Artículo **Revista de Ciencias Naturales y Agropecuarias**
Septiembre 2018 Vol.5 No.16 10-17

Biocontrol de fitopatógenos e incremento del vigor en semillas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) por *Bacillus thuringiensis* y sus bacteriocinas

Biocontrol of phytopathogens and increased vigor in tomato seeds (*Solanum lycopersicum* L.) by *Bacillus thuringiensis* and its bacteriocins

DE LA FUENTE-SALCIDO, Norma Margarita[1]*†, QUISTIÁN MARTÍNEZ, Deyanira[2], VALADEZ-LIRA, Alberto, BARBOZA-CORONA, José Eleazar[3], LAFUENTE-RINCÓN, David Francisco[2]

[1]*Dpto. de Bioprospección y Bioprocesos. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Coahuila.*
[2]*Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León.*
[3]*División Ciencias de la Vida, Universidad de Guanajuato.*

ID 1er Autor: *Norma Margarita, De La Fuente-Salcido* / **ORC ID:** 0000-0001-8824-9529, **CVU CONACYT ID**: 29530

ID 1er Coautor: *Deyanira, Quistián Martínez* / **ORC ID:** 0000-0002-5949-6907, **CVU CONACYT ID**: 40130

ID 2do Coautor: *Alberto, Valadez-Lira* / **ORC ID:** 0000-0003-4378-7221, **CVU CONACYT ID**: 100687

ID 3er Coautor: *José Eleazar, Barboza Corona* / **ORC ID:** 0000-0002-0704-3076, **CVU CONACYT ID**: 19412

ID 4to Coautor: *David Francisco, Lafuente-Rincón* / **ORC ID:** 0000-0002-8540-7074, **CVU CONACYT ID**: 441625

Recibido 10 de Junio, 2018; Aceptado 30 de Septiembre, 2018

Resumen

Bacterias entomopatógenas como *Bacillus thuringiensis* (Bt) y/o sus metabolitos han demostrado ser beneficos para el biocontrol de plagas en los cultivos agrícolas. En esta investigación se evaluó el potencial antifúngico de cinco bacteriocinas de Bt *in vitro* contra *F. oxysporum f.*sp. *lycopersici* (Fol) y se determinó el efecto de las bacteriocinas y de las cepas que las producen para estimular la germinación (vigor) en semillas de tomate (*Solanum lycopersicum* L. cv. Rio Grande). La actividad antifúngica de las bacteriocinas (100 µL) se determinó por difusión en pozos en agar de papa y fextrosa (PDA) incubados a 30 ºC durante 7 días. La germinación se evaluó en lotes de semillas tratados por imbibición durante 60 minutos a 28 °C en suspensiones de cultivos de Bt ($1x10^7$ cél·mL^{-1}) o soluciones de bacteriocina (500 U·mL^{-1}), se secaron a 30-35 °C y se dejaron germinar en obscuridad total a 28 °C durante 96 h. Se registró la germinación (%) y además la longitud (cm), el índice de vigor y el peso fresco (µg) de los brotes de tomate y se realizó un análisis de los componentes principales (ACP) de los resultados obtenidos. Las bacteriocinas ejercieron un efecto fungistático sobre Fol (55-72 %), con mayor efectividad de la thuricina H (m). El ACP indicó el mayor efecto sobre la germinación por la bcteriocina tolworthcina 524 y la cepa productora *B. thuringiensis* subsp. *tolworthi*, coincidiendo con el valor registrado para el máximo indicie de vigor en los brotes de tomate. Las cepas de *B. thuringiensis* y sus bacteriocinas tienen la capacidad de actuar como agentes biocontroladores de fitopatógenos fúngicos (Fol) y como estimulantes de la germinación en semillas de tomate tipo *Solanum lycopersicum* L. cv. Rio Grande.

