

***Streptomyces* como biocontroladores *in vitro* de *Exserohilum rostratum* y productores de sustancias promotoras del crecimiento vegetal**

***Streptomyces* as *in vitro* biocontrol agents of *Exserohilum rostratum* and producers of plant growth promoting substances**

Darío Enrique García-Rojas, Pedro Vázquez-Vázquez, Universidad Tecnológica de la Costa, C.P. 63313, Santiago Ixcuintla, Nayarit, México, **Daniel Alonso Pérez-Corral, María Fernanda Ruiz-Cisneros, David Ignacio Berlanga-Reyes, José de Jesús Ornelas-Paz, Carlos Horacio Acosta-Muñiz, Claudio Rios-Velasco***, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo-CIAD; A.C., C.P. 31570, Ciudad Cuauhtémoc, Chihuahua, México; **Miguel Ángel Salas-Marina**, Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas-UNICAH, Villacorzo, C.P. 29000, Chiapas, México, **Eduardo Osorio-Hernández**, Universidad Autónoma de Tamaulipas. Ciudad Victoria, Tamaulipas, C.P. 87000, México. *Autor de correspondencia: claudio.rios@ciad.mx.

Recibido: 04 de Abril, 2019.

Aceptado: 03 de Junio, 2019.

García-Rojas DE, Vázquez-Vázquez P, Pérez-Corral DA, Ruiz-Cisneros MF, Berlanga-Reyes DI, Ornelas-Paz JJ, Acosta-Muñiz CH, Rios-Velasco C, Salas-Marina MA y Osorio-Hernández E. 2019. *Streptomyces* como biocontroladores *in vitro* de *Exserohilum rostratum* y productores de sustancias promotoras del crecimiento vegetal. Revista Mexicana de Fitopatología 37 (No. Esp. 1) 48-56.

DOI: 10.18781/R.MEX.FIT.1904-2

Resumen. El objetivo del estudio fue evaluar la actividad antifúngica de *Streptomyces* spp. contra *Exserohilum rostratum* cepa CIAD_CP01 (Sinónimo de *Setosphaeria rostrata*), así como su capacidad para producir sustancias promotoras del crecimiento vegetal. La actividad antagonista *in vitro* de seis cepas de *Streptomyces* se evaluó por confrontación directa y a través de volátiles contra *E. rostratum* aislado de follaje de maíz en el estado de Chihuahua, (siendo éste, el primer reporte de

ocurrencia en dicho estado), y se estimó mediante el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR). Así mismo, se determinó la capacidad de *Streptomyces* spp., para producir ácido indol acético (AIA) y sideróforos, además de su potencial para fijar nitrógeno atmosférico y solubilizar fosfatos. Los valores de PICR obtenidos fluctuaron de 34.9 a 95.7% en confrontación directa y de 0.6 a 2.2% mediante volátiles. *Streptomyces cangkringensis* cepa CIAD-CA07 (A7) y *Streptomyces missionensis* cepa CIAD-CA27 (A27) produjeron 3 y 29 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de AIA, respectivamente. Todas las cepas fueron capaces de producir el sideróforo trihidroxamato (ferrioxamina) de 7.8 a 39.3% de unidades de sideróforos y de fijar nitrógeno atmosférico. Con base en los resultados, las cepas de *Streptomyces* podrían ser utilizadas como agentes de control biológico de *E. rostratum* y como biofertilizantes en cultivos hortofrutícolas.

Palabras clave: Actinomicetos, antagonistas, biocontrol, enfermedad, fitopatógeno, maíz.

Abstract. The aim of the study was to evaluate the antifungal activity of *Streptomyces* spp. against *Exserohilum rostratum* strain CIAD_CP01 (synonym *Setosphaeria rostrata*), as well as their ability to produce plant growth promoting substances. The antagonistic capacity *in vitro* of six *Streptomyces* strains was evaluated by direct confrontation and through volatiles against *E. rostratum*, isolated from maize leaves in the state of Chihuahua, (this being the first report of occurrence in this State) and was calculated by the percentage of inhibition of radial growth (PIRG). Likewise, the capacity of *Streptomyces* to produce indole acetic acid (IAA) and siderophores was determined, in addition to the fixation of atmospheric nitrogen and solubilize phosphates. The obtained PIRG ranged from 34.9 to 95.7% by direct confrontation and from 0.6 to 2.2% through volatiles. *Streptomyces cangkringensis* strain CIAD-CA07 (A7) and *Streptomyces misionensis* strain CIAD-CA27 (A27) were able to produce IAA, with 3 and 29 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectively. All strains were able to produce the siderophore trihydroxamate (ferrioxamine), ranging from 7.8 to 39.3 % siderophore units, and to fix atmospheric nitrogen. Based on these results, *Streptomyces* strains could be used as biological control agents for *E. rostratum* and as biofertilizers in horticultural crops.

Key words: Actinomycetes, antagonists, biocontrol, diseases, phytopathogen, corn.

