



Artículo Científico

Potenciales mecanismos de control biológico de *Bacillus paralicheniformis* TRQ65 contra hongos fitopatógenos

Valeria Valenzuela-Ruiz, ¹Instituto Tecnológico de Sonora, 5 de febrero 818 sur, 85000, Cd. Obregón, Sonora, México. valeriavalenzuelaruiz@gmail.com; **Fannie Isela Parra-Cota**, Campo experimental Norman E. Borlaug, 85000, Cd. Obregón, Sonora, México. parra.fannie@inifap.gob.mx; **Gustavo Santoyo**, Instituto de Investigaciones Químico Biológicas, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Michoacán, México; ¹**María Isabel Estrada-Alvarado**, ¹**Luis Alberto Cira-Chávez**; **Ernestina Castro-Longoria**, Departamento de Microbiología, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California (CICESE), Ensenada, México; ¹**Sergio de los Santos-Villalobos***.

RESUMEN

Antecedentes/Objetivo. *Bacillus paralicheniformis* TRQ65 fue aislada de la rizósfera del trigo (*Triticum turgidum* subsp. *durum*) en campos comerciales en el Valle del Yaqui, México. El objetivo del presente estudio es explorar los posibles mecanismos de acción de control biológico de *Bacillus paralicheniformis* TRQ65 contra hongos fitopatógenos de importancia agrícola, por medio de la secuenciación y explotación del genoma.

Materiales y Métodos. La actividad de biocontrol de esta cepa se cuantificó mediante ensayos *in vitro* de cultivos duales, evaluando zonas de inhibición contra 11 hongos de importancia agronómica. Se realizó un análisis del genoma completo como minería genómica para evaluar su potencial de control biológico.

Resultados. La cepa TRQ65 mostró actividad de biocontrol contra el 45% de los hongos estudiados, con la mayor inhibición observada contra *Botrytis cinerea* (43.8% ± 9% al día 5). Basado en la secuenciación y análisis del genoma (antiSMASH), esta bioactividad podría estar asociada con la biosíntesis de lichenisina, bacilibactina y/o fengicina.

Conclusión. Esta investigación proporciona el primer acercamiento al potencial de actividad de control biológico de la cepa TRQ65. Se necesitan estudios adicionales para validar el uso de *Bacillus paralicheniformis* TRQ65 como ingrediente activo en inoculantes bacterianos sostenibles para una agricultura amigable con el medio ambiente.

*Autor de
correspondencia:
Sergio de los
Santos-Villalobos
sergio.delossantos@itsn.edu.mx

Sección:
Número Especial

Recibido:
01 Julio, 2024

Aceptado:
28 Noviembre, 2024

Publicado:
18 Diciembre, 2024

Cita:
Valenzuela-Ruiz V,
Parra-Cota FI, Santoyo
G, Estrada-Alvarado MI,
et al., 2024. Potenciales
mecanismos de control
biológico de *Bacillus
paralicheniformis*
TRQ65 contra hongos
fitopatógenos.
Revista Mexicana de
Fitopatología 42(4): 44.
[https://doi.org/10.18781/R.
MEX.FIT.2024-18](https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2024-18)



Palabras clave: Agentes de Control Biológico, Agricultura, *Bacillus*, Fengicinas, Liquenisininas, Bacilibactina.

INTRODUCCIÓN

Las prácticas agrícolas sostenibles son fundamentales, ya que se estima que la población mundial alcanzará ~ 10 mil millones de personas para el año 2050 (FAO, 2018). Los métodos convencionales para la producción de alimentos han tenido un gran impacto sobre la disponibilidad de tierras agrícolas, la degradación de los suelos agrícolas, la pérdida de la eficiencia agroquímica y el aumento en la incidencia de las enfermedades vegetales (Lowry *et al.*, 2019; Pellegrini y Fernández, 2018). Las enfermedades generan pérdidas en el rendimiento de entre 15 y 25%, aunque en algunos casos se han reportado pérdidas de hasta 85% (Gupta *et al.*, 2018; Mehta 2014). Los organismos fitopatogénicos más importantes suelen ser hongos, que representan aproximadamente 70% de las enfermedades vegetales (FAO, 2016). Así, algunos de los hongos fitopatógenos de mayor importancia debido a su incidencia, severidad y pérdidas económicas en regiones tropicales y subtropicales, especialmente en México, son *Rhizoctonia*, *Botryosphaeria*, *Bipolaris* y *Fusarium* (Rodríguez-Guadarrama *et al.*, 2018; Villa-Rodriguez *et al.*, 2021; Mondragón-Flores *et al.*, 2021).

El manejo de las enfermedades vegetales a nivel mundial en la agricultura tradicional se concentra, principalmente, en la intensificación de los pesticidas aplicados. Mientras que el uso de pesticidas a nivel mundial ha aumentado casi al 100% entre 1992 y el 2016 (FAO, 2018), en México, el aumento ha sido del 76% en el mismo periodo (Roser *et al.*, 2019). Sin embargo, solo alrededor del 0.1% llega al cultivo agrícola (Gill *et al.*, 2014). Así, el pesticida restante se pierde, lo cual resulta en impactos negativos, que incluyen la degradación ambiental, la destrucción de organismos no objetivo, la contaminación de suelos y acuíferos con residuos recalcitrantes, la degradación del suelo y la salinización (Tudi *et al.*, 2021). La pérdida de la biodiversidad y la degradación química y microbiana en el suelo resultan en un aumento en la susceptibilidad y/o tolerancia a potenciales efectos externos, lo cual conduce a impactos ambientales y económicos graves (Chappell *et al.*, 2019; Gálvez-Gamboa *et al.*, 2018). Por lo tanto, se deben desarrollar estrategias sostenibles bajo un enfoque de ecosistema integral para asegurar la eficiencia, calidad y rendimiento de los cultivos (Dietemann *et al.*, 2024).

En este sentido, los biopesticidas han sido un tema de interés mundial (Thakur *et al.*, 2024). En México, 6.2% de los pesticidas comerciales son de origen biológico (agentes de control biológico), entre los cuales los agentes de control biológico usados con mayor frecuencia son *Bacillus thuringiensis*, *Phaeoacremonium*

fumroseus y *Bauveria bassiana* (Pérez-Olvera *et al.*, 2011). El género *Bacillus* ocupa 85% de los biopesticidas comercialmente disponibles (Villarreal-Delgado *et al.*, 2017). Los agentes de control biológico son organismos benéficos que ayudan a reducir los efectos dañinos de los fitopatógenos. Logran esto por medio de acciones antagonicas usando varios mecanismos, tales como el micoparasitismo, la producción de enzimas líticas, la inducción de respuestas sistémicas de la planta y/o la producción de δ -endotoxinas, sideróforos y lipopéptidos, entre otros (Valenzuela Ruiz *et al.*, 2020).

