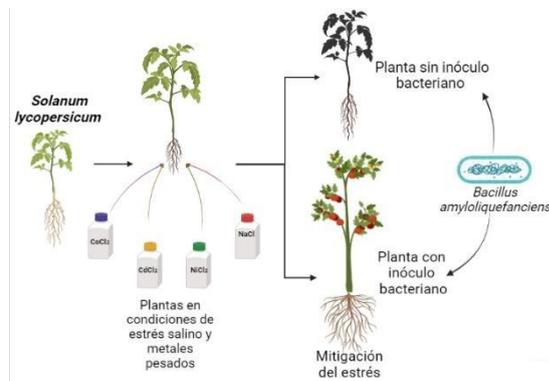


Evaluación y mitigación de factores abióticos en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*) por *B. amyloliquefaciens* aisladas de un ambiente semiárido de la Guajira

Evaluation and mitigation of abiotic factors in tomato plants (*Solanum lycopersicum*) by *B. amyloliquefaciens* isolated in a semi-arid environment in the Guajira.

Graphical Abstract (GA)

GA Figura:



Efecto de mitigación a estrés salino y metales pesados en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*) por *Bacillus amyloliquefaciens*

Evaluación y mitigación de factores abióticos en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*) por *B. amyloliquefaciens* aisladas de un ambiente semiárido de la Guajira

Evaluation and mitigation of abiotic factors in tomato plants (*Solanum lycopersicum*) by *B. amyloliquefaciens* isolated in a semi-arid environment in the Guajira.

Tatiana Milena Amado Caro*

** Programa de Bioquímica. Facultad de Ciencias. Universidad Antonio Nariño.*

Dirigido por: Dra. Laura Inés Cuervo Soto

Resumen

El tomate (*Solanum lycopersicum*), es considerada una de las principales hortalizas en el mundo, gracias a su contenido nutricional. Debido al cambio climático, el cultivo de tomate como otros son potencialmente expuestos a factores abióticos que ejercen un efecto negativo en su productividad. En este trabajo se evaluó la capacidad de *B. amyloliquefaciens* para promover el crecimiento vegetal de tomate expuesto a salinidad (0, 50, 100 y 150 mM) y estrés por metales como Cadmio, Cobalto y Níquel en concentraciones de 5 y 10 mM. Los resultados mostraron que las plantas con y sin inóculo se vieron afectadas a altas concentraciones de sal (100 y 150 mM), con valores bajos en las variables de peso fresco y seco de tallo y raíz, respecto a las plantas control sin salinidad. En el ensayo de metales, se observó que la presencia de metales favoreció el crecimiento de las plantas sin inóculo. En las plantas más inóculo, se observó que *B. amyloliquefaciens* promovió el crecimiento de tomate, mitigando el efecto de Cd a 5 mM, con valores de peso fresco de raíz y tallo mayores a los obtenidos en las plantas control con y sin inóculo. Los valores de clorofila fueron similares tanto en salinidad como en la exposición a metales sin diferencia significativa entre tratamientos. En este trabajo se observa que la cepa *Bacillus amyloliquefaciens* tuvo un efecto protector para mitigar el efecto de Cadmio más no en los otros metales ni en salinidad. Sin embargo, *B. amyloliquefaciens* presentó genes en su genoma relacionados a promoción de crecimiento, estrés osmótico y a metales, lo que podría indicar ser una bacteria potencial para investigaciones futuras en biofertilización.

Evaluación y mitigación de factores abióticos en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*) por *B. amyloliquefaciens* aisladas de un ambiente semiárido de la Guajira

Evaluation and mitigation of abiotic factors in tomato plants (*Solanum lycopersicum*) by *B. amyloliquefaciens* isolated in a semi-arid environment in the Guajira.

Abstract

Tomato (*Solanum lycopersicum*) is considered one of the main vegetables in the world, thanks to its nutritional content. Due to climate change, tomato crops, like others, are potentially exposed to abiotic factors that have a negative effect on their productivity. In this work, the ability of *B. amyloliquefaciens* to promote plant growth of tomato exposed to salinity (0, 50, 100 and 150 mM) and stress by metals such as Cadmium, Cobalt, and Nickel at concentrations of 5 and 10 mM was evaluated. The results showed that plants with and without inoculum were affected at high salt concentrations (100 and 150 mM), with low values in fresh and dry weight variables of stem and root, compared to control plants without salinity. In the metals assay, it was observed that the presence of metals favored the growth of plants without inoculum. In plants plus inoculum, it was observed that *B. amyloliquefaciens* promoted tomato growth, mitigating the effect of Cd at 5 mM, with root and stem fresh weight values higher than those obtained in control plants with and without inoculum. Chlorophyll values were similar in both salinity and metal exposure with no significant difference between treatments. In this work it was observed that the strain *Bacillus amyloliquefaciens* had a protective effect to mitigate the effect of Cadmium but not on the other metals or salinity. However, *B. amyloliquefaciens* presented genes in its genome related to growth promotion, osmotic stress and metals, which could indicate that it is a potential bacterium for future research in biofertilization.

Keywords: Abiotic factors, *Solanum lycopersicum*, growth promotion, salinity, metals, mitigation.

Introducción

El tomate (*Solanum lycopersicum*) es una de las hortalizas más cultivadas en todo el mundo (Chaudhary et al., 2018). En la actualidad los productores a nivel mundial son China, India, Estados Unidos, Turquía y Egipto (Cámara de comercio de Bogotá 2015). Su importancia radica en sus propiedades nutricionales debido a que contiene proteínas, carbohidratos, fibra, ácidos (fólico, tartárico, succínico y salicílico), fenoles y carotenoides y un aporte en agua del 93,5% por cada 100 g de fruto (Cámara de comercio de Bogotá, 2015). Como producto alimenticio, ocupa el décimo lugar a nivel mundial (Ministerio de agricultura, 2021).

En Colombia, más del 80% de la producción de tomate está concentrada en los Santanderes, Tolima, Valle del Cauca, Risaralda, Antioquia y Boyacá (Ministerio de agricultura, 2021). El área cosechada para el 2020 fue de ~8,783 hectáreas con una producción de ~576,733 toneladas (FAOSTAT, 2022).

La producción del tomate se realiza bajo invernadero o al aire libre, en el primer caso requiere un buen drenaje para evitar la acumulación de agua en el suelo, este cultivo debe tener suelos bien aireados con altos contenidos de materia orgánica. Es una hortaliza de clima cálido, la temperatura óptima para su crecimiento se encuentra entre 21 y 24°C muy susceptible a altas y bajas temperaturas. Las etapas fenológicas y los diferentes estados de maduración del fruto se observan en la figura 1 (Shamshiri et al., 2018).

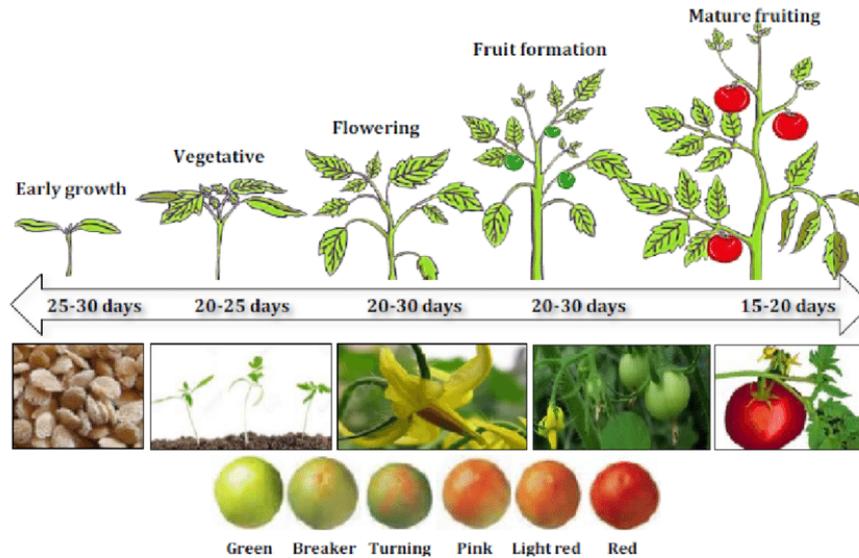


Figura 1. Etapas fenológicas del tomate (*Solanum lycopersicum*) (tomado de Shamshiri et al. 2018)

Efecto del estrés abiótico en tomate

En la actualidad se presentan distintos factores abióticos que representan un grave problema en la agricultura, como la salinidad, sequía, deficiencia de nutrientes, contaminación por metales pesados, estrés hídrico, entre otros (Habib et al., 2021). En Colombia las variaciones climáticas relacionadas con temperaturas y lluvias que pueden magnificar el efecto del estrés hídrico, además otro factor de gran importancia es la salinidad, dada por acumulación de sales y alta evaporación de agua, que se presenta en especial en zonas áridas o semiáridas lo que produce la mayoría de las pérdidas de cultivos (Uribe et al., 2019).

La salinidad afecta las células vegetales inhibiendo el crecimiento y desarrollo de muchos cultivos, interrumpe la homeostasis celular, el metabolismo energético, la transcripción, el metabolismo de lípidos y deteriora procesos fotosintéticos (Hameed et al., 2021). Las plantas producen un choque osmótico cuando están expuestas al estrés salino, después se produce cierre estomático, lo que limita la capacidad fotosintética debido a la restricción del suministro de CO₂ (Hameed et al., 2021).