El género *Streptomyces* es el más representativo de los actinomicetos y el más ampliamente distribuido en ecosistemas y agroecosistemas, del cual se ha obtenido más del 70% de los antibióticos conocidos y es fuente potencial de nuevos compuestos bioactivos (Muharram *et al.*, 2013). La mayoría de las cepas de este género son capaces de inhibir el crecimiento *in vitro* de bacterias y hongos fitopatógenos mediante la producción de metabolitos secundarios con actividad antimicrobiana [antibióticos, antifúngicos, enzimas extracelulares (quitinasas, peroxidases, glucanasas), inhibidores enzimáticos, terpenoides, pigmentos y plaguicidas,

entre otros] (Franco-Correa *et al.*, 2010). Además, producen sustancias promotoras del crecimiento vegetal como el ácido indol acético (AIA), sideróforos y solubilizan fosfatos (Dertz *et al.*, 2006). Por otro lado, *Exserohilum rostratum* (sinónimo homotípico de *Setosphaeria rostrata*) se reporta por vez primera como agente causal de tizón foliar en maíz (*Zea mays*) con sintomatología similar a la causada por *Exserohilum turcicum* conocido por causar la enfermedad denominada “tizón norteño de la hoja del maíz” (Chung *et al.*, 2010). Esta enfermedad ha sido detectada recientemente en algunas zonas productoras de maíz en México. En el estado de Sinaloa, *E. turcicum* provocó pérdidas en la producción de grano de maíz del 50%, en el ciclo 2013-2014 (Nuñez *et al.*, 2019), sin embargo, en el estado de Chihuahua, México aún no se cuenta con el reporte oficial de la ocurrencia de *E. rostratum*, y por ende no se cuenta con datos de incidencia, severidad y pérdidas económicas que ocasiona. La incidencia de esta enfermedad se ha encontrado relacionada con maíces híbridos que no poseen genes de resistencia a la enfermedad, lo cual reduce los rendimientos (Dong *et al.*, 2008). Los microorganismos antagonistas son una alternativa en el manejo de esta enfermedad, destacando los actinomicetos (actinobacterias) por su actividad antimicrobiana, y su capacidad para promover el crecimiento vegetal. Por lo que, el objetivo fue evaluar la capacidad antifúngica *in vitro* de *Streptomyces* spp. contra *Exserohilum rostratum* y su potencial para producir sustancias promotoras del crecimiento vegetal.

Las cepas de *Streptomyces* se seleccionaron del cepario del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Unidad Cuauhtémoc, de acuerdo con su capacidad antifúngica probada previamente (Pérez-Corral *et al.*, 2015), y fueron las siguientes: *Streptomyces cangkringensis* cepa CIAD-CA07 (A7), *Streptomyces* sp. cepa CIAD-CA19 (A19), *Streptomyces misionensis* cepa CIAD-CA27 (A27), *Streptomyces kanamyceticus* cepa CIAD-CA45 (A45), *Streptomyces kanamyceticus* cepa CIAD-CA48 (A48) y *Streptomyces libani* cepa CIAD-CA86 (A86). El hongo fitopatógeno *Exserohilum rostratum* CIAD_CP01 fue aislado de hojas sintomáticas (tizones foliares) de plantas de

maíz en las etapas fenológicas VT (aparición de las panojas) y R1 (aparición de los estigmas) (Figura 1), de acuerdo con Centko *et al.* (2017), durante el ciclo agrícola 2018 en parcelas establecidas en Cuauhtémoc, Chihuahua, México (28° 33' 49" LN; 106° 54' 28" LO, 1,995 msnm).

Para la identificación morfológica del fitopatógeno, se creció en medio de cultivo PDA por 7 días a 28 ± 1 °C en ausencia de luz. Del micelio del hongo se realizaron montajes en porta y cubreobjetos y se tiñeron con azul de lactofenol para su observación en un microscopio compuesto (Carl Zeiss, Jena, Alemania) a 1000x magnificaciones y se identificó mediante claves taxonómicas (Watanabe, 2010). Para la identificación molecular, se extrajo el ADN genómico (ADNg) de acuerdo con Ruiz-Cisneros *et al.* (2017). El ADNg obtenido se visualizó por electroforesis en gel de agarosa al 1%, en un ChemiDoc™ XRS+ imaging system (Bio-Rad; CA, EUA) y subsecuentemente se usó para amplificar el espaciador transcrito interno (ITS, por sus siglas en inglés) del gen 18S del ARN ribosomal (ARNr), usando los iniciadores universales ITS5 (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3') e ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'). El producto de PCR se examinó por electroforesis en gel de agarosa al 1%, y fue secuenciado (ambas cadenas) por Macrogen EUA (Rockville, MD, EUA). Las secuencias obtenidas fueron superpuestas y ensambladas para obtener la secuencia consenso que

se comparó contra las bases de datos del National Center for Biotechnology Information (NCBI), usando el algoritmo de BLAST para verificar el porcentaje de identidad correspondiente a las especies identificadas. La secuencia de *E. rostratum* strain CIAD_CP01 fue depositada en el GenBank (número de acceso MK942343.1). Se realizó un análisis filogenético del aislado, comparándola con cepas de las especies *rostratum* y *turcicum* de otras regiones usando el modelo Kimura 2-parameter (K2) y el modelo de verosimilitud (ML) con 1000 réplicas de Bootstrap (Figura 2).

