

UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE AGRONOMÍA



**CAPACIDAD ENDOFÍTICA DE BACTERIAS RIZOSFÉRICAS DEL GÉNERO
BACILLUS EN TOMATE (*SOLANUM LYCOPERSICUM*)**

POR

MARJORIE SOLANGE OYARCE SEPÚLVEDA

**MEMORIA PRESENTADA A LA
FACULTAD DE AGRONOMÍA DE LA
UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
PARA OPTAR AL TÍTULO DE
INGENIERO AGRÓNOMO.**

**CHILLÁN – CHILE
2024**

UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE AGRONOMÍA

**CAPACIDAD ENDOFÍTICA DE BACTERIAS RIZOSFÉRICAS DEL GÉNERO
BACILLUS EN TOMATE (*SOLANUM LYCOPERSICUM*)**

POR

MARJORIE SOLANGE OYARCE SEPÚLVEDA

**MEMORIA PRESENTADA A LA
FACULTAD DE AGRONOMÍA DE LA
UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
PARA OPTAR AL TÍTULO DE
INGENIERO AGRÓNOMO.**

**CHILLÁN – CHILE
2024**

Aprobada por:

Profesor Asociado, Macarena Gerding G.
Ing. Agrónomo, Ph.D.

Guía

Profesor Asociado, Marisol Vargas C.
Ing. Agrónomo, Dr.

Asesor

Profesor Asistente, Miguel Garriga C.
Lic. Biología, Dr.

Asesor

Profesor Asociado, Guillermo Wells M.
Ing. Agrónomo, Mg. Cs.

Decano

TABLA DE CONTENIDOS

	Página
Resumen	1
Summary.....	1
Introducción	2
Materiales y Métodos	5
Resultados y Discusión	7
Conclusiones	14
Referencias	14

INDICE DE FIGURAS Y TABLAS

	Página
Figura 1 Población de bacterias rizosféricas de diferentes cepas de <i>Bacillus</i> spp. en la rizósfera de tomates.	8
Figura 2 Unidades formadoras de colonias de la cepa bacteriana endófito AG-86 que fueron inoculadas en hojas, tallos y raíces, evaluadas a los 15, 21, 35 y 42 días post-inoculación.....	9
Figura 3 Unidades formadoras de colonias de la cepa bacteriana endófito AG-91 que fueron inoculadas en hojas, tallos y raíces, evaluadas a los 15, 21, 35 y 42 días post-inoculación.	10
Figura 4 Unidades formadoras de colonias de la cepa bacteriana endófito AG-92 que fueron inoculadas en hojas, tallos y raíces, evaluadas a los 15, 21, 35 y 42 días post-inoculación.....	12
Figura 5 Unidades formadoras de colonias de la cepa bacteriana endófito AG-93 que fueron inoculadas en hojas, tallos y raíces, evaluadas a los 15, 21, 35 y 42 días post-inoculación.....	13
Figura 6 Unidades formadoras de colonias de la cepa bacteriana endófito AG-98 que fueron inoculadas en hojas, tallos y raíces, evaluadas a los 15, 21, 35 y 42 días post-inoculación.....	14
Tabla 1 Cepas de bacterias rizosféricas del género <i>Bacillus</i> utilizadas en este estudio	5

CAPACIDAD ENDOFÍTICA DE BACTERIAS RIZOSFÉRICAS DEL GÉNERO *BACILLUS* EN TOMATE (*SOLANUM LYCOPERSICUM*)

ENDOPHYTIC CAPACITY OF RHIZOSPHERIC BACTERIA OF THE GENUS *BACILLUS* IN TOMATO (*SOLANUM LYCOPERSICUM*)

Palabras índice adicionales: Promoción de crecimiento, bacterias endófitas

RESUMEN

Las bacterias endófitas son descritas como promotoras del crecimiento vegetal y mejoran la resistencia de la planta a condiciones de estrés biótico y abiótico. Estas bacterias estimulan el crecimiento de plantas a través de movilización de nutrientes, fijación biológica de nitrógeno y solubilización de fósforo. Además, se caracterizan por residir la mayor parte de su ciclo en los tejidos internos de la planta sin causar daños a su huésped. Este trabajo tiene por objetivo evaluar la presencia de distintas bacterias del género *Bacillus* en la rizósfera y en tejidos internos de distintas fracciones de la planta de tomate (*Solanum lycopersicum*). Se utilizaron cinco cepas bacterianas rizosféricas del género *Bacillus spp.* en las que se evaluó la capacidad endofítica desde la inoculación hasta 42 días después de la emergencia. Se verificó la presencia de bacterias en la rizósfera inmediatamente después de la inoculación y durante el transcurso del experimento, observándose que las poblaciones de cepas bacterianas fueron siempre estadísticamente similares. De las bacterias evaluadas, *Bacillus thuringiensis* AG-86, y *B. safensis* cepas AG-91 y AG-92, fueron reaisladas desde tejido interno de tallo y raíz de tomate y son, por tanto, consideradas endofíticas.

SUMMARY

Endophytic bacteria have been described as plant growth promoters and can improve plant resistance to biotic and abiotic stresses. These bacteria can stimulate

plant growth through nutrient mobilization, biological nitrogen fixation and phosphorus solubilization. Furthermore, they are characterized by residing most of their cycle in the internal tissues of the plant without causing damage to their host. The objectives of this work were to evaluate the presence of different bacteria of the genus *Bacillus* in the rhizosphere and internal tissues of different fractions of the tomato plant (*Solanum lycopersicum*). Five rhizospheric bacterial strains of the genus *Bacillus* spp. were used, and their endophytic capacity was evaluated from inoculation to 42 days after emergence. The presence of bacteria in the rhizosphere was verified immediately after inoculation and during the experiment, and it was observed that the populations were always statistically similar between bacterial strains. Of the bacteria evaluated, *Bacillus thuringiensis* AG-86, and *B. safensis* strains AG-91, and AG-92 were re-isolated from the internal tissues of tomato stems and roots and were therefore considered endophytic.

INTRODUCCIÓN

Las plantas pueden desarrollar asociaciones con miembros de su ecosistema para prosperar en sus entornos naturales. Entre estos, los microorganismos juegan un rol importante ya que pueden asociarse simbióticamente con las plantas (Imran *et al.*, 2019).

Entre los microorganismos que pueden desarrollar asociaciones beneficiosas con las plantas encontramos aquellos que habitan en la rizósfera, área del suelo que se encuentra unida a la raíz y que se extiende a pocos milímetros de la superficie del sistema radicular. Estos microorganismos facilitan la absorción de nutrientes y agua, producen sustancias que estimulan el crecimiento vegetal, fijan nitrógeno atmosférico, reducen formas nitrogenadas, solubilizan fosfatos insolubles, movilizan cationes, mejoran la resistencia de la planta a condiciones de estrés hídrico y suelos salinos y aumentan la resistencia al ataque de hongos patógenos (Velasco *et al.*, 2020).

