

***Bacillus cereus* bacteria endófitas promotora de crecimiento vegetal**

Bacillus cereus endophytic bacterial plant growth promoter

Chamorro-Anaya Lina María^{*}, Chamorro-Anaya Leonardo Miguel^{}, Pérez Cordero Alexander^{***}**

DOI: 10.15446/rev.colomb.biote.v22n2.81723

RESUMEN

La planta *Lippia origanoides* ha sido ampliamente estudiada debido al efecto antimicrobiano y antifúngico que poseen sus extractos y aceites esenciales, los cuales han sido probados contra un gran número de microorganismos patógenos. Sin embargo, es escasa la literatura que registra la diversidad de bacterias endófitas asociadas a esta especie de plantas. El objetivo del trabajo fue evaluar *in vitro* la capacidad de promoción de crecimiento vegetal de bacterias endófitas de *Lippia origanoides* en el municipio de Sincelejo-Sucre, Colombia. En este estudio se aislaron bacterias endófitas en medio de cultivo agar R₂A a partir de diferentes tejidos, se evaluó la densidad poblacional (UFC/g de tejido) por conteo en superficie y la promoción de crecimiento vegetal de forma cualitativa en medios selectivos específicos. Se observaron diferencias significativas para la densidad poblacional de bacterias endófitas respecto al tipo de tejido, con mayores valores en la raíz ($2,0 \times 10^{10}$ /g raíz), seguido del tallo ($1,3 \times 10^{10}$ /g tallo) y hojas ($9,2 \times 10^9$ /g hoja). Se obtuvieron un total de 20 bacterias endófitas, los cuales dos mostraron capacidad solubilizadora de fosfato, fijación biológica de nitrógeno, producción de sideróforos y ACC desaminasa. Los morfotipos TLO5 y RLO4 fueron identificados molecularmente como *Bacillus cereus*, mostrando buenos resultados de promoción de crecimiento vegetal.

Palabras claves: antimicrobiano; densidad poblacional; *Lippia origanoides*; microorganismo; tejido vegetal, *Bacillus cereus*.

ABSTRACT

The *Lippia origanoides* plant has been widely studied due to the antimicrobial and antifungal effect of its extracts and essential oils, which have been tested against a large number of pathogenic microorganisms. However, there is little literature that records the diversity of endophytic bacteria associated with this plant species. The objective of the work was to evaluate *in vitro* the plant growth promotion capacity of endophytic *Lippia origanoides* bacteria in the municipality of Sincelejo-Sucre, Colombia. In this study, endophytic bacteria were isolated in R₂A agar culture medium from different tissues, population density (CFU / g of tissue) was evaluated by surface counting and the promotion of plant growth qualitatively in specific selective media. Significant differences were observed for the population density of endophytic bacteria regarding tissue type, with higher values in the root (2.0×10^{10} / g root), followed by the stem (1.3

* Estudiante de maestría en biología. Universidad de Sucre. linachamorro15@gmail.com. ORCID: 0000-0003-2931-5471, Colombia.

** Msc. en biología. Universidad de Sucre. mscbiologia@gmail.com. ORCID: 0000-0002-3336-7971, Colombia.

*** PhD. en microbiología agrícola. Universidad de Sucre. alexander.perez@unisucra.edu.co. ORCID: 0000-0003-3989-1747, Colombia.

x 10¹⁰ / g stem) and leaves (9.2 x 10⁹ / g sheet). A total of 20 endophytic bacteria were obtained, which two showed phosphate solubilizing capacity, biological nitrogen fixation, production of siderophores and ACC deaminase. The TLO5 and RLO4 morphotypes were molecularly identified as *Bacillus cereus*, showing good results in promoting plant growth.

Key words: antimicrobial; population density; *Lippia origanoides*; microorganism; Plant tissue, *Bacillus cereus*.