Las cepas de *Streptomyces* se evaluaron *in vitro* por confrontación directa y mediante volátiles contra *E. rostratum*. Para el primer estudio se colocaron cuatro explantes de 7 mm de diámetro de las colonias de *Streptomyces*, en cada punto cardinal del borde de una caja de Petri de 90 mm de diámetro con medio de cultivo Czapek Dox Agar (CDA) y se incubaron a 28 ± 1 °C por 10 días (Pérez-Corral *et al.*, 2015). Al décimo día, un explante de 7 mm de diámetro de una colonia del fitopatógeno se colocó en el centro de la caja de Petri. Los testigos consistieron en explantes del fitopatógeno crecidos en CDA en ausencia de *Streptomyces* (Evangelista-Martínez, 2014). En el segundo estudio, se evaluó la actividad antifúngica *in vitro* de las cepas de *Streptomyces* mediante volátiles, para lo cual se inocularon 4 mL de una suspensión ($\sim 1.5 \times 10^8$ esporas mL⁻¹) de las cepas de *Streptomyces* sobre

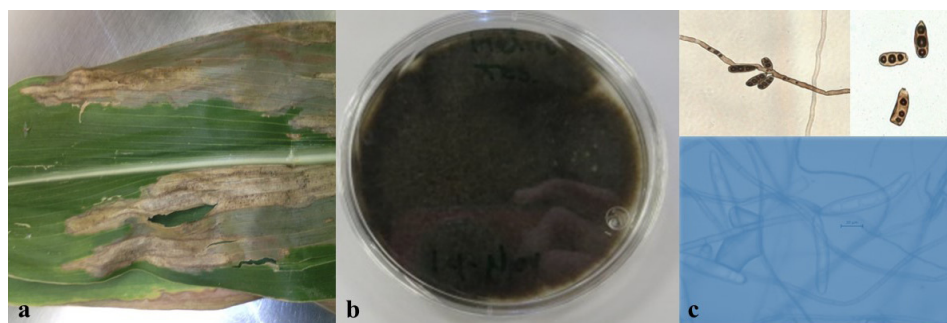


Figura 1. Características del agente causal *Exserohilum rostratum* a) tizón de la hoja en maíz y caracteres: b) macroscópicos (crecimiento del hongo en cajas de Petri de 90 mm de diámetro con PDA con 10 días de edad) y c) microscópicos (micelio filamentosos y conidios de color pardo oscuro tabicados y conidióforos laterales ovalados, vistos a 400X y 1000X aumentos) del fitopatógeno.

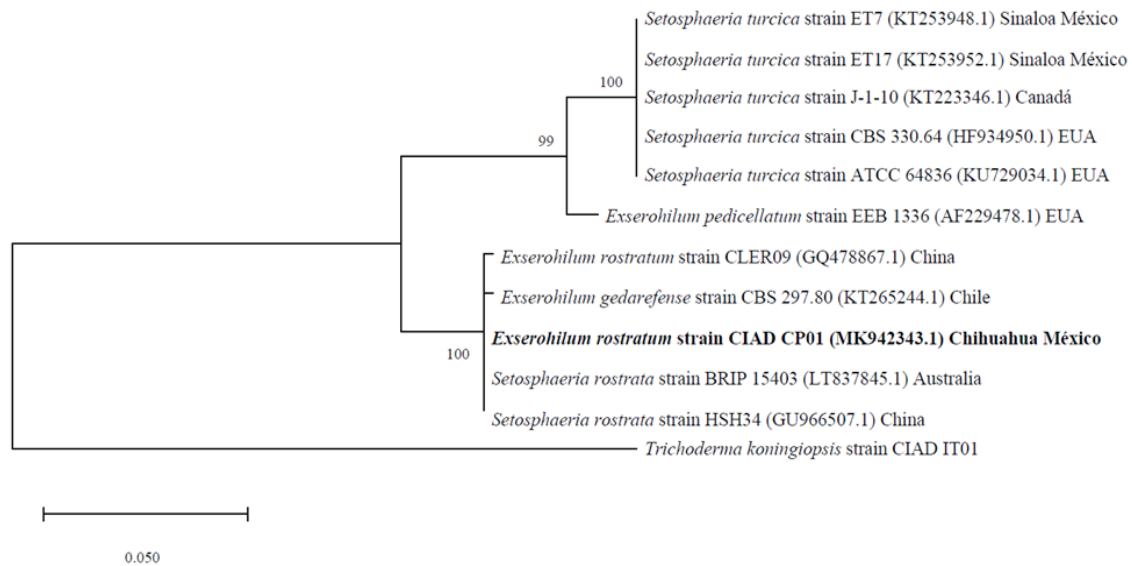


Figura 2. Árbol filogenético de máxima verosimilitud basado en el espaciador transcrito interno (ITS), construido con el programa Mega X (bootstrap = 1000), usando el modelo de sustitución Kimura 2-parameter (K2), los valores de bootstrap se muestran como porcentajes. El árbol se dibujó a escala, con longitudes de rama medidas en el número de sustituciones por sitio, la secuencia correspondiente a *Trichoderma koningiopsis* cepa CIAD_IT01 se tomó como grupo externo.