También se encuentran los microorganismos filosféricos, que habitan la superficie de las hojas, las que proporcionan un hábitat natural para su crecimiento y multiplicación (Bashir *et al.*, 2022). Estos promueven el crecimiento de la planta de

diferentes formas ya sea mediante la producción de hormonas de crecimiento como ácido indol acético (IAA) o a través de la fijación de nitrógeno (Carvalho *et al.*, 2020).

Por otra parte, se encuentran los microorganismos endófitos, que son los que habitan el interior de diferentes tejidos de la planta como raíces, tallos y hojas. Es en este hábitat donde pueden intercambiar nutrientes, producir sustancias que estimulen el crecimiento vegetal o promover mecanismos de defensa contra patógenos invasores (Londoño y Quintero 2015). Los endófitos colonizan el interior de las plantas sin causarles daño aparente por lo que pueden pasar parte o la totalidad de su ciclo de vida en su interior forma asintomática (White *et al.*, 2019).

Entre los microorganismos endófitos se encuentran hongos y bacterias. Los hongos son organismos eucariontes, que pueden asociarse a plantas influyendo positivamente en la fisiología y en el desarrollo de estas (Mirabal y Ortega, 2008). Dentro de los hongos endófitos los más reconocidos son los hongos micorrízicos, que son endófitos de las raíces y aumentan la capacidad de absorber nutrientes y agua por la extensión de sus hifas y exploración del suelo. (Camarena, 2012). También existe hongos que colonizan tallos y hojas contribuyendo al crecimiento de la planta y protección frente a plagas y enfermedades (Barra *et al.*, 2021).

Las bacterias endófitas han sido descritas como promotoras del crecimiento de las plantas y por proteger a su planta huésped contra patógenos, herbívoros y estrés abiótico, como sequía, salinidad o contaminación (Jakub *et al.*, 2020). Estas bacterias confieren mayores ventajas ecológicas a la planta que las poblaciones bacterianas que colonizan en forma epífita (Sánchez *et al.*, 2018). Se ha descrito que estimulan el crecimiento de plantas a través de la movilización de nutrientes, por ejemplo, mediante fijación biológica de nitrógeno y solubilización del fósforo, producen numerosos reguladores del crecimiento vegetal y enzimas que confieren resistencia a factores abióticos (Langner *et al.*, 2018; Pérez *et al.*, 2013), protegen las plantas de fitopatógenos mediante control o inhibición de estos, así como por mejorar la estructura del suelo, los procesos de biorremediación de los suelos contaminados por el secuestro de metales pesados tóxicos y degradan compuestos xenobióticos dentro de los tejidos vegetales (Pérez *et al.*, 2013). Las bacterias endófitas se caracterizan por residir la mayor parte de su ciclo en los tejidos internos

de la planta sin causar daño a su huésped, formando pequeños agregados dispersos en los tejidos/ órganos de la planta donde ocurre el intercambio de nutrientes, promoviendo la actividad metabólica del microorganismo y, a su vez, mejora el desempeño de la planta hospedante (Franco *et al.*, 2021).

En estudios realizados por (Sánchez *et al.*, 2018) se describieron diferentes bacterias endófitas de la raíz en líneas de maíces tolerantes y susceptibles a sequía y se identificaron tres grupos de bacterias endófitas. En el primer grupo, categorizado como altamente frecuentes, se encontraron *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium* y *Pseudomonas geniculata*. En el segundo grupo, llamado frecuentes, se encontró *Bacillus firmus*, *Pseudomonas hibiscola* y *Sinorhizobium meliloti*. Mientras que, en el último grupo, de baja frecuencia, se encontraron *Acinetobacter soli* y *Stenotrophomonas maltophilia*.

En otro estudio, realizado por Regueira (2018) en endófitos promotores del crecimiento vegetal del tomate, se identificaron bacterias pertenecientes a los géneros *Bacillus*, *Microbacterium*, *Micrococcus* y la especie *Paenibacillus polymyxa*.

La Facultad de Agronomía cuenta con una colección de bacterias promotoras de crecimiento vegetal que han sido validadas en cuanto a su efecto de biocontrol y/o promoción de crecimiento de la planta a partir de la nutrición y las hormonas. Estas han sido aisladas desde la exorizósfera, endorizósfera y rizoplaneo, y han sido identificadas en su mayoría como pertenecientes a los géneros *Bacillus* y *Pseudomonas* (Sepúlveda, 2013; Reyes *et al.*, 2019; Cedeño *et al.*, 2018), sin embargo, se desconoce su habilidad endofítica.

El tomate es la hortaliza más cultivada en el mundo, en la última década ha tenido un alza gradual en superficie y producción (Muñoz, 2021). En Chile el tomate ocupa el primer lugar en la canasta familiar, es decir es la hortaliza a la que las familias le destinan mayores recursos siendo el tercer cultivo hortícola con mayor superficie en Chile (Muñoz, 2021). Al ser una hortaliza de trasplante está sometida a diversos factores de estrés los cuales pueden ser subsanados con la inoculación bacteriana. Existen antecedentes del efecto de bacterias rizosféricas nativas de Chile en tomate, tanto en la disponibilidad de nutrientes (Reyes *et al.*, 2019) como en la tolerancia a factores de estrés (Astroza, 2018; Medina, 2017; Rivas, 2017), sin

embrago se desconoce su capacidad de colonizar tejidos de este cultivo. Los objetivos de este trabajo fueron evaluar la colonización de diferentes cepas bacterianas del género *Bacillus* en la rizósfera y en los tejidos internos de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*).

MATERIALES Y MÉTODOS

Antecedentes generales

Se estableció un ensayo para evaluar la capacidad endofítica y la estrategia de colonización de diferentes cepas de *Bacillus spp.* en tomate. La multiplicación de las bacterias y el re-aislamiento desde tejido vegetal se realizó en el laboratorio de Bacteriología de la Facultad de Agronomía. El ensayo en planta se llevó a cabo en el Fitotrón en el edificio Humberto Serri Gallegos de la estación Experimental “El Nogal”, de la Facultad de Agronomía, Universidad de Concepción. Las condiciones del fitotrón fueron: temperatura de 24 ± 2 °C, con luz LED para crecimiento vegetativo y bajo condiciones asépticas.

Material bacteriano

Para la evaluación de la colonización endofítica de bacterias se utilizaron cinco cepas de bacterias del género *Bacillus* (Tabla 1), pertenecientes a la colección de microorganismos de la Facultad de Agronomía, Universidad de Concepción. Las cinco cepas bacterianas se activaron desde criopreservación, cultivándolas en placas Petri con agar nutritivo. Una vez desarrolladas las colonias las cepas fueron suspendidas homogéneamente en matraces con 30 mL de caldo nutritivo, luego fueron llevadas a una incubadora a 25 °C, en agitación, por aproximadamente 48 h. A partir de cultivo fresco se midió la densidad óptica en un espectrofotómetro a 600 nm, estandarizando las suspensiones bacterianas a una densidad óptica (DO) de 0,1 (equivalente a 10^7 UFC mL⁻¹) en 100 mL.

