



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO



FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA

CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA

Tema: Evaluación de compuestos bioactivos a partir de microorganismos endófitos para el control de enfermedades por hongos fitopatógenos

Informe Final de Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, previo a la obtención del Título de Ingeniera Biotecnóloga, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Autor: Angeles Monserrath Quisnia Aldas

Tutor: Mg. María Daniela Garcés Moncayo

Ambato – Ecuador

Julio – 2026

APROBACIÓN DEL TUTOR

Mg. María Daniela Garcés Moncayo

CERTIFICA:

Que el presente Informe Final de Trabajo de Titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Informe Final de Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Ambato, 04 de Junio de 2026

Mg. María Daniela Garcés Moncayo

18XXXXXXX85

TUTOR

AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Angeles Monserrath Quisnia Aldas, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Informe Final de Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniera Biotecnóloga son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas bibliográficas.



Angeles Monserrath Quisnia Aldas

18XXXXXXX14

AUTOR

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga uso de este Informe Final de Trabajo de Titulación o parte de él, un documento disponible para su lectura consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos en línea patrimoniales de mi Informe Final de Trabajo de Titulación, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.



Angeles Monserrath Quisnia Aldas

18XXXXXXX14

AUTOR

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos Profesores Calificadores, aprueban el presente Informe Final de Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman:

Presidente del Tribunal

Mg. Manoella Alejandra Sánchez Garnica

06XXXXXX71

Dr. Orestes Darío López Hernández

17XXXXXX64

Ambato, 19 de junio de 2026

DEDICATORIA

Pon en manos del Señor todas tus obras y tus proyectos se cumplirán

Proverbios 16:3

*A Dios por ser mi fortaleza y mi guía en momentos duros, por llenarme de gracia, sabiduría y
colmarme siempre de bendiciones*

*A mis padres, por acompañarme a lo largo de todo este camino, guiando mis pasos, sosteniéndome de
la mano y evitando que cayera. Por ser el hombro en el que siempre puedo apoyarme, por brindarme
fortaleza e inspiración. Gracias por estar siempre a mi lado.*

*A mi abuelita, por impulsarme a ser alguien en la vida, por enseñarme a apreciar la dulzura y la
gracia en cada día y por su cariño incondicional que siempre me acompaña.*

*A mi pareja, quien ha estado conmigo en cada etapa, acompañándome y apoyándome desde el inicio,
ayudándome a crecer y sumando cosas buenas a mi vida cada día. Por brindarme paz y tranquilidad,
gracias por ser el refugio donde siempre puedo resguardarme, gracias por tanto amor.*

*A mis amigos, con quienes compartí buenos momentos, quienes me enseñaron que la vida es mejor
cuando estamos unidos.*

*A mis maestros, por ser parte activa en mi formación profesional, por no escatimar en enseñar y
compartir sus conocimientos de manera generosa, contribuyendo así a la persona que soy hoy.*

*A mis amores peludos, quienes me acompañaron en desveladas y noches largas, quienes me
enseñaron a amar sin esperar nada a cambio y que siempre me brindan tanta felicidad.*

*A mí misma, a la niña, adolescente y mujer que soñó y ha logrado cumplir ese sueño, que, a pesar de
la falta de confianza, se atrevió a hacerlo y hoy se siente orgullosa de sí misma*

A todos los que amé y me amaron.

AGRADECIMIENTO

A Dios, por ser mi fortaleza y mi guía en este recorrido, por darme ánimos cuando más lo necesitaba, por abrirme puertas y nunca dejarme vencer.

A mi padre, *Edgar*, por ser la base de mi formación, por enseñarme a ser fuerte, porque con cada esfuerzo que hizo pude llegar hasta este punto. A mi madre, *Blanca*, por ser mi mejor amiga, por ser quien me acompañaba y mediante el amor me ayudaba a sobrepasar cada reto que se me presentaba, por sostenerme incluso en los momentos más duros y cuidarme hasta aquí. A mis hermanas, *Erika*, *Jessica* y *Celeste*, por estar presentes conmigo en todos los momentos, por cuidarme y alegrarme mis días con su presencia, por ser mi compañía más sincera. A mi abuelita *Carmen*, por llenarme de amor y siempre apoyarme de manera silenciosa en este trayecto.

A mi pareja, *Oscar*, quien estuvo conmigo desde el inicio de este proceso, quien me acompañó en cada paso que daba, quien con paciencia y amor me prestó su presencia y sus mejores virtudes, gracias por estar conmigo y ayudarme a construirme. Gracias por tanto amor.

A mi mentor, el Ing. *Gabriel Curipallo*, quien más que un jefe y tutor, es mi amigo, un amigo que conocí en el mejor momento, quien a pesar de los años me ha enseñado que una amistad puede venir de diferentes maneras. Quien me presta su apoyo, conocimientos, sabiduría y tiempo para avanzar y convertirme en una gran profesional. Gracias por todo lo que aportó en mi proceso.

A mi tutora, Ing. *María Daniela Garcés* por apoyarme en este proyecto, por prestarme su apoyo en los momentos claves. Su excelencia profesional ha sido un ejemplo e inspiración para mí. Gracias por todo lo que sembró y aportó en mi persona.

A mis amigos (Damaris, Justin, Kevin), los quiero demasiado. A *Damaris* por estar conmigo desde el inicio de este proceso universitario, por ser una amiga leal, por demostrarme el valor que tiene una amistad y el cariño sincero. A mi querido amigo *Justin*, con quien he compartido momentos gratificantes, en el que puedo confiar sin dudarle, el que está para cualquier situación y siempre muestra una sonrisa, gracias por ser mi amistad más valiosa en este recorrido. A *Kevin*, con quien compartí momentos amenos durante la carrera, por su apoyo y respaldo a lo largo de este camino, por ser esa figura que nos cuidaba y siempre estaba presente cuando lo necesitábamos.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	iii
DERECHOS DE AUTOR.....	iv
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTO	vii
ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS	viii
ÍNDICE DE TABLAS	x
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xii
RESUMEN EJECUTIVO	xiii
ABSTRACT	xiv
CAPÍTULO I.- MARCO TEÓRICO	1
1.1. Antecedentes Investigativos	1
1.1.1. Justificación del problema.....	1
1.1.2. Contextualización de la producción agrícola y riesgos fitosanitarios	2
1.1.3. Plantas medicinales tropicales como reservorio de microorganismos endófitos	8
1.1.4. Microorganismos endófitos como agentes de biocontrol.....	12
1.1.5. Producción y obtención de metabolitos secundarios bioactivos	16
1.1.6. Microencapsulación de compuestos bioactivos	20
1.1.7. Perspectivas del uso de compuestos bioactivos endofíticos en el control de hongos fitopatógenos.....	23
1.2. Objetivos.....	24
1.2.1. Objetivo general.....	24
1.2.2. Objetivos Específicos.....	24
CAPÍTULO II.- METODOLOGÍA.....	25
2.1. Materiales	25

2.2. Métodos	27
2.2.1. Identificación de microorganismos endófitos presentes en plantas medicinales del Oriente Ecuatoriano	27
2.2.2. Optimización de las condiciones de expresión metabólica para la obtención de compuestos bioactivos.....	35
2.2.3. Estimación de la actividad antagónica frente a hongos fitopatógenos	42
CAPÍTULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN	46
3.1. Análisis y discusión de los resultados	46
3.1.1. Identificación de microorganismos endófitos presenten en plantas medicinales del Oriente Ecuatoriano	46
3.1.2. Establecimiento de las condiciones de expresión metabólica para la obtención de compuestos bioactivos	58
3.1.3. Estimación de la actividad antagónica frente a hongos fitopatógenos	65
CAPÍTULO IV.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	75
4.1. Conclusiones.....	75
4.2. Recomendaciones	76
BIBLIOGRAFÍA	77
ANEXOS.....	87

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Listado de equipos, material fungible y reactivos de laboratorio utilizados.....	25
Tabla 2. Criterios de clasificación de la actividad inhibitoria según el diámetro del halo de inhibición	33
Tabla 3. Composición de las formulaciones de medios de cultivo evaluadas para la expresión metabólica de BEC-12 y BEC-24	41
Tabla 4. Distribución de microorganismos endófitos aislados de plantas medicinales del Oriente ecuatoriano	47
Tabla 5. Características microscópicas de bacterias endófitas aisladas	50
Tabla 6. Análisis de varianza del diámetro del halo de inhibición de bacterias endófitas frente a hongos fitopatógenos	53
Tabla 7. Aislados bacterianos con mayor actividad inhibitoria frente a cada hongo fitopatógeno según la prueba de Tukey.....	54
Tabla 8. Parámetros cinéticos de crecimiento de los aislados bacterianos durante la fase exponencial	61

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama que ilustra las diversas formas, elevaciones y márgenes de las colonias bacterianas	30
Figura 2. Distribución para el análisis de taxonomía numérica.....	34
Figura 3. Evaluación preliminar de la actividad inhibitoria de hongos endófitos frente a hongos fitopatógeno.	49
Figura 4. Ranking general de bacterias endófitas según halo promedio de inhibición	52
Figura 5. Características bioquímicas y fisiológicas de aislamientos bacterianos endófitos	55
Figura 6. Agrupamiento fenotípico de los aislamientos bacterianos endófitos mediante taxonomía numérica.	57
Figura 7. Curvas comparativas de crecimiento microbiano expresado como $\log_{10}(\text{UFC/mL})$	60
Figura 8. Porcentaje de inhibición micelial según fórmula de cultivo y hongo fitopatógeno.	62
Figura 9. Efecto representativo de la fórmula F3 sobre el crecimiento micelial y las estructuras reproductivas de hongos fitopatógenos.	63
Figura 10. Curva de actividad inhibitoria del consorcio BEC 12 + BEC 24	66
Figura 11. Espectro FTIR del extracto bioactivo consorcio BEC 12 – BEC 24 concentrado sin microencapsular.	69
Figura 12. Espectro FTIR del compuesto bioactivo microencapsulado	70
Figura 13. Efecto de la dosis del compuesto bioactivo microencapsulado sobre la inhibición micelial de hongos fitopatógenos	72
Figura 14. Evaluación de dosis del compuesto bioactivo microencapsulado contra patógenos.....	74

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Autorización de recolección de especímenes de especies de la diversidad biológica no. 1119	87
Anexo 2. Comparación de medias de halo de inhibición de aislados bacterianos mediante Tukey	93
Anexo 3. Resultados de Identificación de BEC 12 y BEC 24 por MALDI-TOF	97

RESUMEN EJECUTIVO

La presente investigación aborda la problemática de las enfermedades causadas por hongos fitopatógenos, responsables de pérdidas significativas en la producción agrícola y afectaciones a la seguridad alimentaria, generando un interés creciente en el desarrollo de estrategias biológicas sostenibles. Los compuestos bioactivos producidos por microorganismos endófitos aislados de plantas medicinales del Oriente ecuatoriano son una alternativa para el control de patógenos de relevancia agrícola. Se aisló y caracterizó un banco microbiano de 104 endófitos, incluyendo 43 bacterias y 61 hongos. De estos, los aislados BEC-024 (*Bacillus subtilis*) y BEC-012 (*Bacillus velezensis*) demostraron el mayor potencial antagonista frente a *Alternaria* spp., *Botrytis* spp., *Fusarium* spp. y *Phoma* spp., con halos de inhibición superiores y espectro de acción amplio. La expresión metabólica bajo condiciones optimizadas permitió la producción de metabolitos bioactivos con alta actividad inhibitoria, especialmente en la fórmula F3, compuesta por harina de haba y glucosa, que favoreció la inhibición micelial frente a todos los patógenos evaluados. Posteriormente, los compuestos fueron concentrados y microencapsulados mediante secado por aspersión con maltodextrina, obteniéndose un producto mejorado. Estos hallazgos demuestran que los endófitos seleccionados constituyen una fuente eficaz de metabolitos bioactivos, cuya microencapsulación potencia su estabilidad y efecto antifúngico. Los resultados sugieren la aplicación de estos compuestos como alternativa biológica para la protección de cultivos agrícolas, promoviendo estrategias sostenibles, seguras y de bajo impacto ambiental frente a hongos fitopatógenos, contribuyendo a la seguridad alimentaria y al desarrollo de prácticas agrícolas más responsables.

Palabras clave: Hongos fitopatógenos, microorganismos endófitos, compuestos bioactivos, microencapsulación, biocontrol agrícola

ABSTRACT

The present research addresses the problem of diseases caused by phytopathogenic fungi, which are responsible for significant losses in agricultural production and impacts on food security, generating growing interest in the development of sustainable biological strategies. Bioactive compounds produced by endophytic microorganisms isolated from medicinal plants from the Ecuadorian Amazon represent an alternative for the control of agriculturally relevant pathogens. A microbial bank of 104 endophytes was isolated and characterized, including 43 bacteria and 61 fungi. Among these, the isolates BEC-024 (*Bacillus subtilis*) and BEC-012 (*Bacillus velezensis*) showed the highest antagonistic potential against *Alternaria* spp., *Botrytis* spp., *Fusarium* spp., and *Phoma* spp., with larger inhibition halos and a broad spectrum of action. Metabolic expression under optimized conditions enabled the production of bioactive metabolites with high inhibitory activity, particularly in formula F3, composed of broad bean flour and glucose, which promoted mycelial inhibition against all evaluated pathogens. Subsequently, the compounds were concentrated and microencapsulated by spray drying using maltodextrin, obtaining an improved product. These findings demonstrate that the selected endophytes constitute an effective source of bioactive metabolites, whose microencapsulation enhances their stability and antifungal effect. The results suggest the application of these compounds as a biological alternative for the protection of agricultural crops, promoting sustainable, safe, and low-environmental-impact strategies against phytopathogenic fungi, thereby contributing to food security and the development of more responsible agricultural practices.

Key words: Phytopathogenic fungi, endophytic microorganisms, bioactive compounds, *Bacillus subtilis*, *Bacillus velezensis*, microencapsulation, agricultural biocontrol

CAPÍTULO I.- MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes Investigativos

1.1.1. Justificación del problema

Las enfermedades causadas por hongos fitopatógenos se han consolidado como una de las principales amenazas para la producción agrícola, generando pérdidas estimadas de hasta un 16 % a nivel mundial y afectando directamente la seguridad alimentaria. Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura **(FAO, 2023)**, cada año un 40 % de los cultivos alimentarios se pierden debido a la aparición de plagas y enfermedades de las plantas, lo que representa una pérdida de 220 mil millones de dólares en el sector agrícola **(Mollocana Lara & Gonzales-Zubiate, 2020)**. Esta problemática se agrava ante el crecimiento poblacional proyectado para 2050, en donde se espera que la población mundial supere los 9 mil millones de habitantes, lo que exigirá un incremento del 70 % en la producción de alimentos con respecto a la producción actual **(Guamán-Rivera & Flores-Mancheno, 2023)**. El control de estas enfermedades resulta de manera compleja, ya que muchos hongos fitopatógenos presentan un amplio rango de hospedadores y son capaces de sobrevivir en el suelo durante periodos prolongados, ya sea en forma de saprofitos o mediante estructuras especializadas de resistencia. El potencial de pérdidas provocadas por patógenos es indiscutible y su magnitud puede variar dependiendo de factores climáticos, el cultivo y la agresividad del agente causal **(Andrade-Rivas et al., 2023)**. Es así como los hongos fitopatógenos continúan representando un desafío crítico y vigente para la industria fitosanitaria.

Las enfermedades se manejan de manera tradicional mediante el uso de agentes químicos como los pesticidas, los cuales presentan buena eficiencia en la mayoría de los casos, sin embargo, este método ha presentado diversas dificultades a lo largo de los años **(Desintonio Leon et al., 2025)**. El uso desmedido de estos ha ocasionado consecuencias severas al medio ambiente, a la salud humana y ha favorecido la selección de poblaciones de patógenos resistentes a los ingredientes activos disponibles **(Malagón-Rojas et al., 2020; Hutter et al., 2021)**. La resistencia se ha convertido en una realidad para la industria fitosanitaria por lo que la exploración de compuestos bioactivos a partir de microorganismos endófitos representa una vía prometedora para controlar las enfermedades causadas por estos patógenos. Los endófitos son microorganismos que residen en los tejidos vegetales sin causar daño, producen varios metabolitos secundarios que presentan propiedades antifúngicas **(Guha & Mandal Biswas, 2024)**. Estos microorganismos representan una fuente sin explotar de nuevos productos naturales y

bioactivos, con más de 20.000 sustancias descritas, de las cuales el 80% tienen actividad biológica **(Raimi & Adeleke, 2021)**.

Frente a esta problemática y con los antecedentes revisados, se plantea la obtención de compuestos bioactivos con actividad antifúngica a partir de microorganismos endófitos como herramienta de control de enfermedades causadas por hongos fitopatógenos. Si bien los productos químicos pueden proporcionar una supresión casi instantánea de los organismos patógenos, los agentes biológicos podrían ofrecer un control más continuo a lo largo del ciclo de producción de los cultivos. En este contexto, el presente trabajo busca evaluar el potencial de estos compuestos.

1.1.2. Contextualización de la producción agrícola y riesgos fitosanitarios

1.1.2.1. Enfermedades causadas por patógenos en la industria agrícola

La producción de cultivos desempeña un papel fundamental en la garantía de la seguridad alimentaria mundial, sin embargo, se encuentra constantemente expuesta a limitaciones bióticas y abióticas que comprometen su productividad y aumentan el riesgo de que la oferta agrícola no logre satisfacer la demanda global. Entre estas limitaciones, las enfermedades causadas por patógenos constituyen una de las principales amenazas para los sistemas de producción agrícola, debido a su capacidad de afectar el crecimiento, el rendimiento y la calidad de los cultivos **(Wilson et al., 2025)**.

Dentro de este grupo, los hongos fitopatógenos destacan por su elevada importancia económica y agrícola, ya que se estima que son responsables de aproximadamente el 30 % de las pérdidas persistentes de rendimiento a nivel mundial. La incidencia de estas enfermedades puede alcanzar entre el 70 % y el 80 % de la población vegetal y, en casos severos, provocar reducciones del rendimiento que oscilan entre el 80 % y el 98 % **(Islam et al., 2024)**. Estos microorganismos ocasionan enfermedades que afectan diferentes órganos de la planta y alteran procesos fisiológicos esenciales, lo que repercute directamente en la productividad y en la estabilidad de los sistemas agrícolas.

Con el propósito de satisfacer la creciente demanda de alimentos, se han implementado sistemas de cultivo extensivos y de gran escala que, en muchos casos, generan agroecosistemas altamente homogéneos. Estas condiciones favorecen la aparición y propagación de epidemias fúngicas, debido a

la formación de microambientes con alta retención de humedad y menor penetración de la radiación ultravioleta, factores que promueven la infección, supervivencia y dispersión de diversos patógenos. De esta manera, la intensificación agrícola puede incrementar la vulnerabilidad de los cultivos frente a enfermedades causadas por hongos **(Wilson et al., 2025)**.

A pesar de la aplicación de prácticas de manejo integrado de enfermedades, continúan presentándose brotes epidémicos asociados a patógenos fúngicos. En muchos casos, esto se relaciona con la capacidad de estos microorganismos para adaptarse a las condiciones agroecológicas locales y a los cambios en las estrategias de manejo **(Wilson et al., 2025)**. Las prácticas agrícolas intensivas, el uso recurrente de productos químicos y la incorporación de materiales vegetales con resistencia genética específica pueden ejercer presión de selección sobre las poblaciones fúngicas, favoreciendo la aparición de genotipos más aptos, especializados y mejor adaptados a dichas condiciones.

Esta capacidad adaptativa se encuentra estrechamente vinculada con los mecanismos de variación molecular y con la elevada plasticidad genómica que caracteriza a muchos hongos fitopatógenos. Gracias a ello, estos organismos pueden responder rápidamente a estímulos ambientales y a presiones selectivas, modificando su estructura poblacional y aumentando su capacidad de persistencia, infección y supervivencia. Esta dinámica evolutiva dificulta el control efectivo de las enfermedades fúngicas y resalta la necesidad de implementar estrategias fitosanitarias más eficientes y sostenibles **(Wang, 2023)**.

1.1.2.2. Hongos fitopatógenos de importancia agrícola

Los hongos fitopatógenos constituyen uno de los principales grupos de microorganismos responsables de enfermedades en plantas cultivadas. Su importancia agrícola se debe a que pueden afectar raíces, tallos, hojas, flores, frutos y semillas, reduciendo el rendimiento, la calidad comercial y la posterior vida de los productos vegetales **(Salvatore & Andolfi, 2021)**. Algunos de este grupo de hongos también se han documentado como patógenos humanos oportunistas que pueden ocasionar infecciones en individuos inmunocomprometidos. Adicionalmente, los hongos tienen la capacidad de producir micotoxinas en los cultivos, lo que representa un riesgo considerable para la salud humana y animal.

Estos microorganismos pueden desarrollarse bajo diferentes condiciones ambientales y poseen mecanismos de infección variados, como la producción de enzimas degradadoras de pared celular, toxinas, esporas de fácil dispersión y estructuras de resistencia que les permiten sobrevivir en el suelo o en restos vegetales durante largos periodos. Las toxinas fitopatógenas son un grupo compuestos de bajo peso molecular de tipo no enzimáticos dañinos, producidos por el metabolismo de patógenos vegetales, en donde, concentraciones muy bajas de estos compuestos tóxicos pueden causar alteraciones en las funciones fisiológicas normales en la planta. En la planta infectada por estas toxinas se observan síntomas específicos como clorosis, inhibición del crecimiento, marchitamiento, manchas en las hojas y necrosis (**Peng et al., 2021**).

Las toxinas producidas por hongos fitopatógenos presentan mecanismos de acción complejos, estas pueden afectar diferentes estructuras y procesos celulares de la planta hospedante. Principalmente, estas sustancias alteran la integridad de la membrana celular y comprometen el funcionamiento de organelos esenciales como las mitocondrias y los cloroplastos, ya sea a través de su destrucción directa o por la interferencia en su metabolismo. Por otro lado, pueden inhibir la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos, ocasionando desequilibrios fisiológicos, daño celular progresivo y, en casos severos, la muerte de los tejidos o de la planta completa.

Entre los principales agentes causantes de enfermedades en cultivos agrícolas se encuentran *Botrytis* spp., *Fusarium* spp., *Alternaria* spp. y *Phoma* spp., géneros reconocidos por su importancia fitopatológica y por su inclusión dentro de los hongos más relevantes en estudios de patología molecular vegetal. (**Dean et al., 2012**).

Botrytis spp. causa la enfermedad del moho gris en verduras, frutas y plantas ornamentales de importancia económica, este hongo ascomiceto necrotrófico pertenece a la familia Sclerotiniaceae. Este hongo presenta un impacto evidente en muchas áreas debido a su amplio rango de hospedantes, causando graves daños tanto en el proceso de desarrollo del cultivo como en el de la cosecha, se estima que este patógeno abarca 586 géneros de plantas vasculares.

Fusarium spp. corresponde a un hongo asexual transmitido por el suelo que comprende cepas patógenas como no patógenas. Las especies patógenas de este hongo causan marchitamiento vascular y la pudrición de la raíz alrededor de 120 cultivos en el mundo, mientras que las formas no patógenas son saprófitas y endófitas (**Madhushan et al., 2025**). La forma patógena de este microorganismo secreta

enzimas degradadoras de la pared celular como celulasa, xilanasa y pectinasa durante el proceso de infección y expansión, causando la descomposición de los componentes de la pared celular del huésped y la relajación de la pared celular, lo que es beneficioso para la penetración y expansión del patógeno en el tejido del huésped.

Alternaria spp. es un género fúngico ampliamente reconocido por su capacidad de comportarse tanto como endófito como patógeno vegetal. Diversas especies de este género se han asociado con enfermedades de importancia agrícola, especialmente en cultivos de papa y tomate. Entre las más frecuentes se encuentran el tizón temprano, ocasionado por *Alternaria solani*, y la mancha marrón, atribuida a *Alternaria alternata*, sin embargo, el complejo de enfermedades vinculadas a este género es mucho más amplio y diverso (Schmey et al., 2024). De acuerdo con el estudio de Delgado-Baquerizo et al., (2020) sobre comunidades fúngicas del suelo ha señalado a *Alternaria* como uno de los patógenos vegetales más abundantes, lo que evidencia su relevancia en la sanidad de los cultivos.

Phoma spp. es un género que se encuentra con frecuencia en cultivos de importancia económica, donde pueden actuar como patógenos y provocar enfermedades de considerable impacto agrícola. Sus síntomas incluyen manchas foliares, pudrición de raíces y, en casos severos, marchitamiento de la planta (Deb et al., 2020). La persistencia de estos hongos se relaciona con su capacidad para desarrollarse en residuos vegetales infectados y rastrojos, donde forman estructuras reproductivas como picnidios y pseudotecios, las cuales funcionan como fuentes de inóculo primario.

Durante la misma temporada de cultivo, la producción continua de conidios dentro de los picnidios favorece nuevas infecciones y contribuye a la diseminación secundaria del patógeno. Después de establecer la infección, algunas especies de *Phoma* producen fitotoxinas capaces de alterar procesos fisiológicos esenciales de la planta, como la eficiencia fotosintética, la organización del citoesqueleto de actina y la estabilidad de las membranas celulares, lo que puede ocasionar fuga de electrolitos (Sultana & Hossain, 2022).

El estudio de estos géneros fitopatógenos resulta fundamental para comprender los procesos de infección que afectan la productividad agrícola y para orientar el desarrollo de estrategias de manejo que reduzcan el impacto de las enfermedades en los cultivos.

1.1.2.3. Los pesticidas químicos como una estrategia de control de las enfermedades por patógenos

Se considera plaga a cualquier organismo, ya sea microorganismo, planta o animal, que afecte negativamente la producción de alimentos, el bienestar o la salud **(Tudi et al., 2021)**. En este contexto, la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA) define los pesticidas como compuestos químicos de origen natural o sintético utilizados para prevenir, controlar, repeler o erradicar plagas. Además de insectos, estos productos también pueden emplearse para el control de otros organismos nocivos, como nematodos, hongos, bacterias y malezas. Debido a ello, constituyen una herramienta ampliamente utilizada en los sistemas de producción agrícola para proteger los cultivos y reducir las pérdidas ocasionadas por agentes bióticos **(El-Baky & Amara, 2021)**.

El uso de pesticidas tiene como finalidad principal incrementar el rendimiento agrícola y preservar la sanidad de los cultivos frente a enfermedades y daños ocasionados por diversos patógenos y plagas. Estos compuestos pueden clasificarse según distintos criterios, entre ellos su naturaleza química, grupo funcional, modo de acción y nivel de toxicidad **(Tudi et al., 2021)**. De manera general, los pesticidas se agrupan en dos grandes categorías: sintéticos y naturales. Los pesticidas sintéticos, a su vez, se dividen en orgánicos e inorgánicos, dentro de los orgánicos destacan los organoclorados, organofosforados, carbamatos y piretroides. Por otra parte, entre los pesticidas de origen natural se encuentran compuestos como la piretrina, el neem, el spinosad y la rotenona.

El incremento de la demanda alimentaria, asociado al crecimiento demográfico y a la necesidad de garantizar la seguridad alimentaria de una población que superará los 9 mil millones de personas hacia mediados del siglo XXI, junto con los efectos del cambio climático sobre la incidencia y distribución de plagas y enfermedades, ha favorecido un aumento sostenido en el uso de pesticidas a escala mundial. Sin embargo, incrementar drásticamente el uso global de pesticidas, fertilizantes y agua no solo resultaría económicamente inviable para gran parte del mundo, sino que también ocasionaría importantes consecuencias ambientales negativa **(El-Baky & Amara, 2021)**.

En la actualidad, se estima que aproximadamente 2 millones de toneladas de pesticidas se utilizan cada año a nivel mundial para el control de malezas, insectos y otros organismos perjudiciales para la producción agrícola. En este sentido, aunque los pesticidas han contribuido de manera significativa a la protección fitosanitaria y al aumento de la productividad agrícola, su uso intensivo ha generado preocupación por sus posibles implicaciones ambientales y sanitarias.

1.1.2.4. Limitaciones ambientales y sanitarias del uso de pesticidas en la agricultura

En la agricultura moderna, el control de enfermedades de los cultivos depende en gran medida de la aplicación de pesticidas químicos, los cuales actúan mediante la inhibición del crecimiento, la germinación o la viabilidad celular de los patógenos. No obstante, su uso excesivo, repetitivo o inadecuado ha generado múltiples efectos adversos sobre el ambiente, los organismos no objetivo, la salud humana y animal. Además, la exposición continua de los fitopatógenos a estos compuestos ha favorecido la aparición de cepas resistentes, lo que reduce progresivamente su eficacia y dificulta el manejo de las enfermedades fúngicas en los sistemas agrícolas **(Malagón-Rojas et al., 2020)**.

Uno de los principales problemas asociados al uso de pesticidas es su dispersión más allá del organismo o área objetivo, lo que favorece la contaminación de distintos compartimentos ambientales. Estos compuestos pueden movilizarse a través del aire por acción del viento, del agua mediante escorrentía, lixiviación o percolación y del suelo hacia plantas, animales y seres humanos. Debido a que muchos pesticidas presentan baja degradabilidad y elevada persistencia, pueden acumularse en el suelo y en cuerpos de agua, incrementando el riesgo de toxicidad ambiental y exposición crónica **(Kaur et al., 2024)**.

La contaminación de los recursos hídricos constituye una de las principales preocupaciones derivadas del uso agrícola de pesticidas. Diversos compuestos han sido detectados tanto en aguas superficiales como subterráneas, a las cuales ingresan por aplicación directa, arrastre desde áreas de cultivo, lixiviación desde campos tratados o por el manejo inadecuado en zonas de mezcla, lavado y disposición de residuos. Los ríos, lagos, arroyos, embalses y estuarios son especialmente vulnerables a la acumulación de estos contaminantes, los cuales también pueden transferirse hacia las aguas subterráneas a través de la filtración del suelo **(Syafudin et al., 2021)**. Asimismo, algunos pesticidas pueden incorporarse a la atmósfera por procesos de evaporación y volatilización, ampliando aún más su dispersión ambiental.

La presencia de residuos de pesticidas en el agua representa un problema grave para los ecosistemas dulceacuícolas y costeros, no solo por su persistencia, sino también por la dificultad técnica y económica de su remediación, especialmente en aguas subterráneas. Una vez incorporados al ambiente, estos compuestos pueden bioacumularse y biomagnificarse a lo largo de la cadena trófica,

afectando a organismos acuáticos, fauna silvestre y, finalmente, al ser humano. De igual manera, aunque el suelo actúa como un reservorio de pesticidas debido a la afinidad de muchos agroquímicos por su matriz, su estrecha interconexión con los cuerpos de agua favorece la transferencia de contaminantes y amplía su impacto ecológico (**Sandín-España & Dagnac, 2023**).