Recibido: abril 10 de 2019 **Aprobado:** noviembre 24 de 2020

INTRODUCCIÓN

Lippia origanoides H.B.Ka. es una planta aromática perteneciente a la familia *Verbenaceae*, conocida comúnmente como “Orégano criollo” y se distribuye en forma silvestre en América Central, el norte de América del Sur y de las Antillas (Pascual *et al.*, 2001; Hennebelle *et al.*, 2008). En Colombia, esta planta se encuentra en altitudes entre 500 y 800 msnm en los departamentos de Guajira, Magdalena, Cauca, Cundinamarca, Norte de Santander, Santander y Nariño (Albesiano *et al.*, 2003; Ruiz *et al.*, 2007; Stashenko *et al.*, 2008). La especie ha sido ampliamente investigada debido a la alta cantidad de compuestos fenólicos como el timol, el carvacrol y derivados (Ribeiro *et al.*, 2014). La mayoría de las investigaciones sobre las actividades biológicas del orégano se han enfocado en determinar los efectos antibacterianos y antifúngicos de diversos extractos y aceites esenciales contra microorganismos patógenos de humanos, animales y plantas, sin embargo, a la fecha existen pocas investigaciones de bacterias endófitas aisladas de *Lippia origanoides*, razón que ha despertado el interés del uso de las bacterias endófitas asociadas a estas plantas aromáticas, las cuales pueden ser una alternativa valiosa para el tratamiento de diversas enfermedades en los cultivos a nivel mundial, ya que éstas pueden aumentar la capacidad de crecimiento y absorción de nutrientes del suelo, solubilizar fosfato, fijar nitrógeno, remover contaminantes y se usa como control biológico, garantizando no sólo el margen de seguridad alimentaria, sino además la sostenibilidad y la conservación ambiental. Razón por lo cual el presente estudio tuvo como objetivo evaluar *in vitro* la capacidad de promoción de crecimiento vegetal de bacterias endófitas de *Lippia origanoides* en el municipio de Sincelejo-Sucre, Colombia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de muestreo

Se colectaron aleatoriamente 10 plantas completas de *Lippia origanoides* en la granja Asoproagros, localizada en el corregimiento de Segovia, municipio de Sincelejo-Sucre, Colombia, a los 9°13'53.13"N y 75°22'41.59"O a 114 msnm, las cuales fueron transportadas para los

análisis microbiológicos al laboratorio de investigaciones microbiológicas de la Universidad de Sucre.

Aislamiento de bacterias endófitas (BE).

El aislamiento de bacterias endófitas se llevó a cabo utilizando la metodología descrita por Cordero *et al.* (2010).

Determinación *in vitro* de la promoción de crecimiento vegetal de las BE

Solubilización de fosfato (SF)

La capacidad de SF fue determinada por inoculación de cada aislamiento en medio NBrip y SRS, las cepas se incubaron durante 2 días a 28 °C (Franco-Correa *et al.*, 2010).

Fijación biológica de nitrógeno (FBN)

La FBN de bacterias endófitas se realizó en medio Burk carente de nitrógeno siguiendo el protocolo propuesto por Pérez-Cordero *et al.* (2014).

Producción de sideróforos (PS)

La evaluación cualitativa PS se llevó a cabo mediante la siembra directa de cada morfotipo en la superficie del medio cromo azurol-S (CAS) propuesto por Schwyn y Neilands (1987).

Producción de ACC Deaminasa

Se realizó siembra por estrías en medio mínimo Dworkin y Foster (DF) (Belimov *et al.*, 2001; El-Tarabily, 2008) suplementado con 0.3 g/L de ácido 1-aminociclopropano carboxílico (ACC) como única fuente de nitrógeno. Las placas se incubaron por 5 días a 30 °C.

Identificación molecular de las BE

Para la identificación de bacterias endófitas con actividad positiva para la promoción de crecimiento vegetal, se realizó la extracción de ADN mediante el método de fenol-cloroformo y las condiciones de amplificación para cada reacción se basaron en el protocolo descrito por Oliveira *et al.* (2013). Los productos fueron purificados y enviados a secuenciar a la empresa MacroGen®. Las secuencias obtenidas fueron comparadas con las almacenadas en el banco de datos NCBI, el alineamiento de

las bases se realizó en el programa Clustal W® y, el análisis y corrección con el programa Mega7.0®. Las inferencias filogenéticas fueron obtenidas por el método de distancia y máxima parsimonia de Neighbor-joining con test de bootstrap.