Preparación de material vegetal y sustrato

El ensayo de colonización endofítica se realizó en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum L.*) cultivar Cal Ace® de Anasac. Las semillas de tomate fueron desinfectadas en etanol al 95% por 30 s y en solución de hipoclorito de sodio por 90 s seguido de cinco lavados en agua destilada estéril, luego fueron sembradas en

bandejas con sustrato inerte de arena perlita (1: 1) esterilizado en autoclave a 120°C por 15 minutos. Se sembraron 264 semillas de tomate.

Tabla 1. Cepas de bacterias rizosféricas del género *Bacillus* utilizadas en este estudio.

Cepa	Especie	Hospedero	Lugar de origen	Características
AG-86	<i>B. thuringiensis</i>	Achicoria industrial	Selva Negra, Bulnes	Solubilización de fósforo
AG-91	<i>B. safensis</i>	Brócoli	Coihueco	Actividad ACC-desaminasa
AG-92	<i>B. safensis</i>	Apio	Coihueco	Actividad ACC-desaminasa
AG-93	<i>B. safensis</i>	Ají	Coihueco	Actividad ACC-desaminasa
AG-98	<i>B. subtilis</i>	Lechuga	Coihueco	Fijación de N

Establecimiento del ensayo

El ensayo tuvo un diseño experimental de bloques completos al azar con seis tratamientos que correspondieron a las cinco cepas bacterianas (Tabla 1) más un testigo sin inoculación bacteriana. La unidad experimental estuvo constituida por seis plantas de la bandeja, con cuatro repeticiones por tratamiento. Cada bandeja representó un bloque del experimento

Al momento de la emergencia de plántulas se realizó la inoculación. Se evaluó la capacidad endofítica a los 15, 21, 35 y 42 días después de la emergencia. En cada muestreo se utilizó una planta por unidad experimental, ya que las evaluaciones fueron destructivas.

Evaluaciones

Colonización endofítica. Se extrajeron las plantas de tomate de la maceta sin dañar las raíces. Se lavaron las raíces en agua potable para lograr extraer la mayor cantidad de residuos, se separaron cada estructura de la planta, mediante cortes en raíces, tallos y hojas. Las estructuras fueron desinfectadas en etanol 70 % por 15

segundos, luego en hipoclorito de sodio 1,5 % durante tres minutos, nuevamente en etanol 70 % por 15 s y finalmente se realizaron tres lavados en agua destilada estéril por 1 minuto cada uno y se dejaron sobre papel absorbente estéril para su secado. Finalizada la desinfección se fragmentaron las estructuras, raíz, tallo y hoja de la planta con una tijera estéril, se depositaron los tejidos en solución salina (0,89 % (p/v) NaCl) estéril, se agitaron en vortex y se dejaron incubar durante 2 h. Se colocó 0,1 mL de la suspensión en placas con agar nutritivo estándar para bacterias (DIFCO) y se distribuyó con una varilla de vidrio estéril. Parte de la estructura radical de cada unidad experimental se mantuvo sin desinfección para evaluar la presencia de las bacterias en la rizósfera. Esta muestra fue depositada en tubos con 10 mL de solución salina previamente esterilizada, los que fueron agitados en Vórtex por dos minutos. Luego, se extrajeron 1,5 mL de suspensión que fueron transferidos a tubos estériles. Esta suspensión rizosférica fue diluida en solución salina estéril hasta la dilución 10^{-3} . De esta última dilución se depositaron 0,1 mL sobre Agar nutritivo estándar en placas Petri la que fue distribuida con una varilla de vidrio.

Todas las placas inoculadas fueron llevadas a incubación a 25 ° C durante 48 h o hasta la aparición de colonias. Una vez cuantificadas las colonias, se multiplicó por la dilución utilizada y por el factor de dilución (10) para obtener las unidades formadoras de colonia (UFC).

Análisis de datos

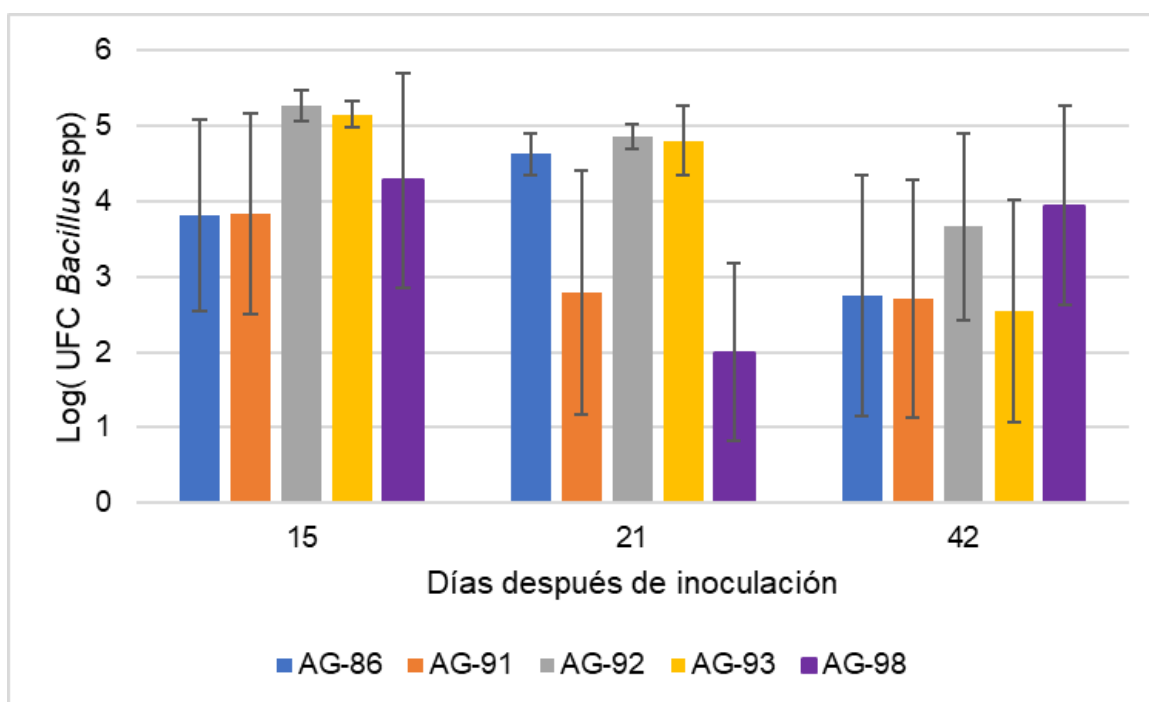
Las poblaciones de bacterias rizosféricas de las diferentes cepas fueron comparadas mediante análisis de varianza ($P \leq 0,05$), previa comprobación de los supuestos. Las UFC de *Bacillus* fueron comparadas para cada cepa bacteriana y fracción de la planta con respecto al tratamiento sin inoculación mediante un análisis de t-student ($P \leq 0,05$), previa comprobación de los supuestos del análisis. Todos los análisis fueron realizados en el software Infostat.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se verificó presencia de bacterias en la rizósfera inmediatamente después de la inoculación y durante el transcurso del experimento, observándose que las poblaciones fueron siempre estadísticamente similares entre cepas bacterianas (P