semillas de trigo (40 g) pre-cocidas y estériles, se incubaron a 28 ± 1 °C por 10 días. Veinte gramos de semillas con crecimiento de actinomicetos se colocaron en una caja de Petri de 60×15 mm, sin tapa, adicionalmente, se colocaron tres cajas de Petri de 60×15 mm sin tapa que contenían CDA, con un explante (7 mm de diámetro) del hongo patógeno en el centro de cada caja. Las cuatro cajas, se colocaron dentro de otra caja de Petri de tamaño mayor (140×25 mm). Las cajas se sellaron e incubaron a 28 ± 1 °C. Los testigos consistieron en cajas de Petri con semillas de trigo estériles sin inocular y las respectivas cajas con el fitopatógeno (Boukaew *et al.*, 2013). En ambos estudios se midió cada 24 h el crecimiento radial del fitopatógeno confrontado y los testigos. El día en que el hongo fitopatógeno (testigos) llenó la caja de Petri se tomó como referencia para estimar el antagonismo en la confrontación. El porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) fue estimado de acuerdo con la fórmula propuesta por Yuan y Crawford (1995). Los datos obtenidos del PICR se sometieron

a un análisis de varianza (ANDEVA) y se usó la prueba de Tukey ($p=0.05$) para separar las medias. Los análisis se realizaron con el programa estadístico Statistical Analysis System versión 9.0. Todas las pruebas se realizaron por triplicado. Cada repetición constó de nueve unidades experimentales (cajas de Petri por confrontación) y como testigo se consideraron 10 cajas del patógeno (sin presencia de antagonista).

Para evaluar la capacidad de las cepas de *Streptomyces* para producir sustancias promotoras del crecimiento vegetal, se realizaron pruebas bioquímicas que consistieron en inducir la producción de ácido indol acético (AIA), además de evaluar su capacidad para producir sideróforos, solubilizar fosfatos y de fijar nitrógeno atmosférico (N_2). Estas pruebas se hicieron cualitativamente y las cepas que resultaron positivas a las pruebas bioquímicas se cuantificaron. Todas las pruebas cualitativas y cuantitativas se realizaron por triplicado. El AIA se determinó de acuerdo con Gopalakrishnan *et al.* (2011), usando un espectrofotómetro (Evolution™

300; Thermo Electron Scientific Instruments LLC, Madison) a una absorbancia de 530 nm y la concentración se determinó con una curva de calibración de un estándar de AIA. La cuantificación del AIA se hizo con base en los datos de absorbancia en función de la concentración mediante una regresión lineal para determinar la ecuación de la recta ($y = 32.943x - 0.0372$, $R^2 = 0.9896$). La producción de sideróforos se hizo mediante la solución de ensayo del Chrome azulol S (CAS) de acuerdo con Schwyn y Neilands (1987) y la cuantificación se expresó en % de unidades de sideróforos, utilizando la siguiente fórmula propuesta por Lee *et al.* (2012).

$$\% \text{ unidades de sideróforos} = \left[\frac{\text{Absorbancia de muestra} - \text{Absorbancia de referencia}}{\text{Absorbancia de referencia}} \right] \times 100$$

Para la estimación de AIA y sideróforos, las cepas de *Streptomyces* se crecieron en caldo ISP2 e ISP4 (Medios 2 y 4 del International Streptomyces Project, limitados en hierro), respectivamente y se mantuvieron a 28 ± 1 °C y 150 rpm de agitación por 7 días (Lee *et al.*, 2012). Los precultivos fueron centrifugados, el sobrenadante fue filtrado y se tomó un 1 mL de la muestra para cada determinación. En las cepas positivas a la producción de sideróforos (cambio de color azul a rosa o naranja), se les determinó el tipo de sideróforo producido (catecol o hidroxamato) de acuerdo con Arnow (1937). En la prueba de Arnow, la presencia del sideróforo catecol se indicó mediante un vire a color rosa. En la prueba de cloruro férrico (FeCl_3), la presencia de los sideróforos trihidroxamato y dihidroxamato se indicó mediante un vire de color naranja y rosa, respectivamente. Para la solubilización de fosfatos insolubles por las cepas de *Streptomyces*, se usó el medio National Botanical Research Institute Phosphorus (NBRIP) registrando el crecimiento y la presencia de halos en el medio, siendo la presencia de éstos, el indicativo de la capacidad de las cepas para solubilizar fosfatos (Walpola y Yoon, 2013). Para determinar la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico, se crecieron las cepas de *Streptomyces*

en cajas de Petri con medio libre de nitrógeno, donde el desarrollo de colonia indicó la capacidad de fijar N_2 atmosférico, como control positivo, se creció un aislado de *Bacillus* sp. (Peña y Reyes, 2007).