Análisis estadístico

Las diferencias entre la densidad poblacional (UFC/g de tejido) de bacterias endófitas en función al tipo de tejido fueron analizadas por ANOVA mediante un diseño completamente al azar con arreglo factorial. Se utilizó la prueba Tukey (p -valor ≤ 0.05), para establecer diferencias por separado entre comunidades de bacterias endófitas (UFC/ g de tejidos) con relación al tipo de tejido colonizado. Todos los tratamientos se realizaron por triplicado y los datos se analizaron en el software InfoStat® versión libre.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Densidad poblacional de BE

Un total de 20 morfotipos de BE fueron aisladas de plantas de *Lippia origanoides*. Los resultados del análisis de varianza infieren diferencias estadística significativas (p -valor $< 0,05$) entre los tejidos analizados, indicando mayores densidades poblacionales en raíces con $2,0 \times 10^{10}$ de tejido y menores densidades en las hojas con $9,2 \times 10^9$ /g tejido (Figura 1).

La densidad poblacional de las bacterias endófitas que colonizan a las plantas es altamente variable, ya que depende de la especie de la bacteria y del genotipo de

la planta hospedera, además del estado de desarrollo de la planta, la densidad del inóculo y las condiciones ambientales (Chaudhary *et al.*, 2012; Ding *et al.*, 2013).

Estudios realizados por Pérez *et al.* (2013), sobre diversidad poblacional de bacterias endófitas, indican que la mayor colonización de bacterias fue en las raíces con respecto a tallo, hojas, hoja bandera y panícula entre las variedades de arroz que fueron estudiadas. También Doncel *et al.* (2016), reporta en pasto colosoana valores mayores en raíz (1×10^{11} g/raíz), seguida del tallo (1.82×10^{10} g/tallo) y menor densidad en hojas (1.15×10^{10} g/hoja). Así mismo Alvíz *et al.* (2017), encontraron que la densidad poblacional de bacterias endófitas asociadas a la especie *L. origanoides* en raíces fue de 4.1×10^8 /g tejido y en menor cantidad en hojas 2.3×10^6 /g tejido, confirmando que la población de bacterias varía significativamente para cada tipo de tejido analizado, siendo mayor la densidad poblacional en las raíces con relación a las otras partes de la planta, ya que este tejido es el sitio de entrada de las bacterias a la planta (Mano y Morisaki, 2008), además la colonización endofítica por bacterias está sujeta a la regulación de las plantas, siendo más estricto a medida que el órgano se separa del suelo (Hunter *et al.*, 2010).

Identificación molecular de BE y evaluación *in vitro* de la promoción de crecimiento vegetal

De los 20 morfotipos de bacterias endófitas que fueron aisladas de *L. origanoides*, dos de ellos presentaron capacidad de promover crecimiento vegetal *in vitro* (Tabla 1).