Bactriocinas, *Bacillus thuringiensis*, Antimicrobiano, Fitopatógenos

Abstract

Entomopathogenic bacteria such as *Bacillus thuringiensis* (Bt) and/or its metabolites have been shown to be beneficial for the biocontrol of pests in agricultural crops. In this research, the antifungal potential of five Bt bacteriocins *in vitro* against *F. oxysporum f.*sp. *lycopersici* (Fol) and the effect of bacteriocins and the strains that produce them to stimulate germination (vigor) in tomato seeds (*Solanum lycopersicum* L. cv. Rio Grande) was determined. The antifungal activity of bacteriocins (100 µL) was determined by well diffusion method on dextrose potato agar (DPA) incubated at 30 ºC for 7 days. Germination was evaluated in batches of seed treated by imbibition for 60 minutes at 28 °C in suspensions of Bt cultures ($1x10^7$ cells · mL^{-1}) or bacteriocin solutions (500 U · mL^{-1}), dried at 30-35 °C and allowed to germinate in total darkness at 28 °C for 96 hours. The germination (%) and also the length (cm), the vigor index and the fresh weight (µg) of the tomato shoots were registered and an principal component analysis (ACP) of the obtained results was carried out. The bacteriocins exerted a fungistatic effect on Fol (55-72 %), with greater effectiveness of thuricin H (m). The ACP indicated the greatest effect on germination by the bacteriocin tolworthcin 524 and the producing strain *B. thuringiensis* subsp. *tolworthi*, according to the registered value for the maximum vigor index in the tomato shoots. The strains of *B. thuringiensis* and their bacteriocins have the capacity to act as biocontrol agents of phytopathogens as fungi (Fol) and as germination stimulants in seeds of tomato type *Solanum lycopersicum* L. cv. Rio Grande.

Bactriocins, *Bacillus thuringiensis*, Antimicrobial, Phytopathogens

Citacion: DE LA FUENTE-SALCIDO, Norma Margarita, QUISTIÁN MARTÍNEZ, Deyanira, VALADEZ-LIRA, Alberto, BARBOZA-CORONA, José Eleazar, LAFUENTE-RINCÓN, David Francisco. Biocontrol de fitopatógenos e incremento del vigor en semillas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) por *Bacillus thuringiensis* y sus bacteriocinas. Revista de Ciencias Naturales y Agropecuarias. 2018, 5-16: 10-17.

†Investigador contribuyendo como primer Autor.

Introducción

Las bacteriocinas son péptidos antimicrobianos producidos por la mayoría de las bacterias, como estrategia contra competidores microbianos por espacio o nutrientes. Estos metabolitos tienen una aplicación práctica como conservadores naturales en la industria alimentaria. Estudios recientes, proyectan el uso de las bacteriocinas en la medicina veterinaria y en la agricultura, como bioestimulantes del crecimiento en plantas y como agentes de biocontrol (Subramanian y Smith 2015).

Actualmente se han logrado aislar y purificar 19 bacteriocinas de diferentes subespecies *B. thuringiensis* (Bt), la bacteria mundialmente reconocida por su éxito como bioinsecticida, (Salazar-Marroquín et al., 2016; De la Fuente-Salcido et al., 2013).

Las principales propiedades que caracterizan a las bacteriocinas de *B. thuringiensis* son: su amplia estabilidad ante cambios de temperatura y pH, además de una extenso espectro antimicrobiano, especialmente contra otras bacterias gram positivas y algunos hongos (Cherif *et al*., 2003; De la Fuente-Salcido *et al*., 2013). La thuricina 17 (th17) es la bacteriocina más extensamente estudiada par determinar el efecto en el crecimiento en plantas (Subramanian y Smith 2015).

Al aplicar la th17 en concentraciones nanomolares (nM) por aspersión en hojas o por medio de riego en raíces puede incrementar el crecimiento en plantas C_3 y C_4 como es el caso de la soya (*Glycine max*) y el maíz (*Zea may*s) respectivamente (Lee et al., 2009). La bacteriocina th17 y la cepa productora *B. thuringiensis* NEB17 no son tóxicas contra las bacterias nitrificantes como *Brabyrhizobium japonicum* 532C (Gray et al., 2006), y se utilizan como co-inoculantes para incrementar la nodulación de las raíces y el crecimiento en plantas de soya (Bai et al., 2003).

La th17 pertenece a la clase IId de bacteriocinas las cuales son altamente efectivas como elicitores de la actividad enzimática en plantas para defenderse de plagas en plantas de soya (Jung et al., 2011).

Algunas cepas mexicanas de *B. thuringiensis* (Barboza-Corona et al., 2007), producen bacteriocinas semejantes a la th17, tal es el caso de la cepa *B. thuringiensis* subsp. *morrisoni* y *B. thuringiensis* subsp. *tolworthi* (Pacheco-Cano et al., 2014) sintetizan las bacteriocinas thuricina (H)m y Tolworthcina 524 respectivamente, que muestran un amplio espectro antimicrobiano, sin embargo su aplicación como estimulantes del crecimiento vegetal no ha sido evaluada previamente en semilla de tomate.