Teniendo en cuenta lo anterior, el crecimiento de tomate como otras hortalizas en el país puede verse afectado por diferentes factores abióticos dados por condiciones ambientales, uso indiscriminado de químicos, actividades antropogénicas como la minería, lo cual afecta la calidad del suelo y las comunidades de microorganismos en la rizosfera y en suelo, además, procesos biológicos como la fotosíntesis, toma de agua y nutrientes, balance osmótico, y el equilibrio iónico, entre otros (RunHong et al., 2021).

Los metales pesados se encuentran naturalmente en los suelos en concentraciones bajas, los límites máximos permitidos según la legislación ambiental de Canadá son valores de Ni: 0,008 – 0,1 mM, Cd: 0,008 mM y Co: 0.15 mM (Crossman et al., 2020; Rueda Saa et al., 2011.). Sin embargo, el suelo puede contener contaminación por metales pesados como el mercurio (Hg), cadmio (Cd), arsénico (As), cromo (Cr), talio (Tl) y plomo (Pb), debido a las actividades antropogénicas, y también pueden estar presentes en aguas utilizadas en el riego agrícola, lo que los hace peligrosos para las plantas y su consumo indirecto a través de los alimentos, convirtiéndose en tóxicos hacia la salud humana (Alengebawy et al., 2021; RunHong et al., 2021).

Dentro de los metales pesados que generan contaminación de interés se encuentra el cadmio (Cd) el cual representa alta toxicidad para los sistemas biológicos, originando estrés oxidativo, alteraciones nutricionales y aberraciones cromosómicas en las plantas (Nogueira et al., 2021). En Colombia, los cultivos de cacao se han visto expuestos al alto contenido de Cadmio afectando negativamente su exportación, por lo tanto, estudios han descrito el papel fundamental de la biorremediación usando bacterias tolerantes al cadmio (CdtB) para disminuir los niveles del metal en el suelo (Bravo, 2022; Quiroga et al., 2022). La tolerancia de este metal está asociada con reducciones de la acumulación interna del cadmio, y se ha visto que algunas plantas pueden mantener o mejorar su rendimiento con la exposición del cadmio (Nogueira et al., 2021). Estudios anteriores han demostrado la capacidad de *Serratia sp* y *Sphingomonas sp* de mitigar el estrés por cadmio en plantas de tomate aliviando el estrés oxidativo y aumentando los niveles de pigmentos fotosintéticos (Ji et al., 2021).

Por otro lado, el níquel (Ni) es uno de los metales más peligrosos para el medio ambiente, y las

plantas afectadas por la exposición sufren una condición de estrés severo, este ingresa al suelo a través de fundiciones de metales, efluentes industriales, nanopartículas de nitrógeno durante la fabricación de dispositivos electrónicos, uso de fertilizantes y pesticidas (Pishchik et al., 2021). Debido a las actividades antropogénicas como la agricultura, la industria y la minería contribuyen a la acumulación de metales pesados en el suelo que causan problemas a la salud humana, por lo tanto, se han estudiado los efectos del níquel en el desarrollo de las plantas de tomate, los riesgos para la salud humana asociados al consumo de tomates contaminados y las consecuencias que general en el medio ambiente (Correia et al., 2018).

El cobalto (Co), es un metal pesado, elemento clave de varias enzimas y coenzimas, en niveles altos se ha observado que produce efectos adversos en las plantas y que en concentraciones bajas se considera beneficioso debido a que es necesario para la fijación de nitrógeno bacteriano en los nódulos de las raíces. Según estudios, la acumulación de Co en los tejidos provoca daños irreparables en las células vegetales y sus membranas, lo cual se manifiesta con un bajo crecimiento y contenido de biomasa, absorción de agua y nutrientes, clorosis y aumento de toxicidad celular (Akeel, Jahan, 2020).

Microorganismos promotores de crecimiento de plantas (PGPR)

Las rizobacterias son microorganismos eficientes en la promoción de crecimiento vegetal, ya que producen hormonas como las auxinas, giberelinas y citocinas, sideróforos, exopolisacáridos solubilizan fosfatos, fijan nitrógeno, producen enzimas como la ACC-desaminasa que reduce el contenido de etileno, y otras involucradas en degradadoras de materia orgánica,, entre otros (Moreno et al., 2018), además, presentan tolerancia a otros microorganismos causantes de enfermedades, estimulando mecanismos de defensa en plantas. Estudios anteriores han demostrado la capacidad de *Serratia sp* y *Sphingomonas sp* para promover el crecimiento de tomate debido a la producción de ácido indol-3-acético, solubilización de fosfato y sideróforos (ji, et al, 2021), estas variables también fueron evaluadas por Peláez (2016), en cuatro cepas de *Bacillus*, además de verificar la actividad de la enzima ACC- desaminasa lo cual estuvo probablemente relacionado en el crecimiento de las plantas

de tomate. En otro estudio, evaluaron la capacidad de 12 cepas endófitas de plantas de tomate para promoción de crecimiento vegetal en especies de *Ficus benghalensis* y *Mangifera indica*, donde encontraron porcentaje satisfactorio de germinación, longitud de la planta y producción de biomasa, respecto al control, considerando estas cepas como potenciales biofertilizantes (Dey, Raghuwanshi, 2020).

Las rizobacterias además de producir compuestos promotores de crecimiento vegetal, tienen la capacidad de mitigar diferentes tipos de estrés biótico y abiótico en las plantas, ya que desarrollan mecanismos que les permiten adaptarse a estas condiciones adversas y tener un efecto positivo para la planta. Un ejemplo de ello se relaciona con la inoculación de *Achromobacter piechaudii* en plantas de tomate bajo condiciones de salinidad en el suelo y se observó un incremento en el peso fresco y seco de las plantas, comparado con el control sin inocular. La promoción de crecimiento estuvo relacionada con la producción de etileno bajo condiciones de salinidad (Palacio et al., 2016). En otro estudio, se evaluó a *Bacillus safensis*, *Pseudomonas marginalis* y *Acinetobacter pitii* las cuales se inocularon sobre plantas de tomate expuestas a NaCl (100, 150 y 200 mM). La salinidad tuvo un efecto negativo en la altura, número de hojas, sobrevivencia, peso fresco y seco. Sin embargo, en plantas sin estrés salino se observó un efecto promotor de crecimiento (Astroza-Sepúlveda, 2018).

Por otra parte, en cuanto a mitigación por metales se ha demostrado la capacidad de *Serratia sp* y *Sphingomonas sp* para la producción del ácido indol-3-acético, solubilización de fosfato y sideróforos debido a que estas bacterias son tolerantes al Cd (Ji et al., 2021).

Los altos niveles de níquel generan en las plantas una reducción significativa en el desarrollo y germinación, por lo tanto, se generan alternativas para su protección como el uso de las bacterias PGPR las cuales presentan mecanismos de protección celular en las plantas (Pishchik et al., 2021). Sujkowska (2022), evaluaron el potencial de las cepas *Rhizobium sp* y *Bradyrhizobium sp* para mitigar el efecto de Ni en plantas, los resultados mostraron que las plantas sin inóculo expuestas a 200µM de Ni se vieron afectadas negativamente provocando una disminución en el crecimiento, la anatomía de

la hoja, la eficiencia de la fotosíntesis y la defensa antioxidante. Sin embargo, las plantas inoculadas tuvieron un efecto protector, lo cual pudo estar relacionado a genes asociados a la biosíntesis de auxinas y giberelinas encontrados en el genoma de las bacterias, observándose mayor crecimiento frente a las no inoculadas (Sujkowska et al., 2022).

El cobalto se presenta en niveles altos en el suelo debido a las actividades mineras, lo que disminuye la calidad de los cultivos debido a su toxicidad, por lo que se han utilizado PGPR para aumentar la calidad y el rendimiento de las plantas. Un ejemplo de ello, se asocia a la inoculación de 44 cepas de *Bacillus* en plantas de la Maca (*Lepidium meyenii Walp*) en la que se evaluó que en plantas inoculadas no se presentó resistencia al cadmio con una concentración de 0,5 mM (Ortiz et al., 2017). En otro estudio se determinó que *Bacillus subtilis* presenta resistencia a metales, y probablemente usan cobalamina como cofactor para las actividades enzimáticas y regulan el exceso de cobalto por bombas de flujo. También demostraron que las bacterias *Lactococcus lactis* requieren ribointerruptores con selectividad para níquel y cobalto, esto representa una detección de metales en sistemas basados en ARN (Chandrangsu et al., 2017).

Estas afectaciones generan bajos rendimientos y productividad para los agricultores, lo cual se ve reflejado no solo en la calidad nutricional del fruto, disminuyendo su competitividad en el mercado, sino también en bajos ingresos. Es por esto por lo que alternativas biológicas constituyen una importante opción amigable con el ambiente y puede ser costo-efectivo, por lo tanto, este trabajo evalúa la capacidad de mitigación en la planta de tomate (*Solanum lycopersicum*) por *B. amyloliquefaciens* aisladas de un ambiente semiárido de la Guajira en su capacidad de influenciar el crecimiento de las plantas de tomate expuestas a factores abióticos como la salinidad y contaminación por metales pesados cadmio, cobalto y níquel.

1. Diseño experimental

1.1 Reactivación de *Bacillus amyloliquefaciens* y preparación del inóculo

La cepa de *B. amyloliquefaciens* fue reactivada a partir de un glicerol 25% conservado a -70°C , en medio sólido LB, incubado a 30°C por 24 horas, para verificar su viabilidad y pureza. El inóculo se preparó a partir de pre-cultivo de 24 horas, centrifugando las células a 8000 g por 5 minutos, el pellet celular se resuspendió en agua destilada estéril y se ajustó a una densidad óptica D.O $_{600\text{nm}}$ de 1.0.