> 0,05). Después de 15 días de la aplicación, las bacterias aún estaban presentes a un nivel cercano a 10^5 UFC y este valor tendió a disminuir a medida que transcurrió el tiempo (Figura 1). Las poblaciones rizosféricas dependen de los exudados secretados por las plantas lo que puede generar que muchas veces las poblaciones disminuyan o aumenten dependiendo de la especie a la que se asocian (Doornbos *et al.*, 2012). En este estudio las cepas inoculadas habían sido previamente aisladas desde la rizósfera de otros cultivos (Sepúlveda, 2014; Sepúlveda, 2017), lo que pudo dificultar su adaptación a otros tipos de exudados.

Figura 1. Población de bacterias rizosféricas de diferentes cepas de *Bacillus* spp. (AG-86, AG-91, AG-92, AG-93 y AG-98) en la rizósfera de tomates.

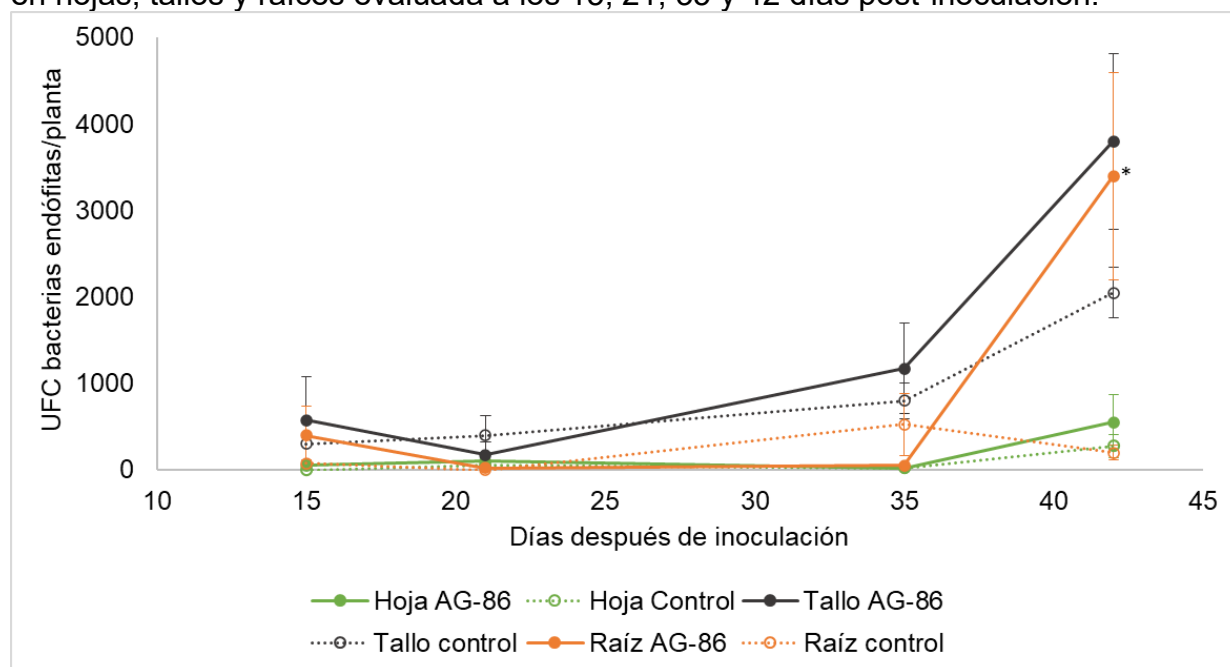


* Líneas verticales representan el error estándar de la media

La presencia de la cepa bacteriana *Bacillus thuringiensis* AG-86 en hojas, tallos y raíces de *S. lycopersicum* evaluada a los 15, 21, 35 y 42 días post-inoculación se muestra en la Figura 2. En las primeras tres mediciones no hubo diferencias significativas entre las plantas sin inoculación en comparación con las plantas inoculadas con AG-86 ($P > 0,05$). En el día 42 se observaron diferencias a nivel de raíz, donde se obtuvo una mayor población de bacterias presentes en las plantas

inoculadas con AG-86 ($P < 0,05$). La capacidad de colonización endofítica y la relación endófito-planta dependen de varios factores, como condiciones de crecimiento, especie y/o variedad del hospedero, capacidad invasiva del aislamiento utilizado y concentración y modo de inoculación del endófito a la planta (Sánchez *et al.*, 2017; Ramakuwela *et al.*, 2019).

Figura 2. Unidades formadoras de colonias de la cepa bacteriana endofita AG-86 en hojas, tallos y raíces evaluada a los 15, 21, 35 y 42 días post-inoculación.



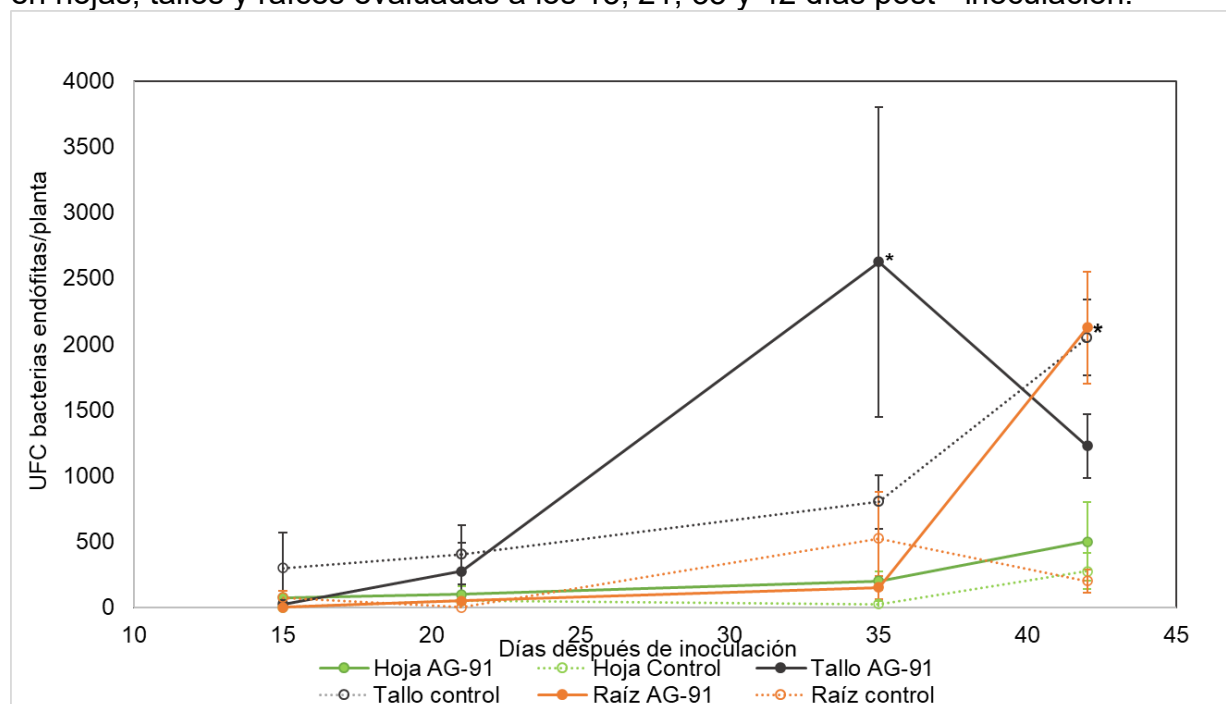
* Indica diferencias significativas según t-student ($P \leq 0,05$).