En las últimas décadas, la introducción de herramientas genómicas, filogenómicas y bioinformáticas ha contribuido de forma significativa para entender mejor las interacciones entre microorganismos y plantas (Sharma *et al.*, 2020). El estudio de las especies microbianas a nivel genético no solo ha permitido identificar mecanismos y genes involucrados en la colonización de raíces, adaptación de hospedantes y el mejoramiento del crecimiento de la planta (Sheppard *et al.*, 2018; Youseif, 2018), sino que también ha permitido realizar avances muy importantes en la caracterización y la afiliación taxonómica de taxa asociados con los efectos benéficos en los cultivos (Jagadeesan *et al.*, 2019). Así, el objetivo del presente estudio es explorar los posibles mecanismos de acción de control biológico de *Bacillus paralicheniformis* TRQ65 contra hongos fitopatógenos de importancia agrícola, por medio de la secuenciación y explotación del genoma.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cepas microbiales y condiciones de cultivo

Se aisló a *Bacillus paralicheniformis* TRQ65 de la rizósfera del trigo (*Triticum turgidum* subsp. *durum*) en campos comerciales del Valle del Yaqui, México (27.3692°, 110.3886°). La cepa se conserva en la Colección de Microorganismos Edáficos y Endófitos Nativos (COLMENA) en México (www.itson.edu.mx/COLMENA) (de los Santos Villalobos *et al.*, 2021). Para la preparación de cultivos bacterianos, se inocularon 1×10^4 unidades formadoras de colonia (UFC) de TRQ65 en 10 mL de caldo nutritivo (NB). Después de 24 horas de incubación a 28 °C y 180 rpm, la suspensión se centrifugó a 4000 rpm durante 5 minutos. Luego, el pellet bacteriano se re-suspendió en agua destilada estéril (autoclaveada a 121 °C y 15 psi durante 15 minutos) y se ajustó a una concentración de 1×10^8 CFU/mL (Villa-Rodriguez *et al.*, 2021). La actividad antagonica de TRQ65 se probó contra 11 hongos fitopatógenicos: *Fusarium brachygibbosum*, *Botryosphaeria rhodina*, *Penicillium expansum*, *Penicillium crustosum*, *Geotrichum candidum* y *Cladosporium* sp. (proporcionados por la Universidad Michoacana de San Nicolás

de Hidalgo); *Botrytis cinerea*, *Mucor rouxii* y *Rhizoctonia solani* (proporcionados por el Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada); y *Neocosmospora solani* y *Bipolaris sorokiniana* (de COLMENA). Los hongos fueron cultivados en Agar Dextrosa Papa (PDA) e incubados bajo la luz por 120 horas a 28°C. Se colectaron esporas usando agua destilada con 0.01% Tween 20 y ajustada a una concentración de 1×10^8 esporas/mL (Villa-Rodriguez *et al.*, 2019).

Ensayo de confrontación dual *in vitro* de *Bacillus paralicheniformis* TRQ65 contro hongos fitopatógenos

Se realizó una prueba dual cualitativa en placas de Petri que contenían PDA, donde la cepa TRQ65 fue evaluada frente a las cepas fúngicas mencionadas anteriormente. De cada cepa fúngica se le inocularon 1×10^8 esporas al centro de la placa de Petri, mientras que 1×10^8 CFU de TRQ65 se colocaron en puntos equidistantes, a 2 cm del inóculo fúngico (de los Santos Villalobos *et al.*, 2012). Las zonas de inhibición formadas alrededor de los patógenos fúngicos se midieron cuantitativamente a lo largo de 7 días, con tres réplicas para cada condición. Se realizó un análisis estadístico usando el software Statgraphics Plus, versión 5.1. Los datos se analizaron usando un ANOVA de una vía y la prueba de rangos de Tukey (HSD) ($p \geq 0.05$) y los resultados se presentan como la media de las réplicas o experimentos independientes.

Secuenciación y explotación del genoma bacterial

Se aisló el AND genómico de un cultivo fresco de la cepa TRQ65, que se cultivó en un caldo nutritivo (NB) a 28°C agitando a 180 rpm durante 24 horas, alcanzando una concentración de 1×10^8 CFU/mL, según lo descrito por Valenzuela-Aragon *et al.* (2019). Después, el ADN se extrajo con la plataforma Illumina MiSeq (2 x 300 bp) a una profundidad de cobertura de 30x, y la preparación de la biblioteca de Next Generation Sequencing se realizó usando el TruSeq DNA Nano Kit para plataformas Illumina®, siguiendo los protocolos especificados por el fabricante (LANGEBIO-CINVESTAV, Irapuato unit). La calidad de las lecturas de secuenciación fue evaluada utilizando FastQC versión 0.11.5 (Andrews, 2010). Para eliminar secuencias de adaptadores y bases de baja calidad, se aplicó Trimmomatic, versión 0.32 (Bolger *et al.*, 2014). Para el ensamble *de novo*, se utilizó SPAdes, versión 3.10.1 (Bankevich *et al.*, 2012) con la opción “- - careful” para minimizar errores. Los contigs ensamblados se organizaron usando Mauve Contig Mover, versión 2.4.0 (Darling *et al.*, 2004). Para detectar plásmidos dentro del genoma, se usó PLACNETw (<https://castillo.dicom.unican.es/upload/>) (Vielva *et al.*, 2017).

La anotación del genoma se realizó usando el servidor RAST, versión 2.0 (<http://rast.nmpdr.org>) (Aziz *et al.*, 2008; Overbeek *et al.*, 2013), utilizando el pipeline RASTtk con los parámetros predeterminados. Los contigs fueron ensamblados con MeDuSa, un ensamblador basado en borradores múltiples (Bosi *et al.*, 2015). Por último, se usó antiSMASH, versión 5.0 (<https://antismash.secondarymetabolites.org>) (Blin *et al.*, 2019) para identificar posibles clústeres génicos biosintéticos relacionados con la actividad de biocontrol en el genoma de las cepas bacterianas estudiadas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ensayo dual *in vitro* de *Bacillus paralicheniformis* TRQ65 contra hongos fitopatógenos

La cepa TRQ65 presentó actividad de biocontrol contra 45% de los hongos patógenos estudiados (*Fusarium brachygibbosum*, *Neocosmospora solani*, *Botryosphaeria rhodina*, *Botrytis cinerea* y *Bipolaris sorokiniana*) (Cuadro 1). *Bacillus paralicheniformis* TRQ65 inhibió el crecimiento micelial de *Botrytis cinerea* en $43.8\% \pm 9\%$. Esta actividad de biocontrol comenzó el día 4 y disminuyó hasta el día 7. Asimismo, Świątczak *et al.* (2023), reportó *Bacillus paralicheniformis* como un agente de control biológico contra *Botrytis cinerea* en plantas de canola un una inhibición de 13%. De forma similar, Asif *et al.* (2023), evidenciaron

Cuadro 1. Zona de inhibición (porcentaje) de *Bacillus paralicheniformis* TRQ65 contra patógenos fúngicos de plantas de importancia agrícola.