En esta investigación el objetivo fue evaluar el efecto de las bacteriocinas thuricina H(m). kurstacina 287, kenyacina 404, entomocina 420, y tolworthcian 524 como promotores de crecimiento en tomate (*Solanum lycopersicum* L. cv. Rio Grande) en términos de control de hongos fitopatógenos y germinación de semillas.

Descripción del método

Cepas bacterianas

Se utilizaron las cepas mexicanas *B. thuringiensis* subsp. *morrisoni* 269 (Bt 269), *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* 287 (Bt 287), *B. thuringiensis* subsp. *kenyae* 404 (Bt 404), *B. thuringiensis* subsp. *entomocidus* 420 (Bt 420) y *B. thuringiensis* subsp. *tolworthi* 524 (Bt 524) de la colección de cepas nativas de CINVESTAV, Irapuato, México. se cultivaron en condiciones óptimas para la biosintetsis de las bacteriocinas thuricina H(m) (antes morricina 269), kurstacina 287, kenyacina 404, entomocina 420 y tolworthcina 524 respectivamente (Casados et al., 2016; Barboza-Corona et al., 2007). Como indicador de la actividad antimicrobiana de las bacteriocinas se utilizó *Bacillus cereus* 183 (Instituto Pasteur, Francia).

Cepas fúngicas fitopatógenas

Para los bioensayos se utilizaron los hongos *F. oxysporum* f.sp *lycopersici* raza 1, *F. oxysporum* f.sp *lycopersici* raza 2, *F. oxysporum* f.sp *lycopersici* raza 3 del Laboratorio de Fitopatologia del CIAD-Culiacán, México.

Semillas de tomate

Todos los bioensayos se realizaron con semillas de tomate (*Solanum lycopersicum* L. cv. Rio Grande) adquiridas por Semillas FAX hortalizas™.

ECORFAN® Todos los derechos reservados

Producción de bacteriocinas

Las bacteriocinas fueron producidas y semipurificadas de acuerdo a la metodología establecida (Pacheco-Cano et al., 2014). Cada cepa de Bt se inoculó en 200 mL de caldo soya tripticasa (CST) (BD Difco™) en agitación orbital a 200 rpm a 28°C por 24 h, se obtuvo el sobrenadante libre de células (SLC) por centrifugación 6,000 x*g* por 15 minutos a 4°C.

Las proteínas (bacteriocinas) del SLC se precipitaron con sulfato de amonio (80% de saturación) en agitación a 200rpm por 2h a 4°C, se separaron por centrifugación (9000x *g*/30 min/4°C) y se dializaron contra el mismo buffer utilizando un kit de mini-dialisis con una membrana de corte de 2.0 kDa (Amersham Bioscience) para la eliminación de las sales y se esterilizaron con un filtro de jeringa de 0,45 µM (Merck Millipore, Darmstadt, Alemania). La concentración de proteína total se determinó (Bradford 1976) y se ajustó a 1mg/mL de proteína. La actividad antimicrobiana de las bacteriocinas se determinó contra *Bacillus cereus* 183 por el método de difusión en pozos en unidades de actividad específica ($U \cdot mg^{-1}$).

Actividad antifúngica *in vitro* de las bacteriocinas de *B. thuringiensis*

Se determinó la actividad antifúngica de las bacteriocinas por difusión en pozos en agar papa dextrosa (PDA) (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) inoculando las tres cepas de Fol en placas por separado. En el centro de cada las placa se inoculó cada Fol, se incubaron a 28°C/3 días (15 mm de diámetro) y escavaron pozos de 7 mm de diámetro a 15 mm del borde de la colonia.

En cada pozo se depositaron 100µL (500 U) de cada bacteriocina (thuricina H(m), kurstacina 287, keniacina 404, entomocina 420, tolworthcina 540) y se incubaron a 28°C durante 96 horas. Se registró diariamente la inhibición del crecimiento de cada cepa fúngica (distancia entre la colonia y pozo) ejercida por cada bacteriocina. En todas las placas se realizó un control negativo depositándo en el pozo PBS 100mM pH 6.8 (De la Fuente-Salcido et al., 2016).

Determinación del efecto promotor de crecimiento en semillas de tomate

El efecto promotor de crecimiento de las 5 cepas de *B. thuringiensis* y de las bacteriocinas que sintetizan se evaluó en semillas (5g) de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) var. Rio Grande.