De acuerdo con sus caracteres morfológicos macro y microscópicos (Figuras 1 a, b y c), el hongo fitopatógeno fue identificado como *Exserohilum* sp. El aislado mostró colonias circulares de color oscuro superiormente y negro en la parte inferior, y conidios rectos a ligeramente curvos ovalados, tabicados y conidióforos simples (Watanabe, 2010) y confirmado molecularmente mediante la comparación de su secuencia en la base de datos del Banco de Genes del NCBI correspondiendo a *Exserohilum rostratum* CIAD_CP01 (número de acceso MK942343.1).

La inhibición *in vitro* de las cepas de *Streptomyces* por confrontación directa contra *E. rostratum* fue significativamente diferente. Se observó producción escasa de micelio y crecimiento aéreo atípico del hongo patógeno. Estos efectos pueden atribuirse a metabolitos secundarios extracelulares (antibióticos) secretados al medio de cultivo por algunas cepas de *Streptomyces* (Prashith *et al.*, 2010). Cabe resaltar que en algunas confrontaciones se observaron halos de inhibición menores, posiblemente debido a la escasa difusión de compuestos antifúngicos, a la naturaleza química de los mismos y/o a su comportamiento en medios acuosos (León *et al.*, 2011). El crecimiento *in vitro* de *E. rostratum* fue reducido significativamente por todas las cepas de *Streptomyces* evaluadas en confrontación directa, con PICR que fluctuaron de 34.9 a 95.7% (Figura 3), donde la cepa A27 (*Streptomyces misionensis* cepa CIAD-CA27) mostró la mayor actividad antifúngica, seguida por las cepas A19 (*Streptomyces* sp. cepa CIAD-CA19) y A45 (*Streptomyces kanamyceticus* cepa CIAD-CA45) con inhibiciones de 87.9% y 83.8%, respectivamente (Figura 3). Evangelista-Martínez (2014) reportó PICR de 44 a 71% para *Streptomyces*, al día cinco post-confrontación contra *Helminthosporium* sp. Dávila-Medina *et al.* (2013) al evaluar la actividad *in vitro* de actinomicetos contra hongos fitopatógenos reportaron PICR inferiores al 49.4%. En este estudio, cinco de los seis aislados de *Streptomyces* mostraron porcentajes

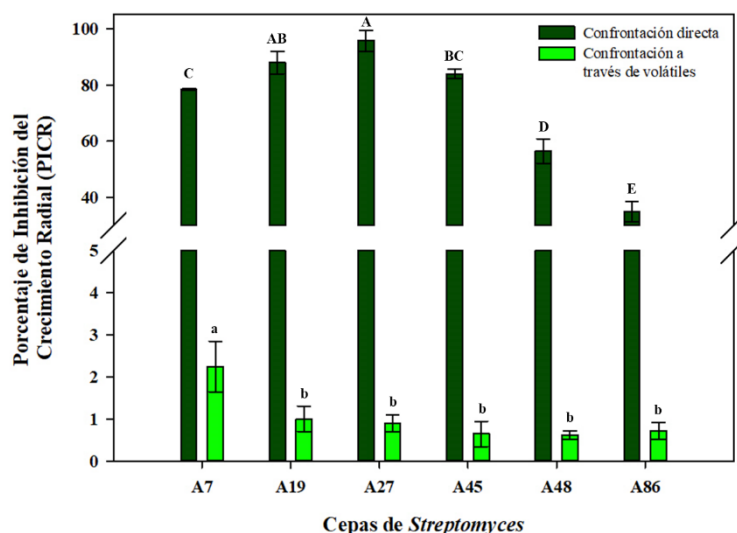


Figura 3. Capacidad antifúngica *in vitro* de cepas de *Streptomyces* spp., contra el hongo *Exserohilum rostratum* en confrontaciones directa y a través de volátiles. Los datos son presentados como medias \pm error estándar. Los valores sobre las barras con las mismas literales indican igualdad estadística, con un 95% de confianza ($\alpha=0.05$) de acuerdo con la prueba de Tukey.

superiores a este valor. En contraste, Pérez-Corral *et al.* (2015) reportaron aislados de actinomicetos que inhibieron por completo el crecimiento de *Fusarium equiseti* infiriendo la posible acción fungistática o fungicida debido a la producción de sustancias biocidas o antibióticos que se difunden a través del medio de cultivo. Este atributo podría ser el caso de la cepa A19 (*Streptomyces* sp. cepa CIAD-CA19), ya que se ha demostrado que cepas de esta especie producen tubercidina, un inhibidor de múltiples procesos metabólicos como la síntesis de ácidos nucleicos, proteínas y ascomicina (Kónya *et al.*, 2006). La antibiosis mostrada contra *E. rostratum* por las cepas de *Streptomyces* puede atribuirse a enzimas extracelulares como quitinasas, b-1,3-glucanasas y antibióticos (González-Franco *et al.*, 2003).

