

Accepted Manuscript / Manuscrito Aceptado

Title Paper/Título del artículo:

Evaluation of *Bacillus* spp. antagonism against phytopathogenic fungi of Persian lime (*Citrus x latifolia* Tan.)

Evaluación del antagonismo de *Bacillus* spp. sobre hongos fitopatógenos de lima persa (*Citrus x latifolia* Tan.)

Authors/Autores: Lira-Hernández, T.J., Gutiérrez-Rivera, B., Cárdenas-Cágal, A., Vázquez-Larios, A.L., Hernández-Rosas, F., Vergara-Monterroza, M.J.

ID: e1806

DOI: <https://doi.org/10.15741/revbio.12.e1806>

Received/Fecha de recepción: October 31th 2024

Accepted /Fecha de aceptación: May 09th 2025

Available online/Fecha de publicación: May 22th 2025

Please cite this article as/Como citar este artículo: Lira-Hernández, T.J., Gutiérrez-Rivera, B., Cárdenas-Cágal, A., Vázquez-Larios, A.L., Hernández-Rosas, F., Vergara-Monterroza, M.J. (2025). Evaluación del antagonismo de *Bacillus* spp. sobre hongos fitopatógenos de lima persa (*Citrus x latifolia* Tan.). *Revista Bio Ciencias*, 12, e1806. <https://doi.org/10.15741/revbio.12.e1806>

This is a PDF file of an unedited manuscript that has been accepted for publication. As a service to our customers we are providing this early version of the manuscript. The manuscript will undergo copyediting, typesetting, and review of the resulting proof before it is published in its final form. Please note that during the production process errors may be discovered which could affect the content, and all legal disclaimers that apply to the journal pertain.

Este archivo PDF es un manuscrito no editado que ha sido aceptado para publicación. Esto es parte de un servicio de Revista Bio Ciencias para proveer a los autores de una versión rápida del manuscrito. Sin embargo, el manuscrito ingresará a proceso de edición y corrección de estilo antes de publicar la versión final. Por favor note que la versión actual puede contener errores de forma.

Original article

Evaluation of *Bacillus* spp. antagonism against phytopathogenic fungi of Persian lime (*Citrus x latifolia* Tan.)

Evaluación del antagonismo de *Bacillus* spp. sobre hongos fitopatógenos de lima persa (*Citrus x latifolia* Tan.)

Actividad antifúngica de *Bacillus* spp. en Lima persa/

Antifungal activity of *Bacillus* spp. in Persian lime

Lira-Hernández, T.J.¹, Gutiérrez-Rivera, B.^{1*}, Cárdenas-Cágal A.², Vázquez- Larios, A.L.¹, Hernández-Rosas, F.², Vergara-Monterroza, M..¹

¹TecNM Instituto Tecnológico Superior de Tierra Blanca, Maestría en Ciencias en Alimentos y Biotecnología. Av. Veracruz. S/N Esq. Héroes de Puebla, Col. PEMEX CP 95180. Tierra Blanca, Veracruz, México.

²Colegio de Postgraduados Campus Córdoba, Programa de Posgrado en Ciencias Innovación Agroalimentaria Sustentable, Carretera Federal Córdoba-Veracruz Km 348. CP 94953. Amatlán de los Reyes, Veracruz, México.

*Corresponding Author:

Beatriz Gutiérrez-Rivera. TecNM Instituto Tecnológico Superior de Tierra Blanca, Maestría en Ciencias en Alimentos y Biotecnología. Av. Veracruz. S/N Esq. Héroes de Puebla, Col. PEMEX CP 95180. Tierra Blanca, Veracruz, México.

Phone: (274) 743 4992. beatriz.gutierrez@itstb.edu.mx

ABSTRACT

Persian lime (*Citrus x latifolia* Tan.) is an economically important crop in Veracruz, with production affected by fungal diseases such as dieback and anthracnose. To reduce the use of chemical fungicides, bacteria of the *Bacillus* genus have been reported as Biological Control Agents (BCA). In this study, the *in vitro* antagonistic effect of native *Bacillus velezensis* (Bv) and two *Bacillus subtilis* strains (Bs1 and Bs2) was evaluated against pathogens identified as *Lasiodiplodia theobromae* and *Colletotrichum siamense*. The Percentage Inhibition of Radial Growth (PIRG) was measured on potato dextrose agar plates, and the level of antagonism was determined.

The *Bacillus subtilis* strains showed high and moderate inhibition against the evaluated phytopathogens. Bs2 exhibited the highest inhibition percentages (66.69 % and 61.78 %) against *Lasiodiplodia theobromae* (Las1 and Las2). Bs1 showed moderate antagonistic activity (49.7 %) against *Colletotrichum siamense* (Colle). In contrast, *Bacillus velezensis* (Bv) did not show an antagonistic effect against the evaluated phytopathogens. These results indicate that *Bacillus subtilis* Bs1 and Bs2 strains have potential as BCAs against the phytopathogens affecting Persian lime production.

KEY WORDS:

Phytopathogen, confrontation, inhibition, biological control agent.