Desde el punto de vista sanitario, la exposición humana a pesticidas puede ocurrir por contacto dérmico, inhalación o ingestión de agua y alimentos contaminados. Esta exposición se ha asociado con diversos efectos adversos, entre ellos alteraciones endocrinas, trastornos reproductivos, disfunción neurológica, problemas respiratorios, diabetes y distintos tipos de cáncer. La exposición crónica resulta especialmente preocupante, ya que ciertos pesticidas pueden actuar como disruptores endocrinos, alterar el equilibrio hormonal, comprometer la respuesta inmunitaria y afectar el desarrollo neurológico, particularmente en niños. Además, los residuos de estos compuestos pueden encontrarse en una amplia variedad de productos de consumo habitual, incluidos agua, jugos, vino, snacks, alimentos balanceados y otros productos de origen agrícola (**Rani et al., 2021**).

En este contexto, las limitaciones ambientales y sanitarias asociadas al uso intensivo de pesticidas químicos evidencian la necesidad de desarrollar estrategias alternativas de control que sean eficaces, seguras y ambientalmente sostenibles. Entre estas se incluyen el control biológico de hongos fitopatógenos, el uso de fungicidas microbianos y botánicos, así como otras aproximaciones emergentes orientadas a reducir la dependencia de compuestos sintéticos convencionales.

1.1.3. Plantas medicinales tropicales como reservorio de microorganismos endófitos

Las plantas medicinales tropicales constituyen una fuente fundamental para el aislamiento de microorganismos endófitos debido a su elevada diversidad química, ecológica y biológica. Estas especies se desarrollan en ambientes caracterizados por alta humedad, temperaturas favorables y una intensa interacción entre otras plantas del entorno, microorganismos, insectos y patógenos (**Tripathi et al., 2022**). Dichas condiciones favorecen el establecimiento de asociaciones complejas entre los tejidos vegetales y sus comunidades microbianas internas, las cuales pueden contribuir a la adaptación, defensa y supervivencia de la planta. Por esta razón, la selección de plantas medicinales tropicales para estudios microbiológicos no responde únicamente a su uso tradicional, sino también a su potencial como reservorios de microorganismos capaces de producir compuestos bioactivos de interés biotecnológico.

La relación planta-endófito es un elemento importante en este sentido ya que los microorganismos que habitan internamente en la planta pueden presentar capacidades metabólicas asociadas con la defensa química, la producción de compuestos antimicrobianos y la adaptación a condiciones ambientales específicas **(Zotchev, 2024)**. Adicionalmente, en la actualidad, se ha demostrado que algunos endófitos bacterianos pueden producir metabolitos secundarios bioactivos similares o incluso idénticos a los aislados de sus plantas hospedadoras, lo que evidencia una estrecha relación metabólica entre el microorganismo y la especie vegetal **(Ludwig-Müller, 2015)**. En consecuencia, el aislamiento de endófitos a partir de plantas medicinales tropicales representa una estrategia relevante para identificar bacterias y hongos con potencial farmacéutico, agrícola e industrial. Desde esta perspectiva, el estudio de especies como dulcamara, guayusa, sangre de drago, canela y clavo de olor permite explorar una fuente biológica con posible aplicación en la obtención de metabolitos bioactivos y en el control de hongos fitopatógenos.

1.1.3.1. Dulcamara (*Dulcamara spp.*)

La dulcamara (*Solanum dulcamara*) es una especie medicinal perteneciente a la familia Solanaceae, reconocida por su uso tradicional en el tratamiento de afecciones inflamatorias. Se ha empleado principalmente por sus propiedades antiinflamatorias y diaforéticas, así como en el manejo de resfriados, reumatismo, dermatitis, eczema crónico, acné e inflamaciones cutáneas. La importancia fitoquímica de *S. dulcamara* se relaciona con la presencia de diversos metabolitos secundarios distribuidos en diferentes partes de la planta, como hojas, tallos, raíces y frutos. Entre los compuestos más relevantes se encuentran glicoalcaloides como solanina, solasodina, solamarina, solamargina y tomatidina, los cuales han sido asociados con actividades biológicas de interés farmacológico. Debido a la presencia de estos compuestos, algunas partes de la planta pueden presentar toxicidad cuando se consumen en dosis elevadas **(Popova et al., 2021)**.

1.1.3.2. Guayusa (*Ilex guayusa*)

La guayusa (*Ilex guayusa*) es una especie vegetal medicinal y aromática ampliamente conocida en Ecuador y Colombia, especialmente por su uso tradicional en la preparación de infusiones y bebidas energéticas. Esta planta ha sido domesticada y utilizada durante largo tiempo por comunidades locales, lo que ha favorecido su aprovechamiento tanto para consumo tradicional como para aplicaciones

comerciales. La parte vegetal más empleada son las hojas, debido a que en ellas se concentra una mayor cantidad de metabolitos secundarios con potencial bioactivo y mejor disponibilidad para su aprovechamiento (Noriega et al., 2025).

Entre las moléculas bioactivas descritas en *I. guayusa* se encuentran alcaloides, carotenos, triterpenos, cumarinas, taninos, flavonoides y fenoles simples. Esta diversidad química le confiere interés dentro de áreas como la industria alimentaria, nutracéutica, cosmética y farmacéutica, ya que sus compuestos pueden relacionarse con propiedades funcionales y biológicas. Actualmente, la guayusa se utiliza principalmente en la elaboración de bebidas energéticas, infusiones, aperitivos y barras alimenticias, además de representar una materia prima con potencial para la producción de extractos estables destinados a la comercialización (Noriega et al., 2025).

1.1.3.3. Sangre de drago (*Croton lechleri*)

Sangre de drago (*Croton lechleri*), perteneciente a la familia Euphorbiaceae, es una especie medicinal ampliamente reconocida en Latinoamérica, especialmente en la región amazónica, por su uso etnomedicinal. Su látex rojizo ha sido empleado tradicionalmente por poblaciones rurales y urbanas para el tratamiento de heridas, úlceras, dolor dental, afecciones inflamatorias, reumatismo e infecciones fúngicas de la piel (Tzintzarov et al., 2024).

La actividad biológica de *C. lechleri* se ha relacionado con la complejidad química de su látex, el cual contiene diversos metabolitos secundarios, entre ellos diterpenos, alcaloides y compuestos fenólicos. Dentro de los diterpenos reportados se incluyen estructuras de tipo clerodano, labdano, abietano, tigliano, ent-kaurano y cembranólidos, compuestos que han sido asociados con diferentes propiedades farmacológicas. Esta riqueza química es característica del género *Croton*, considerado uno de los más diversos dentro de la familia Euphorbiaceae, cuyas especies presentan una composición fitoquímica compleja debido al tipo y cantidad de bioactivos presentes (Tzintzarov et al., 2024).

1.1.3.4. Canela (*Cinnamomum verum*)

La canela (*Cinnamomum verum*), perteneciente a la familia Lauraceae, es una especie aromática y medicinal ampliamente utilizada por sus propiedades biológicas y su valor en la industria alimentaria,

cosmética y farmacéutica. Tradicionalmente, se ha empleado en el tratamiento de procesos inflamatorios, trastornos gastrointestinales e infecciones urinarias, además de ser utilizada como conservante natural debido a su reconocida actividad antimicrobiana. Entre sus principales compuestos bioactivos se encuentran el cinamaldehído, el acetato de cinamilo y el alcohol cinámico, los cuales se asocian con gran parte de sus propiedades funcionales (Liu et al., 2017).

El cinamaldehído es considerado uno de los principales componentes activos de la canela y ha sido relacionado con efectos antimicrobianos frente a diversos microorganismos. Su mecanismo de acción se vincula con la alteración de la biosíntesis de la pared celular, la afectación de la función de la membrana citoplasmática y la inhibición de actividades enzimáticas específicas. Estas alteraciones pueden comprometer procesos esenciales para el crecimiento y supervivencia microbiana, lo que explica el interés de esta especie en estudios orientados al control de microorganismos patógenos (Liu et al., 2017).

1.1.3.5. Clavo de olor (*Syzygium aromaticum*)

El clavo de olor (*Syzygium aromaticum*), perteneciente a la familia Myrtaceae, es una planta aromática y medicinal ampliamente reconocida por sus propiedades antimicrobianas. Tradicionalmente, ha sido utilizado como antiséptico en el tratamiento de infecciones, especialmente en afecciones orales como la periodontitis, debido a su capacidad para inhibir el crecimiento de bacterias asociadas a la cavidad bucal. Además de su uso medicinal, el clavo de olor se emplea en la industria alimentaria como aditivo natural y conservante, ya que puede contribuir a prolongar la vida útil de los alimentos mediante la inhibición de microorganismos patógenos transmitidos por alimentos (Liu et al., 2017).

El principal compuesto bioactivo identificado en los extractos de clavo es el eugenol, un fenilpropanoide asociado con gran parte de su actividad antimicrobiana. Este compuesto puede afectar la integridad estructural de los microorganismos al alterar la pared celular y la membrana citoplasmática, favoreciendo la pérdida de permeabilidad y el ingreso de compuestos activos al interior celular. Como consecuencia, se pueden alterar procesos esenciales como la síntesis de ADN y proteínas, lo que limita el crecimiento y la supervivencia microbiana. Diversos estudios han reportado que los productos derivados del clavo presentan una alta actividad antimicrobiana en comparación con otras especies analizadas (Xu et al., 2016).

1.1.4. Microorganismos endófitos como agentes de biocontrol

1.1.4.1. Definición y características generales de los microorganismos endófitos

El término *endófito* proviene del griego *endo* (dentro) y *phyton* (planta), esta definición fue introducida por **Bary (1879)** para describir a los organismos que crecen en el interior de los tejidos vegetales. Con el avance de la microbiología vegetal, esta definición se ha precisado para referirse principalmente a aquellos microorganismos que colonizan internamente a las plantas sin causar síntomas aparentes de enfermedad y que, en la mayoría de las situaciones, pueden establecer interacciones beneficiosas con su hospedero (**Mengistu, 2020**).

En términos generales, los endófitos se comprenden principalmente por hongos, bacterias y actinomicetos que tienen la capacidad de habitar los tejidos internos de plantas vivas durante al menos una parte de su ciclo de vida. Una de las definiciones más ampliamente aceptadas es la propuesta por **White James & Bacon Charles (2000)**, quienes los describen como microorganismos que colonizan los tejidos internos de plantas vivas sin producir efectos adversos inmediatos ni visibles. Desde esta perspectiva, el endofitismo no constituye únicamente una localización física dentro de la planta, sino también una forma de interacción biológica.

Los microorganismos endófitos pueden ingresar a la planta a través de diferentes puntos, especialmente en regiones de la raíz donde los tejidos son más delgados o presentan discontinuidades naturales, como la zona apical y las pequeñas grietas de las regiones basales de la raíz. Tras su ingreso, estos microorganismos pueden colonizar distintos órganos y tejidos de la planta, incluyendo raíces, tallos, hojas, pecíolos y estructuras vasculares, localizándose tanto en espacios intercelulares como en el interior de ciertas células (**Soumya et al., 2024**). Su establecimiento exitoso depende de una interacción compatible con el hospedero, en la cual se mantiene un equilibrio fisiológico que evita la activación de respuestas defensivas intensas.

Esta interacción ha sido descrita como una forma de “antagonismo equilibrado”, en la que el microorganismo logra persistir dentro del hospedero sin desencadenar enfermedad, mientras la planta tolera su presencia e incluso puede beneficiarse de ella (**Giauque et al., 2019**). En muchos casos, los endófitos contribuyen al crecimiento y la adaptación de la planta mediante mecanismos directos e

indirectos, como la fijación biológica de nitrógeno, la solubilización de fosfatos, la síntesis de auxinas y otras fitohormonas, así como la producción de sideróforos y compuestos bioactivos. Por ello, numerosos endófitos son considerados microorganismos promotores del crecimiento vegetal **(Hardoim et al., 2015)**.

Además de favorecer el desarrollo de la planta, los endófitos pueden incrementar su capacidad de respuesta frente a condiciones de estrés biótico y abiótico. Entre sus funciones más relevantes se encuentra la producción de metabolitos secundarios con actividad biológica, tales como compuestos antifúngicos, antibacterianos, antivirales, insecticidas y promotores del crecimiento **(Santos et al., 2015)**. Estas sustancias pueden contribuir a la defensa del hospedero frente a patógenos y otros factores adversos, fortaleciendo su competitividad y supervivencia en ambientes naturales **(Tripathi et al., 2022b)**.

No obstante, es importante señalar que el concepto de endófito no siempre implica una relación mutualista estricta. Existen casos en los que un microorganismo reconocido como patógeno en una especie vegetal puede colonizar otra especie sin causar síntomas de enfermedad, comportándose funcionalmente como un endófito en ese hospedero **(Silva et al., 2022)**. Esto demuestra que la naturaleza de la interacción planta-microorganismo depende del contexto biológico, del hospedero involucrado y de las condiciones ambientales en las que ocurre la colonización.

1.1.4.2. Interacción de los endófitos con la planta hospedera

Los endófitos, en conjunto, constituyen el endofitoma, también denominado endomicrobioma vegetal, cuya composición varía en función de diversos factores, entre los que destacan la especie de la planta hospedadora, su etapa de desarrollo y las condiciones ambientales. La colonización endofítica puede producirse de manera horizontal, a partir del ambiente, o de forma vertical, mediante la transmisión desde los progenitores **(Palmieri et al., 2022)**.

La relación entre los endófitos y sus hospedadores vegetales no es estática, sino dinámica y puede entenderse como un cambio continuo que puede abarcar interacciones desde mutualistas hasta relaciones comensales, competitivas o incluso parasíticas. En el mutualismo, tanto la planta como el microorganismo obtienen beneficios recíprocos, en el comensalismo, uno de los organismos se

beneficia sin afectar al otro, mientras que en el parasitismo uno de los integrantes obtiene ventaja en detrimento de su hospedador **(Giauque et al., 2019)**. Esta variabilidad evidencia que un mismo endófito puede modificar su tipo de interacción a lo largo de su ciclo de vida o en función de cambios fisiológicos y ambientales.

La conformación de las comunidades endofíticas está influenciada por mecanismos de selección ejercidos por el propio huésped. Un factor clave en este proceso es la exudación radicular, mediante la cual los compuestos derivados de procesos metabólicos son liberados al suelo, en donde, modulan la composición de las comunidades microbianas asociadas. Dado que la naturaleza y cantidad de estos exudados varían entre especies, la planta desempeña un papel activo en el reclutamiento de microorganismos específicos. Por otro lado, las interacciones microbio-microbio, presentan incidencia en la estructura y funcionalidad de las comunidades endofíticas, pudiendo generar relaciones positivas o negativas que afectan su diversidad, estabilidad y productividad **(Zotchev, 2024)**.

Desde una perspectiva funcional, los endófitos cumplen un papel relevante en el crecimiento, desarrollo y adaptación de las plantas. Muchos de estos microorganismos beneficiosos promueven el crecimiento vegetal mediante mecanismos directos, relacionados principalmente con la mejora en la adquisición de nutrientes y la regulación hormonal. Entre ellos destaca la solubilización de fósforo, síntesis de sideróforos y fijación del nitrógeno. Otro mecanismo directo de gran importancia corresponde a la producción o modulación de fitohormonas. Algunos microorganismos rizosféricos y endófitos son capaces de sintetizar compuestos como auxinas, giberelinas y citoquininas, o bien inducir su producción en la planta hospedadora **(Guha & Mandal Biswas, 2024)**.

Además de sus efectos directos, los endófitos pueden favorecer el crecimiento y la respuesta de defensa de las plantas mediante mecanismos indirectos, especialmente aquellos relacionados con la protección frente a fitopatógenos. Entre estos se incluyen la competencia por espacio y nutrientes, la producción de compuestos antimicrobianos, la secreción de enzimas líticas y la inducción de respuestas de defensa en la planta. La competencia ecológica limita el establecimiento de microorganismos patógenos en los tejidos vegetales, mientras que la producción de antibióticos y metabolitos bioactivos inhibe directamente su crecimiento **(Luu et al., 2021)**.

1.1.4.3. Mecanismo de acción de microorganismos endófitos frente a hongos fitopatógenos

Los microorganismos endófitos pueden actuar como agentes de biocontrol frente a hongos fitopatógenos mediante diversos mecanismos directos e indirectos que interfieren en el crecimiento, establecimiento y desarrollo del patógeno dentro de los tejidos vegetales. Este proceso no responde a un único mecanismo de acción, sino a la integración de múltiples estrategias biológicas, entre las que se encuentran la producción de metabolitos con actividad antifúngica, la secreción de enzimas líticas, la competencia por espacio y nutrientes y la activación de respuestas defensivas en la planta hospedera **(Fadiji & Babalola, 2020)**.

Uno de los mecanismos directos más relevantes es la producción de compuestos bioactivos con actividad antifúngica **(Fadiji & Babalola, 2020)**. Diversos microorganismos endófitos son capaces de sintetizar metabolitos secundarios que inhiben el crecimiento de hongos fitopatógenos, ya sea mediante la alteración de la pared celular, la membrana plasmática, el metabolismo o los procesos de germinación y desarrollo micelial del patógeno. Entre los compuestos antimicrobianos producidos por endófitos se encuentran terpenoides, alcaloides, fenilpropanoides, compuestos alifáticos, policétidos, péptidos, acetol, ácido hexanoico, ácido acético y otros metabolitos de amplio espectro.

Además de la producción de compuestos bioactivos, los endófitos pueden secretar enzimas líticas que participan tanto en la colonización de los tejidos vegetales como en la degradación de estructuras del patógeno. Durante el proceso de colonización, los microorganismos endófitos producen enzimas capaces de hidrolizar componentes de la pared celular vegetal, lo que facilita su ingreso y establecimiento en el interior de la planta sin causar síntomas de enfermedad. Por otro lado, la producción de estas enzimas puede actuar de manera indirecta sobre la pared celular de los hongos fitopatógenos, la cual está compuesta principalmente por quitina, glucanos y proteínas **(Grabka et al., 2022)**.

Otro mecanismo importante es la competencia por espacio y nutrientes. Los endófitos, al colonizar de forma local o sistémica diferentes tejidos vegetales, pueden ocupar nichos ecológicos que también serían utilizados por los hongos fitopatógenos **(Mengistu, 2020)**. Esta colonización previa limita la disponibilidad de sitios de infección, fuentes de carbono, nitrógeno y otros nutrientes, los cuales son esenciales para el establecimiento del patógeno. Este proceso, conocido como exclusión

competitiva, define la capacidad de los endófitos para impedir o reducir la colonización de microorganismos patógenos al ocupar el mismo espacio potencial dentro del huésped.

Los microorganismos endófitos también pueden actuar como agentes de cebado o *priming*, preparando a la planta para responder de manera más rápida y eficiente ante el ataque de un patógeno. Este proceso ocurre mediante cambios en la regulación de la expresión génica, especialmente en genes asociados con la defensa vegetal. Entre estos se incluyen aquellos relacionados con las vías de señalización del ácido salicílico, ácido jasmónico y etileno, moléculas clave en la activación de respuestas defensivas frente a distintos tipos de estrés biótico (Adeleke et al., 2022).

1.1.5. Producción y obtención de metabolitos secundarios bioactivos

1.1.5.1. Metabolitos secundarios bioactivos de microorganismos endófitos y su interés biotecnológico

Los microorganismos se desarrollan en ambientes caracterizados por una constante interacción química, en donde, se producen, liberan y responden a diversas moléculas señalizadoras. Muchas de estas moléculas corresponden a metabolitos, los cuales son productos derivados del metabolismo celular, este proceso comprende un conjunto de reacciones bioquímicas continuas e interrelacionadas que ocurren durante todo el ciclo de vida microbiano e incluye tanto procesos catabólicos, relacionados con la obtención de energía, como procesos anabólicos, asociados con la síntesis de componentes celulares (Firáková et al., 2007a).

De acuerdo con sus propiedades funcionales y mecanismos de biosíntesis, los metabolitos microbianos se clasifican en primarios y secundarios. Los metabolitos primarios participan directamente en funciones esenciales para la célula, como el crecimiento, el desarrollo y la obtención de energía. En cambio, los metabolitos secundarios no intervienen de manera directa en procesos como la división celular o el metabolismo energético básico, sin embargo, cumplen funciones ecológicas relevantes relacionadas con la competencia, la defensa, la comunicación química, la adaptación al ambiente y la interacción con otros organismos (Guha & Mandal Biswas, 2024).

Los metabolitos secundarios secretados por microorganismos se consideran compuestos bioactivos de bajo peso molecular, estructuralmente diversos y con amplio potencial biotecnológico. Su síntesis suele ubicarse al final de la fase exponencial y al inicio de la fase estacionaria del crecimiento microbiano, etapa conocida como idiofase (**Bhatla & Lal, 2023**). Esta producción puede ser inducida por diferentes factores, en donde se encuentran el agotamiento de nutrientes o por condiciones ambientales desfavorables. A nivel molecular, su biosíntesis está regulada por rutas metabólicas complejas, genes agrupados en clústeres biosintéticos y mecanismos de regulación en cascada.

En el caso de los microorganismos endófitos, la producción de metabolitos secundarios es de gran importancia debido a su estrecha relación con la planta hospedera. Estos microorganismos constituyen una fuente relevante de compuestos bioactivos, ya que durante la colonización interna de los tejidos vegetales pueden sintetizar moléculas con actividad antifúngica, antibacteriana, antioxidante, antiviral, nematocida o promotora del crecimiento vegetal (**Koza et al., 2022**).

La producción y diversidad de estos metabolitos está influenciada por diversos factores, entre ellos la especie microbiana, el tipo de planta hospedera, el tejido colonizado, las condiciones ambientales y las interacciones con otros microorganismos (**Selim et al., 2021a**). Asimismo, el hábitat de la planta hospedera puede incidir en la capacidad metabólica de los endófitos. En ecosistemas altamente competitivos, como las selvas tropicales, la limitada disponibilidad de recursos y la intensa interacción entre organismos pueden ejercer una fuerte presión selectiva sobre las comunidades microbianas, favoreciendo la síntesis de moléculas distintas o con funciones defensivas especializadas (**Andryukov et al., 2019a**).

Desde el punto de vista químico, la diversidad de metabolitos secundarios producidos por endófitos es amplia, e incluye compuestos como terpenoides, alcaloides, fenoles, esteroides, benzopirranonas, isocumarinas, quinonas, xantonas, citocalasinas, tetralonas y enniatinas (**Keswani et al., 2020a**). Entre estos, algunos grupos destacan por su actividad antifúngica, ya que pueden interferir en procesos esenciales para el desarrollo normal de los hongos fitopatógenos. Por ejemplo, los fenoles y quinonas pueden alterar la integridad de la membrana celular, inducir estrés oxidativo y afectar la actividad de enzimas esenciales. Los terpenoides, por su carácter lipofílico, pueden desestabilizar la membrana fúngica y modificar su permeabilidad, provocando pérdida de componentes celulares. Asimismo, los alcaloides pueden interferir en la síntesis de proteínas, ácidos nucleicos o en procesos metabólicos relacionados con el crecimiento del micelio. Por otra parte, las citocalasinas son relevantes porque pueden afectar la organización del citoesqueleto de actina, lo que limita procesos como la

elongación hifa, la división celular y la formación normal de estructuras fúngicas (**Andryukov et al., 2019a**).

Entre los compuestos bioactivos de mayor interés se encuentran los antibióticos, definidos como moléculas orgánicas de bajo peso molecular producidas por microorganismos, capaces de inhibir el crecimiento de otros microorganismos o causar su muerte en bajas concentraciones. Estos compuestos pueden ser producidos por bacterias, hongos y actinomicetos y representan una de las principales expresiones del potencial antimicrobiano de los metabolitos secundarios (**Selim et al., 2021a**).

Otro grupo relevante corresponde a los biosurfactantes, moléculas tensioactivas producidas principalmente por microorganismos y capaces de modificar las propiedades de las interfaces. Estos compuestos se caracterizan por su biodegradabilidad, especificidad y menor toxicidad en comparación con surfactantes sintéticos, además de mantener su funcionalidad bajo condiciones extremas de temperatura, pH y salinidad.

Además, algunos endófitos pueden producir sustancias relacionadas con la promoción del crecimiento vegetal, como auxinas y compuestos similares a las giberelinas. Estas moléculas pueden influir en el desarrollo de raíces, tallos y otros órganos vegetales, favoreciendo el crecimiento y la adaptación de la planta. La producción de metabolitos secundarios bioactivos en microorganismos endófitos no depende solo de su capacidad genética, sino también del ambiente en el que crecen. Así, las condiciones de cultivo, como el medio empleado, el pH, la temperatura y la disponibilidad de nutrientes, cumplen un papel fundamental en la activación y regulación de su biosíntesis (**Keswani et al., 2020a**).

1.1.5.2. Condiciones de cultivo para la producción de metabolitos secundarios bioactivos

Los microorganismos endófitos poseen un alto potencial para sintetizar metabolitos secundarios con actividad biológica, por lo que el diseño de condiciones de cultivo adecuadas resulta fundamental para favorecer su producción (**Keswani et al., 2020b**). En condiciones convencionales de cultivo, muchos genes relacionados con la biosíntesis de metabolitos secundarios microbianos permanecen inactivos o se expresan en niveles bajos. Por esta razón, resulta necesario modificar los parámetros de

cultivo con el fin de activar estos grupos génicos silenciados y ampliar la diversidad de metabolitos producidos **(Firáková et al., 2007b)**.

El medio de cultivo cumple un papel determinante, este componente no solo influye en el crecimiento microbiano, sino también en la regulación del metabolismo secundario. Entre sus elementos más importantes se encuentran la fuente de carbono y nitrógeno. La fuente de carbono proporciona energía, favorece la formación de biomasa y aporta unidades estructurales para la síntesis de metabolitos, por otro lado, la fuente de nitrógeno participa en la formación de proteínas, ácidos nucleicos y compuestos nitrogenados necesarios para el metabolismo celular. La concentración de estas fuentes en el medio y la relación carbono/nitrógeno, puede presentar influencia en la expresión de genes biosintéticos y variaciones en el perfil de metabolitos secundarios producidos **(Pan et al., 2019a)**.

Además de la fuente de carbono y nitrógeno, otros componentes del medio, como la salinidad y los iones metálicos, también actúan en el metabolismo microbiano. Una salinidad adecuada contribuye al equilibrio osmótico y al funcionamiento normal de las células, sin embargo, concentraciones elevadas pueden generar estrés osmótico, deshidratación celular y alteraciones en las reacciones bioquímicas **(Selim et al., 2021b)**. En algunos casos, este tipo de estrés puede activar rutas metabólicas ocultas o grupos de genes biosintéticos silenciados. De manera similar, los iones metálicos pueden intervenir en procesos fisiológicos esenciales, actuar como cofactores enzimáticos y modificar la actividad metabólica de los microorganismos, dando como resultado la producción de compuestos especializados.

Las condiciones fisicoquímicas del cultivo, como la temperatura, el pH, la aireación, la agitación y la disponibilidad de oxígeno, son elementos que se deben considerar para el crecimiento y la biosíntesis de metabolitos **(Pan et al., 2019a)**. La temperatura regula la actividad enzimática microbiana, no obstante, cuando esta se encuentra fuera del rango óptimo, puede reducir la formación de biomasa y el rendimiento metabólico. En el caso de los hongos endófitos, temperaturas elevadas pueden inhibir el crecimiento fúngico y disminuir la síntesis de compuestos bioactivos. Asimismo, el pH del medio puede variar durante la fermentación debido al consumo de nutrientes y a la acumulación de productos metabólicos, lo que afecta la actividad enzimática, la permeabilidad de la membrana celular y la utilización del sustrato **(Andryukov et al., 2019b)**.

1.1.5.3. Mejora de la biosíntesis de metabolitos secundarios producidos por endófitos

La mejora de la biosíntesis de metabolitos secundarios en microorganismos endófitos es un aspecto fundamental para incrementar la producción de compuestos bioactivos de interés biotecnológico y agrícola. Aunque muchos endófitos poseen el potencial genético para sintetizar metabolitos con actividad antimicrobiana, en condiciones convencionales de laboratorio algunas rutas biosintéticas pueden permanecer inactivas o expresarse en niveles bajos. Por ello, se han desarrollado estrategias dirigidas a estimular la producción metabólica, activar grupos de genes biosintéticos silenciados y ampliar la diversidad química de los compuestos producidos (**Pan et al., 2019a**).

Entre estas estrategias destaca el enfoque OSMAC, denominado “una cepa, muchos compuestos”, el cual se basa en modificar las condiciones de cultivo para inducir cambios en el perfil metabólico de una misma cepa (**Le Loarer et al., 2023**). Este método parte de la premisa de que los parámetros de cultivo influyen directamente en la expresión biosintética de los microorganismos, por lo que una misma cepa puede producir diferentes metabolitos según el ambiente en el que se desarrolle.

Las modificaciones aplicadas en OSMAC pueden incluir factores físicos y químicos, tales como la composición del medio de cultivo, las fuentes de carbono y nitrógeno, la relación C/N, la salinidad, la presencia de iones metálicos, el pH, la temperatura, la luz, la aireación, la agitación y el tiempo de incubación (**Da Silva et al., 2023**). Asimismo, pueden incorporarse moléculas inductoras o agentes que actúen como activadores o inhibidores enzimáticos. Estos cambios no solo influyen en el crecimiento microbiano, sino también en la regulación del metabolismo secundario, ya que pueden modificar el grado y el patrón de expresión de los genes asociados con la síntesis de metabolitos bioactivos.

1.1.6. Microencapsulación de compuestos bioactivos

1.1.6.1. Secado por aspersión (Spray Drying)

El secado por aspersión, patentado a finales del siglo XIX, se ha convertido en una tecnología versátil para la obtención de polvos estables a partir de matrices líquidas. De manera general, esta técnica corresponde a un método de encapsulación en el que una partícula, sustancia o compuesto bioactivo es incorporado dentro de un material encapsulante, también conocido como material de pared.

Su aplicación en distintos sectores industriales ha permitido preservar, estabilizar y retardar eficazmente la degradación de compuestos bioactivos (Díaz-Montes, 2023; Milanese et al., 2025).

En la actualidad, esta tecnología resulta esencial en la producción de una amplia gama de productos, como polvos alimenticios, probióticos, enzimas y antibióticos. En particular, en la industria alimentaria se utiliza para proteger enzimas, colorantes, sabores y aromas, mientras que en la industria farmacéutica se emplea para mejorar la administración y absorción de medicamentos por vía oral (Ziaee et al., 2019). Una de sus principales ventajas radica en que permite un control preciso de la morfología, el tamaño y el contenido de humedad de las partículas obtenidas mediante el ajuste de las condiciones de operación del equipo. Durante el proceso, el líquido de alimentación, que puede presentarse en forma de solución, emulsión o suspensión, ingresa al secador y experimenta una serie de transformaciones fisicoquímicas que conducen a la formación de partículas secas.

