



## Revista Internacional de Investigación e Innovación Tecnológica

Página principal: [www.riit.com.mx](http://www.riit.com.mx)

### Evaluación antagonica de *Bacillus subtilis* aislado de zonas áridas de Sonora contra *Fusarium oxysporum* en sandía

### Antagonistic evaluation of *Bacillus subtilis* isolated from arid zones of Sonora against *Fusarium oxysporum* in watermelon

Andrade-Bustamante, G.<sup>1</sup>, Martínez-Ruiz, F.E.<sup>1\*</sup>, Rueda-Puente, E.O.<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> Universidad Estatal de Sonora, Programa Educativo de Ingeniero en Horticultura. Ley federal del trabajo S/N. Col. Apolo. Hermosillo, Sonora. CP 83100, México; (Orcid: <https://orcid.org/0000-0001-5442-3488>; <https://orcid.org/0000-0002-6589-6886>).

<sup>2</sup> Universidad de Sonora, Departamento de Agricultura y Ganadería, Boulevard Luis Encinas y Rosales S/N. Col. Centro. Hermosillo, Sonora. CP 83000, México; (<https://orcid.org/0000-0002-9724-0558>). [gabriela.andrade@ues.mx](mailto:gabriela.andrade@ues.mx); [francisco.martinez@ues.mx](mailto:francisco.martinez@ues.mx)\*; [edgar.rueda@unison.mx](mailto:edgar.rueda@unison.mx)\*

**Innovación:** Antagonismo de *Bacillus subtilis* procedente de ambientes áridos frente a *Fusarium oxysporum* en sandía.

**Área de aplicación:** Agricultura sustentable de zonas áridas.

Recibido: 8 diciembre 2025

Aceptado: 20 marzo 2026

#### Abstract

The growing demand for organic products is driving the search for sustainable alternatives that reduce the use of agrochemicals and protect environmental health. In this context, biocontrol using rhizospheric microorganisms is emerging as a key solution, with the genus *Bacillus* standing out for its abundance and metabolic versatility. In particular, *Bacillus subtilis* has the ability to produce antimicrobial metabolites that effectively inhibit various phytopathogens, in addition to acting as a potent promoter of plant growth. However, it is essential to evaluate these interactions beyond the laboratory, as the mechanisms of action can vary when faced with the complexity of real-world agricultural ecosystems. The aim of this study was to evaluate the in vitro antagonistic effect of native and commercial *Bacillus subtilis* strains against *Fusarium oxysporum*, the causal agent of vascular wilt in watermelon. Four native *Bacillus subtilis* strains were isolated from rhizospheric soils associated with palo verde trees in different locations of Sonora, Mexico. Likewise, *Fusarium oxysporum* was isolated from symptomatic watermelon plants and morphologically characterized. The antagonism assay was conducted through dual culture on PDA, assessing mycelial growth as an indicator of inhibition. Results showed that all native strains significantly reduced *Fusarium*

*oxysporum* mycelial growth, with values ranging from 2.5 to 3.3 cm compared to the control (5.8 cm). *Bacillus subtilis* strain 02 exhibited the highest antagonistic capacity, even outperforming the commercial biocontrol strain BsUV. Images from the assay revealed clear inhibition halos, mycelial deformation, and reduced fungal density, visually confirming the antagonistic effect. These findings demonstrate the potential of native *Bacillus subtilis* strains as biological control agents for managing *Fusarium oxysporum* in watermelon production. Further studies under greenhouse and field conditions are recommended to validate their efficacy in real-world production environments. Overall, this work contributes to the development of sustainable strategies for plant disease management in agricultural systems of northwestern Mexico.

**Keywords:** *Bacillus subtilis*, *Fusarium* spp., Biological control, *In vitro* antagonism, Watermelon; Sonora.

### Resumen

La creciente demanda de productos orgánicos impulsa la búsqueda de alternativas sustentables que reduzcan el uso de agroquímicos y protejan la salud ambiental. En este contexto, el biocontrol mediante microorganismos rizosféricos surge como una solución clave, destacando el género *Bacillus* por su abundancia y versatilidad metabólica. En particular, *Bacillus subtilis* posee la capacidad de producir metabolitos antimicrobianos que inhiben eficazmente a diversos fitopatógenos, además de actuar como un potente promotor del desarrollo vegetal. Sin embargo, es fundamental evaluar estas interacciones más allá del laboratorio, ya que los mecanismos de acción pueden variar al enfrentarse a la complejidad de los ecosistemas agrícolas reales. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto antagonista *in vitro* de cepas nativas y una cepa control de *Bacillus subtilis* contra *Fusarium oxysporum*, patógeno responsable de la marchitez vascular en sandía. Se aislaron cuatro cepas nativas de *Bacillus subtilis* de suelos rizosféricos asociados a árboles de palo verde en diferentes localidades del estado de Sonora, México. Asimismo, *Fusarium oxysporum* fue aislado de plantas de sandía con síntomas de marchitez y caracterizado morfológicamente. El ensayo antagónico se realizó mediante co-cultivo en medio PDA, evaluando el crecimiento micelial como indicador del efecto inhibitorio. Los resultados mostraron que las cuatro cepas nativas ejercieron inhibición significativa del crecimiento de *Fusarium oxysporum*, presentando valores entre 2.5 y 3.3 cm en comparación con el testigo (5.8 cm). La cepa *Bacillus subtilis* 02 fue la más efectiva, superando incluso al control biológico BsUV. Las imágenes del ensayo revelaron halos de inhibición, deformación micelial y reducción de densidad fúngica, confirmando visualmente el antagonismo observado. Los hallazgos evidencian el potencial de las cepas nativas de *Bacillus subtilis* como agentes de biocontrol en el manejo de *Fusarium oxysporum* en sandía. Se recomienda realizar estudios en condiciones de invernadero y campo para validar la eficacia en escenarios productivos reales. Este trabajo contribuye a la búsqueda de alternativas sustentables para el manejo fitosanitario en sistemas agrícolas del noroeste de México.