RESUMEN

Lima persa (*Citrus x latifolia* Tan.) es un cultivo de importancia económica en Veracruz, con una producción afectada por enfermedades fúngicas como muerte regresiva y antracnosis. Para reducir el uso de fungicidas químicos, se ha reportado el empleo de bacterias del género *Bacillus* como Agentes de Control Biológico (BCA). En este estudio, se evaluó el efecto antagónico *in vitro* de bacterias nativas de *Bacillus velezensis* (Bv) y dos cepas de *Bacillus subtilis* (Bs1 y Bs2) sobre los patógenos identificados como *Lasiodiplodia theobromae* y *Colletotrichum siamense*. Se midió el Porcentaje de Inhibición de Crecimiento Radial (PIRG) en placas con agar papa dextrosa y se determinó el nivel de antagonismo.

Las cepas de *Bacillus subtilis* mostraron una alta y moderada inhibición contra los fitopatógenos evaluados. Bs2 presentó los mayores porcentajes de inhibición (66.69 % y 61.78 %) frente a *Lasiodiplodia theobromae* (Las1 y Las2). Bs1 mostró un valor moderado (49.7 %) de actividad antagónica sobre *Colletotrichum siamense* (Colle). En contraste, *Bacillus velezensis* (Bv) no mostró un efecto antagónico con los fitopatógenos evaluados. Estos resultados indican que las cepas de *Bacillus subtilis* Bs1 y Bs2 presentan potencial como ACB contra los fitopatógenos que afectan la producción de lima persa.

PALABRAS CLAVE:

Fitopatógeno, confrontación, inhibición, agente de control biológico.

Introducción

La lima persa (*Citrus x latifolia* Tan.) se produce en 25 estados de México, siendo el principal productor el estado de Veracruz, con una participación en superficie de 52,990 ha y producción de 858,602 t, lo que representa el 53.9 % de la producción nacional (SIAP, 2023). Sin embargo, la producción se ve afectada por diversos factores, entre los que destacan las enfermedades fúngicas como mancha grasienta (*Mycosphaerella citri*), antracnosis (*Colletotrichum* spp.), gomosis (*Phytophthora* spp.) y muerte regresiva (*Lasiodiplodia* spp.) (Sáenz-Pérez *et al.*, 2019; Leyva-Mirs *et al.*, 2021).

En Veracruz, se ha reportado la presencia de *L. pseudotheobromae*, *L. theobromae*, *L. subglobosa* y *L. iraniensis* como los agentes causales de la muerte regresiva y chancros en huertos comerciales de lima persa de la región de Martínez de la Torre, Tlapacoyan y Papantla (Bautista-Cruz *et al.*, 2019). Por otro lado, *Colletotrichum* spp., se reporta como el causante de manchas foliares marrones, orificios en hojas, tizón las ramillas, así como lesiones necróticas y caída prematura en frutos, provocando pérdidas pre y poscosecha significativas en las regiones citrícolas (Ruiz *et al.*, 2014).

Para el control de enfermedades se han empleado principalmente plaguicidas sintéticos, sin embargo, los residuos de estos productos se movilizan contaminando el ambiente circundante afectando a otros organismos y, provocando con ello un severo impacto al medioambiente que genera contaminación de suelos y la pérdida de biodiversidad (Gálves-Gamboa *et al.*, 2018). Una alternativa para limitar la aplicación de

estos productos y disminuir la presencia de patógenos en los cultivos de forma ambientalmente amigable, es el uso de agentes de control biológico (BCA) (Vinchira-Villarraga & Moreno-Sarmiento, 2019). De forma natural, se pueden encontrar en ambientes no modificados o alterados mínimamente, en donde las condiciones climáticas, o del suelo son determinantes para la sobrevivencia de las comunidades microbianas (Ordóñez-Beltrán *et al.*, 2020). Esta selección natural puede ser ventajosa para las cepas nativas que se han caracterizado por su actividad fitopatógena. En el caso de las bacterias, especies del género *Bacillus* han sido ampliamente estudiadas debido a la abundancia, diversidad, ubicuidad en diversos agroecosistemas y capacidad para esporular, lo que facilita su uso como agentes de control, además de destacar por sus características metabólicas de producir lipopéptidos, enzimas líticas, δ -endotoxinas, sideróforos e inducir la respuesta sistémica de la planta (Chen *et al.*, 2020; Valenzuela Ruiz *et al.*, 2020).

Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue evaluar la capacidad antagónica *in vitro* de cepas de *Bacillus* nativos contra *Lasiodiplodia* sp. y *Colletotrichum* sp., reportados como agentes etiológicos de muerte regresiva y antracnosis en lima persa, respectivamente.

Material y Métodos

Cepas de estudio

La experimentación se llevó a cabo durante los meses de mayo a septiembre del año 2022, en el laboratorio de microbiología del TecNM campus Tierra Blanca, Veracruz. Se utilizaron tres cepas bacterianas del género *Bacillus*, aisladas previamente de un cultivo de lima persa con manejo agro sustentable en la región de El "Jícaro", municipio de Tierra Blanca, Veracruz. Estas fueron identificadas molecularmente en el Laboratorio de diagnóstico integral fitosanitario (LADIFIT-CP), con un 100 % de cobertura e identidad, utilizando los oligos 8F-1492R, confirmando *Bacillus subtilis* (Bs1) aislada de la rizosfera, *Bacillus subtilis* (Bs2) y *Bacillus velezensis* (Bv) aisladas de las hojas. Los fitopatógenos empleados en el bioensayo, fueron aislados a partir de muestras de tallo y ramas enfermas de lima persa de tres regiones al noroeste del municipio de Tierra Blanca, Veracruz y que correspondieron a las cepas aisladas Las1, Las2 y Las3. Estas correspondieron en identidad molecular a *Lasiodiplodia theobromae*, con un porcentaje superior al 99 %, realizado en el Laboratorio IPICYT, S.L.P. También, se identificó molecularmente a *Colletotrichum siamense* (Colle) con un 100 % de cobertura e identidad, utilizando los oligos ITS1-ITS4, ITS5-ITS4, GDF1-GDR1, T1BT2B, ACT-512F/ACT-783R en LADIFIT-CP. Las cepas pertenecen a la colección del TecNM campus Tierra Blanca.

