T., Ismail, I. S., Ping, B. T. Y., Mohamed Azni, I. N. A., Kamarudin, N. H., et al. (2016). An *in vitro* study of the antifungal activity of *Trichoderma virens* 7b and a profile of its non-polar antifungal components released against *Ganoderma boninense*. *Journal of Microbiology*, 54(11), 732-744. doi:10.1007/s12275-016-6304-4
- Antoun, H., y Prévost, D. (2005). Ecology of plant growth promoting rhizobacteria *PGPR: Biocontrol and Biofertilization* (pp. 1-38): Springer.
- Arora, N. K., Tewari, S., y Singh, R. (2013). Multifaceted plant-associated microbes and their mechanisms diminish the concept of direct and indirect PGPRs *Plant microbe symbiosis: Fundamentals and Advances* (pp. 411-449): Springer.
- Asari, S., Matzén, S., Petersen, M. A., Bejai, S., y Meijer, J. (2016). Multiple effects of *Bacillus*

amyloliquefaciens volatile compounds: plant growth promotion and growth inhibition of phytopathogens. *FEMS microbiology ecology*, 92(6). doi:10.1093/femsec/fiw070

- Bailly, A., y Weisskopf, L. (2017). Mining the Volatilomes of Plant-Associated Microbiota for New Biocontrol Solutions. *Frontiers in microbiology*, 8. doi:org/10.3389/fmicb.2017.01638
- Bala, S., Khanna, R., Dadhwal, M., Prabakaran, S. R., Shivaji, S., Cullum, J., et al. (2004). Reclassification of *Amycolatopsis mediterranei* DSM 46095 as *Amycolatopsis rifamycinica* sp. nov. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 54(4), 1145-1149. doi:org/10.1099/ijs.0.02901-0
- Balaraju, K., Kim, C.-J., Park, D.-J., Nam, K.-W., Zhang, K., Sang, M. K., et al. (2016). Paromomycin derived from *Streptomyces* sp. AG-P 1441 induces resistance against two major pathogens of chili pepper. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26(9), 1542-1550. doi:org/10.4014/jmb.1603.03019
- Baltz, R. H. (2007). Antimicrobials from Actinomycetas : back to the future. *Mecrobe*, 2, 125-133.
- Barchenger, D. W., y Bosland, P. W. (2019). Wild chile pepper (*Capsicum* L.) of North America *North American Crop Wild Relatives, Volume 2* (pp. 225-242): Springer.
- Barka, E., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Klenk, H.-P., et al. (2015). Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80(1), 1-43. doi:10.1128/MMBR.00019-15
- Barratt, B. I. P., Moran, V. C., Bigler, F., y van Lenteren, J. C. (2018). The status of biological control and recommendations for improving uptake for the future. *BioControl*, 63(1), 155-167. doi:10.1007/s10526-017-9831-y
- Begg, G. S., Cook, S. M., Dye, R., Ferrante, M., Franck, P., Lavigne, C., et al. (2017). A functional overview of conservation biological control. *Crop Protection*, 97, 145-158. doi:org/10.1016/j.cropro.2016.11.008
- Bernhardt, E., y Grogan, R. (1982). Effect of Soil Matric Potential on the Formation and Indirect Germination of Sporangia of *Phytophthora parasitica*, *P. capsici*, and *P. cryptogea*. *Phytopathology*, 72(5), 507-511.
- Bhatti, A. A., Haq, S., y Bhat, R. A. (2017). Actinomycetes benefaction role in soil and plant health. *Microbial pathogenesis*, 111, 458-467. doi:org/10.1016/j.micpath.2017.09.036
- Bishop-Hurley, S. L., Mounter, S. A., Laskey, J., Morris, R. O., Elder, J., Roop, P., et al. (2002). Phage-displayed peptides as developmental agonists for *Phytophthora capsici* zoospores. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(7), 3315-3320. doi:org/10.1128/AEM.68.7.3315-3320.2002
- Bouizgarne, B. (2013). Bacteria for Plant Growth Promotion and Disease Management. In D. K. Maheshwari (Ed.), *Bacteria in Agrobiolgy: Disease Management* (pp. 15-47). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Boukaew, S., Plubrukam, A., y Prasertsan, P. (2013). Effect of volatile substances from *Streptomyces philanthi* RM-1-138 on growth of *Rhizoctonia solani* on rice leaf. *BioControl*, 58(4), 471-482. doi:10.1007/s10526-013-9510-6
- Breda, M. O., Oliveira, J. V., Esteves Filho, A. B., Barbosa, D. R. S., y Santos, A. A. (2017). Lethal and sublethal effects of pesticides in the management of *Polyphagotarsonemus latus* (Banks)

- (Acari: Tarsonemidae) on *Capsicum annuum* L. *Pest Management Science*, 73(10), 2054-2062. doi:10.1002/ps.4571
- Brink, S. C. (2016). Unlocking the secrets of the rhizosphere. *Trends in plant science*, 21(3), 169-170. doi:org/10.1016/j.tplants.2016.01.020
- Carrer-Filho, R. (2002). *Actinomicetos como agentes de biocontrole de doenças e como promotores de crescimento do tomateiro*. (Magister Scientiae), Universidade Federal de Viçosa, Brasil.
- Cartieaux, F., Contesto, C., Gallou, A., Desbrosses, G., Kopka, J., Taconnat, L., et al. (2008). Simultaneous Interaction of *Arabidopsis thaliana* with *Bradyrhizobium* Sp. Strain ORS278 and *Pseudomonas syringae* pv. tomato DC3000 Leads to Complex Transcriptome Changes. *Molecular plant-microbe interactions*, 21(2), 244-259. doi:10.1094/MPMI-21-2-0244
- Chaurasia, A., Meena, B. R., Tripathi, A. N., Pandey, K. K., Rai, A. B., y Singh, B. (2018). Actinomycetes: an unexplored microorganisms for plant growth promotion and biocontrol in vegetable crops. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 34(9), 132. doi:10.1007/s11274-018-2517-5
- Chen, X. H., Koumoutsis, A., Scholz, R., Eisenreich, A., Schneider, K., Heinemeyer, I., et al. (2007). Comparative analysis of the complete genome sequence of the plant growth-promoting bacterium *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. *Nature biotechnology*, 25(9), 1007-1014. doi:org/10.1038/nbt1325
- Chew, M., Vega, P., Palomo, R., y Jiménez, D. o. (2008). Principales enfermedades del chile (*Capsicum annuum* L.). *INIFAP*(153), 2.
- Chukwuneme, C. F., Babalola, O. O., Kutu, F. R., y Ojuederie, O. B. (2020). Characterization of actinomycetes isolates for plant growth promoting traits and their effects on drought tolerance in maize. *Journal of Plant Interactions*, 15(1), 93-105. doi:10.1080/17429145.2020.1752833
- Cole, L. K., Blum, M. S., y Roncadori, R. W. (1975). Antifungal properties of the insect alarm pheromones, citral, 2-heptanone, and 4-methyl-3-heptanone. *Mycologia*, 67(4), 701-708. doi:10.1080/00275514.1975.12019799
- Coombs, J. T., Michelsen, P. P., y Franco, C. M. (2004). Evaluation of endophytic actinobacteria as antagonists of *Gaeumannomyces graminis* var. tritici in wheat. *Biological Control*, 29(3), 359-366. doi:org/10.1016/j.biocontrol.2003.08.001
- Cordovez, V., Mommer, L., Moisan, K., Lucas-Barbosa, D., Pierik, R., Mumm, R., et al. (2017). Plant phenotypic and transcriptional changes induced by volatiles from the fungal root pathogen *Rhizoctonia solani*. *Frontiers in Plant Science*, 8. doi:10.3389/fpls.2017.01262
- Da Vinha, F. N. M., Gravina-Oliveira, M. P., Franco, M. N., Macrae, A., da Silva Bon, E. P., Nascimento, R. P., et al. (2011). Cellulase production by *Streptomyces viridobrunneus* scpe-09 using lignocellulosic biomass as inducer substrate. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 164(3), 256-267. doi:10.1007/s12010-010-9132-8
- Danaei, M., Baghizadeh, A., Pourseyedi, S., Amini, J., y Yaghoobi, M. M. (2014). Biological control of plant fungal diseases using volatile substances of *Streptomyces griseus*. *European Journal of Experimental Biology*, 4(1), 334-339.