**Palabras clave:** *Bacillus subtilis*, *Fusarium* spp., Control biológico, Antagonismo *in vitro*, Sandía, Sonora.

## I. Introducción

La sandía (*Citrullus lanatus*) tiene gran importancia comercial a nivel mundial. México ocupa el décimo lugar como productor en el mundo comercializando principalmente a Canadá, Estados Unidos y Países Bajos. En los últimos diez años, la exportación hacia otros países ha crecido a una tasa promedio del 8% anual; en México destaca el estado de Sonora como el principal productor de sandía (Uzcanga-Pérez *et al.*, 2015). Sin embargo, la producción de sandía en México ha sido afectada debido a la presencia de enfermedades transmitidas a través del suelo, entre las que destaca el género-especie *Fusarium oxysporum*, nematodos del género *Meloidogyne* spp. y el virus de la mancha necrótica del melón (MNSV). El género *Fusarium* comprende muchas especies de hongos filamentosos ampliamente distribuidos a nivel mundial, donde varios miembros de este género pueden causar enfermedades en cultivos importantes como arroz, maíz, trigo, frijol, soya, calabaza, melón (Rentería-Martínez *et al.*, 2018). La enfermedad de la marchitez causada por *Fusarium oxysporum*, es una enfermedad devastadora y ampliamente distribuida en diferentes regiones productoras; un método de control ampliamente utilizado es el químico, sobre todo para las razas 1 y 2 (Ji *et al.*, 2022).

Actualmente, los sistemas de producción orgánica y el consumidor demandan productos libres de agroquímicos, que como premisa está el disminuir los riesgos que se generan en el ambiente y en la salud humana; es por lo anterior la importancia de promover el uso de alternativas sustentables (Bonatelli *et al.*, 2021). Entre estas alternativas de biocontrol resalta el uso de macro y microorganismos benéficos donde los metabolitos de bajo peso molecular, muestran efectos de antibiosis vs enfermedades fitopatógenas; un grupo en particular son los microorganismos rizosféricos capaces de controlar el

establecimiento de enfermedades (Kloepper *et al.*, 2004), resaltando aquellas cepas microbianas del género *Bacillus*, debido a una alta abundancia y diversidad en los agro-sistemas (suelo, agua y planta), siendo significativamente mayor la población en comparación a otros géneros microbianos, y además, por las diversas capacidades metabólicas para producir antibióticos, metabolitos antimicrobianos y antifúngicos (Villarreal-Delgado *et al.*, 2018). Estudios *in vivo* e *in vitro* reportan que *Bacillus subtilis* inhibe el crecimiento del hongo patógeno *Fusarium subglutinans* por metabolitos termoestables, considerando la antibiosis como un mecanismo de acción (Zhao *et al.*, 2014). Por otra parte, Ji *et al.* (2022) indican que el efecto promotor, es otra de las cualidades que muestra *Bacillus subtilis*. Con relación a la habilidad biocontroladora, si bien es cierto son pocos los estudios que contemplan la interacción dentro del sistema tritrófico, estos difieren cuando se estudia bajo condiciones de laboratorio, las cuales están sesgadas para lograr la máxima expresión de los mecanismos de acción (Puño *et al.*, 2011).

El estado de Sonora es uno de los principales productores de sandía (*Citrullus lanatus*) el cual se ve afectado por la presencia de problemas fitosanitarios, provocados principalmente por hongos del suelo destacándose *Fusarium oxysporum*. Actualmente y con la finalidad de tener sistemas de producción más sustentables, los productores de sandía demandan alternativas de control biológico y es por lo anterior que, en el presente estudio, se centró en evaluar *in vitro* el efecto antagonista de cepas nativas de *Bacillus subtilis* (incluyendo aislados nativos y un control) frente a *Fusarium oxysporum* aislado de cultivo de sandía.

## II. Método experimentales

### Aislamiento e Identificación de *Bacillus subtilis* y *Fusarium oxysporum*

Para el proceso de muestreo de plantas, aislamiento e identificación de *Bacillus subtilis*, se recolectaron muestras de suelo rizosférico (SR) y cortes de raíz obtenidos de árboles de "palo verde" (*Parkinsonia florida*) (Meneguzzi *et al.*, 2024). Los ejemplares seleccionados se encontraban en época de floración (segunda semana de abril), con una altura entre 3±0.50 m y un diámetro de copa de 2.5 a 3 m. Para garantizar la integridad del aislamiento, los sitios se ubicaron alejados de suelos agrícolas (~10 km) en las siguientes cuatro localidades: San Carlos (01): 27.9638° N, 111.0583° W; Bahía de Kino (02): 28.8225° N, 111.9400° W; Álamos (03): 27.0250° N, 108.9369° W; San Miguel de Horcasitas (04): 29.4850° N, 110.7340° W.

### Caracterización Climática de los Sitios

Las condiciones climáticas de estas áreas, de acuerdo con Van Devender *et al.* (2010), se describen a continuación:

Bahía de Kino, Sonora: Presenta un clima desértico (clasificación de Köppen BWh) con temperaturas medias anuales altas y precipitaciones muy escasas. Durante el año, las temperaturas promedio oscilan entre 17 °C y 32 °C (alcanzando máximas de 38 °C y mínimas nocturnas inferiores a 10 °C). La precipitación anual ronda los 125 mm, concentrándose en los meses más cálidos; la humedad relativa es moderada con variaciones estacionales y un alto número de horas de sol.