En el trabajo realizado por Hongwei y colaboradores (2017) indican que las bacterias endofitas son capaces de colonizar tanto intracelular como extracelularmente al interior de las plantas. Además, señalan que, a pesar de haber sido detectadas en todas las partes de la planta, las raíces, al tener contacto más íntimo con el suelo, pueden funcionar como la primera vía para el reclutamiento de las bacterias endofitas. Los endófitos se pueden clasificar en tres categorías principales según el enfoque que adoptan mientras viven dentro de las plantas. Los endófitos obligados son microorganismos que no pueden reproducirse fuera del tejido vegetal y la mayoría de las veces se transfieren a través de semillas en lugar de desarrollarse en el suelo rizosférico (Hardoim *et al.*, 2015). Los endófitos

facultativos son microorganismos que viven libremente en el suelo, pero pueden colonizar las raíces de las plantas, utilizando un enfoque sistemático. Por último, los endófitos pasivos son microorganismos que originalmente no tienen la intención de colonizar los tejidos de la planta, pero terminan colonizándolos debido a eventos como heridas en los pelos radiculares (Hardoim *et al.*, 2015).

La presencia de la cepa bacteriana AG-91 en hojas, tallos y raíces de *S. lycopersicum* evaluada a los 15, 21, 35 y 42 días post-inoculación se muestra en la Figura 3.

Figura 3. Unidades formadoras de colonias de la cepa bacteriana endófito AG-91 en hojas, tallos y raíces evaluadas a los 15, 21, 35 y 42 días post - inoculación.



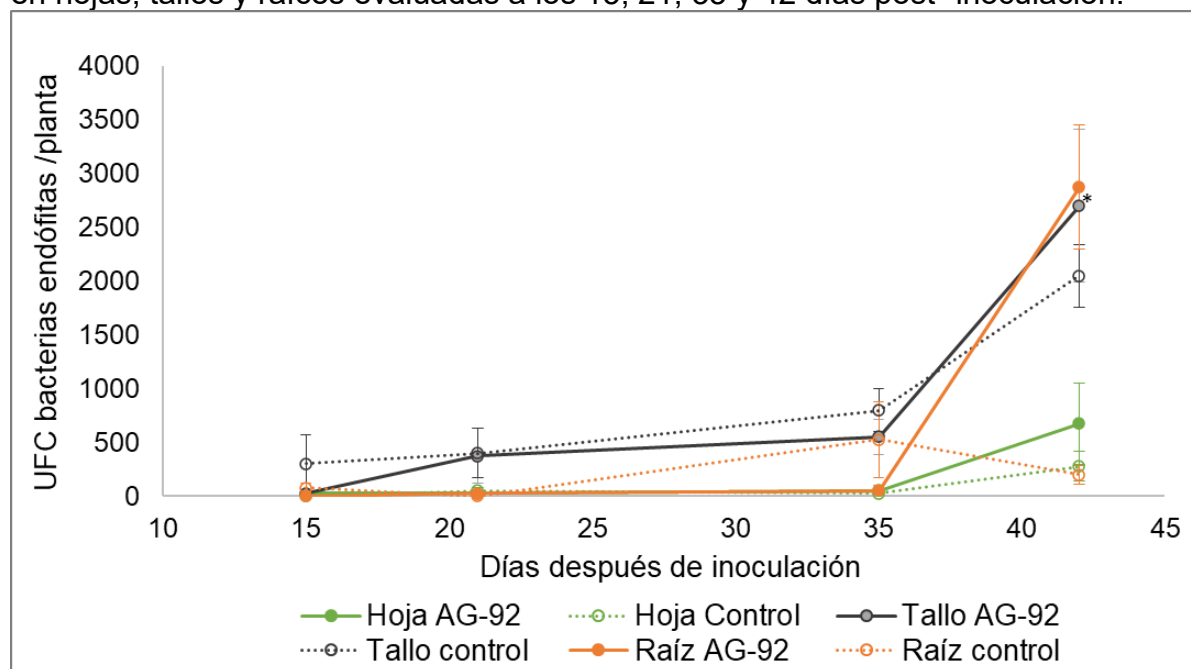
* Indica diferencias significativas según t-student ($P \leq 0,05$).

Se observaron diferencias significativas en UFC de AG-91 en los días 35 y 42 de posterior a la inoculación ($P \leq 0,05$). Si bien en los primeros 21 días después de la inoculación no se detectó diferencia entre las plantas sin inoculación y las inoculadas con AG-91, a partir del día 35 se observó una mayor población bacteriana a nivel de tallo, en plantas inoculadas, y al finalizar el ensayo, el día 42, la población de bacterias fue mayor en las raíces de plantas inoculadas ($P \leq 0,05$). A diferencia de las demás fracciones de la planta, en el tallo de las plantas

inoculadas disminuyeron las UFC en el último día de evaluación, observándose un aumento en el tallo del control sin inoculación. La colonización endofítica del huésped por parte de las bacterias está determinada por distintas habilidades de las bacterias que regulan todo el proceso de colonización de las plantas (De Weert *et al.*, 2002; Rosenblueth y Martínez, 2006). La colonización generalmente comienza desde las raíces y requiere el reconocimiento de compuestos específicos en los exudados de la raíz por parte de las bacterias endofíticas (De Weert *et al.*, 2002; Rosenblueth y Martínez, 2006). Las plantas producen estos exudados de las raíces para interactuar con las bacterias beneficiosas para su propia ventaja ecológica (Compant *et al.*, 2005).