Fitopatógeno	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
<i>Fusarium brachygibbosum</i>	ND	ND	ND	$13\% \pm 0\%$	$16\% \pm 1\%$	ND	ND
<i>Neocosmospora solani</i>	$22\% \pm 3\%$	$17\% \pm 1\%$	$19\% \pm 5\%$	$7.6\% \pm 3\%$	ND	ND	ND
<i>Botryosphaeria rhodina</i>	ND	ND	$7\% \pm 1\%$	ND	ND	ND	ND
<i>Botrytis cinerea</i>	ND	ND	ND	ND	$43.8\% \pm 9\%$	$34\% \pm 5\%$	$31\% \pm 5\%$
<i>Bipolaris sorokiniana</i>	ND	ND	ND	$14\% \pm 3\%$	$11\% \pm 2\%$	$8\% \pm 0\%$	ND

Prueba de Tukey HSD ($n=3, p \geq 0.05$). Las variaciones corresponden a la desviación estándar. ND = No detectado.

control biológico de *B. paralicheniformis* contra *Elsinoe* sp., *Phytophthora capsici*, *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia solani*, *Coniella* sp., *Thielaviopsis* sp. y *Phytophthora sojae*, atribuyendo su inhibición fitopatogénica principalmente a la producción de fengicina y de bacilibactina.

Por otra parte, el biocontrol de *B. paralicheniformis* TRQ65 contra *Fusarium brachygibbosum*, *Neocosmospora solani*, *Botryosphaeria rhodina* y *Bipolaris sorokiniana* presentó resultados variables, donde esta actividad empezó a ser cuantificable los días cuatro, uno, tres y cuatro, respectivamente, y desaparecieron los días cinco, cuatro, tres y seis, respectivamente (Cuadro 1). En este sentido, De la Lastra *et al.* (2021), reportaron la capacidad de *B. paralicheniformis* de inhibir el crecimiento radial fúngico de los aislamientos patógenos de *Fusarium* de alcanzar una inhibición de entre 73 y 84%. Esta actividad de biocontrol podría estar asociada con metabolitos difusible biosintetizados por la cepa TRQ65 (Kulimushi *et al.*, 2017; Cawoy *et al.*, 2015), donde el éxito de su inhibición es altamente dependiente de las especies fúngicas que interactúan (Andrić *et al.*, 2020; Beauvais y Latgé 2018). Sin embargo, existen estudios que demuestran que los fitopatógenos presentan una destacable adaptabilidad a los metabolitos antimicrobiales producidos por agentes de control biológicos, a pesar de una inhibición inicial al crecimiento (Bonaterra *et al.*, 2022). Inicialmente, estos fitopatógenos pueden ser susceptible a la antibiosis o a la exclusión competitiva por agentes de biocontrol (Khan *et al.*, 2018), y entonces ejercen mecanismos para contrarrestar los efectos inhibitorios iniciales de los agentes de control biológico, incluidos la síntesis de enzimas degradativas capaces de catabolizar o modificar compuestos inhibitorios, la regulación ascendente de los sistemas de bombas de eflujo para expulsar metabolitos tóxicos y las alteraciones en la morfología o bioquímica del sitio objetivo para reducir la susceptibilidad (Köhl *et al.*, 2019). Por ejemplo, algunas especies de *Fusarium* han demostrado la capacidad de producir enzimas purificantes que neutralizan a metabolitos antifúngicos producidos por agentes de control biológicos (Costa Almeida *et al.*, 2022). Así, la eficacia del control biológico puede verse comprometida con el tiempo debido a varios factores, incluyendo fluctuaciones ambientales, la disminución de compuestos inhibitorios, interacciones microbiales complejas dentro de la rizósfera y el desarrollo de resistencia por fitopatógenos (Lal *et al.*, 2020). La naturaleza dinámica de estas interacciones enfatiza la importancia de desentrañar los mecanismos moleculares detrás de la adaptación patógena para explicar la pérdida observada de eficacia (Barber *et al.*, 2024).

Análisis de genoma bacteriano

Durante las últimas décadas se ha destacado bacterias de control biológico del género *Bacillus* con actividades protectoras hacia patógenos de plantas de

importancia económica (Finkel *et al.*, 2017; Fira *et al.*, 2018; Köhl *et al.*, 2019). Así, varios estudios han intentado explorar sus potenciales mecanismos de acción. En este sentido, se secuenció y analizó el genoma de *B. paralicheniformis* TRQ65 para identificar clústers génicos biosintéticos prometedores asociados con su actividad de biocontrol.

Después de la secuenciación, el genoma de *B. paralicheniformis* TRQ65 presentó un total de 5,079,308 lecturas [2×300 pares base (pb)]. En el análisis de calidad y la remoción de adaptadores, solo se descartó el 8.42%. Después del ensamble *de novo*, un genoma preliminar de la cepa TRQ65 consistió de 4,475,481 pb; 45.5% de contenido G+C; N50 de 676,421; L50 de 3; y 32 contigs (>200 bp). El orden y la estructura generaron 25 *scaffolds*. Además, no se observaron plasmidios y, según nuestro entendimiento, la presencia de plasmidios no ha sido reportada para esta especie (Vielva *et al.*, 2017).

La anotación del genoma en el servidor RAST de *B. paralicheniformis* TRQ65 presentó 91 ARNs y 4809 secuencias de ADN codificantes predichas (CDS) distribuidas en 340 subsistemas. El subsistema más abundante fue aminoácidos y derivados (341 CDS), seguido de carbohidratos (338 CDS), metabolismo de proteína (198 CDS), cofactores, vitaminas, grupos prostéticos y pigmentos (147 genes), nucleósidos y nucleótidos (101), y dormancia y esporulación (96) (Figura 1).