- Das, P., Solanki, R., y Khanna, M. (2014). Isolation and screening of cellulolytic actinomycetes from diverse habitats. *International Journal of Advanced Biotechnology and Research*, 5(3), 438-451.
- de Oliveira-Longatti, S. M., Marra, L. M., Lima-Soares, B., Bomfeti, C. A., da Silva, K., Avelar-Ferreira, P. A., *et al.* (2014). Bacteria isolated from soils of the western Amazon and from rehabilitated bauxite-mining areas have potential as plant growth promoters. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30(4), 1239-1250. doi:10.1007/s11274-013-1547-2
- Demain, A. L., y Sanchez, S. (2009). Microbial drug discovery: 80 years of progress. *The Journal of antibiotics*, 62(1), 5-16. doi:10.1038/ja.2008.16
- Dey, R., Pal, K. K., y Tilak, K. V. B. R. (2014). Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Crop Protection and Challenges. In A. Goyal & C. Manoharachary (Eds.), *Future challenges in crop protection against fungal pathogens* (pp. 31-58). New York, NY: Springer New York.
- Duca, D., Lorv, J., Patten, C. L., Rose, D., y Glick, B. R. (2014). Indole-3-acetic acid in plant-microbe interactions. *Antonie van Leeuwenhoek*, 106(1), 85-125. doi:10.1007/s10482-013-0095-y
- El-Sersy, N. A., Abd-Elnaby, H., Abou-Elela, G. M., Ibrahim, H. A., y El-Toukhy, N. M. (2010). Optimization, economization and characterization of cellulase produced by marine *Streptomyces ruber*. *African Journal of Biotechnology*, 9(38), 6355-6364.
- El-Tarabily, K., Soliman, M. H., Nassar, A. H., Al-Hassani, H. A., Sivasithamparam, K., McKenna, F., *et al.* (2000). Biological control of *Sclerotinia minor* using a chitinolytic bacterium and actinomycetes. *Plant Pathology*, 49(5), 573-583. doi:org/10.1046/j.1365-3059.2000.00494.x
- El-Tarabily, K. A. (2003). An endophytic chitinase-producing isolate of *Actinoplanes missouriensis*, with potential for biological control of root rot of lupin caused by *Plectosporium tabacinum*. *Australian Journal of Botany*, 51(3), 257-266. doi:org/10.1071/BT02107
- El-Tarabily, K. A. (2006). Rhizosphere-competent isolates of streptomycete and non-streptomycete actinomycetes capable of producing cell-wall-degrading enzymes to control *Pythium aphanidermatum* damping-off disease of cucumber. *Canadian Journal of Botany*, 84(2), 211-222. doi:10.1139/b05-153
- El-Tarabily, K. A., y Sivasithamparam, K. (2006). Non-streptomycete actinomycetes as biocontrol agents of soil-borne fungal plant pathogens and as plant growth promoters. *Soil Biology and Biochemistry*, 38(7), 1505-1520. doi:org/10.1016/j.soilbio.2005.12.017
- El-Tarabily, K. A., St. J. Hardy, G. E., Sivasithamparam, K., Hussein, A. M., y Kurtböke, D. I. (1997). The potential for the biological control of cavity-spot disease of carrots, caused by *Pythium coloratum*, by streptomycete and non-streptomycete actinomycetes. *New Phytologist*, 137(3), 495-507. doi:10.1046/j.1469-8137.1997.00856.x
- El-Tarabily, K. A., Sykes, M. L., Kurtböke, I. D., Hardy, G. E. S. J., Barbosa, A. M., y Dekker, R. F. H. (1996). Synergistic effects of a cellulase-producing *Micromonospora carbonacea* and an antibiotic-producing *Streptomyces violascens* on the suppression of *Phytophthora cinnamomi* root rot of *Banksia grandis*. *Canadian Journal of Botany*, 74(4), 618-624. doi:10.1139/b96-078

- Elson, M., Schisler, D., y Bothast, R. (1997). Selection of microorganisms for biological control of silver scurf (*Helminthosporium solani*) of potato tubers. *Plant disease*, 81(6), 647-652. doi:org/10.1094/PDIS.1997.81.6.647
- Evangelista-Martínez, Z., Contreras-Leal, E. A., Corona-Pedraza, L. F., y Gastélum-Martínez, É. (2020). Biocontrol potential of *Streptomyces* sp. CACIS-1.5CA against phytopathogenic fungi causing postharvest fruit diseases. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 30(1), 117. doi:10.1186/s41938-020-00319-9
- Fabre, B., Velours, J., Etienne, G., Legendre, F., y Tiraby, G. (1993). CL307-24, a new antibiotic complex from *Saccharopolyspora aurantiaca* sp. nov. *The Journal of antibiotics*, 46(9), 1421-1427. doi:org/10.7164/antibiotics.46.1421
- Faried, A.-S. M., Mohamed, H., El-Dsouky, M., y El-Rewainy, H. M. (2019). Isolation and characterization of phosphate solubilizing actinomycetes from rhizosphere soil. *Asian Journal of Applied Sciences*, 49, 125-137. doi:10.21608/ajas.2018.28381
- Feng, B., Li, P., Wang, H., y Zhang, X. (2010). Functional analysis of Pcpme6 from oomycete plant pathogen *Phytophthora capsici*. *Microbial pathogenesis*, 49(1-2), 23-31. doi:org/10.1016/j.micpath.2010.03.004
- Filonow, A., y Lockwood, J. (1985). Evaluation of several actinomycetes and the fungus *Hyphochytrium catenoides* as biocontrol agents for *Phytophthora* root rot of soybean. *Plant disease*, 69(12), 1033-1036.
- Franco-Correa, M., Quintana, A., Duque, C., Suarez, C., Rodríguez, M. X., y Barea, J.-M. (2010). Evaluation of actinomycete strains for key traits related with plant growth promotion and mycorrhiza helping activities. *Applied Soil Ecology*, 45(3), 209-217. doi:org/10.1016/j.apsoil.2010.04.007
- Franco, C., Michelsen, P., Percy, N., Conn, V., Listiana, E., Moll, S., et al. (2007). Actinobacterial endophytes for improved crop performance. *Australasian Plant Pathology*, 36(6), 524-531. doi:10.1071/AP07067
- Franco Correa, M. (2008). Evaluación de caracteres PGPR en actinomicetos e interacciones de estas rizobacterias con hongos formadores de micorrizas.
- Frans, M., Aerts, R., Van Laethem, S., y Ceusters, J. (2017). Environmental effects on growth and sporulation of *Fusarium* spp. causing internal fruit rot in bell pepper. *European Journal of Plant Pathology*, 149(4), 875-883. doi:10.1007/s10658-017-1235-4
- French, M., Jones, J., Ozores, H., y Roberts, P. (2007). Survival of inoculum of *Phytophthora capsici* in soil trough time under different soil treatment. *Plant disease*, 91, 593-598.
- Gaby, J. C., y Buckley, D. H. (2012). A comprehensive evaluation of PCR primers to amplify the nifH gene of nitrogenase. *PLoS one*, 7(7), e42149. doi:10.1371/journal.pone.0042149
- Gangwar, M., Rani, S., y Sharma, N. (2012a). Diversity of endophytic Actinomycetes from wheat and its potential as plant growth promoting and biocontrol agents. *Journal of Advanced Laboratory Research in Biology*, 3(1), 13-19.
- Gangwar, M., Rani, S., y Sharma, N. (2012b). Investigating endophytic actinomycetes diversity from rice for plant growth promoting and antifungal activity. *International Journal of Advanced Life Sciences*, 1.

