







# Efecto antifúngico de la cepa de *Streptomyces* sp. RL8 y su acción promotora en la germinación y crecimiento inicial del frijol Tépari (*Phaseolus acutifolius* Gray)

## Antifungal effect of *Streptomyces* sp. RL8 strain and its promoting action on the germination and initial growth of Tépari beans (*Phaseolus acutifolius* Gray)

Milagro García-Bernal<sup>1,2</sup> , Ricardo Medina-Marrero<sup>1</sup> ,  
Fernando Abasolo-Pacheco<sup>3</sup> , Carlos Michel Ojeda-Silvera<sup>2,4</sup> ,  
Guadalupe Fabiola Arcos-Ortega<sup>2</sup>  y José Manuel Mazón-Suástegui<sup>2,4</sup> 

<sup>1</sup> Centro de Bioactivos Químicos. Universidad central de Las Villas. Carretera a Camajuani km 5½. 54830. Santa Clara, Villa Clara, Cuba.

<sup>2</sup> Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C. Av. IPN No. 195, Colonia Playa Palo de Santa Rita Sur, CP-23096. La Paz, Baja California Sur, México.

<sup>‡</sup> Autor para correspondencia (jmazon04@cibnor.mx)

<sup>3</sup> Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Facultad de Ciencias Agrarias, Campus “Ingeniero Manuel Agustín Haz Álvarez”. Av. Quito km 1 1/2 vía a Santo Domingo de los Tsáchilas. Quevedo, Los Ríos, Ecuador.

<sup>4</sup> Universidad Autónoma de Baja California Sur. Carretera al Sur km 5.5., Apartado Postal 19-B. 23080. La Paz, Baja California Sur, México.

Editor de Sección: Dr. Fernando Abasolo Pacheco

---

### RESUMEN

La cepa *Streptomyces* sp. RL8 fue caracterizada en base a su actividad antagónica frente a hongos fitopatógenos, solubilización de fosfatos, producción de sideróforos, y su efecto en la germinación y crecimiento inicial *in vitro* de frijol Tépari (*Phaseolus acutifolius* Gray), bajo condiciones controladas. Se aplicó un diseño experimental completamente al azar con un tratamiento bacteriano basado en RL8 (T) y agua destilada como tratamiento Control (C), con cuatro réplicas por tratamiento y 10 semillas por réplica. Las variables de respuesta estudiadas fueron el porcentaje y tasa de germinación (PG y TG), longitud de tallo y de raíz (LT y LR), biomasa fresca y seca de parte aérea (BFPA y BSPA) y biomasa fresca y seca de raíz (BFR y BSR). RL8 mostró actividad antagónica frente a cuatro fitopatógenos de los cinco evaluados, promovió la producción de sideróforos y la solubilización de fosfatos. A escala experimental se observaron diferencias significativas con respecto al grupo control en PG (65.83 vs 30%), TG (4.16 vs 2.25), LT (3.81 vs 1.65 cm) y LR (5.61 vs 2.13 cm), BFPA (2736.75 vs 18.46.75 mg), BSPA (608.75 vs 361.5 mg), BFR (347.0 vs 115.75 mg) y BSR (101.25 vs 58.25 mg).

Estos resultados confirman un efecto positivo de RL8 en la germinación y crecimiento inicial de *Phaseolus acutifolius* Gray, revelando su potencialidad para ser utilizada en su cultivo orgánico o tradicional. Se sugiere su aplicación a escala piloto y su evaluación como alternativa de producción agroecológica en invernadero y en campo.

**Palabras clave:** actinomicetos, fitopatógenos, solubilización de fosfatos, sideróforos, producción de biomasa.

### SUMMARY

The *Streptomyces* sp. RL8 strain was characterized based on its antagonistic activity against phytopathogenic fungi, solubilization of phosphates, production of siderophores, and its effect on the germination and initial *in vitro* growth of Tépari beans (*Phaseolus acutifolius* Gray), under controlled conditions. A completely randomized experimental design was applied with a bacterial treatment based on RL8 (T) and distilled water as Control treatment (C), with four replicates per treatment and 10 seeds per replicate. The response variables studied were the percentage and

---

#### Cita recomendada:

García-Bernal, M., Medina-Marrero, R., Abasolo-Pacheco, F., Ojeda-Silvera, C. M., Arcos-Ortega, G. F. y Mazón-Suástegui, J. M. (2022). Efecto antifúngico de la cepa de *Streptomyces* sp. RL8 y su acción promotora en la germinación y crecimiento inicial del frijol Tépari (*Phaseolus acutifolius* Gray). *Terra Latinoamericana*, 40, 1-12. e1067. <https://doi.org/10.28940/terra.v40i0.1067>

Recibido: 26 de octubre de 2021. Aceptado: 9 de enero de 2022.

Artículo. Volumen 40, noviembre de 2022.

germination rate (GP and GR), stem and root length (ST and RL), fresh and dry biomass of aerial part (FBAP and DBAP) and fresh and dry biomass of root (FRB and DRB). RL8 showed antagonistic activity against four phytopathogens of the five evaluated, promoted the production of siderophores and the solubilization of phosphates. On an experimental scale, significant differences were observed with respect to the control group in GP (65.83 vs 30%), GR (4.16 vs 2.25), SL (3.81 vs 1.65 cm) and RL (5.61 vs 2.13 cm), FBAP (2736.75 vs 18.46. 75 mg), DBAP (608.75 vs 361.5 mg), FRB (347.0 vs 115.75 mg) and DRB (101.25 vs 58.25 mg). These results confirm a positive effect of RL8 on the germination and initial growth of *Phaseolus acutifolius* Gray, revealing its potential to be used in its organic or traditional cultivation. Its application on a pilot scale and its evaluation as an alternative for agroecological production in greenhouse and in the field is suggested.

**Index words:** *actinomycetes, phytopathogens, phosphate solubilization, siderophores, biomass production.*

## INTRODUCCIÓN

Entre las leguminosas, el frijol es considerado una fuente básica de alimento y sustituto de otros nutrimentos en diversas regiones y culturas (Mazón-Suástegui, Ojeda, García, Batista y Abasolo, 2020b), sobre todo en países donde el ingreso *per cápita* limita la adquisición de alimentos de alto valor proteico con mayor valor económico, como los productos cárnicos de origen animal (Reyes-Rivas, Padilla, Pérez y López, 2008).

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es la leguminosa más importante para consumo directo en el mundo y constituye una fuente importante de proteínas, calorías y minerales en la dieta de muchos países en desarrollo (Suárez-Martínez *et al.*, 2016; Mazón-Suástegui *et al.*, 2020a). Existen especies de frijol naturalmente resistentes a condiciones de estrés climático, hídrico y biológico, y tal es el caso del frijol Tépari (*Phaseolus acutifolius* Gray) (Jiménez-Galindo y Acosta-Gallegos, 2012).