El proceso de secado por aspersión se desarrolla a través de varias etapas consecutivas que permiten convertir un líquido en un polvo seco y estable. En primer lugar, el líquido de alimentación, que puede presentarse como solución, emulsión o suspensión, es conducido hacia un atomizador, donde se transforma en gotas muy finas. Esta atomización favorece un secado más eficiente, ya que aumenta considerablemente la superficie de contacto. A continuación, las gotas ingresan a una cámara en la que entran en contacto con aire caliente, lo que provoca la evaporación del disolvente. En la fase inicial, el secado ocurre de manera rápida mientras la superficie de la gota aún contiene humedad, después, conforme disminuye el contenido de solvente, se forma una capa externa sólida que ralentiza la evaporación. Por último, las partículas secas son arrastradas por la corriente de aire hacia un sistema de recuperación, donde se separan y recolectan mediante ciclones o filtros. Como resultado, se obtiene un polvo fino compuesto por partículas generalmente esféricas, cuyo tamaño suele oscilar entre 10 y 50 μm (Vicente et al., 2013).

1.1.6.2. Materiales encapsulantes

El material de pared constituye la matriz encapsulante responsable de proteger el material central durante el proceso de encapsulación y en las etapas posteriores de almacenamiento, manipulación y uso. Su función principal es actuar como una barrera física frente a condiciones que puedan comprometer la integridad y estabilidad del compuesto encapsulado, tales como esfuerzos mecánicos, cambios de temperatura, humedad, exposición a la luz y variaciones en la actividad de agua

del entorno (**Pudžiuvėlytė et al., 2025a**). En este sentido, el material encapsulante debe presentar propiedades funcionales que garanticen la protección, estabilidad y conservación del núcleo, sin descuidar criterios de rentabilidad relacionados con el rendimiento del proceso y el costo del material. Por ello, la selección del material de pared debe realizarse en función de los requerimientos del proceso, el uso previsto del producto final y la compatibilidad entre las propiedades fisicoquímicas del encapsulante y las características del compuesto bioactivo que se pretende proteger (**Milanesi et al., 2025; Ziaee et al., 2019**).

Entre los encapsulantes más utilizados se encuentran carbohidratos como la maltodextrina, el almidón, el alginato, el quitosano y el dextrano; gomas como la xantana, la arábica y fibras como la pectina, proteínas como la gelatina, la caseína y las proteínas de suero, así como ceras como la de abeja y la de candelilla (**Díaz-Montes, 2023a**). En consecuencia, la selección del material de pared debe realizarse en función de la compatibilidad entre sus propiedades fisicoquímicas y las características del compuesto bioactivo que se pretende encapsular.

1.1.6.3. Efecto del secado por aspersión sobre los compuestos bioactivos

El efecto del secado por aspersión sobre los compuestos bioactivos depende en gran medida de la naturaleza del compuesto y de las condiciones operativas del proceso. Debido a que muchos bioactivos presentan sensibilidad frente al calor, la oxidación o la humedad, su exposición durante el secado puede provocar cambios en su estabilidad, actividad biológica e integridad estructural. De esta manera, la eficiencia del proceso no solo se evalúa por la obtención de un polvo seco, sino también por la capacidad de conservar las propiedades funcionales del compuesto encapsulado a través del tiempo.

Entre los factores que más influyen en este comportamiento se encuentran la temperatura del aire, la velocidad de alimentación, la relación entre el material de pared y el núcleo, así como las propiedades fisicoquímicas del agente bioactivo, incluyendo su estabilidad térmica, solubilidad y reactividad, así como la cantidad de sólidos totales que presente. Estas variables pueden repercutir directamente en la dimensión, morfología y contenido de humedad de las partículas obtenidas, características que a su vez condicionan la estabilidad del metabolito encapsulado y su vida útil. Por ejemplo, un contenido elevado de humedad residual puede favorecer reacciones químicas no deseadas que comprometen la integridad del agente bioactivo y disminuyen su actividad biológica (**Polanco et al., 2024**).

1.1.6.4. Aplicaciones del secado por aspersión en productos de uso agrícola

La creciente demanda de productos biológicos en la agricultura ha impulsado el desarrollo de nuevas estrategias de formulación, entre las que destaca la microencapsulación de compuestos bioactivos. La microencapsulación es una tecnología emergente para combatir patógenos transmitidos por el suelo y el estrés abiótico, así como para promover proyectos agrícolas verdes. La preservación de la estructura y función de los materiales biológicos durante el almacenamiento a largo plazo a alta temperatura y humedad es de vital importancia para la agroindustria **(Luft & Mazutti, 2025)**.

Su incorporación en este sector ha ampliado las posibilidades de uso de ingredientes activos de origen biológico en diferentes formulaciones destinadas al manejo agrícola. Dentro de este campo, dichas formulaciones han sido exploradas para la aplicación de agentes con actividad frente a insectos, hongos fitopatógenos, malezas y deficiencias nutricionales en los cultivos.

Esta aplicación resulta particularmente relevante en el caso de agentes microbianos y de sus metabolitos, ya que la viabilidad de las esporas y la actividad biológica de estos compuestos pueden verse afectadas por diversos factores ambientales, como la radiación ultravioleta y las temperaturas adversas **(Zabot et al., 2022)**. En este sentido, la microencapsulación se ha incorporado como una alternativa tecnológica para el desarrollo de productos agrícolas con un uso más específico y funcional. Por ello, el empleo de compuestos bioactivos encapsulados en la elaboración de bioinsecticidas, biofungicidas, bioherbicidas y biofertilizantes constituye una estrategia de creciente interés en la agricultura.

1.1.7. Perspectivas del uso de compuestos bioactivos endofíticos en el control de hongos fitopatógenos

Las proyecciones indican que el mercado mundial de biopesticidas a partir de origen biológico alcanzará los USD 15.66 mil millones para 2029, mientras que se prevé que el mercado combinado de biofertilizantes y bioestimulantes alcance los USD 5.2 mil millones para 2028 y los USD 7.6 mil millones para 2029, respectivamente. En términos de valores, se alcanzó una CAGR superior al 10% durante el período de pronóstico **(Luft & Mazutti, 2025)**.

Los organismos completos pueden envasarse como biopesticidas, pero los metabolitos secundarios secretados por los microorganismos también pueden tener una amplia gama de actividades biológicas que protegen a la planta contra plagas y patógenos o actúan como promotores del crecimiento vegetal, lo cual puede ser beneficioso para los cultivos agrícolas.

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo general

Evaluar compuestos bioactivos a partir de microorganismos endófitos para el control de enfermedades por hongos fitopatógenos

1.2.2. Objetivos Específicos

- Identificar microorganismos endófitos presentes en plantas medicinales del Oriente ecuatoriano.
- Optimizar las condiciones de expresión metabólica para la obtención de compuestos bioactivos
- Estimar la actividad antagónica frente a hongos fitopatógenos.

CAPÍTULO II.- METODOLOGÍA

2.1. Materiales

Este trabajo de titulación fue de tipo experimental y se ejecutó en los laboratorios académicos 2.2, 3.2, 4.1 y en el laboratorio de investigación la Unidad Operativa de la Dirección de Investigación y Desarrollo (UODIDE) de la Universidad Técnica de Ambato. La **Tabla 1** detalla los equipos, materiales, reactivos y herramientas informáticas empleados durante el desarrollo del estudio.

Tabla 1

Listado de equipos, material fungible y reactivos de laboratorio utilizados

REACTIVOS	CANTIDAD
Agar PDA	78 g
Agar Nutriente	46 g
K ₂ HPO ₄	180g
Glucosa	270g
Extracto de Levadura	20g
Levadura granulada	250g
Cristal Violeta	50mL
Lugol	50mL
Alcohol Cetona	50mL
Safranina	50mL
Aceite de inmersión	10mL
Azul de Lactofenol	15mL
Etanol al 70%	100mL
Sulfato de Magnesio Heptahidratado	3g
Sulfato de Manganeso Heptahidratado	3g
Sulfato de Hierro Heptahidratado	3g
Rifampicina	5mg
Sulfato de Estreptomicina	10mg
Nistatin	5mg
Glicerol	100mL
Ácido Cítrico	8.35g
NaHPO ₄	5.50g

Almidón	1g
Celulosa	1g
Quitina	1g
Lisina	0.125g
Cisteína	0.125g
Histidina	0.125g
Leucina	0.125g
Arginina	0.125g
Tirosina	0.125g
Alanina	0.125g
Valina	0.125g
Aparagina	0.125g
Treonina	0.125g
Fenilalanina	0.125g
MATERIAL FUNGIBLE	CANTIDAD
Botellas de autoclave (250 – 500 mL)	4
Vasos de precipitación 100 mL	5
Asa de inoculación	1
Cajas Monopetri plásticas	80
Cajas Bipetri plásticas	40
Matraz Erlenmeyer 2L	10
Parafilm	1 rollo
Gradilla	1
Juego de micropipetas	1
Puntas para micropipetas 1 mL y 250 uL	30 de cada tipo
Tubos de ensayo con tapa	30
Pipeta pasteur	5
Portaobjetos	70
Cubreobjetos	70
Hemocitómetro	1
Mechero de alcohol	5
Crioviales	100
Guantes de nitrilo	2 cajas
Mascarillas	2 cajas
Cofias	2 fundas
Cinta adhesiva de papel	1

Papel aluminio	1
Papel industrial	2
EQUIPOS	CANTIDAD
Autoclave	1
Balanza analítica	1
Microoscopio	1
Mechero Bunsen	1
Nevera	1
Incubadora	1
Cabina de flujo laminar Bioseguridad II	1
Spry-drier	1
Rotaevaporador	1
Shaker Orbital	1
Computadora	1

Nota. Todos los equipos empleados fueron facilitados por los laboratorios académicos y por el Laboratorio de Investigación de la Unidad Operativa de Dirección y Desarrollo (UODIDE).

2.2. Métodos

2.2.1. Identificación de microorganismos endófitos presentes en plantas medicinales del Oriente Ecuatoriano

2.1.1.1. Selección de microorganismos con perfil de producción de compuestos bioactivos

Se realizó un muestreo dirigido de plantas medicinales y aromáticas propias de la región Oriente del Ecuador, específicamente en el cantón Tena, Provincia de Napo. Las muestras se recolectaron bajo el permiso del Ministerio del Ambiente y Energía, articulado con el código MAE-ARSFC-2025-1119, (**Anexo 1**). Las especies vegetales seleccionadas fueron *Ilex guayusa*, *Dulcamara* spp., *Cinnamomum verum*, *Syzygium aromaticum* y *Croton lechleri*. De cada especie se recolectaron únicamente tejidos sanos, libres de sintomatología asociada a enfermedades. Durante el proceso de muestreo se registraron la localidad, las coordenadas geográficas, el órgano vegetal recolectado y la fecha de colección.

2.1.1.2. Aislamiento y desinfección de microorganismos endófitos

Se recolectaron tejidos de individuos sanos de cada una de las especies vegetales seleccionadas, es decir, ejemplares sin síntomas visibles de enfermedad. Para cada especie hospedera se tomaron hojas de 5 a 10 cm a partir del tallo principal, así como muestras de corteza y tallo. Cada muestra fue identificada con un código único y transportada en bolsas estériles de papel a una temperatura de 4–8 °C hasta su procesamiento en laboratorio.

En el laboratorio, las muestras fueron manipuladas en cabina de bioseguridad. Siguiendo el protocolo de desinfección superficial descrito por **Santos et al., (2015)**, el material vegetal fue lavado inicialmente con agua de grifo estéril. Posteriormente, se sometió a una inmersión en etanol al 70 % durante 1 minuto, seguida de una inmersión en una solución de hipoclorito de sodio al 2 % de cloro disponible durante 4 minutos; luego, se realizó una segunda inmersión en etanol al 70 % durante 30 segundos. Finalmente, el material se enjuagó tres veces con agua destilada estéril.

La eficacia del proceso de desinfección superficial se verificó mediante la inoculación del agua correspondiente al último lavado en placas Petri con agar dextrosa papa (PDA) y agar nutritivo (AN), con el fin de comprobar la ausencia de microorganismos epífitos remanentes.

Una vez concluida la esterilización superficial, las muestras vegetales se cortaron en fragmentos de aproximadamente 1 cm². Posteriormente, con ayuda de pinzas estériles, los fragmentos fueron transferidos asépticamente a placas Petri que contenían medio PDA suplementado con rifampicina a una concentración final de 5 µg/mL, para inhibir el crecimiento de bacterias contaminantes, y a placas con medio AN suplementado con nistatin a una concentración final de 75 µg/mL, para evitar el crecimiento de hongos contaminantes. Para cada especie vegetal se trabajó con tres réplicas.

Las placas destinadas al aislamiento de hongos se incubaron a 26 °C, mientras que aquellas destinadas al aislamiento de bacterias se incubaron a 28 °C. El crecimiento fue monitoreado diariamente durante un período de 7 a 10 días. Durante este tiempo se registraron variables como el tiempo de aparición de las colonias, la morfología macroscópica y la tasa de crecimiento de los microorganismos emergentes a partir de los explantes.

Las colonias que presentaron morfologías diferenciadas fueron repicadas en medios frescos para su purificación. En el caso de las bacterias, la purificación se realizó mediante la técnica de estría por agotamiento; para los hongos, se efectuó la transferencia de micelio al centro de una nueva placa con medio de cultivo. Todas las colonias fúngicas aisladas fueron purificadas y mantenidas en medio PDA para su posterior análisis. De igual manera, las colonias bacterianas aisladas fueron purificadas y conservadas en medio AN para su evaluación posterior.

El material vegetal utilizado en la investigación fue procesado de manera individual, con el propósito de obtener una colección de microorganismos endófitos provenientes de diferentes órganos y secciones de cada una de las plantas seleccionadas.

Una vez obtenidos los cultivos puros, aquellos que no presentaron contaminación visible, se procedió a su conservación en tubos Eppendorf de 2 mL que contenían 1,2 mL de agua de llave estéril. Para las bacterias, se tomó biomasa con un asa de siembra y se suspendió directamente en el tubo mediante homogenización. En el caso de los hongos, se extrajo micelio de la zona más alejada del centro de crecimiento de la colonia con ayuda de un palillo estéril, y se transfirió al tubo correspondiente. Finalmente, las muestras se almacenaron en refrigeración a 4 °C hasta su posterior evaluación.

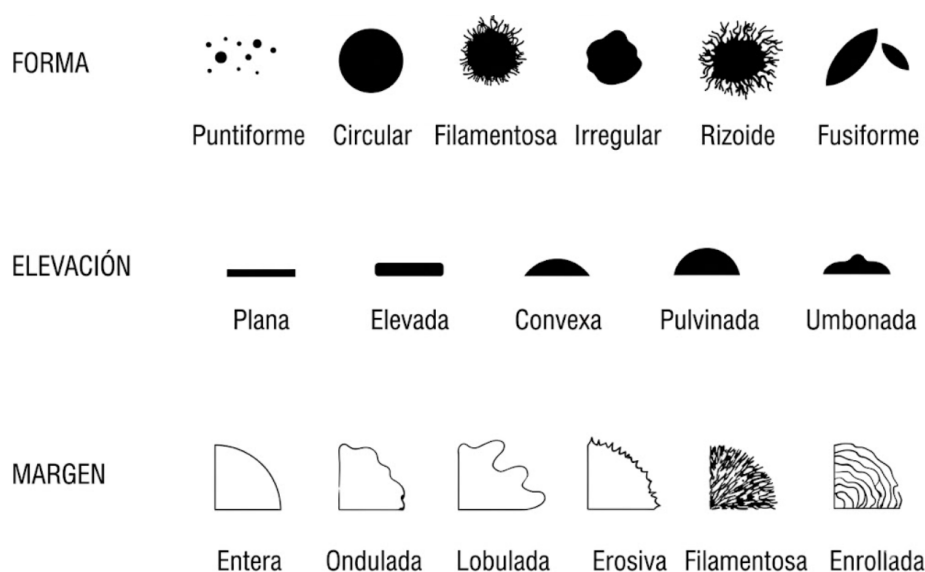
2.1.1.3. Caracterización macroscópica de los aislamientos

Los cultivos puros de hongos y bacterias endófitas fueron caracterizados mediante la evaluación de las características macroscópicas y microscópicas de las colonias, considerando aspectos como tamaño, forma y coloración.

Para la caracterización macroscópica de bacterias, se tomaron en cuenta características como la forma, el borde, la elevación, la superficie, la coloración y el tamaño de las colonias, como se muestra en la **Figura 1**. En el caso de los hongos, se consideraron el color del micelio aéreo y del micelio de sustrato, el tipo de hifa, la esporulación aparente, la forma de las esporas, la presencia de pigmentos y la textura del micelio. En este apartado, se elaboraron tablas en las que se registraron los datos correspondientes a cada una de estas características.

Figura 1

Diagrama que ilustra las diversas formas, elevaciones y márgenes de las colonias bacterianas



Nota. Tomado de Breakwell et al. (2007).

2.1.1.4. Caracterización microscópica de los aislamientos

Para las bacterias endófitas, se realizó la tinción de Gram con el fin de determinar la morfología celular y la reacción de la pared celular frente al método de tinción. Para ello, se siguió el protocolo descrito por **Paray et al., (2023)**. En primer lugar, se elaboró un frotis bacteriano sobre un portaobjetos, a partir de una colonia aislada suspendida en una gota de agua destilada estéril. Posteriormente, la preparación se fijó por calor y se sometió a la aplicación secuencial de los reactivos correspondientes a la tinción de Gram. Finalmente, las muestras se observaron al microscopio para registrar la forma celular y la tinción de los aislamientos bacterianos.

De manera adicional, se efectuó la tinción de endosporas mediante el método clásico de Schaeffer–Fulton. Para este procedimiento, se preparó un frotis a partir de cultivos jóvenes. Posteriormente, el frotis se fijó por calor y se cubrió con una solución de verde malaquita al 5 %, la cual se mantuvo en ebullición suave durante varios minutos. Una vez transcurrido el tiempo de tinción, la preparación se enjuagó abundantemente con agua para eliminar el exceso de colorante. A continuación, se aplicó safranina durante 60 segundos, con el fin de teñir las células vegetativas (**Erkmen, 2021**). Finalmente, la preparación se observó al microscopio con aceite de inmersión, identificándose las

endosporas como estructuras de color verde y las células vegetativas como estructuras de color rojo o rosado, de acuerdo con los criterios establecidos para tinciones diferenciales en bacterias formadoras de endosporas.

2.1.1.5. Evaluación de la actividad antagonista del banco de microorganismos endófitos mediante difusión en agar frente a hongos fitopatógenos

Se realizó una prueba preliminar de antagonismo con todo el banco de microorganismos endófitos aislados, tanto fúngicos como bacterianos. Para ello, los hongos endófitos fueron reactivados en medio agar dextrosa papa (PDA) hasta que el micelio cubrió completamente la superficie del medio de cultivo, mientras que las bacterias endófitas se cultivaron en agar nutritivo (AN). Ambos grupos de microorganismos se incubaron durante un período de 7 días.

De manera paralela, se reactivaron los hongos fitopatógenos seleccionados en medio PDA. Los patógenos evaluados correspondieron a *Fusarium* spp., *Alternaria* spp., *Phoma* spp. y *Botrytis* spp. En esta etapa, se procuró obtener cultivos con esporulación abundante y uniforme. Una vez que todos los microorganismos se encontraron desarrollados, se procedió a determinar cualitativamente su capacidad antagonista en agar, siguiendo la técnica de difusión en agar descrita por **Balouiri et al., (2016)**, con modificaciones adaptadas a las condiciones de la presente investigación. Dichas modificaciones se implementaron debido al elevado número de aislamientos obtenidos, con el fin de optimizar el uso de tiempo, materiales y medios de cultivo durante la etapa preliminar de selección de microorganismos con potencial antagonista, sin alterar el principio general del ensayo.

En una primera etapa, se prepararon suspensiones de esporas de cada uno de los cuatro hongos fitopatógenos seleccionados. Para ello, se realizó un raspado superficial del micelio esporulado con ayuda de un palillo estéril, y el material recolectado se suspendió en tubos de ensayo que contenían 9 mL de agua destilada estéril. Posteriormente, se tomó una alícuota de 20 µL de cada suspensión para realizar el conteo de esporas en un hemocitómetro y así determinar la concentración de esporas presente.

A partir de los valores obtenidos, se calculó el volumen de inóculo necesario para suplementar el medio de cultivo. Se trabajó con una concentración final de 1×10^5 esporas/mL para cada hongo fitopatógeno. El volumen calculado de cada suspensión fue incorporado a una botella con medio PDA

fundido, la cual se homogenizó cuidadosamente hasta obtener una distribución uniforme de las esporas. Posteriormente, el medio suplementado fue vertido en cajas metálicas estériles y se dejó solidificar.

Una vez solidificado el medio inoculado con el fitopatógeno, se extrajeron bloques cilíndricos de 6 mm de diámetro de los cultivos de hongos endófitos mediante un sacabocados estéril, tomando fragmentos de la zona de crecimiento activo del micelio. En el caso de las bacterias endófitas, se obtuvieron bloques cilíndricos a partir de las colonias desarrolladas en el medio de cultivo para su posterior enfrentamiento con los hongos fitopatógenos en las placas previamente preparadas.

Para la inoculación de las bacterias endófitas, los cilindros obtenidos a partir de las colonias se colocaron sobre la superficie del medio previamente solidificado e inoculado con el fitopatógeno, procurando que la zona de crecimiento quedara en contacto directo con el medio, con el fin de favorecer la difusión de los posibles metabolitos producidos. En el caso de los hongos endófitos, se extrajo previamente un bloque cilíndrico del medio solidificado, en cuyo orificio se depositó el cilindro correspondiente al aislamiento fúngico.

Adicionalmente, se preparó un control experimental mediante la adición de nistatin a una concentración final de 75 µg/mL, con el propósito de comparar la respuesta observada frente a un antifúngico comercial de referencia. Posteriormente, las cajas se incubaron a una temperatura de 25–28 °C durante 5 días.

La actividad biológica de los aislamientos se determinó mediante la medición del diámetro de las zonas de inhibición. La actividad biológica de los aislamientos se determinó mediante la medición del diámetro de las zonas de inhibición, expresado en milímetros. Posteriormente, los resultados fueron clasificados de forma cualitativa según el nivel de inhibición observado, de acuerdo con los criterios establecidos en la **Tabla 2**.

Tabla 2

Criterios de clasificación de la actividad inhibitoria según el diámetro del halo de inhibición

Diámetro del halo	Clasificación	Interpretación
0 mm	-	Sin actividad
< 10 mm	+	Actividad baja
10–20 mm	++	Actividad moderada
> 20 mm	+++	Actividad alta

Nota. La clasificación de la actividad inhibitoria se estableció en función del diámetro del halo de inhibición observado en el ensayo de difusión en agar. El signo “–” indica ausencia de actividad antagonista, mientras que los signos “+”, “++” y “+++” representan niveles crecientes de inhibición frente a los hongos fitopatógenos evaluados.

Posteriormente, los aislamientos bacterianos que presentaron actividad antagonista en la prueba preliminar fueron sometidos a una evaluación cuantitativa. La variable de respuesta fue el diámetro de la zona de inhibición del crecimiento micelial de cada hongo fitopatógeno, expresado en milímetros. Cada tratamiento fue evaluado con dos repeticiones. Para el análisis descriptivo, los diámetros de inhibición fueron expresados como media $\pm$ desviación estándar de las réplicas evaluadas. Para el análisis estadístico, se consideraron los valores individuales de cada réplica, con el fin de conservar la variabilidad experimental. Los datos fueron analizados mediante un diseño de bloques de doble vía, considerando como factores el aislado bacteriano y el hongo fitopatógeno evaluado. Posteriormente, se aplicó análisis de varianza y comparación de medias para identificar los aislamientos bacterianos con mayor espectro y capacidad de inhibición.

2.1.1.6. Caracterización bioquímica y fisiológica de los aislamientos

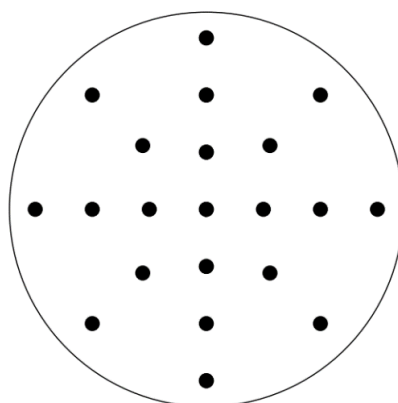
La actividad se complementó con un análisis de taxonomía numérica, cuyo propósito fue organizar y agrupar los aislados endófitos en función de su respuesta fisiológica y metabólica, siguiendo los principios descritos para la clasificación numérica aplicada a microbiología (**Sneath, 1973; Zhang et al., 2024**). Para este fin, cada aislado fue evaluado bajo un conjunto definido de condiciones experimentales.

En primer lugar, se determinó la capacidad de crecimiento de los aislados en cinco niveles de pH: 3,5; 4,5; 5,5; 6,5 y 7,5. Para ello, se empleó AN suplementados con un sistema amortiguador preparado a partir de ácido cítrico y fosfato disódico, enfoque ampliamente utilizado para estabilizar las condiciones de pH en medios microbianos (**Kumar et al., 2019**). El buffer fue incorporado directamente al medio antes de la esterilización, con el fin de asegurar la estabilidad del pH durante el periodo de incubación.

Una vez solidificado el agar, se inocularon 5 μ L de cada microorganismo. Los aislados se encontraban conservados en tubos Eppendorf con 1,2 mL de agua de llave estéril y fueron mantenidos en refrigeración hasta el momento del ensayo, siguiendo prácticas comunes de mantenimiento de cultivos microbianos a corto plazo. Posteriormente, se evaluó la tolerancia a la salinidad mediante la preparación de medios de cultivo suplementados con concentraciones de 5 % y 10 % de NaCl, lo que permitió discriminar la capacidad de crecimiento de los aislados bajo condiciones de estrés osmótico. Cada aislado fue inoculado bajo las mismas condiciones descritas previamente y se registró la presencia o ausencia de crecimiento, así como las posibles variaciones en la morfología colonial atribuibles a la presión osmótica. La disposición de las gotas se realizó manteniendo distancias iguales entre cada punto de inoculación, de manera que en cada caja se distribuyeron un total de 22 microorganismos, como se representa en la **Figura 2**. En cada sección se depositaron 5 μ L de muestra. Posteriormente, se dejó absorber la gota durante 10 minutos y las placas fueron llevadas a incubación bajo las condiciones previamente establecidas.

Figura 2

Distribución para el análisis de taxonomía numérica



Nota. Distribución de los aislados. Elaboración propia.

Además, se caracterizó la producción de enzimas extracelulares mediante la evaluación de la actividad celulolítica, amilolítica y quitinolítica. Para ello, se utilizaron medios diferenciales suplementados con los respectivos sustratos polisacáridos. Tras el periodo de incubación, se registró la formación de halos de degradación y la respuesta fue codificada como positiva o negativa para su posterior incorporación en el análisis numérico.

El perfil metabólico se complementó con la evaluación del uso de once aminoácidos como única fuente de carbono y nitrógeno. Los aminoácidos fueron añadidos individualmente a la composición de un medio basal, siguiendo metodologías clásicas de caracterización fisiológica. Sobre la superficie del medio se colocaron 5 µL de muestra, tanto de los aislados bacterianos como fúngicos. La presencia de crecimiento fue considerada como evidencia de utilización metabólica y se registró de forma dicotómica para su posterior análisis.

Una vez recopilados todos los datos, se construyó una matriz de caracteres en código binario, donde el valor cero indicó ausencia de un patrón común y el valor uno representó patrones idénticos o presencia de la característica evaluada. Esta matriz integró las respuestas obtenidas en los diferentes parámetros fisiológicos y metabólicos evaluados. A partir de ella, se calcularon los coeficientes de similitud entre aislados y se realizó un agrupamiento jerárquico mediante el método UPGMA, tal como se recomienda en análisis fenotípicos basados en taxonomía numérica (**Sneath, 1973**).

La información obtenida fue procesada mediante el entorno de software libre para análisis estadístico y generación de gráficos **R**, con el propósito de agrupar las observaciones de acuerdo con su similitud o distancia. En este software se generaron dendrogramas para visualizar las relaciones de proximidad entre los microorganismos, identificar grupos o clústeres fisiológicamente similares y priorizar aislados con combinaciones relevantes de tolerancia, versatilidad metabólica y potencial antagonista.

2.2.2. Optimización de las condiciones de expresión metabólica para la obtención de compuestos bioactivos

2.2.2.1. Selección de microorganismos antagónicos

A partir de los resultados obtenidos en la prueba preliminar de antagonismo, se seleccionaron aquellos aislados que presentaron mayor actividad inhibitoria y un espectro de acción amplio frente a *Fusarium* spp., *Botrytis* spp., *Phoma* spp. y *Alternaria* spp. Para esta etapa, la selección de los microorganismos se basó en bacterias endófitas que mostraron halos de inhibición consistentes, estabilidad en cultivo y adecuada capacidad de crecimiento en medios estándar.

Posteriormente, los datos correspondientes al diámetro de los halos de inhibición fueron analizados mediante un diseño en bloques de doble vía, considerando como factores principales el aislado bacteriano y el hongo fitopatógeno evaluado. Las réplicas experimentales fueron consideradas como bloques, con el fin de controlar la variabilidad asociada al ensayo. La variable respuesta correspondió al diámetro del halo de inhibición expresado en milímetros.

El análisis estadístico se realizó con el propósito de determinar la existencia de diferencias significativas entre los aislados bacterianos, los hongos fitopatógenos y la interacción entre ambos factores. Cuando se detectaron diferencias significativas, se aplicó la prueba de comparación de medias de Tukey con un nivel de significancia del 5 %, con la finalidad de identificar los aislados bacterianos que presentaron los mayores valores de inhibición.

Con base en los resultados obtenidos en el análisis estadístico y en la comparación de medias, se seleccionaron las dos bacterias con mejor desempeño antagónico. Estas bacterias constituyeron el banco de cepas seleccionadas para las etapas posteriores, en las cuales se optimizaron las condiciones de crecimiento y la expresión de metabolitos secundarios con potencial actividad inhibitoria frente a hongos fitopatógenos. A partir de esto se seleccionaron las dos mejores bacterias.

2.2.2.2. Reactivación y preparación del inóculo bacteriano

Una vez seleccionados los microorganismos antagónicos, se procedió a su reactivación en cajas Petri, empleando agar nutriente para bacterias. Las placas fueron incubadas a 26 °C, durante 24 horas para bacterias hasta evidenciar crecimiento suficiente para la preparación de los inóculos.