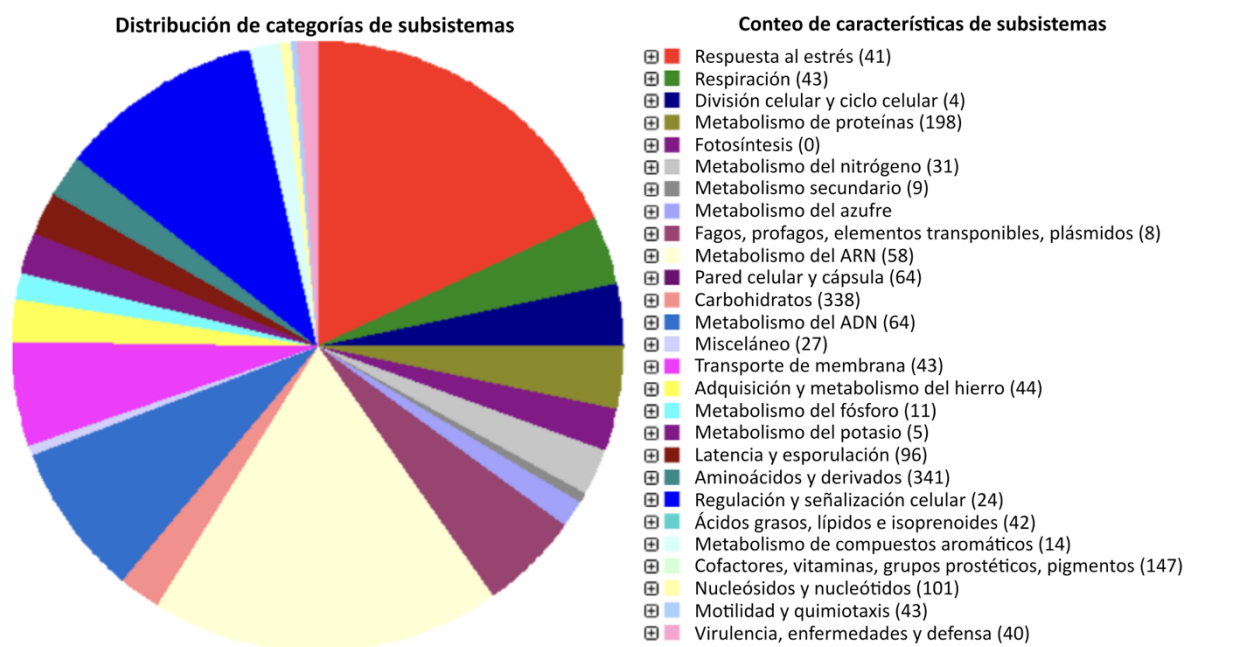


Figura 1. Distribución por categorías de subsistemas de las secuencias de ADN codificantes (CDS) en el genoma de *B. paralicheniformis* TRQ65, siguiendo el pipeline RAST

Además, se identificaron genes relacionados con el metabolismo secundario de biocontrol (9 CDS), incluida la biosíntesis de auxinas (4 CDS). Un estudio previo desarrollado por Rojas Padilla *et al.* (2020) indicó que la cepa TRQ65 puede producir ácido indolacético 39.29 ± 0.30 ppm, solubilizar el fosfato en un $1.37 \pm 0.05\%$. Además, en el genoma de *B. paralicheniformis* TRQ65 se detectaron genes relacionados con la adquisición y el metabolismo del hierro (44 CDS), incluida la producción de sideróforos (33 CDS) como la bacilibactina.

Fira *et al.* (2018) afirman que las bacterias del género *Bacillus* son productoras de una amplia gama de compuestos antagonistas de diferentes estructuras; entre las más importantes se encuentran los péptidos y lipopéptidos sintetizados de forma no ribosomal. Para explorar los potenciales clústers genéticos biosintéticos asociados con la actividad de biocontrol, el genoma de *B. paralicheniformis* TRQ65 fue explotado por antiSMASH (<https://antismash.secondarymetabolites.org>) (Blin *et al.*, 2019). En el genoma de la cepa TRQ65 se detectaron los clusters de genes asociados con el biocontrol: i) lichenisina (100% de identidad), un biosurfactante aniónico lipopeptídico con actividades citotóxicas, antimicrobianas y hemolíticas (Coronel *et al.*, 2017); ii) bacitracina (88% de identidad), un antibiótico lipopeptídico cíclico activo contra bacterias Gram-positivas y algunas Gram-negativas, ya que inhiben la biosíntesis de la pared celular bacteriana (Liu *et al.*, 2018); iii) fengicina (93% de identidad), un lipopéptido con actividad fungitóxica contra hongos filamentosos que interactúa con las capas lipídicas y altera la estructura de la membrana celular y su permeabilidad (Li *et al.*, 2019); iv) el sideróforo bacilibactina (100% de identidad), un compuesto cíclico que contiene grupos catecolato con alta afinidad por el hierro (Fe^{3+}), creando un ambiente inadecuado para la colonización por fitopatógenos al competir por el hierro (Félix-Pablos *et al.*, 2022); y v) amiloliquecicina (93% de identidad), un péptido antimicrobiano activo contra las bacterias Gram-positivas. (Gerst *et al.*, 2022). Con base en los modos de acción de los grupos de genes biosintéticos mencionados, solo la lichenisina, fengicina y la bacilibactina (Figura 2) han presentado actividades antifúngicas. Por lo tanto, se infirió que esos tres compuestos podrían estar involucrados en el biocontrol de los hongos fitopatógenos estudiados y nuestro equipo los está investigando en la actualidad.