1.2 Material vegetal

Plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum*) variedad tomate chonto de 30 días de edad, fueron obtenidas del semillero de plantulación ubicado en el municipio de Chía de la Universidad Jorge Tadeo Lozano.

1.3 Promoción de crecimiento de tomate bajo condiciones de estrés abiótico

Para el ensayo de estrés salino y metales se usó sustrato constituido por una mezcla de suelo-sustrato de coco-vermiculita en relación 2:1:1. El sustrato fue utilizado para generar 2 grupos: A: plantas sin inóculo y B: con inóculo, cada grupo con 4 tratamientos: T1- plantas sin salinidad, T2- plantas con salinidad (50 mM), T3- plantas (100 mM) y T4- plantas (150mM). Las raíces de las plantas de tomate chonto de 30 días de edad, fueron inoculadas con *Bacillus amyloliquefaciens* a una D.O $_{600\text{nm}}$: 1.0, dejando la interacción 15 minutos. Como control se usaron plantas sin inóculo. Después del tiempo de interacción las plantas (24 por tratamiento) fueron sembradas en vasos plásticos de 10 onzas (una planta por vaso), los cuales contenían el respectivo sustrato y se dejaron en interacción durante 30 días, en la cámara de plantas marca Being con las siguientes condiciones: 16 h/8 h luz-oscuridad, $24/18^{\circ}\text{C}$ día/noche, humedad

relativa 60-80% (%RH). Las plantas fueron regadas cada 2 días con solución nutritiva para plantas (Nutri-ponic laboratorio Walco S.A).

Para el ensayo de estrés por metales, se generaron igualmente los 2 grupos anteriores y cada uno de ellos con los tratamientos para metales en concentraciones de 5 y 10 mM (CdCl₂, CoCl₂ y NiCl₂). Las raíces de las plantas fueron tratadas como en el ensayo anterior con *Bacillus amyloliquefaciens* a una D.O_{600nm}: 0.5. El ensayo de interacción se dejó por 30 días en condiciones de laboratorio a temperatura ambiente y se regaron cada 2 días con solución nutritiva para plantas (Nutri-ponic laboratorio Walco S.A). Finalmente, se tomaron datos de variables como clorofila en unidades SPAD que relaciona la nutrición de la planta en contenido de clorofila (Soil Plant Analysis Development (SPAD), peso fresco y seco de raíz y tallo, para estrés salino y metales.

1.4 Análisis genómico de *Bacillus amyloliquefaciens*

La anotación para el *Bacillus amyloliquefaciens* fue obtenida con anterioridad con su respectivo código disponible en Genbank GCA_019396925.1. Para el análisis de genes relacionados a estrés abiótico en el genoma de *B. amyloliquefaciens*, inicialmente se realizó una búsqueda de genes de interés en artículos científicos para crear una base de datos en Excel y confirmar el gen y su función en la página KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes), obteniendo el código KEGG para cada gen. Posteriormente, a partir del genoma anotado en Bacterial and viral bioinformatics resource center, se obtuvo el listado de proteínas en formato protein fasta. Este formato se corrió en blast Koala en la página de KEGG, para encontrar la ubicación de cada gen, y pasar la información al archivo de excel. Posteriormente con la herramienta BuscarX, se realizó la búsqueda de genes relacionados a estrés abiótico (salinidad y resistencia a metales), en el genoma de *B. amyloliquefaciens*.

1.5 Análisis estadístico

Para determinar diferencias significativas entre tratamientos se realizó un ANOVA, y se consideraron los valores de $p < 0.05$ para diferencia significativa, las diferencias entre las medias de los tratamientos se establecieron mediante el análisis de tukey de comparaciones múltiples, empleando la herramienta estadística astatsa.

2. Resultados

2.1 Mitigación de estrés salino en tomate por *B. amyloliquefaciens*

El efecto de *B. amyloliquefaciens* sobre el crecimiento de tomate en condiciones de salinidad a 50, 100 y 150 mM fue evaluado en condiciones controladas de temperatura y humedad durante 30 días. Respecto al contenido de clorofila no hubo diferencia significativa en esta variable, cuyos valores estuvieron entre 51 a 55 unidades SPAD, en las plantas con salinidad, con o sin bacteria, frente a sus respectivos controles sin salinidad (55 y 57 Unidades SPAD). (Figura 2). Sin embargo, se observa un leve descenso a medida que aumenta la concentración de salinidad.

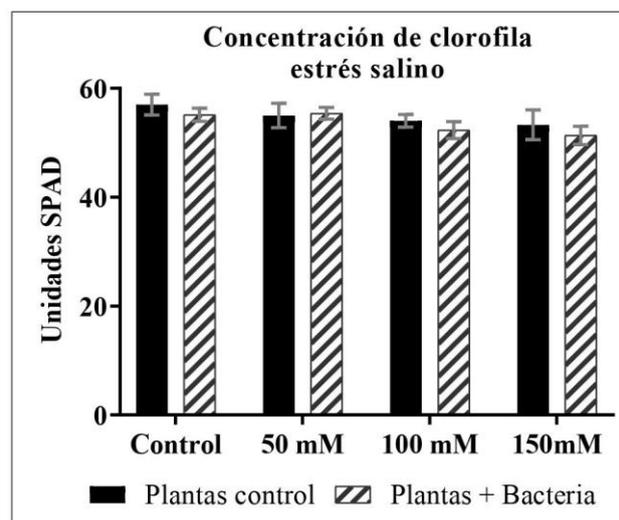


Figura 2. Concentración de clorofila en tomate. Plantas control y plantas inoculadas por *B. amyloliquefaciens* bajo las concentraciones de NaCl (0, 50mM, 100mM y 150mM). Recuadro negro: plantas sin inóculo, recuadro en rayas: plantas con *B. amyloliquefaciens*. Los datos fueron analizados mediante ANOVA.

En peso fresco de vástago y raíz se observa que *B. amyloliquefaciens* ejerció un ligero efecto positivo sobre vástago con valores de 3,28 g frente a la planta control con 2,70 g (figura 3B), y para la

raíz de 1,43 g frente a la planta control con 1,03 g (figura 3A). La salinidad ejerció un efecto negativo a 100 y 150 mM en ambas variables, en plantas con y sin inóculo. Sin embargo, la concentración de 50 mM de NaCl, parece ejercer un efecto positivo en las dos variables en las plantas sin inóculo (figura 3A y 3B). Por otra parte, en peso fresco de raíz, hubo diferencia significativa ($p < 0.05$) entre plantas expuestas a 50 mM con 150 mM, y también entre el control inoculado sin salinidad con los tres tratamientos, evidenciándose un efecto negativo con 100 y 150 mM, con diferencias $p < 0.01$ (figura 3A).

En peso seco de vástago se observa diferencia significativa de la variable entre plantas sin inóculo expuestas a 50 mM frente al control, 100 y 150 mM (figura 3D). Respecto a las plantas inoculadas también se observa diferencia significativa entre las plantas expuestas a 50 mM y frente a 100 y 150 mM (figura 3D). En peso seco de raíz no se observó diferencia significativa en plantas con/sin inóculo. Sin embargo, hubo un ligero aumento de la variable en plantas con *B. amyloliquefaciens* de 0,105 g respecto al control sin bacteria de 0,087 g (figura 3C).

