



Nota Fitopatológica

Caracterización de bacterias endófitas promotoras de crecimiento vegetal en plantas de papa (*Solanum tuberosum*)

Rosa María Longoria-Espinoza*, Cristal Leyva-Ruiz, Gloria Margarita Zamudio-Aguilasocho, Universidad Autónoma de Occidente, Unidad Regional Guasave, Departamento de Ciencias Biológicas, Avenida Universidad s/n, CP 81120. Guasave, Sinaloa, México; Rubén Félix-Gastélum, Universidad Autónoma de Occidente, Unidad Regional Los Mochis, Departamento de Ciencias Biológicas, Bulevard Macario Gaxiola y Carretera Internacional s/n, CP 81223. Los Mochis, Sinaloa, México.

***Autor de correspondencia:**

rosa.longoria@uadeo.mx
rosamarialongoria@hotmail.com

Sección:

Edición periódica

Recibido:

02 Octubre, 2023

Aceptado:

10 Enero, 2024

Publicado:

23 Enero, 2024

Cita:

Longoria-Espinoza RM, Leyva-Ruiz C, Zamudio-Aguilasocho GM y Félix-Gastélum R. 2024. Caracterización de bacterias endófitas promotoras de crecimiento vegetal en plantas de papa (*Solanum tuberosum*). Revista Mexicana de Fitopatología 42(2): 10. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2310-4>



RESUMEN

Objetivo/Antecedentes. El propósito de esta investigación consistió en evaluar la actividad promotora de crecimiento vegetal *in vitro* de bacterias endófitas aisladas en tejido de plantas de papa variedad Atlantic del municipio de Guasave, Sinaloa, México.

Materiales y Métodos. Se aisló la población de bacterias en medio de cultivo agar Lb; se obtuvieron dos aislados bacterianos de raíz y dos de tallo, los cuatro Gram positivos. La población bacteriana de las muestras de tejido se expresó como (UFC g⁻¹). Se evaluó cualitativamente la capacidad de solubilización de fosfato, producción de quitinasas y sideróforos.

Resultados. Se realizó una secuenciación parcial del gen 16S ADNr, lo que permitió identificar especies de bacterias asociadas dentro de los *Firmicutes*. El 100 % de las cepas se identificaron como *Bacillus* sp. con identidades mayores al 97 %: *B. cereus*, *B. tropicus*, *B. thuringiensis*, *B. fungorum*. Las cepas *B. thuringiensis* y *B. cereus* mostraron actividad positiva en promoción de crecimiento vegetal *in vitro* mediante la solubilización de fosfato, producción de quitinasas y sideróforos. *B. cereus* y *B. tropicus* presentaron capacidad inhibitoria mayor al 50 % para *Sclerotium rolfsii*.

Conclusión. Es relevante continuar en las investigaciones realizadas en laboratorio, con el fin de determinar su potencial en el campo mejorando la producción del cultivo de papa.