La presencia de *Bacillus safensis* AG-92 en hojas, tallos y raíces de *S. lycopersicum* evaluada a los 15, 21, 35 y 42 días post-inoculación, se muestra en la Figura 4.

Figura 4. Unidades formadoras de colonias de la cepa bacteriana endofita AG-92 en hojas, tallos y raíces evaluadas a los 15, 21, 35 y 42 días post- inoculación.



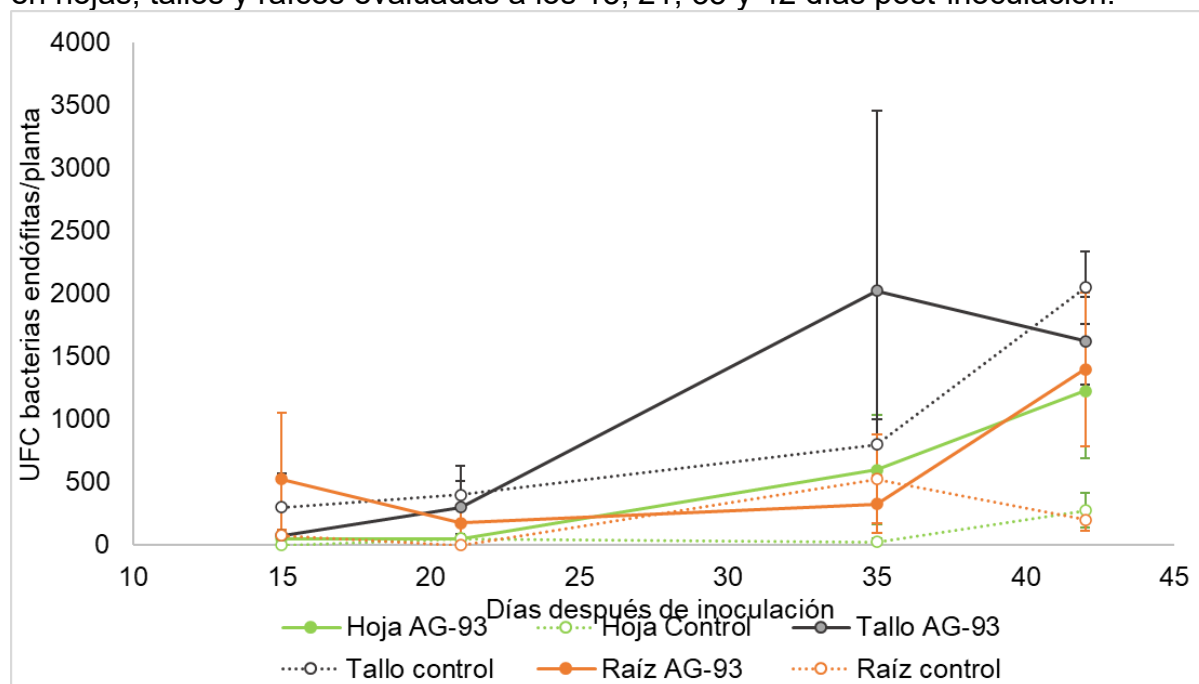
* Indica diferencias significativas según t-student ($P \leq 0,05$).

En los primeros 35 días no se observaron diferencias entre las plantas inoculadas con AG-92 versus las plantas sin inoculación. En el día 42 se determinaron poblaciones bacterianas significativamente mayores en la raíz de plantas

inoculadas con AG-92 en comparación con las plantas control ($P \leq 0,05$), lo que indica que la bacteria AG-92 tiene capacidad endofítica en la raíz. Las bacterias endófitas pueden actuar directamente sobre el desarrollo y crecimiento de las plantas mediante la regulación de fitohormonas asociadas a crecimiento o estrés. Asimismo, pueden proteger la planta de diversos estreses bióticos, mediante competencia directa con patógenos por nutrientes (Castro *et al.*, 2022). La cepa AG-92, además de su capacidad endofítica, ha mostrado efectos promotores de crecimiento en tomate en condiciones de déficit hídrico, logrando mayor desarrollo aéreo y mayor volumen de raíces debido a su capacidad para producir ácido indol acético y la enzima ACC-desaminasa (Medina, 2017; Astroza, 2018). El hecho que AG-92 además tenga la habilidad de sobrevivir y colonizar los tejidos de la raíz, le da una ventaja frente a otros inoculantes ya que podría sobrellevar de mejor manera la competencia en el suelo y los estreses abióticos a los que está expuesta (Wang *et al.*, 2009).

El recuento bacteriano de la cepa AG-93 en tallos, raíces y hojas de *S. lycopersicum* posterior a su inoculación se muestra en la Figura 5.

Figura 5. Unidades formadoras de colonias de la cepa bacteriana endófitas AG-93 en hojas, tallos y raíces evaluadas a los 15, 21, 35 y 42 días post-inoculación.

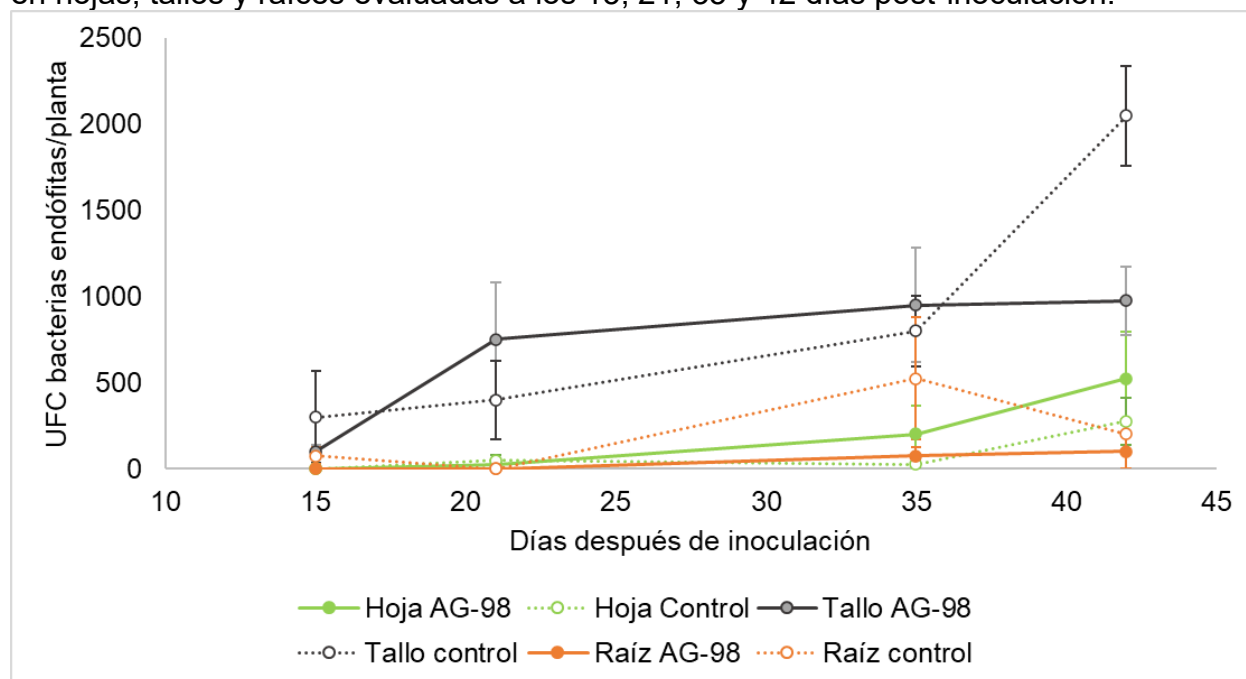


* Indica diferencias significativas según t-student ($P \leq 0,05$).