Además, la bacilibactina es un sideróforo de alta afinidad con un núcleo de trilactona compuesto de unidades de ácido 2,3-dihidroxibenzoico (DHB) enlazadas a residuos de treonina, donde los grupos de catecol quelan iones de Fe^{3+} con alta especificidad, con lo que se forman complejos estables que respaldan procesos metabólicos esenciales en condiciones de hierro limitado (Khan *et al.*, 2016; Dimopoulou *et al.*, 2021; Timofeeva *et al.*, 2022). Lichenisina, un surfactante lipopeptídico anfílico con un anillo peptídico cíclico y una cadena de ácido graso hidrofóbica, presenta estabilidad bajo condiciones extremas y ha demostrado que inhibe patógenos fúngicos tales como *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata*,

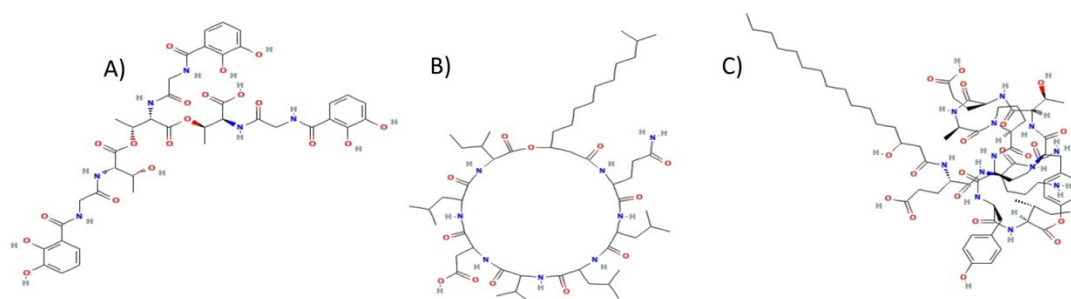


Figura 2. A) Estructura de la bacilibactina (National Center for Biotechnology Information, 2024). La bacilibactina se construye alrededor de un núcleo de trilactona formado por la ciclización de tres moléculas de ácido 2,3-dihidroxi-benzoico (DHB) enlazadas a un andamiaje central de residuos de treonina. El anillo trilactona se forma mediante enlaces de éster entre los grupos hidróxilo de la treonina y los grupos carboxilo del DHB. Cada parte del DHB en la bacilibactina contiene grupos funcionales de catecol (2,3-dihidroxi-benzoato). Estos grupos de catecol son responsables de la unión de alta afinidad del Fe^{3+} . B) Estructura de la Lichenisina (National Center for Biotechnology Information, 2024). La lichenisina contiene un anillo peptídico cíclico formado por 13 residuos de aminoácidos. A este núcleo peptídico cíclico se le une una cola lipídica, típicamente una cadena de ácido graso β -hidroxilado. La cadena peptídica forma una estructura cíclica mediante un enlace amídico entre el grupo carboxilo de un aminoácido y el grupo amina de otro, lo cual lleva a formar una estructural anular estable. C) Estructura de la Fengicina (National Center for Biotechnology Information, 2024). La fengicina consiste en un decapeptído que forma una estructura cíclica mediante un enlace lactona. A este anillo peptídico se le une un ácido graso β -hidroxilado, cuya longitud puede variar, generalmente entre 14 y 18 átomos de carbono. La secuencia exacta de aminoácidos puede variar ligeramente dependiendo de la isoforma específica de la fengicina.

Aspergillus fumigatus, *Aspergillus niger* y *Neocosmospora keratoplastica* (Gudiña y Teixeira, 2022; Yeak *et al.*, 2022; Olmedo *et al.*, 2022; Armenova *et al.*, 2024). Por otro lado, las fengicinas, en especial las fengicinas A y B, son lipodecapeptidas con actividad antifúngica contra hongos filamentosos, que alteran las membranas celulares fúngicas, perturban el crecimiento micelial e inducen la resistencia sistémica en plantas. Existen estudios que han demostrado su efectividad contra *Botrytis cinerea*, *Pythium ultimum* y *Monilinia fructicola*, con lo que exhiben su capacidad para suprimir la germinación de esporas y causar la fuga del citoplasma fúngico (Vanittanakom *et al.*, 1986; Koumoutsi *et al.*, 2004; Deleu *et al.*, 2005; Ongena *et al.*, 2005; Liu *et al.*, 2011; Geissler *et al.*, 2019; Andrić *et al.*, 2020). Este estudio proporciona el primer acercamiento hacia el mecanismo potencial de control biológico de *Bacillus paralicheniformis* TRQ65 como un agente de control biológico. Sin embargo, los resultados de este estudio indican un control biológico moderado contra los hongos estudiados. Por lo tanto, se requiere de más estudios para

explorar la capacidad de control biológico, identificado a través de la explotación genómica para complementar los resultados del análisis de confrontación de baja inhibición.

CONCLUSIONES

Bacillus paralicheniformis TRQ65 es un agente de control biológico que inhibe el crecimiento micelial de *Fusarium brachygibbosum*, *Neocosmospora solani*, *Botryosphaeria rhodina* y *Bipolaris sorokiniana*. Con base al aprovechamiento genómico, esta bioactividad podría estar relacionada con la biosíntesis de lichenisina, fengicina y/o bacilibactina. Así, actualmente se están llevando a cabo más estudios por parte de nuestro equipo de investigación para mejorar la capacidad de *B. paralicheniformis* TRQ65 y validar su uso como ingrediente activo en inoculantes bacterianos para avanzar hacia una agricultura sostenible.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen los fondos brindados por el Instituto Tecnológico de Sonora (PROFAPI_2024_0001), así como los miembros del Laboratorio de Biotecnología del Recurso Microbial (www.itson.mx/LBRM).

LITERATURA CITADA

- Andrews S. 2010. FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data. Obtenido de <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc>. (Consulta, Septiembre 2024)
- Andrić S, Meyer T, Ongena M. 2020. *Bacillus* Responses to Plant-Associated Fungal and Bacterial Communities. *Frontiers in Microbiology* 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01350>.
- Arguelles-Arias A, Ongena M, Halimi B, Lara Y, Brans A, Joris B, Fickers P. 2009. *Bacillus amyloliquefaciens* GA1 as a source of potent antibiotics and other secondary metabolites for biocontrol of plant pathogens. *Microbial cell factories* 8: 1-12. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-8-63>.
- Armenova N, Petrova P, Gerginova M, Krumova E, Kaynarov D, Velkova L, Dolashka P, Petrov K. 2024. *Bacillus velezensis* R22 inhibits the growth of multiple fungal phytopathogens by producing surfactin and four fengycin homologues, *Biotechnology & Biotechnological Equipment* 38(1): 2313072. <https://doi.org/10.1080/13102818.2024.2313072>.
- Asif M, Li-Qun Z, Zeng Q, Atiq M, Ahmad K, Tariq A, et al. 2023. Comprehensive genomic analysis of *Bacillus paralicheniformis* strain BP9, pan-genomic and genetic basis of biocontrol mechanism. *Computational and Structural Biotechnology Journal* 21: 4647-4662. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2023.09.043>.
- Aziz RK, Bartels D, Best AA, DeJongh M, Disz T, Edwards RA. et al. 2008. The RAST Server: Rapid annotations using subsystems technology. *BMC Genomics* 9. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-75>.
- Barber MF, Fitzgerald JR. 2024. Mechanisms of host adaptation by bacterial pathogens, *FEMS Microbiology Reviews* 48(4) fue019, <https://doi.org/10.1093/femsre/fuae019>.