Palabras clave: *Bacillus cereus*, antagonismo, sideróforos, quitinasas, hongos fitopatógenos, PGPB.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) constituye el cuarto alimento más sembrado a nivel mundial; en México ocupa el cuarto lugar en superficie sembrada, superado únicamente por los granos básicos maíz (*Zea mays*), frijol (*Phaseolus vulgaris*) y trigo (*Triticum aestivum*) (SADER, 2022). La papa mexicana es altamente valorada en diversos países, por sus propiedades nutritivas y características externas. Además de surtir al mercado interno, los productores mexicanos exportan más de 2,500 toneladas (SADER, 2022). Sin embargo, los plaguicidas químicos (insecticidas, funguicidas, herbicidas) son la forma dominante en el control de plagas, impactando de manera negativa en la biodiversidad de los agro-ecosistemas (Chamorro-Anaya *et al.*, 2020). Actualmente, la investigación se enfoca en el entendimiento de las enfermedades donde eliminar al patógeno no es el objetivo, sino a pesar de su presencia, lograr buenos rendimientos para el agricultor (Rocha *et al.*, 2019); lo que ha incrementado el desarrollo de alternativas ecológicas como la microbiota vegetal, conformada por una gran diversidad de bacterias asociadas a las plantas dentro del tejido foliar, raíz, tallo y semilla sin provocar daño, dichas bacterias son conocidas como endófitas (Hallman *et al.*, 1997; Strobel y Daisy 2003; Huang *et al.*, 2008; Santoyo *et al.*, 2016). Actualmente, existe un gran interés en conocer las actividades benéficas, destacando que la diversidad y densidad de endófitos depende de diversos factores abióticos y bióticos (Pérez-Cordero *et al.*, 2010; Chamorro-Anaya *et al.*, 2020). La interacción bacteria endófito-planta está relacionada en promoción de crecimiento vegetal y biocontrol de fitopatógenos, características importantes para uso agro-biotecnológico (Zgad Zaj *et al.*, 2015; Contreras *et al.*, 2016; Chamorro-Anaya *et al.*, 2020). Los géneros más abundantes reportados como endófitos se encuentran *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Stenotrophomonas*, *Micrococcus*, *Pantoea* y *Microbacterium* (Hallman *et al.*, 1997; Rosenblueth y Martínez-Romero, 2006). El Norte del estado de Sinaloa, se mantiene en primer lugar nacional en cuanto a superficie sembrada de papa, donde la principal problemática es la presencia de plagas y enfermedades asociadas a las condiciones climáticas, así como abuso de plaguicidas derivando resistencia por parte de plagas (SADER, 2022). Dado que existen diversas regulaciones internacionales para importar/exportar productos sin agroquímicos, es necesario implementar estrategias que promuevan el crecimiento vegetal y combatan plagas en los cultivos. No obstante, son pocos los trabajos que han reportado la diversidad de bacterias endófitas en planta de papa; en consecuencia, el objetivo de esta investi-

gación fue identificar y caracterizar potenciales bacterias endófitas promotoras de crecimiento vegetal y capacidad antagonica para hongos fitopatógenos, optimizando así la producción de este tubérculo.

Se recolectaron 30 plantas completas de papa de la variedad Atlantic durante el ciclo 2022-2023 en parcela de la comunidad de El Gallo localizado en Guasave, Sinaloa; México, Longitud (dec): 108 Latitud (dec): 25. Las plantas fueron elegidas al azar y trasladadas al laboratorio para su análisis, separando tejido foliar, raíz y tallo, se lavaron en agua de grifo durante 5 min, retirando cuidadosamente las impurezas adheridas a estas. Posteriormente, el tejido vegetal se desinfectó en etanol al 70 % durante un minuto, se realizaron seis lavados en solución de hipoclorito de sodio al 1 % por 10 min y se adicionó Tween-80 al 10 % (v/v) durante 1 min; finalmente se realizaron seis lavados con agua destilada estéril. Se realizó el aislamiento de bacterias en medio de cultivo agar Lb por triplicado, utilizando la técnica de contacto directo con modificaciones, efectuando cortes transversales y longitudinales al tejido en condiciones asépticas, ubicando el corte de cara al medio de cultivo. Como control de esterilización se tomaron 100 µL de agua destilada del último lavado y se sembró bajo las mismas condiciones del tejido para posteriormente incubar a 27 °C durante ocho días (Yang *et al.*, 2011). Se llevó a cabo la purificación de cepas separando colonias que presentaban una morfología distinta y/o coloración hasta obtener cultivos con características morfológicas similares. La densidad poblacional de bacterias por tejido se determinó a través del conteo directo expresado como unidades formadoras de colonias (UFC g⁻¹). La identificación de posibles bacterias promotoras de crecimiento vegetal para cada uno de aislados se realizó por triplicado; de manera cualitativa se evaluó la capacidad de producción de sideróforos en medio de cultivo agar de cromo azurol S (CAS), donde las colonias con zonas amarillo/naranja se consideraron como cepas productoras de sideróforos a partir de los 20 min y hasta las 24 h de acuerdo a la metodología descrita por Schwyn y Neilands (1987). Se evaluó la producción de quitinasas con el protocolo de Shanmugaiah *et al.* (2008), las colonias con halo claro se consideraron positivas. En placas de agar Pikosvkaya, se evaluó la capacidad de solubilización de fosfato considerando aquellas que formaron halos claros alrededor de la colonia como positivas (Pikosvkaya, 1948). Como control positivo se utilizó la cepa (B25) *Bacillus cereus* (Figueroa-López *et al.*, 2016).