Pruebas de antagonismo

Para realizar las confrontaciones de *Bacillus* spp. frente a los fitopatógenos, se colocaron discos de 5 mm de diámetro en los puntos cardinales crecidos previamente en medio PDA, posteriormente, en el centro de la caja se colocó un disco de 5 mm de diámetro con micelio del patógeno con 7 d de crecimiento. Todas las placas fueron incubadas a 29 ± 2 °C en ausencia de luz y los radios de crecimiento del patógeno se midieron con ayuda de un vernier digital (Truper® CALDI-6MP), cada 24 h hasta que los testigos llenaron las cajas (Espinoza-Ahumada *et al.*, 2019).

La variable medida fue el radio de crecimiento del hongo fitopatógeno en presencia del antagonista bacteriano. Como control negativo o testigo se utilizaron placas donde se encontraban únicamente los hongos evaluados; con las mediciones obtenidas se determinó el Porcentaje de Inhibición de Crecimiento Radial (PIRG), empleando la fórmula propuesta por Ezziyyani *et al.* (2004):

$$PIRG = \frac{R1 - R2}{R1} * 100$$

donde R1 es el radio mayor (radio patógeno-testigo) y R2 es el radio menor (radio del patógeno en confrontación).

La evaluación se realizó de acuerdo con el método de Krakaliya *et al.* (2017), citado por Khuong *et al.* (2023): PIRG ≥ 60 % es altamente antagónico, $40\% \leq \text{PIRG} \leq 59\%$ es moderadamente antagonista, $20\% \leq \text{PIRG} \leq 39\%$ es débilmente antagonista y PIRG $\leq 19\%$ no es antagonista.

Para el bioensayo, se empleó un diseño completamente al azar con doce tratamientos: tres aislados de *Bacillus* spp. confrontados contra tres cepas de *Lasiodiplodia* sp., correspondientes a cada región de muestreo Las1, Las2 y Las3 y, una cepa de *Colletotrichum* sp. Se utilizaron 5 réplicas por tratamiento y se consideró un testigo para cada microorganismo patógeno. Se realizaron las pruebas de normalidad mediante el test de Shapiro-Wilk y de homogeneidad de varianzas utilizando el test de Bartlett. Los datos del PIRG se sometieron a análisis de varianza y prueba de comparación de medias múltiple (Tukey, $p \leq 0.05$) con el paquete estadístico SAS V9.3.

Resultados y Discusión

Características macroscópicas de los fitopatógenos

A partir de los aislados procedentes del muestreo de tronco y ramas de árboles enfermos de lima persa, de tres zonas de la región noroeste del municipio de Tierra Blanca, Ver., se identificó a *Lasiodiplodia theobromae* (Las 1, Las2 y Las3), correspondientes a cada área de muestreo y que está asociado a la enfermedad de muerte regresiva. Estas cepas se caracterizaron por desarrollar abundante micelio aéreo tipo algodónoso de crecimiento rápido y presencia de hifas septadas. Las colonias, inicialmente de coloración blanquecina se tornaron gris-verdosa en 7 días (Figura 1) y completamente oscuras transcurridos los 14 días. El otro fitopatógeno fue identificado como *Colletotrichum siamense*, asociado a la enfermedad de antracnosis y que presentó un patrón de crecimiento en círculos concéntricos, con desarrollo de micelio subaéreo y plano color blanco (Figura 1).

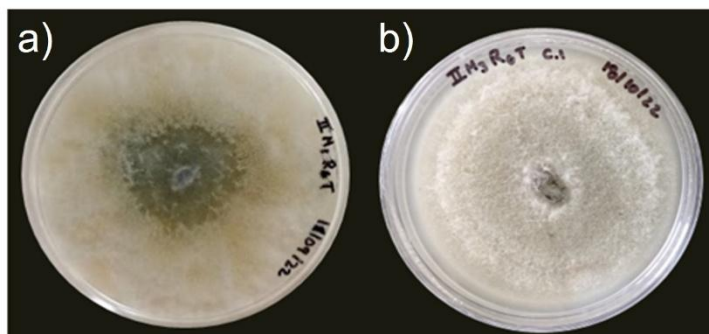


Figure 1. Fitopatógenos aislados e identificados en huertas de lima persa en agar PDA a los 7 días de crecimiento, a) *Lasiodiplodia theobromae* y b) *Colletotricum siamense*.

Actividad antagonica *in vitro* de *Bacillus* spp. vs fitopatógenos

El PIRG entre los microorganismos evaluados *in vitro* (Figura 2) evidenció diferentes interacciones. De acuerdo al porcentaje de inhibición, Bs2 presentó un comportamiento altamente antagonico sobre *Lasiodiplodia theobromae* (Las1 y Las3), con valores de inhibición de 66.7 y 61.8 % respectivamente; mientras que Bs1, mostró para los dos fitopatógenos evaluados una inhibición moderada con valores de inhibición de 46.7 a 49.8 %. Por otra parte, la interacción entre Bs2 y Colle, así como Bv con los dos fitopatógenos no presentó antagonismo (Figura 2). Estos resultados contrastan con lo reportado por Chuqueatirote *et al.* (2018), en el que *Bacillus velezensis* presentó un 60 % de inhibición de crecimiento radial sobre *Lasiodiplodia theobromae*.

