

# MECANISMOS DE ACCIÓN DE *Bacillus* spp. (Bacillaceae) CONTRA MICROORGANISMOS FITOPÁTÓGENOS DURANTE SU INTERACCIÓN CON PLANTAS

## Mechanisms of action of *Bacillus* spp. (Bacillaceae) against phytopathogenic microorganisms during their interaction with plants

Luz Adriana Pedraza<sup>1</sup>, Camilo Ernesto López<sup>2</sup>, Daniel Uribe-Vélez<sup>3</sup>\*.

<sup>1</sup>Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, carrera 45 n°. 26-85, Bogotá, Colombia.

<sup>2</sup>Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, carrera 45 n°. 26-85, Bogotá, Colombia.

<sup>3</sup>Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional de Colombia, carrera 45 n°. 26-85, Bogotá, Colombia.

\*For correspondence: duribev@unal.edu.co

Received: 20<sup>th</sup> September 2018, Returned for revision: 27<sup>th</sup> February 2019, Accepted: 27<sup>th</sup> March 2019.

Associate Editor: Francisco José Martínez Pérez.

Citation/Citar este artículo como: Pedraza LA, Lopéz CA y Uribe-Vélez D. Mecanismos de acción de *Bacillus* spp. (Bacillaceae) contra microorganismos fitopatógenos durante su interacción con plantas. Acta biol. Colomb. 2020;25(1):112-125. DOI: <http://dx.doi.org/10.15446/abc.v25n1.75045>

### RESUMEN

Algunos *Bacillus* spp. promotores de crecimiento vegetal son microorganismos reconocidos como agentes de control biológico que forman una estructura de resistencia denominada endospora, que les permite sobrevivir en ambientes hostiles y estar en casi todos los agroecosistemas. Estos microorganismos han sido reportados como alternativa al uso de agroquímicos. Sus mecanismos de acción se pueden dividir en: producción de compuestos antimicrobianos, como son péptidos de síntesis no ribosomal (NRPs) y policétidos (PKs); producción de hormonas, capacidad de colonización, formación de biopelículas y competencia por espacio y nutrientes; síntesis de enzimas líticas como quitinasas, glucanasas, proteasas y acil homoserin lactonasas (AHSL); producción de compuestos orgánicos volátiles (VOCs); e inducción de resistencia sistémica (ISR). Estos mecanismos han sido reportados en la literatura en diversos estudios, principalmente llevados a cabo a nivel *in vitro*. Sin embargo, son pocos los estudios que contemplan la interacción dentro del sistema tritrófico: planta - microorganismos patógenos - *Bacillus* sp. (agente biocontrolador), a nivel *in vivo*. Es importante destacar que la actividad biocontroladora de los *Bacillus* es diferente cuando se estudia bajo condiciones de laboratorio, las cuales están sesgadas para lograr la máxima expresión de los mecanismos de acción. Por otra parte, a nivel *in vivo*, la interacción con la planta y el patógeno juegan un papel fundamental en la expresión de dichos mecanismos de acción, siendo esta más cercana a la situación real de campo. Esta revisión se centra en los mecanismos de acción de los *Bacillus* promotores de crecimiento vegetal, expresados bajo la interacción con la planta y el patógeno.

**Palabras clave:** Biocontrol, enfermedad vegetal, pérdida de cultivos, seguridad alimentaria.

### ABSTRACT

Some *Bacillus* spp. plant growth promoters are microorganisms recognized as biological control agents, which form a resistance structure called endospore, which allows them to survive in hostile environments and be in almost all agroecosystems. These microorganisms have been reported as an alternative to the use of agrochemicals. Its mechanisms of action can be divided into: production of antimicrobial compounds, such as non-ribosomal peptides (NRPs) and polyketides (PKs); hormone production, colonization capacity, biofilm formation and competition for space and nutrients; synthesis of lytic enzymes such as chitinases, glucanases, proteases and acyl homoserin lactonases (AHSL); production of volatile organic compounds (VOCs); and induction of systemic resistance (SRI). These mechanisms have been reported in the literature in several studies, mainly carried out *in vitro*. However, there are few studies that contemplate the interaction within the tritrophic system: plant - pathogenic microorganisms - *Bacillus* sp. (biocontrol agent), *in vivo* level. It is important to note that the *Bacillus* biocontrol activity is different when studied under laboratory conditions, which are biased to achieve maximum expression of the mechanisms of action. On the other hand, at the *in vivo* level, the interaction with the plant and the pathogen play a fundamental role in the expression of said mechanisms of action, being this closer to the real field situation. This review focuses on the mechanisms of action of the *Bacillus* promoters of plant growth, expressed under the interaction with the plant and the pathogen.

**Keywords:** Biocontrol, crop losses, food security, plant disease.

## INTRODUCCIÓN

La agricultura es una actividad fundamental para asegurar el desarrollo y sostenibilidad de las naciones, toda vez que determina su seguridad alimentaria. El crecimiento continuo de los rendimientos en los productos agrícolas de mayor consumo a nivel mundial ha estado sustentado desde la llamada “Revolución Verde”, en el uso de fertilizantes, agroquímicos y sistemas de riego para optimizar los rendimientos de las variedades vegetales introducidas (FAO, 2015; Gollin *et al.*, 2016).

Con una población mundial en crecimiento continuo, no son pocos los retos que la agricultura actual debe enfrentar, para mantener el abastecimiento permanente de alimentos y su calidad e inocuidad, satisfaciendo las necesidades de seguridad alimentaria (Singh *et al.*, 2016). Dentro de estos retos, se pueden resaltar los altos costos de los fertilizantes (Brunelle *et al.*, 2015), los efectos asociados al cambio climático (Chakraborty y Newton, 2011) y al surgimiento de plagas y enfermedades (Savary *et al.*, 2012; Fones y Gurr, 2017).

Las plagas y enfermedades representan pérdidas entre el 20 y 40 % de la productividad en la agricultura mundial (Oerke *et al.*, 1994; Oerke, 2006). Con el objeto de mitigar el efecto de los agentes fitopatógenos, se ha promovido el uso de agroquímicos que resultan ser eficientes, pero bajo condiciones de manejo inadecuadas conllevan efectos adversos que van en detrimento de la salud del ser humano (Dadaby y Tulk, 2015), la contaminación del medio ambiente (Mahmood *et al.*, 2016) y el surgimiento de patógenos resistentes a dichos productos (Lamichhane *et al.*, 2016; Zhan *et al.*, 2017). Esta situación ha generado una creciente preocupación en el público consumidor, estimulando el surgimiento de otras alternativas como el control biológico, el cual consiste en el empleo de organismos vivos o enemigos naturales para el control de plagas y enfermedades en el cultivo (Compant *et al.*, 2005; Shafi *et al.*, 2017). En el caso de control biológico de enfermedades causadas por fitopatógenos, existen diversos productos comerciales basados en microorganismos benéficos o en sus derivados, ya sean a base de formulados celulares, productos enzimáticos y/o metabolitos secundarios (Schisler *et al.*, 2004; Kamilova *et al.*, 2015).

Diferentes tipos de microorganismos, como virus, hongos y bacterias han sido empleados clásicamente para el control biológico de enfermedades (Ceballos *et al.*, 2012; Chowdhury *et al.*, 2015a). Dentro de este último grupo se destacan los géneros *Pseudomonas* y *Bacillus*. Las esporas producidas por *Bacillus* hacen que éstos sean armas versátiles para el control de microorganismos fitopatógenos, ya que estas estructuras de resistencia permiten su almacenamiento, incluso a temperatura ambiente, por largos periodos de tiempo (Shafi *et al.*, 2017).

Además de su capacidad de producir esporas, estos microorganismos se destacan porque algunas de sus cepas pueden emplearse como alternativa de control biológico

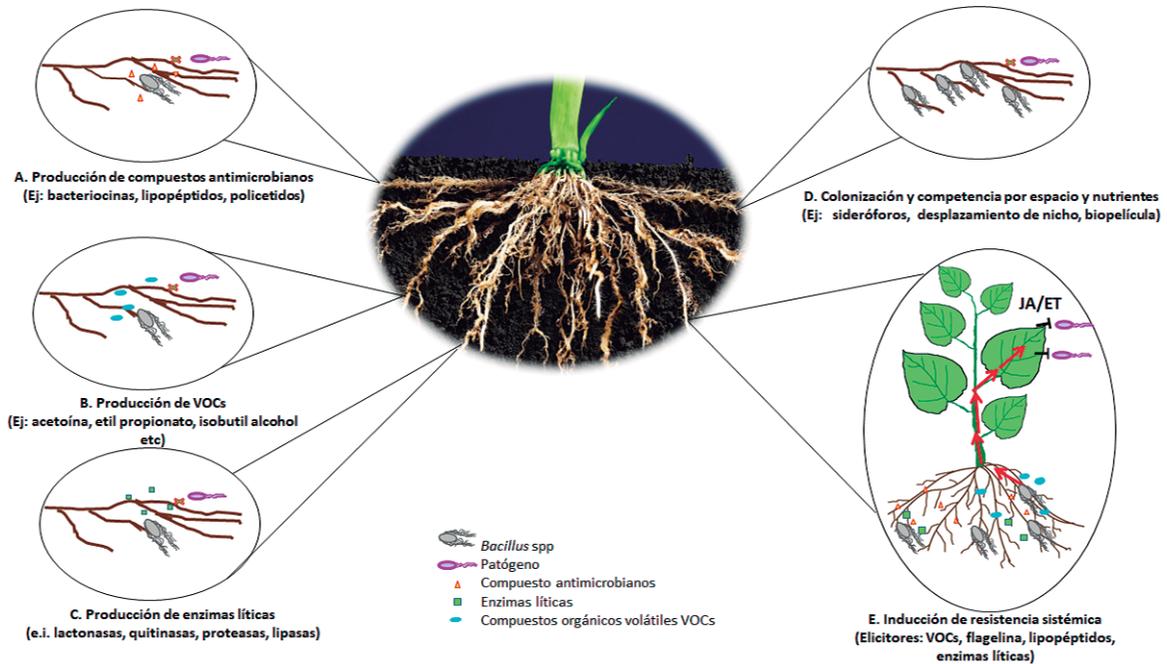
ya que logran una rápida colonización y replicación, presentan una amplia distribución en un gran número de ecosistemas, poseen una alta capacidad de sobrevivir en ambientes hostiles y tienen la habilidad de sintetizar diversos compuestos antimicrobianos (Figura 1a). Esto último les confiere un amplio espectro de acción frente a diversos tipos de microorganismos fitopatógenos (Compant *et al.*, 2005; Ongena y Jaques, 2008; Summi *et al.*, 2015). Adicionalmente, algunas especies de *Bacillus* han sido declaradas organismos seguros para la salud o el ambiente GRAS (Generally Recognized as Safe por sus siglas en inglés), para su comercialización y uso (Olmos y Paniagua-Michel, 2014). El objetivo de este artículo es revisar los diversos mecanismos de acción que poseen los miembros del género *Bacillus* sp. que son empleados en el control biológico de microorganismos fitopatógenos durante la interacción con las plantas. Estos mecanismos incluyen producción de compuestos antimicrobianos, producción de compuestos orgánicos volátiles (VOCs), síntesis de enzimas líticas, colonización y formación de biopelícula e inducción de resistencia vegetal (Ongena y Jaques, 2008; Shafi *et al.*, 2017). Varios estudios ponen en evidencia la producción de compuestos antimicrobianos y VOCs a nivel de caja de Petri y en ensayos *in vitro* (Mosquera *et al.*, 2014; Mora *et al.*, 2015; Xie *et al.*, 2018), sin embargo, este fenómeno no puede extrapolarse a la interacción con la planta y el patógeno o lo que suele denominarse el sistema tritrófico (Chowdhury *et al.*, 2015b; Monteiro *et al.*, 2016). Esto se debe a que hay diferentes factores que influyen en la determinación del papel de cada uno de los mecanismos en la acción biocontroladora, como el hecho de que la interacción con la planta tiene una gran complejidad en términos de comunicación molecular y bioquímica (Yuan *et al.*, 2015). Estos aspectos traen como consecuencia que se afecta directamente la expresión de diferentes genes que participan en la acción biocontroladora de la cepa de *Bacillus*.