La capacidad antagonica *in vitro* se realizó, enfrentando las bacterias endófitas aisladas de plantas de papa con hongos fitopatógenos: *Phytophthora capsici*, *Fusarium oxysporum*, *Sclerotium rolfsii* y *Colletotrichum coccodes*, aislados de plantas de jitomate (*Solanum lycopersicum*), y chile jalapeño (*Capsicum annuum*), reportados como causantes de la pudrición de raíz en plantas de jitomate por Fernández-Herrera *et al.* (2006). Los hongos fitopatógenos fueron donados por el Centro de

Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD) en Culiacán, Sinaloa. El ensayo se desarrolló utilizando la técnica de cultivo dual en PDA, tres repeticiones para cada evaluación, como control los aislados de hongos fitopatógenos en cultivo puro. Las cajas Petri inoculadas, se incubaron a 28 °C durante 10 días en cámara de crecimiento (Precision Scientific, Model 6LM, Winchester, EUA); el crecimiento radial de las colonias de hongos se midió cada 24 h en patógenos y antagonistas. El halo de inhibición, entre las colonias en confrontación, se midió al octavo día post-incubación (Aquino-Martínez *et al.*, 2008). El antagonismo se evaluó registrando las siguientes variables: crecimiento radial del antagonista (CRA), crecimiento radial del patógeno (CRP) y el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR). El PICR se determinó al sexto día de post-incubación usando la fórmula de Ezziyani *et al.* (2004): $PRGI = [(R1 - R2)/R1] \times 100$, donde R1= crecimiento radial de la colonia testigo (patógeno) y R2= crecimiento radial de la colonia del patógeno en la confrontación *in vitro*.

La identificación molecular se realizó con los oligonucleótidos F2C (5'-AGAG-TTTGATCATGGCTC-3') y C (5'-ACGGGCGGTGTGTAC-3') (Shi *et al.*, 1997), amplificando el gen que codifica la subunidad 16S del ADNr, la purificación del producto de PCR se realizó con el kit Wizard® _SV Gel y PCR Clean-Up System. Posteriormente se envió al Laboratorio Nacional de Genómica para la Biodiversidad (LANGEBIO) en CINVESTAV-IPN para su secuenciación; las secuencias obtenidas se compararon con las depositadas en el GenBank del Centro Nacional para la Información Biotecnológica de los Estados Unidos (NCBI) utilizando el programa BLASTn (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>). El alineamiento de las bases se realizó en el programa Clustal W; las inferencias filogenéticas fueron obtenidas por método Neighbor Joining basado en el modelo kimura-2-parámetro con prueba bootstrap en el programa MEGA X.

Del tejido de las plantas de papa se obtuvieron cuatro cepas morfológicamente diferentes (dos aislados de raíz y dos de tallo), todos Gram positivas y de acuerdo a la secuenciación parcial del gen 16S ADNr, permitió identificar especies asociadas dentro de los *Firmicutes*, las cuatro cepas se identificaron como *Bacillus* sp. con identidades mayores al 97 %: *B. cereus*, *B. tropicus*, *B. thuringiensis* y *B. fungorum* (Figura 1). Los resultados obtenidos coinciden con estudios sobre diversidad en comunidades endófitas de raíz en maíz donde las bacterias asociadas son *Firmicutes* (*Bacillus*), *Gammaproteobacteria* (*Pseudomonas*) y *Burkholderia* spp. (Pereira *et al.*, 2011; Ikeda *et al.*, 2013; Sánchez-Bautista *et al.*, 2018). La capacidad de *B. cereus* PR2 y *B. thuringiensis* PR1 de promover crecimiento vegetal *in vitro*, coincide con lo reportado por Barboza-García *et al.* (2023), evaluando la actividad promotora de crecimiento vegetal *in vitro* de bacterias endófitas aisladas de diferentes tejidos de variedades de arroz, encontrando cepas del género *B. cereus* y *B. thuringiensis*, las cuales presentaron capacidad de promover el crecimiento en cul-