Se ha destacado el impacto de *Bacillus velezensis* en el control biológico, por la identificación de grupos de genes relacionados con la síntesis de metabolitos secundarios con actividad antifúngica, como lo son las fengicinas, iturinas y surfactinas que juegan un papel importante en el control de patógenos fúngicos (Zhang *et al.*, 2022; Wei *et al.*, 2023). Así también, al ser evaluado en plantas, se ha observado que puede reducir las enfermedades, debido a la formación de biopelículas en las rizosferas que promueven el crecimiento y las protegen de los microorganismos infecciosos, tanto por la secreción de compuestos antimicrobianos, así como a través de la resistencia sistémica (Rabbee *et al.*, 2019; Moreno-Velandia *et al.*, 2021). Cabe mencionar, que aunque en este estudio no se observó un efecto antagonico por parte de esta cepa (Figura 3), se puede esperar un resultado diferente y prometedor en el desarrollo y protección de la planta en pruebas *in situ*.

Por otra parte, los valores más altos de inhibición que presentó Bs2 (*Bacillus subtilis*-2) sobre el crecimiento micelial de las cepas *Lasiodiplodia theobromae* Z1 y ZII (Las1 y Las3), respectivamente (Figura 2), son similares a los reportados por Sajitha *et al.* (2014), al evaluar dos cepas identificadas como *Bacillus subtilis* contra *Lasiodiplodia theobromae*, obteniendo valores de inhibición de 64.44 y 60.74 %. El bajo porcentaje que se obtuvo de la cepa Bs2 sobre *Colletotrichum siamense* (16 %), contrasta con lo señalado por Cambero-Ayón *et al.* (2020), quien obtuvo un porcentaje de inhibición micelial superior al 32 % en la evaluación de *Bacillus subtilis* sobre *C. gloeosporioides* (Colle).

Adicionalmente, se puede destacar que tanto la cepa de Bs2 como la cepa Bs1 mostraron actividad antagónica contra *Lasiodiplodia theobromae* (Figura 3). Lo anterior coincide con Castillo-Reyes *et al.* (2015), en el que para cepas de una misma especie se pueden exhibir diferentes capacidades para inhibir el crecimiento de diferentes microorganismos. También, el origen de estas cepas podría ser un factor que influya en las características de biocontrol de las mismas, debido a que Bs1 fue aislada de hojas y Bs2 de la rizosfera de plantas de lima persa. Se ha demostrado en diversos estudios que cepas nativas del género *Bacillus*, aisladas de la rizósfera de diferentes cultivos, son capaces de generar un efecto antagónico en el desarrollo de agentes fitopatógenos (Castillo-Reyes *et al.*, 2015; Castañeda-Alvarez & Sánchez, 2016; Yan *et al.*, 2021; Balthazar *et al.*, 2022). Adicionalmente, los microorganismos nativos como agentes de control biológico tienen como ventaja la capacidad para mantener el equilibrio ecológico y controlar plagas y enfermedades de manera efectiva. Al estar naturalmente adaptados a las condiciones ambientales y edafológicas de su entorno, poseen una ventaja competitiva sobre las especies introducidas. Además, su alta eficiencia reproductiva en su hábitat les permite garantizar un control biológico sostenido y prolongado (Berg & Smalla, 2009; Chavarria-Quicaño *et al.*, 2023; Martínez-Martínez *et al.*, 2023)