Para cada bioensayo los tratamientos biológicos incluyeron una suspensión celular de cada cepa de Bt o cada bacteriocina) aplicados en diferentes lostes de 5 g de semillas (Semillas FAX hortalizas™) desinfectados con hipoclorito de sodio al 5%(v/v) por 5 minutos y posteriormente se enjuagaron 3 tres veces en 50 mL de agua bidestilada estéril (ABDES).

Los bioensayos consistieron en embeber cada lote de semillas durante 60 minutos a 28°C en suspensiones celulares de Bt ($1x10^7$ $cél \cdot mL^{-1}$) o soluciones de bacteriocina (500 $U \cdot mL^{-1}$), utilizando un control con ABDES. Después del tiempo de la imbibición se eliminó el exceso de suspensiones celulares o soluciones de bacteriocinas en las semillas y se secaron en un horno a 30-35°C durante 96 horas.

Para evaluar el efecto de los tratamientos sobre el vigor de las semillas se colocaron100 semillas de cada tratamiento en domos de poliestireno desinfectados sobre papel absorbente estéril embebido en ABDES. Las semillas fueron puestas a germinar en obscuridad total a 28°C. A las 96 horas y se registró el porcentaje de semillas germinadas, se determinó el peso fresco (mg), la longitud (mm) de los brotes obtenidos y se calculó el índice de vigor de acuerdo a Abdul-Baki y Anderson (1973) y todos los bioensayos se realizaron por triplicado. Los datos registrados se analizaron estadísticamente con la prueba de comparaciones múltiples de Fischer (LSD) nivel de confianza 95%.

El efecto de cada suspensión de cepas de Bt y solución de bacteriocinas sobre los parámetros de el crecimiento se evaluó con el mediante un análisis de componentes principales ACP (PCA por sus siglas en inglés *Principal component analysis*). Los datos resultantes del ACP ae analizaron por comparaciones con el complemento estadístico de Microsoft Excel STAT 2018.2.50198 (Versión de prueba).

ECORFAN® Todos los derechos reservados

Resultados

Producción de bacteriocinas

A las bacteriocinas sintetizadas por cepas de Bt se les determinó la concentración de proteínas (Bradford) y posteriormente se ajustaron a 1 $mg \cdot mL^{-1}$ de proteína total. Todas las bacteriocinas mostraron actividad antibacteriana específica de ~5000 $U \cdot mg^{-1}$ contra *B. cereus* 183, y un peso molecuar de 10 kDa evaluado por SDS-PAGE con sobrecapa con *B. cereus* 183 (Resultados no mostrados).

Evaluación *in vitro* de la capacidad antifúngica

Las 5 bacteriocinas mostraron una máxima inhibición del crecimiento de micelio de 33, 56 y 34% contra *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* raza 1, *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* raza 2, *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* raza 3 respectivamente, confrimándose la mayor actividad en la thuricina H(m). La dinámica del efecto fungistático de las bacteriocinas fue observado claramente a las 48 horas después de iniciado el bioensayo, observándose inhibición total del crecimiento del micelio a las 72 horas como se puede observar en la figura 1.

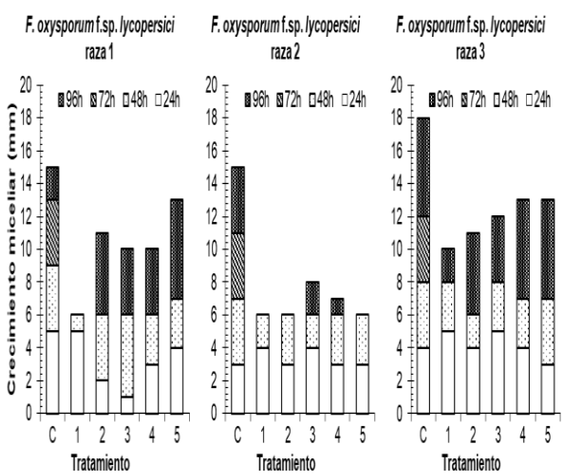

Figura 1 Actividad fungistática de bacteriocinas de *B. thuringiensis* contra cepas fitopatógenas de *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*. C. Control, 1. thuricina H(m), 2. kurstacina 287, 3. kenyacina 404, 4. entomocina 420, 5. tolworthcina 524

Determinación *in vitro* del efecto promotor de crecimiento en semillas de tomate

La evaluación *in vitro* del incremento en la germinación (vigor), la longitud, el índice de vigor y el peso fresco de los brotes obtenidos en semillas de tomate cv. Rio Grande después de 96 h de haber sido embebidas en suspensiones de cepas de Bt y soluciones de bacteriocinas (tratamientos biológicos) proporcionó resultados efectivos. El tratamiento con suspensión celular y bacteriocina de *B. thuringiensis* subsp. *tolworthi*, proporcionó el mayor porcentaje de germinación 98 y 97% respectivamente.