Los sistemas agrícolas modernos tienen como objetivo garantizar una producción agrícola sostenible, y, por lo tanto, impulsan la búsqueda de nuevos recursos

naturales para encontrar soluciones ecológicas para la protección de los cultivos e incrementar su rendimiento. Las bacterias promotoras del crecimiento de las plantas colonizan activamente las áreas de la raíz y estimulan su desarrollo a través de mecanismos directos o indirectos. Dentro de los mecanismos directos se pueden citar la síntesis de algunas fitohormonas como el ácido indol-3-acético (AIA), el ácido giberélico, citocinas y etileno (Mohapatra, Verma, Dutta y Panda, 2014), el suministro de nutrientes a la planta a través de la producción de sideróforos (Khamna, Yokota y Lumyong, 2009; Nimnoimn, Pongsilp y Lumyong, 2010), la fijación de nitrógeno (Ekpo y Nkanang, 2010) y la solubilización de fosfatos (Jog, Pandya, Nareshkumar y Rajkumar, 2014). Uno de los principales mecanismos indirectos, mediante el cual actúan las bacterias promotoras del crecimiento de las plantas, es el control de fitopatógenos mediante diversos procesos de competencia y exclusión (Chen *et al.*, 2018).

El género *Streptomyces* incluye bacterias Gram-positivas, formadoras de micelio, el cual está ganando interés en la agricultura por su acción promotora del crecimiento de las plantas y como agente de control biológico. Este género de actinobacterias comprende más de 500 especies ubicuas en la naturaleza, que pueden vivir libremente en el suelo o bien, como simbioses de organismos eucariotas, desde hongos hasta plantas, insectos y animales marinos (Seipke, Kaltenpoth y Hutchings, 2012). Se ha demostrado que algunas cepas de *Streptomyces* pueden colonizar la raíz de las plantas y vivir como endófitos en las raíces de numerosos cultivos (Bonaldi *et al.*, 2015), así como suprimir patógenos de las plantas e incluso promover el crecimiento de las mismas (Doubou, Akimov, Côté, Charest y Beaulieu, 2001; Palaniyandi, Yang, Zhang y Suh, 2013) a través de la producción de auxinas o sideróforos (Sadeghi *et al.*, 2012). Se ha reportado por igual, efectos positivos de la aplicación de *Streptomyces* en la germinación de semillas (El-Tarabily, 2008) y en la producción de metabolitos secundarios de utilidad e interés agronómico (Watve, Tickoo, Jog y Bhole, 2001).

Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la cepa de *Streptomyces* sp. RL8 como promotora de la germinación y crecimiento inicial de frijol Tépari (*Phaseolus acutifolius* Gray), bajo condiciones controladas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Hongos Fitopatógenos

Los hongos fitopatógenos *Fusarium* sp. (dos cepas; aisladas respectivamente del tallo de plantas de tabaco y de tomate), *Rhizoctonia solani* Kühn, *Sclerotium rolfsii* Sacc., *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary y *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid., son conocidos por sus efectos nocivos en el cultivo del frijol, y fueron seleccionados para el desarrollo de estudios de antagonismo ante la cepa de *Streptomyces* sp. RL8. Estas cepas fueron obtenidas de la colección de hongos fitopatógenos del Laboratorio de microbiología del centro de bioactivos químicos de la Universidad Central de Las Villas, Cuba (LM-CBQ-UCLV), las cuales fueron resembradas en medio de cultivo agar-papa-dextrosa (APD) y conservadas a temperatura de 4 grados centígrados.

### *Streptomyces* sp. RL8

La cepa de *Streptomyces* sp. RL8, inicialmente aislada de sedimentos marinos y caracterizada por García-Bernal *et al.* (2015), se obtuvo del LM-CBQ-UCLV.

### Actividad Antagónica *in vitro* de *Streptomyces* sp. RL8 Frente a Hongos Fitopatógenos

A fin de determinar la capacidad antagonista *in vitro* de la cepa RL8 frente a los fitopatógenos antes descritos, ésta se sembró en placas Petri conteniendo agar-caseína-almidón (ACA) a pH 7 y se incubó durante siete días a temperatura de 28 °C para permitir su crecimiento, esporulación y producción de metabolitos secundarios. Los hongos fitopatógenos se sembraron en APD y se incubaron a 28 °C durante tres días, previo a la realización del ensayo de antagonismo.

Se realizó un ensayo de reto de la cepa RL8 frente a los hongos fitopatógenos, aplicando la técnica de cultivo dual en placas de Petri de 90 mm de diámetro con medio de cultivo APD (Dávila-Medina, Gallegos, Hernández, Ochoa y Flores, 2013; Wu *et al.*, 2016; Sellem *et al.*, 2017). En el centro de la placa se colocó un disco de 6 mm de diámetro de micelio del hongo fitopatógeno (tomado del crecimiento en placa de Petri inoculada con suspensión micelial en medio de

cultivo APD). En los bordes de la placa se colocaron dos discos de 6 mm con micelio del actinomiceto. También se sembraron discos de 6 mm de diámetro de los hongos fitopatógenos en el centro de placas de APD sin actinomicetos (como control). Todas las placas se incubaron a 28 °C durante siete días y se midió el diámetro del área de inhibición para cada pareja de hongo fitopatógeno-actinomiceto (Cuesta, García-de-la-Fuente, Abad y Fornes, 2012; Misk y Franco, 2011). Adicionalmente, se evaluó el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) para cada pareja de hongo fitopatógeno-actinomiceto, mediante la fórmula descrita por Crawford, Lynch, Whipps y Ousley (1993); Misk y Franco (2011); Cuesta *et al.* (2012), basada en el crecimiento micelial (CM).

$$\text{PICR (\%)} = \frac{\text{CM (Hongo)} - \text{CMword (Hongo-Actinomiceto)}}{\text{CM (Hongo)}} \times 100 \quad (1)$$

### Producción de Sideróforos

Para la detección de sideróforos se utilizó crome azulol S (CAS), un compuesto quelante de hierro que utiliza un complejo hierro-colorante que cambia su coloración (de azul a anaranjado), al perder hierro. La cepa RL8 se sembró por el método de estrías sobre placas con agar CAS. Para preparar un litro de medio agar CAS se disolvieron 60.5 mg de CAS en 50 mL de agua; el producto resultante se mezcló con 10 mL de una solución que contenía  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  1 mM disuelto en HCl 10 mM. La solución resultante se añadió lentamente y con agitación a otra solución que contenía 72.9 mg de HDTMA disuelto en 40 mL de agua. La mezcla resultante (solución 1) se esterilizó, al igual que otra solución (solución 2) que contenía 750 mL  $\text{H}_2\text{O}$ , 100 mL medio mínimo M9 (10x), 15 g agar, 30.24 g Pipes y NaOH para ajustar el pH a 6.8, de acuerdo a Srimathi y Suji (2018).

Después de enfriar a 50 °C, se mezclaron 50 mL de la solución 1 con 450 mL de la solución 2, añadiéndose a esta mezcla acetato sódico 50 mM,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  2 mM y 1.5  $\mu\text{L}$  de la solución de trazas del medio M9 anteriormente descrito. Las placas fueron sembradas colocando un punto de cultivo en el agar, e incubadas a 28 °C durante siete días. La aparición de zonas anaranjadas alrededor de las colonias, fue considerada como evidencia del desarrollo de microorganismos productores de sideróforos (Payne, 1994).

## Solubilización de Fosfatos

Para determinar la capacidad de la cepa de *Streptomyces* sp. RL8 para solubilizar fosfatos, la misma se sembró en placas de Petri con medio Pikovskaya (glucosa, 10 g;  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  2.5 g;  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 0.5 g; NaCl, 0.2 g;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0.1 g; KCl, 0.2 g; extracto de levadura, 0.5 g;  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 0.002 g; y  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0.002 g, suplementado con 1% de agar purificado para 1 L de agua destilada) y se incubaron a 28 °C durante siete días. La formación de halos de aclaramiento alrededor de las colonias se tomó como un indicador positivo a la prueba realizada (Nautiyal, 1999; Franco-Correa *et al.*, 2010; Misk y Franco, 2011). La medición de los halos de aclaramiento se llevó a cabo al tercer y sexto día del ensayo.