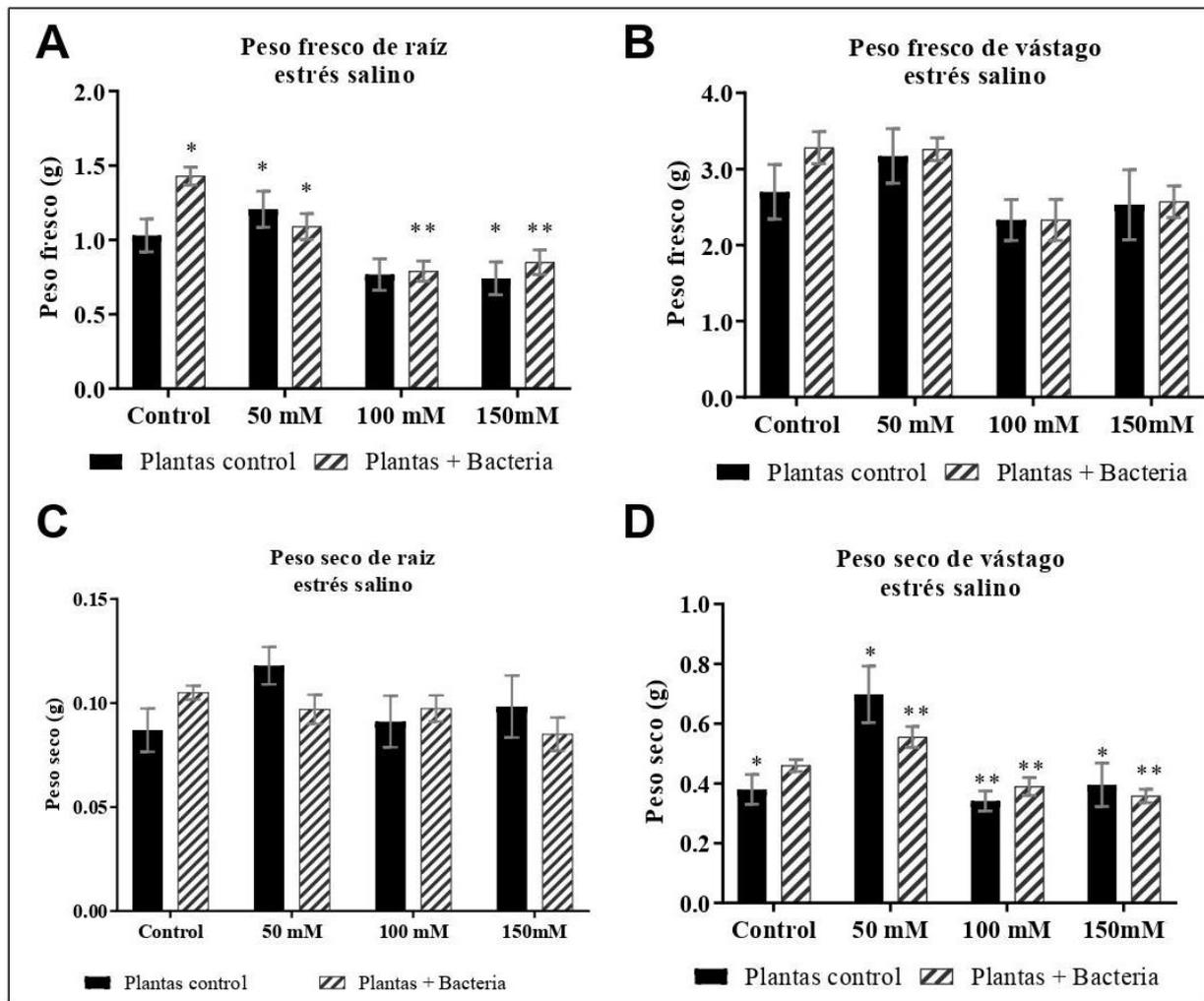


Figura 3. Variables de peso fresco y seco de vástago y raíz del tomate. 3A: peso fresco de raíz. 3B: peso fresco vástago. 3C: peso seco de raíz. 3D: peso seco de vástago. Recuadro negro: plantas sin inóculo, recuadro en rayas: plantas con *B. amyloliquefaciens*. Tratamientos (0,50,100 y 150 mM de NaCl). Los datos fueron analizados mediante ANOVA ($P < 0.05^*$, $P < 0.01^{**}$).

2.2 Mitigación de estrés por metales pesados en tomate por *B. amyloliquefaciens*

El efecto de *B. amyloliquefaciens* sobre el crecimiento de tomate expuesto a metales pesados Cobalto, Níquel y Cadmio a 5 y 10 mM fue evaluado en condiciones de laboratorio a temperatura ambiente, durante 30 días. Inicialmente se observa que las concentraciones probadas de los diferentes metales parecen no ejercer un efecto negativo en el crecimiento de las plantas. Las concentraciones en el contenido de clorofila no muestran diferencia significativa entre los tratamientos (5 o 10 mM) en las plantas con/sin inóculo (figura 4, A-B), dichos valores estuvieron entre 34 y 38 unidades SPAD. Sin embargo, se observa un pequeño descenso de los valores en las plantas expuestas a Ni a 5 mM y Cd a 10 mM (figura 4, A-B).

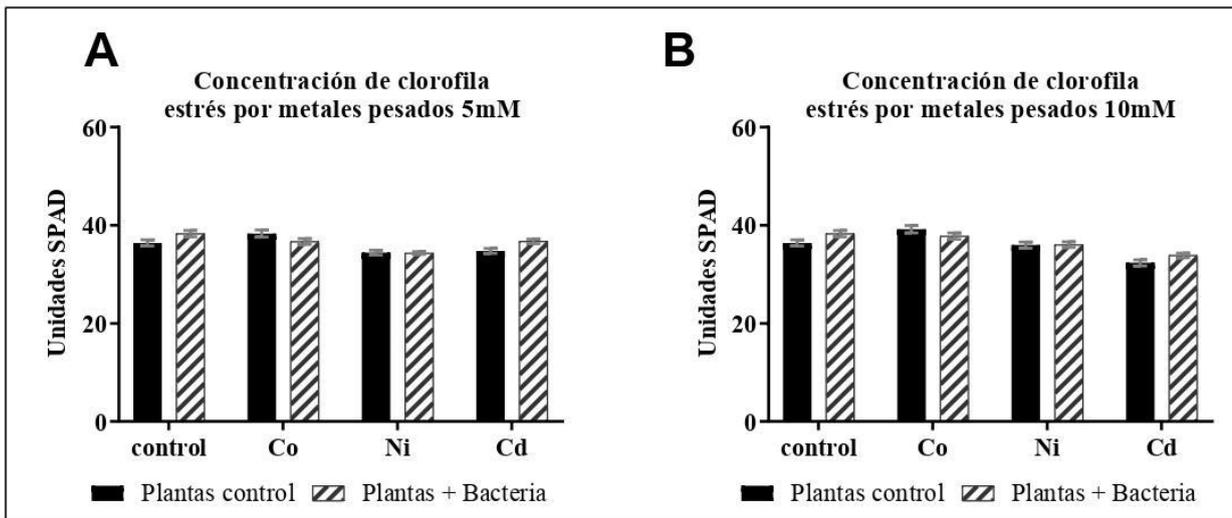


Figura 4. Concentración de clorofila en tomate. Plantas control y plantas inoculadas por *B. amyloliquefaciens* en presencia de metales pesados, a concentración de 5 mM (A) y 10 mM (B) de Co, Ni y Cd. Recuadro negro: plantas sin inóculo, recuadro en rayas: plantas con *B. amyloliquefaciens*. Tratamientos (Co, Ni y Cd). Los datos fueron analizados mediante ANOVA.

Al igual que en el ensayo de salinidad, *B. amyloliquefaciens* ejerció un efecto positivo sobre el tomate sin exposición a metales, mostrando valores para vástago de 6,05g y raíz de 2,06g, comparados a 4,99 g y 2,06g (vástago y raíz respectivamente), en las plantas sin inóculo (figura 5 A-D). En general, se observa que las 2 concentraciones de cada metal favorecen por sí solas el peso fresco de vástago y raíz, en especial para Níquel. Se observó que *B. amyloliquefaciens* mitigó el efecto de Cd a 5 mM y promovió el crecimiento de las plantas a través de los valores de peso fresco de vástago y raíz frente a las plantas sin bacteria. (figura 5A y C). La presencia de Co a 5 y 10 mM produjo un descenso en las variables antes mencionadas en plantas inoculadas (figura 5A- D), afectando probablemente en mayor medida el metal a las bacterias, sin poder ejercer un efecto positivo en las plantas respecto a los controles sin inóculo.

La concentración de 10 mM de Ni y Cd favoreció de alguna manera la formación de la raíz en plantas sin inóculo comparadas al control sin metal (figura 5B y D).

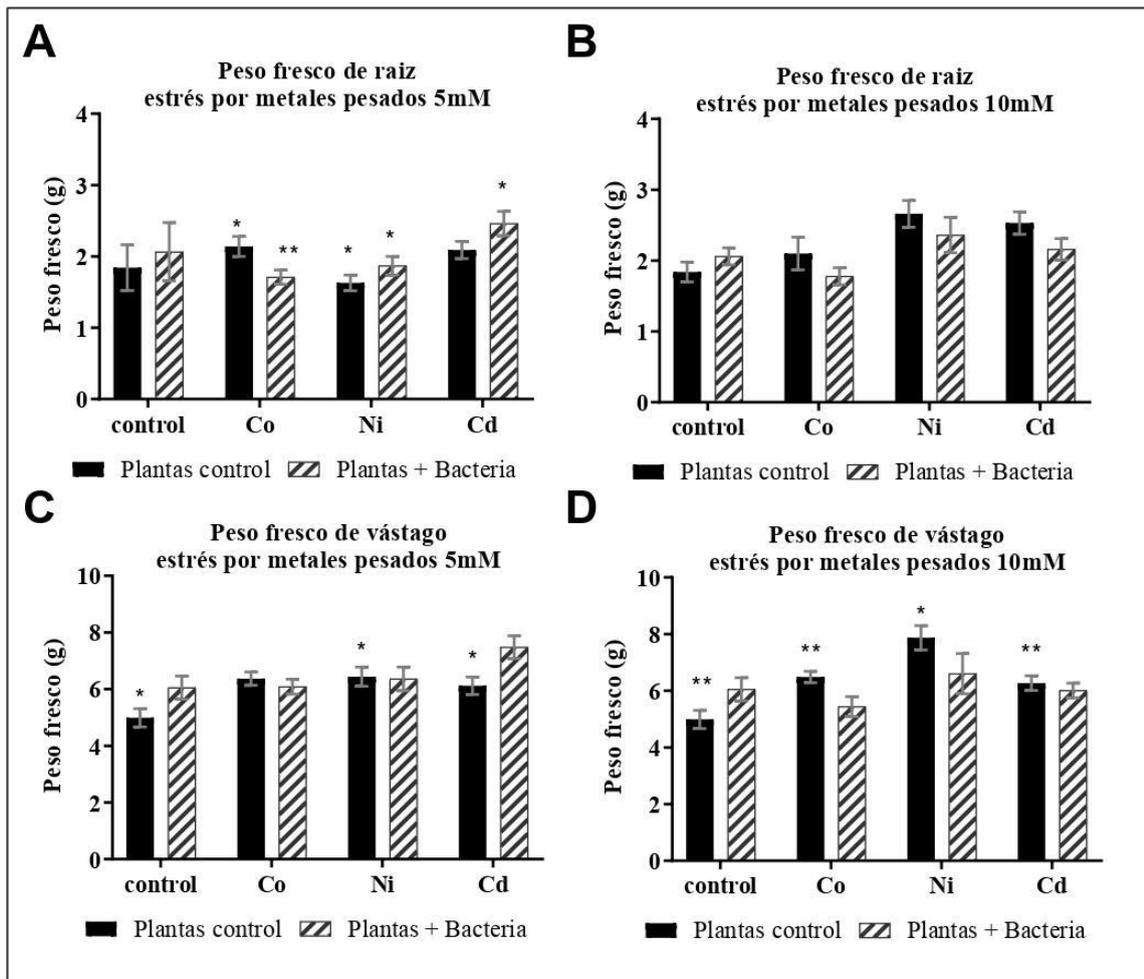


Figura 5. Variables de peso fresco de vástago y raíz de tomate. Peso fresco 5mM raíz (A) y vástago (C). peso seco 10 mM de raíz (B) y vástago (D). recuadro negro: plantas control sin inóculo, recuadro en rayas: plantas con *B. amyloliquefaciens*. Tratamientos (Co, Ni y Cd). Los datos fueron analizados mediante ANOVA ($P < 0.05^*$, $P < 0.01^{**}$).