Para bacterias se preparó una suspensión madre, la cual fue preparada a partir de cultivos puros desarrollados previamente en cajas Petri. Para ello, la biomasa bacteriana visible fue recuperada con un asa estéril y transferida a un tubo que contenía 9 mL de diluyente estéril. Posteriormente, la suspensión fue homogeneizada mediante agitación hasta obtener una mezcla uniforme, la cual fue utilizada como punto de partida para la preparación de diluciones seriadas y la estimación de la concentración celular. A partir de la suspensión inicial, se realizaron diluciones seriadas decimales en diluyente estéril, desde 10^{-1} hasta 10^{-7} .

Para cada dilución, se transfirió 1 mL de la suspensión anterior a un tubo con 9 mL de diluyente estéril, homogenizando cuidadosamente después de cada transferencia. Posteriormente, se sembró un 100 µl de las diluciones seleccionadas sobre placas con agar nutriente, distribuyendo el inóculo de manera uniforme sobre la superficie del medio.

Las placas fueron incubadas bajo condiciones controladas de temperatura y tiempo. Finalizado el periodo de incubación, se seleccionaron aquellas placas que presentaron un rango contable de colonias. La concentración bacteriana de la suspensión madre fue expresada como unidades formadoras de colonias por mililitro mediante la relación entre el número de colonias, el factor de dilución y el volumen sembrado, de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\frac{UFC}{mL} = \frac{\text{Número de colonias}}{\text{diluición} * \text{volumen sembrado (mL)}}$$

A partir del recuento obtenido, se estimó una concentración final de la suspensión madre correspondiente a un valor de 1×10^8 UFC/mL. Con este valor, se procedió al ajuste del inóculo necesario para el cultivo en matraz, considerando un volumen final de 800 mL y una concentración final esperada de 1×10^5 UFC/mL. Para ello, se aplicó la fórmula de dilución:

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

Donde C_1 correspondió a la concentración de la suspensión madre, V_1 al volumen de suspensión madre requerido, C_2 a la concentración celular deseada en el matraz y V_2 al volumen final del cultivo

en el matraz. Este cálculo permitió determinar el volumen de suspensión bacteriana necesario para iniciar el crecimiento en caldo nutriente a partir de una concentración celular conocida y estandarizada.

El volumen de suspensión bacteriana calculado mediante la fórmula de dilución fue inoculado en matraces con un volumen final de trabajo de 800 mL. Para esta etapa se utilizaron las dos bacterias seleccionadas trabajadas como consorcio, el consorcio conto con cuatro réplicas, obteniéndose un total de cuatro matraces experimentales. Cada matraz contenía caldo nutriente como medio basal, empleado para favorecer el crecimiento y la producción de biomasa de bacterias no exigentes (**Hashmi et al., 2025**).

Una vez inoculados los matraces, los cultivos fueron incubados bajo condiciones controladas de temperatura y agitación. A partir de una concentración celular inicial conocida, se realizó el monitoreo del crecimiento bacteriano mediante recuento en placa en intervalos de tiempo definidos. Los datos obtenidos fueron expresados en UFC/mL y utilizados posteriormente para la elaboración de la curva de crecimiento de cada aislado bacteriano.

2.2.2.3. Determinación de la curva de crecimiento bacteriano

Las curvas de crecimiento bacteriano se realizaron mediante el seguimiento temporal de la concentración celular expresada como unidades formadoras de colonia por mililitro (UFC/mL) (**Pla et al., 2015**). Para ello, se inocularon los cultivos bacterianos a partir de una concentración inicial conocida de 10^5 UFC/mL en caldo nutriente y se incubaron a 26 °C durante todo el periodo de evaluación. Posteriormente, se tomaron muestras seriadas a diferentes tiempos de incubación, iniciando en el tiempo cero (T0), correspondiente al momento posterior a la inoculación. La siguiente muestra se obtuvo a las 8 h (T1) y, a partir de este punto, los muestreos se realizaron en intervalos seriados de 8h y 12 h hasta alcanzar el tiempo trece (T13), equivalente a 144 h de incubación.

En cada punto de muestreo se realizaron diluciones seriadas, de las cuales se seleccionaron tres diluciones de acuerdo con la densidad celular esperada para cada tiempo de incubación. De cada dilución seleccionada se sembraron 100 µL en placas con agar nutritivo, mediante la técnica de extensión en superficie. Posteriormente, las placas fueron incubadas bajo condiciones adecuadas para permitir el desarrollo de colonias bacterianas viables.

Para el cálculo de UFC/mL, se consideraron preferentemente las placas que presentaron un número de colonias dentro del rango contable establecido, comprendido entre 30 y 300 colonias **(Houchmandzadeh & Ballet, 2023)**. A partir del conteo obtenido, se calculó la concentración bacteriana correspondiente a cada tiempo evaluado. Finalmente, los valores fueron registrados en una matriz de datos, relacionando el tiempo de incubación con la concentración celular, con el propósito de construir las curvas de crecimiento bacteriano e identificar las fases características del desarrollo microbiano, como la fase de adaptación, fase exponencial, fase estacionaria y fase de declive.

La información obtenida permitió seleccionar el momento de incubación más adecuado para recuperar biomasa bacteriana activa y utilizarla posteriormente como inóculo en los medios de expresión metabólica.

2.2.2.4. Producción de biomasa bacteriana para la inoculación de medios de expresión

Con base en la información obtenida en las curvas de crecimiento, las bacterias seleccionadas fueron cultivadas en caldo nutriente con el propósito de obtener biomasa suficiente para la inoculación de los medios de expresión metabólica. Esta etapa permitió disponer de cultivos bacterianos activos y con una concentración celular adecuada antes de su transferencia a los matraces experimentales.

Los cultivos fueron incubados bajo condiciones controladas de temperatura y agitación hasta alcanzar un crecimiento suficiente. Posteriormente, la biomasa obtenida fue utilizada para inocular los matraces de 1,5 L que contenían las diferentes formulaciones de medios de cultivo diseñadas para favorecer la expresión metabólica.

2.2.2.5. Diseños de medios de cultivo para expresión metabólica

Para el diseño de los medios de cultivo destinados a la expresión metabólica, se consideraron las características fisiológicas y metabólicas obtenidas mediante la taxonomía numérica correspondiente al Objetivo 1. De manera particular, se tomó en cuenta la tolerancia de los

microorganismos al pH, con el fin de seleccionar una condición que permitiera su desarrollo y de manera paralela la obtención de compuestos bioactivos.

Con base en este criterio, se elaboró un medio de cultivo líquido orientado a la expresión de metabolitos en aislados bacterianos del género *Bacillus*, tomando como referencia el medio de la investigación realizada por **Grigs et al., (2023)** con modificaciones para expresión. Además, se consideraron aspectos relacionados con el costo, la disponibilidad de los insumos y la viabilidad de aplicación, por lo que se buscó emplear componentes económicos y de fácil acceso.

El medio base estuvo compuesto por harina de haba a una concentración de 10 g/L, extracto de levadura 0,5g/L, licor de maíz 1g/L y glucosa a 10 g/L. El pH del medio fue ajustado a 5,5, debido a que en esta condición se observó el desarrollo de los microorganismos seleccionados. La preparación se realizó en matraces con un volumen de trabajo de 1,5 L.

A partir del medio base se realizaron tres variaciones en su composición, obteniéndose un total de cuatro fórmulas de cultivo. Estas variaciones consistieron en la adición o eliminación de determinados componentes nutricionales, con el propósito de evaluar su posible efecto sobre la expresión metabólica de los aislados bacterianos, estas modificaciones se presentan en la **Tabla 3**. Todas las formulaciones fueron ajustadas al mismo valor de pH, correspondiente a 5,5, para mantener esta condición constante durante el ensayo.

Los matraces que contenían los medios de cultivo fueron esterilizados y preparados para su inoculación con los microorganismos seleccionados. Este diseño permitió comparar diferentes condiciones nutricionales bajo un mismo nivel de pH, con el fin de identificar la formulación más adecuada para favorecer la producción de metabolitos bioactivos con potencial actividad inhibitoria frente a hongos fitopatógenos.

Tabla 3

Composición de las formulaciones de medios de cultivo evaluadas para la expresión metabólica de BEC-12 y BEC-24

Componente	Fórmula 1	Fórmula 2	Fórmula 3	Fórmula 4
Harina de haba	10 g/L	10 g/L	10 g/L	10 g/L
Glucosa	10 g/L	10 g/L	10 g/L	—
Extracto de levadura	0,5 g/L	—	—	0,5 g/L
Peptona	0,5 g/L	—	—	—
Licor de maíz	1 g/L	1 g/L	—	—
pH	5,5	5,5	5,5	5,5
Volumen de trabajo	1,5 L	1,5 L	1,5 L	1,5 L

Nota. Las formulaciones fueron diseñadas a partir de un medio base de bajo costo, considerando la disponibilidad de los insumos y la tolerancia al pH de los aislados bacterianos seleccionados. El símbolo “—” indica ausencia del componente en la formulación. Elaboración propia.

Posteriormente, los compuestos bioactivos crudos obtenidos a partir de cada formulación fueron evaluados frente a los hongos fitopatógenos mediante el ensayo de inhibición del crecimiento radial micelial en medio PDA suplementado. Para ello, el compuesto bioactivo crudo fue incorporado al medio PDA antes de su solidificación. Una vez solidificado el medio, se inocularon 5 µL de una suspensión de esporas del patógeno, ajustada a una concentración de 1×10^5 esporas/mL.

La actividad antifúngica fue determinada mediante la comparación entre el diámetro de crecimiento micelial del control y el diámetro de crecimiento micelial observado en presencia del tratamiento. Para cada formulación y patógeno se consideraron cuatro réplicas experimentales (Hazarika et al., 2019). El porcentaje de inhibición micelial se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Porcentaje Inhibición micelial \%} = \frac{D_c - D_t}{D_c} \times 100$$

Donde D_c corresponde al diámetro de crecimiento del hongo en el control y D_t corresponde diámetro de crecimiento del hongo en el tratamiento. Los datos obtenidos fueron analizados mediante un diseño completamente al azar simple, aplicado de forma independiente para cada patógeno. Posteriormente, se realizó un análisis de varianza y, cuando se encontraron diferencias significativas, se aplicó la prueba de Tukey al 5 % de significancia, con el propósito de seleccionar la formulación con mayor actividad inhibitoria.

2.2.3. Estimación de la actividad antagónica frente a hongos fitopatógenos

2.2.3.1. Obtención del compuesto bioactivo crudo

La actividad antifúngica del compuesto bioactivo crudo fue evaluada a partir del extracto obtenido de la formulación que presentó el mejor desempeño inhibitorio en el diseño experimental previo. Esta formulación fue seleccionada con base en los resultados del porcentaje de inhibición micelial y la comparación estadística de medias mediante la prueba de Tukey al 5 % de significancia.

Una vez finalizado el periodo de incubación de los matraces correspondientes a la formulación seleccionada, se procedió a la recuperación del compuesto bioactivo crudo. Para ello, los matraces fueron mantenidos en reposo con el propósito de favorecer la decantación y precipitación de la biomasa presente en el caldo fermentado. Posteriormente, se tomó una muestra de la fracción líquida del cultivo, evitando en lo posible la remoción del material sedimentado. Con el fin de reducir la interferencia de células bacterianas viables durante la evaluación del efecto antifúngico, el compuesto bioactivo crudo fue incorporado al medio PDA con una dosis determinada de 5cc/L y suplementado con rifampicina. La adición de este antibiótico tuvo como propósito inhibir el crecimiento de bacterias residuales presentes en la muestra, permitiendo evaluar principalmente la actividad inhibitoria asociada a los metabolitos presentes en el caldo fermentado y no a la acción directa de la célula bacteriana viva.

2.2.3.2. Determinación de la actividad antifúngica del compuesto bioactivo

La actividad antifúngica del compuesto bioactivo crudo obtenido a partir de la formulación seleccionada fue evaluada mediante un ensayo de difusión en agar con disco de papel filtro impregnado. Este procedimiento permitió analizar la capacidad inhibitoria del extracto crudo sobre el desarrollo de hongos fitopatógenos, sin la participación directa de la célula bacteriana viva.

Para el ensayo, se utilizaron cajas Petri con medio PDA previamente esterilizado, suplementado con rifampicina y sulfato de estreptomicina, con el propósito de evitar el crecimiento de células bacterianas residuales presentes en el extracto crudo. Posteriormente, el medio fue inoculado con los hongos fitopatógenos seleccionados, correspondientes a *Fusarium* spp., *Botrytis* spp., *Phoma* spp. y *Alternaria* spp., a partir de suspensiones de esporas previamente estandarizadas.

Una vez inoculado el medio, discos estériles de papel filtro de 5 mm fueron impregnados con el compuesto bioactivo crudo y colocados en el centro de cada caja Petri. Las placas fueron incubadas bajo condiciones controladas de temperatura durante 144 h. Durante este periodo, se registró cada 24 h el diámetro del halo de inhibición formado alrededor del disco impregnado, como respuesta a la difusión del compuesto bioactivo en el medio y a su efecto sobre el crecimiento del hongo fitopatógeno. Los valores obtenidos fueron organizados por patógeno y tiempo de evaluación, con el fin de elaborar curvas de actividad inhibitoria y comparar el comportamiento de *Fusarium* spp., *Botrytis* spp., *Phoma* spp. y *Alternaria* spp. frente al compuesto bioactivo crudo. La actividad antifúngica fue determinada mediante la medición del halo de inhibición del crecimiento fúngico en milímetros y su comparación con el control correspondiente.

2.2.3.3. Determinación de sólidos totales

Uno de los parámetros físicos evaluados en la muestra del compuesto bioactivo crudo fue el contenido de sólidos totales. Esta determinación se realizó como etapa previa al secado por aspersión para este se siguió el proceso mencionado por **Tan et al., (2015)**. Se emplearon cápsulas previamente secadas en estufa al vacío a una temperatura entre 103 °C y 105 °C durante aproximadamente 30 min. Posteriormente, las cápsulas fueron enfriadas en un desecador a temperatura ambiente y pesadas en una balanza analítica hasta obtener peso constante, registrándose este valor como A. Luego, se adicionaron 25 mL del compuesto bioactivo crudo en cada cápsula y se llevaron nuevamente a la estufa, bajo las mismas condiciones de temperatura, durante 24 h. Transcurrido este tiempo, las cápsulas fueron retiradas, enfriadas en desecador y pesadas nuevamente. El peso de la cápsula con la muestra seca fue registrado como B. El contenido de sólidos totales fue calculado mediante la siguiente fórmula:

$$\frac{mg}{L} = \frac{((B - A) * 10^6)}{Volumen}$$

Donde A, corresponde al peso de la cápsula tarada y vacía en (g), B corresponde al peso de la cápsula + la muestra seca (g) y el volumen es la muestra líquida en (mL).

2.2.3.4. Concentración del compuesto bioactivo crudo

Posterior a la determinación de sólidos totales, el compuesto bioactivo crudo fue sometido a un proceso de concentración mediante rotaevaporación, con el propósito de reducir el volumen de la muestra y aumentar la proporción de compuestos presentes en la fracción líquida antes del proceso de microencapsulación. Para ello, el compuesto bioactivo crudo fue colocado en un balón de evaporación con un volumen de trabajo de 250 mL y procesado en un rotaevaporador bajo condiciones controladas de temperatura, presión reducida y rotación constante. El proceso se realizó a una temperatura de 70 °C.

El proceso se mantuvo hasta observar una reducción del volumen inicial del compuesto bioactivo crudo y la obtención de una muestra concentrada. Posteriormente, el concentrado fue recuperado en condiciones asépticas y almacenado en recipientes limpios, protegidos de la luz, hasta su utilización en la preparación de la mezcla con el agente encapsulante.

2.2.3.5. Procesamiento del compuesto bioactivo mediante secado por aspersión

El compuesto bioactivo crudo concentrado fue procesado mediante secado por aspersión, con el propósito de obtener un producto en polvo que facilitara su manipulación, conservación y posterior aplicación en los ensayos antifúngicos. Para este proceso se empleó maltodextrina como material de pared encapsulante, debido a su bajo costo, disponibilidad y eficiencia moderada-alta en procesos de microencapsulación de compuestos bioactivos (**Pudžiuvėlytė et al., 2025**). La maltodextrina fue incorporada al compuesto bioactivo crudo concentrado en una relación 20:80, 20 del extracto y 80 del polímero, considerando la proporción entre el material encapsulante y la muestra líquida. Previo a la preparación de la mezcla, se utilizó el valor de sólidos totales determinado en la muestra, con el fin de calcular la cantidad exacta de polímero requerida para el proceso de microencapsulación. Luego, la mezcla fue homogenizada hasta obtener una suspensión uniforme, evitando la presencia de grumos o separación de fases antes de su ingreso al equipo. La alimentación fue procesada en el secador por

aspersión bajo condiciones controladas, empleando una temperatura de entrada de 150 °C y una temperatura de salida de 80 °C.

Durante el proceso, la suspensión fue atomizada en forma de pequeñas gotas dentro de una corriente de aire caliente, lo que permitió la evaporación rápida y la formación de partículas secas. El polvo microencapsulado obtenido fue recuperado del colector del equipo y almacenado en recipientes limpios, secos y protegidos de la luz, hasta su posterior caracterización y evaluación antifúngica. Posteriormente, el compuesto microencapsulado fue analizado mediante espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier. Para ello, se obtuvieron los espectros del compuesto bioactivo crudo, de la maltodextrina y del producto microencapsulado, los cuales fueron superpuestos para su comparación.

2.2.3.6. Evaluación de dosis del compuesto microencapsulado

La capacidad antifúngica del compuesto bioactivo microencapsulado fue evaluada a diferentes dosis, con el propósito de identificar la concentración con mayor efecto inhibitorio frente a los hongos fitopatógenos seleccionados. Para este ensayo se trabajó con tres dosis del producto microencapsulado: 0,1 g, 0,5 g y 1 g. Cada dosis fue incorporada al medio PDA antes de su solidificación, procurando una distribución homogénea del compuesto microencapsulado en el medio. Una vez solidificado, se inocularon en el centro de cada caja Petri 5 µL de una suspensión de esporas de cada patógeno, ajustada a una concentración de 1×10^5 esporas/mL. Las placas fueron incubadas a 28 °C durante 5 días. Transcurrido el periodo de incubación, se evaluó el crecimiento micelial de los hongos fitopatógenos en presencia de cada dosis del compuesto microencapsulado y se comparó con el control correspondiente.

Los datos obtenidos fueron analizados mediante un diseño completamente al azar, considerando como factor de estudio la dosis del compuesto microencapsulado y como variable respuesta el crecimiento micelial, a partir del cual se estimó el porcentaje de inhibición micelial. El análisis se realizó de forma independiente para cada patógeno. Posteriormente, se aplicó un análisis de varianza y, cuando se encontraron diferencias significativas, se utilizó la prueba de Tukey al 5 % de significancia, con el propósito de identificar la dosis con mayor capacidad inhibitoria frente a cada hongo fitopatógeno.

CAPÍTULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Análisis y discusión de los resultados

El desarrollo de esta investigación permitió obtener resultados significativos en la obtención de compuestos bioactivos de origen microbiológico, con el fin de controlar hongos fitopatógenos de relevancia agrícola. A través del aislamiento y la caracterización macroscópica y microscópica de microorganismos endófitos, se identificaron diversas bacterias y hongos con una destacada capacidad para producir compuestos bioactivos dirigidos a la inhibición de hongos fitopatógenos. Estos hallazgos ponen de manifiesto el gran potencial de los microorganismos endófitos aislados de plantas medicinales, como fuentes naturales de compuestos bioactivos que podrían ser utilizados como alternativas efectivas en el control biológico de patógenos agrícolas, así como en la protección de cultivos de alta prioridad.

3.1.1. Identificación de microorganismos endófitos presentes en plantas medicinales del Oriente Ecuatoriano

3.1.1.1. Aislamiento de los microorganismos endófitos

Para la identificación y organización de las muestras vegetales recolectadas, se asignaron códigos específicos a cada planta, utilizando una nomenclatura alfanumérica del tipo AMJ-000. A partir del proceso de desinfección superficial, aislamiento primario y purificación de los microorganismos endófitos, se obtuvo un banco microbiano conformado por un total de 104 aislados, de los cuales 43 correspondieron a bacterias y 61 a hongos, la distribución de los microorganismos endófitos respecto a la planta que fueron aislados se presenta en la **Tabla 4**. En términos porcentuales, los hongos representaron el grupo predominante dentro del banco microbiano, con un 58,65 %, mientras que las bacterias constituyeron el 41,35 %.

Los aislados fueron catalogados según su naturaleza microbiana. Las bacterias fueron identificadas mediante el código BEC-000, mientras que los hongos fueron registrados con el código HEC-000. Esta codificación permitió organizar el banco de microorganismos endófitos y facilitar su posterior caracterización macroscópica, microscópica y evaluación de actividad antagónica frente a hongos fitopatógenos.

Tabla 4

Distribución de microorganismos endófitos aislados de plantas medicinales del Oriente ecuatoriano

Planta medicinal	Nombre común	Bacterias aisladas	Hongos aislados	Total de microorganismos	Porcentaje respecto al total
<i>Croton lechleri</i>	Sangre de drago	9	5	14	13,46%
<i>Syzygium aromaticum</i>	Clavo de olor	3	9	12	11,54%
<i>Cinnamomum verum</i>	Canela	9	20	29	27,88%
<i>Dulcamara</i> spp.	Dulcamara	11	5	16	15,38%
<i>Ilex guayusa</i>	Guayusa	11	22	33	31,73%
Total	—	43	61	104	100,00%

Nota. La tabla muestra la distribución de bacterias y hongos endófitos aislados de cinco plantas medicinales del Oriente ecuatoriano. La planta medicinal con mayor número de microorganismos endófitos aislados fue *Ilex guayusa*, con 33 aislados, equivalente al 31,73 % del total. Le siguió *Cinnamomum verum*, con 29 aislados, correspondiente al 27,88 %. En contraste, *Syzygium aromaticum* presentó el menor número de microorganismos recuperados, con 12 aislados, lo que representó el 11,54 % del banco microbiano total.

Los resultados evidencian una distribución heterogénea de microorganismos endófitos entre las plantas medicinales evaluadas. *Ilex guayusa* presentó la mayor recuperación de aislados, con 33 microorganismos, seguida de *Cinnamomum verum*, con 29 aislados. Esta diferencia podría estar relacionada con las características propias de cada especie vegetal, la composición química de sus tejidos, el tipo de metabolitos presentes y la capacidad de cada planta para albergar comunidades endófitas diversas. En contraste, *Syzygium aromaticum* presentó el menor número de microorganismos aislados, lo cual podría asociarse con la presencia de compuestos bioactivos de naturaleza antimicrobiana que limitarían la colonización o recuperación de ciertos microorganismos bajo las condiciones de aislamiento empleadas.

En este estudio, la mayor cantidad de aislados recuperados en *I. guayusa* podría relacionarse con la disponibilidad de nichos internos favorables para la colonización microbiana. Esta especie ha sido reportada como una planta rica en metabolitos secundarios, entre ellos alcaloides xantínicos, terpenos y compuestos fenólicos, los cuales podrían influir en la selección de comunidades microbianas asociadas (Noriega et al., 2025). Por otro lado, *S. aromaticum* presentó el menor número de

microorganismos recuperados, lo cual puede estar relacionado con la presencia de compuestos fenólicos con actividad antimicrobiana, especialmente eugenol, componente ampliamente asociado con la actividad antimicrobiana del clavo de olor (**Batiha et al., 2020**). Es así como la menor recuperación de endófitos en esta planta no necesariamente indica ausencia de un microbiota interno, sino que podría reflejar una mayor selectividad del hospedero.

En cuanto al origen tisular de los aislados bacterianos, la mayor recuperación se obtuvo a partir de hojas y tallos, con 18 aislados cada uno, equivalentes al 41,86 % respectivamente. En menor proporción, se recuperaron bacterias a partir de corteza, con 5 aislados, correspondiente al 11,63 %, mientras que el tronco presentó la menor recuperación, con 2 aislados, equivalente al 4,65 %. Esta distribución sugiere que hojas y tallos constituyeron los tejidos con mayor presencia de bacterias endófitas cultivables bajo las condiciones evaluadas. Este comportamiento puede asociarse con la mayor actividad fisiológica de estos órganos, su relación directa con procesos de intercambio gaseoso, transporte de nutrientes y exposición ambiental, factores que pueden favorecer la entrada, establecimiento y persistencia de microorganismos endófitos.

De forma complementaria, la ubicación geográfica y la estacionalidad representan factores determinantes en el aislamiento de microorganismos endófitos, ya que condicionan su distribución y abundancia en los tejidos de la planta hospedera. En este sentido, se ha reportado que las fluctuaciones estacionales pueden influir en el crecimiento, colonización y presencia de comunidades endófitas asociadas a plantas medicinales (**Duhan et al., 2020**).

Como parte de la evaluación del potencial antagonista de los microorganismos endófitos aislados, también se realizaron pruebas preliminares con hongos endófitos frente a los hongos fitopatógenos seleccionados. Sin embargo, a diferencia de lo observado en algunos aislamientos bacterianos, los hongos endófitos evaluados no presentaron halos de inhibición claros ni zonas definidas de restricción del crecimiento micelial. En **Figura 3** se evidenció un crecimiento fúngico abundante y superpuesto, sin una separación visible entre el crecimiento del aislamiento endófito y el fitopatógeno, lo que dificultó la identificación de una respuesta antagonista directa.

Figura 3

Evaluación preliminar de la actividad inhibitoria de hongos endófitos frente a hongos fitopatógeno.



Nota. La imagen muestra el crecimiento de aislamientos fúngicos endófitos durante la evaluación preliminar de actividad inhibitoria frente a hongos fitopatógenos. No se observaron halos claros de inhibición ni zonas definidas de restricción del crecimiento micelial, por lo que no se evidenció una respuesta inhibitoria observable bajo las condiciones experimentales evaluadas.

Este resultado no indica ausencia de potencial bioactivo en los hongos endófitos, ya que su actividad antagonista puede expresarse mediante distintos mecanismos, entre ellos competencia por espacio y nutrientes, antibiosis, micoparasitismo, producción de compuestos volátiles o inducción de respuestas de defensa en la planta hospedera (**Rajani et al., 2021**). Algunos de estos mecanismos no siempre generan halos visibles en agar, especialmente cuando la interacción ocurre por contacto micelial, metabolitos volátiles o procesos dependientes del hospedero vegetal. En este sentido, se ha descrito que el antagonismo de hongos endófitos contra fitopatógenos puede involucrar competencia, antibiosis, micoparasitismo, compuestos orgánicos volátiles e inducción de resistencia, por lo que la ausencia de un halo no descarta otros mecanismos de interacción biológica (**Adeleke et al., 2022**).

Además, la producción de metabolitos secundarios por hongos endófitos puede estar condicionada por el medio de cultivo, la disponibilidad de nutrientes, el tiempo de incubación, la interacción con otros microorganismos y el estado fisiológico del aislamiento (**Pillay et al., 2022**). Diversos estudios señalan que muchos grupos biosintéticos pueden permanecer silenciados bajo condiciones estándar de laboratorio y que estrategias como OSMAC, cocultivo o modificaciones del medio pueden activar rutas metabólicas no expresadas inicialmente (**Pan et al., 2019b**). Por ello, es

posible que las condiciones empleadas en el presente ensayo no hayan favorecido la síntesis o difusión de metabolitos antifúngicos en concentraciones suficientes para producir una zona de inhibición visible.

3.1.1.2. Caracterización macroscópica y microscópica.

Durante la caracterización macroscópica de los aislados bacterianos, se observó variabilidad en las características coloniales evaluadas, principalmente en la forma, borde, elevación, tinción, superficie y tamaño de las colonias. Esta diversidad morfológica permitió diferenciar preliminarmente los aislados bacterianos y evidenció la presencia de distintos tipos dentro del banco microbiano. De manera general, las colonias presentaron diferencias visibles en su pigmentación, textura y aspecto superficial, lo que facilitó su organización para los análisis posteriores. Se analizaron tres criterios fenotípicos principales: tinción de Gram, morfología celular y presencia de endosporas. Estos parámetros permitieron describir de manera preliminar la composición del banco bacteriano endófito y reconocer los rasgos predominantes. La distribución de estas características se presenta en la **Tabla 5**.

Tabla 5

Características microscópicas de bacterias endófitas aisladas

Característica evaluada	Categoría observada	Número de aislados	Porcentaje
Tinción de Gram	Gram positivas	31	72,09 %
Tinción de Gram	Gram negativas	12	27,91 %
Total	-	43	100 %
Morfología celular	Bacilos	31	72,09 %
Morfología celular	Cocos	12	27,91 %
Total	-	43	100 %
Endosporas	Presencia	29	67,44 %
Endosporas	Ausencia	14	32,56 %
Total	-	43	100 %

Nota. La tabla muestra la distribución de los aislados bacterianos según tinción de Gram, morfología celular y presencia de endosporas. Los porcentajes fueron calculados con base en el total de bacterias endófitas aisladas, correspondiente a 43 aislados.

La caracterización microscópica de los aislados bacterianos evidenció una predominancia de bacterias Gram positivas, con 31 aislados, equivalentes al 72,09 % del total, mientras que las bacterias Gram negativas representaron el 27,91 %, con 12 aislados. En cuanto a la morfología celular, las formas bacilares fueron predominantes, con 31 aislados, lo que representó el 72,09 % del banco bacteriano, mientras que los cocos se registraron en 12 aislados, equivalentes al 27,91 %. Además, se observó la presencia de endosporas en 29 aislados bacterianos, correspondiente al 67,44 %, mientras que 14 aislados no presentaron esta estructura.

La predominancia de bacterias Gram positivas, bacilares y formadoras de endosporas sugiere que una mayor proporción del banco bacteriano podría estar asociada con géneros esporulados, posiblemente relacionados con *Bacillus* y otros grupos afines. Este resultado se correlaciona con estudios en donde se menciona que especies del género *Bacillus* son comúnmente reportadas como bacterias endófitas con capacidad de colonizar tejidos vegetales y participar en mecanismos de promoción del crecimiento vegetal y biocontrol (Nicholson, 2002).

La mayor frecuencia de bacilos Gram positivos, en comparación con cocos y bacterias Gram negativas, podría estar relacionada con la resistencia fisiológica que presentan estos microorganismos durante los procesos de desinfección superficial, aislamiento y cultivo. En particular, las bacterias esporuladas poseen la capacidad de formar endosporas, estructuras de resistencia que les permiten sobrevivir frente a condiciones ambientales desfavorables, como desecación, limitación de nutrientes, variaciones de temperatura y otros factores de estrés (Biermann & Beutel, 2023). Posteriormente, bajo condiciones favorables de cultivo, estas endosporas pueden germinar y dar origen a células vegetativas, lo que favorece su recuperación en medios artificiales frente a otros grupos bacterianos más sensibles.