## MECANISMOS DE CONTROL DE FITOPATÓGENOS A PARTIR DE BACTERIAS DEL GÉNERO BACILLUS

### Producción de sustancias antimicrobianas

Estudios bioinformáticos a partir de la secuencia del genoma de diferentes cepas de *Bacillus* han permitido predecir la presencia de genes asociados con la producción de compuestos antimicrobianos, dando así un potencial mecanismo de acción de estos biocontroladores (Aleti *et al.*, 2015). Estas bacterias pueden producir sustancias antimicrobianas de distinta naturaleza, que pueden ser divididas en los siguientes tipos: un grupo de péptidos de síntesis ribosomal, policétidos (PK) y pequeñas moléculas peptídicas de síntesis no ribosomal (NRPs por sus siglas en inglés) (Fickers *et al.*, 2012).

Los péptidos antimicrobianos de síntesis ribosomal están ampliamente distribuidos en la naturaleza y se caracterizan



**Figura 1.** Mecanismos de biocontrol de cepas de *Bacillus* contra microorganismos fitopatógenos en plantas. a. Producción de compuestos antimicrobianos, b. Producción de VOCs, c. Colonización y competencia, d. Producción de enzimas líticas, e. Inducción de resistencia vegetal

por poseer una longitud entre 12 y 50 aminoácidos, generando moléculas que son de carácter catiónico principalmente (Fickers *et al.*, 2012; Summi *et al.*, 2015). Tienen gran diversidad estructural y son comúnmente conocidos como bacteriocinas, que pueden clasificarse de acuerdo con su estructura química, estabilidad térmica, sensibilidad enzimática presencia de aminoácidos modificados y con su modo de acción (Sumi *et al.*, 2015). De esta manera, la clasificación propuesta por Rea *et al.* (2011) divide las bacteriocinas en tres clases: clase I, péptidos modificados incluyendo lantibióticos y lantipeptidos (clase Ia), labirintopeptinas (clase Ib), caracterizadas por la presencia de labionina que es un amino ácido carbáclico modificado postraduccionalmente, y sactibióticos (clase Ic), que son péptidos cíclicos pequeños altamente modificados postraduccionalmente; clase II, que incluye péptidos no modificados menores a 10kDa, subdivididos en cuatro subclases: péptidos relacionados con pediocina (clase IIa), bacteriocinas de dos péptidos (IIb), bacteriocinas circulares (IIc) y bacteriocinas de un péptido lineal y no relacionadas con pediocina (II d); y finalmente la clase III (bacteriolisinas), un grupo de proteínas termolábiles con propiedades antibióticas que debido a su tamaño (> 30KDa), dichos autores no las consideran bacteriocinas propiamente dichas. De manera general, merece resaltar que las bacteriocinas están involucradas en la defensa contra bacterias estrechamente relacionadas con las bacterias que las producen (Motta *et al.*, 2008).

Los péptidos de síntesis no ribosomal se caracterizan por contener iminoácidos. A nivel estructural son macrociclos

ya sea ramificados o dímeros y trímeros de elementos estructurales idénticos (Martínez-Nuñez y López, 2016). Adicionalmente, son sintetizados por complejos enzimáticos definidos como enzimas modulares multidominio, denominadas sintetasas de péptidos no ribosomales (NRPSs), donde cada módulo incorpora un aminoácido al esqueleto peptídico (Ongena y Jaques, 2008; Aleti *et al.*, 2015; Mora *et al.*, 2015; Sumi *et al.*, 2015; Wu *et al.*, 2015b; Bloudoff *et al.*, 2016). De esta manera, cada módulo consta de tres dominios: *i*) dominio de adenilación (A) formado por 550 residuos de aminoácidos, *ii*) dominio portador de péptido (PCP) o tiolación (T) de 80 aminoácidos y *iii*) dominio de formación del enlace peptídico o de condensación (C), el cual consta de 450 aminoácidos (Bloudoff *et al.*, 2016).

Los PKs son una familia muy diversa de productos naturales que son biosintetizados mediante repetidas condensaciones de descarboxilación de Claisen (polimerización de subunidades acetilo y propionilo), entre la unidad extensora y la cadena de policétido creciente (Summi *et al.*, 2015). La maquinaria de síntesis de PKs está compuesta de tres dominios principales: *i*) dominio de aciltransferasa (AT), *ii*) dominio portador de acilo (ACP) y *iii*) dominio de cetosintasa (KS) (Walsh *et al.*, 2004; Aleti *et al.*, 2015; Summi *et al.*, 2015). Los PKs producidos por especies de *Bacillus* pueden ser de naturaleza PKs o híbridos entre PKs y NRPSs (Ongena y Jaques, 2008; Aleti *et al.*, 2015). Para su biosíntesis es importante la participación de una enzima denominada fosfopanteteinil transferasa (PPT), la cual es codificada por el gen *spf* (Mootz *et al.*, 2001). Esta enzima es esencial en la activación de los dominios ACP

dentro del complejo enzimático sintetasa y también está involucrada en modificaciones y arreglos en la maquinaria de síntesis de NRPs (Aleti *et al.*, 2015; Wu *et al.*, 2015b). La síntesis de NRPs y PKs es dependiente de *sfp*, por lo cual incluso ha sido utilizado en la clasificación de los péptidos antimicrobianos producidos por cepas del género *Bacillus* (Tabla 1).

Dentro de los compuestos antimicrobianos producidos por *Bacillus* spp., Ongena y Jaques (2008), destacan la importancia de tres familias de lipopéptidos (del grupo de los NRP): surfactinas, iturinas y fengicinas. Estas moléculas son bioactivas contra un amplio rango de fitopatógenos (virus, bacterias, hongos y oomicetes). Así, diversos trabajos describen la síntesis de estas sustancias a nivel *in vitro* (Tabla 2), mostrando el gran potencial que presentan diferentes cepas del género *Bacillus* para el control de agentes fitopatógenos. Sin embargo, la expresión de estas sustancias bajo modelos de experimentación *in vitro* no permite asegurar que efectivamente se sinteticen en presencia de la planta y del patógeno bajo condiciones naturales, en consecuencia, su real rol como mecanismo de acción en estrategias de control debe ser considerado cautelosamente.

En este contexto, se pudo demostrar que la cepa de *B. amyloliquefaciens* 629, es capaz de producir iturinas, fengicinas y surfactinas a nivel *in vitro* bajo diferentes condiciones de temperatura y medios de cultivo (Monteiro *et al.*, 2016). Sin embargo, estos mismos autores reportan que esta bacteria es incapaz de producir estos compuestos en presencia de la planta. A continuación se desarrollan algunos ejemplos donde este tipo de sustancias se expresan en el contexto de la interacción planta - patógeno-biocontrolador.