Respecto a peso seco de vástago, los valores fueron mayores en las plantas inoculadas expuestas a Cd en 5 mM respecto a sus controles, con diferencia significativa frente a Níquel (figura 6 C). Sin embargo, a 10 mM se observa un aumento en el peso seco de esta variable en plantas sin inóculo (Figura 6 D).

Respecto al peso seco de raíz a 5 mM se observaron valores mayores en las plantas con inóculo expuestas a Co y Cd (0,21 g ambos) respecto a su control sin metal (0,17 g y 0,16 g respectivamente), con diferencias significativas frente a Níquel, el cual se vió afectado (figura 6 A). En el grupo de plantas sin inóculo y expuestas a 10 mM, se observan valores mayores para los tres

metales frente a las plantas control, con diferencia significativa de $p < 0.05$ (figura 6 B). Respecto a las plantas inoculadas no se observa diferencia significativa entre los tratamientos a 10 mM (figura 6 B).

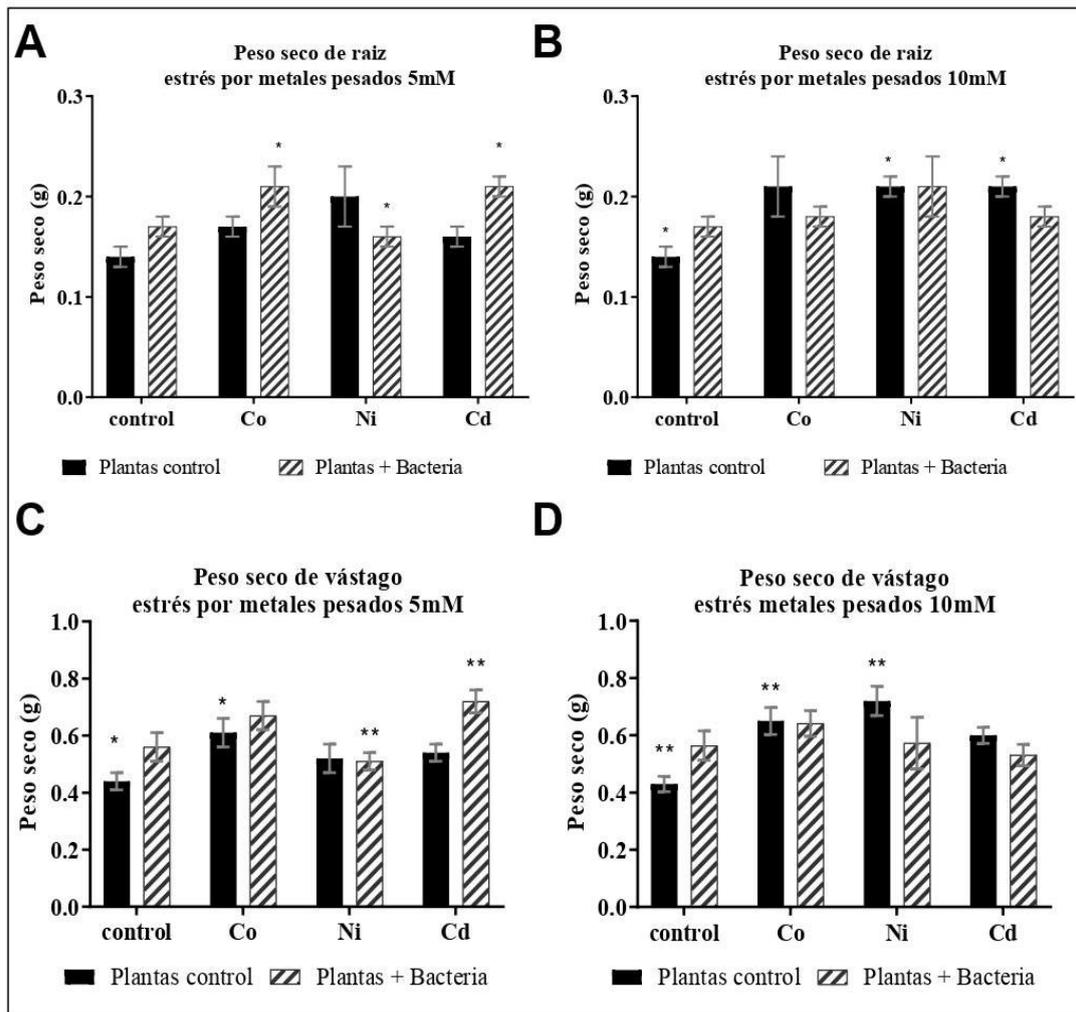


Figura 6. Variables de peso fresco y seco de vástago y raíz de tomate. Peso seco vástago 5 y 10 mM (A-B) y peso seco de raíz 5 y 10 mM (C-D). recuadro negro: plantas control (sin inóculo), recuadro en rayas: plantas inoculadas por *B. amyloliquefaciens*. Tratamientos (Co, Ni y Cd). Los datos fueron analizados mediante ANOVA ($P < 0.05^*$, $P < 0.01^{**}$).

2.3 Genes relacionados a la promoción del crecimiento vegetal, estrés salino y por metales pesados

Para correlacionar si el efecto positivo de *B. amyloliquefaciens* en tomate estaba relacionado a la producción de factores de crecimiento vegetal, se realizó un análisis del genoma de *B. amyloliquefaciens* utilizando herramientas bioinformáticas. Se identificaron algunos genes relacionados a promoción del crecimiento vegetal (tabla 1) que pueden estar participando en mecanismos como la solubilización de fosfatos (ghrB), acetoina protegiendo las plantas contra infecciones por patógenos (acoA), 2,3-butanediol (2,3-BD) liberando compuestos orgánicos

volátiles (BudB) e intervenir en la resistencia al estrés mediado por γ -aminobutyric acid (GABA) (gabT). Además, se identificaron genes asociados al estrés salino (tabla 2) que pueden estar involucrados en la biosíntesis de menaquinona y ubiquinona (ubiE), en el metabolismo de arginina y prolina (PRODH) y por último genes relacionados a los metales pesados que pueden estar implicados con la salida de cobalto- Zinc-Cadmio (zitB) y con la unidad respiratoria del complejo citocromo (cydA, qoxA) (tabla 3).

Tabla 1. Genes de *B. amyloliquefaciens* relacionados a la promoción del crecimiento vegetal

Mecanismo	Enzima/Proteína	Gen	EC	KO
tryptophan metabolism	tryptophan synthase alpha chain	<i>trpA</i>	[EC:4.2.1.20]	K01695
tryptophan metabolism	tryptophan synthase beta chain	<i>trpB</i>	[EC:4.2.1.20]	K01696
	anthranilate synthase component I	<i>trpE</i>	[EC:4.1.3.27]	K01657
Acetoin (AC)	Acetoin dehydrogenase E1 component alpha-subunit	<i>acoA</i>	[EC:2.3.1.190]	K21416
	Acetoin dehydrogenase E1 component beta-subunit	<i>acoB</i>		K21417
2,3-butanediol (2,3-BD)	α -acetolactate synthase	<i>BudB</i>	[EC:2.2.1.6]	K01652
	α -acetolactate decarboxylase	<i>BudA</i> , <i>AlsD</i>	[EC:4.1.1.5]	K01575
γ -aminobutyric acid (GABA)	GABA aminotransferase	<i>gabT</i>	[EC:2.6.1.19]	K07250
	Succinate semialdehyde dehydrogenase	<i>gabD</i>	[EC:1.2.1.16]	K00135
Phosphate solubilization	Gluconic acid (mineral roxypruvate/2-ketogluconate reductase phosphate solubilization)	<i>ghrB</i>	[EC:1.1.1.79 1.1.1.81 1.1.1.215]	K00090
	gluconate:H ⁺ symporter, GntP family	<i>TC.GNT P</i>		K03299
	Alkaline	<i>phoR</i>	[EC:2.7.13.3]	K07636

	phosphatase synthesis sensor protein PhoR			
	Nitrogen fixation-associated flavodoxin	<i>nifF</i>		K03839
	Cysteine desulfurase, NFS1; nitrogen fixation S (NIFS)-like 1	<i>nifS</i>	[EC:2.8.1.7]	K04487
	Nitrogen fixation protein NifU and related proteins	<i>nifU</i>		K04488
Flagellar assembly	RNA polymerase primary sigma factor	<i>rpoD</i>		K03086
Biofilm formation and flagellar assembly	RNA polymerase sigma factor FliA	<i>fliA</i>		K02405