3.1.1.3. Evaluación de la actividad antagonista de los microorganismos endófitos mediante difusión en agar frente a hongos fitopatógenos

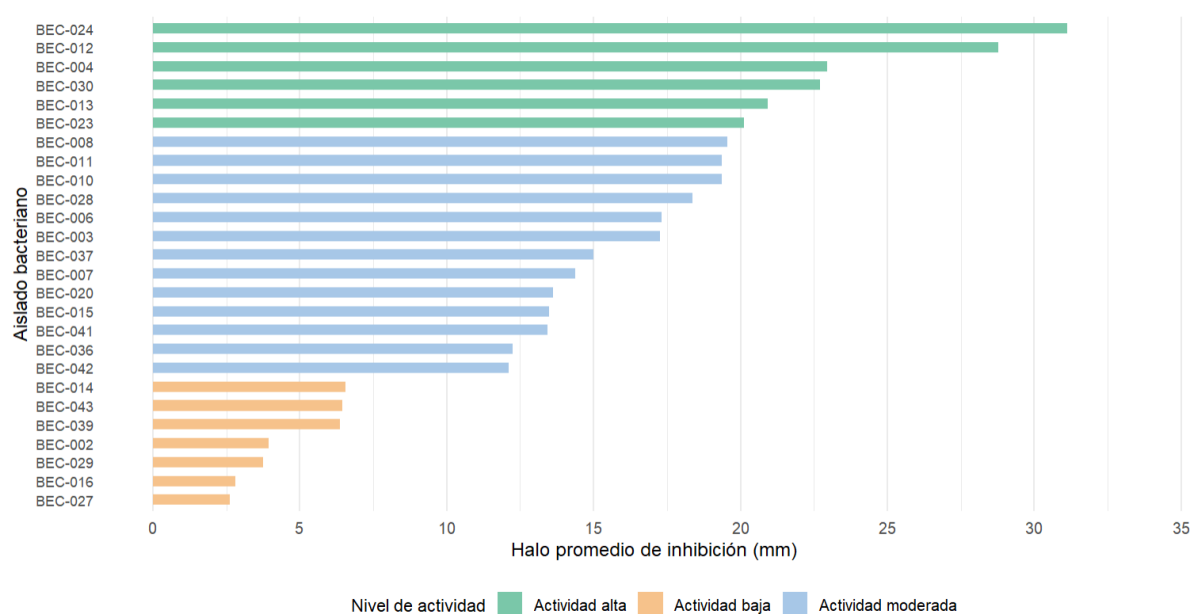
Como parte de la evaluación preliminar de la actividad antagonista, los 43 aislados bacterianos endófitos fueron analizados mediante difusión en agar frente a los hongos fitopatógenos *Botrytis* spp., *Alternaria* spp., *Fusarium* spp. y *Phoma* spp. La selección de los aislados con potencial antifúngico se basó en la presencia de halos de inhibición frente a al menos uno de los patógenos evaluados. Como control antifúngico se empleó nistatina a una concentración final de 75 µg/mL, lo que permitió comparar

la respuesta inhibitoria de los aislados endófitos con un compuesto de referencia de actividad antifúngica conocida.

En la evaluación in vitro, 26 de los 43 aislados bacterianos evaluados presentaron actividad inhibitoria frente a al menos uno de los hongos fitopatógenos, lo que representa el 60,47 % del total. Los aislados con actividad fueron BEC-002, BEC-003, BEC-004, BEC-006, BEC-007, BEC-008, BEC-010, BEC-011, BEC-012, BEC-013, BEC-014, BEC-015, BEC-016, BEC-020, BEC-023, BEC-024, BEC-027, BEC-028, BEC-029, BEC-030, BEC-036, BEC-037, BEC-039, BEC-041, BEC-042 y BEC-043, El ranking de los aislados bacterianos con actividad inhibitoria, calculado a partir del halo promedio general de inhibición, se presenta en la **Figura 4**. Por el contrario, 17 aislados, equivalentes al 39,53 %, no mostraron actividad inhibitoria bajo las condiciones evaluadas.

Figura 4

Ranking general de bacterias endófitas según halo promedio de inhibición



Nota. Elaboración propia. La figura muestra el halo promedio general de inhibición de los aislados bacterianos que presentaron actividad frente a al menos uno de los hongos fitopatógenos evaluados. Los colores representan la clasificación de la actividad inhibitoria de acuerdo con el diámetro promedio del halo: actividad baja, moderada y alta.

Posteriormente, los aislados bacterianos que presentaron actividad inhibitoria fueron analizados cuantitativamente mediante el diámetro del halo de inhibición, expresado en milímetros. Los datos obtenidos permitieron comparar la respuesta antagonista de cada aislado frente a los diferentes hongos

fitopatógenos evaluados e identificar aquellos con mayor capacidad inhibitoria y mayor espectro de acción. El análisis estadístico evidenció diferencias significativas entre los aislados bacterianos evaluados, lo que indica que la capacidad inhibitoria no fue homogénea entre las cepas. Asimismo, la respuesta varió según el hongo fitopatógeno, lo que sugiere una interacción diferencial entre bacteria y patógeno, estos resultados se presentan en la **Tabla 6**.

Tabla 6

Análisis de varianza del diámetro del halo de inhibición de bacterias endófitas frente a hongos fitopatógenos

Fuente de variación	gl	SC	CM	F	p-valor
Tratamiento	42	60101,557	1430,989	2261,367	< 0,001
Patógeno	3	7343,798	2447,933	3868,424	< 0,001
Réplica	3	2,160	0,720	1,138	0,332
Tratamiento × Patógeno	126	15249,454	121,027	191,257	< 0,001
Error	513	324,626	0,633	—	—

Nota. gl = grados de libertad; SC = suma de cuadrados; CM = cuadrado medio; F = estadístico F. Se consideraron diferencias significativas cuando $p < 0,05$.

El análisis de varianza evidenció diferencias significativas entre los tratamientos bacterianos evaluados ($p < 0,001$), lo que indica que los aislados endófitos no presentaron la misma capacidad inhibitoria frente a los hongos fitopatógenos. Asimismo, se observaron diferencias significativas entre los patógenos evaluados ($p < 0,001$), sugiriendo que la sensibilidad a la inhibición varió entre *Botrytis* spp., *Alternaria* spp., *Fusarium* spp. y *Phoma* spp. La interacción Tratamiento × Patógeno también fue significativa ($p < 0,001$), lo cual indica que la actividad antagonista de cada bacteria dependió del hongo fitopatógeno enfrentado. Por otro lado, el efecto de la réplica no fue significativo ($p = 0,332$), lo que sugiere estabilidad entre las repeticiones experimentales.

La comparación de medias mediante la prueba de Tukey permitió identificar diferencias en la actividad inhibitoria de los aislados bacterianos frente a cada hongo fitopatógeno. La tabla completa de comparación de medias se presenta en el (**Anexo 2**). En *Alternaria* spp., los aislados BEC-012 y BEC-024 presentaron los mayores halos promedio de inhibición, ambos con 30,75 mm, ubicándose en el

grupo estadístico superior. Para *Botrytis* spp., BEC-024 y BEC-012 también se agruparon en la categoría estadística “a”, con halos promedio de 34,00 y 32,84 mm, respectivamente. En el caso de *Fusarium* spp. y *Phoma* spp., BEC-024 fue el único aislado ubicado en el grupo estadístico superior, con halos promedio de 28,00 y 31,75 mm, respectivamente. Estos resultados evidencian que BEC-024 presentó el mayor espectro de actividad antagonista, al mantener una respuesta inhibitoria alta frente a los cuatro hongos fitopatógenos evaluados.

Tabla 7

Aislados bacterianos con mayor actividad inhibitoria frente a cada hongo fitopatógeno según la prueba de Tukey

Hongo fitopatógeno	Bacterias con mayor actividad inhibitoria	Halo promedio de inhibición	Grupo estadístico
<i>Alternaria</i> spp.	BEC-012 y BEC-024	30,75 mm	a
<i>Botrytis</i> spp.	BEC-024 y BEC-012	34,00 y 32,84 mm, respectivamente	a
<i>Fusarium</i> spp.	BEC-024	28,00 mm	a
<i>Phoma</i> spp.	BEC-024	31,75 mm	a

Nota. Los valores corresponden al halo promedio de inhibición expresado en milímetros. Letras iguales dentro de cada hongo fitopatógeno indican que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos incluidos en el grupo superior, según la prueba de Tukey con $p < 0,05$.

La alta actividad inhibitoria observada en BEC-024 frente a los cuatro hongos fitopatógenos evaluados sugiere que este aislado posee un amplio espectro de acción antifúngica. Este comportamiento resulta especialmente relevante, ya que los antagonistas microbianos con capacidad de inhibir diferentes patógenos son de interés para el desarrollo de estrategias de biocontrol. En bacterias endófitas del género *Bacillus*, la actividad antifúngica ha sido asociada con la producción de metabolitos secundarios, principalmente lipopéptidos como iturinas, fengicinas y surfactinas, los cuales pueden alterar la membrana celular fúngica, afectar el crecimiento micelial e inhibir el desarrollo de fitopatógenos (Hazarika et al., 2019).

La interacción significativa Tratamiento $\times$ Patógeno confirma que la respuesta inhibitoria dependió tanto del aislado bacteriano como del hongo evaluado. Esto significa que no todas las bacterias

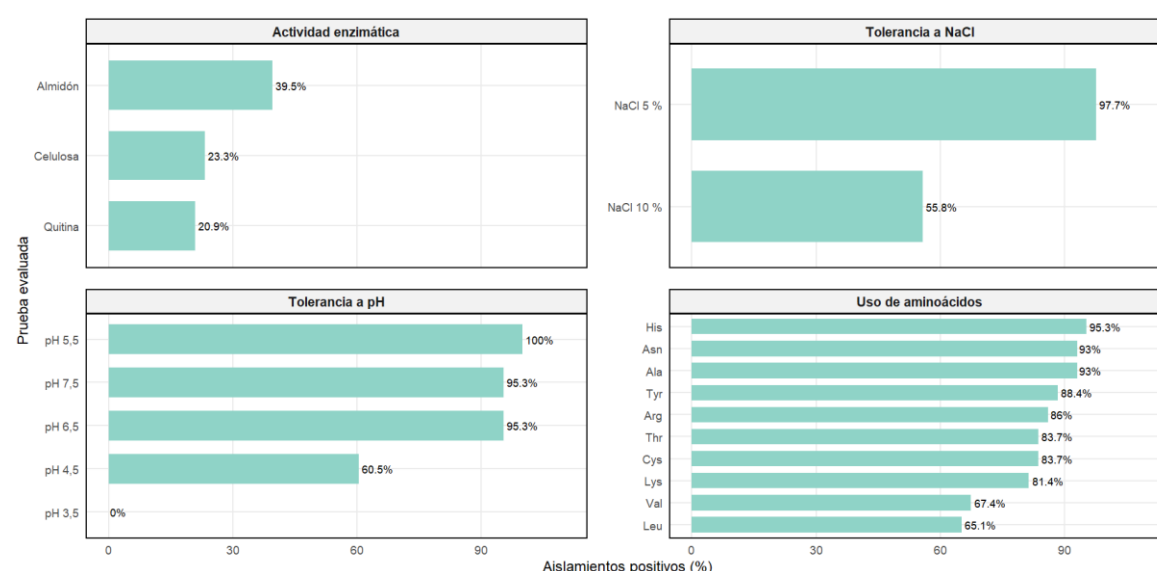
tuvieron el mismo comportamiento frente a todos los patógenos, y que la sensibilidad de *Alternaria* spp., *Botrytis* spp., *cel* spp. y *Phoma* spp. fue diferente. Por ello, la selección de BEC-024 como aislado destacado se justifica no solo por los mayores halos promedio, sino también por su capacidad de mantener una actividad alta frente a los cuatro hongos evaluados.

3.1.1.4. Caracterización bioquímica y fisiológica de los aislamientos

La caracterización bioquímica y fisiológica de los aislamientos bacterianos endófitos permitió complementar la descripción macroscópica y microscópica previamente realizada, aportando información sobre su capacidad de adaptación a distintas condiciones ambientales y su potencial metabólico. Para ello, se evaluó el crecimiento bacteriano bajo diferentes valores de pH, concentraciones de NaCl, utilización de aminoácidos y producción de enzimas extracelulares como celulasa, amilasa y quitinasa. Los resultados observados en la **Figura 5** fueron expresados como porcentaje de aislamientos positivos considerando como respuesta positiva el crecimiento.

Figura 5

Características bioquímicas y fisiológicas de aislamientos bacterianos endófitos



Nota. Las barras representan el porcentaje de aislamientos bacterianos endófitos que presentaron respuesta positiva en cada prueba evaluada. Las características analizadas incluyeron tolerancia a pH, tolerancia a NaCl, utilización de aminoácidos y actividad enzimática extracelular. Los porcentajes fueron calculados con base en el total de aislamientos bacterianos evaluados.

En relación con la tolerancia al pH, se observó que el 100 % de los aislamientos presentó crecimiento a pH 5,5, mientras que el 95,3 % creció a pH 6,5 y 7,5. En contraste, a pH 4,5 el porcentaje de aislamientos positivos disminuyó a 60,5 %, y no se evidenció crecimiento a pH 3,5. Estos resultados indican que la mayoría de los aislamientos presentó mejor adaptación a condiciones ligeramente ácidas, neutras o cercanas a la neutralidad, mientras que la acidez extrema limitó el crecimiento bacteriano.

Respecto a la tolerancia salina, el 97,7 % de los aislamientos mostró crecimiento en presencia de NaCl al 5 %, mientras que el 55,8 % logró crecer a NaCl al 10 %. Este comportamiento sugiere que una proporción importante de las bacterias endófitas evaluadas posee tolerancia moderada al estrés osmótico, sin embargo, el incremento de la concentración salina redujo la frecuencia de aislamientos capaces de desarrollarse bajo esta condición.

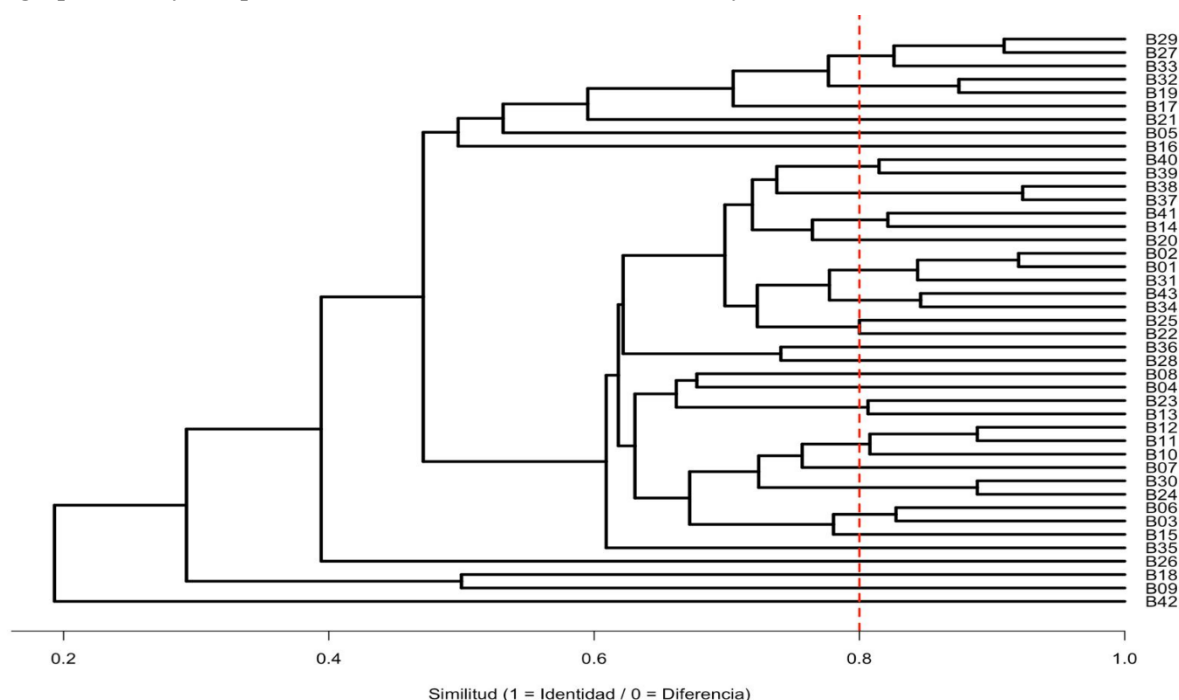
En cuanto a la utilización de aminoácidos, se evidenció una respuesta positiva elevada para la mayoría de los sustratos evaluados. Los mayores porcentajes se observaron en histidina, asparagina y alanina, con valores superiores al 90 %, seguidos de tirosina, arginina, treonina, cisteína y lisina. Por otro lado, leucina y valina presentaron porcentajes menores, aunque todavía superiores al 60 %. Esto refleja una amplia capacidad metabólica de los aislamientos para utilizar fuentes orgánicas de nitrógeno, lo cual puede estar asociado con su adaptación al ambiente interno de los tejidos vegetales.

La actividad enzimática extracelular presentó porcentajes más bajos en comparación con las pruebas de tolerancia fisiológica y utilización de aminoácidos. La hidrólisis de almidón fue positiva en el 39,5 % de los aislamientos, mientras que la degradación de celulosa y quitina se observó en el 23,3 % y 20,9 %, respectivamente. Estos resultados sugieren que solo una fracción de los aislamientos posee capacidad para producir enzimas hidrolíticas relacionadas con la degradación de polisacáridos estructurales o de reserva, característica que puede ser relevante para procesos de colonización endófitas, obtención de nutrientes y posible interacción con hongos fitopatógenos.

Con el propósito de integrar la información obtenida durante la caracterización macroscópica, microscópica, bioquímica y fisiológica, se realizó un análisis de agrupamiento mediante taxonomía numérica. Este análisis permitió comparar los perfiles fenotípicos de los aislamientos bacterianos endófitos a partir de una matriz binaria, en la cual se registró la presencia o ausencia de cada característica evaluada. De esta manera, la **Figura 6** permitió visualizar el grado de similitud entre los aislamientos y reconocer grupos fenotípicos con características compartidas.

Figura 6

Agrupamiento fenotípico de los aislamientos bacterianos endófitos mediante taxonomía numérica.



Nota. El dendrograma representa el agrupamiento de los aislamientos bacterianos endófitos con base en caracteres morfológicos, microscópicos, bioquímicos y fisiológicos codificados de forma binaria. La similitud entre aislamientos fue estimada mediante taxonomía numérica, permitiendo identificar grupos fenotípicos con características metabólicas compartidas. El punto de corte establecido en el coeficiente de similitud de 0,80 permitió identificar los principales grupos fenotípicos.

El dendrograma evidenció una marcada diversidad fenotípica entre los aislamientos bacterianos endófitos evaluados. Al establecer el punto de corte en el coeficiente de similitud de 0,80, los aislamientos se organizaron en 29 grupos fenotípicos principales, lo que indica que la colección bacteriana no presentó un comportamiento homogéneo. Por el contrario, se observaron diferentes agrupaciones con distintos grados de similitud, reflejando variaciones en sus características morfológicas, fisiológicas y bioquímicas.

La formación de varios grupos fenotípicos sugiere que los aislamientos poseen perfiles metabólicos diversos. Esta diversidad puede estar relacionada con diferencias en la tolerancia a condiciones de pH, crecimiento en presencia de NaCl, utilización de aminoácidos y producción de enzimas extracelulares. En este sentido, los aislamientos que se agruparon con mayor similitud probablemente comparten características funcionales semejantes, mientras que aquellos ubicados en ramas más separadas del dendrograma presentan perfiles fenotípicos más diferenciados.

Esta variabilidad resulta relevante, ya que los microorganismos endófitos colonizan la endosfera vegetal, un ambiente interno que no es homogéneo y que puede diferir entre raíces, tallos, hojas u otros tejidos. De acuerdo con **Liu et al., (2017)**, los diferentes órganos vegetales pueden albergar comunidades endófitas bacterianas distintas en composición y diversidad. Estas diferencias pueden estar asociadas con la disponibilidad de nutrientes, las condiciones fisicoquímicas del tejido, el estado fisiológico de la planta y las interacciones con otros microorganismos. Es así como, la presencia de diferentes grupos dentro del dendrograma podría reflejar la adaptación de los aislamientos a distintos microambientes de la planta hospedera.

3.1.2. Establecimiento de las condiciones de expresión metabólica para la obtención de compuestos bioactivos

3.1.2.1. Selección de microorganismos antagónicos

A partir de los resultados obtenidos en la evaluación de la actividad antagonista frente a hongos fitopatógenos, se seleccionaron los aislados bacterianos BEC-024 y BEC-012 para continuar con el establecimiento de las condiciones de expresión metabólica. La selección de estos microorganismos se basó en su capacidad inhibitoria frente a los patógenos evaluados, considerando tanto el diámetro promedio de los halos de inhibición como el espectro de acción observado.

El aislado BEC-024 presentó la mayor actividad inhibitoria general, destacándose frente a los cuatro hongos fitopatógenos evaluados. Este aislado mostró halos promedio de 34,00 mm frente a *Botrytis* spp., 31,75 mm frente a *Phoma* spp., 30,75 mm frente a *Alternaria* spp. y 28,00 mm frente a *Fusarium* spp., ubicándose en el grupo estadístico superior según la prueba de Tukey. Por otro lado, BEC-012 también fue seleccionado debido a su alta capacidad inhibitoria frente a varios de los patógenos evaluados. Este microorganismo presentó halos promedio de 30,75 mm frente a *Alternaria* spp. y 32,84 mm frente a *Botrytis* spp., ubicándose igualmente dentro del grupo estadístico superior para estos hongos.

Considerando el desempeño individual de BEC-024 y BEC-012, ambos aislados fueron seleccionados para el establecimiento de un cocultivo bacteriano orientado a favorecer la expresión metabólica de compuestos bioactivos. Esta estrategia se fundamenta en que la interacción entre

microorganismos puede estimular respuestas metabólicas que no siempre se expresan en cultivos individuales.

En este sentido, el cocultivo puede promover una interacción complementaria entre los aislados, en la cual cada bacteria podría contribuir mediante la producción de metabolitos, señales químicas o mecanismos de competencia que favorezcan la actividad inhibitoria frente a hongos fitopatógenos (Luu et al., 2021).

Debido al potencial antagonista observado en los aislados seleccionados, BEC-024 y BEC-012 fueron enviados a un laboratorio externo para su identificación mediante espectrometría de masas MALDI-TOF MS. Como resultado, BEC-024 fue identificado como *Bacillus subtilis*, con un score de 2,05, mientras que BEC-012 fue identificado como *Bacillus velezensis*, con un score de 2,01 (**Anexo 3**). Estos resultados complementaron la caracterización fenotípica preliminar y permitieron respaldar la selección de ambos aislados para las etapas posteriores de expresión metabólica y obtención de compuestos bioactivos.

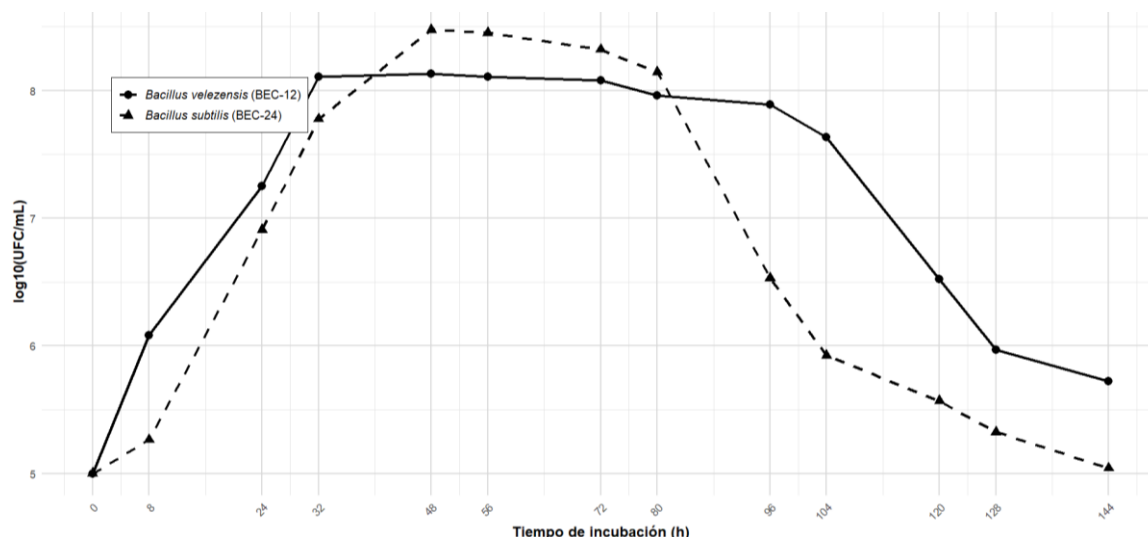
3.1.2.2. Desarrollo de la curva de crecimiento para los diferentes microorganismos

El desarrollo de las curvas de crecimiento permitió evaluar el comportamiento poblacional de los aislados bacterianos BEC-012 y BEC-024 bajo las condiciones de cultivo establecidas, **Figura 7**. Este análisis permitió reconocer las principales fases del crecimiento bacteriano: adaptación, crecimiento exponencial, fase estacionaria y declive.

La identificación de estas fases resulta relevante, debido a que permite definir el momento más adecuado para la cosecha del cultivo o la recuperación de metabolitos bioactivos. En bacterias, la producción de metabolitos secundarios suele asociarse principalmente con la fase estacionaria, etapa en la cual disminuye la velocidad de división celular y se activan rutas metabólicas relacionadas con competencia, supervivencia y respuesta al estrés (Seyedsayamdost, 2019).

Figura 7

Curvas comparativas de crecimiento microbiano expresado como $\log_{10}(\text{UFC/mL})$



Nota. La figura muestra la dinámica de crecimiento de los aislados bacterianos BEC-012 y BEC-024 durante 144 h de incubación. Los valores se expresan como $\log_{10}(\text{UFC/mL})$.

En la **Figura 7** se observa que ambos aislados iniciaron con una concentración cercana a 5 $\log_{10}(\text{UFC/mL})$, seguida de un incremento progresivo durante las primeras horas de incubación. En el caso de *B. velezensis* BEC-012, la fase exponencial se presentó entre las 8 y 32 h, alcanzando valores superiores a 8 $\log_{10}(\text{UFC/mL})$ aproximadamente a las 32 h. Posteriormente, el cultivo mantuvo una fase estacionaria relativamente estable entre 32 y 80 h, con valores cercanos a 8 $\log_{10}(\text{UFC/mL})$. A partir de las 96 h se observó una disminución progresiva de la población, lo que sugiere el ingreso a la fase de declive.

B. subtilis BEC-024 presentó una fase exponencial entre las 8 y 48 h, alcanzando su mayor concentración celular alrededor de las 48 h, con valores superiores a 8,5 $\log_{10}(\text{UFC/mL})$. Posteriormente, el cultivo mantuvo valores elevados hasta aproximadamente las 80 h, momento a partir del cual se evidenció una reducción marcada de la población bacteriana. Esta disminución fue más pronunciada que la observada en BEC-012, especialmente después de las 96 h.

Para complementar el análisis visual de las curvas de crecimiento, se calcularon los parámetros cinéticos correspondientes a la fase exponencial de cada aislado, estos resultados se observan en la **Tabla 8**. Estos parámetros permitieron comparar cuantitativamente la velocidad específica de crecimiento, el tiempo de generación y el ajuste lineal obtenido durante el intervalo exponencial seleccionado.

Tabla 8*Parámetros cinéticos de crecimiento de los aislados bacterianos durante la fase exponencial*

Bacteria	Fase analizada	Intervalo de tiempo	Pendiente log10	μ (h ⁻¹)	Tiempo de generación (h)	R ²
BEC-012	Exponencial	8–32 h	0,0829	0,1909	3,63	0,9896
BEC-024	Exponencial	8–48 h	0,0814	0,1874	3,70	0,9570

Nota. μ = velocidad específica de crecimiento; R² = coeficiente de determinación del ajuste lineal durante la fase exponencial. Los parámetros fueron calculados a partir de los valores de log10(UFC/mL) obtenidos durante el intervalo exponencial de cada aislado.

Los parámetros cinéticos evidenciaron un comportamiento de crecimiento similar entre BEC-012 y BEC-024 durante la fase exponencial. BEC-012 presentó una pendiente de 0,0829 log10(UFC/mL) /h, una velocidad específica de crecimiento de 0,1909 h⁻¹ y un tiempo de generación de 3,63 h. Por su parte, BEC-024 mostró una pendiente de 0,0814 log10(UFC/mL) /h, una velocidad específica de crecimiento de 0,1874 h⁻¹ y un tiempo de generación de 3,70 h.

Aunque ambos aislados presentaron valores cercanos de velocidad específica de crecimiento y tiempo de generación, BEC-012 mostró un ajuste lineal más alto durante la fase exponencial, con un R² de 0,9896, en comparación con BEC-024, que presentó un R² de 0,9570. Esto indica que el crecimiento exponencial de BEC-012 fue más uniforme dentro del intervalo evaluado. Sin embargo, BEC-024 mantuvo su fase exponencial durante un periodo más prolongado, hasta las 48 h, y alcanzó una concentración celular máxima ligeramente superior.

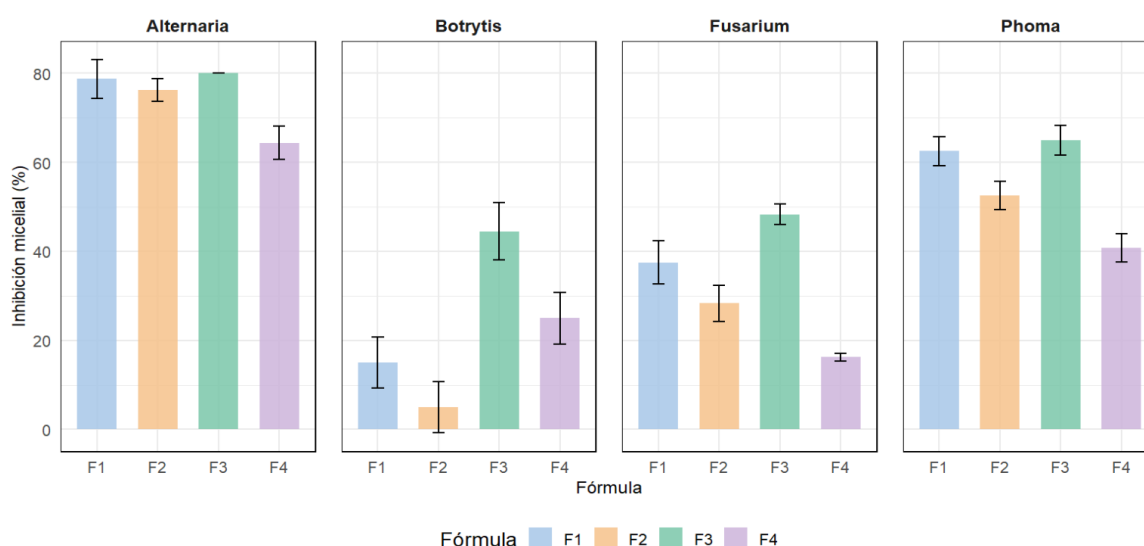
Al comparar ambas curvas, se evidencia que los dos aislados presentaron una adecuada adaptación al medio de cultivo Agar Nutritivo, aunque con diferencias en su dinámica poblacional. BEC-012 alcanzó de manera más temprana la fase estacionaria, mientras que BEC-024 prolongó su fase de crecimiento activo hasta las 48 h. Desde el punto de vista de la expresión metabólica, el intervalo comprendido entre 48 y 80 h puede considerarse relevante para la recuperación de metabolitos bioactivos, debido a que ambos aislados se encuentran en valores elevados de población celular y próximos o dentro de la fase estacionaria.