San Carlos, Sonora: Posee un clima árido con precipitaciones bajas. Según datos promedio, recibe aproximadamente 188 mm de lluvia al año con un marcado patrón estacional: el mes más lluvioso es septiembre (~69 mm), mientras que en mayo es prácticamente nula. Las temperaturas varían de los 16 °C

(mínimas) a los 39 °C (máximas). La humedad promedio es de moderada a baja y se registran vientos notables en días despejados.

Álamos, Sonora: Se caracteriza por un clima más diversificado dentro del estado. Según pronósticos y observaciones recientes, presenta días calurosos (máximas de 30–32 °C) y noches templadas. La humedad relativa suele ser más elevada que en las zonas costeras y, aunque las lluvias no son diarias, existen días con probabilidad de lluvia ligera según los pronósticos locales.

San Miguel de Horcasitas, Sonora: Cuenta con un clima seco y cálido. Según datos de pronóstico, registra noches frescas (mínimas de 13-15 °C) y máximas diurnas que superan los 30 °C. La precipitación es ocasional con lluvias débiles estacionales; la humedad relativa es variable y los vientos ligeros son frecuentes según reportes de condiciones climáticas locales.

### Aislamiento e Identificación de *Bacillus subtilis*: Procesamiento y Cultivo

Las muestras se trasladaron al laboratorio de Fitopatología de la Universidad Estatal de Sonora (UES) en hieleras a 4 °C. El sistema radicular de *Parkinsonia florida* se caracterizó por presentar raíces secundarias y finas con presencia de suelo rizosférico adherido, mostrando una coloración parda típica y consistencia leñosa, sin signos aparentes de necrosis severa. Para el aislamiento, el suelo rizosférico se separó mecánicamente. Posteriormente, se seleccionaron segmentos de raíces sanas y con ligeros síntomas de estrés para realizar un macerado de tejido cortical utilizando un bisturí estéril, con el fin de liberar bacterias asociadas a la rizoplana y tejidos endofíticos, siguiendo el protocolo de Giri *et al.* (2025).

El procedimiento consistió en la suspensión aséptica de 1 g de muestra (SR o raspado) en 5 mL de agua destilada estéril, con agitación vigorosa en vortex por 20 s para obtener la solución madre. De esta, se inocularon 0.1 mL mediante la técnica de esparcimiento con espátula de Drigalsky en placas Petri con medio LB Agar. Siguiendo a Espinoza-Ahumada *et al.* (2019), las placas se incubaron a 35 °C durante 48 h para aislar la mayor cantidad de células cultivables. Posteriormente, se utilizaron contadores de colonias con lupa para diferenciar los aislados por color y forma.

### **Caracterización Taxonómica**

La identificación se realizó bajo los criterios de Espinoza-Ahumada *et al.* (2019), buscando uniformidad visual en el estereomicroscopio. La diferenciación de otras especies de *Bacillus* se basó en: Morfología: Bacilos Gram positivos con tendencia a cadenas cortas y capacidad de formar endosporas ovales o subterminales (no distorsionantes). Aspecto en medio sólido: Colonias secas, opacas y de bordes irregulares (asociadas a sustancias extracelulares). Pruebas Bioquímicas: Perfiles metabólicos compatibles con Gram positivos esporulados y producción de enzimas extracelulares (amilasas y proteasas), éstas últimas con base a la metodología de Najafi *et al.* (2005). Producción de Amilasas: se utiliza el medio Agar Almidón (Agar Nutritivo suplementado con almidón soluble al 1% p/v); se inoculan 10 µL del cultivo bacteriano (ajustado a una densidad de  $1 \times 10^8$  UFC/mL) de forma puntual en el centro de la placa. Posteriormente se incuban por 48 horas a 30 °C y se procede a un revelado, inundando la placa con solución de Lugol (yodo-yoduro de potasio). El yodo tiñe el almidón de azul oscuro/negro; la presencia de un halo transparente alrededor de la colonia indica una reacción positiva para la degradación de almidón por la enzima alpha-amilasa. Para la

producción de proteasas, se utiliza el medio Agar Leche (Agar Nutritivo suplementado con leche descremada estéril al 10% v/v o caseína al 1%). Se procede a una inoculación puntual de 10 µL del aislado de *B. subtilis*; enseguida ocurre una incubación por 48 a 72 horas a 30 °C. Para el revelado, el cual no requiere reactivos adicionales, la presencia de un halo de aclaramiento (translucidez) alrededor del crecimiento bacteriano indica la hidrólisis de la caseína por la acción de proteasas extracelulares.

### **Aislamiento e Identificación de *Fusarium oxysporum*: Origen y Condiciones del Sitio**

El aislamiento se realizó a partir de plantas de sandía mini triploide (variedad Extazy, Hazera Genetics) en etapa de floración y amarre, con síntomas de marchitez vascular. Las muestras provienen del Campo Experimental Agrícola de la UES (29° 07' 06" N, 109° 58' 08" W).

Dicha área presenta un clima desértico con Precipitación media anual: 321 mm; Evapotranspiración potencial: 2704 mm.; Temperatura: Media anual de 23.1 °C (Extremas de -3.5 °C en invierno y 49 °C en verano).