### Síntesis de sustancias antimicrobianas en el sistema tritrófico

Una de las dificultades para estudiar la producción de los compuestos antimicrobianos en los sistemas tritróficos es la naturaleza anfífila de los lipopéptidos, lo que hace que estos compuestos se puedan adsorber a diferentes fracciones del suelo o embeberse en las estructuras lipídicas de organismos blanco o no blanco (Raaijmakers *et al.*, 2010). Sin embargo, diferentes aproximaciones han servido como herramienta para dilucidar los mecanismos de acción de estas moléculas como biocontroladoras. Un aporte importante lo están brindando las aproximaciones “Omicas”

**Tabla 1.** Principales grupos de metabolitos antimicrobianos producidos por *Bacillus* spp.

Grupo de metabolito antimicrobiano	Tipo de metabolito	Genes	Fitopatógenos contra los cuales tiene actividad		Referencia
			Tipo patógeno	Especie	
Lipopéptidos de síntesis no ribosomal dependientes de <i>sfp</i> (NRPs)	Surfactina	<i>srf</i> ABCD	Hongo	<i>Botrytis cinérea</i> <i>Lasiodiplodia theobromae</i>	Cawoy <i>et al.</i> , 2014 Sajitha y Arun, 2016
			Bacteria	<i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	Li <i>et al.</i> , 2016
	Iturina: (Bacilomicina)	<i>bmy</i> CBAD	Bacteria	<i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	Cheng <i>et al.</i> , 2016
			Hongos	<i>Rhizotocnia solani</i>	Zhou <i>et al.</i> , 2016
			Oomicetes	<i>Phytophthora capsici</i>	Park <i>et al.</i> , 2016
	Fengicina	<i>fen</i> ABCDE	Bacterias	<i>Ralstonia solanacearum</i>	Villegas-Escobar <i>et al.</i> , 2018
			Hongos	<i>Mycosphaeraella fijiensis</i> <i>Fusarium solani</i>	González-Jaramillo <i>et al.</i> , 2017 Mardanova <i>et al.</i> , 2017
Bacilibactina	<i>Dhb</i> ABCDEF	Hongos	<i>Verticillium</i> sp	Li <i>et al.</i> , 2014	
Policétidos de síntesis no ribosomal dependientes de <i>sfp</i> (PKS)	Macrolactina	<i>mIn</i> ABCDEFGH	Bacterias	<i>Ralstonia solanacearum</i>	Yuan <i>et al.</i> , 2014
	Bacilena	<i>bae</i> BCDE, <i>acpk</i> , <i>bae</i> GHIJLMNRS	Bacterias	<i>Myxococcus xanthus</i>	Muller <i>et al.</i> , 2014
	Dificidina	<i>dfn</i> ABCDEFGH- JKLMXY	Bacterias	<i>Xanthomonas oryzae</i>	Wu <i>et al.</i> , 2015a
Péptidos de síntesis no ribosomal independientes de <i>sfp</i> (NRP)	Bacilicina	<i>bac</i> ABCDE, <i>ywf</i> G	Bacterias	<i>Xanthomonas oryzae</i>	Wu <i>et al.</i> , 2015a
			Hongos	<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	Sajitha y Arun, 2016
Péptidos de síntesis ribosomal (RiPPs)	Plantazocilina	<i>pzn</i> FKGHIAJC DBEL	Nematodos	<i>Caenorhabditis elegans</i>	Liu <i>et al.</i> , 2013
	Amilociclina	<i>acn</i> ABCDEFG	Bacterias	<i>Escherichia coli</i> <i>Erwinia</i> spp	Scholz <i>et al.</i> , 2014
	Mersacidina	<i>mrs</i> K2R2FGE	Bacterias	<i>Staphylococcus</i> spp	Kayalvizhi <i>et al.</i> , 2014

**Tabla 2.** Actividad antagonista *in vitro* de compuestos antimicrobianos de *Bacillus* spp. contra microorganismos fitopatógenos encontrada en estudios recientes.

Metabolito	Cepa de <i>Bacillus</i> evaluada	Fitopatógeno	Referencia
NRPs dependientes de <i>sfp</i> Surfactina, fengicina D e iturinas (Bacilomicina y micosubtilina)	<i>Bacillus</i> sp.	<i>Ralstonia solanacearum</i> <i>Erwinia amylovora</i> <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> <i>Pectobacterium carotovorum</i> sbsp. <i>carotovorum</i>	Mora <i>et al.</i> , 2015
NRPs dependientes de <i>sfp</i> Fengicina D, iturina C y surfactina A	<i>B. subtilis</i> A15 <i>B. amyloliquefaciens</i> D29 <i>B. methylotrophicus</i> H8	<i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	Elshakh <i>et al.</i> , 2016
NRPs dependientes de <i>sfp</i> : surfactinas	<i>B. methylotrophicus</i> 39b	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	Frikha-Gargouri <i>et al.</i> , 2017
NRPs dependientes de <i>sfp</i> : Fengicina	<i>B. amyloliquefaciens</i> BDPI	<i>Pyricularia oryzae</i>	Liao <i>et al.</i> , 2016
NRPs dependientes de <i>sfp</i> : Fengicina C	<i>B. subtilis</i> EA-CB0015	<i>Mycosphaeraella fijiensis</i>	Mosquera <i>et al.</i> , 2014
NRPs dependientes de <i>sfp</i> : Bacilomicina D y bacilibactina	<i>B. amyloliquefaciens</i> SQR9	<i>Phytophthora parasitica</i>	Li <i>et al.</i> , 2014

(metagenómica, transcriptómica y metabolómica), unidas a sistemas de detección más sensibles, como la técnica HPLC de ultra alta resolución, acoplada a espectrometría de masas. Esta estrategia ha permitido la construcción de “metabolomas”, definidos como el conjunto completo de metabolitos de una muestra biológica o de un organismo en un momento dado y bajo unas condiciones determinadas (Villas-Boas *et al.*, 2007).

En este contexto, el estudio de Debois *et al.*, (2014) puso en evidencia la secreción de NRPs tipo surfactinas, fengicinas e iturinas por la cepa de *B. amyloliquefaciens* S499, en cantidades diferenciales en la escala espacio-temporal cuando está en contacto con plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*). Estos compuestos antimicrobianos fueron medidos mediante formación de imagen de espectrometría asociada a deionización laser (MALDI-MSI). Los autores sugieren que la secreción de estas sustancias podría estar correlacionada con la actividad biocontroladora de esta cepa. Un estudio posterior, en el cual se evaluó la cepa de *B. amyloliquefaciens* FZB42 contra el hongo *Rhizoctonia solani* en plantas de lechuga, permitió medir con cromatografía líquida de ultra alta resolución (UPLC) la producción de surfactinas, fengicinas y bacilomicina D en la rizosfera de la planta, indicando que la expresión de estos compuestos antimicrobianos fue importante en la reducción de los síntomas de enfermedad causadas por el patógeno (Chowdhury *et al.*, 2015b).

Así mismo, se demostró que la cepa de *B. subtilis* BB14 es capaz de producir iturinas en suelo rizosférico, lo cual fue medido durante el control de la enfermedad causada por *R. solani* en plantas de tomate empleando cromatografía líquida de alta precisión (HPLC). La producción de estas sustancias no se observó en las plantas control (Zohora *et al.*, 2016). A través de una estrategia similar, Aleti *et al.*, (2016) demostraron a través de HPLC, que una cepa de *B.*

*atropheus* produce una variante de surfactina C, la cual está involucrada en el control de *R. solani* en plantas de tomate.

Otra estrategia en el estudio de los mecanismos de biocontrol de microorganismos fitopatógenos en la planta, se basa en el uso de mutantes de cepas biocontroladoras en genes específicos. Guo *et al.* (2013) midieron los lipopéptidos sintetizados por *B. subtilis* NCD-2 durante el control de *R. solani* en plantas de algodón bajo condiciones de invernadero. Mediante espectrometría de masas se logró evidenciar la producción de fengicinas durante la interacción tritrófica. Al llevar a cabo la mutagénesis de un gen responsable de la síntesis de la fengicina sintetasa (*fenC*), demostraron que los mutantes eran incapaces de inhibir el crecimiento del hongo patógeno *in vitro* y de suprimir los síntomas del *damping-off* en la planta, demostrando así el papel de las fengicinas como un mecanismo de acción de la cepa NCD-2 en el control de *R. solani*.

De forma similar, mutantes en la síntesis de dificina y bacilicina (RS2 y RS6 respectivamente) de *B. amyloliquefaciens* FZB42, no lograron control de las enfermedades añublo bacteriano y raya bacteriana de la hoja del arroz, causadas por la bacteria *Xanthomonas oryzae*. De esta forma, los tratamientos con mutantes en dichos genes mostraron síntomas de enfermedad similares a hojas no tratadas con el biocontrolador, al ser expuestas con cepas de *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* y *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* respectivamente (Wu *et al.*, 2015a). Empleando una estrategia similar, se pudo demostrar que mutaciones en el gen *gltB* que regula la producción de bacilomicina L y fengicinas en la cepa de *B. subtilis* Bs916, ocasionaron la pérdida de la capacidad biocontroladora contra *R. solani* en el añublo de la vaina en plantas de arroz (Zhou *et al.*, 2016). Otro estudio reporta la generación de un mutante de *B. subtilis* cepa 9407 en cinco sintetetasas de fengicina ( $\Delta ppsB$ ), el cual falla en disminuir la incidencia de la mancha anular

de la manzana causada por *Botryosphaeria dothidea* en frutos (Fan *et al.*, 2017).

Los diferentes estudios sobre el papel de compuestos antimicrobianos en cepas del género *Bacillus*, empleadas para el control biológico de enfermedades a nivel *in vivo*, permiten concluir que estos compuestos efectivamente cumplen un papel relevante para el biocontrol de agentes fitopatógenos. La acción de estos compuestos está relacionada con la formación de poros en pared y membrana celular de microorganismos fitopatógenos, lo que conduce a la inhibición de su crecimiento y de manera indirecta en la inducción de las defensas de la planta (Ongena y Jaques, 2008; Shafi *et al.*, 2017).

### Competencia y colonización

Uno de los mecanismos empleados por los agentes de control biológico poco reconocido es la formación de biopelículas (Fig. 1c). Las biopelículas pueden ser consideradas como capas compactas relativamente uniformes, formadas por el crecimiento concertado y organizado de microorganismos. La formación de estas biopelículas les permite a los agentes de control biológico ser buenos colonizadores (Posada *et al.*, 2018), ya que les proporciona una ventaja adaptativa al proteger a la población de condiciones ambientales adversas y otros factores mecánicos, lo que puede conducir además a la exclusión de nicho de los patógenos (Lalloo *et al.*, 2010; Rafique *et al.*, 2015).