## Efecto de la Cepa *Streptomyces* sp. RL8 en la Germinación y Crecimiento Inicial de *Phaseolus acutifolius* Gray.

Se aplicó un diseño experimental completamente al azar, con un tratamiento basado en *Streptomyces* sp. RL8 (T) y un tratamiento control con agua destilada (C), con cuatro réplicas por tratamiento y 10 semillas por réplica.

## Desarrollo Experimental

La cepa RL8 se cultivó en caldo tripton-soya y se incubó con agitación a 28 °C durante siete días. Después del tiempo de incubación, el cultivo se centrifugó a 4 696 × g a 4 °C durante 10 min, eliminando el sobrenadante y lavando dos veces con agua destilada estéril. La biomasa resultante se re-suspendió en agua destilada estéril, en la proporción requerida para obtener una densidad óptica equivalente a 1.0 (a 600 nm), a fin de obtener una concentración final de trabajo de  $1 \times 10^9$  UFC mL<sup>-1</sup> (García-Bernal *et al.*, 2015).

Se utilizaron semillas certificadas de frijol Tépari (*Phaseolus acutifolius* Gray). Previo al experimento se realizó una prueba de germinación utilizando la metodología ISTA (2010). Las semillas se desinfectaron previamente mediante inmersión en una solución de hipoclorito de sodio al 1.5% durante 15 min y luego en etanol al 70% durante 5 min (Collado *et al.* 2013). Posteriormente las semillas se enjuagaron con agua destilada estéril, se secaron con papel esterilizado y

fueron embebidas durante 30 min en el tratamiento bacteriano RL8 (T) o en el tratamiento control con agua destilada (C). Finalmente, las semillas desinfectadas y embebidas se colocaron en cajas Petri (150 × 15 mm) esterilizadas previamente en autoclave, cubriendo el fondo con una lámina de papel de filtro esterilizado. Este papel se utilizó como sustrato y fue humedecido con 20 mL de agua destilada por caja. La incubación de las semillas se realizó durante siete días en una cámara de germinación (Lumistell®, modelo IES-OS, serie 1408-88-01) a temperatura de 28 °C, 80% de humedad y 12 h diarias de luz continua.

El tratamiento (RL8) fue aplicado diariamente a cada placa (1 mL) y en el caso del grupo control se aplicó agua destilada estéril. A los siete días se procedió a determinar las variables morfométricas de las plántulas procedentes de cada tratamiento.

## Porcentaje y Tasa de Germinación

La germinación se registró diariamente durante siete días, considerando como semilla germinada cuando la radícula presentó alrededor de 1 mm de longitud y el porcentaje de germinación (PG) se determinó al concluir ese periodo. La tasa de germinación (TG) se calculó aplicando la ecuación propuesta por Maguire (1962), en la cual es equivalente a M:

$$M = n1/t1 + n2/t2 + \dots n10/t7 \quad (2)$$

Dónde: n1, n2, ... n10 es el número de semillas germinadas en los tiempos t1, t2, ... t7.

## Variables Morfométricas

Al finalizar el experimento en caja Petri (7 días *in vitro*), se procedió a determinar la longitud del tallo (LT) y longitud de la raíz (LR) de las plántulas y ambas variables se determinaron empleando una regla graduada. La biomasa fresca de la parte aérea y de la raíz (BFPA y BFR) se determinó mediante una balanza analítica (Mettler Toledo®, modelo AG204). Los tejidos vegetales previamente divididos en parte aérea y raíz se colocaron por separado en bolsas de papel, se pesaron y se colocaron en una estufa de secado (Shel-Lab®, modelo FX-5, serie-1000203) a temperatura de 70 °C durante 48 h hasta su deshidratación completa y se pesaron nuevamente para determinar la biomasa seca correspondiente (BSPA y BSR).



## Análisis Estadístico

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y cuando se encontró diferencia significativa entre tratamientos, se utilizó la prueba de comparación múltiple de medias (Tukey HSD, ( $P \leq 0.05$ ), usando el programa estadístico Statistica v. 10.0 para Windows (StatSoft, 2011).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para caracterizar la cepa *Streptomyces* sp. RL8, se determinó su actividad antifúngica y su capacidad de producir sideróforos y solubilizar fosfatos inorgánicos, propiedades específicas que la convierten en un agente promotor del crecimiento de las plantas, particularmente del frijol Tépari *Phaseolus acutifolius* Gray.

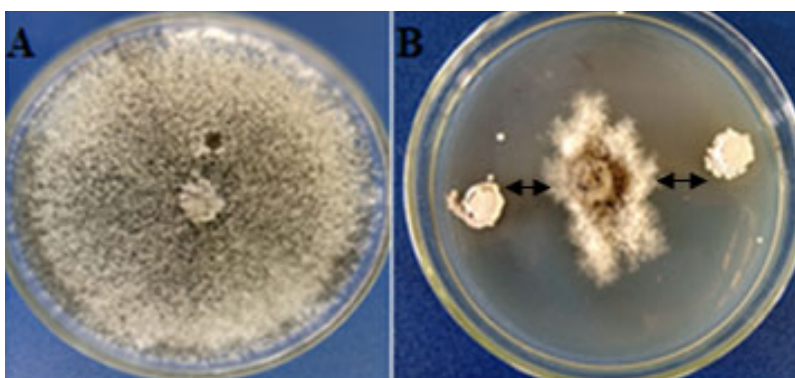
La cepa *Streptomyces* sp. RL8 se evaluó *in vitro* mediante el método de difusión en agar frente a varias especies de hongos fitopatógenos, incluyendo dos cepas de *Fusarium* sp., una aislada del tallo del tabaco y otra del tallo del tomate, así como las cepas *R. solani*, *M. phaseolina* y *S. rolfsii*, aisladas del frijol común *Phaseolus vulgaris*.

La cepa RL8 mostró actividad frente a la mayoría de los hongos fitopatógenos evaluados. La cepa de *Fusarium* sp. aislada del tallo del tabaco se inhibió en un 55.25% y la misma cepa aislada del tallo del tomate,

en un 44.44%. El PICR de *R. solani* fue de 53.03%. *M. phaseolina* fue la cepa fúngica más susceptible a la actividad antagonista de *Streptomyces* sp. RL8, con un PICR de 79.77% (Figura 1), mientras que el fitopatógeno con mayor resistencia al antagonismo de la cepa RL8, fue *S. rolfsii* (Figura 2).

Existen muchas investigaciones sobre la utilización de los actinomicetos como promotores del crecimiento de las plantas, y entre sus características favorables está poseer actividad antibacteriana o antifúngica (Jog, Nareshkumar y Rajkumar, 2016; Evangelista-Martínez, 2014). Muchas especies de actinomicetos, particularmente las que pertenecen al género *Streptomyces*, son bien conocidas como agentes de control biológico con actividad antimicótica, que inhiben el desarrollo de varios hongos fitopatógenos (Joo, 2005; Errakhi, Bouteau, Lebrihi y Barakate, 2007).