- García-Rojas, D. E., Vázquez-Vázquez, P., Pérez-Corral, D. A., Ruiz-Cisneros, M. F., Berlanga-Reyes, D. I., de Jesús Ornelas-Paz, J., *et al.* (2019). *Streptomyces* as *in vitro* biocontrol agents of *Exserohilum rostratum* and producers of plant growth promoting substances. *Mexican Journal of Phytopathology*, 37(1). doi:10.18781/R.MEX.FIT.1904-2
- George, S. P., Ahmad, A., y Rao, M. B. (2001). Studies on carboxymethyl cellulase produced by an alkalothermophilic actinomycete. *Bioresource Technology*, 77(2), 171-175. doi:org/10.1016/S0960-8524(00)00150-4
- Glick, B. R. (2012). Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications. *Scientifica*, 2012, 963401. doi:10.6064/2012/963401
- Glick, B. R., Cheng, Z., Czarny, J., y Duan, J. (2007). Promotion of plant growth by ACC deaminase-producing soil bacteria. *New perspectives and approaches in plant growth-promoting Rhizobacteria research*, 329-339. doi:org/10.1007/978-1-4020-6776-1_8
- Goodfellow, M., Kämpfer, P., Busse, H.-J., Trujillo, M., Suzuki, K.-i., Ludwig, W., *et al.* (2012). Phylum XXVI. Actinobacteria phyl. nov *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (pp. 33-2028): Springer New York.
- Goodfellow, M., y Williams, S. T. (1983). Ecology of actinomycetes. *Annual Review of Microbiology*, 37(1), 189-216. doi:10.1146/annurev.mi.37.100183.001201
- Gopalakrishnan, S., Humayun, P., Kiran, B. K., Kannan, I. G. K., Vidya, M. S., Deepthi, K., *et al.* (2011). Evaluation of bacteria isolated from rice rhizosphere for biological control of charcoal rot of sorghum caused by *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(6), 1313-1321. doi:10.1007/s11274-010-0579-0
- Gopalakrishnan, S., Srinivas, V., Naresh, N., Alekhya, G., y Sharma, R. (2019). Exploiting plant growth-promoting *Amycolatopsis* sp. for bio-control of charcoal rot of sorghum (*Sorghum bicolor* L.) caused by *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 52(7-8), 543-559. doi:10.1080/03235408.2018.1553472
- Gopalakrishnan, S., Vadlamudi, S., Bandikinda, P., Sathya, A., Vijayabharathi, R., Rupela, O., *et al.* (2014). Evaluation of *Streptomyces* strains isolated from herbal vermicompost for their plant growth-promotion traits in rice. *Microbiological Research*, 169(1), 40-48. doi:org/10.1016/j.micres.2013.09.008
- Gou, J.-Y., Suo, S.-Z., Shao, K.-Z., Zhao, Q., Yao, D., Li, H.-P., *et al.* (2020). Biofertilizers with beneficial rhizobacteria improved plant growth and yield in chili (*Capsicum annuum* L.). *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 36, 1-12. doi:org/10.1007/s11274-020-02863-w
- Goudjal, Y., Toumatia, O., Yekkour, A., Sabaou, N., Mathieu, F., y Zitouni, A. (2014). Biocontrol of *Rhizoctonia solani* damping-off and promotion of tomato plant growth by endophytic actinomycetes isolated from native plants of Algerian Sahara. *Microbiological Research*, 169(1), 59-65. doi:org/10.1016/j.micres.2013.06.014
- Gouvêa, C. M. C. P., Souza, J. F., Magalhães, A. C. N., y Martins, I. S. (1997). Releasing substances that induce growth elongation in maize root segments. *Plant Growth Regulation*, 21(3), 183-187. doi:10.1023/A:1005837012203
- Guo, H., Qin, X., Wu, Y., Yu, W., Liu, J., Xi, Y., *et al.* (2019). Biocontrol of gray mold of cherry

- tomatoes with the volatile organic monomer from *Hanseniaspora uvarum*, trans-cinnamaldehyde. *Food and Bioprocess Technology*, 12(11), 1809-1820. doi:10.1007/s11947-019-02319-6
- Gupta, G., Parihar, S. S., Ahirwar, N. K., Snehi, S. K., y Singh, V. (2015). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): current and future prospects for development of sustainable agriculture. *Journal of Microbial and Biochemical Technology*, 7(2), 096-102. doi:10.4172/1948-5948.1000188
- Gupta, R., Saxena, R. K., Chaturvedi, P., y Viridi, J. S. (1995). Chitinase production by *Streptomyces viridificans*: its potential in fungal cell wall lysis. *Journal of Applied Bacteriology*, 78(4), 378-383. doi:org/10.1111/j.1365-2672.1995.tb03421.x
- Gutiérrez-Luna, F. M., López-Bucio, J., Altamirano-Hernández, J., Valencia-Cantero, E., de la Cruz, H. R., y Macías-Rodríguez, L. (2010). Plant growth-promoting rhizobacteria modulate root-system architecture in *Arabidopsis thaliana* through volatile organic compound emission. *Symbiosis*, 51(1), 75-83. doi:10.1007/s13199-010-0066-2
- Hardham, A. R., y Shan, W. (2009). Cellular and molecular biology of *Phytophthora*–plant interactions *Plant Relationships* (pp. 3-27): Springer.
- Harman, G. E. (2011). Multifunctional fungal plant symbionts: new tools to enhance plant growth and productivity. *New Phytologist*, 189(3), 647-649. doi:10.1111/j.1469-8137.2010.03614.x
- Hausbeck, M. K., y Lamour, K. H. (2004). *Phytophthora capsici* on vegetable crops: Research progress and management challenges. *Plant disease*, 88(12), 1292-1303. doi:10.1094/PDIS.2004.88.12.1292
- He, H., Hao, X., Zhou, W., Shi, N., Feng, J., y Han, L. (2020). Identification of antimicrobial metabolites produced by a potential biocontrol Actinomycete strain A217. *Journal of Applied Microbiology*, 128(4), 1143-1152. doi:org/10.1111/jam.14548
- Heng, J., Shah, U., Rahman, N., Shaari, K., y Hamzah, H. (2015). *Streptomyces ambofaciens* S2—a potential biological control agent for *Colletotrichum gleosporioides* the causal agent for anthracnose in red chilli fruits. *Journal of Plant Pathology & Microbiology*, 1(006). doi:org/10.4172/2157-7471.S1-006
- Holighaus, G., Weibecker, B., von Fragstein, M., y Schütz, S. (2014). Ubiquitous eight-carbon volatiles of fungi are infochemicals for a specialist fungivore. *Chemoecology*, 24(2), 57-66. doi:10.1007/s00049-014-0151-8
- Hong, L., Zhao, Z., y Liu, H.-w. (2006). Characterization of SpnQ from the Spinosyn Biosynthetic Pathway of *Saccharopolyspora spinosa*: Mechanistic and Evolutionary Implications for C-3 Deoxygenation in Deoxysugar Biosynthesis. *Journal of the American Chemical Society*, 128(44), 14262-14263. doi:10.1021/ja0649670
- Jiang, C.-H., Xie, Y.-S., Zhu, K., Wang, N., Li, Z.-J., Yu, G.-J., et al. (2019). Volatile organic compounds emitted by *Bacillus* sp. JC03 promote plant growth through the action of auxin and strigolactone. *Plant Growth Regulation*, 87(2), 317-328. doi:10.1007/s10725-018-00473-z
- Jog, R., Nareshkumar, G., y Rajkumar, S. (2012). Plant growth promoting potential and soil enzyme production of the most abundant *Streptomyces* spp. from wheat rhizosphere. *Journal*