### **Protocolo de Laboratorio y Purificación**

Las plantas fueron trasladadas al laboratorio bajo las mismas condiciones de refrigeración (4 °C). Se separó el SR y se realizaron raspados radiculares con bisturí. El suelo y piezas de corteza (0.05 mm) se suspendieron en 5 mL de agua destilada estéril (vortex, 20 s). Se inocularon 0.1 mL de la solución madre en Agar Papa Dextrosa (PDA) e incubaron a 28 °C durante 120 h.

Los hongos con micelio algodonoso y tonalidades de blanco a rosado fueron purificados en nuevas placas de PDA para asegurar aislados libres de contaminación, conforme a Latiffah *et al.* (2010).

### Caracterización Morfológica

Siguiendo a Leslie *et al.* (2006), se identificaron las siguientes estructuras: Microconidios de formas ovoides, elípticas o reniformes; de 5–12 µm; uninucleados (septos: 0-1); dispuestos en falsas cabezas o cadenas cortas (monofialidales o polifialidales); Macroconidios tipo fusiformes, ligeramente curvados; de 27-55 µm; y con 3 a 5 septos y pared delgada; producidos en esporodoquios y Clamidoconidios que fueran redondas, de localización terminal o intercalada.

### Ensayo de Antagonismo *in vitro*: *Bacillus subtilis* vs. *Fusarium oxysporum*

Para evaluar la actividad antagónica, se inoculó en una placa de Agar Papa Dextrosa (PDA) una gota de 10 µL con una concentración de ( $1 \times 10^5$ ) esporas de *F. oxysporum*, permitiendo su desarrollo por 48 h. Posteriormente, se marcó un cuadro perimetral alrededor del fitopatógeno utilizando el aislado de *B. subtilis* a evaluar, el cual fue cultivado previamente en caldo LB durante 24 h a 28 °C. Como controles del experimento se establecieron: Testigo: Placa de *Fusarium* a libre crecimiento. Control Positivo: Cepa *Bacillus subtilis* strain BsUV (Zulueta-Rodríguez *et al.*, 2015), la cual fue proporcionada por el Laboratorio de Interacción planta microorganismo del Departamento de Agricultura de la Universidad de Sonora. El ensayo se monitoreó diariamente hasta las 96 h para observar la delimitación del crecimiento y la formación de halos de inhibición (Adhikari y Shrestha, 2021). Aquellos aislados que presentaron actividad antagónica fueron conservados en caldo LB con glicerol al 20% a -20 °C (Adhikari y Shrestha, 2021). Se consideraron 4 tratamientos (aislados), un tratamiento como control positivo con el strain BsUV y el control sin antagonista; cada tratamiento consideró 10 repeticiones originando 60 unidades experimentales.

### Evaluación del Antagonismo

La respuesta del fitopatógeno se determinó mediante parámetros cualitativos y cuantitativos. El indicador principal fue la reducción relativa del crecimiento micelial en comparación con el testigo. Para garantizar la objetividad y evitar sesgos, las placas se distribuyeron de manera aleatoria durante el proceso de evaluación.

El crecimiento radial del micelio se midió en milímetros (mm) utilizando un calibrador digital (STW-9405) a las 96 h. El Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Micelial (PICM) (Li *et al.*, 2025) se calculó mediante la fórmula de crecimiento radial comparativo:

$$PICM = (R1 - R2)/R1 \times 100$$

Donde: R1 es el radio del crecimiento del hongo en la placa testigo (control sin antagonista).

R2 es el radio del crecimiento del hongo en la placa con el tratamiento de *B. subtilis*.

### Diseño Experimental y Análisis Estadístico

El estudio se rigió bajo un diseño completamente al azar. La variable de respuesta principal fue el porcentaje (%) de inhibición del crecimiento micelial obtenido en los ensayos *in vitro*. Para la interpretación de los resultados, se aplicaron los siguientes procedimientos: Los datos recolectados fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA). Las medias de los tratamientos fueron comparadas mediante la prueba de Tukey con un nivel de significancia del 5% ( $p < 0.05$ ). Todos los procedimientos estadísticos se seleccionaron de acuerdo con la naturaleza de las variables analizadas para asegurar la robustez de los resultados.

### III. Resultados y discusión

El aislamiento e identificación de los microorganismos permitió obtener cuatro cepas nativas de *Bacillus subtilis*: *Bacillus*

*subtilis* 01 (San Carlos), *Bacillus subtilis* 02 (Bahía de Kino), *Bacillus subtilis* 03 (Álamos) y *Bacillus subtilis* 04 (San Miguel de Horcasitas). Estas cepas mostraron características morfológicas y bioquímicas consistentes con lo descrito en la literatura taxonómica clásica y reciente (Bergey *et al.*, 2009; Sousa *et al.*, 2025), incluyendo morfología colonial opaca, presencia de endosporas subterminales sin deformación del esporangio y actividad enzimática extracelular (amilasas y proteasas).

Por su parte, el aislado de *Fusarium oxysporum* obtenido de plantas sintomáticas de sandía mostró características morfológicas acordes con la descripción de Leslie *et al.* (2006) y Latiffah *et al.* (2010), incluyendo micelio algodonoso de tonalidad blanca a rosácea, macroconidios fusiformes de 3–5 septos y microconidios ovalados dispuestos en falsas cabezas. La presencia simultánea de macroconidios, microconidios y clamidoconidios confirmó la identidad típica de especies del complejo *Fusarium oxysporum*.

En el ensayo antagónico *in vitro*, el tratamiento testigo (sin presencia de *Bacillus subtilis*) exhibió un crecimiento micelial de 5.8 cm (Fig. 1E), lo cual representa el crecimiento máximo bajo las condiciones de incubación del experimento. En contraste, todas las cepas de *Bacillus subtilis* produjeron reducción significativa del crecimiento de *Fusarium oxysporum*, con valores que oscilaron entre 2.5 y 3.3 cm (Tabla 1).