Evangelista-Martínez, Contreras, Corona y Gastélum (2020) observó una amplia actividad antagonista de la cepa *Streptomyces* spp. CACIS-1.16CA contra *Colletotrichum* sp., *Alternaria* sp., *Aspergillus* sp., *Botrytis* sp., *Rhizoctonia* sp., y *Rhizopus* sp. Por lo anterior, el manejo de fitopatógenos utilizando *Streptomyces* es una opción viable y una alternativa a los agentes químicos utilizados para su control en la agricultura (Heydary y Pessaraki, 2010; Talubnak y Soyong, 2010).



**Figura 1.** Imagen ilustrativa de la actividad antagonista *in vitro* de la cepa *Streptomyces* sp. RL8 contra *Macrophomina phaseolina*. Inhibición del desarrollo del hongo fitopatógeno (A); Reto de RL8 frente al hongo fitopatógeno (B). Fotografía de Milagro García-Bernal; Centro de Bioactivos Químicos, Universidad Central de las Villas, Cuba (2018).

**Figure 1.** Illustrative image of the *in vitro* antagonist activity of *Streptomyces* sp. RL8 strain against *Macrophomina phaseolina*. Inhibition of the development of the phytopathogenic fungus (A); Challenge of RL8 against the phytopathogenic fungus (B). Photograph by Milagro García-Bernal; Centro de Bioactivos Químicos, Universidad Central de las Villas, Cuba (2018).

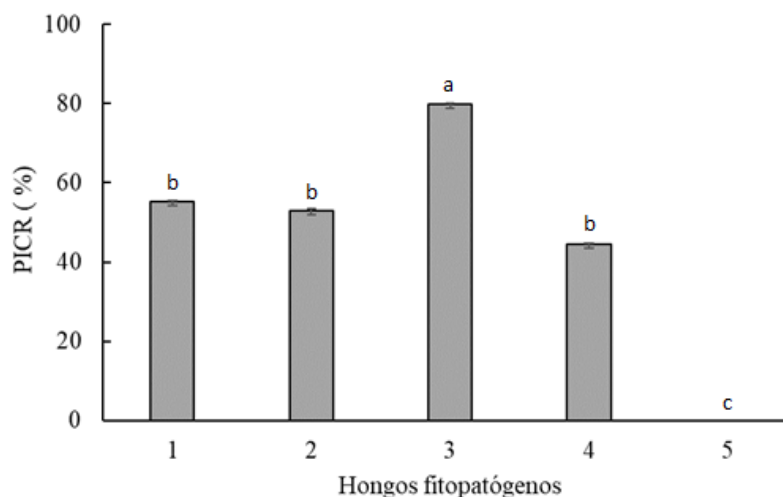


Figura 2. Evaluación de la actividad antagonista de la cepa *Streptomyces* sp. RL8 frente a hongos fitopatógenos de plantas, en función del porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR). *Fusarium* sp. aislado del tallo de plantas de tabaco (1), *Rhizoctonia solani* (2), *Macrophomina phaseolina* (3), *Fusarium* sp. aislado del tallo plantas de tomate (4) y *Sclerotium rolfsii* (5). Letras distintas muestran diferencia estadística significativa ( $P < 0.05$ ).

Figure 2. Evaluation of the antagonist activity of the *Streptomyces* sp. RL8 strain against plant pathogenic fungi, based on the percentage of radial growth inhibition (PICR). *Fusarium* sp. isolated from the stem of tobacco plants (1), *Rhizoctonia solani* (2), *Macrophomina phaseolina* (3), *Fusarium* sp. isolated from the stem of tomato plants (4) and *Sclerotium rolfsii* (5). Different letters show significant statistical difference ( $P < 0.05$ ).

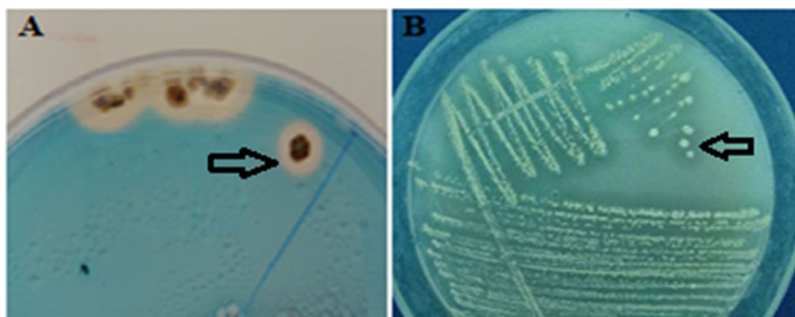
Se sabe que las especies de *Streptomyces* producen sideróforos, los cuales inhiben el crecimiento de fitopatógenos al limitar el hierro en la rizosfera (Khamna *et al.*, 2009; Gopalakrishnan, Srinivas, Vidya y Rathore, 2013; Gopalakrishnan *et al.*, 2014). La cepa RL8 produjo sideróforos, ya que se observó un halo de color naranja alrededor de las colonias cultivadas en el medio agar CAS (Figura 3A). Este medio de cultivo, con una coloración azul al momento de su preparación, se torna naranja en aquellas zonas donde crecen microorganismos con la capacidad de producir sideróforos (Aguado-Santacruz, Moreno, Jiménez, García y Preciado, 2012).

La cepa RL8 creció en medio Pikovskaya y la presencia de una zona clara alrededor de las colonias indicó cualitativamente la solubilización de fosfatos (Figura 3B). Jog, Nareshkumar y Rajkumar (2012) sugirieron que las cepas *Streptomyces rochei*, *Streptomyces carpinensis* y *Streptomyces thermolilacinus* tienen la capacidad de producir sideróforos en medio de agar CAS. Estas características son típicas de las actinobacterias asociadas a plantas;

propiedades que se han relacionado con la promoción del crecimiento vegetal (Bouizgarne y Aouamar, 2014; Carvalho, Ma, Oliveira y Freitas, 2017).

El fósforo (P) es un nutriente esencial para el crecimiento y desarrollo de los cultivos (Díaz y Torrent, 2016; Wei *et al.*, 2017). Las bacterias solubilizadoras de fosfatos (BSF), asociadas con la rizosfera de la planta, hacen que el fósforo mineral esté más fácilmente disponible para la absorción de la planta, al transformar su forma insoluble en otras formas disponibles para el cultivo. El efecto de las bacterias solubilizadoras de fosfatos (BSF) en las plantas se considera un mecanismo para mejorar su crecimiento y, por lo tanto, su productividad biológica (Maroniche, Rubio, Consiglio y Perticari, 2016).

Las BSF alteran la plasticidad de las semillas y de las raíces al cambiar la composición del suelo. Por ejemplo, las rizobacterias que promueven el crecimiento de las plantas pueden mejorar la solubilidad de los nutrientes minerales al liberar ácidos orgánicos, y, por lo tanto, aumentar la biomasa vegetativa y la acumulación de N y P en los tejidos de las plantas, estimulando su crecimiento (Zahir, Arshad y Frankenberger, 2004).



