

BACTERIAS ENDÓFITAS: UNA ALTERNATIVA BIOLÓGICA PARA EL CONTROL DE *Burkholderia glumae* EN EL CULTIVO DEL ARROZ EN COLOMBIA.

BACTERIAL ENDOPHYTES: AN ALTERNATIVE BIOLOGICAL CONTROL IN *Burkholderia glumae* RICE IN COLOMBIA.

PEREZ, C., ALEXANDER ^{1*}, CHAMORRO, A. LEONARDO²

¹Universidad de Sucre, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Grupo Bioprospección Agropecuaria. ² Candidato a maestría en Biología, Universidad de Sucre, Facultad de Educación y Ciencias. Correspondencia *:

alexander.perez@unisucre.edu.co

Recibido: 24 -10- 2011; Aceptado: 05-12-2011

Resumen

Las investigaciones más comunes en ecología microbiana, han sido orientadas a las interacciones microbio-planta desde el punto de vista simbiótico y de patogénico. Las bacterias endófitas colonizan el interior de los tejidos de las plantas, principalmente espacios intercelulares, raramente en espacios intracelulares y dentro de tejidos vasculares sin causar síntomas de enfermedad en la planta. La penetración en la planta puede ocurrir por estomas, heridas, áreas de emergencia de raíces laterales, siendo que estas bacterias pueden producir enzimas hidrolíticas capaces de degradar la pared celular de los vegetales. Estudios moleculares reciente sobre diversidad de bacterias endófitas han revelado una alta riqueza de filotipos, que promueven el crecimiento de las planta, suprimen fitopatógenos, ayudan a remover contaminantes, solubilizan fosfato y contribuyen a la asimilación biológica de nitrógeno.

Palabras claves: Bacterias, endófitas, control, arroz.

Abstract

Research common in microbial ecology have been directed toward the plant-microbe interactions from the point of view of symbiotic and pathogenic. Endophytic bacteria reside in plant tissues mainly in intercellular, rarely in intracellular spaces and inside vascular tissues without causing symptoms of disease. The penetration in the plant can by stomates, wounds, areas of emergence by lateral roots, being that these bacteria can produce hydrolytic enzymes able to degrade the cell wall of vegetables. Recent

molecular studies on endophytic diversity bacteria have revealed a large richness of species, endophytes promote plants growth and yield, suppress pathogens, may help to remove contaminants, solubilize phosphate and contribute assimilation biological nitrogen to plant.

Key word: Bacteria, Endophytes, control, rice

Introducción

El arroz es el principal cereal utilizado como fuente de alimentación, más del 50% de la población a nivel mundial se benefician de este producto. Las enfermedades constituyen un limitante en el cultivo de arroz y aún más relevante es el incremento de la intensidad de las causadas por bacterias que hasta hace un tiempo presentaban baja importancia. Las primeras epidemias de la enfermedad aparecieron en los años 1995, 1998 y 2000, con pérdidas de rendimiento en algunos campos estimada hasta un 40%. Inicialmente la etiología de la enfermedad se atribuyó a factores abióticos, como las altas temperaturas, alta tensión del agua de riego y/o a los productos químicos tóxicos cerca de la zona de las raíces, pero en 1996-97, la causa de la fue atribuida a la bacteria fitopatógena *Burkholderia glumae*.

Esta bacteria fue descrita por primera vez en 1967 en Japón como la causa de la pudrición de granos y la quemazón de las plántulas. La enfermedad se notificó más tarde en otros países de Asia y América Latina. Los síntomas de la enfermedad del añublo incluyen la pudrición de la vaina y añublo de la panícula con las pérdidas de rendimiento importantes. El patógeno forma una lesión lineal en la vaina de la hoja bandera, se extiende hacia abajo desde el cuello de la lámina foliar. La lesión es diferente y tiene un borde de color marrón rojizo a gris en el centro de la lesión a necrosarse. La bacteria es transmitida por la semilla, y los cultivos de arroz sembrada con semillas infectadas pueden sufrir graves pérdidas.