**Tabla 1.** Diámetro de crecimiento de *Fusarium oxysporum* bajo diferentes tratamientos con *Bacillus subtilis*.

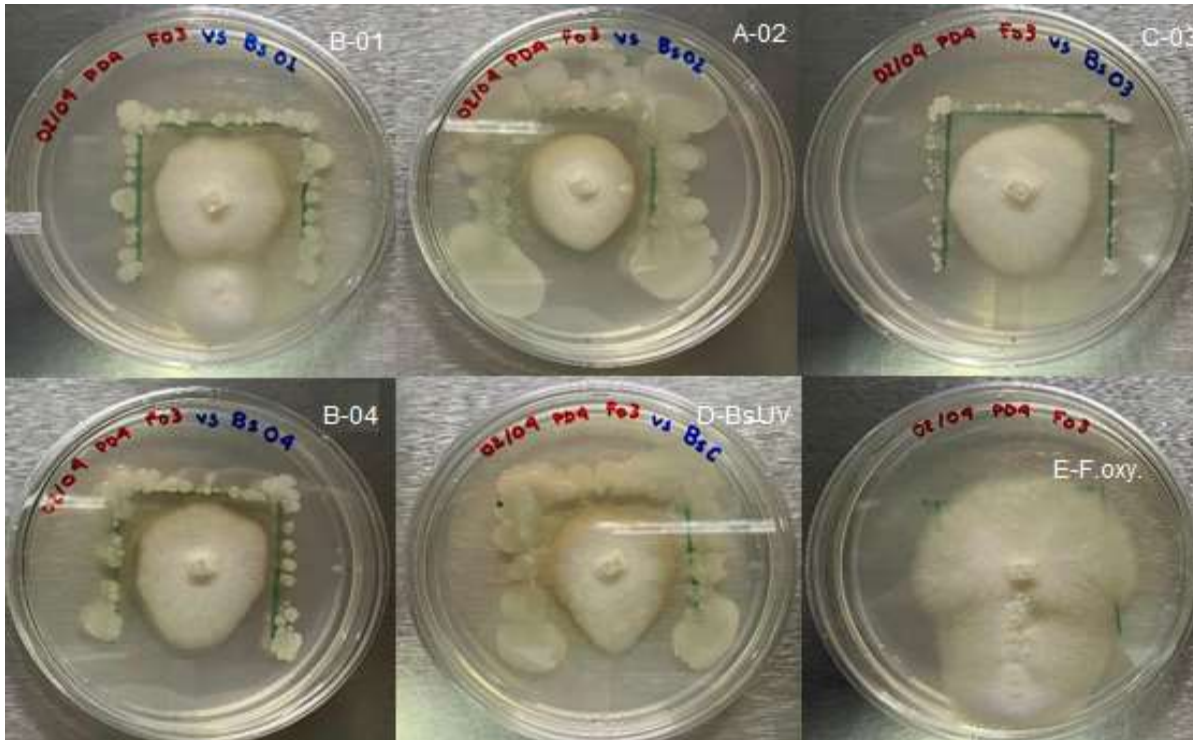
Tratamiento	Crecimiento micelial (cm)
<i>Bacillus subtilis</i> 01 vs <i>Fusarium</i>	3.1± 0.3 ab
<i>Bacillus subtilis</i> 02 vs <i>Fusarium</i>	2.5± 0.4 a
<i>Bacillus subtilis</i> 03 vs <i>Fusarium</i>	3.3± 0.3 ab
<i>Bacillus subtilis</i> 04 vs <i>Fusarium</i>	3.0± 0.5 ab
<i>Bacillus subtilis</i> BsUV (control +) vs <i>Fusarium</i>	2.9± 0.4 ab
Testigo (sin antagonista)*	5.8± 0.2 c

\**Fusarium oxysporum*.

Se afirma que, entre las cepas nativas, *Bacillus subtilis* 02, aislada de Bahía de Kino, es numéricamente menor al control positivo BsUV (2.9 cm), pero estadísticamente similar (Fig. 1A), Asimismo, las cepas 01 y 04 mostraron valores intermedios (3.1 y 3.0 cm) (Fig. 1B), mientras que *Bacillus subtilis* 03 presentó la menor capacidad antagonista entre las aisladas (3.3 cm) (Fig. 1C), aunque aun así significativamente menor al testigo.

Las observaciones cualitativas fueron congruentes con los datos cuantitativos: en los tratamientos se identificó delimitación parcial del micelio y zonas de restricción en la periferia del crecimiento fúngico, mientras que el testigo presentó un crecimiento radiante y homogéneo típico de *Fusarium oxysporum* en PDA.

En conjunto, los resultados confirman que las cepas nativas de *Bacillus subtilis* poseen capacidad antagonista efectiva contra *Fusarium oxysporum*, aunque con variación entre los aislados.



**Figura 1.** Reducción del crecimiento micelial y delimitación visible del halo de inhibición en presencia de cada una de las cepas bacterianas manifestado como un borde irregular o frenado del hongo frente al crecimiento bacteriano.