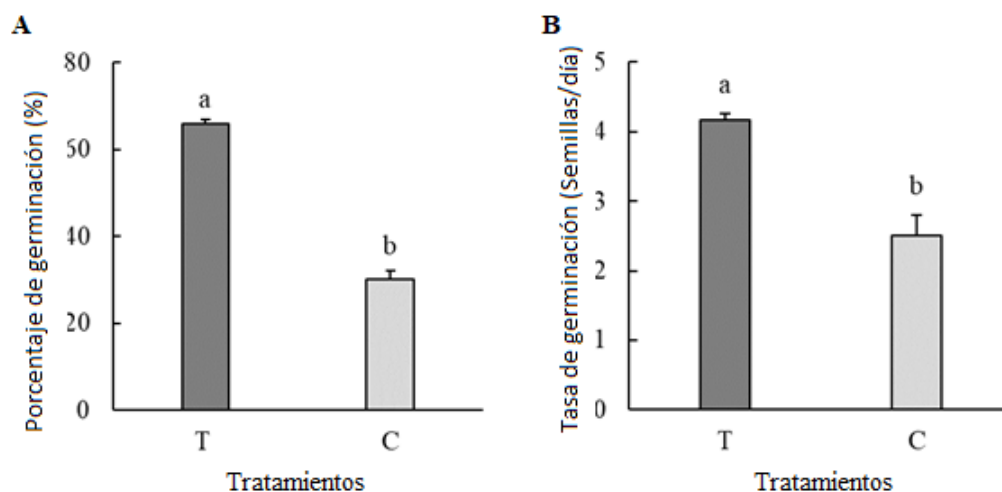
**Figura 3.** Imagen ilustrativa de la producción de sideróforos (A) y de la solubilización de fosfatos (B), por la cepa RL8 del actinomiceto *Streptomyces* sp. Fotografía de Milagro García-Bernal; Centro de Bioactivos Químicos, Universidad Central de las Villas, Cuba (2018).

**Figure 3.** Illustrative image of the production of siderophores (A) and the solubilization of phosphates (B), by the RL8 strain of the actinomycete *Streptomyces* sp. Photograph by Milagro García-Bernal; Centro de Bioactivos Químicos, Universidad Central de las Villas, Cuba (2018).

Durante el desarrollo del presente estudio, la cepa RL8 del actinomiceto *Streptomyces* sp. exhibió la capacidad para solubilizar fosfatos, de manera que podría considerarse una BSF con acción potencial sobre la plasticidad de semillas y raíces de algunas plantas de interés agrícola.

En la Figura 4 se muestran los resultados obtenidos en términos del porcentaje (PG %) y de la tasa (TG Semillas por día) de germinación de semillas de

*Phaseolus acutifolius* Gray tratadas con *Streptomyces* sp. RL8. Los grupos experimentales mostraron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) en PG y TG, ya que al aplicar RL8 (T) se obtuvo una mayor respuesta en la germinación (65.83%) con respecto al grupo control (C) no tratado con RL8 que sólo fue de 30% (Figura 4A). Con relación al efecto de la cepa RL8 en la tasa de germinación, se encontraron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) con respecto al grupo control (C) (Figura 4B).



**Figura 4.** Efecto de *Streptomyces* sp. RL8 en el porcentaje de germinación (PG, A) y tasa de germinación (TG, B), de *Phaseolus acutifolius* Gray. T = Tratamiento bacteriano (RL8); C = Tratamiento control (Agua destilada estéril). Letras distintas muestran diferencia estadística significativa ( $P < 0.05$ ).

**Figure 4.** Effect of *Streptomyces* sp. RL8 in the percentage of germination (PG, A) and germination rate (TG, B), of *Phaseolus acutifolius* Gray. T = Bacterial treatment (RL8); C = Control treatment (sterile distilled water). Different letters show significant statistical difference ( $P < 0.05$ ).

En este estudio se demostró que el tratamiento con la cepa de *Streptomyces* sp. RL8 aumentó el porcentaje de germinación y la tasa de germinación de las semillas de frijol Tépari, al compararlas con el grupo control no tratado con esta actinobacteria. Este hallazgo es consistente con el resultado obtenido por Rae-Hyun y Song (2007), quienes reportaron que la aplicación de *Rhodopseudomonas* KL9 y *Rhodopseudomonas* BL6 incrementó el porcentaje de germinación de las semillas de tomate en un 31.8 y 7.6% respectivamente, en relación con las semillas del grupo control no tratadas.

Las diferencias en el incremento del porcentaje de germinación pueden depender del nivel de colonización bacteriana en la semilla, de las propiedades del recubrimiento de la semilla y de la cantidad de sustancias bacterianas que pueden penetrar en la semilla (Sturz y Nowak, 2000). Nuestros resultados coinciden con Lasudee, Tokuyama, Lumyong y Pathom-aree (2018) quienes afirman que el aislado de *Streptomyces thermocarboxydus* S3 aumentó el porcentaje de germinación de semillas de frijol Mungo, en comparación con el grupo control no tratado con este actinomiceto.

En un estudio realizado por Dochhil, Dkhar y Barman (2013), se describe la evidencia de actividad de dos cepas de *Streptomyces* spp. aisladas de *Centella asiatica*, como promotoras de la germinación de semillas y del crecimiento de las plantas, debido a que estas cepas realizan la síntesis de la hormona de crecimiento latente ácido indol acético (AIA). Por otro lado, Conn, Walker y Franco (2008) trataron semillas de *Arabidopsis thaliana* con *Streptomyces* spp. endofítico y *Micromonospora* spp. antes de la siembra, y observaron que las mismas estaban protegidas contra la infección por *Erwinia carotovora* y *Fusarium oxysporum*. Estos autores afirman también que estos microorganismos indujeron la expresión de los mecanismos de defensa de la planta contra estos fitopatógenos, observación que implica que los antagonistas microbianos inicialmente penetraron las semillas durante su germinación y posteriormente colonizaron las plántulas.

Durante la presente investigación, se pudo apreciar que hubo diferencias significativas en todas las variables morfológicas evaluadas (LT, LR, BFPA, BSPA, BFR y BSR) en el crecimiento inicial del frijol Tépari, con respecto al grupo control no tratado. Con respecto a la longitud del tallo (LT) y la longitud de la

raíz (LR), se observaron diferencias significativas de estas mismas variables, al aplicar el tratamiento RL8, con respecto al grupo control no tratado (Figura 5). Igualmente, se observó un incremento en LT (13.09%) y en LR (16.33%), comparado con el grupo control no tratado.

En términos generales, se observaron diferencias significativas en todas las variables morfológicas evaluadas (Cuadro 1). Las plantas tratadas con la cepa RL8 presentaron mayor BFPA (2736.75), BSPA (608.75 mg), BFR (347.0) y BSR (101.25 mg), con respecto al grupo control no tratado.