- of Applied Microbiology*, 113(5), 1154-1164. doi:org/10.1111/j.1365-2672.2012.05417.x
- Jog, R., Pandya, M., Nareshkumar, G., y Rajkumar, S. (2014). Mechanism of phosphate solubilization and antifungal activity of *Streptomyces* spp. isolated from wheat roots and rhizosphere and their application in improving plant growth. *Microbiology*, 160(4), 778-788. doi:org/10.1099/mic.0.074146-0
- Kaewkla, O., y Franco, C. M. M. (2021). *Amycolatopsis pittospori* sp. nov., an endophytic actinobacterium isolated from native apricot tree and genome mining revealed the biosynthesis potential as antibiotic producer and plant growth promoter. *Antonie van Leeuwenhoek*, 114(4), 365-377. doi:10.1007/s10482-021-01519-5
- Karimi, E., Sadeghi, A., Abbaszadeh Dahaji, P., Dalvand, Y., Omidvari, M., y Kakuei Nezhad, M. (2012). Biocontrol activity of salt tolerant *Streptomyces* isolates against phytopathogens causing root rot of sugar beet. *Biocontrol Science Technology* 22(3), 333-349. doi:org/10.1080/09583157.2012.658552
- Kekuda, T. P., Shobha, K., y Onkarappa, R. (2010). Fascinating diversity and potent biological activities of Actinomycete metabolites. *Journal of Pharmacy Research*, 3(2), 250-256.
- Kennedy, A. (1999). Bacterial diversity in agroecosystems *Invertebrate biodiversity as bioindicators of sustainable landscapes* (pp. 65-76): Elsevier.
- Khan, N. I., Filonow, A. B., Singleton, L. L., y Payton, M. E. (1993). Parasitism of oospores of *Pythium* spp. by strains of *Actinoplanes* spp. *Canadian Journal of Microbiology*, 39(10), 964-972. doi:10.1139/m93-145
- Kim, J. D., Han, J. W., Lee, S. C., Lee, D., Hwang, I. C., y Kim, B. S. (2011). Disease control effect of streptenes produced by *Streptomyces psammoticus* against Tomato *Fusarium* wilt. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(5), 1893-1899. doi:10.1021/jf1038585
- Kraft, K. H., Brown, C. H., Nabhan, G. P., Luedeling, E., Ruiz, J. d. J. L., d'Eeckenbrugge, G. C., et al. (2014). Multiple lines of evidence for the origin of domesticated chili pepper, *Capsicum annum*, in Mexico. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(17), 6165-6170. doi:org/10.1073/pnas.1308933111
- Kumar, D. V. B., Singh, K. H. K., y Lal, A. A. (2017). *In vitro* effect of bio- control agents and selected botanical against root rot (*Rhizoctonia Solani* Kuhn) of chilli (*Capsicum Annuum* L.). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6, 1374-1378. doi:10.20546/ijemas.2017.603.159
- Laborde, J., y Pozo, O. (1984). *Presente y pasado del chile en México*. México.: Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas.
- Lacey, J., y Goodfellow, M. (1975). A Novel Actinomycete from Sugar-cane Bagasse: *Saccharopolyspora hirsuta* gen. et sp. nov. *Microbiology*, 88(1), 75-85. doi:org/10.1099/00221287-88-1-75
- Lahmyed, H., Bouharroud, R., Quessaoui, R., Ajerrar, A., Amarraque, A., Aboulhassan, M. A., et al. (2021). Actinomycetes biocontrol agents against *Botrytis cinerea*, agent of tomato gray mold disease. *Kuwait Journal of Science*, 48(3). doi:org/10.48129/kjs.v48i3.9200
- Lamour, K., y Hausbeck, M. (2001). Investigating the spatiotemporal genetic structure of *Phytophthora capsici* in Michigan. *Phytopathology*, 91(10), 973-980.

doi:org/10.1094/PHYTO.2001.91.10.973

- Lee, J., Postmaster, A., Soon, H. P., Keast, D., y Carson, K. C. (2012). Siderophore production by actinomycetes isolates from two soil sites in Western Australia. *BioMetals*, 25(2), 285-296. doi:10.1007/s10534-011-9503-9
- Lee, S., Behringer, G., Hung, R., y Bennett, J. (2019). Effects of fungal volatile organic compounds on *Arabidopsis thaliana* growth and gene expression. *Fungal Ecology*, 37, 1-9. doi:org/10.1016/j.funeco.2018.08.004
- Leonian, L. H. (1922). Stem and fruit blight of Peppers caused by *Phytophthora capsici* sp. nov. *Phytopathology*, 12(9), 401-408 pp.
- Lester, G. (1965). Inhibition of growth, gynthesis, and permeability in *Neurospora crassa* by phenethyl alcohol. *Journal of Bacteriology*, 90(1), 29-37. doi:10.1128/jb.90.1.29-37.1965
- Leveau, J. H. J., y Lindow, S. E. (2005). Utilization of the Plant Hormone Indole-3-Acetic Acid for Growth by *Pseudomonas putida* Strain 1290. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(5), 2365-2371. doi:10.1128/AEM.71.5.2365-2371.2005
- Loliam, B., Morinaga, T., y Chaiyanan, S. (2012). Biocontrol of *Phytophthora infestans*, fungal pathogen of seedling damping off disease in economic plant nursery. *Psyche*, 2012. doi:org/10.1155/2012/324317
- Long-Solís, J. (1986). *Capsicum y cultura: La historia del chilli*.
- López-Bucio, J., Campos-Cuevas, J. C., Hernández-Calderón, E., Velásquez-Becerra, C., Farías-Rodríguez, R., Macías-Rodríguez, L. I., et al. (2007). *Bacillus megaterium* rhizobacteria promote growth and alter root system architecture through an auxin and ethylene independent signaling mechanism in *Arabidopsis thaliana*. *Molecular plant-microbe interactions*, 20(2), 207-217. doi:10.1094/MPMI-20-2-0207
- López, C. G., y González, P. A. G. (2001). Estudio regional de las enfermedades del chile (*Capsicum annuum*, L.) y su comportamiento temporal en el sur de Chihuahua, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 19(1), 49-56.
- Lugtenberg, B., y Kamilova, F. (2009). Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria. *Annual Review of Microbiology*, 63(1), 541-556. doi:10.1146/annurev.micro.62.081307.162918
- Macagnan, D., Romeiro, R. d. S., de Souza, J. T., y Pomella, A. W. V. (2006). Isolation of actinomycetes and endospore-forming bacteria from the cacao pod surface and their antagonistic activity against the witches' broom and black pod pathogens. *Phytoparasitica*, 34(2), 122-132. doi:10.1007/BF02981312
- Majid, M. U., Awan, M. F., Fatima, K., Tahir, M. S., Ali, Q., Rashid, B., et al. (2017). Genetic resources of chili pepper (*Capsicum annuum* L.) against *Phytophthora capsici* and their induction through various biotic and abiotic factors. *Cytology and Genetics*, 51(4), 296-304. doi:10.3103/S009545271704003X
- Männistö, M. K., Salkinoja-Salonen, M. S., y Puhakka, J. A. (2001). *In situ* polychlorophenol bioremediation potential of the indigenous bacterial community of boreal groundwater. *Water Research*, 35(10), 2496-2504. doi:org/10.1016/S0043-1354(00)00527-3
- Mao, L., Yan, D., Wang, Q., Li, Y., Ouyang, C., Liu, P., et al. (2014). Evaluation of the combination of dimethyl disulfide and dazomet as an efficient methyl bromide alternative