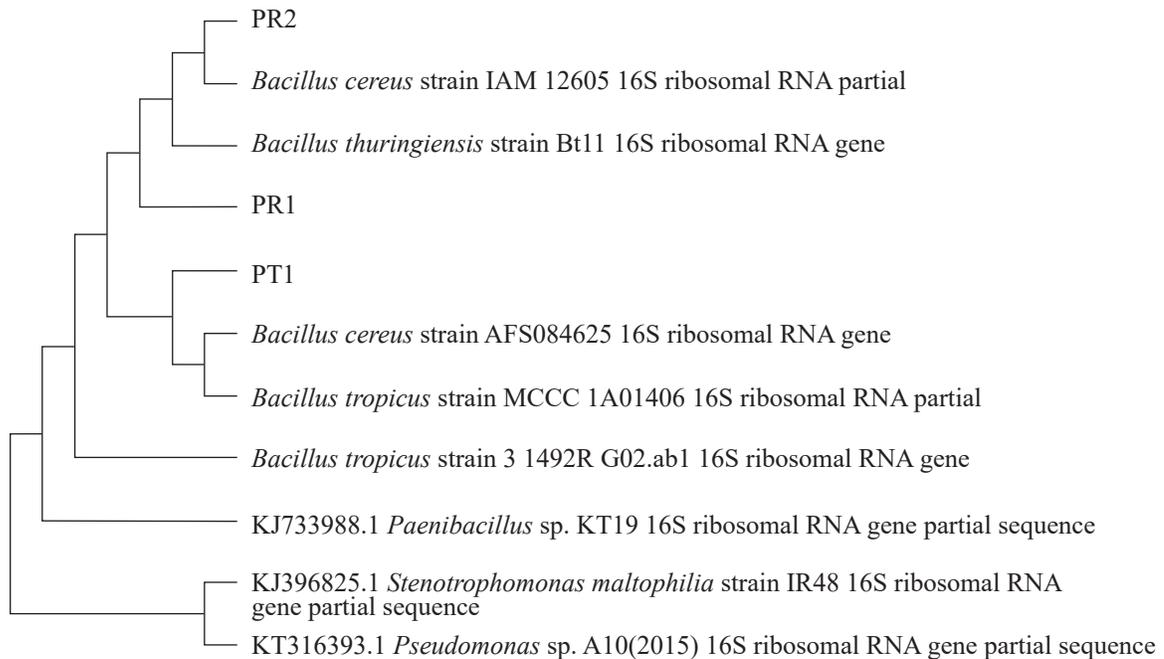


Figura 1. Dendrograma de Neighbor-Joining a partir de las secuencias del gen que codifica la subunidad 16S del ADNr de bacterias endófitas.

tivo de arroz mediante la solubilización de fosfato y producción de sideróforos, coincidiendo con los resultados obtenidos en esta investigación (Cuadro 1). *Bacillus*, es de gran interés en el ámbito de la investigación debido a su gran diversidad fisiológica; miembros de dicho género han sido aislados de especies silvestres de interés comercial como papa, trigo (*Triticum* spp.), arroz (*Oryza sativa*) y caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) (Wang *et al.*, 2019; Hassan, 2017). La actividad promotora de crecimiento está asociada principalmente al aumento de la movilización de fosfato, con un efecto positivo en la promoción del crecimiento vegetal, actividad antagónica, producción de enzimas y sideróforos, que permiten a estos microorganismos ejercer su capacidad biocontroladora e inhibidora entre otras (Kloepper *et al.*, 2004; Tejera-Hernández *et al.*, 2011; Chamorro-Anaya *et al.*, 2020; Barboza-García *et al.*, 2023). Por otra parte, *B. thuringiensis* ha sido reportada como bacteria endófitas con capacidad de solubilizar fosfato y producir sideróforos además de diversos metabolitos como antibióticos y enzimas extracelulares como proteasas y quitinasas, compuestos claves para la supresión de patógenos; coincidiendo con los resultados obtenidos en este trabajo. Adicionalmente, se ha reportado que diversidad de cepas de *B. thuringiensis* son eficaces como control biológico contra *Sclerotinia sclerotiorum*, insectos y nematodos que ocasionan graves problemas en

Cuadro 1. Características relacionadas en promoción de crecimiento vegetal *in vitro* de bacterias aisladas de tejido (raíz, tallo) en plantas de papa recolectadas en parcela del Ejido El Gallo, Municipio de Guasave, Sinaloa, México.