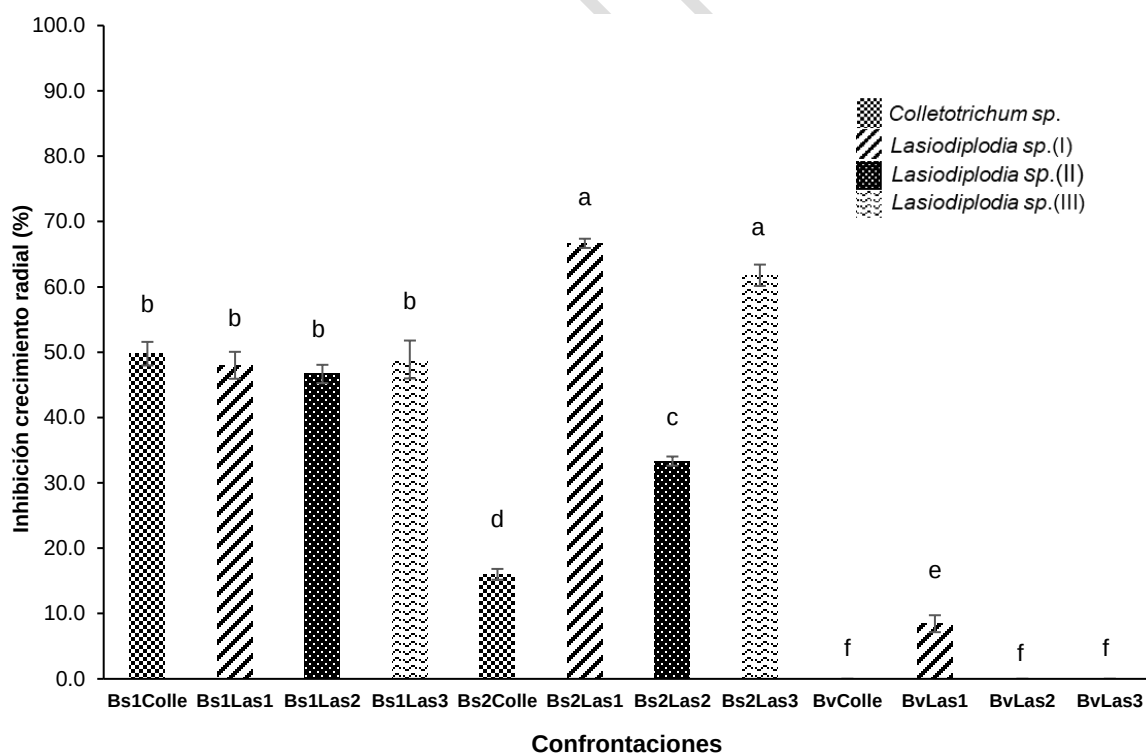


Figura 2. Confrontación *in vitro* de *Bacillus* spp. contra patógenos de lima persa. (Bs1: *B. subtilis* 212s, Bs2: *B. subtilis* 314s, Bv: *B. velezensis*, Colle: *Colletotrichum sp.*, Las1: *Lasiodiplodia sp.* ZI, Las2: *Lasiodiplodia sp.* ZII, Las3: *Lasiodiplodia sp.* ZIII). Barras con la misma letra no son estadísticamente diferentes, de acuerdo con la prueba de Tukey ($p = 0.05$).

. Durante las pruebas de confrontación se observaron particularmente dos patrones de inhibición (Figura 4). En el primero, se observó una zona de barrera clara entre el crecimiento del hongo fitopatógeno y la cepa de *Bacillus*, delimitando una zona de inhibición con la posible producción de lipopéptidos como iturinas, fengicinas y surfactinas, que han sido identificadas durante la confrontación de *Bacillus* spp. contra hongos filamentosos (Sajitha & Dev, 2016; Moreno-Velandia *et al.*, 2021;) (Figura 4A). También puede deberse al efecto de mecanismos de competencia por nutrientes y espacio, como lo reporta Chen *et al.* (2020). El segundo patrón fue la formación de una zona de interacción que limitó el desarrollo del fitopatógeno y que produjo un cambio de coloración en la cepa de *Bacillus*, que de acuerdo con lo reportado por Chen *et al.* (2020), la producción de sustancias microbianas es el mecanismo de biocontrol más importante para este género (Figura 4B).