Con respecto a la longitud y peso fresco de brotes no se presentaros diferencias significativas en los tratamientos biológicos con las bacteriocinas y las suspensiones celulares respecto al control, con excepción de *B. thuringiensis* subsp. *kenyae* (suspención celular y bacteriocina) que redujeron significativamente la longitud, el índice de vigor y peso fresco de los brotes de tomate. Este último parámetro de crecimiento también se afectó por la suspensión celular de *B. thuringiensis* subsp. *entomocidus* (Tabla 1).

Tratamiento biológico	Germinación (%)	Longitud de brotes (cm)	Índice de vigor	Peso fresco (mg/brote)
Suspensión de *B. thuringiensis*				
B. thuringiensis subsp *morrisoni*	96±1.7a	6.4±0.7ab	615.6±78ab	33±1.6abc
B. thuringiensis subsp *kurstaki*	95.3±1.2a	6.2±0.1ab	591.1±20ab	34.6±1.1ab
B. thuringiensis subsp *kenyae*	91±4.4b	5.1±1.0cd	459.4±83c	26±0.5d
B. thuringiensis subsp *entomocidus*	95±2.0a	5.6±0.8bcd	534.5±66bc	27.8±6.2cd
B. thuringiensis subsp *tolworthi*	97.7±0.6a	6.8±0.1a	666.7±13a	32.4±2.9bcd
Solución de Bacteriocina				
thuricina H(m)	94.7±1.5ab	6±0.2abc	564.4±30b	33±1.4a
kurstacina	96.7±1.5a	5.8±0.3bc	555.9±37b	33.8±7.0abc
kenyacina	95±1.0a	4.8±1.0d	451.9±93c	32.2±7.0bcd
entomocina	91±3.5b	6.2±0.1ab	563.2±31b	32.6±0.6bc
tolworthcina	96.7±0.6a	6.3±0.4ab	607.9±33ab	34.5±1.8ab
Control	94.3±2.9ab	6.1±0.5ab	575.7±61ab	34.6±1.8ab

Tabla 1 Actividad promotora del crecimiento de *B. thuringiensis* en semillas de Tomate
Las medias (n=3) con distintas letras son estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$); prueba de Fischer (LSD)

ISSN: 2410-356X
ECORFAN® Todos los derechos reservados

El análisis multivariado mostró que el 84.81% de la varianza fue explicada por los primeros dos componentes (67.41% y 17.4%).

Todos los parámetros se correlacionaron positivamente, presentado una alta correlación entre longitud de brotes y el índice de vigor (0.983), mientras los parámetros menos correlacionados fueron el peso freso y la germinación de semillas (0.388).

El índice de vigor fue el parámetro que más contribuye al componente 1 (34.09%), mientras que el tratamiento que más contribuyó al componente 1 fue la suspensión celular de *B. thuringiensis* subsp *tolworthi* con el 19.995% del total entre los tratamientos biológicos. Los tratamientos a base de *B. thuringiensis* subsp *kenyae* y *B. thuringiensis* subsp. *entomocidus* mostraron una correacion negativa con los parámetros de crecimiento y la mayoría de los tratamientos biológicos, lo cual se puede apreciar claramente en la Fig 2.