Aislado	Origen	Quitinasa	Sideróforos	Fosfatos
<i>B. cereus</i> ^z (B25)	Maíz	+	+	+
<i>B. cereus</i> (PR2)	Raíz	++	++	+++
<i>B. thuringiensis</i> (PR1)	Raíz	++	++	-
<i>B. tropicus</i> (PT1)	Tallo	+	-	-
<i>B. fungorum</i> (PT2)	Tallo	-	-	+

Ausencia actividad (-); +< 3mm; ++>3<4mm; +++ >4mm. La letra P significa papa, R raíz y T tallo.
^zControl positivo.

cultivos de interés económico (Martínez *et al.*, 2020; Crickmore *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2020; Barboza-García *et al.*, 2023).

En el presente estudio, el efecto antagonístico de los aislados (Cuadro 2); reveló que *B. cereus* PR2, presentó una capacidad inhibitoria superior al 50 % para *P. capsici* y *S. rolfsii*; y *B. tropicus* PT1 un 83.8 % ante *S. rolfsii*, de acuerdo con lo reportado por Govin-Sanjudo *et al.* (2019), donde evaluaron la actividad antagonística de cepas de *Bacillus* endófitas de la planta hiperacumuladora de níquel *Leucocroton havanensis*, frente a los hongos *Alternaria alternata* y a tres especies del género *Fusarium*, donde la cepa *Bacillus* sp. ER11 mostró el mayor porcentaje de inhibición ante los hongos, con valores superiores al 70 % en todos los casos. Existen pocos estudios sobre bacterias endófitas, diversidad, control de fitopatógenos mediante microorganismos antagonistas y su relación con la productividad en cultivo de papa. Este estudio muestra que las bacterias endófitas aisladas inhiben el crecimiento de hongos fitopatógenos, convirtiéndolas en una opción en el manejo integral en este cultivo, por lo que es importante dar continuidad a las investigaciones realizadas en laboratorio para determinar su potencial en campo.

Cuadro 2. Actividad antagonística contra hongos fitopatógenos representada en porcentaje; de bacterias aisladas de tejido (raíz, tallo) en planta de papa recolectada en parcelas del Ejido El Gallo, Municipio de Guasave, Sinaloa, México.

Aislado	<i>C. coccodes</i>	<i>P. capsici</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>S. rolfsii</i>
<i>B. cereus</i> (PR2)	35.03	67.51	6.61	55.29
<i>B. thuringiensis</i> (PR1)	8.12	45.01	20.96	19.22
<i>B. tropicus</i> (PT1)	10.33	13.81	11.85	83.87
<i>B. fungorum</i> (PT2)	5.42	6.04	4.32	21.69

La letra P significa papa, R raíz y T tallo.

AGRADECIMIENTOS

Universidad Autónoma de Occidente, Unidad Regional Guasave, Sinaloa, México.