- for cucumber production in China. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(21), 4864-4869. doi:10.1021/jf501255w
- Martin, J. R., y Rosenbrook, W. (1967). Studies on the biosynthesis of the erythromycins. II. Isolation and structure of a biosynthetic intermediate, 6-deoxyerythronolide B. *Biochemistry*, 6(2), 435-440.
- Mayfield, C. I., Williams, S. T., Ruddick, S. M., y Hatfield, H. L. (1972). Studies on the ecology of actinomycetes in soil IV. Observations on the form and growth of streptomycetes in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 4(1), 79-91. doi:10.1016/0038-0717(72)90045-4
- McCarthy, A. J., y Williams, S. T. (1990). 17 Methods for Studying the Ecology of Actinomycetes. In R. Grigorova & J. R. Norris (Eds.), *Methods in Microbiology* (Vol. 22, pp. 533-563): Academic Press.
- Meena, K. K., Bitla, U. M., Sorty, A. M., Singh, D. P., Gupta, V. K., Wakchaure, G. C., *et al.* (2020). Mitigation of salinity stress in wheat seedlings due to the application of phytohormone-rich culture filtrate extract of methylotrophic actinobacterium *Nocardioides* sp. NIMMe6. *Frontiers in Microbiology*, 11, 2091-2091. doi:10.3389/fmicb.2020.02091
- Mehnaz, S. (2013). Secondary metabolites of *Pseudomonas aurantiaca* and their role in plant growth promotion *Plant Microbe Symbiosis: Fundamentals and Advances* (pp. 373-393): Springer.
- Meldau, D. G., Meldau, S., Hoang, L. H., Underberg, S., Wünsche, H., y Baldwin, I. T. (2013). Dimethyl disulfide produced by the naturally associated bacterium *Bacillus* sp B55 promotes *Nicotiana attenuata* growth by enhancing sulfur nutrition. *The Plant Cell*, 25(7), 2731-2747. doi:10.1105/tpc.113.114744
- Mo, E. K., y Sung, C. K. (2007). Phenylethyl alcohol (PEA) application slows fungal growth and maintains aroma in strawberry. *Postharvest Biology and Technology*, 45(2), 234-239. doi:org/10.1016/j.postharvbio.2007.02.005
- Mokrani, S. (2020). Siderophore extracts from some *Pseudomonas* strains and their antifungal activity against phytopathogenic fungi of *Phaseolus vulgaris* L. *Discovery Agriculture*, 6(15), 74-87. doi:org/10.1007/s42161-018-00234-x
- Moncheva, P., Tishkov, S., Dimitrova, N., Chipeva, V., Antonova-Nikolova, S., y Bogatzevska, N. (2002). Characteristics of soil actinomycetes from Antarctica.
- Monteiro, P., Borba, M. P., y Van Der Sand, S. T. (2017). Evaluation of the antifungal activity of *Streptomyces* sp. on *Bipolaris sorokiniana* and the growth promotion of wheat plants. *The Journal of Agricultural Science*, 9(12), 229.
- Moscol, J. C., Castro, J. C., Tuesta, C. M., y Quispe, J. L. (2020). *In vitro* assessment of plant growth promoting potential of rhizosphere actinomycetes from *Solanum tuberosum* sp. andigena. *Scientia Agropecuaria*, 11(3), 391-398.
- Muñoz-Villalobos, J. A., Velásquez-Valle, M. A., Macías-Rodríguez, H., y Sánchez-Cohen, I. (2013). Producción de chile (*Capsicum annuum* L.) a campo abierto con biofumigación del suelo. *INIFAP*, 30.
- Nafis, A., Raklami, A., Bechtaoui, N., El Khalloufi, F., El Alaoui, A., Glick, B. R., *et al.* (2019). Actinobacteria from extreme niches in morocco and their plant growth-promoting potentials.

Diversity, 11(8). doi:10.3390/d11080139

- Nagpure, A., y Gupta, R. K. (2013). Purification and characterization of an extracellular chitinase from antagonistic *Streptomyces violaceusniger*. *Journal of Basic Microbiology*, 53(5), 429-439. doi:org/10.1002/jobm.201100648
- Narayana, K. J., Peddikotla, P., Krishna, P. S. J., Yenamandra, V., y Muvva, V. (2009). Indole-3-acetic acid production by *Streptomyces albidoflavus*. *Journal of Biological Research*, 11, 49-55.
- Narayana, K. J. P., y Vijayalakshmi, M. (2009). Chitinase Production by *Streptomyces* sp. ANU 6277. *brazilian journal of microbiology*, 40, 725-733.
- Naresh, P., Ratan, V., Kumar, V., y Kumar, U. (2017). Effect of soil solarisation for the control soil born pathogen *S. rolfsii* causing stem rot of chilli (*Capsicum annum* L.). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6, 4913-4917. doi:10.20546/ijcmas.2017.610.462
- Nawaz, K., Shahid, A. A., Subhani, M. N., Anwar, W., y Aslam, M. (2015). First report of *Pythium spinosum* causing root rot of chili (*Capsicum annum*) in Pakistan. *Plant Disease*, 100(2), 526-526. doi:10.1094/PDIS-07-15-0745-PDN
- Naznin, H. A., Kiyohara, D., Kimura, M., Miyazawa, M., Shimizu, M., y Hyakumachi, M. (2014). Systemic resistance induced by volatile organic compounds emitted by plant growth-promoting fungi in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS one*, 9(1), e86882. doi:10.1371/journal.pone.0086882
- Nespoulous, C., Gaudemer, O., Huet, J.-C., y Pernollet, J.-C. (1999). Characterization of elicitin-like phospholipases isolated from *Phytophthora capsici* culture filtrate. *FEBS Letters*, 452(3), 400-406. doi:org/10.1016/S0014-5793(99)00654-7
- Nimnoi, P., Pongsilp, N., y Lumyong, S. (2010). Endophytic actinomycetes isolated from *Aquilaria crassna* Pierre ex Lec and screening of plant growth promoters production. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26(2), 193-203. doi:10.1007/s11274-009-0159-3
- Nimnoi, P., y Ruanpanun, P. (2020). Suppression of root-knot nematode and plant growth promotion of chili (*Capsicum flutescens* L.) using co-inoculation of *Streptomyces* spp. *Biological Control*, 145, 104244. doi:org/10.1016/j.biocontrol.2020.104244
- Ningthoujam, D., Devi, L., Devi, P., Kshetri, P., Tamreihao, K., Mukherjee, S., et al. (2016). Optimization of keratinase production by *Amycolatopsis* sp. *Journal of Bioprocessing & Biotechniques*, 40, 2. doi:org/10.4172/2155-9821.1000282
- O'Donnell, A. G., Goodfellow, M., y Minnikin, D. E. (1982). Lipids in the classification of *Nocardioides*: reclassification of *Arthrobacter simplex* (Jensen) lochhead in the genus *Nocardioides* (Prauser) emend. O'Donnell et al. as *Nocardioides simplex* comb. nov. *Archives of Microbiology*, 133(4), 323-329. doi:10.1007/BF00521299
- Ortíz-Castro, R., Contreras-Cornejo, H. A., Macías-Rodríguez, L., y López-Bucio, J. (2009). The role of microbial signals in plant growth and development. *Plant Signaling & Behavior*, 4(8), 701-712. doi:10.4161/psb.4.8.9047
- Papazlatani, C., Rousidou, C., Katsoula, A., Kolyvas, M., Genitsaris, S., Papadopoulou, K. K., et al. (2016). Assessment of the impact of the fumigant dimethyl disulfide on the dynamics of

major fungal plant pathogens in greenhouse soils. *European Journal of Plant Pathology*, 146(2), 391-400. doi:10.1007/s10658-016-0926-6