A) *Bacillus subtilis* 02: las imágenes muestran la zona más definida de restricción micelial, consistente con la medición más baja de crecimiento (2.5 cm). El micelio muestra deformación, menor densidad y un patrón de avance irregular, sugiriendo alta producción de metabolitos antifúngicos. B) *Bacillus subtilis* 01 y 04: efecto intermedio, donde el crecimiento micelial disminuye a 3.1 cm y 3.0 cm, respectivamente. El micelio presenta bordes ondulados y zonas donde el crecimiento parece detenido, lo que coincide con el antagonismo parcial medido. C) *Bacillus subtilis* 03: crecimiento más cercano al control, con 3.3 cm, y un micelio ligeramente menos denso. Aunque existe inhibición, es menos marcada que en los otros tratamientos. D) Control positivo BsUV: nivel de inhibición comparable al de las cepas nativas más efectivas (2.9 cm), confirmando la validez del ensayo. E) Testigo *F. oxysporum* (sin bacteria): micelio completamente expandido, sin señales de restricción, constituyendo el punto de comparación visual más contrastante.

Los resultados obtenidos en este estudio aportan evidencia consistente del potencial de *Bacillus subtilis* como agente biocontrolador contra *Fusarium oxysporum*, lo cual coincide con numerosos estudios previos realizados bajo condiciones *in vitro* e *in vivo*. La reducción significativa del crecimiento micelial concuerda con lo reportado por Zhao *et al.* (2014), quienes documentaron que metabolitos termoestables producidos por *Bacillus subtilis* demostraron fuerte antibiosis frente a *Fusarium subglutinans*. Asimismo, Villarreal-Delgado *et al.* (2018) señalan que la producción de lipopéptidos como surfactina, iturina y fengicina constituye uno

de los mecanismos más determinantes en la inhibición de fitopatógenos.

El hecho de que *Bacillus subtilis* 02 resultara la más eficiente sugiere que factores ambientales propios de su sitio de origen (Bahía de Kino), como clima árido y alta radiación solar, podrían estar asociados a una microbiota adaptada a estrés, lo que favorece la selección de cepas con capacidades metabólicas diferenciadas. Estudios recientes muestran que cepas nativas aisladas de ambientes semiáridos tienden a presentar una elevada plasticidad fisiológica y potencial para producir metabolitos secundarios

(Bonatelli *et al.*, 2021). Por ello, la superioridad de *Bacillus subtilis* 02 podría relacionarse con la presión selectiva del ambiente de origen, un aspecto que ha cobrado relevancia en investigaciones que vinculan ecología microbiana con biocontrol.

Las diferencias observadas en la inhibición de *F. oxysporum* entre los distintos aislados de *B. subtilis* sugieren una amplia variabilidad en su potencial antagónico (Xu *et al.*, 2022; Sousa *et al.*, 2025). Esta heterogeneidad en las respuestas podría estar asociada a una diversidad funcional y metabólica propia de cada cepa, lo que se traduce en una producción diferencial de metabolitos secundarios y enzimas extracelulares, independientemente de su similitud taxonómica (Harwood, 2007; Pedraza *et al.*, 2020).

En cuanto al hongo patógeno, *Fusarium oxysporum* mostró el patrón de crecimiento esperado en PDA (Fig. 1E), reproduciendo características descritas por Logan y De Vos (2009). La inhibición significativa observada en presencia de las cepas bacterianas indica que la antibiosis y competencia por nutrientes son los mecanismos más probables en este estudio. Esta interpretación coincide con resultados obtenidos por Adhikari *et al.* (2021), quienes demostraron que *Bacillus subtilis* puede reducir la disponibilidad de nutrientes esenciales para *Fusarium oxysporum* y producir metabolitos fungistáticos.

Otro punto relevante es que las cepas nativas exhibieron actividad comparable, e incluso superior en algunos casos, al control biológico BsUV. Esto refuerza la literatura que sugiere que cepas nativas suelen adaptarse mejor a condiciones edafoclimáticas locales, lo que incrementa su éxito potencial en fases posteriores de aplicación en campo (Kashyap *et al.*, 2021; Sun *et al.*, 2025).

Por su parte, los resultados coinciden con estudios realizados en sistemas de producción de cucurbitáceas, donde *Bacillus subtilis* ha sido exitoso en mitigar enfermedades vasculares provocadas por *Fusarium* spp.. Kloepper *et al.* (2004), demostraron que *Bacillus subtilis* puede inducir resistencia sistémica, mientras que Ji *et al.* (2022) reportaron efectos promotores de crecimiento que podrían complementar el biocontrol.

El presente estudio se desarrolló bajo condiciones *in vitro*, donde la expresión de mecanismos de acción bacterianos puede verse favorecida o maximizada (Pedraza *et al.*, 2020). Por ello, aunque los resultados son sólidos para demostrar antagonismo, es necesario avanzar hacia estudios en invernadero y campo considerando las interacciones tritróficas (planta-patógeno-rizobacteria) (Kashyap *et al.*, 2021). La cepa *Bacillus subtilis* 02 podría ser candidata prioritaria para tales ensayos.

Además, la identificación de los sitios de origen de las cepas bacterianas (Bahía de Kino, San Carlos, Álamos y San Miguel de Horcasitas), todos ellos con condiciones climáticas documentadas recientemente por Van Devender *et al.* (2010) y Khan *et al.* (2021) permiten contextualizar la ecología microbiana regional. Los entornos áridos del noroeste de México son reconocidos como reservorios de microorganismos con potencial biotecnológico, lo que fortalece el valor de las cepas aisladas (Tsotetsi *et al.*, 2022).

#### **IV. Conclusiones, limitaciones y recomendaciones**

Los resultados obtenidos demostraron que las cepas nativas de *Bacillus subtilis* aisladas de diferentes regiones de Sonora poseen un efecto antagónico significativo contra *Fusarium oxysporum*, agente causal de la

marchitez vascular en sandía. Todas las cepas evaluadas redujeron de manera consistente el crecimiento micelial del patógeno en comparación con el testigo, siendo la cepa *Bacillus subtilis* 02, proveniente de Bahía de Kino, la que presentó la mayor capacidad de inhibición, incluso superior al control biológico control BsUV. La evidencia cuantitativa se vio reforzada por las observaciones cualitativas de las imágenes, donde se apreciaron halos de inhibición, deformación del micelio y reducción de la densidad fúngica.