El uso de semillas libres de patógenos es una práctica importante para reducir o controlar la incidencia de la enfermedad bacteriana de la panícula. Varios métodos de control han sido evaluados como el manejo cultural, control químico, y la

resistencia del huésped. El control cultural se ha concentrado en la reducción de la aplicación de fertilizantes nitrogenados para reducir la gravedad de la enfermedad, pero no ha tenido mucho éxito. La siembra temprana permite que el arroz se desarrolle de manera rápida para evitar las altas temperaturas, que son condiciones óptimas para el crecimiento de la bacteria. El control químico se ha centrado en el uso de compuestos a base de cobre y ácido oxolínico aplicados foliarmente. Los compuestos de cobre son poco efectivos, fitotóxicos y no se recomiendan por los problemas de contaminación ambiental. Los productos a base de ácido oxolínico son eficaces cuando la enfermedad es moderada, pero poco eficientes en estados avanzados de esta. Debido a la falta de agentes de control químico e ineficaces manejos culturales, los esfuerzos de investigación se han centrado en el desarrollo de variedades resistentes a enfermedades sin que hasta la fecha se tenga una variedad completamente resistente (NANDAKUMAR *et al.*, 2009)

La enfermedad ha aumentado su incidencia en los últimos años. Las causas de este cambio aún no han sido establecidas, pero se han formulado hipótesis como reciente introducción de cepas agresivas, y la presencia de condiciones para el desarrollo de la enfermedad debidas al cambio climático. Esta bacteria fue reportada en Colombia a finales de los años 80's y los resultados de investigaciones realizadas sobre ella en diferentes variedades de arroz, señalan que la mayoría de las cepas son altamente agresivas sobre las variedades susceptibles, y que además los aislamientos poseen una gran variabilidad genética. Esta enfermedad es considerada como la de mayor importancia, no solo por las pérdidas económicas ocasionadas en el cultivo, sino también, por su difícil control y manejo en campo. En el primer semestre del 2007, fue reportado el Añublo bacteriano de la panícula del arroz, producida por la bacteria *Burkholderia glumae* (Kurita & Tabei) en las zonas de La Doctrina y Montería (Córdoba). A partir de allí, Fedearroz - Fondo Nacional del Arroz comenzó una serie de monitoreos fitosanitarios confirmando la presencia del añublo bacteriano en diferentes zonas arroceras de Colombia (PÉREZ y SAAVEDRA, 2011).

Bacterias endófitas. El concepto de que los endófitos son microorganismos establecidos en los tejidos internos de la epidermis (KLOEPPER *et al.*, 1992) es actualmente expresado como la asociación biológica en que los microorganismos colonizan tejidos internos vivos de las plantas, sin causar ningún efecto negativo inmediato o daño aparente a la planta. Las bacterias endófitas son reconocidas como las aisladas de tejidos de plantas desinfectadas superficialmente o, de su interior, y que no causan síntomas visibles de enfermedad en la planta (HALLMANN *et al.*, 1997; SAKIYAMA *et al.*, 2001).

Estudios microscópicos acompañados de técnicas inmunológicas y genes reportero han claramente explicado que las bacterias endófitas presentan patrones de colonización similares a las bacterias endófitas *Azospirillum* spp., *Azoarcus* sp, *Herbaspirillum seropedicae*, *Gluconobacter diazotrophicus* que fijan nitrógeno biológicamente en diferentes especies de gramíneas. Las capas externa de la célula vegetal (exodermis y esclerénquima) y el cortex radicular son colonizados inter e intracelularmente después de 2 a 3 semanas. Los aerénquimas de plantas acuáticas son los principales sitios para la formación de un gran número de microcolonias. Ha sido evidenciada una débil distribución sistémica en macollas jóvenes de plantas de arroz donde fueron observadas por análisis de Western blot y PCR. Raramente las bacterias penetran los vasos xilemáticos y el parénquima radicular, sin embargo la detección de *Azoarcus* sp dentro del parénquima y los vasos xilemáticos en pasto Kallar y arroz sugiere que esta bacteria para diseminarse sistémicamente hacia los tejidos aéreos utiliza los vasos xilemáticos como mecanismo de distribución. La colonización de macollas de arroz y estolones de pasto es más frecuente en las bacterias *G. diazotrophicus* y *H. seropedicae*. (HUREK *et al.*, 1994; BELL *et al.*, 1995, HUREK y REINHOL, 2003).