Tabla 2. Genes de *B. amyloliquefacens* relacionados al estrés salino

Mecanismo	Enzima/Proteína	Gen	EC	KO
Menaquinone and ubiquinone biosynthesis	demethylmenaquinone methyltransferase / 2-methoxy-6-polyprenyl-1,4-benzoquinol methylase	<i>ubiE</i>	[EC:2.1.1.163 2.1.1.201]	K03183
	osmoprotectant transport system ATP-binding protein	<i>opuA</i>	[EC:7.6.2.9]	K05847
	lipoyl-dependent peroxiredoxin	<i>osmC</i>	[EC:1.11.1.28]	K04063
Arginine and proline metabolism	proline dehydrogenase	<i>PRODH</i>	[EC:1.5.5.2]	K00318
Glycine, serine and threonine metabolism	betaine-aldehyde dehydrogenase	<i>betB</i>	[EC:1.2.1.8]	K00130
	osmotically inducible lipoprotein OsmB	<i>osmB</i>		K04062
	lipoyl-dependent peroxiredoxin	<i>osmC</i>	[EC:1.11.1.28]	K04063

	transcriptional regulator of stress and heat shock response	<i>ctsR</i>		K03708
	superoxide dismutase, Fe-Mn family	<i>SOD2</i>	[EC:1.15.1.1]	K04564

Tabla 3. Genes de *B. amyloliquefacens* relacionados al estrés por metales pesados

Mecanismo	Enzima/Proteína	Gen	EC	KO
	cobalt-zinc-cadmium efflux system protein	<i>zitB</i>		K16264
Cytochrome bd ubiquinol oxidase	cytochrome bd ubiquinol oxidase subunit I	<i>cydA</i>	[EC:7.1.1.7]	K00425
	peptide/nickel transport system ATP-binding protein	<i>ABC.PE.A</i>		K02031
	peptide/nickel transport system ATP-binding protein	<i>ABC.PE.A1</i>		K02032
	peptide/nickel transport system permease protein	<i>ABC.PE.P</i>		K02033
	peptide/nickel transport system substrate-binding protein	<i>ABC.PE.S</i>		K02035
Cytochrome aa3-600 menaquinol oxidase	cytochrome aa3-600 menaquinol oxidase subunit II	<i>qoxA</i>	[EC:7.1.1.5]	K02826
Cytochrome aa3-600 menaquinol oxidase	cytochrome aa3-600 menaquinol oxidase subunit I	<i>qoxB</i>	[EC:7.1.1.5]	K02827
	cobalt-zinc-cadmium efflux system protein	<i>zitB</i>		K16264
	nickel/cobalt transporter (NiCoT) family protein	<i>nixA</i>		K07241
Cytochrome bc1 complex respiratory unit	menaquinol-cytochrome c reductase iron-sulfur subunit	<i>MQCRA, qcrA, bfcA, petC</i>	EC:1.10.2.-	K03886
Cytochrome bc1 complex respiratory unit	menaquinol-cytochrome c reductase cytochrome b subunit	<i>MQCRB, qcrB, bfcB, petB</i>		K03887
Cytochrome bc1 complex respiratory unit	menaquinol-cytochrome c reductase cytochrome b/c subunit	<i>MQCRC, qcrC, bfcC, petD</i>		K03888

	cytochrome c-type biogenesis protein	<i>ccdA</i>		K06196
	cytochrome c biogenesis protein	<i>resB, ccsI</i>		K07399
	cytochrome c551	<i>cccB</i>		K12263
	cytochrome c550	<i>cccA</i>		K13300
	cytochrome P450 / NADPH-cytochrome P450 reductase	<i>cypD_E, CYP102A, CYP505</i>	[<u>EC:1.14.14.1</u> <u>1.6.2.4</u>]	K14338

3. Discusión

Las especies del género *Bacillus* han sido aisladas de manera abundante a partir de rizósfera de diferentes cultivos, debido a que son buenos colonizadores de raíces y producen varios metabolitos, que cumplen efectos positivos en el crecimiento de las plantas, y pueden actuar como potentes agentes de biocontrol contra patógenos de plantas (Olanrewaju et al., 2021), y su capacidad PGPR ha sido demostrada en cultivos de importancia agrícola como arroz, maíz y tomate (Ji et al., 2021; Kumar et al., 2021; Olanrewaju et al., 2021). En este estudio se evaluó la capacidad de *B. amyloliquefaciens*, una cepa aislada de una zona semiárida de la Guajira, para promover el crecimiento de plántulas de tomate en condiciones controladas de temperatura y humedad, bajo estrés por salinidad y metales pesados. Los resultados muestran que *B. amyloliquefaciens* promovió el crecimiento de las plántulas de tomate sin exposición a estrés por salinidad, dando valores de vástago (3,28 g) y raíz (1,43 g) más altos comparados a las plantas control sin inóculo (2,07 g y 1,03 g respectivamente) (figura 3) datos que se correlacionan con los obtenidos por Ji et al., 2021, donde demuestran que *B. amyloliquefaciens* cepa Ba13 promovió el crecimiento de tomate, con aumento en la altura de la planta y el peso fresco. Por su parte *B. amyloliquefaciens* cepa H-2-5 promovió el crecimiento, con aumento de la biomasa en plantas de tomate, col china, rábano y mostaza (Kim et al., 2017). El efecto positivo de *B. amyloliquefaciens* sobre las plántulas de tomate en nuestros ensayos puede estar relacionado a producción de

diferentes compuestos, cuyos genes fueron identificados en su genoma como la producción de hormona GABA, sideróforos, formación de biofilm, y motilidad facilitando su colonización en la raíz de las plantas, etc. Algunos de estos metabolitos como la producción de giberelinas y solubilización de fosfatos fue demostrado por (Kim et al. 2017; Ji et al., 2021). El tomate (*Lycopersicon esculentum*) y el arroz (*Oryza sativa*) son los dos cultivos agrícolas más importantes cuya productividad se ve gravemente afectada por estrés salino (Taj, Challabathula 2021). La salinidad del suelo conduce a falta de varios nutrientes y causa toxicidad en las plantas, lo cual provoca un daño irreversible en el aparato fotosintético de las plantas en todas las etapas de desarrollo y conducen a una reducción significativa de la productividad agrícola (Srineing et al., 2015; Palacio et al., 2016; Taj, Challabathula 2021). En los tratamientos de tomate a las diferentes concentraciones de salinidad (0, 50, 100 y 150 mM de NaCl), se observó por un lado que el contenido de clorofila no tuvo diferencia significativa en ninguno de los tratamientos en los 2 grupos evaluados plantas con y sin inóculo (figura 2). Esto sugiere que la salinidad no afectó los procesos metabólicos y fotosintéticos involucrados en la producción de clorofila, como fue reportado por Aazami et al., 2021.

En el grupo de plantas sin inóculo, la salinidad a 50mM favoreció el crecimiento de las plantas, respecto al control sin salinidad (figura 3), lo cual pudo estar relacionado a mecanismos de ajuste osmótico por la planta y posiblemente a la activación de transportadores de Na⁺ y K⁺ en la planta, que restringe la entrada de Na⁺ en la raíz, como ha sido demostrado en *Arabidopsis thaliana* (Palacio et al. 2016). Los tratamientos de 100 y 150 mM de NaCl tuvieron un efecto negativo en el crecimiento de las plantas de tomate con y sin inóculo (figura 3), con resultados en peso fresco y seco de vástago y raíz por debajo a los controles sin salinidad, con diferencia significativa en peso fresco de raíz entre tratamientos. Estos datos se correlacionan con el estudio realizado por Astroza Sepúlveda (2018) en plantas de tomate inoculadas con *Bacillus safensis*, expuestas a 100, 150 y 200 mM de NaCl, cuyos parámetros de peso fresco y seco, número de hojas y altura de la planta se vieron afectados negativamente por la salinidad frente a las plantas

control. Por otro lado, se observó que los parámetros de peso fresco y seco de vástago y raíz en las plantas inoculadas con *B. amyloliquefaciens* fueron similares a las plantas sin inóculo, lo que indica que la bacteria conservó tolerancia al estrés salino. Resultados similares fueron observados en la inoculación de *Bacillus* en la *Arabidopsis thaliana* y *Zea mays* donde induce tolerancia sistémica al estrés salino en las plantas debido a la producción de espermidina mejorando el contenido de glutatión reducido (GSH), a medida que se va reducido el contenido de especies reactivas de oxígeno (ROS) y regula la vía sensible a la sal (SOS) la cual obtiene Na^+ en las vacuolas y lo expulsa del citoplasma (Chen et al., 2017).

Adicionalmente se evaluó el crecimiento de las plantas de tomate inoculadas con *B. amyloliquefaciens* y expuestas a Cd, Co y Ni en concentraciones de 5 y 10 mM. Algunos metales como el cobre (Cu), zinc (Zn) y níquel (Ni), son requeridos en pequeñas cantidades por los organismos como las plantas y los microorganismos, ya que cumplen funciones en los procesos metabólicos. Sin embargo, al estar presentes en el suelo en altas concentraciones, son nocivos para el desarrollo de las plantas (Palacio et al. 2016). Los resultados obtenidos mostraron nuevamente que *B. amyloliquefaciens* ejerció un efecto positivo sobre el crecimiento de las plantas no expuestas a metales, en las variables de vástago y raíz (figura 5). En el grupo de plantas control sin inóculo, se observa en general que la presencia de los diferentes metales a 5 y 10 mM, estimuló el crecimiento de tomate frente a las plantas aumentando las variables de peso fresco y seco de vástago y raíz, comparado a las plantas sin exposición al metal, tal vez debido a mecanismos de resistencia a los metales (figuras 5 y 6). En las plantas más inóculo, un efecto positivo de mitigación a Cd 5 mM fue observado, con mayores valores de peso fresco de vástago y raíz, frente a las plantas control sin inóculo. Se ha visto que la presencia de *B. amyloliquefaciens* promueve el crecimiento de *Arabidopsis* bajo estrés por cadmio, aumentando la producción de auxinas y de hierro soluble (Zhou et al., 2017).