3.1.2.3. Diseños de medios de cultivo para la expresión metabólica

El diseño de diferentes medios de cultivo permitió evaluar la influencia de la composición nutricional sobre la expresión metabólica de los aislados bacterianos seleccionados. Por ello, se evaluaron cuatro fórmulas de cultivo con el propósito de identificar aquella que favoreciera una mayor actividad inhibitoria frente a los hongos fitopatógenos evaluados. Los resultados se presentan en la **Figura 8**.

Figura 8

Porcentaje de inhibición micelial según fórmula de cultivo y hongo fitopatógeno.



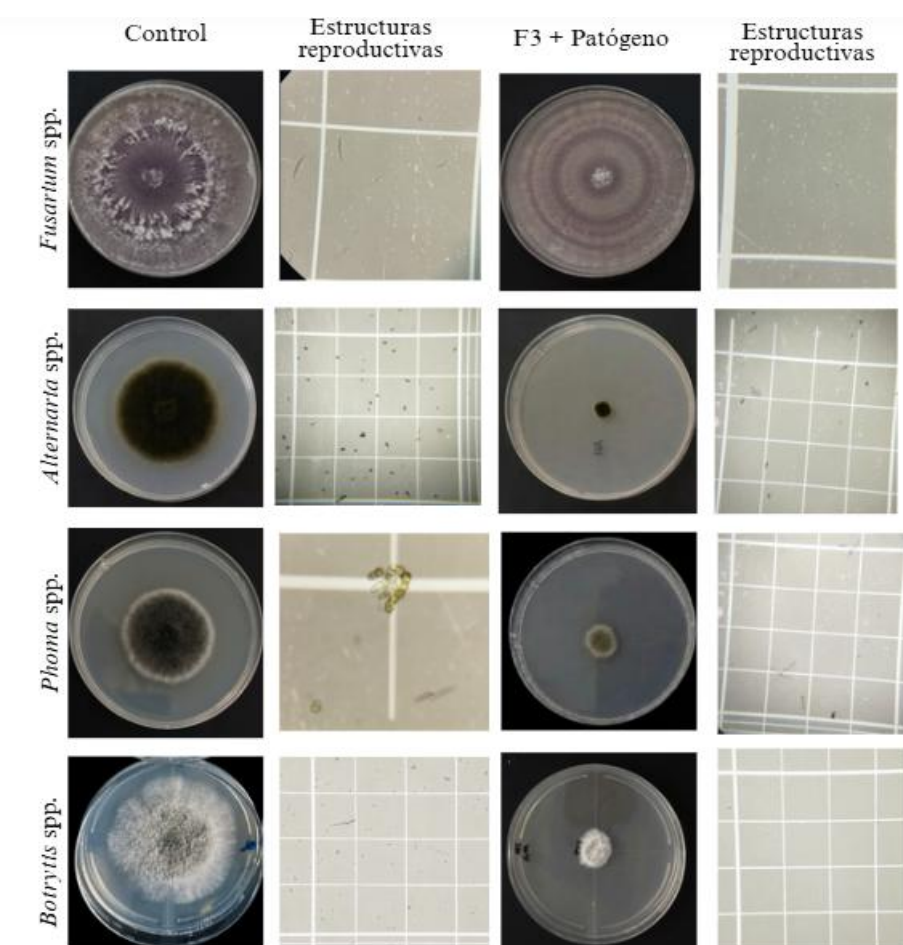
Nota. La figura muestra el porcentaje promedio de inhibición micelial obtenido con las fórmulas F1, F2, F3 y F4 frente a *Alternaria* spp., *Botrytis* spp., *Fusarium* spp. y *Phoma* spp. Las barras de error representan la variabilidad entre repeticiones.

Los resultados evidenciaron que la actividad inhibitoria varió en función de la fórmula de cultivo y del hongo fitopatógeno evaluado. De manera general, la fórmula F3 presentó los mayores porcentajes de inhibición micelial frente a los cuatro patógenos, destacándose especialmente frente a *Alternaria* spp. y *Phoma* spp., donde alcanzó valores cercanos o superiores al 65 %. Asimismo, F3 mostró una mayor inhibición frente a *Botrytis* spp. y *Fusarium* spp. en comparación con las demás fórmulas evaluadas. Este comportamiento sugiere que la composición nutricional de F3 favoreció la expresión de metabolitos o compuestos con actividad antifúngica.

En el caso de *Alternaria* spp., las cuatro fórmulas presentaron porcentajes de inhibición relativamente altos; sin embargo, F3 mostró el mayor valor, seguida de F1 y F2. Esto indica que *Alternaria* spp. fue el patógeno más sensible a los metabolitos producidos bajo las condiciones evaluadas. Para *Phoma* spp., también se observó una respuesta inhibitoria elevada, principalmente con F3 y F1, mientras que F4 presentó el menor porcentaje de inhibición. En contraste, *Botrytis* spp. y *Fusarium* spp. mostraron porcentajes de inhibición más bajos en comparación con *Alternaria* spp. y *Phoma* spp. No obstante, F3 mantuvo el mejor desempeño frente a ambos patógenos, lo que refuerza su selección como la fórmula más adecuada para favorecer la expresión de compuestos bioactivos.

Figura 9

Efecto representativo de la fórmula F3 sobre el crecimiento micelial y las estructuras reproductivas de hongos fitopatógenos.



Nota. La figura muestra una comparación visual entre el control y el tratamiento F3 + patógeno en los hongos fitopatógenos evaluados. Se observa una reducción del crecimiento micelial y una menor presencia de estructuras reproductivas en los tratamientos expuestos a F3, lo que complementa los resultados cuantitativos de inhibición micelial presentados previamente.

La comparación visual entre los controles y los tratamientos con F3 permitió evidenciar diferencias morfológicas asociadas con la actividad antifúngica del medio evaluado. En los tratamientos F3 + patógeno se observó una reducción del crecimiento micelial y una menor presencia de estructuras reproductivas, en comparación con los controles. Estos resultados respaldan la tendencia observada en el análisis cuantitativo, donde F3 presentó el mejor desempeño general frente a los hongos fitopatógenos.

Esta variación en la actividad inhibitoria se relaciona con el enfoque OSMAC, el cual plantea que la modificación de las condiciones de cultivo puede inducir cambios en el perfil metabólico de los microorganismos y favorecer la expresión de compuestos bioactivos (**Le Loarer et al., 2023**). En este sentido, las diferencias observadas entre F1, F2, F3 y F4 sugieren que la disponibilidad de nutrientes en cada fórmula pudo influir tanto en el crecimiento bacteriano como en la producción de metabolitos con actividad antifúngica.

La mayor actividad inhibitoria observada con F3 podría atribuirse a la composición nutricional del medio, constituido por harina de haba y glucosa. La glucosa representa una fuente de carbono fácilmente asimilable, útil para sostener el crecimiento bacteriano inicial, mientras que la harina de haba aporta una matriz vegetal compleja con proteínas, aminoácidos, carbohidratos y minerales que podrían actuar como precursores o cofactores en rutas metabólicas secundarias (**Grigs et al., 2023**). Bajo este enfoque, la combinación de una fuente de carbono simple con una matriz vegetal compleja pudo generar condiciones favorables para la expresión de compuestos extracelulares con actividad antifúngica.

La variación en la actividad inhibitoria entre las fórmulas puede explicarse por el efecto que tienen las fuentes nutricionales sobre el metabolismo microbiano (**Koim-Puchowska et al., 2021**). De acuerdo con **Pan et al., (2019b)**, factores como la relación carbono/nitrógeno, la disponibilidad de aminoácidos, vitaminas, carbohidratos, sales minerales e iones metálicos pueden modificar la expresión de rutas biosintéticas asociadas con la producción de metabolitos secundarios. Por ello, los microorganismos cultivados en medios con composiciones diferentes pueden activar respuestas metabólicas específicas, lo que se traduce en una biosíntesis diferencial de compuestos especializados.

La relevancia de estos resultados también se relaciona con la identidad de los aislados seleccionados. BEC-024 fue identificado como *Bacillus subtilis* y BEC-012 como *Bacillus velezensis*, especies ampliamente reconocidas por su potencial como agentes de biocontrol. Las bacterias del

género *Bacillus* se caracterizan por ser bacilos Gram positivos, formadores de endosporas y con alta capacidad de adaptación a diferentes ambientes (Zhang et al., 2023). Además, este género ha sido ampliamente estudiado por su capacidad para producir metabolitos secundarios con actividad antimicrobiana, colonizar nichos vegetales y resistir condiciones ambientales desfavorables mediante la formación de endosporas.

La actividad antifúngica observada en los medios evaluados podría estar asociada con la producción de compuestos antagonistas por parte de *Bacillus* spp. Entre los metabolitos más reportados en este género se encuentran los lipopéptidos cíclicos, como surfactinas, iturinas y fengicinas, así como bacteriocinas, policétidos, enzimas líticas y compuestos orgánicos volátiles (Bolívar-Anillo et al., 2021). En particular, las familias de iturinas y fengicinas han sido relacionadas con actividad antifúngica, debido a su capacidad para interactuar con la membrana celular de los hongos, alterar su permeabilidad y afectar el crecimiento micelial. De igual manera, las enzimas extracelulares pueden contribuir a la degradación de componentes de la pared celular fúngica, mientras que los compuestos volátiles pueden ejercer efectos inhibitorios incluso sin contacto directo (Devi et al., 2019).

La respuesta inhibitoria también varió según el hongo evaluado, lo que indica que la sensibilidad frente a los metabolitos producidos no fue homogénea. Estas diferencias pueden estar relacionadas con características propias de cada patógeno, como la velocidad de crecimiento, la composición de la pared celular, la capacidad de tolerar metabolitos antimicrobianos y la susceptibilidad a compuestos extracelulares producidos por bacterias antagonistas (Bolívar-Anillo et al., 2021). Por esta razón, la mayor inhibición observada frente a determinados hongos no necesariamente implica una mayor producción metabólica general, sino una mayor sensibilidad del patógeno frente a los compuestos generados bajo una condición específica de cultivo.

3.1.3. Estimación de la actividad antagonica frente a hongos fitopatógenos

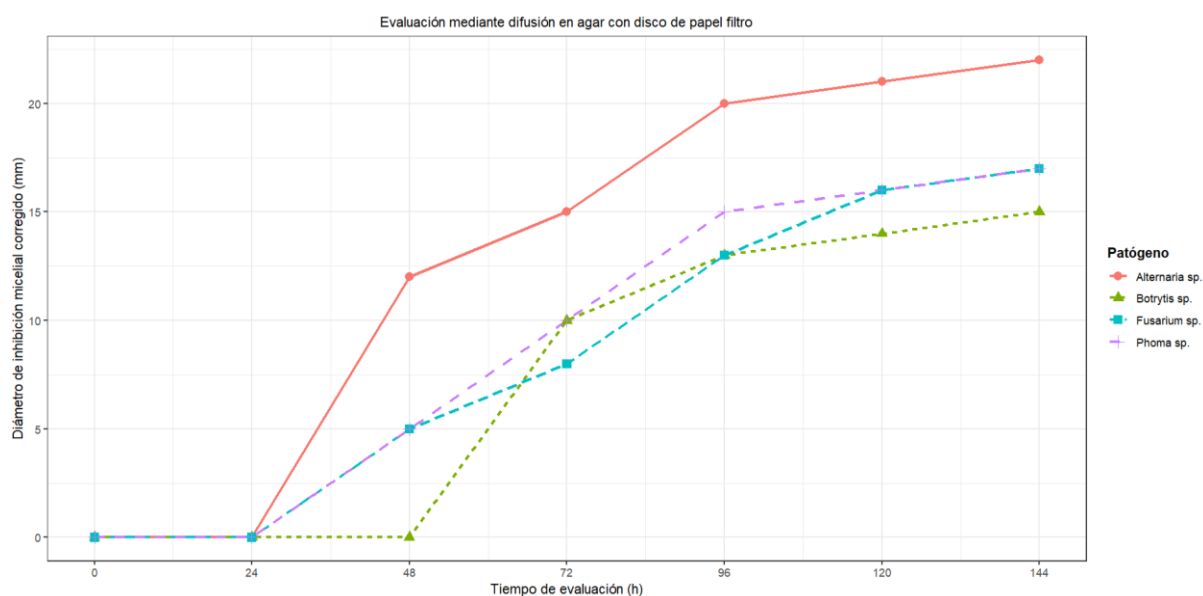
3.1.3.1. Determinación de la actividad antagonica del compuesto bioactivo

La evaluación del compuesto bioactivo crudo producido por el consorcio BEC-12 + BEC-24 evidenció actividad inhibitoria frente a los cuatro hongos fitopatógenos evaluados. De manera general, el diámetro de inhibición micelial corregido aumentó progresivamente durante el periodo de evaluación, lo que indica que el efecto antifúngico del compuesto no fue inmediato, sino que se manifestó de forma

gradual conforme avanzó el tiempo de incubación, **Figura 10**. Este comportamiento sugiere que los metabolitos presentes en el extracto crudo tuvieron capacidad de difundirse en el medio y restringir parcialmente el crecimiento micelial de los fitopatógenos.

Figura 10

Curva de actividad inhibitoria del consorcio BEC 12 + BEC 24



Nota. La figura representa el diámetro de inhibición micelial corregido, obtenido mediante ensayo de difusión en agar con disco de papel filtro impregnado con el compuesto bioactivo crudo del consorcio BEC-12 + BEC-24. Las mediciones fueron registradas cada 24 h durante 144 h de evaluación.

Entre los patógenos evaluados, *Alternaria* spp. presentó la mayor sensibilidad frente al compuesto bioactivo, alcanzando un diámetro de inhibición corregido aproximado de 22 mm a las 144 h. La respuesta inhibitoria comenzó a evidenciarse a partir de las 48 h, con un incremento progresivo hasta el final del ensayo. Este resultado indica que *Alternaria* spp. fue el patógeno más susceptible al compuesto producido por el consorcio bacteriano en la fórmula 3.

En el caso de *Fusarium* spp. y *Phoma* spp., se observó una respuesta inhibitoria intermedia. Ambos patógenos presentaron halos iniciales cercanos a 5 mm a las 48 h, con incrementos graduales durante las siguientes mediciones hasta alcanzar aproximadamente 17 mm a las 144 h. Este comportamiento indica una sensibilidad moderada frente al compuesto bioactivo crudo. Por su parte, *Botrytis* spp. presentó una respuesta más tardía, ya que no se observó inhibición evidente durante las

primeras 48 h, sin embargo, a partir de las 72 h se registró un halo de inhibición cercano a 10 mm, el cual aumentó progresivamente hasta alcanzar alrededor de 15 mm al final del ensayo.

El aumento progresivo del halo de inhibición también puede interpretarse en relación con la dinámica de crecimiento bacteriano observada previamente para BEC-12 y BEC-24. De acuerdo con las curvas de crecimiento, la producción de metabolitos bioactivos tendría mayor probabilidad de incrementarse durante la transición entre la fase exponencial tardía y el inicio de la fase estacionaria, etapa en la que normalmente se activa el metabolismo secundario. En microbiología industrial, esta etapa se conoce como idiofase y corresponde al periodo en el cual los microorganismos reducen su crecimiento activo y destinan parte de su metabolismo a la síntesis de compuestos secundarios (**Bhatla & Lal, 2023**). De acuerdo con **Sheikh et al., (2024)**, los metabolitos secundarios microbianos suelen producirse durante la fase tardía del crecimiento o durante la fase estacionaria, su síntesis puede estar influenciada por la fuente de carbono, la composición del medio y las condiciones de fermentación.

Por tanto, la mayor inhibición observada entre las 72 y 144 h podría estar asociada con una mayor acumulación o difusión de los compuestos antifúngicos presentes en el extracto crudo. Esta tendencia coincide con el comportamiento esperado para metabolitos secundarios, ya que estos no se producen necesariamente durante la fase de crecimiento más rápido, sino cuando el cultivo alcanza una etapa de mayor madurez fisiológica (**Seyedsayamdost, 2019**).

Desde el punto de vista comparativo, la respuesta diferencial entre los patógenos indica que la sensibilidad al compuesto bioactivo no fue uniforme. *Alternaria* spp. fue el patógeno más susceptible, mientras que *Botrytis* spp. mostró una respuesta más lenta y de menor magnitud. Estas diferencias pueden deberse a características propias de cada hongo, como la velocidad de crecimiento micelial, la estructura de la pared celular, la capacidad de tolerancia frente a compuestos antimicrobianos o la susceptibilidad específica a los metabolitos producidos por el consorcio bacteriano (**Rajani et al., 2021**).

3.1.3.2. Procesamiento del compuesto bioactivo mediante el secado por aspersión

Una vez seleccionada la fórmula 3 como condición favorable para la expresión metabólica del consorcio BEC-12 + BEC-24, el compuesto bioactivo crudo fue sometido a concentración y posterior

secado por aspersión, empleando maltodextrina como material encapsulante. La selección de este agente de pared se justificó por sus propiedades tecnológicas, entre ellas su alta solubilidad en agua, baja viscosidad relativa, capacidad para formar matrices protectoras y facilidad de uso en procesos de secado por aspersión (**Pudžiuvėlytė et al., 2025b**). Estas características han sido ampliamente aprovechadas en la microencapsulación de compuestos bioactivos, extractos naturales, microorganismos y metabolitos microbianos, debido a que favorecen la formación de polvos secos, mejoran la estabilidad del producto y facilitan su almacenamiento y aplicación (**Zabot et al., 2022**).

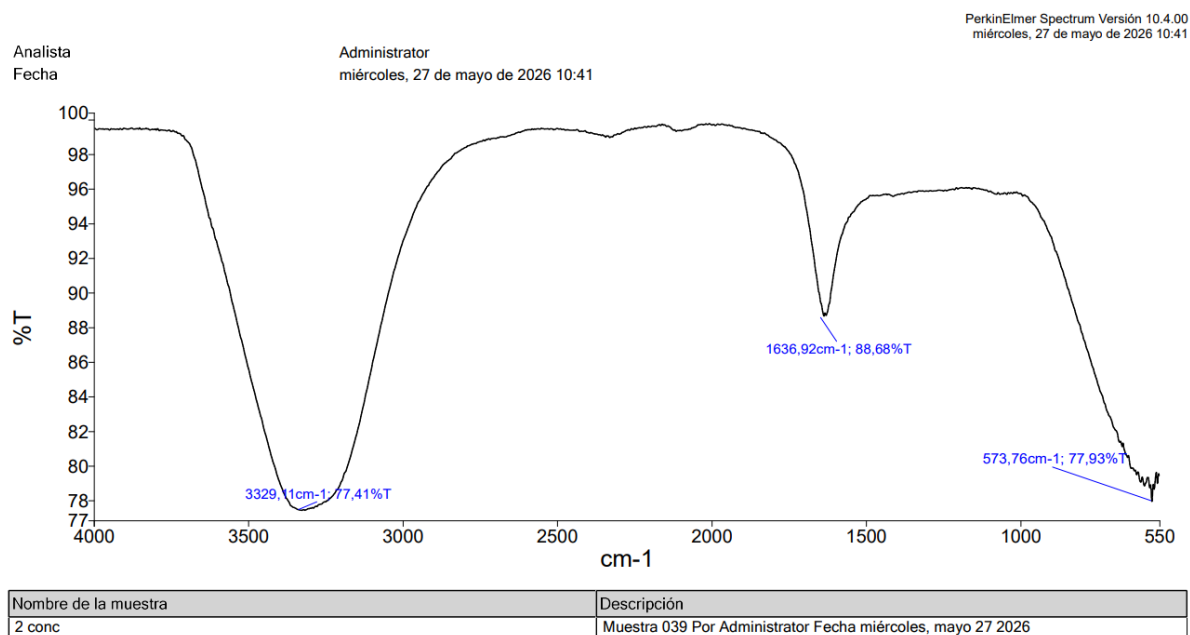
El secado se llevó a cabo bajo condiciones operativas controladas, empleando una temperatura de entrada de 150 °C y una temperatura de salida aproximada de 80 °C. Estas condiciones fueron seleccionadas con el objetivo de favorecer la evaporación del solvente acuoso presente en el extracto, procurando evitar una degradación significativa de los compuestos bioactivos. En este tipo de procesos, la temperatura de entrada permite la eliminación rápida del agua, mientras que la temperatura de salida refleja de manera más directa la exposición térmica final del producto seco. Por ello, el control de ambos parámetros resulta importante para obtener un polvo estable sin comprometer la funcionalidad del compuesto bioactivo.

Durante el procesamiento se alimentaron aproximadamente 60 mL del extracto bioactivo concentrado, obteniéndose alrededor de 8 g de producto microencapsulado. Este rendimiento puede estar relacionado con la cantidad de agua aún presente en el extracto antes del secado y con el contenido de sólidos totales de la alimentación. Cuando una matriz líquida conserva una alta proporción de agua, el proceso de concentración y secado puede ser menos eficiente, debido a que se requiere mayor eliminación de solvente y pueden presentarse pérdidas por adhesión del material a las paredes del equipo. Además, aunque el agua es compatible con encapsulantes hidrofílicos como la maltodextrina, su afinidad por este tipo de matriz puede influir en la retención de los compuestos durante la formación de las partículas secas.

Con el propósito de complementar la evaluación de la actividad antifúngica obtenida con la fórmula F3, se realizó un análisis por espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier al extracto bioactivo antes del proceso de microencapsulación, **Figura 11**. Este análisis permitió identificar de manera preliminar los principales grupos funcionales presentes en la muestra, los cuales pueden estar relacionados con compuestos orgánicos producidos durante la expresión metabólica del cocultivo bacteriano.

Figura 11

Espectro FTIR del extracto bioactivo consorcio BEC 12 – BEC 24 concentrado sin microencapsular.



Nota. El espectro muestra las principales bandas de absorción del extracto bioactivo. Las bandas observadas permiten identificar grupos funcionales asociados con compuestos orgánicos presentes en el extracto crudo concentrado.

En el espectro se observó una banda amplia e intensa en $3329,1\text{ cm}^{-1}$, ubicada dentro de la región asociada con vibraciones de estiramiento de grupos O–H y/o N–H. Esta señal puede relacionarse con la presencia de grupos hidroxilo y amino, frecuentes en compuestos de naturaleza peptídica, proteica, polisacárida o en metabolitos extracelulares con grupos funcionales polares. La amplitud de esta banda también puede estar influenciada por enlaces de hidrógeno presentes en la muestra (**Weidner et al., 2009**). Asimismo, se identificó una banda en $1636,92\text{ cm}^{-1}$, la cual puede asociarse con vibraciones del grupo carbonilo C=O, particularmente de enlaces tipo amida I, así como con flexiones N–H o enlaces C=C en determinados compuestos orgánicos. Esta región resulta importante en extractos microbianos, ya que puede estar relacionada con moléculas que contienen enlaces peptídicos, proteínas extracelulares o compuestos bioactivos producidos durante el metabolismo bacteriano (**Barth, 2007**).

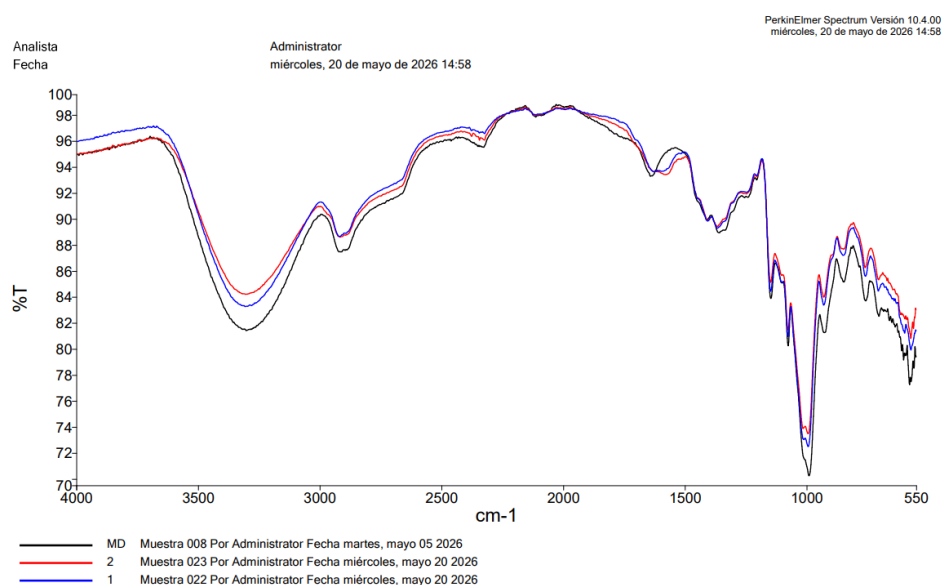
Por otra parte, la señal registrada en $573,76\text{ cm}^{-1}$ se ubica dentro de la región conocida como huella digital del espectro infrarrojo. Esta zona suele presentar vibraciones complejas y específicas de cada muestra, por lo que su interpretación aislada es menos concluyente. No obstante, puede estar

relacionada con deformaciones estructurales, vibraciones fuera del plano o enlaces de baja frecuencia asociados con componentes orgánicos o minerales presentes en el extracto (Barth, 2007).

La presencia conjunta de bandas en $3329,1\text{ cm}^{-1}$ y $1636,92\text{ cm}^{-1}$ sugiere que el extracto contiene compuestos orgánicos con grupos funcionales compatibles con moléculas hidroxiladas, aminadas, carbonílicas o de naturaleza peptídica. Este resultado es coherente con la identidad de los aislados seleccionados, *Bacillus subtilis* BEC-024 y *Bacillus velezensis* BEC-012, especies reportadas por su capacidad para producir metabolitos extracelulares bioactivos, entre ellos lipopéptidos, enzimas extracelulares y otros compuestos antimicrobianos (Chen et al., 2017). Una vez obtenido el espectro FTIR del extracto bioactivo concentrado, se realizó el análisis del producto microencapsulado con el fin de comparar los cambios espectrales generados después del secado por aspersión. En este caso, la muestra microencapsulada correspondió al compuesto bioactivo incorporado en una matriz de maltodextrina, utilizada como único material de pared en una relación 20:80 de extracto: maltodextrina. La comparación entre ambos espectros permitió observar si el perfil del producto final presentaba señales características del material encapsulante, especialmente aquellas asociadas con grupos hidroxilo y enlaces glucosídicos propios de la maltodextrina.

Figura 12

Espectro FTIR del compuesto bioactivo microencapsulado



Nota. El espectro corresponde al compuesto bioactivo producido por el consorcio BEC-12 + BEC-24 después del proceso de microencapsulación mediante secado por aspersión, empleando maltodextrina como material encapsulante. La presencia de bandas asociadas con grupos hidroxilo y enlaces C–O/C–O–C sugiere la incorporación del compuesto dentro de una matriz polisacárida.

En el espectro del producto microencapsulado se observó una banda amplia en la región aproximada de 3200–3400 cm^{-1} , relacionada principalmente con el estiramiento de grupos hidroxilo O–H, característicos de polisacáridos como la maltodextrina. Esta banda también puede asociarse con humedad residual retenida por la matriz, debido al carácter hidrofílico del material encapsulante. La presencia de esta señal es coherente con la estructura de la maltodextrina, la cual posee numerosos grupos hidroxilo capaces de establecer enlaces de hidrógeno y contribuir al atrapamiento físico del compuesto bioactivo (**Sritham & Gunasekaran, 2017**).

También se observaron señales alrededor de 2920–2950 cm^{-1} , atribuibles al estiramiento de enlaces C–H alifáticos, presentes en grupos metilo y metileno. Estas bandas pueden relacionarse tanto con la fracción orgánica del compuesto bioactivo como con estructuras carbonadas propias de la matriz de maltodextrina. En la región cercana a 1600–1650 cm^{-1} se identificaron señales compatibles con vibraciones de grupos carbonilo C=O, enlaces tipo amida o agua adsorbida (**Proskurnina et al., 2025**).