LITERATURA CITADA

- Aquino-Martínez JG, Vázquez-García LM y Reyes-Reyes BG. 2008. Biocontrol *in vitro* e *in vivo* de *Fusarium oxysporum* Schlecht. f. sp. *dianthi* (Prill. y Delacr.) Snyder y Hans, con hongos antagonistas nativos de la zona florícola de Villa Guerrero, Estado de México. Revista Mexicana de Fitopatología 26:127-137. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1904-3>
- Barboza-García A, Pérez-Cordero A y Chamorro-Anaya L. 2023. Bacterias endófitas aisladas de cultivo de arroz (*Oryza sativa* L.) con actividad promotora de crecimiento vegetal. Revista Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial 21(1): 28-39. <https://doi.org/10.18684/rbsaa.v21.n1.2023.1728>
- Chamorro-Anaya LM, Chamorro-Anaya L M y Pérez-Cordero A. 2020. *Bacillus cereus* bacteria endófitas promotora de crecimiento vegetal. Revista Colombiana Biotecnología 22(18): 18-23. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v22n2.81723>
- Crickmore N, Berry C, Panneer SS, Mishra R, Connor T and Bonning B. 2020. Structure-based nomenclature for *Bacillus thuringiensis* and other bacteria-derived pesticidal proteins. Journal of Invertebrate Pathology 10(1): 74-38. <https://doi.org/10.1016/j.jip.107438>
- Contreras M, Loeza PD, Villegas J, Farias R and Santoyo G. 2016. A glimpse of the endophytic bacterial diversity in roots of blackberry plants (*Rubus fruticosus*). Genetic Molecular Research 15(3):1-10. <https://doi.org/10.4238/gmr.15038542>
- Ezziyyani M, Pérez-Sánchez C, Requena ME, Rubio L and Candela-Castillo ME. 2004. Biocontrol por *Streptomyces rochei*-Ziyani de la podredumbre del pimiento (*Capsicum annum* L.) causada por *Phytophthora capsici*. Anales de Biología 26: 69-78. <http://dx.doi.org/10.31428/10317/4019>
- Fernández-Herrera E, Acosta-Ramos M, Ponce-González F y Manuel-Pinto V. 2007. Manejo biológico de *Phytophthora capsici* Leo., *Fusarium oxysporum* Schlechtend.:Fr. y *Rhizoctonia solani* Kühn en jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Revista Mexicana de Fitopatología 25:35- 42.
- Figueroa-López AM, Cordero-Ramírez JD, Martínez-Álvarez JC, López-Meyer M, Lizárraga-Sánchez GJ, Félix-Gastélum R, Castro-Martínez C and Maldonado-Mendoza IE. 2016. Rhizospheric bacteria of maize with potential for biocontrol of *Fusarium verticillioides*. Springer Plus 5: 330. <https://doi.org/10.1186/s40064-016-1780-x>
- Govin-Sanjudo A, Leal-Sanabria G y López-Hernández D. 2019. Actividad antagonista de bacterias endófitas de *Leucocroton havanensis* Borhidi frente a hongos fitopatógenos. Revista de Protección Vegetal 34(2): e10.
- Hallman JA, Quadt-Hallman WF, Mahaffee and Kloepper JW. 1997. Bacterial endophytes in agricultural crops. Canadian Journal of Microbiology 43: 895- 914. <https://doi.org/10.1139/m97-131>
- Hassan S. 2017. Plant growth-promoting activities for bacterial and fungal endophytes isolated from medicinal plant of *Teucrium polium* L. Journal of advanced research 8(6): 687–695. <https://doi.org/10.1016/j.jare.09.001>
- Huang ZJ, Cai XL, Shao CL, She ZG, Xia XK and Chen YG. 2008. Chemistry and weak antimicrobial activities of phomopsins produced by mangrove endophytic fungus *Phomopsis* sp. ZSU-H76. Phytochemistry 69:1604–1608. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2008.02.002>
- Ikeda CA, Bassani LL, Adamoski D, Stringari D, Cordeiro VK, Glienke C, Steffens MBR, Hungria M and Galli-Terasawa LV. 2013. Morphological and genetic characterization of endophytic bacteria isolated from roots of different maize genotypes. Microbial Ecology 65: 154-160. <https://doi.org/10.1007/s00248-012-0104-0>
- Kloepper JW, Ryu CM and Zhang S. 2004. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. Phytopathology 94: 1259-1266. <https://doi.org/10.1094/phyto.2004.94.11.1259>
- Martínez S, Barboza U, Hernández G and Bideshi D. 2020. Chitinases of *Bacillus thuringiensis*: Phylogeny, modular structure, and applied potentials. Frontiers in microbiology 10(1): 30-32. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2019.03032>