- Passari, A. K., Chandra, P., Mishra, V. K., Leo, V. V., Gupta, V. K., Kumar, B., *et al.* (2016). Detection of biosynthetic gene and phytohormone production by endophytic actinobacteria associated with *Solanum lycopersicum* and their plant-growth-promoting effect. *Research in Microbiology*, 167(8), 692-705. doi:org/10.5423/PPJ.OA.03.2012.0040
- Passari, A. K., Mishra, V. K., Gupta, V. K., Yadav, M. K., Saikia, R., y Singh, B. P. (2015a). In vitro and in vivo plant growth promoting activities and DNA fingerprinting of antagonistic endophytic actinomycetes associates with medicinal plants. *Plos one*, 10(9). doi:10.1371/journal.pone.0139468
- Passari, A. K., Mishra, V. K., Saikia, R., Gupta, V. K., y Singh, B. P. (2015b). Isolation, abundance and phylogenetic affiliation of endophytic actinomycetes associated with medicinal plants and screening for their in vitro antimicrobial biosynthetic potential. *Frontiers in Microbiology*, 6(273). doi:10.3389/fmicb.2015.00273
- Pattanapitpaisal, P., y Kamlandharn, R. (2012). Screening of chitinolytic actinomycetes for biological control of *Sclerotium rolfsii* stem rot disease of chilli. *Songklanakarin Journal of Science & Technology*, 34(4).
- Pérez-Castañeda, L. M., Castañón-Nájera, G., y Mayek-Pérez, N. (2008). *Diversidad morfológica de chiles (Capsicum spp.) de Tabasco, México* (Vol. 27).
- Peréz-Castañeda, L. M., Castañón-Nájera, G., Ramírez-Meraz, M., y Mayek-Pérez, N. (2015). Avances y perspectivas sobre el estudio del origen y la diversidad genética de *Capsicum* spp. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, 2(4), 117-128.
- Pérez-Corral, D. A., García-González, N. Y., Gallegos-Morales, G., Ruiz-Cisneros, M. F., Berlanga-Reyes, D. I., y Ríos-Velasco, C. (2015). Aislamiento de actinomicetos asociados a rizosfera de árboles de manzano antagónicos a *Fusarium equiseti*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 6(7), 1629-1638.
- 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., *et al.* (2020). Antagonistic effect of volatile and non-volatile compounds from *Streptomyces* strains on cultures of several phytopathogenic fungi. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 879-889. doi:org/10.9755/ejfa.2020.v32.i12.2222
- Pérez-Flores, P., Valencia-Cantero, E., Altamirano-Hernández, J., Pelagio-Flores, R., López-Bucio, J., García-Juárez, P., *et al.* (2017). *Bacillus methylophilicus* M4-96 isolated from maize (*Zea mays*) rhizoplane increases growth and auxin content in *Arabidopsis thaliana* via emission of volatiles. *Protoplasma*, 254(6), 2201-2213. doi:10.1007/s00709-017-1109-9
- Pérez-Montaña, F., Alías-Villegas, C., Bellogín, R. A., del Cerro, P., Espuny, M. R., Jiménez-Guerrero, I., *et al.* (2014). Plant growth promotion in cereal and leguminous agricultural important plants: From microorganism capacities to crop production. *Microbiological Research*, 169(5), 325-336. doi:org/10.1016/j.micres.2013.09.011
- Philippot, L., y Germon, J. C. (2005). Contribution of bacteria to initial input and cycling of nitrogen in soils *Microorganisms in soils: roles in genesis and functions* (pp. 159-176): Springer.

- Pieterse, C. M. J., de Jonge, R., y Berendsen, R. L. (2016). The Soil Borne Supremacy. *Trends in plant science*, 21(3), 171-173. doi:org/10.1016/j.tplants.2016.01.018
- Pilkington, L. J., Messelink, G., van Lenteren, J. C., y Le Mottee, K. (2010). “Protected Biological Control”–Biological pest management in the greenhouse industry. *Biological Control*, 52(3), 216-220.
- Polat, E., Sule Sabanci, H., Ozgur Ates, A., Erkan, M., Erler, F., y Dogan, A. (2018). Microbial based production system: A novel approach for plant growth and pest and disease management in greenhouse-grown peppers (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Agricultural Science and Technology*, 18., 371-386.
- Pons-Hernández, J. L., Guerrero-Aguilar, B. Z., González-Chavira, M. M., González-Pérez, E., Villalobos-Reyes, S., y Muñoz-Sánchez, C. I. (2020). Variabilidad fenotípica de aislados de *Phytophthora capsici* en Guanajuato. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 11(8), 1891-1901. doi:org/10.29312/remexca.v11i8.2618
- Prauser, H. (1976). *Nocardioides*, a New Genus of the Order Actinomycetales. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 26(1), 58-65. doi:org/10.1099/00207713-26-1-58
- Prauser, H. (1989). Genus *Nocardioides* Prauser 1976. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 4, 2371-2375.
- Rahmoune, B., Morsli, A., Khelifi-Slaoui, M., Khelifi, L., Strueh, A., Erban, A., et al. (2017). Isolation and characterization of three new PGPR and their effects on the growth of *Arabidopsis* and *Datura* plants. *Journal of Plant Interactions*, 12(1), 1-6. doi:10.1080/17429145.2016.1269215
- Ramírez-Hernández, I. R., Garza-Silva, M. A., Ramírez-Osuna, S., Mendoza-García, I. M., Galán-Wong, L., Alemán-Huerta, M. E., et al. (2019). Análisis de enzimas hidrolíticas en actinomicetos aislados de México y Canadá. *Revista de Ciencias Farmacéuticas y Biomedicina*, 46.
- Ristaino, J. B., y Johnston, S. A. (1999). Ecologically based approaches to management of *Phytophthora blight* on bell pepper. *Plant disease*, 83(12), 1080-1089.
- Rodríguez Gámez, O., Aguilera Rodríguez, I., y Pérez Silva, R. M. (2013). Adecuación de un micrométodo colorimétrico para la cuantificación de fósforo soluble en cultivos microbianos. *Revista Cubana de Química*, 25(1), 3-8.
- Rojas-Solís, D., Zetter-Salmón, E., Contreras-Pérez, M., Rocha-Granados, M. d. C., Macías-Rodríguez, L., y Santoyo, G. (2018). *Pseudomonas stutzeri* E25 and *Stenotrophomonas maltophilia* CR71 endophytes produce antifungal volatile organic compounds and exhibit additive plant growth-promoting effects. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 13, 46-52. doi:org/10.1016/j.bcab.2017.11.007
- Rouissi, W., Ugolini, L., Martini, C., Lazzeri, L., y Mari, M. (2013). Control of postharvest fungal pathogens by antifungal compounds from *Penicillium expansum*. *Journal of Food Protection*, 76(11), 1879-1886. doi:10.4315/0362-028X.JFP-13-072
- Ryu, C.-M., Farag, M. A., Hu, C.-H., Reddy, M. S., Kloepper, J. W., y Paré, P. W. (2004). Bacterial volatiles induce systemic resistance in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 134(3), 1017-1026.