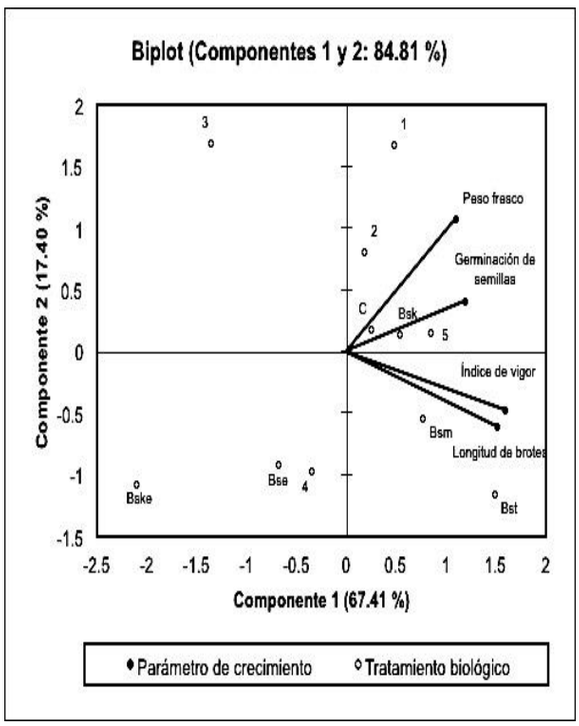

Figura 2 Análisis de componentes principales (ACP) entre los tratamientos biológicos de *B. thuringiensis* en semillas de tomate y los parámetros de crecimiento. Tratamientos biológicos: C. Control, Suspensiones celulares: Bsm. *B. thuringiensis* subsp. *morrisoni*, *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki B. thuringiensis* subsp. *kenyae B. thuringiensis* subsp. *entomocidus*, *B. thuringiensis* subsp. *tolworthi*. Bacteriocinas: 1. thurincina H (m), 2. kurstacina 287, 3. kenyacina 404, 4. entomocina 420, 5. tolworthcina 524

Discusiones

Las bacteriocinas producidas por cepas del genero *Bacillus* poseen un amplio espectro de actividad antimicrobiana y son consideradas las más extensamente estudiadas como estimuladoras del crecimiento en plantas (Subramanian y Smith, 2015).

La bacteria *B. thuringiensis* productor de bacteriocinas con una amplio espectro inhibitorio contra algunas bacterias fitopatógenas (Kamoun et al., 2011) y hongos (Cherif et al., 2001; De la Fuente-Salcido et al., 2013). Algunas de estas bacteriocias como la bacthuricina F4 (Jung et al., 2011) y la thuricina 17 (Lee et al., 2009; Jung et al., 2011; Subramanian y Smith, 2015) también presentan una actividad como promotoras del crecimiento en plantas.

En esta investigación las cinco bacteriocinas de Bt evaluadas aquí, presentaron una actividad específica contra *B. cereus* 183 de 5,000 U·mg^{-1}. Previamente se ha reportado que estas bacteriocinas inhiben una especies de *Bacillus, B. thuringiensis, B. cereus, Listeria innocua, Vibrio cholerae, Sthaphylococcus aureus, S. xylosus, S. flexneri, Salmonella sp., Streptococcus pyogenes, Escherichia coli* y algunos hongos (De la Fuente-Salcido *et al*., 2013). Algunas cepas de Bt que sintetizan bacteriocinas como la entomocina 9 reportada por Cherif et al., (2003) han mostrado actividad antifúngica contra hongos fitopatógenos, sin embargo no se tiene caracterizado el efecto de una bacteriocina de Bt contra hongos fitopatógenos.

La actividad fungistática *in vitro* determinada para las cinco bacteriocinas contra las tres cepas de *F. oxysporum* f. sp. *lycoperscisi* observada (Figura 1) fue confirmada, y puede representar una ventaja para eliminar fitopatógenos en cultivos de tomate en campo.

Con respecto a la promoción de crecimiento, la imbibición o toma de agua por parte de la semillas (Moreno et al., 2006) en los experimentos realizados fue efectiva para determinar el efecto de las suspensiones celulares de Bt y soluciones de bacteriocinas sobre el incemento de la germinación (vigor) en semilla de tomate.

ECORFAN® Todos los derechos reservados

Al evaluar la actividad promotora de crecimiento de las bacteriocinas (500 U·mL^{-1}.) y sus cepas productoras de estas bacteriocinas (1x10^{7} cél·mL^{-1}) sobre el vigor de semillas en tomate cv. Rio Grande, fue observado de manera general, un efecto positivo sobre el vigor de las semillas, observado un incremento en el porcentaje de germinación y vigor de las semillas tratadas respecto al control, con una ligera reducción en el peso fresco de los brotes germinados (Tabla 1). Los componentes 1 y 2 del ACP explicaron el 84.81% de la covarianza entre los tratamientos y parámetros de crecimiento.

El diagrama Biplot del ACP (Fig 2) nos muestra un comportamiento negativo sobre los parámetros de crecimiento y vigor en las semillas de tomate tratadas con *B. thuringiensis* subsp *kenyae* y *B. thuringiensis* subsp. *entomocidus* y las bacteriocinas producidas por estas cepas, donde la bacteriocina kenyacina 404 fue el único tratamiento correlacionado negativamente con el índice vigor y longitud de brotes (ver Tabla 1 vs Fig 2).