- Bankevich A, Nurk S, Antipov D et al., 2012. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *J Comput Biol* 19:455–477. <https://doi.org/10.1089/cmb.2012.0021>.
- Beauvais A, Latgé J-P. 2018. Special Issue: Fungal Cell Wall. *Journal of Fungi* 4(3): 91. <https://doi.org/10.3390/jof4030091>.
- Blin K, Shaw S, Steinke K, Villebro R, Ziemert N, Yup Lee S, Medema MH, Weber T. 2019. antiSMASH 5.0: updates to the secondary metabolite genome mining pipeline. *Nucleic Acids Research* 47(W1): W81–W87. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz310>.
- Bolger AM, Lohse M, Usadel B. 2014. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics* 30:2114–2120. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170>.
- Bonaterra A, Badosa E, Daranas N, Francés J, Roselló G, Montesinos E. 2022. Bacteria as Biological Control Agents of Plant Diseases. *Microorganisms* 10: 1759. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10091759>
- Bosi E, Donati B, Galardini M, Brunetti S, Sagot MF, Lió P, Crescenzi P, Fani R, Fondi M. 2015. MeDuSa: a multi-draft based scaffold. *Bioinformatics* 31(15): 2443-2451. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btv171>.
- Cawoy H, Debois D, Franzil L, De Pauw E, Thonart P, Ongena M. 2015. Lipopeptides as main ingredients for inhibition of fungal phytopathogens by *Bacillus subtilis/amyoliquefaciens*: lipopeptides as inhibitors of phytopathogens. *Microb Biotechnol* 8:281–295. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12238>.
- Chappell TM, Magarey RD, Kurtz R, Trexler CM, Pallipparambil GR, Hain EF. 2019. Perspective: Service-based business models to incentivize the efficient use of pesticides in crop protection. *Pest Management Science*. 75(11): 2865-2872. <https://doi.org/10.1002/ps.5523>.
- Coronel JR, Marqués A, Manresa Á, Aranda FJ, Teruel JA, Ortiz A. 2017. Interaction of the Lipopeptide Biosurfactant Lichenysin with Phosphatidylcholine Model Membranes. *Langmuir*, 33(38):9997–10005. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.7b01827>.
- Costa Almeida OA, Silva Dias BH, Freitas A, Coerini LF, Ryu M, Oliveira C. 2022. The power of the smallest: The inhibitory activity of microbial volatile organic compounds against phytopathogens. *Frontiers in Microbiology* :13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.951130>
- Darling AC, Mau B, Blattner FR, Perna NT. 2004. Mauve: multiple alignment of conserved genomic sequence with rearrangements. *Genome Res* 14(7):1394-1403. <https://doi.org/10.1101/gr.2289704>.
- De la Lastra E, Camacho M, Capote N. 2021. Soil bacteria as potential biological control agents of *Fusarium* species associated with asparagus decline syndrome. *Applied Sciences* 11(18): 8356. <https://doi.org/10.3390/app11188356>.
- de los Santos-Villalobos S, Barrera-Galicia GC, Miranda-Salcedo MA, PeñaCabiales JJ. 2012. *Burkholderia cepacia* XXVI siderophore with biocontrol capacity against *Colletotrichum gloeosporioides*. *World J Microbiol Biotechnol* 28: 2615–2623. <https://doi.org/10.1007/s11274-012-1071-9>.
- de los Santos-Villalobos S, Díaz-Rodríguez AM, Ávila-Mascareño MF, Martínez-Vidales AD, Parra-Cota FI. 2021. COLMENA: A culture collection of native microorganisms for harnessing the agro-biotechnological potential in soils and contributing to food security. *Diversity* 13(8), 337. <https://doi.org/10.3390/d13080337>.
- de los Santos-Villalobos S, Parra-Cota FI, Herrera-Sepúlveda A, Valenzuela-Aragón B, Estrada-Mora JC. 2018. Colección de Microorganismos Edáficos y Endófitos Nativos Para Contribuir a La Seguridad Alimentaria Nacional Introducción. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 9 (1): 191–202. <https://dx.doi.org/10.29312/remexca.v9i1.858>.
- Deleu M, Paquot M, Nylander T. 2005. Fengycin interaction with lipid monolayers at the air–aqueous interface—implications for the effect of fengycin on biological membranes. *Journal of colloid and interface science* 283(2): 358-365. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2004.09.036>.
- Dietemann L, Kemper L, Kanner E, Huber B. 2024. Cultivating change with agroecology and organic agriculture in the tropics: Bridging science and policy for sustainable production systems. <https://www.fibl.org/en/shop-en/2000-tropics-policy-dossier>. (consultado Junio 2024).
- Dimopoulou A, Theologidis I, Benaki D, Koukounia M, Zervakou A, Tzima A, et al., 2021. Direct antibiotic activity of bacillibactin broadens the biocontrol range of *Bacillus amyoliquefaciens* MBI600. *Mosphere* 6(4): 10-1128. <https://doi.org/10.1128/msphere.00376-21>.