La inhibición *in vitro* de las cepas de *Streptomyces* contra *E. rostratum* en confrontación a través de volátiles fluctuó de 0.6% a 2.2% (Figura 3). La cepa A7 (*Streptomyces cangkringensis* cepa CIAD-CA07), ejerció la mayor actividad mediante volátiles pero menor al mostrado en la confrontación

directa (Figura 3). Los PICR mediante volátiles fueron significativamente menores en comparación con los valores obtenidos en confrontación directa, posiblemente debido a que en esta última hubo mayor producción de metabolitos secundarios (antibióticos) que actúan por medios difusibles en el medio o por competencia de espacio y/o nutrientes, impidiendo que *E. rostratum* creciera óptimamente. Por lo tanto, la mayor actividad antagonica de las cepas evaluadas fue mediante metabolitos difusibles en el medio de cultivo. Boukaew *et al.* (2013), mencionan que el efecto de los volátiles de *Streptomyces* contra hongos se atribuye a la destrucción de su pared celular.

Las seis cepas de *Streptomyces* produjeron al menos una sustancia responsable de la promoción del crecimiento vegetal (Cuadro 1). Las seis cepas produjeron sideróforos del tipo trihidroxamato y fueron capaces de fijar nitrógeno atmosférico. Mientras que solo las cepas A7 (*Streptomyces cangkringensis* cepa CIAD-CA07) y A27 (*Streptomyces misionensis* cepa CIAD-CA27) produjeron AIA. Ninguna cepa fue capaz de solubilizar fósforo inorgánico e insoluble.

Cuadro 1. Capacidad de las cepas de *Streptomyces* spp. en la producción de sustancias promotoras del crecimiento vegetal.

Cepa antagonista	Promotores de crecimiento vegetal			Sideróforos		
	Ácido indol acético	Fijación de Nitrógeno	Solubilización de fosforo inorgánico	Catecol	Trihidroxamato	Dihidroxamato
A7 <i>Streptomyces cangkringensis</i> cepa CIAD-CA07	+	+	-	-	+	-
A19 <i>Streptomyces</i> sp. cepa CIAD-CA19	-	+	-	-	+	-
A27 <i>Streptomyces misionensis</i> cepa CIAD-CA27	+	+	-	-	+	-
A45 <i>Streptomyces kanamyceticus</i> cepa CIAD-CA45	-	+	-	-	+	-
A48 <i>Streptomyces kanamyceticus</i> cepa CIAD-CA48	-	+	-	-	+	-
A86 <i>Streptomyces libani</i> cepa CIAD-CA86	-	+	-	-	+	-

(+) Positivo a la prueba
(-) Negativo a la prueba

Las cepas A7 (*Streptomyces cangkringensis* cepa CIAD-CA07) y A27 (*Streptomyces misionensis* cepa CIAD-CA27) produjeron 3 y 29 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de AIA, respectivamente. Franco-Correa *et al.* (2010) reportaron valores de AIA de 3.05 a 11.9 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para cepas de *Streptomyces*, similares a los obtenidos con las cepas reportadas en este estudio. Mientras que Matsukawa *et al.* (2007) reportaron valores de AIA de 21.8 a 51.5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ por especies de *Streptomyces* como *S. purpurascens* NBRC 13077, *S. coelicolor* A3, *S. olivaceus* NBRC 12805 y *S. kasugaensis* NBRC 13851. Las seis cepas de *Streptomyces* spp. produjeron el sideróforo trihidroxamato, de 7.8 a 39.2 % de unidades de sideróforos, las mayores productoras fueron A86 (*Streptomyces libani* cepa CIAD-CA86) y A7 (*Streptomyces cangkringensis* cepa CIAD-CA07), ambas con 39.3 % de unidades de sideróforos (Figura 4).

Braun *et al.* (2009) mencionan que la mayoría de las cepas del género *Streptomyces* producen algún tipo de sideróforo trihidroxamato como ferrioxamina o albomicina una sideromicina (quelante de

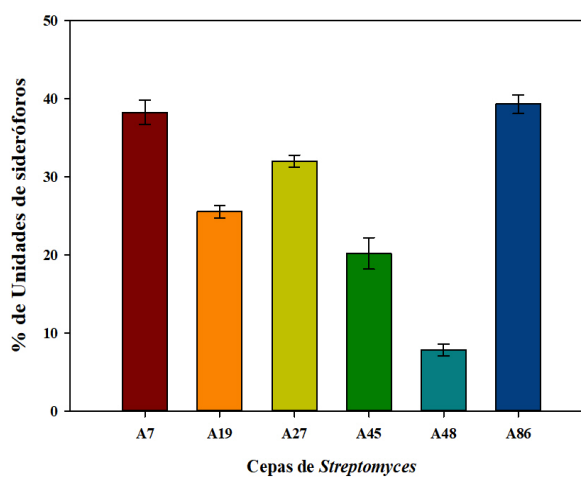


Figura 4. Porcentaje de unidades del sideróforo trihidroxamato producido por las cepas de *Streptomyces* spp. Los datos son presentados como medias \pm error estándar. Los valores sobre las barras con las mismas literales indican igualdad estadística, con un 95% de confianza ($\alpha = 0.05$) de acuerdo con la prueba de Tukey.