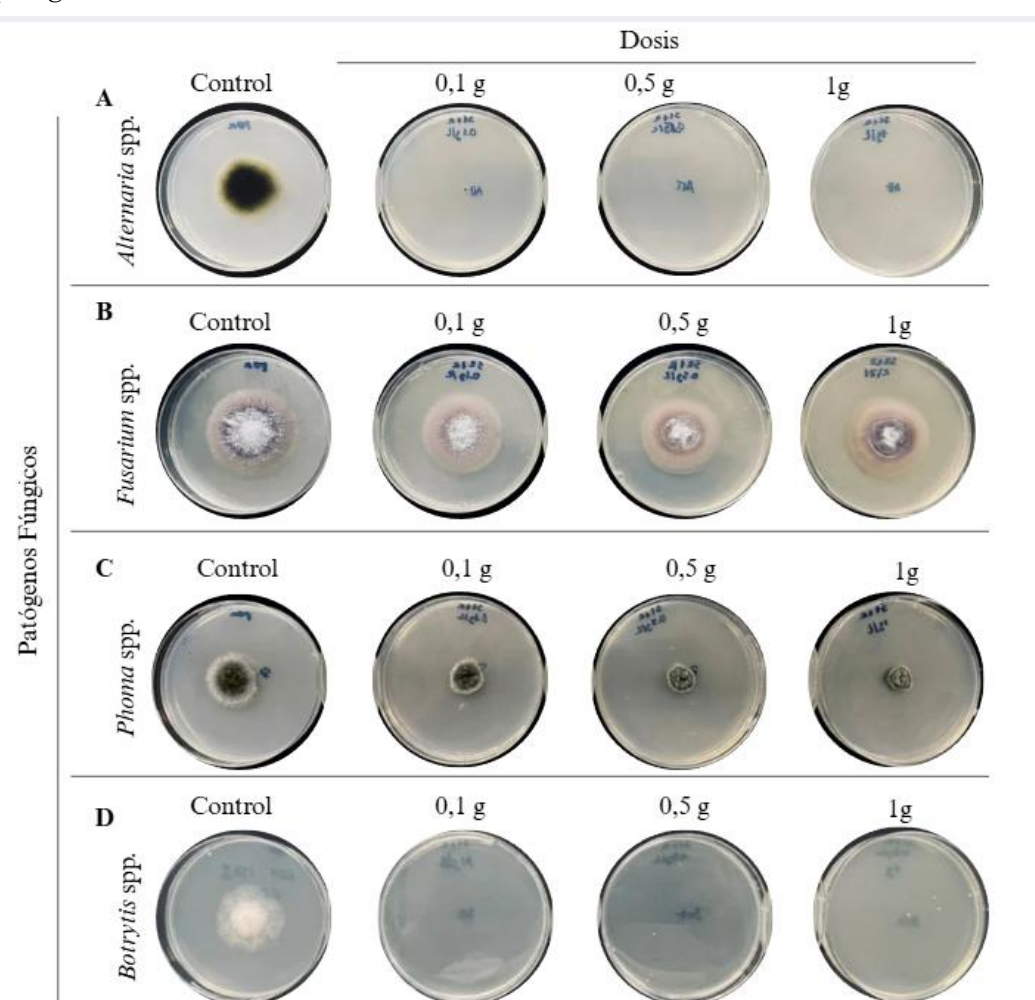
La región de 1000–1150 cm^{-1} presentó una señal intensa, atribuible a vibraciones de estiramiento C–O y C–O–C, características de enlaces glucosídicos presentes en polisacáridos. Esta señal resulta especialmente importante, ya que coincide con la estructura química de la maltodextrina, constituida por unidades de glucosa. En estudios de FTIR de maltodextrina se han reportado bandas intensas en 1150, 1078 y 1020 cm^{-1} , asignadas a vibraciones C–O y C–O–C de enlaces glucosídicos, típicas de polisacáridos. Asimismo, la región de 1500–800 cm^{-1} ha sido descrita como la “huella dactilar” de los azúcares, donde aparecen vibraciones relacionadas con C–O, C–O–C y deformaciones estructurales del anillo glucosídico (**Sritham & Gunasekaran, 2017**).

Al comparar el espectro del microencapsulado con el del extracto bioactivo concentrado, se observa que el producto posterior al secado presenta un perfil más asociado con la matriz encapsulante, principalmente por la presencia marcada de bandas correspondientes a grupos O–H, C–H y C–O/C–O–C. Esta similitud con el perfil esperado de la maltodextrina permite inferir que el compuesto bioactivo fue incorporado dentro de la matriz polisacáridica, probablemente mediante un mecanismo de atrapamiento físico. En este tipo de sistemas, el espectro del producto microencapsulado suele estar dominado por las señales del material de pared cuando el núcleo queda recubierto o integrado dentro de la matriz.

Posterior al proceso de microencapsulación mediante secado por aspersión, se evaluó la actividad antifúngica del producto obtenido frente a los hongos fitopatógenos seleccionados. Para ello, se aplicaron tres dosis del compuesto bioactivo microencapsulado, 0,1 g, 0,5 g y 1 g, y se comparó el crecimiento micelial con el control sin tratamiento, **Figura 13**. Esta evaluación permitió determinar si el procesamiento con maltodextrina conservó la funcionalidad antifúngica del compuesto y si el incremento de la dosis generó una mayor respuesta inhibitoria.

Figura 13

Efecto de la dosis del compuesto bioactivo microencapsulado sobre la inhibición micelial de hongos fitopatógenos



Nota. La figura muestra el crecimiento micelial de *Alternaria* spp., *Fusarium* spp., *Phoma* spp. y *Botrytis* spp. frente a diferentes dosis del compuesto bioactivo microencapsulado producido por el consorcio BEC-12 + BEC-24. Las dosis evaluadas fueron 0,1 g, 0,5 g y 1 g, comparadas con el control sin aplicación del microencapsulado.

Los resultados evidenciaron una reducción del crecimiento micelial en los tratamientos con el compuesto bioactivo microencapsulado, en comparación con los controles.

En *Alternaria* spp. se observó una inhibición marcada en las tres dosis evaluadas, ya que el crecimiento del patógeno fue prácticamente restringido respecto al control. Este comportamiento sugiere una alta sensibilidad de este patógeno frente al producto microencapsulado, incluso a la dosis más baja.

En *Botrytis* spp. también se evidenció una disminución considerable del crecimiento micelial en las placas tratadas, principalmente en las dosis de 0,5 g y 1 g. Para *Phoma* spp., la reducción del crecimiento fue progresiva y más evidente con el aumento de la dosis, lo que sugiere un comportamiento dependiente de la cantidad de microencapsulado aplicada.

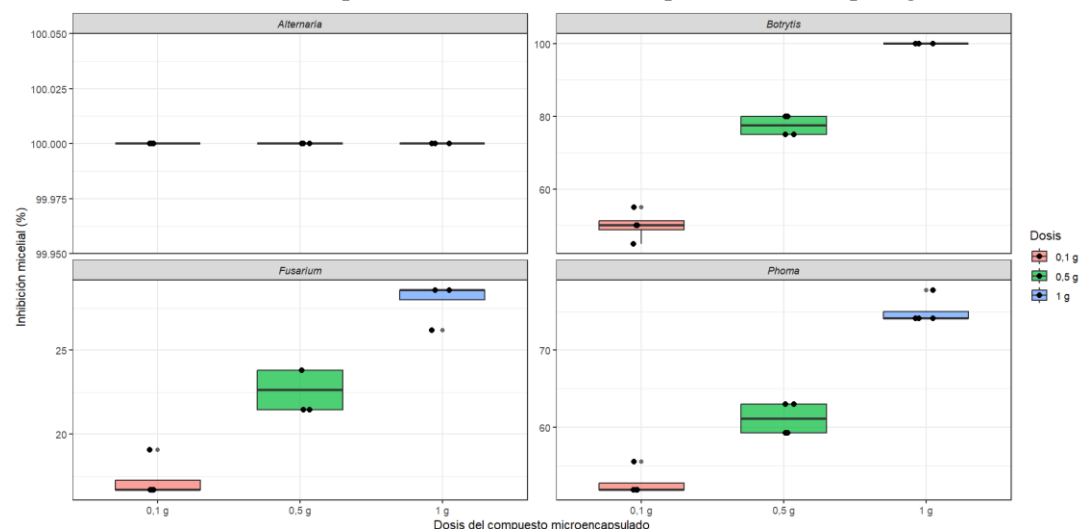
En cambio, *Fusarium* spp. presentó una menor sensibilidad relativa, debido a que se observó crecimiento micelial en todas las dosis, sin embargo, el tamaño de las colonias fue menor en comparación con el control, indicando un efecto inhibitorio parcial. Para complementar los resultados obtenidos en las placas, se realizó una evaluación cuantitativa del efecto antifúngico del compuesto bioactivo microencapsulado.

El porcentaje de inhibición micelial fue calculado para cada dosis evaluada 0,1 g, 0,5 g y 1 g mediante la comparación del crecimiento de los hongos fitopatógenos tratados frente a sus respectivos controles.

Los datos fueron analizados bajo un diseño completamente al azar DCA y las diferencias entre dosis se evaluaron mediante la prueba de Tukey. La representación mediante diagramas de caja presentes en la **Figura 14** permitió observar la distribución de los datos, la variabilidad entre réplicas y la tendencia de la respuesta inhibitoria en función del incremento de la dosis aplicada. La evaluación de dosis del compuesto bioactivo microencapsulado evidenció diferencias en la respuesta inhibitoria de los hongos fitopatógenos evaluados.

Figura 14

Evaluación de dosis del compuesto bioactivo microencapsulado contra patógenos



Nota. Los valores corresponden al porcentaje de inhibición micelial obtenido con tres dosis del compuesto bioactivo microencapsulado frente a cuatro hongos fitopatógenos. Las cajas representan la dispersión de los datos por dosis y los puntos corresponden a las réplicas experimentales.

En *Botrytis* spp., *Fusarium* spp. y *Phoma* spp. se observó un incremento progresivo del porcentaje de inhibición micelial conforme aumentó la dosis del compuesto, siendo la dosis de 1 g la que presentó los mayores valores de inhibición. En contraste, *Alternaria* spp. presentó una inhibición del 100 % en las tres dosis evaluadas, lo que indica una mayor sensibilidad de este patógeno al compuesto microencapsulado. Estos resultados permiten identificar la dosis de 1 g como la más efectiva de manera general, aunque en el caso de *Alternaria* spp. dosis menores podrían ser suficientes para alcanzar una inhibición completa.

La mayor respuesta inhibitoria observada después del procesamiento puede estar relacionada con la concentración previa del extracto en rotavapor y con la posterior microencapsulación mediante secado por aspersión. La concentración del extracto pudo incrementar la disponibilidad de metabolitos bioactivos por unidad de masa aplicada, favoreciendo una acción antifúngica más evidente sobre los patógenos evaluados (Vassaux et al., 2021). A su vez, la maltodextrina utilizada como material encapsulante pudo contribuir a proteger los compuestos durante el secado, mejorar su estabilidad y facilitar su aplicación en forma de polvo seco (Díaz-Montes, 2023b). Es así como, el aumento de la inhibición micelial observado en el producto microencapsulado podría explicarse por un efecto combinado entre la concentración del extracto y la protección física proporcionada por la matriz de maltodextrina, sin descartar que la respuesta final también dependa de la sensibilidad particular de cada patógeno.

CAPÍTULO IV.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1.Conclusiones

- Se identificaron microorganismos endófitos presentes en plantas medicinales del Oriente ecuatoriano, obteniéndose un banco microbiano conformado por 104 aislados, de los cuales 43 correspondieron a bacterias y 61 a hongos. La mayor recuperación de microorganismos se obtuvo a partir de *Ilex guayusa*, con 33 aislados, seguida de *Cinnamomum verum*, con 29 aislados; mientras que *Syzygium aromaticum* presentó la menor recuperación, con 12 aislados. En el banco bacteriano se evidenció predominancia de bacterias Gram positivas, con 31 aislados, formas bacilares, con 31 aislados, y presencia de endosporas en 29 aislados. Asimismo, la evaluación preliminar de antagonismo permitió determinar que 26 de los 43 aislados bacterianos presentaron actividad inhibitoria frente a al menos uno de los hongos fitopatógenos evaluados, correspondientes al 60,47 % del total. Entre estos, los aislados BEC-024 y BEC-012 presentaron los mayores halos de inhibición y fueron seleccionados como los microorganismos con mejor desempeño antagonista frente a *Alternaria* spp., *Botrytis* spp., *Fusarium* spp. y *Phoma* spp.
- Se establecieron las condiciones de expresión metabólica para la obtención de compuestos bioactivos a partir de los aislados bacterianos seleccionados. El aislado BEC-024 fue identificado como *Bacillus subtilis*, con un score de 2,05, y el aislado BEC-012 como *Bacillus velezensis*, con un score de 2,01, mediante MALDI-TOF MS. Las curvas de crecimiento permitieron determinar que *Bacillus velezensis* BEC-012 presentó fase exponencial entre las 8 y 32 h, con una velocidad específica de crecimiento de 0,1909 h⁻¹ y un tiempo de generación de 3,63 h; mientras que *Bacillus subtilis* BEC-024 presentó fase exponencial entre las 8 y 48 h, con una velocidad específica de crecimiento de 0,1874 h⁻¹ y un tiempo de generación de 3,70 h. A partir de la evaluación de las formulaciones de cultivo, se determinó que la fórmula F3, compuesta por harina de haba y glucosa, presentó el mejor desempeño para la expresión de compuestos bioactivos, al generar los mayores porcentajes de inhibición micelial frente a los cuatro hongos fitopatógenos evaluados.
- Se estimó la actividad antagónica del compuesto bioactivo producido por el consorcio BEC-012 + BEC-024 frente a *Alternaria* spp., *Botrytis* spp., *Fusarium* spp. y *Phoma* spp. El compuesto bioactivo crudo presentó inhibición progresiva del crecimiento micelial durante las

144 h de evaluación, alcanzando la mayor actividad frente a *Alternaria* spp., con un halo corregido aproximado de 22 mm al final del ensayo. *Fusarium* spp. y *Phoma* spp. presentaron una respuesta inhibitoria intermedia, con valores aproximados de 17 mm, mientras que *Botrytis* spp. mostró una inhibición menor, cercana a 15 mm. Posteriormente, el compuesto fue concentrado mediante rotaevaporación y procesado por secado por aspersión con maltodextrina, obteniéndose aproximadamente 8 g de producto microencapsulado a partir de 60 mL de extracto concentrado. La evaluación de dosis del microencapsulado evidenció mayor actividad antifúngica frente a todos los patógenos evaluados; la dosis de 1 g presentó los mayores porcentajes de inhibición en *Botrytis* spp., *Fusarium* spp. y *Phoma* spp., mientras que *Alternaria* spp. alcanzó 100 % de inhibición micelial en las tres dosis evaluadas: 0,1 g, 0,5 g y 1 g.

4.2.Recomendaciones

- Se recomienda realizar estudios adicionales orientados a evaluar la capacidad antagonista de los hongos endófitos aislados, considerando que en la presente investigación no se evidenciaron halos claros de inhibición frente a los patógenos evaluados. Esto podría implicar la implementación de estrategias alternativas de expresión metabólica, modificación de medios de cultivo, cocultivo con bacterias o activadores químicos que potencialicen la producción de metabolitos secundarios antifúngicos.
- Se sugiere ampliar los ensayos de actividad antagonista para incluir bacterias patógenas relevantes en la agricultura actual, lo que permitiría determinar el espectro de acción de los compuestos bioactivos y su potencial aplicación en el control de enfermedades bacterianas, contribuyendo a un manejo más integral de la sanidad vegetal.
- Se recomienda realizar estudios comparativos empleando distintos materiales encapsulantes y combinaciones de estos para microencapsular los compuestos bioactivos, con el objetivo de optimizar su estabilidad, liberación controlada y efectividad antifúngica. Este enfoque podría mejorar la formulación de productos biológicos más eficientes y adaptados a diferentes condiciones de almacenamiento y aplicación agrícola.

BIBLIOGRAFÍA

- Adeleke, B. S., Ayilara, M. S., Akinola, S. A., & Babalola, O. O. (2022). Biocontrol mechanisms of endophytic fungi. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 32(1), 46. <https://doi.org/10.1186/s41938-022-00547-1>
- Andrade-Rivas, F., Paul, N., Spiegel, J., Henderson, S. B., Parrott, L., Delgado-Ron, J. A., Echeverri, A., & van den Bosch, M. (2023). Mapping Potential Population-Level Pesticide Exposures in Ecuador Using a Modular and Scalable Geospatial Strategy. *GeoHealth*, 7(7). <https://doi.org/10.1029/2022GH000775>
- Andryukov, B., Mikhailov, V., & Besednova, N. (2019a). The Biotechnological Potential of Secondary Metabolites from Marine Bacteria. *Journal of Marine Science and Engineering*, 7(6), 176. <https://doi.org/10.3390/jmse7060176>
- Andryukov, B., Mikhailov, V., & Besednova, N. (2019b). The Biotechnological Potential of Secondary Metabolites from Marine Bacteria. *Journal of Marine Science and Engineering*, 7(6), 176. <https://doi.org/10.3390/jmse7060176>
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71–79. <https://doi.org/10.101016/j.jpha.2015.11.005>
- Barth, A. (2007). Infrared spectroscopy of proteins. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1767(9), 1073–1101. <https://doi.org/10.1016/j.bbabo.2007.06.004>
- Bary, A. de. (1879). *Die Erscheinung der Symbiose*. De Gruyter. <https://doi.org/10.1515/9783111471839>
- Batiha, G., Alkazmi, L. M., Wasef, L. G., Beshbishy, A. M., Nadwa, E. H., & Rashwan, E. K. (2020). *Syzygium aromaticum* L. (Myrtaceae): Traditional Uses, Bioactive Chemical Constituents, Pharmacological and Toxicological Activities. *Biomolecules*, 10(2), 202. <https://doi.org/10.3390/biom10020202>
- Bhatla, S. C., & Lal, M. A. (2023). Secondary Metabolites. In *Plant Physiology, Development and Metabolism* (pp. 765–808). Springer Nature Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-99-5736-1_33
- Biermann, R., & Beutel, S. (2023). Endospore production of *Bacillus* spp. for industrial use. *Engineering in Life Sciences*, 23(11). <https://doi.org/10.1002/elsc.202300013>
- Bolivar-Anillo, H. J., González-Rodríguez, V. E., Cantoral, J. M., García-Sánchez, D., Collado, I. G., & Garrido, C. (2021). Endophytic Bacteria *Bacillus subtilis*, Isolated from *Zea mays*, as Potential

- Biocontrol Agent against *Botrytis cinerea*. *Biology*, 10(6), 492. <https://doi.org/10.3390/biology10060492>
- Chen, Y., Liu, S. A., Mou, H., Ma, Y., Li, M., & Hu, X. (2017). Characterization of Lipopeptide Biosurfactants Produced by *Bacillus licheniformis* MB01 from Marine Sediments. *Frontiers in Microbiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00871>
- da Silva, F. M. R., Paggi, G. M., Brust, F. R., Macedo, A. J., & Silva, D. B. (2023). Metabolomic Strategies to Improve Chemical Information from OSMAC Studies of Endophytic Fungi. *Metabolites*, 13(2), 236. <https://doi.org/10.3390/metabo13020236>
- Dean, R., Van Kan, J. A. L., Pretorius, Z. A., Hammond-Kosack, K. E., Di Pietro, A., Spanu, P. D., Rudd, J. J., Dickman, M., Kahmann, R., Ellis, J., & Foster, G. D. (2012). The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 13(4), 414–430. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x>
- Deb, D., Khan, A., & Dey, N. (2020). Phoma diseases: Epidemiology and control. *Plant Pathology*, 69(7), 1203–1217. <https://doi.org/10.1111/ppa.13221>
- Delgado-Baquerizo, M., Guerra, C. A., Cano-Díaz, C., Egidi, E., Wang, J.-T., Eisenhauer, N., Singh, B. K., & Maestre, F. T. (2020). The proportion of soil-borne pathogens increases with warming at the global scale. *Nature Climate Change*, 10(6), 550–554. <https://doi.org/10.1038/s41558-020-0759-3>
- Desintonio Leon, I. A., Fala Ávila, K. D., Vera Román, G. N., Diaz Parra, S. S., Belduma Borbor, C. N., & Guillen Godoy, M. A. (2025). Efectos del Uso Inadecuado de Insecticidas y Pesticidas en la Salud Respiratoria de Trabajadores del Sector Agrícola, Milagro, Ecuador. (2025). *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 9(3), 3205–3217. https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v9i3.17946
- Devi, S., Kiesewalter, H. T., Kovács, R., Frisvad, J. C., Weber, T., Larsen, T. O., Kovács, Á. T., & Ding, L. (2019). Depiction of secondary metabolites and antifungal activity of *Bacillus velezensis* DTU001. *Synthetic and Systems Biotechnology*, 4(3), 142–149. <https://doi.org/10.1016/j.synbio.2019.08.002>
- Díaz-Montes, E. (2023a). Wall Materials for Encapsulating Bioactive Compounds via Spray-Drying: A Review. *Polymers*, 15(12), 2659. <https://doi.org/10.3390/polym15122659>
- Díaz-Montes, E. (2023b). Wall Materials for Encapsulating Bioactive Compounds via Spray-Drying: A Review. *Polymers*, 15(12), 2659. <https://doi.org/10.3390/polym15122659>

- Duhan, P., Bansal, P., & Rani, S. (2020). Isolation, identification and characterization of endophytic bacteria from medicinal plant *Tinospora cordifolia*. *South African Journal of Botany*, 134, 43–49. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.01.047>
- El-Baky, N. A., & Amara, A. A. A. F. (2021). Recent Approaches towards Control of Fungal Diseases in Plants: An Updated Review. *Journal of Fungi*, 7(11), 900. <https://doi.org/10.3390/jof7110900>
- Erkmen, O. (2021). Bacterial endospore staining techniques. In *Laboratory Practices in Microbiology* (pp. 107–113). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91017-0.00026-3>
- Fadiji, A. E., & Babalola, O. O. (2020). Elucidating Mechanisms of Endophytes Used in Plant Protection and Other Bioactivities With Multifunctional Prospects. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00467>
- Firáková, S., Šturdíková, M., & Múčková, M. (2007a). Bioactive secondary metabolites produced by microorganisms associated with plants. *Biologia*, 62(3), 251–257. <https://doi.org/10.2478/s11756-007-0044-1>
- Firáková, S., Šturdíková, M., & Múčková, M. (2007b). Bioactive secondary metabolites produced by microorganisms associated with plants. *Biologia*, 62(3), 251–257. <https://doi.org/10.2478/s11756-007-0044-1>
- Giauque, H., Connor, E. W., & Hawkes, C. V. (2019). Endophyte traits relevant to stress tolerance, resource use and habitat of origin predict effects on host plants. *New Phytologist*, 221(4), 2239–2249. <https://doi.org/10.1111/nph.15504>
- Grabka, R., d'Entremont, T. W., Adams, S. J., Walker, A. K., Tanney, J. B., Abbasi, P. A., & Ali, S. (2022). Fungal Endophytes and Their Role in Agricultural Plant Protection against Pests and Pathogens. *Plants*, 11(3), 384. <https://doi.org/10.3390/plants11030384>
- Grigs, O., Didrihsone, E., & Bolmanis, E. (2023). Investigation of a Broad-Bean Based Low-Cost Medium Formulation for *Bacillus subtilis* MSCL 897 Spore Production. *Fermentation*, 9(4), 390. <https://doi.org/10.3390/fermentation9040390>
- Guamán-Rivera, S. A., & Flores-Mancheno, C. I. (2023). Seguridad Alimentaria y Producción Agrícola Sostenible en Ecuador. *Revista Científica Zambos*, 2(1), 1–20. <https://doi.org/10.69484/rcz/v2/n1/35>
- Guha, T., & Mandal Biswas, S. (2024). Recent progress in the role of seed endophytic bacteria as plant growth-promoting microorganisms and biocontrol agents. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 40(7), 218. <https://doi.org/10.1007/s11274-024-04031-w>

- Hardoim, P. R., van Overbeek, L. S., Berg, G., Pirttilä, A. M., Compant, S., Campisano, A., Döring, M., & Sessitsch, A. (2015). The Hidden World within Plants: Ecological and Evolutionary Considerations for Defining Functioning of Microbial Endophytes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 79(3), 293–320. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00050-14>
- Hashmi, A. I., Iqtedar, M., Saeed, H., Ahmed, N., Abdullah, R., Kaleem, A., & Abbasi, M. A. (2025). Characterization of soil-derived *Bacillus subtilis* metabolites against breast cancer: In vitro and in silico studies. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 33(1–2), 3. <https://doi.org/10.1007/s44446-025-00006-6>
- Hazarika, D. J., Goswami, G., Gautam, T., Parveen, A., Das, P., Barooah, M., & Boro, R. C. (2019). Lipopeptide mediated biocontrol activity of endophytic *Bacillus subtilis* against fungal phytopathogens. *BMC Microbiology*, 19(1), 71. <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1440-8>
- Houchmandzadeh, B., & Ballet, P. (2023). A novel procedure for CFU plating and counting. *Journal of Microbiological Methods*, 206, 106693. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2023.106693>
- Hutter, H.-P., Poteser, M., Lemmerer, K., Wallner, P., Kundi, M., Moshhammer, H., & Weitensfelder, L. (2021). Health Symptoms Related to Pesticide Use in Farmers and Laborers of Ecological and Conventional Banana Plantations in Ecuador. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(3), 1126. <https://doi.org/10.3390/ijerph18031126>
- Islam, T., Danishuddin, Tamanna, N. T., Matin, M. N., Barai, H. R., & Haque, M. A. (2024). Resistance Mechanisms of Plant Pathogenic Fungi to Fungicide, Environmental Impacts of Fungicides, and Sustainable Solutions. *Plants*, 13(19), 2737. <https://doi.org/10.3390/plants13192737>
- Kaur, R., Choudhary, D., Bali, S., Bandral, S. S., Singh, V., Ahmad, M. A., Rani, N., Singh, T. G., & Chandrasekaran, B. (2024). Pesticides: An alarming detrimental to health and environment. *Science of The Total Environment*, 915, 170113. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.170113>
- Keswani, C., Singh, H. B., García-Estrada, C., Caradus, J., He, Y.-W., Mezaache-Aichour, S., Glare, T. R., Borriss, R., & Sansinenea, E. (2020a). Antimicrobial secondary metabolites from agriculturally important bacteria as next-generation pesticides. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(3), 1013–1034. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-10300-8>
- Keswani, C., Singh, H. B., García-Estrada, C., Caradus, J., He, Y.-W., Mezaache-Aichour, S., Glare, T. R., Borriss, R., & Sansinenea, E. (2020b). Antimicrobial secondary metabolites from agriculturally important bacteria as next-generation pesticides. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(3), 1013–1034. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-10300-8>
- Koim-Puchowska, B., Kłosowski, G., Drózdź-Afelt, J. M., Mikulski, D., & Zielińska, A. (2021). Influence of the Medium Composition and the Culture Conditions on Surfactin Biosynthesis by a

- Native *Bacillus subtilis* natto BS19 Strain. *Molecules*, 26(10), 2985. <https://doi.org/10.3390/molecules26102985>
- Koza, N., Adedayo, A., Babalola, O., & Kappo, A. (2022). Microorganisms in Plant Growth and Development: Roles in Abiotic Stress Tolerance and Secondary Metabolites Secretion. *Microorganisms*, 10(8), 1528. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10081528>
- Kumar, A., Kumari, M., Swarupa, P., & Shireen, S. (2019). Characterization of pH Dependent Growth Response of Agriculturally Important Microbes for Development of Plant Growth Promoting Bacterial Consortium. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 13(2), 1053–1061. <https://doi.org/10.22207/JPAM.13.2.43>
- Le Loarer, A., Dufossé, L., Bignon, J., Frédérick, M., Ledoux, A., Fouillaud, M., & Gauvin-Bialecki, A. (2023). OSMAC Method to Assess Impact of Culture Parameters on Metabolomic Diversity and Biological Activity of Marine-Derived Actinobacteria. *Marine Drugs*, 22(1), 23. <https://doi.org/10.3390/md22010023>
- Liu, H., Carvalhais, L. C., Crawford, M., Singh, E., Dennis, P. G., Pieterse, C. M. J., & Schenk, P. M. (2017). Inner Plant Values: Diversity, Colonization and Benefits from Endophytic Bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02552>
- Liu, Q., Meng, X., Li, Y., Zhao, C.-N., Tang, G.-Y., & Li, H.-B. (2017). Antibacterial and Antifungal Activities of Spices. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(6), 1283. <https://doi.org/10.3390/ijms18061283>
- Ludwig-Müller, J. (2015). Plants and endophytes: equal partners in secondary metabolite production? *Biotechnology Letters*, 37(7), 1325–1334. <https://doi.org/10.1007/s10529-015-1814-4>
- Luft, L., & Mazutti, M. A. (2025). Freeze and Spray Drying Technologies to Produce Solid Microbial Formulations for Sustainable Agriculture. *Processes*, 13(7), 2188. <https://doi.org/10.3390/pr13072188>
- Luu, T. A., Phi, Q. T., Nguyen, T. T. H., Dinh, M. Van, Pham, B. N., & Do, Q. T. (2021). Antagonistic activity of endophytic bacteria isolated from weed plant against stem end rot pathogen of pitaya in Vietnam. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 31(1), 14. <https://doi.org/10.1186/s41938-021-00362-0>
- Madhushan, A., Weerasingha, D. B., Ilyukhin, E., Taylor, P. W. J., Ratnayake, A. S., Liu, J.-K., & Maharachchikumbura, S. S. N. (2025). From Natural Hosts to Agricultural Threats: The Evolutionary Journey of Phytopathogenic Fungi. *Journal of Fungi*, 11(1), 25. <https://doi.org/10.3390/jof11010025>

- Malagón-Rojas, J. N., Parra Barrera, E. L., & Lagos, L. (2020). From environment to clinic: the role of pesticides in antimicrobial resistance. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 44, 1. <https://doi.org/10.26633/RPSP.2020.44>
- Mengistu, A. A. (2020). Endophytes: Colonization, Behaviour, and Their Role in Defense Mechanism. *International Journal of Microbiology*, 2020, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2020/6927219>
- Milanesi, A., Diana, G., Candiani, A., Sodano, A., Rassè, P., Foglio Bonda, A., Bari, E., Torre, M. L., Segale, L., & Giovannelli, L. (2025). Spray drying: From a traditional technology to modern biotechnological applications. *International Journal of Pharmaceutics: X*, 10, 100449. <https://doi.org/10.1016/j.ijpx.2025.100449>
- Mollocana Lara, E. C., & Gonzales-Zubiate, F. A. (2020). Control of pesticides in Ecuador: An underrated problem? *Bionatura*, 5(3), 1257–1263. <https://doi.org/10.21931/RB/2020.05.03.17>
- Nicholson, W. L. (2002). Roles of Bacillus endospores in the environment. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 59(3), 410–416. <https://doi.org/10.1007/s00018-002-8433-7>
- Noriega, P., Moreno, E., Falcón, A., Quishpe, V., & Noriega, P. del C. (2025). Guayusa (Ilex guayusa Loes.) Ancestral Plant of Ecuador: History, Traditional Uses, Chemistry, Biological Activity, and Potential Industrial Uses. *Molecules*, 30(13), 2837. <https://doi.org/10.3390/molecules30132837>
- Palmieri, D., Ianiri, G., Del Grosso, C., Barone, G., De Curtis, F., Castoria, R., & Lima, G. (2022). Advances and Perspectives in the Use of Biocontrol Agents against Fungal Plant Diseases. *Horticulturae*, 8(7), 577. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8070577>
- Pan, R., Bai, X., Chen, J., Zhang, H., & Wang, H. (2019a). Exploring Structural Diversity of Microbe Secondary Metabolites Using OSMAC Strategy: A Literature Review. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00294>
- Pan, R., Bai, X., Chen, J., Zhang, H., & Wang, H. (2019b). Exploring Structural Diversity of Microbe Secondary Metabolites Using OSMAC Strategy: A Literature Review. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00294>
- Paray, A. A., Singh, M., & Amin Mir, M. (2023). Gram Staining: A Brief Review. *International Journal of Research and Review*, 10(9), 336–341. <https://doi.org/10.52403/ijrr.20230934>
- Peng, Y., Li, S. J., Yan, J., Tang, Y., Cheng, J. P., Gao, A. J., Yao, X., Ruan, J. J., & Xu, B. L. (2021). Research Progress on Phytopathogenic Fungi and Their Role as Biocontrol Agents. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.670135>
- Peter Sneath. (1973). *Numerical Taxonomy: The Principles and Practice of Numerical Classification*. . San Francisco, W. H. Freeman.