Si bien al día 35 de muestreo se observó una mayor presencia de bacterias en el tallo, no hubo diferencias significativas ($P > 0,05$) con las plantas sin inocular, descartándose la capacidad de colonización endofítica de la cepa AG-93 en tomate.

La cepa AG-93 se caracteriza por producir la enzima ACC-desaminasa y AIA (Astroza, 2018) y es inductora de tolerancia a estrés hídrico y salino en tomate (Medina, 2017; Astroza, 2018). Es probable que esta cepa, requiera de los exudados de las raíces para producir las enzimas y hormonas, y no cuenta con los mecanismos para ingresar a la planta de tomate, ya que esta bacteria fue aislada originalmente de la endorizósfera de lechuga (Sepúlveda, 2013; Reyes *et al.*, 2019). La cepa de *Bacillus subtilis* AG-98 fue originalmente aislada desde tejido internos de la raíz de lechuga (Sepúlveda, 2014), sin embargo, al igual que AG-93, no fue capaz de colonizar tejidos de hojas, tallos y raíces en tomate durante los 42 días de evaluación, como se muestra en la Figura 6, ya que no hubo diferencias significativas en las poblaciones de AG-98 entre plantas inoculadas no inoculadas ($P > 0,05$).

Figura 6. Unidades formadoras de colonias de la cepa bacteriana endófito AG-98 en hojas, tallos y raíces evaluadas a los 15, 21, 35 y 42 días post-inoculación.



* Indica diferencias significativas según t-student ($P \leq 0,05$).

Las bacterias endófitas son en su mayoría de origen rizosférico pudiendo ingresar a la planta a través de lenticelas y/o por roturas en las zonas de emergencia de pelos radiculares (Santoyo *et al.*, 2016), sin embargo, la semilla también ha sido descrita como una vía de transmisión vertical de bacterias endófitas promotoras del crecimiento (Bergna *et al.*, 2018). Ciertas asociaciones con bacterias endófitas han sido capaces de desplazar y evitar la colonización por fitopatógenos en tomate. (Bergna *et al.*, 2018) demostraron que las bacterias endófitas asociadas a la semilla de tomate son particularmente benéficas y promotoras del crecimiento de la planta. Los antecedentes descritos de bacterias endófitas en semilla podrían explicar la presencia de bacterias en los controles sin inoculación, a pesar de haber desinfectado semilla y haber usado sustrato estéril. Sin embargo, la diferencia significativa entre plantas con y sin inoculación, permiten confirmar la capacidad de colonización de bacterias rizosféricas promotoras del crecimiento vegetal. Esto estaría demostrando que el rol promotor de crecimiento y protector para la planta (Reyes *et al.*, 2019; Medina, 2017) podría estar sucediendo desde tejidos internos de la planta, en donde las bacterias pueden además permanecer protegidas de factores de estrés y libres de la competencia que imponen las bacterias rizosféricas y del suelo.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos permiten confirmar la capacidad endofítica de las cepas rizosféricas *Bacillus thuringiensis* (AG-86) y *Bacillus safensis* (AG-92) en raíces y *Bacillus safensis* (AG-91) en raíz y tallo de tomate a partir de la inoculación a la raíz. Las cepas rizosféricas de *Bacillus safensis* (AG-93) y *Bacillus subtilis* (AG-98) no son capaces de colonizar tejidos internos en tomate.

REFERENCIAS

1. Astroza, S.G.D. D .2018. Respuesta de plantas de tomate inoculadas con bacterias productoras de ACC- Desaminasa al estrés por salinidad. Memoria de título, Ingeniero Agrónomo. Universidad de Concepción, Facultad de Agronomía. Chillán, Chile.

2. Barra,L., M.Gerding ,A.France, G.Silva, M.Guerra, and P. Vergara. 2021. *Beauveria bassiana* Multifunction as an Endophyte: Growth Promotion and Biologic Control of *Trialeurodes vaporariorum*, (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae) in Tomato.Insects.11(9):591.
3. Bashir,I., A. Farooq, I. Rafiq,Z. Reshi, I. Rashid and Y. Shouché. 2022. Phyllosphere microbiome: Diversity and functions.Sci.254.
4. Bergna,A.,T.Cernava,M.Randler,R.Grosch,C.Zachow and G.Berg.2018.Tomato Seeds Preferably Transmit Plant Beneficial Endophytes.Phytobiomes Journal 2(4):183-193.
5. Carvalho, C., A. Dias, S. Homma, E.Cardoso. 2020. Phyllosphere bacterial assembly in citrus crop under conventional and ecological management. Perj.
6. Camarena, G. 2012. Interacción planta-hongos micorrízicos arbusculares. Revista Chapingo ser.cienc. for. ambient, 18(3):409-421.
7. Castro, E., F. Hernández, G.Gallegos and Y. Ochoa. 2022. Bacterias endófitas y su efecto de inducción de resistencia sistémica en cultivo de frijol contra *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum*. Biotecnia.23(3):167-174.
8. Cedeño, G., M. Gerding, G. Moraga, L. Inostroza, S. Fischer, M. Sepúlveda and P. Oyarzúa. 2018. Plant growth promoting rhizobacteria with ACC deaminase activity isolated from Mediterranean dryland areas in Chile: Effects on early nodulation in alfalfa.Chil.j.agric.res.78(3):360-369.
9. Compant, S., B. Duffy, J. Nowak, C.Clement and E. Barka.2005. Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects. Appl Environ Microbiol.71(9): 4951-9.
10. De Weert, S. , H. Vermeiren, I. Mulders, I. Kuiper ,N. Hendrickx ,G. Bloemberg,J. Vanderleyden, R.de Mot and B.Lugtenberg.2002. Flagella-driven chemotaxis towards exudate components is an important trait for tomato root colonization by *Pseudomonas fluorescens*.Mol Plant Microbe Interact.15(11):1173-80
11. Doornbos, R., L.Van Loon and P.Bakker.2012. Impact of root exudates and plant defense signaling on bacterial communities in the rhizosphere. Agron.Sustain.Dev.32:227-243.
12. Flaño, A. 2013. Situación del tomate para consumo fresco [en línea]. Oficina de EstudiosyPolíticasAgrarias,Chile.<<http://www.odepa.cl/odepaweb/publicaciones/doc/11729.pdf>>. [Consulta: 17 de diciembre 2024].