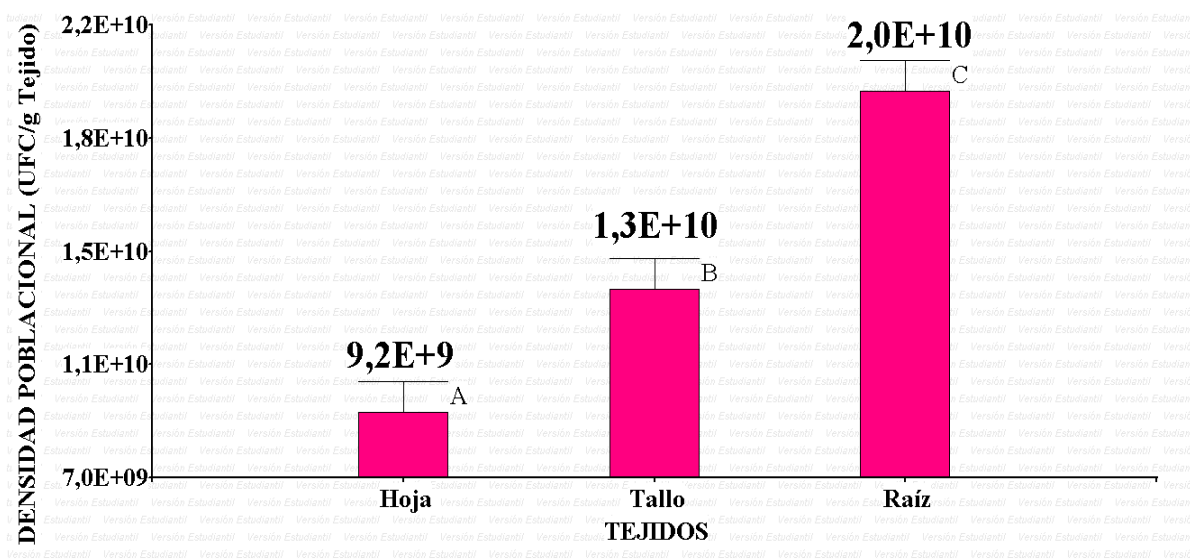


Figura 1. Densidad poblacional de bacterias endófitas asociadas a tejidos de Orégano de monte (*Lippia origanoides*) del municipio de Sincelejo- Sucre, Colombia.

Tabla 1. Promoción de crecimiento vegetal *in vitro* de los morfotipos TLO5 y RLO4.
T: Tallo, R: Raíz. LO: *Lippia origanoides*. (+): Actividad positiva, (-): Actividad negativa.

Morfotipos	SF		FBN	PS	ACC Deaminasa
	Medio NBrip	Medio SRS			
TLO5	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
RLO4	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)

La muestra de ADN genómico de los aislados RLO4 y TLO5 que presentaron actividad positiva para la promoción de crecimiento vegetal, fueron amplificadas con el par de oligonucleótidos FBLS342 (325-342), CAGCA-GTAGGGAATCTTC y R1392 (1392-1406), ACGGGCGGTGTGTACA, perteneciente al filo Firmicutes. Los resultados mostraron un porcentaje de identidad de 100% con *Bacillus cereus* (Figura 2).

El género *Bacillus*, es de gran interés por su amplio perfil de diversidad fisiológica (Restrepo-Franco *et al.*, 2015), que le confiere la interacción en los diferentes hábitats, ya sea acuáticos como terrestres de manera directa, actuando como agente rizosférico, degradador de sustratos derivados de la fauna y flora, compuestos orgánicos, puede estar involucrado en la producción de antibióticos, crecimiento vegetal e indirectamente como antagonista de patógenos (Angulo-Cortes *et al.*, 2012). *Bacillus cereus*, aislada de *L. origanoides* posee actividad promotora de crecimiento mediante la fijación de nitrógeno, sideróforos, solubilización de fosfato y actividad ACC deaminasa, así como ha sido encontrada en plantas de arroz como bacteria endófitas con capacidad de promover el crecimiento vegetal (Okunishi *et al.*, 2005). Kifle y

Laing (2011), señalaron que *Bacillus* presentan la capacidad de incrementar el contenido de nitrógeno en las plantas, siendo un aporte fundamental en los sistemas naturales para evitar la aplicación excesiva de fertilizantes en los cultivos, debido a que estos compuestos contaminan el medio ambiente. En estudios realizados por Andrade *et al.* (2014), señalaron que bacterias endófitas del género *Bacillus* son solubilizantes de fosforo de alta eficiencia. Igualmente, Matos *et al.* (2017), lo reportan como solubilizador de fosforo en medios sólidos cuando se utilizaron $Ca_3(PO_4)_2$ como fuente de fosforo. Estas bacterias se caracterizan por su capacidad de incrementar la movilización de fosfato a través de diferentes mecanismos, que permiten captar las formas insolubles de fosfato, liberarlo, y así generar un efecto benéfico en campo para las plantas debido a su aporte, estimulando su crecimiento y aumentando la fertilidad de los suelos.