Otro estudio demostró que la aplicación de *Bacillus cereus* disminuyó la absorción del cadmio en comparación con las plantas control en cultivo de arroz, además alivió los efectos

producidos a la toxicidad del metal esto debido a la estimulación de enzimas como la catalasa y peroxidasa las cuales actúan como un mecanismo esencial para la desintoxicación en plantas (Jan et al., 2019). En este trabajo se encontró el gen (*zitB*) el cual está relacionado al estrés por cadmio en el genoma del *B. amyloliquefaciens*, este gen está asociado a bombas de flujo de Cobalto-Zinc-Cadmio. En una investigación sobre dos cepas de *Bacillus* (*Bacillus megaterium* y *Bacillus paranthracis*) se observó que el mecanismo de resistencia al cadmio y el rendimiento de adsorción pueden estar regulados por el gen (*zitB*) (Chi, Huang et al., 2020; Chi, You et al., 2022). Respecto al ensayo a 10 mM se observó que los valores de peso fresco de vástago y raíz de las plantas inoculadas fueron similares a las plantas sin metal (figura 5).

En cuanto a el efecto generado por el tratamiento con cobalto las plantas con inóculo se vieron afectadas en ambas concentraciones (5 y 10 mM) respecto a su control, con valores más bajos en peso fresco de vástago y raíz frente al control inoculado, pero sin metal, lo que probablemente se deba a la homeostasis de los metales, ya que deben ser regulados por las células para evitar efectos tóxicos (Chandrangsu et al., 2017; Guzmán et al., 2022). Aunque *B. amyloliquefaciens* no mitigó el efecto tóxico del cobalto en las concentraciones probadas, si se encontraron genes relacionados a la detoxificación de metales pesados como *nixA*, *zitB*, relacionados a sistemas de flujo y transportadores de metales.

En el grupo de plantas inoculadas y expuestas a níquel, el peso fresco de raíz fue afectado en 5 mM, mientras que los valores para el vástago fueron similares a las plantas sin metal. En la concentración de 10 mM, los valores en ambas variables fueron mayores no solo a las plantas control, sino también al control sin inóculo. Se ha reportado que a medida que aumenta la concentración del níquel las unidades de clorofila disminuyen, como también el nitrógeno orgánico y la concentración de proteína en las plantas de arroz y que la aplicación de *B. licheniformis* tiene la capacidad de proteger a las plantas de los efectos tóxicos del níquel mejorando el metabolismo bioquímico de la planta bajo estrés por níquel (Jamil et al., 2014). No

se ha reportado la exposición de níquel en plantas de tomate inoculadas con *Bacillus amyloliquefaciens* en cambio sí se ha reportado la evaluación de *B. megaterium* en la mitigación de estrés por níquel en plantas de vinca rosea (*Catharanthus roseus*), la inoculación mejoró la actividad de las enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT), peroxidasa (POD) y la ascorbato peroxidasa (APX) (Khan et al., 2017). Cabe mencionar que, en el análisis del genoma de nuestra cepa, también se encontraron genes como *cypD_E*, *CYP102A*, *CYP505* relacionados a proteínas cytochrome P450/NADPH-cytochrome P450 reductase que intervienen en procesos de transferencia de electrones y el metabolismo de compuestos tóxicos y xenobióticos.

4. Conclusiones

B. amyloliquefaciens promovió el crecimiento de las plántulas de tomate sin exposición a estrés por salinidad y por metales (Cadmio, Cobalto y Níquel). La salinidad a 100 y 150 mM ejerció un efecto negativo en las plantas con y sin inóculo. La alta concentración salina al parecer afectó a *B. amyloliquefaciens*, disminuyendo su capacidad PGPR. Sin embargo, los procesos fotosintéticos y la producción de clorofila en las plantas fueron estables comparados a las plantas sin salinidad. Para los metales, se observó en general, que la presencia de Cd, Co y Ni en concentraciones de 5 y 10 mM favorece el crecimiento de las plantas control sin inóculo. *B. amyloliquefaciens* mitigó el estrés por Cd a 5 mM en las plantas de tomate y promovió su crecimiento comparadas a las plantas sin inóculo.

El estudio actual conduce a la exploración de la respuesta a estrés salino y por metales en las plantas de tomate mediado por *Bacillus*, ya que, debido a las actividades antropogénicas, los cultivos estarán siempre expuestos a estos contaminantes. El conocimiento de genes en genomas de especies del género *Bacillus* para mitigar estrés abiótico y promover el crecimiento de las plantas es de gran interés para conducir ensayos de experimentación in vitro y en campo, usando cepas de este género promisorias como PGPR.

Agradecimientos

En primer lugar, quiero agradecer a Dios por encaminarme hacia el cumplimiento de mi propósito. A mis padres Luz Marina y Luis Esteban por su apoyo incondicional, quienes han hecho de mis sueños sus sueños. A mi hermana Lizeth Andrea porque me alienta para luchar por todo lo que me he propuesto, por su ejemplo de trabajo y dedicación.

A la universidad Antonio Nariño por contribuir en esta etapa de mi formación y en especial a mi directora de tesis y maestra, la Dra. Laura Cuervo Soto por orientarme y enseñarme, además me guió para que este trabajo fuera impecable.

Al proyecto “Caracterización de microbiota y rasgos funcionales de flora asociada a islas de recursos en un ambiente semiárido de la alta guajira y su relación con la materia orgánica y la calidad del suelo” Cod 2019105 UNAL.

Referencias

- Aazami, M. A., Rasouli, F., & Ebrahimzadeh, A. (2021). Oxidative damage, antioxidant mechanism and gene expression in tomato responding to salinity stress under in vitro conditions and application of iron and zinc oxide nanoparticles on callus induction and plant regeneration. *BMC Plant Biology*, *21*(1). <https://doi.org/10.1186/S12870-021-03379-7>
- Akeel, A., & Jahan, A. (2020). Role of cobalt in plants: Its stress and alleviation. *Contaminants in Agriculture: Sources, Impacts and Management*, 339–357. https://doi.org/10.1007/978-3-030-41552-5_17/TABLES/1
- Alengebawy, A., Abdelkhalek, S. T., Qureshi, S. R., & Wang, M. Q. (2021). Heavy Metals and Pesticides Toxicity in Agricultural Soil and Plants: Ecological Risks and Human Health Implications. *Toxics*, *9*(3), 1–34. <https://doi.org/10.3390/TOXICS9030042>
- Astroza Sepúlveda, G. D. (2018). Respuesta de plantas de tomate inoculadas con bacterias productoras de acc-deaminasa al estrés por salinidad. [Http://Ezpbibliotecas.Udec.Cl/Login?Url=http://Tesisencap.Udec.Cl/Chillan/Agronomia/Astroza_g](http://Ezpbibliotecas.Udec.Cl/Login?Url=http://Tesisencap.Udec.Cl/Chillan/Agronomia/Astroza_g). <http://repositorio.udec.cl/jspui/handle/11594/1267>
- Bravo, D. (2022). Bacterial Cadmium-Immobilization Activity Measured by Isothermal Microcalorimetry in Cacao-Growing Soils From Colombia. *Frontiers in Environmental Science*, *10*. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2022.910234>
- Cámara de comercio de Bogotá. (2015). manual tomate. en programa de apoyo agrícola y agroindustrial vicepresidencia de fortalecimiento empresarial cámara de comercio de bogotá. <https://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://bibliotecadigital.ccb.org.co/bitstream/handle/11520/14307/tomate.pdf?sequence=1&isallowed=y>

- Chandrangsu, P., Rensing, C., & Helmann, J. D. (2017). Metal homeostasis and resistance in bacteria. *Nature Reviews. Microbiology*, *15*(6), 338–350.
<https://doi.org/10.1038/NRMICRO.2017.15>
- Chaudhary, P., Sharma, A., Singh, B., & Nagpal, A. K. (2018). Bioactivities of phytochemicals present in tomato. *Journal of Food Science and Technology*, *55*(8), 2833–2849.
<https://doi.org/10.1007/S13197-018-3221-Z/FIGURES/2>
- Chen, L., Liu, Y., Wu, G., Zhang, N., Shen, Q., & Zhang, R. (2017). Beneficial Rhizobacterium *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 Induces Plant Salt Tolerance through Spermidine Production. *Molecular Plant-Microbe Interactions : MPMI*, *30*(5), 423–432.
<https://doi.org/10.1094/MPMI-02-17-0027-R>
- Chi, Y., Huang, Y., Wang, J., Chen, X., Chu, S., Hayat, K., Xu, Z., Xu, H., Zhou, P., & Zhang, D. (2020). Two plant growth promoting bacterial *Bacillus* strains possess different mechanisms in adsorption and resistance to cadmium. *The Science of the Total Environment*, *741*. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2020.140422>
- Chi, Y., You, Y., Wang, J., Chen, X., Chu, S., Wang, R., Zhang, X., Yin, S., Zhang, D., & Zhou, P. (2022). Two plant growth-promoting bacterial *Bacillus* strains possess different mechanisms in affecting cadmium uptake and detoxification of *Solanum nigrum* L. *Chemosphere*, *305*. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2022.135488>
- Correia, L., Marrocos, P., Montalván Olivares, D. M., Velasco, F. G., Luzardo, F. H. M., & Mota de Jesus, R. (2018). Bioaccumulation of nickel in tomato plants: risks to human health and agro-environmental impacts. *Environmental Monitoring and Assessment*, *190*(6), 1–12.
<https://doi.org/10.1007/S10661-018-6658-7/FIGURES/5>
- Crossman, J., Hurley, R. R., Futter, M., & Nizzetto, L. (2020). Transfer and transport of microplastics from biosolids to agricultural soils and the wider environment. *Science of the Total Environment*, *724*. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138334>
- Dey, R., & Raghuwanshi, R. (2020). Comprehensive assessment of growth parameters for screening endophytic bacterial strains in *Solanum lycopersicum* (Tomato). *Heliyon*, *6*(10), e05325. <https://doi.org/10.1016/J.HELIYON.2020.E05325>
- FAOSTAT. (2022). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Recuperado 2 de junio de 2022, de <https://www.fao.org/faostat/es/>
- Guzmán-Moreno, J., García-Ortega, L. F., Torres-Saucedo, L., Rivas-Noriega, P., Ramírez-Santoyo, R. M., Sánchez-Calderón, L., Quiroz-Serrano, I. N., & Vidales-Rodríguez, L. E. (2022). *Bacillus megaterium* HgT21: a Promising Metal Multiresistant Plant Growth-Promoting Bacteria for Soil Bioremediation. *Microbiology Spectrum*.
<https://doi.org/10.1128/SPECTRUM.00656-22>
- Habib, S., Lwin, Y. Y., & Li, N. (2021). Article down-regulation of slgras10 in tomato confers abiotic stress tolerance. *Genes*, *12*(5). <https://doi.org/10.3390/genes12050623>
- Hameed, A., Ahmed, M. Z., Hussain, T., Aziz, I., Ahmad, N., Gul, B., & Nielsen, B. L. (2021). Effects of Salinity Stress on Chloroplast Structure and Function. *Cells*, *10*(8).
<https://doi.org/10.3390/CELLS10082023>.
- Jamil, M., Zeb, S., Anees, M., Roohi, A., Ahmed, I., ur Rehman, S., & Rha, E. shik. (2014). Role of *Bacillus licheniformis* in phytoremediation of nickel contaminated soil cultivated with