Como ya se mencionó, el porcentaje de germinación y el vigor de las semillas de tomate después de aplicar la suspensión de Bt subsp. *tolworthi* y la tolworthcina 524 fue el que mostró una mayor efecto en la germinación. Es importante mencionar que esta bacteriocina posee una homología en su secuencia de aminoácidos N-terminal con la bacteriocina th-17 cuya activiad estimulante del crecimiento en th-17 es la más estudiada en bacteriocinas del género *Bacillus* (Subramanian y Smith, 2015).

Las ventajas de las bacteriocinas de Bt son su versatilidad como potenciales agentes de bioprotección de cultivos (De la Fuente-Salcido et al., 2013), lo cual puede ayudar a eliminar fitopatógenos, pero además, se han confirmado otros beneficos como la estimulación de la noduclación.

Lo anterior se confirmó en Bt NEB17 productora de la th17, en estudios de incremento de la nodulación y crecimiento en soya (*Glycine max*) mediante coinoculación con la bacteria biofertilizadora *B. japonicum* (Bai et al., 2003).

A pesar de que se conoce la aplicación directa de th-17 sobre la estimulación del crecimiento en Soya y Maíz (Lee et al., 2009) y su efecto inductor de la actividad enzimática de defensa en plantas de soya (Jung et al., 2011), los mecanismos bioquímicos y fisiológicos de las bacteriocinas th-17 y las evaluadas en el presente estudio para estimular el crecimiento en plantas no se conocen con claridad.

Pese a lo anterior, se considera que este estudio preliminar proporciona fuertes indicios de la capacidad de Bt y sus bacteriocinas para incrementar la germinación (vigor) en tomate, pues el aumento del vigor de las plántulas de tomate incrementa la capacidad de competencia del vegetal al momento del trasplante. Esto le permite al agricultor disminuir el tiempo en la etapa de vivero y a la plántula adaptarse a las condiciones adversas del trasplante y postrasplante. Este aumento mejora el crecimiento radicular, la toma de nutrientes, los procesos de fotosíntesis, y por tanto, favorece el desarrollo de la planta (Arjona et al., 1998).

Conclusiones

Las cepas de *B. thuringiensis* representan una alternativa versátil par el biocontrol de hongos fitopatógenos Fol, además un recurso sencillo y económico para utilizarse como promotores del crecimiento en plantas. La presente investigación sugiere diseñar y realizar posteriores bioensayos que permitan determinar el modo de acción involucrado en la promoción del crecimiento de plantas (germinación) y el control de hongos fitopatógenos atribuidos a las bacteriocinas de *B. thuringiensis*.

Referencias

Abdul Baki, A.A., Anderson, J.D. (1973). Vigour determination in soybean seed by multiple criteria. Crop Science. 13: 630- 633.

Arjona, H., Guerrero, A., Prieto, C. (1998). Estudios de osmoiniciación de semillas de cebolla de bulbo *Allium* cepa L. Agronomía Colombiana. 15(2): 143-152.

Barboza-Corona J.E, Vázquez-Acosta H, Bideshi D.K, Salcedo-Hernández R. (2007). Bacteriocin-like inhibitor substances produced by Mexican strains of *Bacillus thuringiensis*. Archives of Microbiology. 187:117-126.

ECORFAN® Todos los derechos reservados

Bai Y, D'Aoust F, Smith DL, Driscoll BT (2002) Isolation of plant growth-promoting *Bacillus* strains from soybean root nodules. Canadian Journal of Microbiology 48:230–238.

Bai Y, Zhou X, Smith DL (2003) Enhanced soybean plant growth resulting from co-inoculation of *Bacillus* strains with *Bradyrhizobium japonicum*. Crop Science. 43:1774–1781.

Casados-Vázquez L.E., Bideshi D.K., Barboza-Corona J.E. 2016. The thnR gene is a negative transcription regulator of the thurincin H genetic cassette in *Bacillus thuringiensis* subsp. *morrisoni*. Arch Microbiol. 199(2): 385-390. Doi: 10.100/s00203-016-1298-1.

Cherif A., Chehimio S., Limem F., Hansen B.M., Hendriksen N.B., Daffonchio D., Boudabous A. (2003). Detection and characterization of the novel bacteriocin entomocin 9, and safety evaluation of its producer, *Bacillus thuringiensis* ssp. *Entomocidus* HD9. Journal of Applied Microbiology. 95: 990-1000.