Antes de la existencia de una biopelícula, debe existir atracción a través de un proceso denominado quimiotaxis para la posterior colonización por parte de las bacterias. Para esto, las plantas crean un ambiente específico en los aspectos nutricionales y fisicoquímicos, que permiten el desarrollo de microorganismos en la rizosfera. De esta manera la secreción de exudados, que puede equivaler hasta el 30 % del fotosintato, atraen microorganismos en asociaciones benéficas con las plantas (Huang *et al.*, 2014). Esta relación es específica, donde los exudados de la planta median las interacciones multitróficas en la rizosfera, a nivel de especie, y a nivel de comunidad. En este contexto, la estructura de la comunidad rizosférica puede variar dependiendo del genotipo de la planta (Bulgarelli *et al.*, 2012) y de la composición de los exudados rizosféricos (Badri *et al.*, 2013). En este último caso, la planta libera componentes específicos para mediar la interacción especie-especie entre planta-microorganismo. Un ejemplo de esta especificidad está dado por el ácido málico, que ejerce un efecto positivo en el reclutamiento de bacterias promotoras de crecimiento vegetal del género *Bacillus* (Rudrappa *et al.*, 2008).

Otro aspecto importante para considerar es que los cambios en los perfiles de exudados rizosféricos pueden resultar en el enriquecimiento de ciertos microorganismos. Yuan *et al.* (2015), al estudiar por HPLC los exudados de raíz de plantas de banano, encontraron la presencia

de varios ácidos orgánicos como fumárico, oxálico y málico que permiten la colonización de *B. amyloliquefaciens* NJN-6 y la inducción de genes involucrados en formación de biopelículas y quimiotaxis en la bacteria. Así mismo, mediante el estudio de los exudados de *A. thaliana*, se logró identificar que una cepa de *B. subtilis* era atraída hacia la rizosfera de la planta, censando las sustancias mediante múltiples receptores de quimiotaxis, para posteriormente establecer la formación de una biopelícula (Allard-Massicotte *et al.*, 2016).

También se ha observado que la presencia de patógenos en la rizosfera induce cambios en los exudados que permiten establecer interacciones de la planta con microorganismos benéficos. Este fenómeno en particular se demuestra en la rizosfera de plantas de pepino, donde la infección del patógeno *Fusarium oxysporum* subsp *cucumerinum* tuvo un efecto positivo sobre la colonización y la formación de biopelícula de la cepa de *B. amyloliquefaciens* SQR9. La presencia de dicho fitopatógeno permite aumentar la secreción de los ácidos cítrico y fumárico en la raíz, que atraen al biocontrolador y mejoran su capacidad de colonización, trayendo como consecuencia una disminución en los síntomas de enfermedad causados por el patógeno (Liu *et al.*, 2014).

En el mismo contexto, un estudio sobre la cepa de *B. amyloliquefaciens* SQY 162 mostró que la formación de biopelícula representaba un requisito para la competencia en la rizosfera, permitiendo evidenciar que los exudados de plantas de tabaco estimulan la síntesis de surfactina por el biocontrolador y con ello la formación de la biopelícula, que a su vez es un requisito para el control de *R. solanacearum*, causante de la marchitez bacteriana (Wu *et al.*, 2015a). En otro estudio, mutantes de *B. subtilis* en genes responsables de la formación de biopelícula (*sinI*, *epsA-O* y *tasA*) han mostrado fallar en la producción de surfactina, y por ende en la formación de biopelícula, la colonización de la raíz y en el control de la enfermedad causada por *R. solanacearum* en plantas de tomate (Chen *et al.*, 2013). De manera similar, mutantes de la cepa de *B. subtilis* UMAF6614 para la producción de surfactina, no son capaces de formar biopelículas y en consecuencia no logran colonizar el filoplano de plantas de melón. Sin embargo, parte de la actividad biocontroladora se debe también a la producción de bacilomicinas y fengicinas por células de la biopelícula, por lo que la producción de surfactina no es suficiente para lograr el biocontrol de enfermedades bacterianas (*Pectobacterium carotovorum*, *Xanthomonas campestris*) ni fungicas (*Podasphaera fusca*) en el melon (Zerriouh *et al.*, 2014).

Otro aspecto asociado a la colonización como mecanismo de control biológico de cepas de *Bacillus* spp. es la competencia por nutrientes, reflejado, por ejemplo, en la capacidad de producir sideróforos (Yu *et al.*, 2011; Shafi *et al.*, 2017). El hierro, elemento fundamental para la vida de los organismos, es un factor limitante en el suelo rizosférico.

Los sideróforos son compuestos de bajo peso molecular que tienen la habilidad de secuestrar hierro férrico (Fe III), aunque también existen otros tipos de compuestos quelantes de otros minerales y metales (Ahmed y Holmstrom, 2014). Así, las bacterias sintetizadoras de este tipo de moléculas tendrán una ventaja competitiva en este aspecto frente a fitopatógenos que no los producen. En cepas de *Bacillus* hay pocos estudios recientes sobre el papel de sideróforos en biocontrol. Sin embargo, Yu *et al.* (2011) encontraron que la actividad de biocontrol de *B. subtilis* CAS15 contra *Fusarium* en plantas de pimienta, se debe a la producción de un sideróforo tipo catecolico denominado bacilibactina, permitiendo a la cepa reducir la incidencia de *Fusarium* entre un 12,5 y 56,9 %, efecto de control que se ve afectado por la suplementación de hierro.

La relación de la formación de biopelículas con la colonización de bacterias del género *Bacillus* tiene gran importancia en el control biológico de microorganismos de fitopatógenos. Como bien lo plantean Pandin *et al.*, (2017), dicha relación esta mediada por varios aspectos que pueden resumirse en cuatro aspectos fundamentales: *i*) antagonismo directo por exclusión de nicho, debido a competencia por espacio y nutrientes, *ii*) comunicación microbiana en términos de cooperación e interferencia, la primera entre benéficos y la segunda entre benéficos y patógenos (Chen *et al.*, 2015), *iii*) producción de compuestos antimicrobianos por las células componentes de la biopelícula (Wu *et al.*, 2015c) y *iv*) la fitoestimulación de la planta.

### Enzimas líticas

Los microorganismos biocontroladores sintetizan enzimas líticas como quitinasas,  $\beta$ -1,3-glucanasas, peroxidasas, proteasas y lipasas (Jha *et al.*, 2014; Mota *et al.*, 2017). Las quitinasas y  $\beta$ -1,3-glucanasas degradan la pared celular de hongos y pueden causar lisis celular en estos organismos, a la vez esta acción permite la liberación de oligómeros de quitina y glucano, los cuales funcionan como elicitores de las defensas de la planta (Jha *et al.*, 2014).

En este sentido se ha demostrado que la cepa de *Bacillus* sp. BT42 disminuye la incidencia de *Colletotrichum gloeosporoides* y *F. oxysporum* en plántulas de café (*Coffea arabica* L.) a 2,8 % y 0 % en relación con los controles de enfermedad que presentaron una incidencia de 91,7 % y 88,9 %, debido a la producción  $\beta$ -1,3-glucanasas (Kejela *et al.*, 2016).

De manera adicional, cepas de *Bacillus* spp. pueden producir enzimas que participan en la interrupción de la comunicación bacteriana (*Quorum Sensing*), proceso denominado *Quorum Quenching* (Fig. 1d). Se han reportado más de 20 aislamientos del género *Bacillus* capaces de inactivar AHLs, debido a la producción de enzimas AHLs lactonasas. Estas enzimas codificadas por el gen *aiiA* poseen un amplio rango de sustratos de AHLs (C4, C6, C10-HSL, 3OC4, 3OC6, 3OC8, 3OC12-HLS, 3-OH-C4-HLS) (Dong *et al.*, 2002; Chen *et al.*, 2013) y tienen la capacidad de romper

el anillo de lactona lo que modifica e inactiva la molécula de AHL.

Este mecanismo es importante en el biocontrol de agentes patógenos que regulan los factores de virulencia mediante QS dependiente de AHLs. Una prueba de ello es el estudio de Garge y Nerurkar, (2017), en el que se mostró que tres aislamientos de *Bacillus* sp., As30, Gs42 y Gs52, fueron capaces de atenuar los síntomas de *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* en plántulas de *Vigna radiate*, debido a la producción de AHLs lactonasas, degradadoras de 3-oxo-hexanoil homoserin lactona (OHHL), que regulan la producción de poligalacturonasa y pectato liasa, éstos dos últimos, considerados factores de virulencia de esta bacteria necrotrofica.

### Producción de compuestos orgánicos volátiles

La palabra compuestos orgánicos volátiles o VOCs se emplea para denominar moléculas volátiles de bajo peso molecular, menor o igual a 300 g/mol, entre las que se incluyen aldehídos, alcoholes, cetonas, hidrocarburos, índoles, terpenos y jasmonatos (Van Loon, 2007). Los VOCs son importantes mediadores de la comunicación entre diferentes reinos (Dweck *et al.*, 2015). Algunos de ellos están involucrados en la interacción entre las plantas y herbívoros y enemigos naturales, e incluso en las interacciones entre microorganismos (Jones *et al.*, 2017), entre diferentes especies de plantas y entre microorganismos y plantas (Ryu *et al.*, 2003).

Las rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal emiten VOCs que pueden elicitar inducción de resistencia y tolerancia sistémicas (ITS, del inglés Induced Tolerance Systemic) en la planta (Fig. 1b), lo cual reduce el estrés biótico y abiótico en los sistemas agronómicos y mejora la salud vegetal (Bitas *et al.*, 2013). Adicionalmente, los VOCs pueden actuar de manera directa sobre microorganismos patógenos produciendo daño en el ADN (Mitchel *et al.*, 2010) (Tabla 3). En este contexto, merecen destacarse el benzotiazol, el benzaldehído, el fenilacetaldehido, el ciclohexanol, 2-etil-1-hexanol, el 2,3-butanodiol, el n-decanal y el nonanal entre otros, de los que se ha comprobado poseen actividad antimicrobiana (Effmert *et al.*, 2012).

### Inducción de las defensas de la planta

El término resistencia inducida se usa de manera genérica para referirse a un estado en el cual las plantas son estimuladas de manera biológica o química para resistir a futuros ataques por parte de herbívoros y patógenos (Jones y Dangl, 2006; Burketova *et al.*, 2015). Esta inducción se lleva a cabo mediante la activación de mecanismos de defensa, no solo de manera local si no en sitios de la planta distantes al sitio donde ha sido estimulada, lo que la hace "sistémica" (Burketova *et al.*, 2015).