hierro) y se le atribuye la capacidad de eliminar a sus competidores biológicos uniendo sustancias tóxicas a sideróforos. Dertz *et al.* (2006) demostraron que algunas cepas de *Streptomyces* son capaces de producir enterobactina (enteroquelina) un sideróforo de alta afinidad que adquiere el hierro de los sistemas microbianos. Todas las cepas de *Streptomyces* spp. evaluadas, fijaron nitrógeno atmosférico. Si bien no presentaron características típicas de crecimiento como ocurre en medios de cultivo enriquecidos, si mostraron una tendencia similar. Todas las cepas de *Streptomyces* fueron incapaces de solubilizar el fósforo inorgánico. En contraste Franco-Correa *et al.* (2010) demostraron la capacidad de algunas cepas de actinomicetos para solubilizar fosfatos inorgánicos y reportan que la solubilización del fósforo ocurre por la formación de ácidos, que actúan como agentes quelantes para el calcio, aumentando la disponibilidad del fósforo para la planta (Nautiyal, 1999; Franco-Correa *et al.*, 2010). Nautiyal (1999) menciona que la solubilización de fosfatos por los microorganismos dependerá del tipo de fosfato que se utilice, dado que no todas las cepas de estos microorganismos tienen la capacidad de solubilizar el fósforo desde fuentes inorgánicas. El estudio demostró el potencial que tiene el género *Streptomyces* para ser usado como posible agente de control biológico de *Exserohilum rostratum*, siendo este el primer reporte del patógeno para el estado de Chihuahua, México. Además de la capacidad antagonica de las cepas, destaca su capacidad para producir sustancias promotoras del crecimiento vegetal, por lo que también podrían ser utilizadas como biofertilizantes.

AGRADECIMIENTOS

El trabajo fue apoyado por el Fondo Sectorial de Investigación para la Educación-Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (México) (Proyecto Ciencia Básica; Clave 286806).

LITERATURA CITADA

- Arnow LE. 1937. Colorimetric determination of the components of 3,4-dihydroxyphenylalanine tyrosine mixtures. The Journal of Biological Chemistry 118(2):531-537. <http://www.jbc.org/content/118/2/531.full.pdf>
- Boukaew S, Plubrukam A and Prasertsan P. 2013. Effect of volatile substances from *Streptomyces philanthi* RM-1-138 on growth of *Rhizoctonia solani* on rice leaf. Biocontrol 58(4): 471-482. <https://doi.org/10.1007/s10526-013-9510-6>
- Braun V, Pramanik A, Gwinner T, Köberle M and Bohn E. 2009. Sideromycins: tools and antibiotics. Biometals 22(1): 3. <https://doi.org/10.1007/s10534-008-9199-7>
- Centko RM, Ratnaweera PB, Tysoe C, Withers SG, Dilip de Silva E and Andersen RJ. 2017. Alpha-glucosidase and alpha-amylase inhibiting thiodiketopiperazines from the endophytic fungus *Setosphaeria rostrata* isolated from the medicinal plant *Costus speciosus* in Sri Lanka. Phytochemistry Letters 22: 76-80. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2017.09.004>
- Chung CL, Longfellow JM, Walsh EK, Kerdieh Z, Van Esbroeck G, Balint-Kurti P and Nelson, R. J. 2010. Resistance loci affecting distinct stages of fungal pathogenesis: Use of introgression lines for QTL mapping and characterization in the maize-*Setosphaeria turcica* pathosystem. BMC Plant Biology 10 (103): 1-25. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-10-103>
- Dávila-Medina MD, Gallegos-Morales G, Hernández-Castillo FD, Ochoa-Fuente YM y Flores-Olivas, A. 2013. Actinomicetos antagonicos contra hongos fitopatogenos de importancia agrícola. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 4(8):1187-1196. <https://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v4n8/v4n8a6.pdf>
- Dertz EA, Xu J, Stintzi A and Raymond KN. 2006. Bacillibactin-Mediated Iron Transport in *Bacillus Subtilis*. Journal of the American Chemical Society 128 (1): 22-23. <https://doi.org/10.1021/ja055898c>
- Dong J, Fan Y, Gui X, An X, Ma J and Dong Z. 2008. Geographic distribution and genetic analysis of physiological races of *Setosphaeria turcica* in Northern China. American Journal of Agricultural and Biological Science 3(1): 389-398. <https://www.thescipub.com/pdf/10.3844/ajabssp.2008.389.398>
- Evangelista-Martínez Z. 2014. Isolation and characterization of soil *Streptomyces* species as potential biological control agents against fungal plant pathogens. World Journal of Microbiology and Biotechnology 30(5): 1639-1647. <https://doi.org/10.1007/s11274-013-1568-x>
- Franco-Correa M, Quintana A, Duque C, Suárez C, Rodríguez MX and Barea JM. 2010. Evaluation of actinomycete strains for key traits related with plant growth promotion and mycorrhiza helping activities. Applied Soil Ecology 45(3), 209-217. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2010.04.007>
- González-Franco A, Deobald L, Spiak A and Crawford D. 2003. Actinobacterial chitinase-like enzymes: profiles of rhizosphere versus non-rhizosphere isolates. Canadian Journal of Microbiology 49: 683-698. <https://doi.org/10.1139/w03-089>
- Gopalakrishnan S, Pande S, Sharma M, Humayun P, Kiran BK, Sandeep D and Rupela O. 2011. Evaluation of actinomycete isolates obtained from herbal vermicompost for the biological control of *Fusarium* wilt of chickpea. Crop Protection 30(8): 1070-1078. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2011.03.006>
- Kónya A, Szabó Z, Láng I, Barta I and Salát J. 2008. Production of FK520 by *Streptomyces tubercidicus*. Microbiological Research 163(6): 624-632. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2006.10.002>
- Lee J, Postmaster A, Soon HP, Keast D and Carson KC. 2012. Siderophore production by actinomycetes isolates from two soil sites in Western Australia. Biometals 25(2): 285-296. <https://doi.org/10.1007/s10534-011-9503-9>