doi:10.1104/pp.103.026583

- Ryu, C.-M., Farag, M. A., Hu, C.-H., Reddy, M. S., Wei, H.-X., Paré, P. W., *et al.* (2003). Bacterial volatiles promote growth in *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *100*(8), 4927-4932.
- Sadeghi, A., Koobaz, P., Azimi, H., Karimi, E., y Akbari, A. R. (2017). Plant growth promotion and suppression of *Phytophthora drechsleri* damping-off in cucumber by cellulase-producing *Streptomyces*. *BioControl*, *62*(6), 805-819.
- Saengnak, V., Chaisiri, C., y Nalumpang, S. (2013). Antagonistic *Streptomyces* species can protect chili plants against wilt disease caused by *Fusarium*. *Journal of Agricultural Technology*, *9*, 1895-1908.
- Saito, A., Ooya, T., Miyatsuchi, D., Fuchigami, H., Terakado, K., Nakayama, S.-y., *et al.* (2009). Molecular characterization and antifungal activity of a family 46 chitosanase from *Amycolatopsis* sp. CsO-2. *FEMS Microbiology Letters*, *293*(1), 79-84. doi:10.1111/j.1574-6968.2009.01507.x
- Samira, M., Mohammad, R., Gholamreza, G., Aboul-Enein, A., Abou-Elalla, F., Serour, E., *et al.* (2009). Production of endoglucanase by the native strains of *Streptomyces* isolates in submerged fermentation. *Microbiology Journal*, *1*(1), 80-84.
- Satyaprakash, M., Nikitha, T., Reddi, E., Sadhana, B., y Vani, S. S. (2017). Phosphorous and phosphate solubilising bacteria and their role in plant nutrition. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, *6*(4), 2133-2144.
- Schwyn, B., y Neilands, J. B. (1987). Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Analytical Biochemistry*, *160*(1), 47-56. doi:org/10.1016/0003-2697(87)90612-9
- Sen, R., Ishak, H. D., Estrada, D., Dowd, S. E., Hong, E., y Mueller, U. G. (2009). Generalized antifungal activity and 454-screening of Pseudonocardia and Amycolatopsis bacteria in nests of fungus-growing ants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *106*(42), 17805. doi:10.1073/pnas.0904827106
- Sharma, S. B., Sayyed, R. Z., Trivedi, M. H., y Gobi, T. A. (2013). Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *SpringerPlus*, *2*(1), 587. doi:10.1186/2193-1801-2-587
- Shilev, S. (2013). Soil Rhizobacteria Regulating the Uptake of Nutrients and Undesirable Elements by Plants. In N. K. Arora (Ed.), *Plant Microbe Symbiosis: Fundamentals and Advances* (pp. 147-167). New Delhi: Springer India.
- Shutsrirung, A., Chromkaew, Y., Pathom-Aree, W., Choonluchanon, S., y Boonkerd, N. (2013). Diversity of endophytic actinomycetes in mandarin grown in northern Thailand, their phytohormone production potential and plant growth promoting activity. *Soil Science and Plant Nutrition*, *59*(3), 322-330. doi:10.1080/00380768.2013.776935
- SIAP-SAGARPA. (2021). Avance de Siembras y Cosechas. Retrieved from https://nube.siap.gob.mx/avance_agricola/
- Singh, S. P., y Gaur, R. (2016). Evaluation of antagonistic and plant growth promoting activities of chitinolytic endophytic actinomycetes associated with medicinal plants against *Sclerotium*

rolfsii in chickpea. *Journal of Applied Microbiology*, 121(2), 506-518. doi:org/10.1111/jam.13176

- Sivasakthi, S., Usharani, G., y Saranraj, P. (2014). Biocontrol potentiality of plant growth promoting bacteria (PGPR)-*Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*: A review. *African Journal of Agricultural Research*, 9(16), 1265-1277. doi:org/10.5897/AJAR2013.7914
- Smith, G. E. (1957). Inhibition of *Fusarium oxysporum* f. lycopersici by a species of *Micromonospora* isolated from tomato. *Phytopathology*, 47, 429-432.
- Soltani, A.-A., Khavazi, K., Asadi-Rahmani, H., Omidvari, M., Dahaji, P. A., y Mirhoseyni, H. (2010). Plant growth promoting characteristics in some *Flavobacterium* spp. isolated from soils of Iran. *Journal of Agricultural Science*, 2(4), 106.
- Sreevidya, M., Gopalakrishnan, S., Kudapa, H., y Varshney, R. (2016). Exploring plant growth-promotion actinomycetes from vermicompost and rhizosphere soil for yield enhancement in chickpea. *Brazilian Journal of Microbiology*, 47(1), 85-95. doi:org/10.1016/j.bjm.2015.11.030
- Steven, B., Pollard, W. H., Greer, C. W., y Whyte, L. G. (2008). Microbial diversity and activity through a permafrost/ground ice core profile from the Canadian high Arctic. *Environ Microbiol*, 10(12), 3388-3403. doi:10.1111/j.1462-2920.2008.01746.x
- Stoykov, Y. M., Pavlov, A. I., y Krastanov, A. I. (2015). Chitinase biotechnology: production, purification, and application. *Engineering in Life Sciences*, 15(1), 30-38.
- Sutherland, E. D., Baker, K. K., y Lockwood, J. L. (1984). Ultrastructure of *Phytophthora megasperma* f. sp. glycinea oospores parasitized by *Actinoplanes missouriensis* and *Humicola fuscoatra*. *Transactions of the British Mycological Society*, 82(4), 726-729. doi:org/10.1016/S0007-1536(84)80117-5
- Tamreihao, K., Devi, L. J., Khunjamayum, R., Mukherjee, S., Ashem, R. S., y Ningthoujam, D. S. (2017). Biofertilizing potential of feather hydrolysate produced by indigenous keratinolytic *Amycolatopsis* sp. MBRL 40 for rice cultivation under field conditions. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 10, 317-320. doi:org/10.1016/j.bcab.2017.04.010
- Tang, L., Mo, J., Guo, T., Huang, S., Li, Q., Ning, P., et al. (2019). *In vitro* antifungal activity of dimethyl trisulfide against *Colletotrichum gloeosporioides* from mango. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 36(1), 4. doi:10.1007/s11274-019-2781-z
- Than, P. P., Jeewon, R., Hyde, K. D., Pongsupasamit, S., Mongkolporn, O., y Taylor, P. W. J. (2008). Characterization and pathogenicity of *Colletotrichum* species associated with anthracnose on chilli (*Capsicum* spp.) in Thailand. *Plant Pathology*, 57(3), 562-572. doi:10.1111/j.1365-3059.2007.01782.x
- Thilagar, G., Bagyaraj, D. J., Podile, A. R., y Vaikuntapu, P. R. (2018). *Bacillus sonorensis*, a novel plant growth promoting rhizobacterium in improving growth, nutrition and yield of chilly (*Capsicum annuum* L.). *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 88(2), 813-818. doi:10.1007/s40011-016-0822-z
- Toumatia, O., Yekkour, A., Goudjal, Y., Riba, A., Coppel, Y., Mathieu, F., et al. (2015). Antifungal properties of an actinomycin D-producing strain, *Streptomyces* sp. IA1, isolated from a