- Pillay, L. C., Nekati, L., Makhwitine, P. J., & Ndlovu, S. I. (2022). Epigenetic Activation of Silent Biosynthetic Gene Clusters in Endophytic Fungi Using Small Molecular Modifiers. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.815008>
- Pla, M.-L., Oltra, S., Esteban, M.-D., Andreu, S., & Palop, A. (2015). Comparison of Primary Models to Predict Microbial Growth by the Plate Count and Absorbance Methods. *BioMed Research International*, 2015, 1–14. <https://doi.org/10.1155/2015/365025>
- Polanco, V., Cerdá-Bernad, D., Quispe-Fuentes, I., Bernal, C., & López, J. (2024). Bioactive Content and Antioxidant Properties of Spray-Dried Microencapsulates of *Peumus boldus* M. Leaf Extracts. *Antioxidants*, 13(12), 1568. <https://doi.org/10.3390/antiox13121568>
- Popova, V. T., Stoyanova, M. A., Ivanova, T. A., Stoyanova, A. S., & Dimitrova-Dyulgerova, I. Z. (2021). Phytochemical composition of leaves and stems of *Solanum nigrum* L. and *Solanum dulcamara* L. (Solanaceae) from Bulgaria. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 1031(1), 012091. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/1031/1/012091>
- Proskurnina, E. V., Sozarukova, M. M., Ershova, E. S., Savinova, E. A., Kameneva, L. V., Veiko, N. N., Saprykin, V. P., Vyshegurov, K. K., Ivanov, V. K., & Kostyuk, S. V. (2025). Nanoceria Coated with Maltodextrin or Chitosan: Effects on Key Genes of Oxidative Metabolism, Proliferation, and Autophagy in Human Embryonic Lung Fibroblasts. *Molecules*, 30(15), 3078. <https://doi.org/10.3390/molecules30153078>
- Pudžiuvelytė, L., Petrauskaitė, E., Stabrauskienė, J., & Bernatoniene, J. (2025a). Spray-Drying Microencapsulation of Natural Bioactives: Advances in Sustainable Wall Materials. *Pharmaceuticals*, 18(7), 963. <https://doi.org/10.3390/ph18070963>
- Pudžiuvelytė, L., Petrauskaitė, E., Stabrauskienė, J., & Bernatoniene, J. (2025b). Spray-Drying Microencapsulation of Natural Bioactives: Advances in Sustainable Wall Materials. *Pharmaceuticals*, 18(7), 963. <https://doi.org/10.3390/ph18070963>
- Raimi, A., & Adeleke, R. (2021). Bioprospecting of endophytic microorganisms for bioactive compounds of therapeutic importance. *Archives of Microbiology*, 203(5), 1917–1942. <https://doi.org/10.1007/s00203-021-02256-z>
- Rajani, P., Rajasekaran, C., Vasanthakumari, M. M., Olsson, S. B., Ravikanth, G., & Uma Shaanker, R. (2021). Inhibition of plant pathogenic fungi by endophytic *Trichoderma* spp. through mycoparasitism and volatile organic compounds. *Microbiological Research*, 242, 126595. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126595>
- Rani, L., Thapa, K., Kanojia, N., Sharma, N., Singh, S., Grewal, A. S., Srivastav, A. L., & Kaushal, J. (2021). An extensive review on the consequences of chemical pesticides on human health and

- environment. *Journal of Cleaner Production*, 283, 124657. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.124657>
- Salvatore, M. M., & Andolfi, A. (2021). Phytopathogenic Fungi and Toxicity. *Toxins*, 13(10), 689. <https://doi.org/10.3390/toxins13100689>
- Sandín-España, P., & Dagnac, T. (2023). Development of Analytical Methods to Analyze Pesticide Residues. *Molecules*, 28(7), 3074. <https://doi.org/10.3390/molecules28073074>
- Santos, I. P. dos, Silva, L. C. N. da, Silva, M. V. da, Araújo, J. M. de, Cavalcanti, M. da S., & Lima, V. L. de M. (2015). Antibacterial activity of endophytic fungi from leaves of *Indigofera suffruticosa* Miller (Fabaceae). *Frontiers in Microbiology*, 6. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00350>
- Schmey, T., Tominello-Ramirez, C. S., Brune, C., & Stam, R. (2024). *Alternaria* diseases on potato and tomato. *Molecular Plant Pathology*, 25(3). <https://doi.org/10.1111/mpp.13435>
- Selim, M. S. M., Abdelhamid, S. A., & Mohamed, S. S. (2021a). Secondary metabolites and biodiversity of actinomycetes. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 19(1), 72. <https://doi.org/10.1186/s43141-021-00156-9>
- Selim, M. S. M., Abdelhamid, S. A., & Mohamed, S. S. (2021b). Secondary metabolites and biodiversity of actinomycetes. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 19(1), 72. <https://doi.org/10.1186/s43141-021-00156-9>
- Seyedsayamdost, M. R. (2019). Toward a global picture of bacterial secondary metabolism. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 46(3–4), 301–311. <https://doi.org/10.1007/s10295-019-02136-y>
- Sheikh, H., G. Anand, G., & B. Shivanna, G. (2024). *Fermentation: A Potential Strategy for Microbial Metabolite Production*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.114814>
- Silva, D. P. D., Cardoso, M. S., & Macedo, A. J. (2022). Endophytic Fungi as a Source of Antibacterial Compounds—A Focus on Gram-Negative Bacteria. *Antibiotics*, 11(11), 1509. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11111509>
- Soumya, P., Jayachandran, K., & Radhakrishnan, E. K. (2024). *Endophytic Microbiome: An Insight into the Hidden World of Microorganisms Within Plants* (pp. 265–287). https://doi.org/10.1007/978-981-97-4239-4_14
- Sritham, E., & Gunasekaran, S. (2017). FTIR spectroscopic evaluation of sucrose-maltodextrin-sodium citrate bioglass. *Food Hydrocolloids*, 70, 371–382. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.04.023>

- Sultana, F., & Hossain, Md. M. (2022). Diseases of Vegetables Caused by *Phoma* spp. In *Phoma: Diversity, Taxonomy, Bioactivities, and Nanotechnology* (pp. 91–119). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-81218-8_6
- Syafrudin, M., Kristanti, R. A., Yuniarto, A., Hadibarata, T., Rhee, J., Al-onazi, W. A., Algarni, T. S., Almarri, A. H., & Al-Mohaimed, A. M. (2021). Pesticides in Drinking Water—A Review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(2), 468. <https://doi.org/10.3390/ijerph18020468>
- Tan, S., Kha, T., Parks, S., Stathopoulos, C., & Roach, P. (2015). Optimising the Encapsulation of an Aqueous Bitter Melon Extract by Spray-Drying. *Foods*, 4(3), 400–419. <https://doi.org/10.3390/foods4030400>
- Tripathi, A., Pandey, P., Tripathi, S. N., & Kalra, A. (2022a). Perspectives and potential applications of endophytic microorganisms in cultivation of medicinal and aromatic plants. *Frontiers in Plant Science*, 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.985429>
- Tripathi, A., Pandey, P., Tripathi, S. N., & Kalra, A. (2022b). Perspectives and potential applications of endophytic microorganisms in cultivation of medicinal and aromatic plants. *Frontiers in Plant Science*, 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.985429>
- Tudi, M., Daniel Ruan, H., Wang, L., Lyu, J., Sadler, R., Connell, D., Chu, C., & Phung, D. T. (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>
- Tzintzarov, A., Boyadzhieva, S. S., Coelho, J. A. P., Tsvetanova, F., Petrova, M., Stoev, G., Yankov, D. S., Ugrinova, I., & Stateva, R. P. (2024). Novel Insights into the Biological Activity of Croton lechleri Twigs Extracts and Advancements in Their Sustainable Recovery. *Molecules*, 29(17), 4161. <https://doi.org/10.3390/molecules29174161>
- Vassaux, A., Rannou, M., Peers, S., Daboudet, T., Jacques, P., & Coutte, F. (2021). Impact of the Purification Process on the Spray-Drying Performances of the Three Families of Lipopeptide Biosurfactant Produced by *Bacillus subtilis*. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.815337>
- Vicente, J., Pinto, J., Menezes, J., & Gaspar, F. (2013). Fundamental analysis of particle formation in spray drying. *Powder Technology*, 247, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2013.06.038>
- Wang, H. (2023). Epidemiology and Control of Fungal Diseases in Crop Plants. *Agronomy*, 13(9), 2327. <https://doi.org/10.3390/agronomy13092327>

- Weidner, T., Breen, N. F., Drobny, G. P., & Castner, D. G. (2009). Amide or Amine: Determining the Origin of the 3300 cm⁻¹ NH Mode in Protein SFG Spectra Using ¹⁵N Isotope Labels. *The Journal of Physical Chemistry B*, 113(47), 15423–15426. <https://doi.org/10.1021/jp908773c>
- White James, & Bacon Charles. (2000). *Microbial Endophytes* (C. W. Bacon & J. White, Eds.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781482277302>
- Wilson, H., Bar, I., Hobson, K., Vaghefi, N., Petronaitis, T., & Ford, R. (2025). Integrated Disease Management, Adaptation and Genomics of Fungal Plant Pathogens in Cropping Systems. *Plant Pathology*, 74(6), 1445–1469. <https://doi.org/10.1111/ppa.14114>
- Xu, J.-G., Liu, T., Hu, Q.-P., & Cao, X.-M. (2016). Chemical Composition, Antibacterial Properties and Mechanism of Action of Essential Oil from Clove Buds against *Staphylococcus aureus*. *Molecules*, 21(9), 1194. <https://doi.org/10.3390/molecules21091194>
- Zabot, G. L., Schaefer Rodrigues, F., Polano Ody, L., Vinícius Tres, M., Herrera, E., Palacin, H., Córdova-Ramos, J. S., Best, I., & Olivera-Montenegro, L. (2022). Encapsulation of Bioactive Compounds for Food and Agricultural Applications. *Polymers*, 14(19), 4194. <https://doi.org/10.3390/polym14194194>
- Zhang, B., Xin, C., Yang, D., Jiao, Z., Liu, S., Di, G., & Zhao, H. (2024). Numerical taxonomy and genus-species identification of Czekanowskiales in China based on machine learning. *Palaeontologia Electronica*. <https://doi.org/10.26879/1357>
- Zhang, N., Wang, Z., Shao, J., Xu, Z., Liu, Y., Xun, W., Miao, Y., Shen, Q., & Zhang, R. (2023). Biocontrol mechanisms of *Bacillus*: Improving the efficiency of green agriculture. *Microbial Biotechnology*, 16(12), 2250–2263. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.14348>
- Ziaee, A., Albadarin, A. B., Padrela, L., Femmer, T., O'Reilly, E., & Walker, G. (2019). Spray drying of pharmaceuticals and biopharmaceuticals: Critical parameters and experimental process optimization approaches. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 127, 300–318. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2018.10.026>
- Zotchev, S. B. (2024). Unlocking the potential of bacterial endophytes from medicinal plants for drug discovery. *Microbial Biotechnology*, 17(2). <https://doi.org/10.1111/1751-7915.14382>

ANEXOS

Anexo 1

Autorización de recolección de especímenes de especies de la diversidad biológica no. 1119



Ministerio de
Ambiente y Energía

AUTORIZACIÓN DE RECOLECCION DE ESPECIMENES DE ESPECIES DE LA DIVERSIDAD BIOLOGICA No. 1119

ESTUDIANTES E INVESTIGADORES (SIN FINES COMERCIALES)

1.- AUTORIZACIÓN DE RECOLECTA DE ESPECÍMENES DE ESPECIES LA DIVERSIDAD BIOLOGICA

2.- CÓDIGO

MAE-ARSFC-2025-1119

3.- DURACIÓN DEL PROYECTO

FECHA INICIO	FECHA FIN
2026-01-31	2026-07-31

4.- COMPONENTE A RECOLECTAR

Plantae

El Ministerio de Ambiente y Energía, en uso de las atribuciones que le confiere la Codificación a la Ley Forestal y de Conservación de Áreas Naturales y Vida Silvestre autoriza a:

5.- INVESTIGADORES /TÉCNICOS QUE INTERVENDRÁN EN LAS ACTIVIDADES DE RECOLECCION

Nº de C.I/Pasaporte	Nombres y Apellidos	Nacionalidad	Nº REGISTRO SENESCYT	EXPERIENCIA	GRUPO BIOLOGICO
1803571585	GARCES MONCAYO MARIA DANIELA	Ecuatoriana	1038-2021-2268550	Docente Investigador	Magnoliopsida

6.- PARA QUE LLEVEN A CABO LA RECOLECCION DE ESPECIMENES DE ESPECIES LA DIVERSIDAD BIOLOGICA:

Nombre del Proyecto: Obtención de compuestos bioactivos a partir de microorganismos endófitos para el control de hongos fitopatógenos

7.- SE AUTORIZA LA RECOLECCION CON EL PROPOSITO DE:

1 / 5

Obtener de compuestos bioactivos a partir de microorganismos endófitos para el control de enfermedades por hongos fitopatógenos
• Evaluar su actividad antagonista frente a hongos fitopatógenos seleccionados
• Establecer las condiciones de expresión metabólica para la obtención de compuestos bioactivos
• Aislar y caracterizar microorganismos endófitos presentes en plantas medicinales del Oriente ecuatoriano.

8.- ÁREA GEOGRÁFICA QUE CUBRE LA RECOLECCIÓN DE LAS ESPECIES O ESPECÍMENES:

PROVINCIA	SNAP	BOSQUE PROTECTOR
NAPO	NA	CUENCAS DE LOS RÍOS COLONSO, TENA, SHITI

9.- INFORMACIÓN DE LAS ESPECIES A RECOLECTAR

CLASE	ORDEN	FAMILIA	GENERO	ESPECIE	TIPO MUESTRA	N° MUESTRA	N° LOTE
Magnoliopsida	Laurales				Hojas y tronco	3	
Magnoliopsida	Solanales				Hojas y tallo	2	
Magnoliopsida	Magnoliales				Tronco y hojas	3	
Magnoliopsida	Myrtales				Hojas	2	
Magnoliopsida	Aquifoliales				Hojas y tallo	3	

10.- METODOLOGÍA APLICADA EN CAMPO

FASE DE RECOLECCIÓN:	Para el aislamiento y caracterización de microorganismos endófitos, se realizará un muestreo dirigido de plantas medicinales y aromáticas propias de la región Oriente del Ecuador, priorizando especies perennes con amplio uso etnobotánico y culinario debido a la presencia documentada de metabolitos secundarios con actividad antimicrobiana. Las especies consideradas serán <i>Ilex guayusa</i> , <i>Dulcamara</i> spp., <i>Cinnamomum verum</i> , <i>Syzygium aromaticum</i> y <i>Croton lechleri</i> . De cada planta se recolectarán únicamente individuos sanos, libres de sintomatología asociada a enfermedades, registrando localidad, coordenadas, órgano vegetal muestreado y fecha. La elección de estas especies se sustentará en la presencia reportada de compuestos bioactivos como metabolitos secundarios con potencial antimicrobiano.
FASE DE PRESERVACIÓN:	Se recolectarán tejidos de individuos sanos (sin síntomas visibles de enfermedad). Por especie hospedera, se obtendrán secciones de corteza y tallo (~3 cm de longitud) y hojas. Cada muestra se identificará con código único y se transportará en bolsas estériles a 4-8 °C hasta su procesamiento. En el laboratorio, se trabajará en cabina de bioseguridad, en cada tejido se realizarán cortes cuadrados de ~1 cm² para desinfección y posterior aislamiento. Siguiendo un protocolo de desinfección superficial para aislamiento endófito descrito por (autor, año), se aplicará la siguiente secuencia, con agitación suave en cada etapa y eliminación completa del exceso de reactivo entre pasos. Primero se hará el lavado inicial con agua estéril durante 1 min para remover impurezas superficiales, después se sumergirán las muestras en etanol al 70% durante 30 segundos y luego en hipoclorito de sodio al 50% durante 30 segundos, posterior a esto se llevarán a cabo lavados finales con agua estéril (dos a tres lavados consecutivos, 1 min cada uno) para eliminar residuos de los reactivos empleados en pasos

	anteriores
--	------------

11. METODOLOGIA APLICADA EN LABORATORIO

MÉTODOS EMPLEADOS EN EL LABORATORIO:	Identificación macroscópica y microscópica de microorganismos, screening, taxonomía numérica, inoculación de caldos, pruebas de antagonismo
---	---

12.- SE AUTORIZA LA UTILIZACIÓN DE LOS SIGUIENTES MATERIALES Y/O EQUIPOS PARA LA REALIZACIÓN DE ESTA RECOLECCIÓN.

Grupo Biológico a Recolectar	Descripción	Tipo de Equipamiento
Magnoliopsida	GUANTES, PIOLA, BOLSAS DE TELA	Material en Campo
Magnoliopsida	TUBOS FALCON, CAJAS PETRI, VASOS DE PRECIPITACIÓN, PIPETAS, VARILLA DE VIDRIO, TAMICES	Material en Laboratorio

13.- COLECCIONES NACIONALES DEPOSITARIAS DEL MATERIAL BIOLÓGICO

Magnoliopsida	Herbario Escuela superior Técnica del Chimborazo
---------------	--

14.- RESULTADOS ESPERADOS

Microorganismos con capacidad de producción de compuestos bioactivos de amplio espectro para la inhibición parcial o total del micelio de hongos patógenos que afectan en gran medida a cultivos de interés en el Ecuador

15.- CONTRIBUCIÓN DEL ESTUDIO PARA LA TOMA DE DECISIONES A LA ESTRATEGIA NACIONAL DE BIODIVERSIDAD 2011-2020.

METAS	DESCRIPCIÓN
Resultado 01.03 Ecuador ha consolidado un portafolio de incentivos para la protección, uso sostenible y restauración de la biodiversidad; y se han puesto en marcha políticas para la eliminación de los incentivos perversos que limitan su conservación.	Disminución del uso de la dependencia de pesticidas en el territorio ecuatoriano, protegiendo así el entorno y biodiversidad del suelo

DE ACUERDO A LAS SIGUIENTES ESPECIFICACIONES

1. Solicitud de: QUISNIA ALDAS ANGELES MONSERRATH

2. Institución Nacional Científica : **UNIVERSIDAD TECNICA DE AMBATO U.T.A.**
3. Fecha de entrega del informe final o preliminar: **2026/07/16**
4. Valoración técnica del proyecto: **TELLO RAMOS FANNY ELIZABETH**
5. Esta Autorización **NO HABILITA LA MOVILIZACIÓN DE FLORA, FAUNA, MICROORGANISMOS Y HONGOS.**
6. Esta Autorización **NO HABILITA EXPORTACIÓN DE FLORA, FAUNA, MICROORGANISMOS Y HONGOS**, sin la correspondiente autorización del Ministerio de Ambiente y Energía.
7. Los especímenes o muestras recolectadas no podrán ser utilizadas en actividades de **BIOPROSPECCIÓN, NI ACCESO AL RECURSO GENÉTICO.**
8. Los resultados que se desprendan de la investigación, no podrán ser utilizados para estudios posteriores de Acceso a Recurso Genéticos sin la previa autorización del Ministerio de Ambiente y Energía.

OBLIGACIONES DEL/ LOS INVESTIGADOR/ES.

9. Ingresar al sistema electrónico de recolecta de especímenes de especies la diversidad biológica del Ministerio de Ambiente y Energía, el o los informes parciales o finales en formato PDF, en el formato establecido.

Con los siguientes anexos:

- Escaneado de el o los certificados originales del depósito o recibo de las muestras, emitidas por las Colecciones Científicas Ecuatorianas como Internacionales depositarias de material biológico.
 - Escaneado de las publicaciones realizadas o elaboradas en base al material biológico recolectado.
 - Escaneado de material fotográfico que considere el investigador pueda ser utilizados para difusión. (se mantendrá los derechos de autor).
10. Citar en las publicaciones científicas, Tesis o informes técnicos el número de Autorización de Recolección otorgada por el Ministerio de Ambiente y Energía, con el que se recolecto el material biológico.
 11. Depositar los holotipos en una institución científica depositaria de material biológico.

12. Los holotipos solo podrán salir del país en calidad de préstamo por un periodo no más de un año.

13. Las muestras biológicas a ser depositadas deberán ingresar a las colecciones respectivas siguiendo los protocolos emitidos por el Curador/a custodio de los especímenes.

14. Las muestras deberán ser preservadas, curadas y depositadas de lo contrario, se deberán sufragar los gastos que demanden la preparación del material para su ingreso a la colección correspondiente.

Del incumplimiento de las obligaciones dispuestas en los numerales, 9, 10, 11, 12, 13 y 14 se responsabiliza a **QUISNIA ALDAS ANGELES MONSERRATH**.

DIRECTOR DE BIODIVERSIDAD
BAQUERO GONZALEZ JUDITH DENNIS
2026-01-07



Av. República de El Salvador N36-64 y Sucre
Código postal: 170136 / Quito - Ecuador
Teléfono: +593-2 3976000

Anexo 2

Comparación de medias de halo de inhibición de aislados bacterianos mediante Tukey

Patogeno	Tratamiento	Halo_promedio_mm	Grupo_Tukey
Alternaria	BEC-012	30,75	a
Alternaria	BEC-024	30,75	a
Alternaria	BEC-003	25,81	b
Alternaria	BEC-006	24,75	b
Alternaria	BEC-013	24,75	b
Alternaria	BEC-030	24	b
Alternaria	BEC-010	23,75	bc
Alternaria	BEC-008	23,5	bcd
Alternaria	BEC-011	23,5	bcd
Alternaria	BEC-007	21	cde
Alternaria	BEC-020	20,75	de
Alternaria	BEC-023	20,5	ef
Alternaria	BEC-028	20,5	ef
Alternaria	BEC-015	20	ef
Alternaria	BEC-004	19,8	ef
Alternaria	BEC-042	17,75	fg
Alternaria	BEC-014	15,25	gh
Alternaria	BEC-037	15,25	gh
Alternaria	BEC-043	15,25	gh
Alternaria	BEC-029	15	gh
Alternaria	BEC-039	14,75	h
Alternaria	BEC-036	14,5	h
Alternaria	BEC-001	0	i
Alternaria	BEC-002	0	i
Alternaria	BEC-005	0	i
Alternaria	BEC-009	0	i
Alternaria	BEC-016	0	i
Alternaria	BEC-017	0	i
Alternaria	BEC-018	0	i
Alternaria	BEC-019	0	i
Alternaria	BEC-021	0	i
Alternaria	BEC-022	0	i
Alternaria	BEC-025	0	i
Alternaria	BEC-026	0	i
Alternaria	BEC-027	0	i
Alternaria	BEC-031	0	i
Alternaria	BEC-032	0	i
Alternaria	BEC-033	0	i
Alternaria	BEC-034	0	i
Alternaria	BEC-035	0	i
Alternaria	BEC-038	0	i
Alternaria	BEC-040	0	i
Alternaria	BEC-041	0	i

Botrytis	BEC-024	34	a
Botrytis	BEC-012	32,84	a
Botrytis	BEC-004	26,5	b
Botrytis	BEC-023	25	bc
Botrytis	BEC-008	24,75	bc
Botrytis	BEC-030	24,75	bc
Botrytis	BEC-037	24,75	bc
Botrytis	BEC-041	24,75	bc
Botrytis	BEC-011	24,5	bc
Botrytis	BEC-006	24,25	c
Botrytis	BEC-010	24,25	c
Botrytis	BEC-013	23,75	c
Botrytis	BEC-003	23	c
Botrytis	BEC-007	20,75	d
Botrytis	BEC-042	20,75	d
Botrytis	BEC-036	20,25	d
Botrytis	BEC-020	19,5	d
Botrytis	BEC-015	19,25	d
Botrytis	BEC-028	19,25	d
Botrytis	BEC-002	15,75	e
Botrytis	BEC-014	11,03	f
Botrytis	BEC-039	10,75	f
Botrytis	BEC-043	10,5	f
Botrytis	BEC-001	0	g
Botrytis	BEC-005	0	g
Botrytis	BEC-009	0	g
Botrytis	BEC-016	0	g
Botrytis	BEC-017	0	g
Botrytis	BEC-018	0	g
Botrytis	BEC-019	0	g
Botrytis	BEC-021	0	g
Botrytis	BEC-022	0	g
Botrytis	BEC-025	0	g
Botrytis	BEC-026	0	g
Botrytis	BEC-027	0	g
Botrytis	BEC-029	0	g
Botrytis	BEC-031	0	g
Botrytis	BEC-032	0	g
Botrytis	BEC-033	0	g
Botrytis	BEC-034	0	g
Botrytis	BEC-035	0	g
Botrytis	BEC-038	0	g
Botrytis	BEC-040	0	g
Fusarium	BEC-024	28	a
Fusarium	BEC-012	25,75	b
Fusarium	BEC-004	20,75	c
Fusarium	BEC-030	14,75	d
Fusarium	BEC-013	10,75	e

Fusarium	BEC-023	10,5	e
Fusarium	BEC-027	10,5	e
Fusarium	BEC-028	9,75	e
Fusarium	BEC-008	5,75	f
Fusarium	BEC-011	5	f
Fusarium	BEC-010	4,75	f
Fusarium	BEC-001	0	g
Fusarium	BEC-002	0	g
Fusarium	BEC-003	0	g
Fusarium	BEC-005	0	g
Fusarium	BEC-006	0	g
Fusarium	BEC-007	0	g
Fusarium	BEC-009	0	g
Fusarium	BEC-014	0	g
Fusarium	BEC-015	0	g
Fusarium	BEC-016	0	g
Fusarium	BEC-017	0	g
Fusarium	BEC-018	0	g
Fusarium	BEC-019	0	g
Fusarium	BEC-020	0	g
Fusarium	BEC-021	0	g
Fusarium	BEC-022	0	g
Fusarium	BEC-025	0	g
Fusarium	BEC-026	0	g
Fusarium	BEC-029	0	g
Fusarium	BEC-031	0	g
Fusarium	BEC-032	0	g
Fusarium	BEC-033	0	g
Fusarium	BEC-034	0	g
Fusarium	BEC-035	0	g
Fusarium	BEC-036	0	g
Fusarium	BEC-037	0	g
Fusarium	BEC-038	0	g
Fusarium	BEC-039	0	g
Fusarium	BEC-040	0	g
Fusarium	BEC-041	0	g
Fusarium	BEC-042	0	g
Fusarium	BEC-043	0	g
Phoma	BEC-024	31,75	a
Phoma	BEC-041	29	b
Phoma	BEC-030	27,32	bc
Phoma	BEC-012	25,75	cd
Phoma	BEC-004	24,75	d
Phoma	BEC-010	24,75	d
Phoma	BEC-011	24,5	d
Phoma	BEC-013	24,5	d
Phoma	BEC-023	24,5	d
Phoma	BEC-008	24,25	d

Phoma	BEC-028	24 d
Phoma	BEC-003	20,25 e
Phoma	BEC-006	20,25 e
Phoma	BEC-037	20 e
Phoma	BEC-007	15,79 f
Phoma	BEC-015	14,75 f
Phoma	BEC-020	14,25 f
Phoma	BEC-036	14,25 f
Phoma	BEC-016	11,25 g
Phoma	BEC-042	10 g
Phoma	BEC-001	0 h
Phoma	BEC-002	0 h
Phoma	BEC-005	0 h
Phoma	BEC-009	0 h
Phoma	BEC-014	0 h
Phoma	BEC-017	0 h
Phoma	BEC-018	0 h
Phoma	BEC-019	0 h
Phoma	BEC-021	0 h
Phoma	BEC-022	0 h
Phoma	BEC-025	0 h
Phoma	BEC-026	0 h
Phoma	BEC-027	0 h
Phoma	BEC-029	0 h
Phoma	BEC-031	0 h
Phoma	BEC-032	0 h
Phoma	BEC-033	0 h
Phoma	BEC-034	0 h
Phoma	BEC-035	0 h
Phoma	BEC-038	0 h
Phoma	BEC-039	0 h
Phoma	BEC-040	0 h
Phoma	BEC-043	0 h

Anexo 3

Resultados de Identificación de BEC 12 y BEC 24 por MALDI-TOF



CENTRO DE INVESTIGACION MICROBIOLÓGICA "CIM"

CORDOVA 603 Y MENDIBURO, ED. K1 - PB - GUAYAQUIL
Telfs.: 04-256-1019 / 04-231-3696 / 04-230-9179 / 0995133333 / 0983477777
reportes@labcim.ec
RUC 0992644451001 UNICODIGO:27079

ORDEN NO. 26012116

012

Identificación: BEC-

Fecha de ingreso: 2026-01-21 4:16PM GMT-05
Fecha de impresión: 2026-01-28 10:17PM GMT-05
Médico: 1. MEDICO PARTICULAR

Informe de resultados

EXAMEN	RESULTADO	UNIDAD	V. REFERENCIA
MICROBIOLOGÍA			
IDENTIFICACION DE BACTERIAS POR MALDI TOF (Muestra externa)			
IDENTIFICACION POR MALDI TOF			
IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA	012 BEC-		
GERMEN IDENTIFICADO	BACILLUS velezensis		
SCORE	2.01		



Validado por: Msc. Lenay Barrera

Dr. Henry Parra Vera
Microbiólogo

CENTRO DE INVESTIGACIÓN
MICROBIOLÓGICA
Dr. Henry Junior Parra Vera
Ci# 0913233904
REG. SANT. 4061



CENTRO DE INVESTIGACION MICROBIOLÓGICA "CIM"

CORDOVA 603 Y MENDIBURO, ED. K1 - PB - GUAYAQUIL
Telfs.: 04-256-1019 / 04-231-3696 / 04-230-9179 / 0995133333 / 0983477777
reportes@labcim.ec
RUC 0992644451001 UNICODIGO:27079

ORDEN NO. 26012117

-024

Identificación: BEC

Fecha de ingreso: 2026-01-21 4:18PM GMT-05
Fecha de impresión: 2026-02-01 6:48PM GMT-05
Médico: 1. MEDICO PARTICULAR

Informe de resultados

EXAMEN	RESULTADO	UNIDAD	V. REFERENCIA
MICROBIOLOGÍA			
IDENTIFICACION DE BACTERIAS POR MALDI TOF (Muestra externa)			
IDENTIFICACION POR MALDI TOF			
IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA	024 bec		
GERMEN IDENTIFICADO	BACILLUS subtilis		
SCORE	2.05		



Validado por: Msc. Lenay Barrera

Dr. Henry Parra Vera
Microbiólogo

CENTRO DE INVESTIGACIÓN
MICROBIOLÓGICA
Dr. Henry Junior Parra Vera
Ci# 0913233904
REG. SANT. 4061