Uno de los sitios principales de colonización son los puntos de emergencia de raíces laterales donde poblaciones de bacterias han sido observadas en las capas celulares de raíces laterales y en el córtex de raíces primarias. Otro punto de entrada es la punta de raíces en la zona de elongación y diferenciación celular. Las bacterias endófitas pueden invadir inter e intracelularmente y penetrar los tejidos centrales. La entrada de las bacterias dentro de las raíces es

un proceso activo mediados por enzimas (exogluconasas y endogluconasas) degradadoras de polímeros de la pared celular (McCULLY, 2002). Esta hipótesis fue derivada del análisis de datos que demuestran la presencia de enzimas celulíticas y pectinolíticas producidas por bacterias endofíticas, a ejemplo de *Azoarcus* sp. (HUREK *et al.*, 1994), *Azospirillum irakense* (KHAMMAS y KAISER, 1991) y *Pseudomonas fluorescens* (QUADT-HALLMANN *et al.*, 1997). La colonización y la distribución de bacterias endofitas en la planta pueden ser influenciadas por la interacción con otros organismos asociados a la planta, a ejemplo de nematodos parásitos, o por características propias de su hospedero (HIRANO y HUPPER, 2000). La adherencia de la bacteria en las células vegetales es esencial para iniciar el proceso de infección tanto en patógenos como microorganismos simbióticos. En la bacteria *Azoarcus* sp BH72, fue detectado el pili Tipo IV, un factor de virulencia determinante para la adherencia de estas en las células de las gramíneas.

Estudios también señalan que las bacterias endofitas interactúan con patógenos (HUANG, 1991; SESSITCH *et al.*, 2002), promueven el crecimiento en las plantas (TSAVKELOVA *et al.*, 2007), aumentan la resistencia a enfermedades (CHANWAY, 1998), contribuyen a la fijación biológica de nitrógeno (JIMENEZ-SALGADO *et al.* 1997; ESTRADA *et al.*, 2002) y brindan protección contra patógenos mediante la producción y síntesis de metabolitos secundarios (BROOKS *et al.*, 1995; BERG *et al.*, 2005; TAN y ZOU, 2001; LONG *et al.*, 2003; SHIOMI *et al.*, 2006) y biorremediación (NEWMAN y REYNOLDS, 2005).

Recientemente, aislados de bacterias endofitas de *Populus* fueron caracterizadas por su uso potencial en proceso de fitorremediación (MOORE *et al.*, 2006), a ejemplo del uso de *Burkholderia cepacia* G4 que incrementa la tolerancia de las plantas al tolueno (VAN DER LELIE, 2005) y de *Methylobacterium populum* sp nov. BJ001 como participante de la biodegradación de compuestos, tales como: 2,4,6-trinitrotolueno (TNT), hexahidro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazina (HMX) y octahidro-1,3,5-7-tetranitro-1,3,5-7-tetrazocine (RDX) (VAN *et al.*, 2004).

Bacterias endófitas en plantas de arroz. Las bacterias endófitas han sido aisladas desde diferentes tejidos de plantas de arroz. Las investigaciones realizadas, comúnmente han aislado e identificado a *Pantoea* desde semillas, *Methylobacterium* desde macollas, *Azospirillum* y *Herbaspirillum* desde tallo y raíces y *Burkholderia* y *Rhizobium* desde raíz de diferentes variedades de arroz (HIRONOBU y MORISAKI, 2008).

Estudios sobre microorganismos endófitas en el cultivo del arroz a nivel mundial se han realizados sobre bacterias diazotróficas (VERMA *et al.*, 2001), rizobial (STURZ y NOWA, 2000; CHAINTREUIL *et al.*, 2000), bacterias fototróficas anóxica (PAOLINO y SCAVINO, 2004), bacterias endófitas y poblaciones de hongos y actinomicetes, relacionado con la promoción del crecimiento, fijación potencial de nitrógeno y resistencia a enfermedades (AZEVEDO *et al.*, 2000; TIAN *et al.*, 2004, FERNANDEZ *et al.*, 2006).