13. Franco,V., S. Moreno and T. Ghneim. 2021.Are Endophytic Bacteria and Option for Increasing Heavy Metal Tolerance of Plants? A Meta-Analysis of the Effect Size.Front.Environ.Sci.8:294
14. Hardoim, P., L. vanOverbeek, G. Berg, A. Pirttila, S. Compant, A. Campisano, M. Doring and A. Sessitsch. 2015.The hidden world within plants: Ecological and Evolutionary Considerations for Defining Functioning of Microbial Endophytes. Microbiol Mol Biol Rev.79(3):293-320.
15. Howgwei, L., L. Carvalhais, M. Crawford, E. Singh, P. Dennis, C. Pieterse and P. Schenk. 2017. Inner Plant Values: Diversity, Colonization and Benefits from Endophytic Bacteria. Front.Microbiol,8:2552.
16. Langner, M., D. Lisiane,S. Felice, R. Schünemann, N. Knaak and L.Fiuza.2018. Benefits Associated with the Interaction of Endophytic Bacteria and Plants. Braz. Arch. Biol. Technol,61.
17. Londoño, D., L.Quintero, L.2015. Microorganismos endofíticos presentes en la especie Witheringia coccoloboides (Solanaceae) del jardín botánico de la Universidad Tecnológica de Pereira.Memoria de título Tecnólogo en Química. Universidad Tecnológica, Facultad de Tecnología, Escuela de Tecnología Química Pereira.Colombia.
18. Afzal,I., Z.Khan, S.Sikandar and S.Shahzad.2019. Plant beneficial endophytic bacteria: Mechanisms, diversity, host range and genetic determinants. Microbiological Research,221:36-49.
19. Bashir,I.,A.Farooq, I.Rafiq, Z.Reshi, I.Rashid and Y.Shouché.2022. Phyllosphere microbiome: Diversity and functions. Microbiological Research,254.
20. Papik,J.,M.Folkmanova, M. Polivkova-Majorova, J.Suman and O.Uhlik.2020. The invisible life inside plants: Deciphering the riddles of endophytic bacterial diversity. Biotechnology Advances,44.
21. Marcano, D.2008. El lado positivo de las bacterias. Rev del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel, 39(2):63-65.
22. Mirabal,L.,E.Ortega.2008. Comunidad microbiana asociada a los Hongos Micorrizógenos Arbusculares. Cultivos Tropicales, 29(4):13-20.
23. Medina, G. 2017. Respuestas de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* Mill) inoculadas con bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR), al estrés hídrico. Memoria de título, Ingeniero Agrónomo. Universidad de Concepción, Facultad de Agronomía. Chillán, Chile.
24. Ramakuela,T., J. Hatting, C. Bock, F.E. Vega, L. Wells, G.N.Mbata and D. Shapiro-Ilan.2019. Establishment of *Beauveria bassiana* as a fungal endophyte

- in pecan(*Carya illinoensis*) seedlings and its virulence against pecan insect pests. Biol. Control.140 DOI: 10.1016/j.biocontrol.2019.104102[en línea]
25. Regueira, E.2018. Endófitos promotores del crecimiento vegetal del tomate (*Solanum lycopersicum*(L.)).Memoria de título, Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional de La Plata, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Buenos Aires, Argentina.
 26. Reyes-Castillo, A., M. Gerding, P. Oyarzúa, E. Zagal, J. Gerding, S. Fischer. 2019. Plant growth-promoting rhizobacteria able to improve NPK availability: selection, identification and effects on tomato growth.Chil.j.agric.79(3):473-485.
 27. Rosenblueth, M.,E. Martínez.2006. Bacterial endophytes and their interactions with hosts. Mol. Plant Microbe Interact. 19(8): 827-837.
 28. Sánchez, A., C. De León, S. Aranda, E. Zavaleta, C.Nava, P.Goodwin and S.Leyva.2018. Bacterias endófitas de la raíz en líneas de maíces tolerantes y susceptibles a sequía. Revista mexicana de fitopatología, 36(1), 35-55.
 29. Sánchez- Rodríguez, A.R., S. Raya-Díaz, Á.M. Zamarreño, J.M. García-Mina, M.C del Campillo and E. Quesada-Moraga. 2017.An endophytic *Beauveria bassiana* strain increases spike production in bread and durum wheat plants and effectively controls cotton leafworm(*Spodoptera littoralis*) larvae.Bio.Control. [en línea]
 30. Santoyo, G., G. Moreno-Hagelsieb, M.C. Orozco-Mosqueda and B.R. Glick. 2016. Plant growth-promoting bacterial endophytes. Microbiol. Res. 183: 92-99.
 31. Sepúlveda, M. 2013. Aislamiento, selección y evaluación de bacterias promotoras de crecimiento (PGPR) en lechuga (*Lactuca sativa* L.) var. capitata 'Desert storm'. Memoria de título, Ingeniero Agrónomo. Universidad de Concepción, Facultad de Agronomía. Chillán, Chile.
 32. Sepúlveda C.2017. Inoculación de achicoria industrial (*Cichorium intybus* var. sativum bisch.) con rizobacterias promotoras de crecimiento. Memoria de título, Ingeniero Agrónomo. Universidad de Concepción, Facultad de Agronomía. Chillán, Chile.
 33. Pérez, C., A. Chamorro. 2013.Bacterias endófitas: Un nuevo campo de investigación para el desarrollo del sector agropecuario. Universidad de Sucre. Facultad de Ciencias Agropecuarias.Rev.Colombiana cienc.Anim.5(2):439-462.
 34. Rivas, T.2017. Respuesta de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*) inoculadas con bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) al estrés térmico. Memoria de título, Ingeniero Agrónomo. Universidad de Concepción, Facultad de Agronomía. Chillán, Chile.

35. Velasco A., O. Castellanos ,G.Acevedo, R.Clarenc , A.Rodríguez.2020. Bacterias rizosféricas con beneficios potenciales en la agricultura. Terra Latinoamericana, vol. 38, núm. 2, pp. 333-345.
36. Wang, H., K. Wen, X. Zhao, X. Wang, A. Li and H. Hong. 2009. The inhibitory activity of endophytic *Bacillus* sp. strain CHM1 against plant pathogenic fungi and its plant growth-promoting effect. Crop Prot. 28(8): 634-639.
37. White,J., K.Kingsley, Q.Zhang , R.Verma, N.Obi, S.Dvinskikh , M.Elmore , S.Verma, S.Gond and K.Kowalski.2019. Review: Endophytic microbes and their potential applications in crop management.Pest Management Scie.75(10):2543-2548.