Nuestros resultados coinciden con Dobbelaere *et al.* (2002), quienes informaron que la inoculación de *Azospirillum brasilense* en plantas de trigo y maíz produjo un aumento en el peso seco de la raíz y el peso seco de la parte aérea de las plantas tratadas. De igual manera, otros investigadores dieron a conocer incrementos en altura y peso seco de varias plantas estudiadas, en respuesta a su inoculación con agentes bacterianos promotores del crecimiento vegetal (Biswas, Ladha, J. K y Dazzo, 2000; Hilali, Przvost,

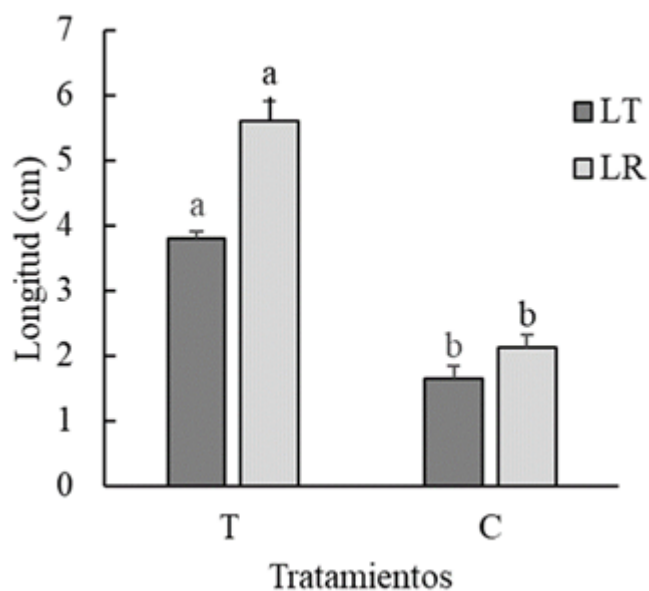


Figura 5. Efecto de la cepa *Streptomyces* sp. RL8 en la longitud de tallo y de raíz de *Phaseolus acutifolius* Gray. LT=Longitud de tallo; LR=Longitud de raíz. Letras distintas muestran diferencia estadística significativa ( $P < 0.05$ ).

Figure 5. Effect of the *Streptomyces* sp. RL8 strain in stem and root length of *Phaseolus acutifolius* Gray. LT = Stem length; LR = Root length. Different letters show significant statistical difference ( $P < 0.05$ ).



**Cuadro 1. Efecto de la cepa *Streptomyces* sp. RL8 en la producción de biomasa vegetal en plantas de frijol Tépari *Phaseolus acutifolius* Gray.**

**Table 1. Effect of the *Streptomyces* sp. RL8 strain in the production of plant biomass in Tépari bean *Phaseolus acutifolius* Gray plants.**

| Tratamientos | BFPA                   | BFR     | BSPA    | BSR     |
|--------------|------------------------|---------|---------|---------|
|              | - - - - - mg - - - - - |         |         |         |
| T            | 2736.75a               | 347.0a  | 608.75a | 101.25a |
| C            | 1846.75b               | 115.75b | 361.5b  | 58.25b  |

BFPA = biomasa fresca de parte aérea; BFR = biomasa fresca de la raíz; BSPA = biomasa seca parte aérea; BSR = biomasa seca de la raíz. Valores expresados como media±desviación estándar; medias con diferentes letras en la columna difieren significativamente ( $P < 0.05$ ).

BFPA = fresh aerial part biomass; BFR = fresh root biomass; BSPA = aerial part dry biomass; DRB = root dry biomass. Values expressed as mean±standard deviation; means with different letters in the column differ significantly ( $P < 0.05$ ).

Broughton y Antoun, 2001). Passari *et al.* (2016), en un estudio realizado, afirmaron que las actinobacterias endofíticas pueden aumentar la longitud y el peso de las raíces y los brotes de las plantas, así como el crecimiento general de la planta huésped. Los resultados obtenidos durante la presente investigación demuestran sin lugar a dudas un efecto positivo de la aplicación de la cepa RL8 como agente biológico promotor del crecimiento inicial de frijol Tépari (*Phaseolus acutifolius* Gray) bajo condiciones controladas. En este caso, los nutrientes movilizados por la actinobacteria RL8, muy probablemente contribuyeron de manera significativa para obtener un mayor crecimiento y desarrollo de las plantas de frijol.

## CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos durante el presente estudio proporcionaron una fuerte evidencia de que la cepa *Streptomyces* sp. RL8 exhibe actividad *in vitro* frente a los hongos fitopatógenos *Fusarium* sp., *Rhizoctonia solani* Kühn, *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary y *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid, a escala experimental. La cepa RL8 produjo sideróforos, solubilizó fosfatos y mejoró la germinación de las semillas de frijol Tépari (*Phaseolus acutifolius* Gray), actuando como un eficaz promotor del crecimiento de esta especie de gran potencial agronómico, durante su etapa inicial del desarrollo en ambiente controlado. Esto permite asumir que la cepa RL8 es una actinobacteria utilizable en el control biológico de fitopatógenos fúngicos, y que adicionalmente, promueve

la productividad del frijol Tépari, por lo que se sugiere su aplicación a escala piloto, independientemente de continuar su evaluación en condiciones de invernadero y campo, para confirmar su potencial aplicabilidad productiva en sistemas de producción orgánica y convencional.

## DECLARACIÓN DE ÉTICA

No aplicable.

## CONSENTIMIENTO PARA PUBLICACIÓN

No aplicable.

## DISPONIBILIDAD DE DATOS

No aplicable.

## CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no tienen intereses en competencia.

## FONDOS

El estudio fue financiado por CONACYT, Programa Presupuestario F003 “Programas Nacionales Estratégicos de Ciencia, Tecnología y Vinculación con los Sectores Social, Público y Privado”, proyecto CIENCIA BÁSICA No. 258282 y PROINNOVA No. 241777, a cargo de JMMS.

## CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

Diseño conceptual del estudio, administración del proyecto de investigación, revisión y validación de manuscritos: J.M.M.S. Conceptualización, análisis y revisión: R.M.M. Conceptualización, análisis y preparación del manuscrito original, revisión y edición: M.G.B. Software, revisión y edición: M.G.B y C.M.O.S. Metodología, revisión y edición: F.A.P. y G.F.A.O.

## AGRADECIMIENTOS

Al Fondo Sectorial de Investigación para la Educación (México), proyecto Ciencia Básica CONACYT No. 258282 “Evaluación experimental

de homeopatía y nuevos probióticos en el cultivo de moluscos, crustáceos y peces de interés comercial” y al personal técnico del CIBNOR: Norma Ochoa y Lidia Hiraes-Lucero.