Estos resultados confirman el potencial de las cepas nativas como agentes de biocontrol y resaltan la importancia de explorar la microbiota regional, especialmente en ambientes áridos que favorecen la selección de microorganismos con alta plasticidad fisiológica. Aunque el antagonismo observado *in vitro* constituye un primer paso sólido, son necesarios estudios posteriores en condiciones de invernadero y campo para evaluar la estabilidad, eficacia y consistencia de estas cepas en sistemas agrícolas reales. En conjunto, el estudio aporta información relevante para el desarrollo de alternativas sustentables de manejo fitosanitario en el cultivo de sandía en Sonora.

## V. Referencias

- Adhikari, P., Pal, A. K., & Shrestha, S. (2021). Antagonistic activity of *Bacillus subtilis* against soilborne fungal pathogens. *Journal of Applied Microbiology*, 130(5), 1504–1515. [https://www.researchgate.net/publication/391423878\\_ANTAGONISTIC\\_ACTIVITY\\_OF\\_BACILLUS\\_STRAIN\\_AGAINST\\_FUNGAL\\_PATHOGENS](https://www.researchgate.net/publication/391423878_ANTAGONISTIC_ACTIVITY_OF_BACILLUS_STRAIN_AGAINST_FUNGAL_PATHOGENS)
- Bonatelli, M. L., Lacerda-Júnior, G. V., dos Reis Junior, F. B., Fernandes-Júnior, P. I., Melo, I. S., & Quecine, M. C. (2021). Beneficial plant-associated microorganisms from semiarid regions and seasonally dry environments: a review. *Frontiers in Microbiology*, 11, 553223. doi: 10.3389/fmicb.2020.553223
- Bergey, D. H., Whitman, W. B., De, V. P., Garrity, G. M., & Jones, D. (2009). Genus *Bacillus*. En P. H. A. Sneath (Ed.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (Vol. 2). *Bergey's manual of systematic bacteriology: Vol. 3*. New York: Springer, 450 p.
- Espinoza-Ahumada, C. A., Gallegos-Morales, G., Ochoa-Fuentes, Y. M., Hernández-Castillo, F. D., Méndez-Aguilar, R., & Rodríguez-Guerra, R. (2019). Antagonistas microbianos para biocontrol de la marchitez y su efecto promotor en el rendimiento de chile serrano. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. <https://doi.org/10.29312/remexca.v0i23.2020>
- Giri, B.R., Chattaraj, S., Rath, S., Pattnaik, MM, Mitra, D. & Thatoi, H. (2025). Descubriendo el mecanismo molecular de *Azospirillum* en la promoción del crecimiento vegetal. *Bacteria*, 4(3), 36. <https://doi.org/10.3390/bacteria4030036>
- Harwood, C. R. (2007). *Bacillus subtilis* as a model for bacterial systems biology. *Encyclopedia of Life Sciences*, 1978-1988. <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0002027>
- Ji, C., Chen, Z., Kong, X., Xin, Z., Sun, F., Xing, J., Li, C., Li, K., Liang, Z., & Cao, H. (2022). Biocontrol and plant growth promotion by combined *Bacillus* spp. inoculation affecting pathogen and AMF communities in

- the wheat rhizosphere at low salt stress conditions. *Front Plant Sci.* 8;13:1043171. doi: 10.3389/fpls.2022.1043171. PMID: 36570885; PMCID: PMC9773258.
- Kashyap, A. S., Manzar, N., Rajawat, M. V. S., Kesharwani, A. K., Singh, R. P., Dubey, S. C., Pattanayak, D., Dhar, S., Lal, S. K., & Singh, D. (2021). Screening and Biocontrol Potential of Rhizobacteria Native to Gangetic Plains and Hilly Regions to Induce Systemic Resistance and Promote Plant Growth in Chilli against Bacterial Wilt Disease. *Plants*, 10(10), 2125. <https://doi.org/10.3390/plants10102125>
- Khan, N., Ali, S., Shahid, M.A., Mustafa, A., Sayyed, R.Z., & Curá, J.A. (2021). Insights into the Interactions among Roots, Rhizosphere, and Rhizobacteria for Improving Plant Growth and Tolerance to Abiotic Stresses: A Review. *Cells*. 10(6):1551. doi: 10.3390/cells10061551.
- Kloepper, J. W., Ryu, C. M., & Zhang, S. (2004). Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. *Phytopathology*, 94(11), 1259-1266. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2004.94.11.1259>
- Latiffah, Z., Mah, Kok, F., Heng-Mei, H., Maziah, Z., & Baharuddin, S. (2010). *Fusarium* species isolated from mangrove soil in kampung pantai akeh, balik pulau, pulau pinang, malaysia. *Trop Life Sci Res.* 21(1):21-9.
- Leslie, J. F., Summerell, B. A., & Bullock, S. (2006). The *Fusarium* laboratory manual (Vol. 2, No. 10). Ames, IA: Blackwell Pub. DOI:10.1002/9780470278376
- Li, Y., Gao, Z., Kong, W., Xiao, Y., Adjei, M. O., & Fan, B. (2025). Biocontrol of Crown Gall Disease of Cherry Trees by *Bacillus velezensis*. *Plants*, 14(3), 475. <https://doi.org/10.3390/plants14030475>
- Logan, N. A., & De Vos, P. (2009). *Bacillus*. En P. De Vos, G. M. Garrity, D. Jones, N. R. Krieg, W. Ludwig, F. A. Rainey, K.-H. Schleifer & W. B. Whitman (Eds.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (Vol. 3). Springer. 549p.
- Meneguzzi, R.D.V., Fernandez, M., Cappellari, L.D.R., Giordano, W., & Banchio, E. (2024). Isolation and Characterization of Plant Growth-Promoting Bacteria from the Rhizosphere of Medicinal and Aromatic Plant *Mintostachys verticillata*. *Plants*, 13(15), 2062. <https://doi.org/10.3390/plants13152062>
- Najafi, M.F., Deobagkar, D., & Deobagkar, D. (2005). Purification and characterization of an extracellular alpha-amylase from *Bacillus subtilis* AX20. *Protein Expr Purif.*, 41(2):349-54. doi: 10.1016/j.pep.2005.02.015. PMID: 15866721.
- Pedraza, L.A., López, C.E., & Uribe-Vélez, D. (2020). Mecanismos de acción de *Bacillus* spp. (Bacillaceae) contra microorganismos fitopatógenos durante su interacción con plantas. *Acta Biológica Colombiana*, 25 (1), 112-125. <https://doi.org/10.15446/abc.v25n1.75045>