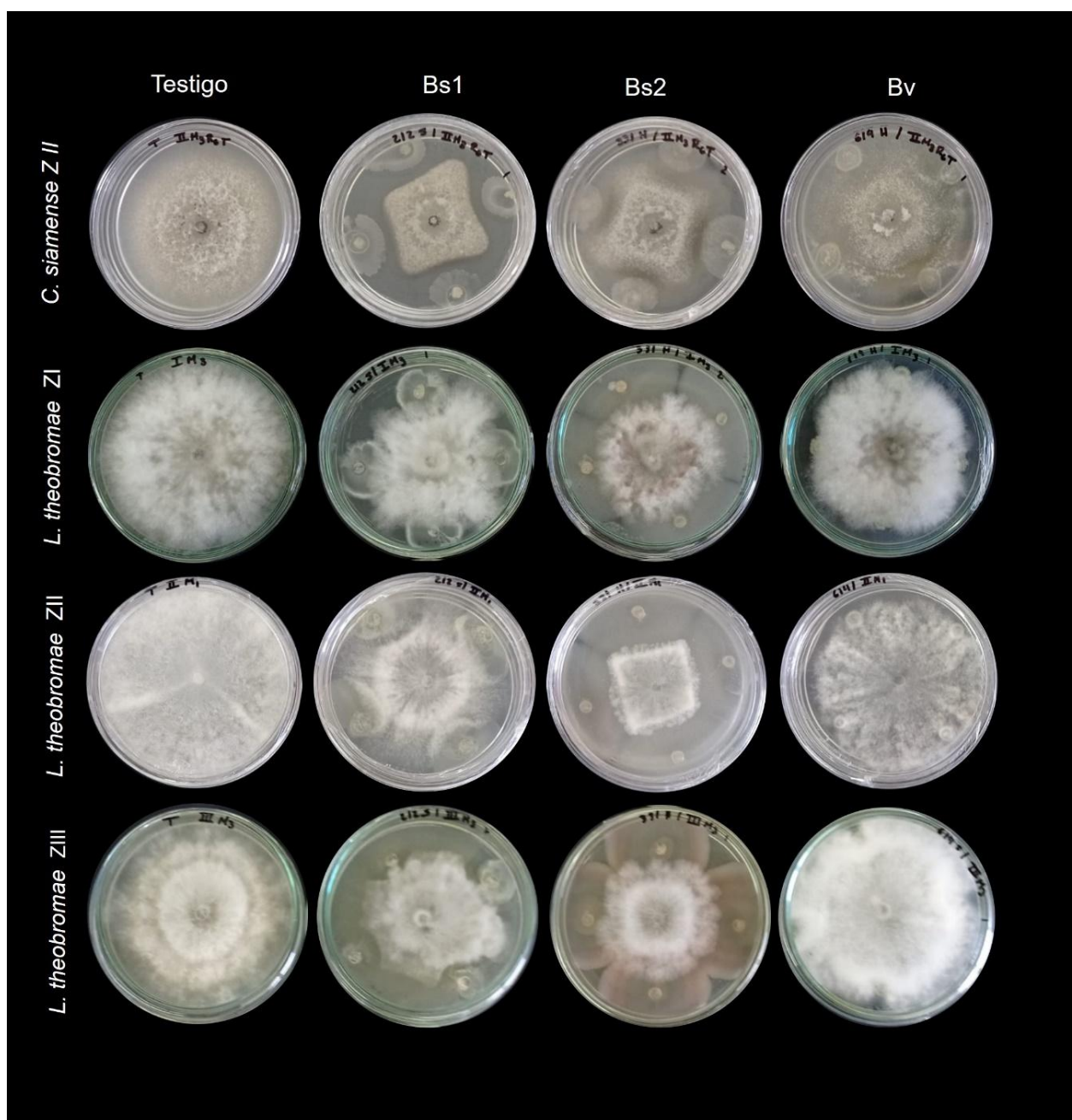


Figura 3. Efecto inhibitorio de tres cepas de *Bacillus* spp. sobre el crecimiento de cuatro aislados de patógenos de lima persa a los 9 días incubación. (Bs1: *B. subtilis* 212s, Bs2: *B. subtilis* 314H, Bv: *B. velezensis* 614H).

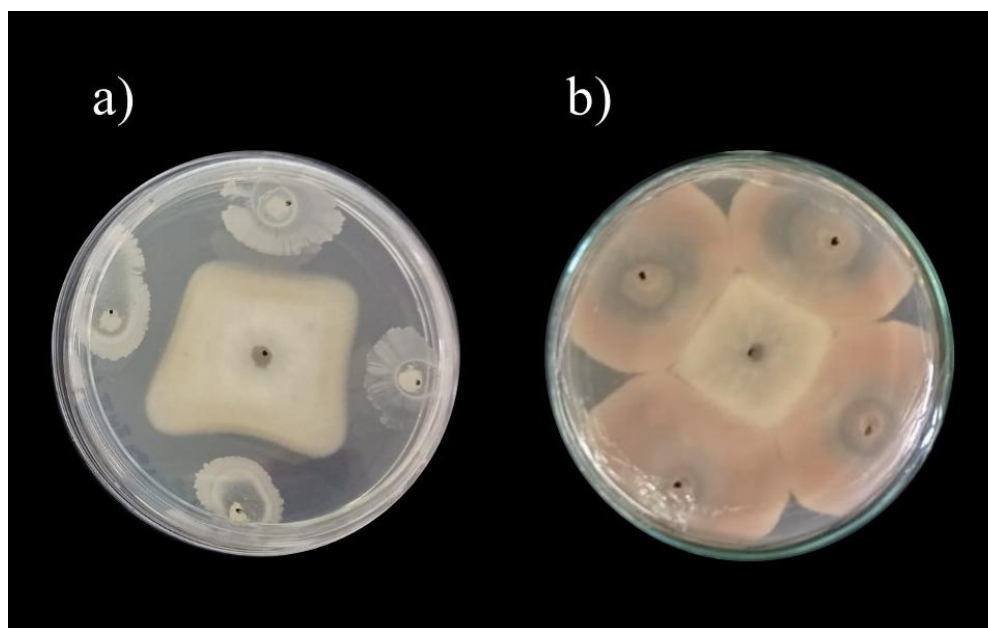


Figura 4. Patrones de inhibición en confrontaciones. a) Competencia por espacio y nutrientes), b) Producción de metabolitos microbianos (formación de halo de inhibición).

Conclusiones

Especies nativas de *Bacillus* (Bs1, Bs2 y Bv) mostraron actividad antagónica diversa contra dos fitopatógenos que afectan el cultivo de Lima persa: *Lasiodiplodia theobromae* y *Colletotrichum siamense*. El nivel de antagonismo de las especies *Bacillus* evaluadas fue alta y moderada para *Lasiodiplodia theobromae*, y, moderada y sin actividad para *Colletotrichum siamense*. La respuesta de *Bacillus subtilis* contrasta con *Bacillus velezensis* que no mostró un efecto antagónico con los fitopatógenos evaluados. En este sentido, las diferencias intraespecíficas de las especies asociados a factores externos como el ambiente, pueden definir su potencial uso como agentes de biocontrol.

Contribución de los autores

Conceptualización del trabajo, autor 1, autor 2. autor 4.; desarrollo de la metodología, autor 1, autor 2. autor 6.; manejo de software, autor 1, autor 2.; validación experimental, autor 1, autor 2. autor 3. autor 4.; análisis de resultados, autor 1, autor 2. autor 3. autor 5.; Manejo de datos, autor 1, autor 2.; escritura y preparación del manuscrito, autor 1, autor 2.; redacción, revisión y edición, autor 2. autor 3. autor 4.; administrador de proyectos, autor 1, autor 2.; adquisición de fondos, autor 2.

Todos los autores de este manuscrito han leído y aceptado la versión publicada del mismo.

Financiamiento

Esta investigación fue financiada por Consejo Veracruzano de Investigación Científica y Desarrollo Tecnológico (COVEICYDET), número de proyecto CP 1111 2235/2023.