Cherif, A., H. Ouzari, D. Daffonchio, H. Cherif, K. Ben Slama, A. Hassen, S. Jaoua and A. Boudabous. (2001). Thuricin 7: a novel bacteriocin produced by Bacillus thuringiensis BMG1.7, a new strain isolated from soil. Letters in Applied Microbiology. 32: 243-247.

De la Fuente-Salcido, N.M., Pimentel, A., Valenzuela, A., Gutiérrez, E., Valencia-Castro, C.M., Villarreal-Prieto, J.M., Salcedo Hernández, R., Barboza-Corona, J.E., Castañeda Ramírez, J.C. (2016). Cubierta bioactiva con mezquite y quitosano: ensayos in *vitro* e *in vivo* contra *C. gloeosporioides, F. oxysporum, Rhizopus oryzae* y *R. stolonifer*. Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos. 1: 2448-7503.

De la Fuente-Salcido, N.M., Casados-Vázquez, L.E., Barboza-Corona, J.E. (2013). Bacteriocins of *Bacillus thuringiensis* can expand the potential of this bacterium to other areas rather than limit its use only as microbial insecticide. Canadian Journal of Microbiology. 59: 515-522.

Gray, E.J., Lee, K.D., Souleimanov, A.M., Di Falco, M.R., Zhou, X., Ly, A., Charles, T.C., Driscoll, B.T., and Smith, D.L. (2006). A novel bacteriocin, thuricin 17, produced by plant growth promoting rhizobacteria strain *Bacillus thuringiensis* NEB17: isolation and classification. Journal of Applied Microbiology. 100: 545–554. doi:10.1111/j.1365-2672.2006.02822.x.

Lee, K.D., Gray, E.J., Mabood, F. et al. (2009). The class IId bacteriocin thuricin-17 increases plant growth. Planta. 229: 747. doi: https://doi.org/10.1007/s00425-008- 0870-6.

ISTA, 2013. International Rules for Seed Testing. Seed Science and Technol., 27: 31.

Jung, W., Mabood, F., Souleimanov, A., Smith, D.L. (2011). Induction of defense-related enzymes in soybean leaves by class IId bacteriocins (thuricin 17 and bacthuricin F4) purified from *Bacillus* strains. Microbiological Research. 167: 14-19. doi: 10.1016/j.micres.2011.02.004.

Kamoun, F., Ben Fguira, I., Ben Hassen, N.B., Mejdoub, H., Lereclus, D., Jaoua, S. (2011). Purification and characterization of a new *Bacillus thuringiensis* bacteriocin active against *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* and *Agrobacterium tumefaciens*. Applied Biochemistry and Biotechnology. 165: 300–314. doi: 10.1007/s12010-011-9252-9.

Lee, K.D., Gray, E.J., Mabood, F., Jung, W. Charles, T., Clark, S.R.D., Ly, A., Souleimanov, A., Zhou, X. (2009). The class IId bacteriocin thuricin-17 increases plant growth. Planta 229: 747-755. doi: 10.1007/s00425-008-0870-6.

Moreno, F., G. Plaza, S. Magnitskiy. (2006). Efecto de la testa sobre la germinación de semillas de caucho (*Hevea brasiliensis Muell*.). Agronomía Colombiana. 24(2): 290-295.

Pacheco-Cano, R.D., de la Fuente-Salcido, N.M., Salcedo-Hernández, R., León-Galván, M.F., Bideshi, D.K,. Hernández-Guzmán, G., Barboza-Corona, J.E. (2014). Characterization, N-terminal sequencing and classification of Tolworthcin 524: A bacteriocin produced by *Bacillus thuringiensis* subsp *tolworthi*. Microbiological Research. 169: 948-953. doi: 10.1016/j.micres.2014.04.005.

ECORFAN® Todos los derechos reservados

Salazar-Marroquín, E. L., Galán-Wong, L. J., Moreno-Medina, V. R., Reyes-López, M. Á., & Pereyra-Alférez, B. (2016). Bacteriocins synthesized by Bacillus thuringiensis: generalities and potential applications. Reviews in Medical Microbiology. 27(3):95-101. doi.org/10.1097/MRM.0000000000000076.

Subramanian S., Smith D.L. (2015). Bacteriocins from the rhizosphere microbiome-from an agriculture perspective. Frontiers in Plant Science. 6: 909. doi: 10.3389/fpls.2015.00909.

ECORFAN® Todos los derechos reservados