## LITERATURA CITADA

- Aguado-Santacruz, G. A., Moreno-Gómez, B., Jiménez-Francisco, B., García-Moya, E., & Preciado-Ortiz, R. E. (2012). Impacto de los sideróforos microbianos en la asimilación del hierro por las plantas: una síntesis. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 35(1), 9-21.
- Biswas, J. C., Ladha, J. K., & Dazzo, F. B. (2000). Rhizobia inoculation improves nutrient uptake and growth of lowland rice. *Soil Science Society of America Journal*, 64(5), 1644-1650. <https://doi.org/10.2136/sssaj2000.6451644x>
- Bonaldi, M., Chen, X., Kunova, A., Pizzatti, C., Saracchi, M., & Cortesi P. (2015). Colonization of lettuce rhizosphere and roots by tagged *Streptomyces*. *Frontiers in Microbiology*, 25, 2-10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.0002>
- Bouizgarne, B., & Aouamar, A. A. B. (2014). Diversity of Plant Associated Actinobacteria. In D. K. Maheshwari (Ed.). *Bacterial diversity in sustainable agriculture* (pp. 41-99). Switzerland: Springer. <http://doi.org/10.1007/978-3-319-05936-5>
- Carvalho, M. F., Ma, Y., Oliveira, R. S., & Freitas, H. (2017). Endophytic Actinobacteria for Sustainable Agricultural Applications. In D. K. Maheshwari, & K. Annapurna (Eds.). *Endophytes: Crop Productivity and Protection* (pp. 163-189). Switzerland: Springer.
- Chen, Y., Zhou, D., Qi, D., Gao, Z., Xie, J., & Luo, Y. (2018). Growth promotion and disease suppression ability of a *Streptomyces* sp. CB-75 from banana rhizosphere soil. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1-18. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02704>
- Collado, R., Veitia, N., Bermúdez-Carabaloso, I., García, L. R., Torres, D., Romero, C., ... Angenon, G. (2013). Efficient in vitro plant regeneration via indirect organogenesis for different common bean cultivars. *Scientia Horticulturae*, 153, 109-116. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.02.007>
- Conn, V. M., Walker, A. R., & Franco, M. M. C. (2008). Endophytic actinobacteria induce defense Pin1cu8r cita athways in *Arabidopsis thaliana*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 21(2), 208-218. <https://doi.org/10.1094/MPMI-21-2-0208>
- Crawford, D. L., Lynch, J. M., Whipps, J. M., & Ousley, M. A. (1993). Isolation and characterization of actinomycete antagonists of a fungal root pathogen. *Applied and Environmental Microbiology*, 59(11), 3899-3905. <https://doi.org/10.1128/aem.59.11.3899-3905.1993>
- Cuesta, G., García-de-la-Fuente, R., Abad, M., & Fornes, F. (2012). Isolation and identification of actinomycetes from a compost-amended soil with potential as biocontrol agents. *Journal of Environmental Management*, 95, S281-S282. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2010.11.023>
- Dávila-Medina, M. D., Gallegos-Morales, G., Hernández-Castillo, F. D., Ochoa-Fuente, Y. M., & Flores-Olivas, A. (2013). Actinomycetos antagonicos contra hongos fitopatogenos de importancia agricola. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 4(8), 1187-1196.
- Díaz, I., & Torrent, J. (2016). Changes in Olsen P in relation to P balance in contrasting agricultural soils. *Pedosphere*, 26(5), 636-42. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(15\)60072-8](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(15)60072-8)
- Dobbelaere, S., Croonenborghs, A., Thys, A., Ptacek, D., Okon, Y., & Vanderleyden, J. (2002). Effect of inoculation with wild type *Azospirillum brasilense* and *A. irakense* strains on development and nitrogen uptake of spring wheat and grain maize. *Biology and Fertility of Soils*, 36, 284-297.
- Dochhil, H., Dkhar, M. S., & Barman, D. (2013). Seed germination enhancing activity of endophytic *Streptomyces* isolated from indigenous ethno-medicinal plant *Centella asiatica*. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 4(1), 256-262.
- Doumbou, C. L., Akimov, V., Côté, M., Charest, P. M., & Beaulieu, C. (2001). Taxonomic study on nonpathogenic streptomycetes isolated from common scab lesions on potato tubers. *Systematic and Applied Microbiology*, 24(3), 451-456.
- Ekpo, M. A., & Nkanang, A. J. (2010). Nitrogen fixing capacity of legumes and their rhizospheral microflora in diesel oil polluted soil in the tropics. *Journal of Petroleum Science and Engineering*, 1(4), 76-83.
- El-Tarabily, K. A. (2008). Promotion of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) plant growth by rhizosphere competent 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase-producing streptomycete actinomycetes. *Plant and Soil*, 308, 161-174.
- Errakhi, R., Bouteau, F., Lebrihi, A., & Barakate, M. (2007). Evidences of biological control capacities of *Streptomyces* spp. against *Sclerotium rolfisii* responsible for damping-off disease in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23, 1503-1509.
- Evangelista-Martínez, Z. (2014). Isolation and characterization of soil *Streptomyces* species as potential biological control agents against fungal plant pathogens. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30(5), 1639-1647. <https://doi.org/10.1007/s11274-013-1568-x>
- Evangelista-Martínez, Z., Contreras-Leal, E. A., Corona-Pedraza, L. F., & Gastélum-Martínez, É. (2020). Biocontrol potential of *Streptomyces* sp. CACIS-1.5 CA against phytopathogenic fungi causing postharvest fruit diseases. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 30(1), 1-10.
- Franco-Correa, M., Quintana, A., Duque, C., Suarez, C., Rodríguez, M. X., & Barea, J. M. (2010) Evaluation of actinomycete strains for key traits related with plant growth promotion and mycorrhiza helping activities. *Applied Soil Ecology*, 45(3), 209-217. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2010.04.007>
- García-Bernal, M., Campa-Córdova, Á. I., Saucedo, P. E., Casanova-González, M., Medina-Marrero, R., & Mazón-Suástegui, J. M. (2015). Isolation and *in vitro* selection of actinomycetes strains as potential probiotics for aquaculture. *Veterinary World*, 8(2), 170-176.
- Gopalakrishnan, S., Srinivas, V., Vidya, M.S., & Rathore, A. (2013). Plant growth-promoting activities of *Streptomyces* spp. in sorghum and rice. *Springer-Plus*, 2(1), 1-8. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-574>
- Gopalakrishnan, S., Vadlamudi, S., Bandikinda, P., Sathya, A., Vijayabharathi, R., Rupela, O., ... Varshney, R. K. (2014). Evaluation of *Streptomyces* strains isolated from herbal vermicompost for their plant growth-promotion traits in rice. *Microbiological Research*, 169, 40-48. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.09.008>