Estrada *et al.* (2013), demuestran que *B. pumilus* presenta la capacidad de solubilizar el hierro del medio, favoreciendo la absorción de este metal en las plantas y *B. cereus* interactúa con los microorganismos de la rizosfera de algunas plantas, proporcionando protección contra el ataque de algunos patógenos (Jensen *et al.*, 2003),

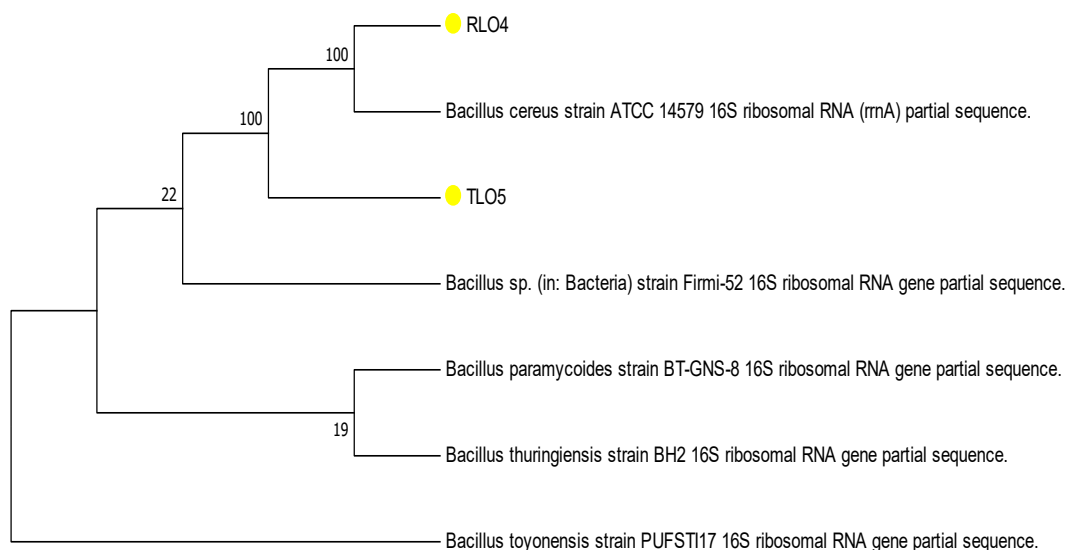


Figura 2. Árbol filogenético derivado del análisis de la secuenciación del gen 16 Sr DNA empleando primers FBLS342 y R1392 de los morfotipos RLO4 y TLO5 con secuencias homologas obtenidas desde NCBI.

produciendo metabolitos secundarios antimicrobianos o quelantes de hierro (sideróforos), los microorganismos que producen este tipo de compuesto presentan una ventaja al no dejarlo disponible para comunidades microbianas patógenas (considerado un mecanismo de biocontrol), despertando gran interés a su potencial antimicrobiano, por jugar un papel importante en la promoción de crecimiento vegetal y por su habilidad de hacer disponible el hierro para plantas en ambientes carentes de este elemento (Radzki *et al.*, 2013). Así mismo, este género también ha sido reportado como productor de ácido indolacético, solubilizador de fósforo tricálcico y poseedor de actividad ACC deaminasa (Luna Martínez *et al.*, 2013). Las bacterias endófitas han sido reportadas como productoras de la enzima de origen microbiano 1-amino ciclopropano-carboxilato deaminasa (ACC), clave en el metabolismo de α -ketobutirato y amoníaco y de ese modo disminuyen los altos niveles de etileno en las plantas hospedadoras (Seessitsch *et al.*, 2005; Sun *et al.*, 2009), brindándole resistencia frente a diversos tipos de estrés (Chaudhary *et al.*, 2012).

CONCLUSIONES

Los morfotipos TLO5 y RLO4 aislados de *Lippia origanoides* fueron identificados como *Bacillus cereus*, con actividades promotoras del crecimiento vegetal mediante las pruebas de fijación de nitrógeno, solubilización de fósforo, producción de sideróforos y ACC deaminasa; esto indica que esta especie podría ser utilizada como alternativa biológica. Actualmente, en la base de datos de bibliografías especializadas no se reporta la presencia *B. cereus* como endófito asociado a plantas de *L. origanoides*, convirtiéndose en el primer reporte en Colombia.