- Puño, R., Terrazas, E., Álvares, T., Giménez, A., Mendoza, L., Hugh, S. & Loza-Murguía, M. (2011). Evaluación de la capacidad biocontroladora de metabólicos de *Trichoderma inhamatum* Bol12 QD sobre cepas nativas de *Phytophthora infestans* in vitro. *Revista de la Sociedad de Investigación Selva Andina* 2(1):26-33. <https://www.redalyc.org/articulo>
- Rentería-Martínez, M. E., Guerra-Camacho, M. Á., Ochoa-Meza, A., Moreno-Salazar, S. F., Varela-Romero, A., Gutiérrez-Millán, L. E., & Meza-Moller, A. D. C. (2018). Análisis filogenético multilocus del complejo fúngico asociado a pudrición radicular de sandía en Sonora, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 36(2), 233-255.
- Sousa, E.G., Campos, G.M., Viana, M.C., Gomes, G.C., Rodrigues, D.N., Aburjaile, F.F., Fonseca, B.B., de Araújo, M.B., da Costa, M.M., Guedon E., Brenig B., Soares, S., & Azevedo, V. (2025) The research on the identification, taxonomy, and comparative genomics analysis of nine *Bacillus velezensis* strains significantly contributes to microbiology, genetics, bioinformatics, and biotechnology. *Front. Microbiol.* 16:1544934. doi: 10.3389/fmicb.2025.1544934
- Sun, W., Shahrajabian, M. H., & Guan, L. (2025). The Biocontrol and Growth-Promoting Potential of *Penicillium* spp. and *Trichoderma* spp. in Sustainable Agriculture. *Plants*, 14(13), 2007. <https://doi.org/10.3390/plants14132007>
- Tsotetsi, T., Nephali, L., Malebe, M., Tugizimana, F. (2022). *Bacillus* for Plant Growth Promotion and Stress Resilience: What Have We Learned? *Plants*, 11, 2482. <https://doi.org/10.3390/plants11192482>
- Uzcanga-Pérez, N. G., Maya-Amaya, A., & Espinoza-Arellano, J. J. (2015). Diagnóstico socioeconómico del cultivo de sandía en el estado de Campeche, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 6(6), 1331-1344. DOI <https://doi.org/10.29312/remexca.v6i6.580>
- Van Devender, T.R., R.S. Felger, M. Fishbein, F.E. Molina-Freaner, J.J. Sánchez-Escalante & A.L. Reina-Guerrero. (2010). Biodiversidad de las plantas vasculares. En: F.E. Molina-Freaner y T.R. Van Devender, eds. *Diversidad biológica de Sonora. UNAM, México*, pp. 229-261.
- Villarreal-Delgado, María Fernanda *et al.* (2018). El género *Bacillus* como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. *Rev. Mex. Fitopatología*, vol. 36, n. 1, pp. 95-130 . ISSN 2007-8080. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1706-5>
- Xu, W., Yang, Q., Xie, X., Goodwin, P. H., Deng, X., Zhang, J., Sun, R., Wang, Q., Xia, M., Wu, C., & Yang, L. (2022). Genomic and Phenotypic Insights into the Potential of *Bacillus subtilis* YB-15 Isolated from Rhizosphere to Biocontrol against Crown Rot and Promote Growth of Wheat. *Biology*, 11(5), 778. <https://doi.org/10.3390/biology11050778>
- Zhao, Y., Selvaraj, J.N., Xing, F., Zhou, L., Wang, Y., Song, H., Tan, X., Sun, L.,

Sangare, L., Folly, Y.M., & Liu, Y. (2014). Antagonistic action of *Bacillus subtilis* strain SG6 on *Fusarium graminearum*. *PLoS One*, 20;9(3):e92486. doi: 10.1371/journal.pone.0092486.

Zulueta-Rodríguez, R.; Hernández-Montiel, L.G.; Murillo-Amador, B.; Rueda-Puente, E.O.; Capistrán, L.L.; Troyo-Diéguez, E.; Córdoba-Matson, M.V. (2015). Effect of Hydropriming and Biopriming on Seed Germination and Growth of Two Mexican Fir Tree Species in Danger of Extinction. *Forests*, 6, 3109-3122. <https://doi.org/10.3390/f6093109>