- Heydary, A., & Pessaraki, M. (2010). A review on biological control of fungal plant pathogens using microbial antagonists. *Journal of Biological Sciences*, 10(4), 273-290.
- Hilali, A., Przrost, D., Broughton, W. J., & Antoun, H. (2001). Effects de l'inoculation avec des souches de *Rhizobium leguminosarium* bv. trifolii sur la croissance du blé dans deux sols du Marco. *Canadian Journal of Microbiology*, 47(6), 590-593. <https://doi.org/10.1139/w01-068>
- ISTA (International Seed Testing Association). (2010). Rules proposals for the International Rules for Seed Testing 2010 Edition. Technical Committees and the Rules Committee of the Association and has been endorsed by the ISTA Executive Committee. Glattbrugg, Zurich, Switzerland: ISTA
- Jiménez-Galindo, J. C., & Acosta-Gallegos, J. A. (2012). Caracterización de genotipos criollos de frijol Tépari (*Phaseolus acutifolius* A. Gray) y común (*Phaseolus vulgaris* L.) bajo temporal. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 3(8), 1565-1577.
- Jog, R., Nareshkumar, G., & Rajkumar, S. (2016). Enhancing soil health and plant growth promotion by actinomycetes. In G. Subramaniam, S. Arumugam, V. Rajendran (Eds.). *Plant growth promoting actinobacteria* (pp. 33-45). Singapore: Springer.
- Jog, R., Pandya, M., Nareshkumar, G., & Rajkumar, S. (2014). Mechanism of phosphate solubilization and antifungal activity of *Streptomyces* spp. Isolated from wheat roots and rhizosphere and their application in improving plant growth. *Microbiology*, 160(4), 778-788. <https://doi.org/10.1099/mic.0.074146-0>
- Jog, R., Nareshkumar, G., & Rajkumar, S. (2012). Plant growth promoting potential and soil enzyme production of the most abundant *Streptomyces* spp. from wheat rhizosphere. *Journal of Applied Microbiology*, 113(5), 1154-1164. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05417.x>
- Joo, G. J. (2005). Production of an anti-fungal substance for biological control of *Phytophthora capsici* causing phytophthora blight in red-peppers by *Streptomyces halstedii*. *Biotechnology Letters*, 27, 201-205.
- Khamna, S., Yokota, A., & Lumyong, S. (2009). Actinomycetes isolated from medicinal plant rhizosphere soil: diversity and screening of antifungal compound, indole-3-acetic acid and siderophore production. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(4), 649-655
- Lasudee, K., Tokuyama, S., Lumyong, S., & Pathom-aree, W. (2018). Pathom-aree W. Actinobacteria associated with arbuscular mycorrhizal *Funneliformis mosseae* spores, taxonomic characterization and their beneficial traits to plants: evidence obtained from mung bean (*Vigna radiata*) and thai jasmine rice (*Oryza sativa*). *Frontiers in Microbiology*, 9, 1247.
- Maguire, J. D. (1962). Speed of germination - aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, 2, 176-177.
- Maroniche, G. A., Rubio, E. J., Consiglio, A., & Peticari, A. (2016). Plant-associated fluorescent *Pseudomonas* from red lateritic soil: Beneficial characteristics and their impact on lettuce growth. *Journal of General and Applied Microbiology*, 62, 248-57. <https://doi.org/10.2323/jgam.2016.04.006>
- Mazón-Suástegui, J. M., Ojeda-Silvera, C. M., García-Bernal, M., Batista-Sánchez, D., Gurrola-Mesa, A. D., & Mesa-Zavala E. (2020a). Efectos de medicamentos homeopáticos en indicadores fisiológicos y del desarrollo inicial del frijol Yorimón (*Vigna unguiculata* L., Walp.). *Terra Latinoamericana*, 38(1), 13-23. <https://doi.org/10.28940/terra.v38i1.581>
- Mazón-Suástegui, J. M., Ojeda-Silvera, C. M., García-Bernal, M., Batista-Sánchez, D., & Abasolo-Pacheco F. (2020b). La Homeopatía incrementa la tolerancia al estrés por NaCl en plantas de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) variedad Quivicán. *Terra Latinoamericana*, 38(1), 37-51. <https://doi.org/10.28940/terra.v38i1.584>
- Misk, A., & Franco, C. (2011). Biocontrol of chickpea root rot using endophytic actinobacteria. *BioControl*, 56(5), 811-822.
- Mohapatra, B., Verma, D. K., Dutta, H. S., & Panda, B. B. (2015). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): as a sustainable way of organic agriculture. *International Journal of Microbiology Allied Sciences*, 1, 16-25.
- Nautiyal, S. C. (1999). An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganism. *FEMS Microbiology Letters*, 170, 265-275.
- Nimnoimn, P., Pongsilp, N., & Lumyong, S. (2010). Endophytic actinomycetes isolated from *Aquilaria crassna* Pierre ex Lec and screening of plant growth promoters production. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26(2), 193-203. <https://doi.org/10.1007/s11274-009-0159-3>
- Palaniyandi, S. A., Yang, S. H., Zhang, L., & Suh, J. W. (2013). Effects of actinobacteria on plant disease suppression and growth promotion. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(22), 9621-9636.
- Passari, A. K., Chandra, P., Zothanpuia., Mishra, V. K., Leo, V. V., Gupta, V. K., ... Singh, B. P. (2016). Detection of biosynthetic gene and phytohormone production by endophytic actinobacteria associated with *Solanum lycopersicum* and their plant-growth-promoting effect. *Research in Microbiology*, 167(8), 692-705. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2016.07.001>
- Payne, S. M. (1994). Detection, isolation, and characterization of siderophores. *Method in Enzymology*, 235, 329-344.
- Rae-Hyun, K., & Song, H. G. (2007). Effects of application of *Rhodospseudomonas* sp. on seed germination and growth of tomato under axenic conditions. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 17(11), 1805-1810.
- Reyes-Rivas, E., Padilla-Bernal, L. E., Pérez-Reyna, O., & López-Jaquéz, P. (2008). Historia, naturaleza y cualidades alimentarias del frijol. *Revista Investigación Científica*, 4(3), 1-21
- Sadeghi, A., Karimi, E., Dahaji, P. A., Javid, M. G., Dalvand, Y., & Askari, H. (2012). Plant growth promoting activity of an auxin and siderophore producing isolate of *Streptomyces* under saline soil conditions. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28, 1503-1509.
- Seipke, R. F., Kaltenpoth, M., & Hutchings M. I. (2012). *Streptomyces* as symbionts: an emerging and widespread theme? *FEMS Microbiology Reviews*, 36(4) 862-876. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00313.x>
- Sellem, I., Triki, M. A., Elleuch, L., Cheffi, M., Chakchouk, A., Smaoui, S., & Mellouli, L. (2017). The use of newly isolated *Streptomyces* strain TN258 as potential biocontrol agent of potato tubers leak caused by *Pythium ultimum*. *Journal of Basic Microbiology*, 57(5), 393-401. <https://doi.org/10.1002/jobm.201600604>
- Srimathi, K., & Suji, H. A. (2018). Siderophores Detection by using Blue Agar CAS Assay Methods. *International Journals of Scientific Research in Biological Sciences*, 5(6) 180-185.

- Statsoft. (2011). *STATISTICA User's Guide. Version 10*. Tulsa, OK, USA: Statsoft Inc.
- Sturz, A., & Nowak, J. (2000). Endophytic communities of rhizobacteria and the strategies required to create yield enhancing associations with crops. *Applied Soil Ecology*, *15*(2), 183-190. [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(00\)00094-9](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(00)00094-9)
- Suárez-Martínez, S. E., Ferriz-Martínez, R. A., Campos-Vega, R., Elton-Puente, J. E., de la Torre-Carbot, K., & García-Gasca, T. (2016). Bean seeds: leading nutraceutical source for human health. *CyTA-Journal of Food*, *14*(1), 131-137. <https://doi.org/10.1080/19476337.2015.1063548>
- Talubnak, C., & Soyong, K. (2010). Biological control of vanilla anthracnose using *Emericella nidulans*. *Journal of Agricultural Technology*, *6*(1), 47-55.
- Watve, M. G., Tickoo, R., Jog, M. M., & Bhole, B. D. (2001). How many antibiotics are produced by the genus *Streptomyces*? *Archives of Microbiology*, *176*(5), 386-90.
- Wei, Y., Zhao, Y., Fan, Y., Lu, Q., Li, M., Wei, Q., ... Wei, Z. (2017). Impact of phosphate solubilizing bacteria inoculation methods on phosphorus transformation and long-term utilization in composting. *Bioresource Technology*, *241*, 134-41. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.05.099>
- Wu, L., Shang, H., Wang, Q., Gu, H., Liu, G., & Yang, S. (2016). Isolation and characterization of antagonistic endophytes from *Dendrobium candidum* Wall ex Lindl, and the biofertilizing potential of a novel *Pseudomonas saponiphila* strain. *Applied Soil Ecology*, *105*, 101-108. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2016.04.008>
- Zahir, Z. A., Arshad, M., & Frankenberger, W. T. (2004). Plant growth promoting rhizobacteria: Applications and perspectives in agriculture. In D. L. Sparks (Ed.). *Advances in Agronomy* Volume 81 (pp. 97-168). Newark, Delaware, USA: Academic Press. [http://doi.org/10.1016/S0065-2113\(03\)81003-9](http://doi.org/10.1016/S0065-2113(03)81003-9)