Las plantas activan una respuesta inmunitaria multifacética que las protege del ataque de microorganismos patógenos (bacterias, hongos, oomicetes y virus).

Tabla 3. Actividad antimicrobiana de VOCs producidos por cepas de *Bacillus* sp.

Cepa de <i>Bacillus</i> evaluada	VOCs	Agente Fitopatógeno	Referencia
<i>Bacillus</i> sp. cepa D13	3,5,5-trimetilhexanol Decilalcohol	<i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> (Xoo)	Xie <i>et al.</i> , 2018
<i>B. amyloliquefaciens</i> FZB42 <i>B. artrophaeus</i> LSSC22	Benzaldehído, 1,2-benzisotiazol-3 (2H y 1,3-butadieno	<i>Ralstonia solanacearum</i>	Samad <i>et al.</i> , 2016
<i>B. amyloliquefaciens</i> CPA-8	1,3-pentadieno, acetoin (3-hidroxi-2-butanona) y tiofeno	<i>Monilinia fructicola</i>	Gotor-Vila <i>et al.</i> , 2017
<i>B. velezensis</i> ZSY-1	2-tridecanona, pirazidina (2,5-dimetil), benzotiazola, fénol (4-cloro-3-metil).	<i>Botrytis cinérea</i> <i>Alternaria solani</i>	Gao <i>et al.</i> , 2017
<i>B. subtilis</i> FA26	Benzaldehído, nonanal, benzotiazol y acetofenona	<i>Clavibacter michiganensis</i> ssp. <i>sepedonicus</i>	Rajer <i>et al.</i> , 2017

Dicha inmunidad está constituida por barreras físicas (cutícula, pared celular, pelos) y químicas (compuestos antimicrobianos), así como por respuestas inducidas que dependen del reconocimiento del patógeno (López, 2008; Burketova *et al.*, 2015).

Una primera línea de defensa en las plantas se basa en el reconocimiento de patrones moleculares asociados a patógenos o microorganismos (PAMPs/MAMPs por sus siglas en inglés), como la flagelina y la quitina presentes en las paredes celulares de los mismos (Zipfel y Robatzek, 2010). Esta defensa basal se denomina PTI o mediada por MAMPs/PAMPs (PAMP triggered immunity). Existen además otras señales externas que la pueden activar, como las asociadas a señales de daño como moléculas de pectina (DAMP) (Souza *et al.*, 2017). Tanto los MAMPs como los DAMPs activan cascadas de eventos de señalización que conducen a la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), óxido nítrico (NO) y a la activación de proteínas quinasas (MAPK y CPDK) (Souza *et al.*, 2017). Todos estos eventos son modulados por factores de transcripción y conllevan a la expresión de genes que codifican proteínas relacionadas con patogénesis (PR, *pathogenesis related*), tales como enzimas hidrolíticas (glucanasas y quitinasas), activación de producción de compuestos antimicrobianos como fitoalexinas, reforzamiento de la pared celular a través de la deposición de calosa y lignina y cierre estomático (Burketova *et al.*, 2015).

De otra parte, hay dos tipos de resistencia inducida: la inducción de resistencia sistémica (ISR) y la resistencia sistémica adquirida (SAR). La ISR es inducida por microorganismos benéficos a través de diferentes elicitores, dentro de los que se incluye MAMPs, VOCs, compuestos asociados a la degradación de la pared celular (Buterkova *et al.*, 2014; Pieterse *et al.*, 2014), sideróforos y lipopéptidos (NRPs) (Chandler *et al.*, 2015). Esto permite deducir que la ISR elicitada por cepas de *Bacillus* spp. puede llevarse a cabo mediante PTI (Niu *et al.*, 2016). De otra parte, la SAR es inducida por exposición temporal a patógenos a través de diversos elicitores (Li *et al.*, 2016). Tanto en la ISR como en la

SAR la señalización se encuentra mediada por fitohormonas como el ácido salicílico (SA), el ácido jasmonico (JA) y el etileno (ET) (Pieterse *et al.*, 2014).

La ISR realizada por cepas de *Bacillus* ha sido reportada en muchas especies de plantas y resulta efectiva contra un amplio rango de patógenos (Tabla 4) (Shafi *et al.*, 2017). Esta ISR requiere señalización de vías dependientes de JA y ET y lleva a la expresión de algunos genes como defensina 1.2 (*pdf1.2*) (Pieterse *et al.*, 2014). También la vía de señalización tiene como intermediario el gen *npr1* (Nie *et al.*, 2017). A pesar de que se ha postulado que la ISR es dependiente de JA/ET y no de SA, es posible la comunicación cruzada entre las vías y es común observar que los microorganismos benéficos, como cepas de *Bacillus*, no solo inducen la ISR dependiendo de JA/ET, si no que pueden estimular la SAR produciendo SA sobre la superficie de la raíz (Fig. 1e) (Choudhary *et al.*, 2007; Li *et al.*, 2015). Es interesante notar que una combinación de ISR y SAR puede incrementar la protección contra diferentes patógenos (Choudhary *et al.*, 2007).

La ISR no solo puede ser inducida por VOCs y MAMPs, sino que algunos compuestos antimicrobianos de tipo NRPs pueden igualmente estimular este tipo de resistencia. Cawoy *et al.* (2014) demostraron mediante la comparación del secretoma de seis cepas de *Bacillus* sp, medidos en presencia de los exudados de la raíz por HPLC acoplada a MS, una fuerte correlación entre la actividad de inducción de defensa de plantas de tabaco contra el patógeno *Botrytis cinerea*, y la cantidad de surfactinas producidas por dichos aislamientos. Otros estudios que han llegado a conclusiones similares han sido igualmente reportados en la literatura (Tabla 4) (Chowdhury *et al.*, 2015b; Shafi *et al.*, 2017).

A nivel *in vivo*, los VOCs también pueden jugar un rol importante en el biocontrol en la planta mediante la activación de las defensas. El estudio de Ryu *et al.* (2003) identificó 2-3-butanediol, el cual es producido por *B. subtilis* GB03 y *B. amyloliquefaciens* IN937a, como un inductor de la resistencia en *A. thaliana* contra *Pectobacterium carotovorum* subs *carotovorum*. De la misma manera, Song *et al.* (2013) reportan la producción de 3-pentanol y 2-butanona, los

**Tabla 4.** Inducción de resistencia sistémica realizada por cepas de *Bacillus* sp.

Cepa de <i>Bacillus</i> evaluada	Elicitor	Genes activos/Hormona	Patosistema	Referencia
<i>B. cereus</i> AR156	MAMPs	<i>PR1, NPR1, SID2-2, NAHG, JAR1, ein2 / ND</i>	<i>Arabidopsis thaliana - Pseudomonas syringae pv tomato</i>	Niu <i>et al.</i> , 2016
<i>B. amyloliquefaciens</i> FZB42 <i>B. artrophaeus</i> LSSC22	VOCs	<i>RRS1, NPR1, EDS1/ ND</i>	<i>Nicotiana tabacum – Ralstonia solanacearum</i>	Samad <i>et al.</i> , 2016
<i>B. cereus</i> AR156	MAMPs	<i>PR1, PR2, PR3/SA</i>	<i>Arabidopsis thaliana - Botrytis cinerea</i>	Nie <i>et al.</i> , 2017
<i>B. amyloliquefaciens</i> LJ02	MAMPs/sobrenadantes	<i>PR1/SA</i>	<i>Cucumis sativus cv corona - Sphaeroteca fuliginea</i>	Li <i>et al.</i> , 2015
<i>B. subtilis</i> BBG111	MAMPs Lipopeptidos cíclicos	<i>RAB21, EBP89, ACS1, IAA9, JAMYB, JIOSPR10, PR10, NPR1/ JA, ET, ABA</i>	<i>Oryza sativa L – Rhizoctonia solani</i>	Chandler <i>et al.</i> , 2015
<i>B. amyloliquefaciens</i> HK34	ND	<i>PgPR5, pgPR10, pgCAT /ND</i>	<i>Panax ginseng - Phytophthora cactorum</i>	Dae <i>et al.</i> , 2015
<i>PaeniBacillus</i> sp. B2	ND	<i>CHI, PR3, LOX / ND</i>	<i>Vitis spp.- Plasmopara viticola</i>	Hao <i>et al.</i> , 2017
<i>B. altitudinis</i> JSCX-1	ND	<i>GmPR1a, GmLOX, GmEREBP/ JA, SA, ET</i>	<i>Glycine max - Phytophthora sojae</i>	Lu <i>et al.</i> , 2016

ND: No determinado, SA: Ácido salicílico, JA: Ácido jasmónico, ET: Etileno, ABA: Ácido absicico

cuales inducen la resistencia contra *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* en plantas de pepino.

e Innovación de Colombia (COLCIENCIAS) por la beca otorgada a través de la convocatoria 757 de 2016 a Luz Adriana Pedraza para adelantar estudios de doctorado.