Actualmente ha finalizado el análisis metanogenómico de bacterias endófitas asociados a raíces cultivo de arroz en Filipinas, lo que permitió identificar alrededor de 46.747.680 pares de bases de DNA genómico extraído de endófitas presentes en la rizósfera, y un total de 64.542 genes con funciones específicas para: genes que codifican proteína (64.087), 455 genes RNA (2002 para genes RNAr, 16 para 5S RNA, 62 de 16SRNA, 124 23SRNA, 254 de tRNA), 27.650 genes codificadora de proteínas con función pronosticada, 36429 sin función pronosticada, 8.272 genes que codifican para enzimas, 15175 genes que codifican para péptidos señalizadores, 9.372 genes que codifican para proteínas transmembranales entre otros

Bacterias endófitas como control biológico. El principal rol de las bacterias endófitas en las actividades fisiológicas de la planta hospedera está influenciada por un aumento de la resistencia a condiciones de estrés del ambiente, insecto, nematodos y enfermedades. Las endófitas pueden también acelerar el crecimiento de las plantas y las capacidades de fijación de nitrógeno y la movilización de elementos como el fósforo. Constituyen una fuente incalculable de metabolitos secundarios y de fuente de nuevas drogas de importancia

biotecnológica y de programas para el manejo de enfermedades de las plantas. La eficacia de los endófitos como agentes de control biológico depende de muchos factores: la especificidad del huésped, la dinámica de la población y el patrón de colonización, la capacidad de moverse dentro de los tejidos del huésped, y la capacidad de inducir resistencia sistémica (MELNICK *et al.*, 2008).

Estudios recientes han demostrado la eficiencia de las bacterias endófitas como agentes de control biológico. Un total de 570, correspondiente a 19 especies de hongos y diferentes aislados de bacterias endófitas fueron aisladas de varios tejidos de plantas de arroz cultivado en dos sitios diferentes del Sureste de la India durante la época seca y lluviosa de ese país. Los resultados obtenidos señalan que el 40.3% de los aislamientos fueron obtenidos de raíces y 25.85% de hoja durante la época lluviosa y 20.15 % de raíces y 8.66 % en la época seca. (HIRONOBU y HISAU, 2008.)

Las especies encontradas en el presente estudio correspondientes a: *Acremonium sp.*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus ochraceus*, *Chaetomium globosum*, *Chlamydomyces palmarum*, *Cladosporium cladosporioides*, *Coniothyrium fuckelli*, *Fusarium oxysporum*, *Humicola fuscoatra*, *Nigrospora oryzae*, *Paecilomyces varioti*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium decumbens*, *Phialophora verrucosa*, *Rhizoctonia solani*, *Speiropsis pedatospora*, *Stemphylium botryosum*, *Trichoderma viridae*, *Streptomyces sp.* y *Pseudomonas sp.* Las especies predominantes en este estudio: *Chaetomium globosum*, *Penicillium chrysogenum*, *Cladosporium cladosporioides*, *Streptomyces sp.* fueron utilizados para probar actividad antimicrobiana in vitro para los fitopatógenos de arroz *Rhizoctonia solani*, *Nigrospora oryzae*, *Macrophomina phaseolina*, *Phoma sorghina* y *Alternaria alternata*. Los resultados obtenidos de prueba de actividad antimicrobiana revelan que *C. globosum*, *P. chrysoy* *Streptomyces sp.*, presentaron los mayores índices de inhibición para los patógenos probados (SHANKAR *et al.*, 2009).

Otro estudio en arroz, demostró la presencia de dos especies de bacterias endófitas: *Corynebacterium avescens* y *Bacillus pumilus*. Mediante técnicas de barrido por microscopía electrónica, fue observado que esta bacteria endófitas se

localiza en la base de las raíces secundarias, entre la epidermis y la capa mucilaginosa. También fueron observadas en los espacios intercelulares de la capa mucilaginosa. Semillas de variedades de arroz fueron inoculadas previamente con estas dos especies de bacteria y sembradas en condiciones hidropónicas. Cuando el experimento se encontraban en estado plántulas fueron inoculadas con *Azospirillum brasilense*. Los resultados utilizando de pruebas de patogenicidad y screening por microscopia electrónica demostró que la especie de *A. brasilense* fueron excluido del rizoplasma por las bacterias endófitas, lo que sugiere que los endófitos compiten con *A. Brasilense* e inhiben su crecimiento dentro las plantas de arroz (BACILO-JIMENEZ *et al.*, 2001).