AGRADECIMIENTOS

Al laboratorio de investigaciones microbiológicas de la Universidad de Sucre.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albesiano, S., Rangel-Churio, J. O., & Cadena, A. (2003). La vegetación del cañón del río Chicamocha (Santander, Colombia). *Caldasia*, 25(1), 73-99.
- Alviz, L., Pérez, A., & Pérez-Cordero, A. (2017). Efecto inhibitorio de compuestos tipo metabolitos de bacterias endófitas contra *Colletotrichum gloeosporioides* y *Burkholderia glumae*. *Revista Colombiana de Ciencia Animal-RECIA*, 9, 18-25.
- Andrade, L. F., de Souza, G. L. O. D., Nietzsche, S., Xavier, A. A., Costa, M. R., Cardoso, A. M. S.,... & Pereira, D. F. G. S. (2014). Analysis of the abilities of endophytic bacteria associated with banana tree roots to promote plant growth. *Journal of Microbiology*, 52(1), 27-34.
- Angulo-Cortés, J. P., García-Díaz, A., Pedroza, A. M., Martínez-Salgado, M. M., & Gutiérrez-Romero, V. (2012). Diseño de un medio para la producción de un co-cultivo de bacterias fosfato solubilizadoras con actividad fosfatasa. *Universitas Scientiarum*, 17(1), 43-52.
- Belimov, A. A., Safronova, V. I., Sergeeva, T. A., Egorova, T. N., Matveyeva, V. A., Tsyganov, V. E.,... & Dietz, K. J. (2001). Characterization of plant growth promoting rhizobacteria isolated from polluted soils and containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase. *Canadian Journal of Microbiology*, 47(7), 642-652.
- Chaudhary, H. J., Peng, G., Hu, M., He, Y., Yang, L., Luo, Y., & Tan, Z. (2012). Genetic diversity of endophytic diazotrophs of the wild rice, *Oryza alta* and identification of the new diazotroph, *Acinetobacter oryzae* sp. nov. *Microbial ecology*, 63(4), 813-821.
- Cordero, A. F. P., Sierra, J. N. R., & Cuello, J. R. F. (2010). Diversidad de bacterias endófitas asociadas a raíces del pasto colosuaño (*Bothriochloa pertusa*) en tres localidades del departamento de Sucre, Colombia. *Acta Biológica Colombiana*, 15(2), 219-228.
- Ding, T., Palmer, M. W., & Melcher, U. (2013). Community terminal restriction fragment length polymorphisms reveal insights into the diversity and dynamics of leaf endophytic bacteria. *BMC Microbiology*, 13(1), 1.
- Doncel, A., Chamorro, L., & Pérez, A. (2016). Actividad *in vitro* de bacterias endófitas promotoras de crecimiento asociadas con pasto colosuaño en el municipio de Corozal, Sucre. *Revista Colombiana de Ciencia Animal-RECIA*, 351-360.
- 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(1-2), 161-174.
- Estrada, G. A., Baldani, V. L. D., de Oliveira, D. M., Urquiaga, S., & Baldani, J. I. (2013). Selection of phosphate-solubilizing diazotrophic *Herbaspirillum* and *Burkholderia* strains and their effect on rice crop yield and nutrient uptake. *Plant and soil*, 369(1-2), 115-129.
- 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.
- 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.