## CONCLUSIONES

De manera general, se puede concluir que el mecanismo por el cual cepas de *Bacillus* son capaces de ejercer un biocontrol de organismos fitopatógenos es complejo, involucrando no solo los compuestos antimicrobianos, sino además otros compuestos como las enzimas líticas y los VOCs, pasando de forma muy importante por la inducción de respuestas de resistencia en la planta, producto de la interacción con estos compuestos de origen microbiano. Muy seguramente, en las cepas de *Bacillus* reconocidas como biocontroladoras no existe un único mecanismo de biocontrol y muy probablemente un biocontrol efectivo está asociado a la acción sinérgica de varios (o todos) de ellos. El desafío en los años por venir es lograr identificar los genes y compuestos implicados en cada uno de estos mecanismos y su efecto sinérgico. Sin duda alguna, los experimentos derivados de las ciencias ómicas, acompañados de estudios de genómica funcional y análisis de mutantes, develarán varios de los misterios escondidos detrás de la acción biocontroladora de estas cepas bacterianas. El conocimiento generado a través de este tipo de aproximaciones permitirá a mediano plazo el desarrollo de agentes de biocontrol comerciales de manera más dirigida y precisa, lo que redundará en una mejor protección de los cultivos y de la seguridad alimentaria.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la financiación de este trabajo por el Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología

## REFERENCIAS

- Ahmed E, Holmstron S. Siderophores in environmental research: roles and applications. *Microb Bioetchnol.* 2014;7(3):196-208. Doi: <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12117>
- Aleti G, Sessitsch A, Brader G. Genome minding: Prediction of lipopeptides and polyketides from *Bacillus* and related Firmicutes. *Comput Struct Biotechnol J.* 2015;13:192-203. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2015.03.003>
- Aleti G, Lehner S, Bacher M, Compant S, Nikolic B, Plesko M *et al.* Surfactin variants mediate species-specific biofilm formation and root colonization in *Bacillus*. *Environ Microbiol.* 2016; 18: 2634-2645. Doi: <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13405>
- Allard-Massicotte R, Tessier L, Lécuyer F, Lakshmanan V, Lucier J, Garneau D, *et al.* *Bacillus subtilis* early colonization of *Arabidopsis thaliana* roots involves multiple chemotaxis receptors. *mBio.* 2016;7(6):e01664-16. Doi: <https://doi.org/10.1128/mBio.01664-16>
- Badri DV, Chaparro JM, Zhan R, Shen Q, Vivanco JM. Application of natural blends of phytochemicals derived from the root exudates of *Arabidopsis* to the soil reveal that phenolic-related compounds predominantly modulate the soil microbiome. *J Biol Chem.* 2013;288(7):4502-4512. Doi: <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.433300>
- Bitas V, Kim HS, Bennett JW, Kang S. Sniffing on microbes: diverse roles of microbial volatile organic compounds in plant health. *Mol Plant Microbe Interact.* 2013;26(8):835-843. Doi: <https://doi.org/10.1094/MPMI-10-12-0249-CR>

- Bloudoff K, Fage C, Marahiel M, Schmeing M. Structural and mutational analysis of the nonribosomal peptide synthetase heterocyclization domain provides insight into catalysis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2016;114(1):95-100. Doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.1614191114>
- Brunelle T, Dumas P, Souty F, Dorin B, Nadaud F. Evaluating the impact of rising fertilizer prices on crop yields. *Agric Econ*. 2015;46(5):653-666. Doi: <https://doi.org/10.1111/agec.12161>
- Bulgarelli D, Rott M, Schlaeppi K, Ver Loren van Themaat E, Ahmadinejad N, Assenza F, Rauf P, *et al*. Revealing structure and assembly cues for *Arabidopsis* root-inhabiting bacterial microbiota. *Nature*. 2012;488(7409):91-95. Doi: <https://doi.org/10.1038/nature11336>. PMID:22859207
- Burketova L, Trda L, Ott P, Valentova O. Bio-based resistance inducers for sustainable plant protection against pathogens. *Biotechnol adv*. 2015;33(6 Pt2):994-1004. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.01.004>
- Cawoy H, Mariutto M, Henry G, Fisher C, Vasilyeva N, Thonart P, *et al*. Plant defense stimulation by natural isolates of *Bacillus* depends on efficient surfactin production. *Mol Plant Microbe Interact*. 2014;27(2):87-100. Doi: <https://doi.org/10.1094/MPMI-09-13-0262-R>
- Ceballos I, Mosquera S, Angulo M, Mira JJ, Argel LE, Uribe-Vélez D, Romero-Tabares M, Romero-Tabares M, *et al*. Cultivable Bacteria Populations Associated with Leaves of Banana and Plantain Plants and Their Antagonistic Activity Against *Mycosphaerella fijiensis*. *Microb Ecol*. 2012;64(3):641-653. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00248-012-0052-8>
- Chakraborty S, Newton A. Climate change, plant diseases and food security: an overview. *Plant Pathol*. 2011;60(1):2-14. Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2010.02411.x>
- Chandler S, Van Hese N, Coutte F, Jacques P, Hofte M, De Veesschauwer D. Role of cyclic lipopeptides produced by *Bacillus subtilis* in mounting induced immunity in rice (*Oryza sativa* L.). *Physiol Mol Plant Pathol*. 2015;91:20-30. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2015.05.010>
- Chen F, Gao Y, Chen X, Yu Z, Li X. Quorum Quenching Enzymes and Their Application in Degrading Signal Molecules to Block *Quorum Sensing*-Dependent Infection. *Int J Mol Sci*. 2013;14(9):17477-17500. Doi: <https://doi.org/10.3390/ijms140917477>
- Chen Y, Gozzi K, Yan F, Chai, Y. Acetic acid acts as a volatile signal to stimulate bacterial biofilm formation. *MBio*. 2015;6(3):e00392. Doi: <https://doi.org/10.1128/mBio.00392-15>
- Cheng J, Sagar K, Yang S, Suh J. Endophytic *Bacillus subtilis* MJMP2 from Kimchi inhibits *Xanthomonas oryzae* pv *oryzae*, the pathogen of rice bacterial blight disease. *J Appl Biol Chem*. 2016;59(2):149-154. Doi: <https://doi.org/10.3839/jabc.2016.027>
- Choudhary DK, Prakash A, Johri BN. Induced systemic resistance (ISR) in plants: Mechanism of action. *Indian J Microbiol*. 2007;47(4):289. Doi: <https://doi.org/10.1007/s12088-007-0054-2>
- Chowdhury SP, Hartmann A, Gao X, Borriss R. Biocontrol mechanism by root-associated *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 – a review. *Front. Microbiol*. 2015a;6:780. Doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00780>
- Chowdhury SP, Uhl J, Grosch R, Alquéres S, Pittroff S, Diétel K, *et al*. Cyclic lipopeptides of *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 subsp. *plantarum* colonizing the lettuce rhizosphere enhance plant defense responses towards the bottom rot pathogen *Rhizoctonia solani*. *Mol. Plant Microbe Interact*. 2015b;28(9):984-995. Doi: <https://doi.org/10.1094/MPMI-03-15-0066-R>
- Compant S, Duffy B, Nowak J, Clément C, Barka EA. Use of plant growth promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects. *Appl Environ Microbiol*. 2005;71(9):4951-4959.
- Dadaby K, Tulk P. Agrochemicals and their impact on human health: An analysis of pesticide use and incidences of diseases in the region of Rincon de Santa Marta. Report Final [on line]. Quebec, Canada: McGill Universite. Montreal. 2015. Disponible en: [https://www.mcgill.ca/pfss/files/pfss/agrochemicals\\_and\\_their\\_impact\\_on\\_human\\_health.pdf](https://www.mcgill.ca/pfss/files/pfss/agrochemicals_and_their_impact_on_human_health.pdf). Consulta: 13 de marzo de 2017.
- Dae B, Dutta S, Ryu H, Yoo S, Suh D, Park K. Induction of systemic resistance in *Panax ginseng* against *Phytophthora cactorum* by native *Bacillus amyloliquefaciens* HK34. *J Ginseng Res*. 2015;39:213-220. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jgr.2014.12.002>
- Debois D, Jourdan E, Smargiasso N, Thonart P, De pauw E, Ongena M. Spatio temporal monitoring of the anti-biome secreted by *Bacillus* biofilms on plant roots using MALDI Mass spectrometry imaging. *Anal Chem*. 2014;86(9):4431-4438. Doi: <https://doi.org/10.1021/ac500290s>
- Dweck H, Ebrahim S, Thoma M, Mohamed A, Keeseyl, Trona F, *et al*. Pheromones mediating copulation and attraction in *Drosophila*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015;112(21):E2829-2835. Doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.1504527112>
- Dong YH, Gusti A, Zhang Q, Xu J, Zhang L. Identification of Quorum-Quenching N-Acyl homoserine lactonases from *Bacillus* species. *Appl Environ Microbiol*. 2002;68(4):1754-1759. Doi: <https://doi.org/10.1128/AEM.68.4.1754-1759.2002>
- Effmert U, Kalderás J, Warnke R, Piechulla B. Volatile mediated interactions between bacteria and fungi in the soil. *J. Chem. Ecol*. 2012;38(6):665-703. Doi: <https://doi.org/10.1007/s10886-012-0135-5>
- Fan H, Ru J, Zhang Y, Wang Q, Li Y. Fengycin produced by *Bacillus subtilis* 9407 plays a major role in the biocontrol of apple ring rot disease. *Microbiological Res*. 2017;199:89-97. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.03.004>
- FAO. El estado mundial de la agricultura y la alimentación: La innovación en la agricultura familiar. Roma: Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura; 2015. p.1-175.
- Fickers P. Antibiotic compounds from *Bacillus*: Why are they so Amazing? *Am J Biochem Bioelectron*. 2012;8(1):38-43. Doi: <https://doi.org/10.3844/ajbb.2012.38.43>