- Pérez-Cordero AF, Rojas-Sierra JN y Fuentes-Cuello JR. 2010. Diversidad de bacterias endófitas asociadas a raíces del pasto colosuana (*Bothriochloa pertusa*) en tres localidades del departamento de Sucre, Colombia. *Acta Biológica Colombiana* 15:219-228. <http://dx.doi.org/10.24188/recia.v2.n1.2010.331>
- Pereira P, Ibáñez F, Rosenblueth M, Etcheverry M and Martínez-Romero E. 2011. Analysis of the bacterial diversity associated with the roots of maize (*Zea mays* L.) through culture-dependent and culture-independent methods. *International Scholarly Research Network*. 1-10. <https://doi.org/10.5402/2011/938546>
- Pikosvkaya R and Pikosvkaya RI. 1948. Mobilization of phosphorus in soil connection with the vital activity of some microbial species. *Microbiology* 17: 362-370.
- Rocha N, Claros M, Calisaya JJ y Ortuño N. 2019. Selección de bacterias endófitas tipo *Bacillus* como promotoras de crecimiento en el cultivo de papa variedad Huaycha (*Solanum tuberosum* subsp. *andigena*). *Revista Latinoamericana de la Papa* 23(1): 14–34. <http://ojs.papaslatinas.org/index.php/rev-alap/index>
- Rosenblueth M and Martínez-Romero E. 2006. Bacterial endophytes and their interactions with hosts. *Molecular Plant-Microbe-Interaction* 19:827-837. <https://doi.org/10.1094/mpmi-19-0827>
- Secretaría Agricultura y Desarrollo Rural (SADER). <https://www.agricultura.gob.mx>
- Sánchez-Bautista A, León-García de A, Carlos D, Aranda-Ocampo S, Zavaleta-Mejía E, Nava-Díaz C, Goodwin PH y Leyva-Mir SG. 2018. Bacterias endófitas de la raíz en líneas de maíces tolerantes y susceptibles a sequía. *Revista Mexicana de Fitopatología* 36(1): 35-55. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1710-3>
- Santoyo G, Moreno-Hagelsieb G, Orozco-Mosqueda MC and Glick BR. 2016. Plant growth-promoting bacterial endophytes. *Microbiological Research* 183:92-99. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.11.008>
- Schwyn B and Neilands JB. 1987. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Analytical Biochemistry* 160:47-56. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(87\)90612-9](https://doi.org/10.1016/0003-2697(87)90612-9)
- Shanmugaiah V, Mathivanan N, Balasubramanian N and Manoharan PT. 2008. Optimization of cultural conditions for production of chitinase by *Bacillus laterosporus* MML2270 isolated from rice rhizosphere soil. *African Journal of Biotechnology* 7(15): 2562-2568. <http://www.academicjournals.org/AJB>
- Shi T, Reeves RH, Gilichinsky DA and Friedmann EI. 1997. Characterization of viable bacteria from Siberian permafrost by 16S rDNA sequencing. *Microbial Ecology* 33:169-179. <https://doi.org/10.1007/s002489900019>
- Strobel G; Daisy B. 2003. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 67(4):491-502. <https://doi.org/10.1128/mmr.67.4.491-502.2003>
- Tejera-Hernández B, Rojas-Badía MM y Heydrich-Pérez M. 2011. Potencialidades del género *Bacillus* en la promoción del crecimiento y el control biológico de hongos fitopatógenos. *Revista del Centro Internacional de Investigaciones CNIC* 42(3): 131-138. <https://doi.org/10.15517/am.v24i2.12535>
- Yang CJ, Zhang XG, Shi GY, Zhao HY, Chen L, Tao KY and Hou TP. 2011. Isolation and identification of endophytic bacterium W4 against tomato *Botrytis cinerea* and antagonistic activity stability. *African Journal of Microbiology* 5(2):131-136 <http://dx.doi.org/10.5897/AJMR10.815>
- Wang C, Rong L, Zhongqi H, Yongchun Z, Yeni W, Xiaohan H.Z. 2019. Cadmium-resistant rhizobacterium *Bacillus cereus* M4 promotes the growth and reduces cadmium accumulation in rice (*Oryza sativa* L.). *Environmental Toxicology and Pharmacology* 7(2):103-111. <http://dx.doi.org/10.1016/j.etap.2019.103265>
- Wang M, Geng L, Xiaoxiao S, Changlong S, Fuping S and Jie Z. 2020. Screening of *Bacillus thuringiensis* strains to identify new potential biocontrol agents against *Sclerotinia sclerotiorum* and *Plutella xylostella* in *Brassica campestris* L. *Biological Control* 279 (1): 104-262. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104262>
- Zgadzaj R, James EK, Kelly S, Kawaharada Y, Jonge N and Jensen DB. 2015. A legume genetic framework controls infection of nodules by symbiotic and endophytic bacteria. *PLOS Genetics* 11:e1005280. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1005280>