Agradecimientos

El primer autor agradece al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) por la beca otorgada para estudios de posgrado al Programa de Maestría en Ciencias de los Alimentos y Biotecnología del TecNM/ Instituto Tecnológico Superior de Tierra Blanca.

Los autores agradecen al Consejo Veracruzano de Investigación Científica y Desarrollo Tecnológico (COVEICYDET) por el apoyo otorgado a este proyecto.

Conflicto de interés

Los autores declaran no tener conflicto de interés.

Referencias

- Balthazar, C., Novinscak, A., Cantin, G., Joly, D. L., & Filion, M. (2022). Biocontrol Activity of *Bacillus* spp. And *Pseudomonas* spp. Against *Botrytis cinerea* and Other Cannabis Fungal Pathogens. *Phytopathology*, 112(3), 549-560. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-03-21-0128-R>
- Bautista-Cruz, M. A., Almaguer-Vargas, G., Leyva-Mir, S. G., Colinas-León, M. T., Correia, K. C., Camacho-Tapia, M., Robles-Yerena, L., Michereff, S. J., & Tovar-Pedraza, J. M. (2019). Phylogeny, distribution, and pathogenicity of *Lasiodiplodia* species associated with cankers and dieback symptoms of persian lime in Mexico. *Plant Disease*, 103(6), 1156-1165. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-18-1036-RE>
- Berg, G., & Smalla, K. (2009). Plant species and soil type cooperatively shape the structure and function of microbial communities in the rhizosphere. *FEMS Microbiology Ecology*, 68(1), 1-13. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2009.00654.x>
- Camero-Ayón, C. B., Luna Esquivel, G., Rios Velasco, C., Estrada Virgen, O., Betancourt Aranguré, A., & Camero Campos, O. J. (2020). Evaluación in vitro de antagonistas contra patógenos de fruto de guanábana (*Annona muricata* L.) en Nayarit, México. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 42(2). <https://doi.org/10.1590/0100-29452020147>
- Castañeda-Alvarez, E., & Sánchez, L. C. (2016). Evaluación del crecimiento de cuatro especies del género *Bacillus* sp., primer paso para entender su efecto biocontrolador sobre *Fusarium* sp. *Revista Nova Publicación Científica en Ciencias Biomédicas*, 14(26), Article 26. <https://doi.org/10.22490/24629448.1751>
- Castillo-Reyes, F., Hernández-Castillo, F. D., Gallegos-Morales, G., Flores-Olivas, A., & Rodríguez-Herrera, R. (2015). Efectividad in vitro de *Bacillus* y polifenoles de plantas nativas de México sobre *Rhizoctonia solani*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 6(3), Article 3. <https://doi.org/10.29312/remexca.v6i3.638>
- Chavarria-Quicaño, E., Contreras-Jáquez, V., Carrillo-Fasio, A., De la Torre-González, F., & Asaff-Torres, A. (2023). Native *Bacillus paralicheniformis* isolate as a potential agent for phytopathogenic nematodes control. *Frontiers in Microbiology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1213306>
- Chen, K., Tian, Z., He, H., Long, C., & Jiang, F. (2020). *Bacillus* species as potential biocontrol agents against citrus diseases. *Biological Control*, 151, 104419. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104419>

Chukeatirote, E., Niraphai, K., Sardsud, U., & Popluechai, S. (2018). *Identification of antagonistic bacteria isolated from Thai fermented soybean (Thua Nao) for biocontrol of Lasiodiplodia theobromae*. <https://doi.org/10.1556/038.53.2018.004>

Espinoza-Ahumada, C. A., Gallegos Morales, G., Hernández Castillo, F. D., Ochoa Fuentes, Y. M., Cepeda Siller, M., & Castillo Reyes, F. (2019). Antagonistas microbianos a *Fusarium* spp., como agente causal de pudrición de raíces y tallo en melón. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 6(16), Article 16. <https://doi.org/10.19136/era.a6n16.1843>

Ezziyyani, M., Sánchez, C. P., Requena, M. E., Rubio, L., & Castillo, M. E. C. (2004). Biocontrol por *Streptomyces rochei* –Ziyani–, de la podredumbre del pimiento (*Capsicum annuum* L.) causada por *Phytophthora capsici*. *Anales de Biología*, 26, 61-68. <https://revistas.um.es/analesbio/article/view/30471>

Gálves-Gamboa, G. T., Sánchez Servín, M. R., Parra Cota, F., García Pereyra, J., Aviña Martínez, G. N., & Santos Villalobos, S. (2018). Plaguicidas en la agricultura mexicana y potenciales alternativas sustentables para su sustitución. *Revista Biológico Agropecuaria Tuxpan*, 6(1), 61-75. <https://doi.org/10.47808/revistabioagro.v6i1.138>

Kakraliya, S. S., Choskit, D., Pandit, D., & Abrol, S. (2017). Effect of Bio-Agents, Neem Leaf Extract and Fungicides Against Alternaria Leaf Blight of Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Natural Products Chemistry & Research*, 05(08). <https://doi.org/10.4172/2329-6836.1000295>

Khuong, N. Q., Nhien, D. B., Thu, L. T. M., Trong, N. D., Hiep, P. C., Thuan, V. M., Quang, L. T., Thuc, L. V., & Xuan, D. T. (2023). Using *Trichoderma asperellum* to Antagonize *Lasiodiplodia theobromae* Causing Stem-End Rot Disease on Pomelo (*Citrus maxima*). *Journal of Fungi*, 9(10), 981. <https://doi.org/10.3390/jof9100981>