- Fones H, Gurr S. Noxious gases and the unpredictability of emerging plant pathogens under climate change. *BMC Biol.* 2017;15(1):36. Doi: <https://doi.org/10.1186/s12915-017-0376-4>
- Frikha-Gargouri, O, Ben, D, Ghorbel I, Charfeddine I, Jlaiel L, Triki M. Lipopeptides from a novel *Bacillus methylotrophicus* 39b strain suppress *Agrobacterium* crown gall tumours on tomato plants. *Pest. Manag. Sci.* 2017;73(3):568-574. Doi: <https://doi.org/10.1002/ps.4331>
- Gao Z, Zhangf B, Liu H, Han J, Zhang Y. Identification of endophytic *Bacillus velenzensis* ZSY-1 strain and antifungal activity its volatile compounds against *Alternaria solani* and *Botrytis cinerea*. *Bio. Control* 2017;105:27-39. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.11.007>
- Garge S, Naerurkar S. Evaluation of quorum quenching *Bacillus* spp. For their biocontrol traits against *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* causing soft rot. *Biocatal Agric Biotechnol.* 2017;9:48-57. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2016.11.004>
- Gollin D, Worm C, Wingender A. Two Blades of Grass: The Impact of the Green revolution. Centre for this study of african economies. Oxford, United States: University of OxfordCSAE Working Paper WPS/2016-30. 2016; 45p.
- Gotor-Vila A, Franceso D, Usall, J, Ugolini L, Torres R, Mari M. Antifungal effect of volatile organic compounds produced by *Bacillus amyloliquefaciens* CPA-8 against fruit pathogen decays of cherry. *Food Microbiol.* 2016;64:219-225. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.01.006>
- Guo Q, Dong W, Li S, Lu X, Wang P, Zhang X, *et al.* Fengycin produced by *Bacillus subtilis* NCD-2 plays a major role in biocontrol of cotton seedling *damping-off* disease. *Microbiol Res.* 2013;169(7-8):533-540. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.12.001>
- Hao Z, Van D, Wipf D, Fayolle L, Chataignier O, Li X *et al.* Biocontrol of grapevine aerial and root pathogens by *Paenibacillus* sp. strain B2 and paenimyxin *in vitro* and *in planta*. *Bio Con.* 2017;109:42-50. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2017.03.004>
- Huang X, Chaparro J, Reardon K, Zhang R, Shen Q, Vivanco J. Rhizosphere interactions: root exudates, microbes and microbial communities. *Botany.* 2014;92(4):267-275. Doi: <https://doi.org/10.1139/cjb-2013-0225>
- Jha S, Kumar C, Modi H. Microbial chitinases: Manifestation and prospective. En: Garg N, Aeron A, editor(s). *Microbes in Process.* Portland, ME, USA.: Nova Science Publisher. 2014. p. 151-162.
- Jones JD, Dangl JL. The plant immune system. *Nature.* 2006;444:323-329. Doi: <https://doi.org/10.1038/nature05286>
- Jones S, Ho L, Rees C, Hill J, Nodwell J, Elliot M. *Streptomyces* exploration is triggered by fungal interactions and volatile signals. *eLIFE.* 2017;21738:1-21. Doi: <https://doi.org/10.7554/eLife.21738>
- Kamilova F, Okon Y, De Weert S, Hora K. Commercialization of microbes: manufacturing, inoculation, best practice for objective field testing, and registration. En: Lugtenberg B editors. *Principles of Plant Microbe Interactions.* Berlin: Springer; 2015.p. 319-327.
- Kayalvizhi N, Rameshkumar N, Gunasekaran P. Cloning and characterization of mersacidin like bacteriocin from *Bacillus licheniformis* MKU3 in *Escherichia coli*. *J. Food Sci Technol.* 2014;53(5):2298-2306. Doi: <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2195>
- Kejela T, Thakkar V, Thakor P. *Bacillus* species (BT42) isolated from *Coffea Arabica* L. rhizosphere antagonizes *Colletotrichum gloeosporioides* and *Fusarium oxysporum* and also exhibits multiple plant growth promoting activity. *BMC microbiology.* 2016;16(1):277. Doi: <https://doi.org/10.1186/s12866-016-0897-y>
- Laloo R, Moonsamy G, Ramchuran S, Gorgens J, Gardiner N. Competitive exclusion as a mode of action of a novel *Bacillus cereus* aquaculture biological agent. *Lett Appl Microbiol.* 2010;50(6):563-570. Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2010.02829.x>
- Lamichhane J, Dachbrodt-Saaydeh, Kudsk P. Toward a reduced reliance on conventional pesticides in European agriculture. *Plant dis.* 2016;100(1):10-24. Doi: <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-15-0574-FE>
- Li B, Li Q, Xu Z, Zhang N, Sheen Q, Zhang R. Responses of beneficial *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 to different soilborne fungal pathogens through the alteration of antifungal compounds production. *Front Microbiol.* 2014;5:636. Doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00636>
- Li Y, Gu Y, Li J, Xu M, Wei Q, Wang Y. Biocontrol agent *Bacillus amyloliquefaciens* LJ02 induces systemic resistance against cucurbits powdery mildew. *Front Microbiol.* 2015;6:883. Doi: <https://doi.org/10.3389/facmib.2015.00883>
- Li S, Xu S, Zhang R, Liu Y, Zhou R. The antibiosis action and rice-induced resistance, mediated by a lipopeptide from *Bacillus amyloliquefaciens* B014, in controlling rice disease caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *J Microbiol Biotechnol.* 2016;26(4):748-756. Doi: <https://doi.org/10.4014/jmb.1510.10072>
- Liao J, Chen P, Yang Y, Kan S, Hsieh F, Liu Y. Clarification of the antagonistic effect of the lipopeptides produced by *Bacillus amyloliquefaciens* BPD1 against *Pyricularia oryzae* via *in Situ* MALDI-TOF IMS analysis. *Molecules.* 2016;21(12):E1670. Doi: <https://doi.org/10.3390/molecules21121670>
- Liu Z, Budiharjo A, Wang P, Shi H, Fang J, Borriss R, Zhang K, Huang X. The highly modified microcin peptide plantazocilin is associated with nematocidal activity of *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2013;97(23):10081-10090. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00253-013-5247-5>
- Liu Y, Zhang N, Qiu M, Feng H, Vivanco J, Shen Q, *et al.* Enhanced rhizosphere colonization of beneficial *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 by pathogen infection. *FEMS Microbiol Lett.* 2014;353(1):49-56. Doi: <https://doi.org/10.1111/1574-6968.1240>

- Lu X, Zhou D, Chen X, Zhang J, Huang H, Wei L. Isolation and characterization of *Bacillus altitudinis* JSCX-1 as a new potential biocontrol agent against *Phytophthora sojae* in soybean (*Glycine max* L. Merr). *Plant soil*. 2016;416(1-2):53-66. Doi: <https://doi.org/10.1007/s11104-017-3195-z>
- Mahmood I, Imadi SR, Shazadi K, Gul A, Rehman KR. Effect of Pesticides on Environment. En: Hakeem K, Akhtar M and Abdulan S, editor(s) *Plant, soil and microbes*. New York: Springer; 2016. p: 253-269 Doi: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-27455-3>
- Martínez-Núñez MA, López VE. Nonribosomal peptides synthetases and their applications in industry. *Sustain Chem Process*. 2016;4:13 Doi: <https://doi.org/10.1186/s40508-016-0057-6>
- Mardanova A, Fanisovna G, Tafkilevisch M, Rashidovna M. *Bacillus subtilis* strains with antifungal activity against the phytopathogenic fungi. *J Agric Sci*. 2017;8(1):1-20. Doi: <https://doi.org/10.4236/as.2017.81001>
- Monteiro F, Vasconcelos F, Ongena M, Franzil L, Souza P, Souza J. Effect of temperature, pH and substrate composition on production of lipopeptides by *Bacillus amyloliquefaciens* 629. *Afr J Microbiol Res*. 2016;19(36):1506-1512. Doi: <https://doi.org/10.5897/AJMR2016.8222>
- Mootz HD, Finking R, Marahiel MA. 4'-Phosphopantetheinyl transferase in primary and secondary metabolism of *Bacillus subtilis*. *J. Biol. Chem*. 2001;276(40):37289-37298. Doi: <https://doi.org/10.1074/jbc.M103556200>
- Mora I, Cabrefiga J, Montesinos E. Cyclic lipopeptide biosynthetic genes and products, and inhibitory activity of plant-associated *Bacillus* against phytopathogenic bacteria. *PLoS One*. 2015;10(5):e0127738. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127738>
- Mosquera S, González-Jaramillo LM, Orduz S, Villegas-Escobar V. Multiple response optimization of *Bacillus subtilis* EA-CB0015 culture and identification of antifungal metabolites. *Biocatal Agric Biotechnol*. 2014;3(4):378-385. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2014.09.004>
- Motta AS, Flores FS, Souto AA, Brandelli A. Antibacterial activity of bacteriocin-like substance produced by *Bacillus* sp. P34 that targets the bacterial cell envelope. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2008;93(3):275-284. Doi: <https://doi.org/10.1007/s10482-007-9202-2>
- Mota M, Gomes C, Souza I, Moura A. Bacterial selection for biological control of plant disease: criterion determination and validation. *Braz J Microbiol*. 2017;48(1):62-70. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.09.003>
- Muller S, Strack DN, Hoefler BC, Straight PD, Kearns DB, Kirby J. Bacillaene and sporulation protect *Bacillus subtilis* from predation by *Myxococcus xanthus*. *Environ Microbiol*. 2014;80(18):5603-5610. Doi: <https://doi.org/10.1128/AEM.01621-14>
- Nie P, Li X, Wang S, Guo J, Zhao H, Niu D. Induced systemic resistance against *Botrytis cinerea* by *Bacillus cereus* AR156 through a JA/ET and NPR1 dependent signaling pathway and activates PAMP-triggered immunity in Arabidopsis. *Front Plant Sci*. 2017;8:238. Doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00238>
- Niu D, Wang X, Wang Y, Song X, Wang J, Guo J *et al*. *Bacillus cereus* AR156 activates PAMP-triggered immunity and induces a systemic acquired resistance through a NPR1 and SA- dependent signaling pathway. *Biochem Biophys Res Commun*. 2016;469(1):120-125. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.11.081>
- Oerke E-C, Dehne D-W, Schonbeck F, Weber A. *Crop Production and Crop Prot.: Estimated losses in major food and cash crops*. 1<sup>st</sup> Edition, Amsterdam: Elsevier. 1994. p.72-741
- Oerke E-C. Crop losses to pest. *J Agric Sci*. 2006;144(1):31-43. Doi: <https://doi.org/10.1017/S0021859605005708>
- Olmos J, Paniagua-Michel J. *Bacillus subtilis* A potential probiotic bacterium to formulated functional feeds for aquaculture. *J Microb Biochem Technol*. 2014;6:361-365. Doi: <https://doi.org/10.4172/1948-5948.1000169>
- Ongena M, Jacques P. *Bacillus* lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol. *Trends Microbiol*. 2008;16(3):115-125. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2007.12.009>
- Pandin C, Le Coq D, Canette A, Aymerich S, Briandet R. Should the biofilm mode of life be taken into consideration for microbial biocontrol agents? *Microb Biotechnol*. 2017;10(4):719-734. Doi: <https://doi.org/10.1111/1751.12693>
- Park K, Park Y, Ahamed J, Moon S. Elicitation of induced systemic resistance of chili pepper by iturin A analogs derived from *Bacillus vallismortis* EXTN-1. *Can J Plant Sci*. 2016;96(4):564-570. Doi: <https://doi.org/10.1139/CJPS-2015-0199>
- Pieterse CM, Zamioudis C, Berendsen RL, Weller DM, Van Wees SC, Bakker PA. Induced systemic resistance by beneficial microbes. *Annu Rev Phytopatholog*. 2014;52:347-375. Doi: <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082712-102340>
- Posada LF, Álvarez JC, Romero-Tabarez M, De Bashan L, Villegas-Escobar V. Enhanced molecular visualization of root colonization and growth promotion by *Bacillus subtilis* EA-CBOS75 in different growth systems. *Microbiol Res*. 2018;217:69-80. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.08.017>
- Raaijmakers JM, de Bruijn I, Nybroe O, Ongena M. Natural functions of lipopeptides from *Bacillus* and *Pseudomonas*: more than surfactants and antibiotics. *FEMS Microbiol Rev*. 2010;34(6):1037-1062. Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2010.00221.x>
- Rafique M, Hayat K, Mukhtar T, Anna, Khan AA, Afridi MS, *et al*. Bacterial biofilm formation and its role against agricultural pathogens. En: Mendez A, editor. *The battle against microbial pathogens: Basic Science, Technological advances and educational programs*. Spain: Formatex research Center; 2015.p. 373-382.
- Rajer FU, Wu H, Xie Y, Xie S, Raza W, Samad H, *et al*. Volatile organic compounds produced by soil-isolate, *Bacillus subtilis* FA26 induce adverse ultra-structural changes to the cells of *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus*, the causal agent of bacterial ring rot of potato. *Microbiology*. 2017;163(4):523-530. Doi: <https://doi.org/10.1099/mic.0.000451>