- rice. *International Journal of Phytoremediation*, 16(6), 554–571.
<https://doi.org/10.1080/15226514.2013.798621>
- Jan, M., Shah, G., Masood, S., Iqbal Shinwari, K., Hameed, R., Rha, E. S., & Jamil, M. (2019). *Bacillus Cereus* Enhanced Phytoremediation Ability of Rice Seedlings under Cadmium Toxicity. *BioMed Research International*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/8134651>
- Ji, C., Zhang, M., Kong, Z., Chen, X., Wang, X., Ding, W., Lai, H., & Guo, Q. (2021). Genomic Analysis Reveals Potential Mechanisms Underlying Promotion of Tomato Plant Growth and Antagonism of Soilborne Pathogens by *Bacillus amyloliquefaciens* Ba13. *Microbiology Spectrum*, 9(3). <https://doi.org/10.1128/SPECTRUM.01615-21>
- Khan, W. U., Ahmad, S. R., Yasin, N. A., Ali, A., Ahmad, A., & Akram, W. (2017). Application of *Bacillus megaterium* MCR-8 improved phytoextraction and stress alleviation of nickel in *Vinca rosea*. *International Journal of Phytoremediation*, 19(9), 813–824.
<https://doi.org/10.1080/15226514.2017.1290580>
- Kim, M. J., Radhakrishnan, R., Kang, S. M., You, Y. H., Jeong, E. J., Kim, J. G., & Lee, I. J. (2017). Plant growth promoting effect of *Bacillus amyloliquefaciens* H-2-5 on crop plants and influence on physiological changes in soybean under soil salinity. *Physiology and Molecular Biology of Plants : An International Journal of Functional Plant Biology*, 23(3), 571–580. <https://doi.org/10.1007/S12298-017-0449-4>
- Kumar, A., Singh, S., Mukherjee, A., Rastogi, R. P., & Verma, J. P. (2021). Salt-tolerant plant growth-promoting *Bacillus pumilus* strain JPVS11 to enhance plant growth attributes of rice and improve soil health under salinity stress. *Microbiological Research*, 242.
<https://doi.org/10.1016/J.MICRES.2020.126616>
- Ministerio de agricultura. (2021). Cadena de las hortalizas. En Dirección de Cadenas Agrícolas y Forestales. <https://efaidnbmnnnibpajpcglclefindmkaj/https://sioc.minagricultura.gov.co/Hortalizas/Documentos/2021-03-30%20cifras%20sectoriales.pdf>
- Moreno Reséndez, A., Carda Mendoza, V., Reyes Carrillo, J. L., Vásquez Arroyo, J., Cano Ríos, P., Moreno Reséndez, A., Carda Mendoza, V., Reyes Carrillo, J. L., Vásquez Arroyo, J., & Cano Ríos, P. (2018). Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal: una alternativa de biofertilización para la agricultura sustentable. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 20(1), 68–83. <https://doi.org/10.15446/REV.COLOMB.BIOTE.V20N1.73707>
- Nogueira, M. L., Carvalho, M. E. A., Ferreira, J. M. M., Bressanin, L. A., Piotto, K. D. B., Piotto, F. A., Marques, D. N., Barbosa, S., & Azevedo, R. A. (2021). Cadmium-induced transgenerational effects on tomato plants: A gift from parents to progenies. *Science of The Total Environment*, 789, 147885. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2021.147885>
- Olanrewaju, O. S., Ayilara, M. S., Ayangbenro, A. S., & Babalola, O. O. (2021). Genome Mining of Three Plant Growth-Promoting *Bacillus* Species from Maize Rhizosphere. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 193(12), 3949–3969.
<https://doi.org/10.1007/S12010-021-03660-3>
- Ortiz-Ojeda, P., Ogata-Gutiérrez, K., & Zúñiga-Dávila, D. (2017). Evaluation of plant growth promoting activity and heavy metal tolerance of psychrotrophic bacteria associated with maca (*Lepidium meyenii* Walp.) rhizosphere. *AIMS Microbiology*, 3(2), 279.
<https://doi.org/10.3934/MICROBIOL.2017.2.279>

- Palacio, R., Ramos, B., Coria, J., Nava, B., & Sáenz, J. (2016). Mecanismos de las PGPR para mitigar el estrés abiótico de plantas. *Árido-Ciencia*, 1(1), 4–11.
- Peláez-Peláez, M.-J., Bustamante-Cano, J.-J., & Gómez-López, E.-D. (2016). Presencia de cadmio y plomo en suelos y su bioacumulación en tejidos vegetales en especies de brachiaria en el Magdalena Medio colombiano. *Luna Azul*, 43, 82–101. <https://doi.org/10.17151/LUAZ.2016.43.5>
- Pishchik, V., Mirskaya, G., Chizhevskaya, E., Chebotar, V., & Chakrabarty, D. (2021). Nickel stress-tolerance in plant-bacterial associations. *PeerJ*, 9. <https://doi.org/10.7717/PEERJ.12230>
- Quiroga-Mateus, R., López-Zuleta, S., Chávez, E., & Bravo, D. (2022). Cadmium-Tolerant Bacteria in Cacao Farms from Antioquia, Colombia: Isolation, Characterization and Potential Use to Mitigate Cadmium Contamination. *Processes*, 10(8). <https://doi.org/10.3390/pr10081457>
- Rueda Saa, G., Rodríguez Victoria, J., & Madriñán Molina, R. (2011). *Metodologías para establecer valores de referencia de metales pesados en suelos agrícolas: Perspectivas para Colombia*. *Acta Agronómica* 60(3):p 203-218.
- RunHong, M., Cheng, J., Tang, F., Yue, J. J., Li, Z., & Ni, Z. (2021). Heavy metals in bamboo shoots from Southeastern China and risk assessment. *Food Additives and Contaminants: Part B Surveillance*, 14(4), 264–270. <https://doi.org/10.1080/19393210.2021.1947900>
- Shamshiri, R. R., Jones, J. W., Thorp, K. R., Ahmad, D., Man, H. C., & Taheri, S. (2018). Review of optimum temperature, humidity, and vapour pressure deficit for microclimate evaluation and control in greenhouse cultivation of tomato: A review. *International Agrophysics*, 32(2), 287–302. <https://doi.org/10.1515/intag-2017-0005>
- Srinieng, K., Saisavoey, T., & Karnchanatat, A. (2015). Effect of salinity stress on antioxidative enzyme activities in tomato cultured in vitro. *Pakistan Journal of Botany*, 47(1), 1–10.
- Sujkowska-Rybkowska, M., Rusaczek, A., Kasowska, D., Gediga, K., Banasiewicz, J., Stepkowski, T., & Bernacki, M. J. (2022). Potential of Rhizobia Nodulating Anthyllis vulneraria L. from Ultramafic Soil as Plant Growth Promoting Bacteria Alleviating Nickel Stress in *Arabidopsis thaliana* L. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(19), 11538. <https://doi.org/10.3390/IJMS231911538>
- Taj, Z., & Challabathula, D. (2021). Protection of Photosynthesis by Halotolerant *Staphylococcus sciuri* ET101 in Tomato (*Lycopersicon esculentum*) and Rice (*Oryza sativa*) Plants During Salinity Stress: Possible Interplay Between Carboxylation and Oxygenation in Stress Mitigation. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2020.547750/FULL>
- Uribe, A. N. C. (2019). *Estudio de los cuerpos lénticos en el escenario de cambio climático, una mirada a Colombia*. <https://doi.org/10.5281/ZENODO.3516301>
- Zhou, C., Zhu, L., Ma, Z., & Wang, J. (2017). *Bacillus amyloliquefaciens* SAY09 Increases Cadmium Resistance in Plants by Activation of Auxin-Mediated Signaling Pathways. *Genes*, 8(7). <https://doi.org/10.3390/GENES8070173>