- Hennebelle, T., Sahpaz, S., Joseph, H., & Bailleul, F. (2008). Ethnopharmacology of *Lippia alba*. *Journal of Ethnopharmacology*, 116(2), 211-222.
- Hunter, P. J., Hand, P., Pink, D., Whipps, J. M., & Bending, G. D. (2010). Both leaf properties and microbe-microbe interactions influence within-species variation in bacterial population diversity and structure in the lettuce (*Lactuca species*) phyllosphere. *Applied and environmental microbiology*, 76(24), 8117-8125.
- Jensen, G. B., Hansen, B. M., Eilenberg, J., & Mahillon, J. (2003). The hidden lifestyles of *Bacillus cereus* and relatives. *Environmental microbiology*, 5(8), 631-640.
- Kiley, M. H., & Laing, M. D. (2011). Determination of optimum dose and frequency of application of free-living diazotrophs (FLD) on lettuce. *African Journal of Agricultural Research*, 6(3), 671-675.
- Luna Martínez, L., Martínez Peniche, R. A., Hernández Iturriaga, M., Arvizu Medrano, S. M., & Pacheco Aguilar, J. R. (2013). Caracterización de rizobacterias aisladas de tomate y su efecto en el crecimiento de tomate y pimiento. *Revista fitotecnia mexicana*, 36(1), 63-69.
- Mano, H., & Morisaki, H. (2008). Endophytic bacteria in the rice plant. *Microbes and environments*, 23(2), 109-117.
- Mano, H., Imamura, A., & Morisaki, H. (2005). Bacterial flora of endophytes in the maturing seed of cultivated rice (*Oryza sativa*). *Microbes and Environments*, 20(3), 168-177.
- Matos, A. D., Gomes, I. C., Nietsche, S., Xavier, A. A., Gomes, W. S., Dos Santos Neto, J. A., & Pereira, M. C. (2017). Phosphate solubilization by endophytic bacteria isolated from banana trees. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 89(4), 2945-2954.
- Okunishi, S., Sako, K., Oliveira, M. N., Santos, T. M., Vale, H. M., Delvaux, J. C., Cordero, A. P., Ferreira, A. B., ... & Borges, A. C. (2013). Endophytic microbial diversity in coffee cherries of *Coffea arabica* from southeastern Brazil. *Canadian journal of microbiology*, 59(4), 221-230.
- Pascual, M. E., Slowing, K., Carretero, E., Mata, D. S., & Villar, A. (2001). *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review. *Journal of ethnopharmacology*, 76(3), 201-214.
- Pérez, A., Pérez, C., & Chamorro, L. (2013). Diversidad de bacterias endófitas asociadas a cultivo de arroz en el departamento de Córdoba-Colombia. Estudio preliminar. *Revista Colombiana de Ciencia Animal-RECIA*, 83-92.
- Pérez-Cordero, A., Tuberquia-Sierra, A., & Amell-Jiménez, D. (2014). Actividad in vitro de bacterias endófitas fijadoras de nitrógeno y solubilizadoras de fosfatos. *Agronomía Mesoamericana*, 25(2), 214-223.
- Radzki, W., Mañero, F. G., Algar, E., García, J. L., García-Villaraco, A., & Solano, B. R. (2013). Bacterial siderophores efficiently provide iron to iron-starved tomato plants in hydroponics culture. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 104(3), 321-330.
- Restrepo-Franco, G. M., Marulanda-Moreno, S., Fe-Pérez, Y. D. L., Díaz-de la Osa, A., Baldani, V., & Hernández-Rodríguez, A. (2015). Bacterias solubilizadoras de fosfato y sus potencialidades de uso en la promoción del crecimiento de cultivos de importancia económica. *Embrapa Agrobiologia-Artigo em periódico indexado (ALICE)*.
- Ribeiro, A. F., Andrade, E. H. A., Salimena, F. R. G., & Maia, J. G. S. (2014). Circadian and seasonal study of the cinnamate chemotype from *Lippia origanoides* Kunth. *Biochemical Systematics and Ecology*, 55, 249-259.
- Ruiz, C., Tunarosa, F., Martínez, J., & Stashenko, E. (2007). Estudio comparativo por GC-MS de metabolitos secundarios volátiles de dos quimiotipos de *Lippia origanoides* HBK, obtenidos por diferentes técnicas de extracción. *Scientia et Technica*, 1(33).
- Schwyn, B., & Neilands, J. B. (1987). Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Analytical biochemistry*, 160(1), 47-56.
- Sessitsch, A., Coenye, T., Sturz, A. V., Vandamme, P., Barka, E. A., Salles, J. F., ... & Wang-Pruski, G. (2005). *Burkholderia phytofirmans* sp. nov., a novel plant-associated bacterium with plant-beneficial properties. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55(3), 1187-1192.
- Stashenko, E., Ruiz, C., Muñoz, A., Castañeda, M., & Martínez, J. (2008). Composition and antioxidant activity of essential oils of *Lippia origanoides* HBK grown in Colombia. *Natural Product Communications*, 3(4), 563-566.
- Sun, Y., Cheng, Z., & Glick, B. R. (2009). The presence of a 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase deletion mutation alters the physiology of the endophytic plant growth-promoting bacterium *Burkholderia phytofirmans* PsJN. *FEMS Microbiology Letters*, 296(1), 131-136.