- Rea MC, Ross RP, Cotter PD, Hill C. Classification of bacteriocins from Gram-positive bacteria. En: Drider D, Rebuffat S, editor(s) Prokaryotic antimicrobial peptides; from genes to application. New York: Springer. 2011. p. 29-47. Doi: [https://doi.org/10.1007/978-1-4419-7692-5\\_3](https://doi.org/10.1007/978-1-4419-7692-5_3)
- Rudrappa T, Czymmek KJ, Paré PW, Bais HP. Root-secreted malic acid recruits beneficial soil bacteria. *Plant Physiol.* 2008;148(3):1547-1556. Doi: <https://doi.org/10.1104/pp.108.127613>. PMID:18820082
- Ryu C. Bacterial volatiles as airborne signals for plants and bacteria. En: Lugtenberg B, editor(s). Principles of plant-microbe interactions. Switzerland: Springer, Cham. 2015.p. 53-61. Doi: [https://doi.org/10.1007/978-3-319-08575-3\\_8](https://doi.org/10.1007/978-3-319-08575-3_8)
- Sajitha K, Arun S. Quantification of antifungal lipopeptide gene expression levels in *Bacillus subtilis* B1 during antagonism against sapstain fungus on rubberwood. *Biol control.* 2016;96:78-85. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.02.007>
- Samad H, Gu Q, Wu H, Niu Y, Huo R, Gao X. *Bacillus* volatiles adversely affect the physiology and ultra-structure of *Ralstonia solanacearum* and induce systemic resistance in tobacco against bacterial wilt. *Sci Rep.* 2016;7:40481. Doi: <https://doi.org/10.1038/srep40481>
- Savary S, Ficke A, Aubertot JN, Hollier C. Crop losses due to diseases and their implications for global food production losses and food security. *Food Sec.* 2012;4(4):519-537. Doi: <https://doi.org/10.1007/s12571-012-0200-5>
- Shafi J, Tian H, Ji M. *Bacillus* species as versatile weapons for plant pathogens: a review. *Biotechnol Biotechnol Equip.* 2017;31(3):446-459. Doi: <https://doi.org/10.1080/13102818.2017.1286950>
- Schisler DA, Slininger PJ, Behle RW, Jackson MA. Formulation of *Bacillus* spp. for biological control of plant diseases. *Phytopathology.* 2004;94(11):1267-1271. Doi: <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2004.94.11.1267>
- Scholz R, Vater J, Budiharjo A, Wang Z, He Y, Dietel K, et al. Amylocyclin, a novel circular bacteriocin produced by *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. *J Bacteriol.* 2014;196(10):1842-1852. Doi: <https://doi.org/10.1128/JB.01474-14>
- Singh R, Srivastava P, Singh P, Upadhyay S, Singh A. Human overpopulation and food security: Challenges for the agriculture sustainability. En: Singh R, Srivastava V, Singh A, Editor(s). Environmental issues surrounding human overpopulation. Edition: 1. India: IGI Global. 2016. p. 12-39. Doi: <https://doi.org/10.4018/978-1-5225.1683-5.ch002>
- Song GC, Ryu CM. Two volatile organic compounds trigger plant self-defense against a bacterial pathogen and a sucking insect in cucumber under open field conditions. *Intern J Mol Sci.* 2013;14(5):9803-9819. Doi: <https://doi.org/10.3390/ijms14059803>
- Souza C, Li S, Lin AZ, Boutrot F, Grossmann G, Zipfel C, et al. Cellulose-derived oligomers act as damage-associated molecular patterns and trigger defense-like responses. *Plant Physiol.* 2017;173(4):2383-2398. Doi: <https://doi.org/1104/pp.01680.2016>
- Summi CD, Yang BW, Yeo IC, Hahm YT. Antimicrobial peptides of the genus *Bacillus*: a new era for antibiotics. *Can J Microbiol.* 2015;61(2):693-103. Doi: <https://doi.org/10.1139/cjm-2014-0613>
- Van Loon LC. Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria. *Eur J Plant Pathol.* 2007;119(3):243-254. Doi: <https://doi.org/10.1007/s10658-007-9165-1>
- Villas-Boas S, Roessner U, Hansen M, Smedsgaard J, Nielsen J. Metabolome analysis: An introduction. Volume 24 of Wiley Series on Mass Spectrometry. Canadá: Jhon Wiley & Sons; 2007. 320.p.
- Villegas-Escobar V, González-Jaramillo LM, Ramírez M, Moncada RN, Sierra-Zapata L, Romero-Tabarez M. Lipopeptides from *Bacillus* sp . EA-CB0959: active metabolites responsible for *in vitro* and *in vivo* control of *Ralstonia solanacearum*. *Bio control.* 2018;125:20-28. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2018.06.005>
- Walsh CT. Polyketides and nonribosomal peptide antibiotics: modularity and versatility. *Science.* 2004; 303(5665):1805-1810. Doi: <https://doi.org/10.1126/science.1094318>
- Wu L, Wu H, Chen L, Yu X, Borriss R, Gao X. Difficidin and bacilysin from *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 have antibacterial activity against *Xanthomonas oryzae* rice pathogens. *Sci Rep.* 2015a;13(5):12975. Doi: <https://doi.org/10.1038/srep12975>
- Wu L, Wu HJ, Qiao J, Gao X, Borriss R. Novel Routes for Improving Biocontrol Activity of *Bacillus* Based Bioinoculants. *Front Microbiol.* 2015b;10(6):1395. Doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01395>
- Wu, K, Fang Z, Guo R, Pan B, Shi W, Yuan S, et al. Pectin enhances bio-control efficacy by inducing colonization and secretion of secondary metabolites by *Bacillus amyloliquefaciens* SQY 162 in the rhizosphere of tobacco. *PLoS One.* 2015c;10(5):e0127418. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127418>
- XieS, ZangH, Wu H, UddinRajerF, GaoX. Antibacterial effects of volatiles produced by *Bacillus* strain D13 against *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Mol Plant Pathol.* 2018;19(1):49-58 Doi: <https://doi.org/10.1111/mpp.12494>
- Yu X, Ai C, Xin L, Zhou G. The siderophore-producing bacterium, *Bacillus subtilis* CAS15, has a biocontrol effect on *Fusarium* wilt and promotes the growth of pepper. *Eur J Soil Biol.* 2011;47(2):138-145. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2010.11.001>
- Yuan J, Zhang F, Wu Y, Zhang J, Raza W, Shen Q, et al. Recovery of several cell pellet-associated antibiotics produced by *Bacillus amyloliquefaciens* NJN-6. *Lett Appl Microbiol.* 2014;59(2):169-176. Doi: <https://doi.org/10.1111/lam.12260>

- Yuan J, Zhang N, Huang Q, Raza W, Li R, Vivanco JM, *et al.* Organic acids from root exudates of banana help root colonization of PGPR strain *Bacillus amyloliquefaciens* NJN-6. *Sci Rep.* 2015;5:13438. Doi: <https://doi.org/10.1038/srep13438>
- Zerriouh H, De Vicente A, Pérez-García A, Romero D. Surfactin triggers biofilm formation of *Bacillus subtilis* in melon phylloplane and contributes to the biocontrol activity. *Environ Microbiol.* 2014;16(7):2196–2211. Doi: <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12271>
- Zhan S, Fu Y, Mersha Z, Pernezny K. Assessment of copper resistance in *Pseudomonas syringae* pv *phaseolicola*, the pathogen of halo blight on snap bean. *Crop Prot.* 2017;98:8-15. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2017.03.009>
- Zhou H, Luo C, Fang X, Xiang Y, Wang X, Zhang R, *et al.* Loss of GltB inhibits biofilm formation and biocontrol efficiency of *Bacillus subtilis* Bs916 by altering the production of  $\gamma$ -polyglutamate and three lipopeptides. *PLoS One.* 2016;11(5):e0156247. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0156247>
- Zipfel C, Robatzek S. Pathogen-associated molecular pattern – triggered immunity: veni, vidi...? *Plant physiol.* 2010;154(2):551-554. Doi: <https://doi.org/10.1104/pp.110.161547>
- Zohora US, Ano T, Rahman MS. Biocontrol of *Rhizoctonia solani* K1 by iturin A producer *Bacillus subtilis* RB14 seed treatment in tomato plants. *Adv Microbiol.* 2016;6(6):424-431. Doi: <https://doi.org/10.4236/aim.2016.66042>