Leyva-Mirs, S. G., Bautista-Cruz, M. A., Almaguer-Vargas, G., Colinas-Leon, M. T., Tovar-Pedraza, J. M., & Camacho-Tapia, M. (2021). Efectividad de fungicidas y *Trichoderma* spp. Para el control de *Lasiodiplodia* spp. En huertos de limón 'Persa' en Veracruz. *Revista Mecana de Ciencias Agrícolas*, 12(2), 345-353. <https://doi.org/10.29312/remexca.v12i2.2551>

Martínez-Martínez, T. O., Martínez-Camacho, A. P., Rodríguez-Guerra, R., Mariscal-Amaro, L. A., Rivas-Valencia, P., Martínez-Martínez, T. O., Martínez-Camacho, A. P., Rodríguez-Guerra, R., Mariscal-Amaro, L. A., & Rivas-Valencia, P. (2023). Isolation and identification of antagonistic fungi of fungi associated with chili wilt in southern Guanajuato, Mexico. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 41(2), 268-284. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2302-1>

Moreno-Velandia, C. A., Ongena, M., & Cotes, A. M. (2021). Effects of Fengycins and Iturins on *Fusarium oxysporum* f. Sp. *Physali* and Root Colonization by *Bacillus velezensis* Bs006 Protect Golden Berry Against Vascular Wilt. *Phytopathology*, 111(12), 2227-2237. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-01-21-0001-R>

Ordóñez-Beltrán, V., Orduño-Cruz, N., Ríos-Velasco, C., Jacobo-Cuellar, J. L., Hernández-Domínguez, C., & Acosta-Muñiz, C. H. (2020). Characterization of Rhizobacteria Associated with *Vitis vinifera* and Its Interaction in vitro with Entomopathogenic Fungi. *Eurasian Soil Science*, 53(10), 1469-1479. <https://doi.org/10.1134/S1064229320100130>

Rabbee, M. F., Ali, Md. S., Choi, J., Hwang, B. S., Jeong, S. C., & Baek, K. (2019). *Bacillus velezensis*: A Valuable Member of Bioactive Molecules within Plant Microbiomes. *Molecules*, 24(6), 1046. <https://doi.org/10.3390/molecules24061046>

Ruiz, A., Parra, C. C., da Graça, J. V., Salas, B., & Kunta, M. (2014). Caracterización Molecular y de Ensayos de Patogenicidad de *Colletotrichum acutatum*, Agente Causal de la Antracnosis del Limón en Texas. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 32(1), 52-61. https://rmf.smf.org.mx/Contenido_Vol_32_1_2014.html

Sáenz-Pérez, C. A., Osorio Hernández, E., Estrada Drouaillet, B., Poot Poot, W. A. P., Delgado Martínez, R., & Rodríguez Herrera, R. (2019). Principales enfermedades en cítricos. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 10(7), 1653-1665. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i7.1827>

Sajitha, K. L., & Dev, S. A. (2016). Quantification of antifungal lipopeptide gene expression levels in *Bacillus subtilis* B1 during antagonism against sapstain fungus on rubberwood. *Biological Control*, 96, 78-85. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.02.007>

Sajitha, K. L., Maria Florence, E. J., & Dev, S. A. (2014). Screening of bacterial biocontrols against sapstain fungus (*Lasiodiplodia theobromae* Pat.) of rubberwood (*Hevea brasiliensis* Muell.Arg.). *Research in Microbiology*, 165(7), 541-548.

SIAP. (2023). Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. *Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera*. <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>

Valenzuela Ruiz, V., Gálvez Gamboa, G. T., Villa Rodríguez, E. D., Parra Cota, F. I., Santoyo, G., & de los Santos Villalobos, S. (2020). Lipopéptidos producidos por agentes de control biológico del género *Bacillus*: Revisión de herramientas analíticas utilizadas para su estudio. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 11(2), Article 2. <https://doi.org/10.29312/remexca.v11i2.2191>

Vinchira-Villarraga, D. M., & Moreno-Sarmiento, N. (2019). Control biológico: Camino a la agricultura moderna. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 21(1), 2-5. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v21n1.80860>

Wei, J., Zhao, J., Suo, M., Wu, H., Zhao, M., & Yang, H. (2023). Biocontrol mechanisms of *Bacillus velezensis* against *Fusarium oxysporum* from *Panax ginseng*. *Biological Control*, 182, 105222. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2023.105222>

Yan, H., Qiu, Y., Yang, S., Wang, Y., Wang, K., Jiang, L., & Wang, H. (2021). Antagonistic Activity of *Bacillus velezensis* SDTB038 against *Phytophthora infestans* in Potato. *Plant Disease*, 105(6), 1738-1747. <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-20-1666-RE>

Zhang, R., Wang, F., Qi, Z., Qiao, J., Du, Y., Yu, J., Yu, M., Liang, D., Song, T., Pan, X., Cao, H., Zhang, H., & Liu, Y. (2022). *Iturins Produced by Bacillus velezensis Jt84 Play a Key Role in the Biocontrol of Rice Blast Disease* (SSRN Scholarly Paper 4089141). Social Science Research Network. <https://doi.org/10.2139/ssrn.4089141>