- Saharan soil. *Journal of Basic Microbiology*, 55(2), 221-228. doi:org/10.1002/jobm.201400202
- Trujillo, M. E., Riesco, R., Benito, P., y Carro, L. (2015). Endophytic Actinobacteria and the Interaction of *Micromonospora* and Nitrogen Fixing Plants. *Frontiers in Microbiology*, 6. doi:10.3389/fmicb.2015.01341
- Tyagi, S., Kim, K., Cho, M., y Lee, K. J. (2019). Volatile dimethyl disulfide affects root system architecture of *Arabidopsis* via modulation of canonical auxin signaling pathways. *Environmental Sustainability*, 2(2), 211-216. doi:10.1007/s42398-019-00060-6
- Tyagi, S., Mulla, S. I., Lee, K.-J., Chae, J.-C., y Shukla, P. (2018). VOCs-mediated hormonal signaling and crosstalk with plant growth promoting microbes. *Critical Reviews in Biotechnology*, 38(8), 1277-1296. doi:10.1080/07388551.2018.1472551
- Upadhyay, R. S., y Rai, B. (1987). Studies on antagonism between *Fusarium udum* Butler and root region microflora of pigeon pea. *Plant and Soil*, 101(1), 79-93. doi:10.1007/BF02371034
- Valadez-Gutiérrez, J., y Cervantes-Martínez, J. E. (2017). Resistencia a *Phytophthora capsici* leo. en líneas de chile huacle (*Capsicum annuum* l.). *Revista Fitotecnia Mexicana*, 40(3), 359-363.
- Valdés, M., Pérez, N.-O., Estrada-de los Santos, P., Caballero-Mellado, J., Peña-Cabriales Juan, J., Normand, P., et al. (2005). Non-Frankia Actinomycetes Isolated from Surface-Sterilized Roots of *Casuarina equisetifolia* Fix Nitrogen. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(1), 460-466. doi:10.1128/AEM.71.1.460-466.2005
- Valois, D., Fayad, K., Barasubiye, T., Garon, M., Dery, C., Brzezinski, R., et al. (1996). Glucanolytic actinomycetes antagonistic to *Phytophthora fragariae* var. rubi, the causal agent of raspberry root rot. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(5), 1630-1635. doi:10.1128/aem.62.5.1630-1635.1996
- Van Wees, S. C. M., Pieterse, C. M. J., Trijssenaar, A., Van 't Westende, Y. A. M., Hartog, F., y Van Loon, L. C. (1997). Differential induction of systemic resistance in *Arabidopsis* by biocontrol bacteria. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 10(6), 716-724. doi:10.1094/MPMI.1997.10.6.716
- Verma, V. C., Singh, S. K., y Prakash, S. (2011). Bio-control and plant growth promotion potential of siderophore producing endophytic *Streptomyces* from *Azadirachta indica* A. Juss. *Journal of Basic Microbiology*, 51(5), 550-556. doi:10.1002/jobm.201000155
- Viaene, T., Langendries, S., Beirinckx, S., Maes, M., y Goormachtig, S. (2016). *Streptomyces* as a plant's best friend? *FEMS Microbiology Ecology*, 92(8).
- Wahyudi, A. T., Priyanto, J. A., Afrista, R., Kurniati, D., Astuti, R. I., y Akhdiya, A. (2019). Plant growth promoting activity of actinomycetes isolated from soybean rhizosphere. *OnLine Journal of Biological Sciences*, 19, 1-8.
- Waksman, S. A. (1940). On the classification of Actinomycetes. *Journal of Bacteriology*, 39(5), 549-558.
- Waksman, S. A. (1950). *The actinomycetes: their nature, occurrence, activities, and importance*: Chronica Botanica Co.
- Walker, V., Bertrand, C., Bellvert, F., Moënné-Loccoz, Y., Bally, R., y Comte, G. (2011). Host

- plant secondary metabolite profiling shows a complex, strain-dependent response of maize to plant growth-promoting rhizobacteria of the genus *Azospirillum*. *New Phytologist*, 189(2), 494-506. doi:org/10.1111/j.1469-8137.2010.03484.x
- Wan, M., Li, G., Zhang, J., Jiang, D., y Huang, H.-C. (2008). Effect of volatile substances of *Streptomyces platensis* F-1 on control of plant fungal diseases. *Biological Control*, 46(3), 552-559. doi:org/10.1016/j.biocontrol.2008.05.015
- Wang, C., Wang, Z., Qiao, X., Li, Z., Li, F., Chen, M., *et al.* (2013). Antifungal activity of volatile organic compounds from *Streptomyces alboflavus* TD-1. *FEMS Microbiology Letters*, 341(1), 45-51.
- Weber, G. F. (1932). Blight of peppers in Florida caused by *Phytophthora capsici*. *Phytopathology*, 22, 775-780.
- Welch, S. A., Taunton, A. E., y Banfield, J. F. (2002). Effect of Microorganisms and Microbial Metabolites on Apatite Dissolution. *Geomicrobiology Journal*, 19(3), 343-367. doi:10.1080/01490450290098414
- Whitelaw, M. A. (1999). Growth Promotion of Plants Inoculated with Phosphate-Solubilizing Fungi. In D. L. Sparks (Ed.), *Advances in Agronomy* (Vol. 69, pp. 99-151): Academic Press.
- Williams, S. (1982). Principles and problems of selective isolation of microbes. *Bioactive microbial products: search and discovery*, 9-26.
- Wink, M. (2003). Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. *Phytochemistry*, 64(1), 3-19. doi:org/10.1016/S0031-9422(03)00300-5
- Wu, Q., Deering, R. W., Zhang, G., Wang, B., Li, X., Sun, J., *et al.* (2018). Albisporachelin, a new hydroxamate type siderophore from the deep ocean sediment-derived actinomycete *Amycolatopsis albispora* WP1T. *Marine Drugs*, 16(6), 199. doi:org/10.3390/md16060199
- Yang, M., Lu, L., Pang, J., Hu, Y., Guo, Q., Li, Z., *et al.* (2019). Biocontrol activity of volatile organic compounds from *Streptomyces alboflavus* TD-1 against *Aspergillus flavus* growth and aflatoxin production. *Journal of Microbiology*, 57(5), 396-404. doi:10.1007/s12275-019-8517-9
- You, M. P., Sivasithamparam, K., y Kurtböke, D. I. (1996). Actinomycetes in organic mulch used in avocado plantations and their ability to suppress *Phytophthora cinnamomi*. *Biology and Fertility of Soils*, 22(3), 237-242. doi:10.1007/BF00382518
- Zhang, H., Kim, M.-S., Krishnamachari, V., Payton, P., Sun, Y., Grimson, M., *et al.* (2007). Rhizobacterial volatile emissions regulate auxin homeostasis and cell expansion in *Arabidopsis*. *Planta*, 226(4), 839. doi:10.1007/s00425-007-0530-2
- Zhou, D., Huang, X.-F., Chaparro, J. M., Badri, D. V., Manter, D. K., Vivanco, J. M., *et al.* (2016). Root and bacterial secretions regulate the interaction between plants and PGPR leading to distinct plant growth promotion effects. *Plant and Soil*, 401(1-2), 259-272. doi:org/10.1007/s11104-015-2743-7