- León J, Aponte JJ, Rojas R, Cuadra D, Ayala N, Tomás G y Guerrero M. 2011. Estudio de actinomicetos marinos aislados de la costa central del Perú y su actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* meticilina resistentes y *Enterococcus faecalis* vancomicina resistentes. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica 28: 237–246. <https://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v28n2/a10v28n2>
- Matsukawa E, Nakagawa Y, Limura Y and Hayakawa M. 2007. Stimulatory effect of indole-3-acetic acid on aerial mycelium formation and antibiotic production in *Streptomyces* spp. Actinomycetologica 21(1): 32-39. <https://doi.org/10.3209/saj.SAJ210105>
- Muharram M, Abdelkader M and Alqasoumi S. 2013. Antimicrobial activity of soil actinomycetes isolated from Alkharj, KSA. International Research Journal of Microbiology 4(1): 12-20. <https://www.interestjournals.org/articles/antimicrobial-activity-of-soil-actinomycetes-isolated-from-alkharj-ksa.pdf>
- Nautiyal CS. 1999. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. FEMS Microbiology Letters 170(1): 265-270. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1999.tb13383.x>
- Núñez BM, Robledo MT, Calderón AE, Zavala JDJG, Rojas HVS, Rincón VH A and Colín SM. 2019. Rendimiento de grano y resistencia a tizón foliar ("*Exserohilum turcicum*") de híbridos fértiles y androestériles de maíz. Agrociencia 53(1), 73-88. <https://www.colpos.mx/agrocien/Bimestral/2019/ene-feb/art-7.pdf>
- Peña HB y Reyes I. 2007. Aislamiento y evaluación de bacterias fijadoras de nitrógeno y disolventes de fosfatos en la promoción del crecimiento de la lechuga (*Lactuca sativa* L.). Inter-ciencia 32(8): 560-565. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33932811>
- Pérez-Corral DA, García-González NY, Gallegos-Morales G, Ruiz-Cisneros MF, Berlanga-Reyes DI and Rios-Velasco C. 2015. Isolation of actinomycetes associated to apple trees rhizosphere antagonistic to *Fusarium equiseti*. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 6(7): 1629-1638. <http://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v6n7/v6n7a16.pdf>
- Prashith KTR, Vinayaka KS, Soumya KV, Ashwini SK and Kiran R. 2010. Antibacterial and antifungal activity of methanolic extract of *Abrus pulchellus* Wall and *Abrus precatorius* Linn: A comparative study. International Journal of Pharmacology and Toxicology 2: 26–29. https://scholar.google.com/scholar?hl=en&as_sdt=0,5&clust er=2620410972000518423
- Ruiz-Cisneros MF, Rios-Velasco C, Berlanga-Reyes DI, Ornelas-Paz JJ, Acosta-Muñiz CH, Romo-Chacón A, Zamudio-Flores PB, Pérez-Corral DA, Salas-Marina MÁ, Ibarra-Rendón JE and Fernández-Pavía SP. 2017. Incidence and causal agents of root diseases and its antagonists in apple orchards of Chihuahua, México. Revista Mexicana de Fitopatología 35(3): 1-26. <https://dx.doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1704-3>
- Schwyn B and Neilands JB. 1987. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. Analytical biochemistry 160(1): 47-56. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(87\)90612-9](https://doi.org/10.1016/0003-2697(87)90612-9)
- Walpolá BC and Yoon MH. 2013. *In vitro* solubilization of inorganic phosphates by phosphate solubilizing microorganisms. African Journal of Microbiology Research 7(27): 3534-3541. <https://doi.org/10.5897/AJMR2013.5861>
- Watanabe T. 2010. Pictorial atlas of soil and seed fungi: Morphologies of cultured fungi and key to species. CRC press.
- Yuan WM and Crawford DL. 1995. Characterization of *Streptomyces lydicus* WYEC108 as a potential biocontrol agent against fungal root and seed rots. Applied and Environmental Microbiology 61(8): 3119-3128. <https://sci-hub.tw/10.0000/aem.asm.org/aem/61/8/3119>