- Félix-Pablos CM, Parra-Cota FI, Santoyo G, del Carmen Orozco-Mosqueda M, de Los Santos-Villalobos S. 2022. Draft genome sequence of *Bacillus* sp. strain FSQ1, a biological control agent against white mold in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Current Research in Microbial Sciences 3: 100138. <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2022.100138>.
- Finkel OM, Castrillo G, Herrera Paredes S, Salas González I, Dangl JL. 2017. Understanding and exploiting plant beneficial microbes. Curr Opin Plant Biol 38: 155–163. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2017.04.018>.
- Fira D, Dimkic I, Beric T, Lozo J, Stankovic S. 2018. Biological control of plant pathogens by *Bacillus* species. J Biotechnol 285: 44–55. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2018.07.044>.
- Food and Agriculture Organization (FAO). 2016. Technologies and practices for small agricultural producers (TECA). Food and Agriculture Organization. (Consulta, Septiembre 2020) <http://teca.fao.org/read/8629>.
- Food and Agriculture Organization (FAO). 2018. FAOSTAT. Pesticides. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) <http://www.fao.org/faostat/en/#data/EP/visualize>. (Consulta, Septiembre 2024).
- Gálvez Gamboa GT, Sánchez Servín MR, Parra Cota F, García Pereyra J, Aviña Martínez GN, de los Santos Villalobos S. 2018. Pesticides in Mexican Agriculture and promissory alternatives for their replacement. Biológico Agropecuario Tuxpan 7(11):1977-1991.
- Geissler M, Heravi KM, Henkel M, Hausmann R. 2019. Lipopeptide biosurfactants from *Bacillus* species. In Biobased surfactants (pp. 205-240). AOCS Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812705-6.00006-X>.
- Gerst MM, Somogyi Á, Yang X, Yousef AE. 2022. Detection and characterization of a rare two-component lantibiotic, amyloliquecidin GF610 produced by *Bacillus velezensis*, using a combination of culture, molecular and bioinformatic analyses. Journal of Applied Microbiology 132(2): 994-1007. <https://doi.org/10.1111/jam.15290>.
- Gill HK, Garg H. 2014. Pesticides: environmental impacts and management strategies. In Pesticides-toxic aspects 8(187):10-5772. <https://doi.org/10.5772/57399>.
- Gudiña EJ, Teixeira JA. 2022. *Bacillus licheniformis*: the unexplored alternative for the anaerobic production of lipopeptide biosurfactants? Biotechnology Advances 60:108013. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2022.108013>.
- Gupta PK, Chand R, Vasistha NK, Pandey SP, Kumar U, Mishra VK, Joshi AK. 2018. Spot blotch disease of wheat: the current status of research on genetics and breeding. Plant pathology 67(3), 508-531. <https://doi.org/10.1111/ppa.1278>.
- Jagadeesan B, Gerner-Smidt P, Allard M. W, Leuillet S, Winkler A, Xiao Y, et al., 2019. The Use of Next Generation Sequencing for Improving Food Safety: Translation into practice. Food Microbiology 79:96–115. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.11.005>.
- Khan A, Doshi HV, Thakur MC. 2016. *Bacillus* spp.: A Prolific Siderophore Producer. In: Islam M, Rahman M, Pandey P, Jha C, Aeron A. (eds) Bacilli and Agrobiotechnology. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-44409-3_13.
- Köhl J, Kolnaar R, Ravensberg WJ. 2019. Mode of action of microbial biological control agents against plant diseases: relevance beyond efficacy. Front Plant Sci 10:1–19. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00845>.
- Köhl J, Kolnaar R, Ravensberg WJ. 2019. Mode of action of microbial biological control agents against plant diseases: relevance beyond efficacy. Frontiers in plant science 10: 845. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00845>
- Koumoutsis A, Chen XH, Henne A, Liesegang H, Hitzeroth G, Franke P, et al., 2004. Structural and functional characterization of gene clusters directing nonribosomal synthesis of bioactive cyclic lipopeptides in *Bacillus amyloliquefaciens* strain FZB42. Journal of bacteriology 186(4):1084-1096. <https://doi.org/10.1128/jb.186.4.1084-1096.2004>.
- Kulimushi PZ, Arias AA, Franzil L, Steels S, Ongena M. 2017. Stimulation of fengycin-type antifungal lipopeptides in *Bacillus amyloliquefaciens* in the presence of the maize fungal pathogen *Rhizomucor variabilis*. Front Microbiol 8:850. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00850>.
- Lal NK, Thanasuwat B, Huang PJ, Cavanaugh KA, Carter A, Michelmore RW, Dinesh-Kumar SP. 2020. Phytopathogen effectors use multiple mechanisms to manipulate plant autophagy. Cell host & microbe 28(4): 558-571. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.07.010>
- Lalitha S, Nithyapriya S. 2021. Production of bacillibactin siderophore from soil bacteria, *Bacillus subtilis*: a bioinoculant enhances plant growth in *Arachis hypogaea* L. through elevated uptake of nutrients. In International Seminar on Promoting Local Resources for Sustainable Agriculture and Development (ISPLRSAD 2020) (pp. 71-82). Atlantis Press. <https://doi.org/10.2991/absr.k.210609.013>.

- Li H, Han X, Zhang J, Dong Y, Xu S, Bao Y, et al., 2019. An effective strategy for identification of highly unstable bacillaenes. *Journal of natural products* 82(12): 3340-3346. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.9b00609>.
- Liu J, Zhou T, He D, Li XZ, Wu H, Liu W, Gao X. 2011. Functions of lipopeptides bacillomycin D and fengycin in antagonism of *Bacillus amyloliquefaciens* C06 towards *Monilinia fructicola*. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology* 20(1): 43-52. <https://doi.org/10.1159/000323501>.
- Liu Z, Yu W, Nomura CT, Li J, Chen S, Yang Y, Wang Q. 2018. Increased flux through the TCA cycle enhances bacitracin production by *Bacillus licheniformis* DW2. *Applied microbiology and biotechnology* 102:6935-6946. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9133-z>.
- Lowry GV, Avellan A, Gilbertson LM. 2019. Opportunities and challenges for nanotechnology in the agri-tech revolution. *Nature Nanotechnology* 14(6): 517–522. <https://doi.org/10.1038/s41565-019-0461-7>.
- Mehta CM, Palni U, Franke-Whittle IH, Sharma AK. 2014. Compost: its role, mechanism and impact on reducing soil-borne plant diseases. *Waste management* 34(3): 607-622. <http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2013.11.012>.
- Mondragón-Flores A, Rodríguez-Alvarado G, Gómez-Dorantes N, Guerra-Santos JJ, Fernández-Pavía SP. 2021. Botryosphaeriaceae: una familia de hongos, compleja, diversa y cosmopolita. *Revista mexicana de ciencias agrícolas* 12(4), 643-654. <https://doi.org/10.29312/remexca.v12i4.2620>.
- National Center for Biotechnology Information 2024. PubChem Compound Summary for CID 139590560, Bacillibactin B. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Bacillibactin-B>. (Consulta, June 2024).
- National Center for Biotechnology Information. 2024. PubChem Compound Summary for CID 85063181, Lichenysin-G4. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Lichenysin-G4>. (Consulta, June 2024).
- National Center for Biotechnology Information (2024). PubChem Compound Summary for CID 85063181, Lichenysin-G4. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Lichenysin-G4>. (Consulta, June 2024).
- Olmedo C, Koch A, Sarmiento B, Izquierdo A. 2022. Antifungal potential of biosurfactants produced by strains of *Bacillus* spp. (Bacillales: Bacillaceae) selected by molecular screening. *Revista de Biología Tropical* 70(1):636-646. <http://dx.doi.org/10.15517/rev.biol.trop.2022.49716>.
- Ongena M, Jacques P, Touré Y, Destain J, Jabrane A, Thonart P. 2005. Involvement of fengycin-type lipopeptides in the multifaceted biocontrol potential of *Bacillus subtilis*. *Applied microbiology and biotechnology* 69: 29-38. <https://doi.org/10.1007/s00253-005-1940-3>.
- Overbeek R, Olson R, Pusch GD, Olsen GJ, Davis JJ, Disz T, et al., 2013. The SEED and the Rapid Annotation of microbial genomes using Subsystems Technology (RAST). *Nucleic Acids Res* 42: D206–D214. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt1226>.
- Pellegrini P, Fernández RJ. 2018. Crop intensification, land use, and on-farm energy-use efficiency during the worldwide spread of the green revolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 115(10): 2335–2340. <https://doi.org/10.1073/pnas.1717072115>.
- Pérez-Olvera MA, Navarro-Garza HY, Miranda-Cruz E. 2011. Use of pesticides for vegetable crops in Mexico. In: Stoytcheva, M. (Ed.), In: *Pesticides in the Modern World-Pesticides Use and Management*. In Tech, Rijeka, Croacia, pp. 97118.
- Rodríguez-Guadarrama AH, Guevara-González RG, de Jesús RGS, Feregrino-Pérez AA. 2018. Antifungal activity of Mexican endemic plants on agricultural phytopathogens: a review. In 2018 XIV International Engineering Congress (CONIIN) (pp. 1-11). IEEE.
- Rojas Padilla J, Chaparro Encinas LA, Robles Montoya RI, de los Santos Villalobos S. 2020. Growth promotion on wheat (*Triticum turgidum* L. subsp. *durum*) by co-inoculation of native *Bacillus* strains isolated from the Yaqui Valley, Mexico. *Nova scientia* 12(24). <https://doi.org/10.21640/ns.v12i24.2136>.
- Roser M. 2019. Pesticides. Published online at OurWorldInData.org. from: <https://ourworldindata.org/pesticides>. (Consultado Junio 2024).
- Samel SA, Wagner B, Marahiel MA, Essen LO. 2006. The thioesterase domain of the fengycin biosynthesis cluster: a structural base for the macrocyclization of a non-ribosomal lipopeptide. *Journal of molecular biology* 359(4): 876-889. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2006.03.062>.
- Sharma M, Sudheer S, Usmani Z, Rani R, Gupta P. 2020. Deciphering the omics of plant-microbe interaction: Perspectives and new insights. *Current Genomics* 21(5): 343-362. <https://doi.org/10.2174/1389202921999200515140420>.

- Sheppard SK, Guttman DS, Fitzgerald JR. 2018. Population genomics of bacterial host adaptation. *Nature Reviews Genetic* 19(9):549–565. <https://doi.org/10.1038/s41576-018-0032-z>.
- Shleeva MO, Kondratieva DA, Kaprelyants AS. 2023. *Bacillus licheniformis*: a producer of antimicrobial substances, including Antimycobacterials, which are feasible for medical applications. *Pharmaceutics* 15(7):1893. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15071893>.
- Świąteczak J, Kalwasińska A, Felföldi T, Swiontek Brzezinska M. 2023. *Bacillus paralicheniformis* 2R5 and its impact on canola growth and N-cycle genes in the rhizosphere. *FEMS Microbiology Ecology* 99(9): fiad093. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiad093>.
- Thakur N, Kaur S, Tomar P, Thakur S, Yadav AN. 2020. Microbial biopesticides: current status and advancement for sustainable agriculture and environment. In *New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering* (pp. 243-282). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820526-6.00016-6>.
- Timofeeva AM, Galyamova MR, Sedykh SE. 2022. Bacterial siderophores: Classification, biosynthesis, perspectives of use in agriculture. *Plants* 11(22): 3065. <https://doi.org/10.3390/plants11223065>.
- Tudi M, Daniel Ruan H, Wang L, Lyu J, Sadler R, Connell D, et al. 2021. Agriculture development, pesticide application and its impact on the environment. *International journal of environmental research and public health* 18(3):1112. <https://doi.org/10.3390/ijerph18031112>.
- Valenzuela-Aragon B, Parra-Cota FI, Santoyo G, Arellano-Wattenbarger GL, de los Santos-Villalobos S. 2019. Plant-assisted selection: a promising alternative for *in vivo* identification of wheat (*Triticum turgidum* L. subsp. *Durum*) growth promoting bacteria. *Plant and Soil*, 435(1-2):367–384. <https://doi.org/10.1007/s11104-018-03901-1>
- Valenzuela-Ruiz V, Gálvez Gamboa GT, Villa Rodríguez ED, Parra-Cota FI, Santoyo G, de los Santos-Villalobos S. 2020. Lipopeptides produced by biological control agents of the genus *Bacillus*: a review of analytical tools used for their study. *REMEXCA* 11(2):419-432. <https://doi.org/10.29312/remexca.v11i2.2191>.
- Vanittanakom N, Loeffler W, Koch U, Jung G. 1986. Fengycin-a novel antifungal lipopeptide antibiotic produced by *Bacillus subtilis* F-29-3. *The Journal of antibiotics*, 39(7), 888-901.
- Vielva L, de Toro M, Lanza VF, de la Cruz F. 2017. PLACNETw: a web-based tool for plasmid reconstruction from bacterial genomes. *Bioinformatics* 33(23): 3796–3798. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btx462>.
- Villa-Rodríguez E, Moreno-Ulloa A, Castro-Longoria E, Parra-Cota FI, de los Santos-Villalobos S. 2021. Integrated omics approaches for deciphering antifungal metabolites produced by a novel *Bacillus* species, *B. cabrialesii* TE3^T, against the spot blotch disease of wheat (*Triticum turgidum* L. subsp. *durum*). *Microbiological Research* 251, 126826. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126826>.
- Villarreal-Delgado MF, Villa-Rodríguez ED, Cira-Chávez LA, Estrada-Alvarado MI, Parra-Cota FI, de los Santos-Villalobos S. 2018. El género *Bacillus* como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. *Revista mexicana de fitopatología* 36(1), 95-130. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1706-5>.
- Yeak KYC, Perko M, Staring G, Fernandez-Ciruelos BM, Wells JM, Abee T and Wells-Bennik MHJ. 2022. Lichenysin Production by *Bacillus licheniformis* Food Isolates and Toxicity to Human Cells. *Front Microbiol* 13:831033. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.831033>.
- Youseif SH. 2018. Genetic diversity of plant growth promoting rhizobacteria and their effects on the growth of maize plants under greenhouse conditions. *Annals of Agricultural Sciences* 63(1): 25–35. <https://doi.org/10.1016/j.aosas.2018.04.002>.