Perspectivas.

Desde el inicio de la era de la ecogenómica (NELSON *et al.*, 2007), a surgido en la comunidad científica a nivel mundial la búsqueda de Informaciones sobre la funcionalidad de microorganismos *in situ*. En este contexto, el desarrollo de investigaciones direccionadas a la expresión de proteínas a partir de microbios nativos en el ambiente es uno de los desafíos que se tiene para entender el papel de esto organismos en la tierra.

Esta funcionalidad microbiana podrá ser elucidada por medio de análisis de transcripción de RNA (metranscriptoma) y expresión de proteínas (metaproteoma) de todas las comunidades bacterianas en el ambiente. Esto es considerado una etapa fundamental para comprender los mecanismos de regulación metabólica (metaboloma) y la exploración de nuevos genes funcionales asociados ambientes y plantas específicas (MARON *et al.*, 2006).

Las bacterias endófitas son consideradas como modelo de estudio de expresión génica en su nicho natural o hábitat dentro de las plantas (MARON *et al.*, 2006). Sin embargo, cuestiones básicas sobre la diversidad microbiana existente en plantas comerciales, así como la estructura de esas comunidades y la funcionalidad en diferentes especies vegetales, localizadas en diversos ambientes geográficamente definidos, deben ser objeto de investigaciones modernas en lo referente a bacterias endófitas y productividad. Proyectos

genómicos están siendo desarrollado sobre algunas bacterias endófitas tales como *Azoarcus spp.* (BATTISTONI *et al.*, 2005), *Herbaspirillum sp.*, *Gluconazetobacter diazotrophicus* y *Klebsiella spp.*, quienes pueden ser de gran ayuda para la comprensión de las interacciones molecular entre las endófitas y las plantas (ROSENBLUETH y MARTINEZ-ROMERO, *et al.*, 2006).

Referencia

AZEVEDO J.; MACCHRONI W.; PEREIRA J.; ARAUJO W. 2000. Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advance son tropical plants. *Biotechnology*.3:40–65.

BATTISTONI F.; BARTELS, D.; KAISER, O.; REAMON-BUETTNER M.S.; HUREK T.; REINHOLD-HUREK B. 2005. Physical map of the *Azoarcus* sp. strain BH72 genome based on a bacterial artificial chromosome library as a platform for genome sequencing and functional analysis. *FEMS Microbiology Letter*. 249:233-240.

BERG G.; KRECHEL A.; DITZ M, SIKORA A.; ULRICH A.; HALLMANN J. 2005. Endophytic and ectophytic potato-associated bacterial communities differ in structure and antagonistic function against plant pathogenic fungi, *FEMS Microbiology Ecology*. 5:1215–229.

BROOKS D.; GONZALEZ C.; APPEL D.N., FILER T.H. 1994. Evaluation of endophytic bacteria as potential biological control agents for oak wilt. *Biology Conservation*. 4:373–381.

CHANWAY C. 1998. Bacterial endophytes: ecological and practical implications. *Sydowia*.50:149–170.

CHARENTREUIL C.; GIRAUD E.; PRIN Y.; LORQUIN, J.; BA A.; GILLIS M.; *et al.* 2000. Photosynthetic Bradyrhizobia are natural endophytes of the Africa wild rice *Oryzabreviligulata*. *Appl Environ Microbiol*. 66(12):5437–47.

ESTRADA P.; MAVINGUI P.; COURNOYER B.; FONTAINE F.; BALANDREAU, J.; CABALLEROMELLADO, J. 2002. A N₂-fixing endophytic *Burkholderia* sp. associated with maize plants cultivated in Mexico. *Canadian Journal of Microbiology*.48: 285–294.

HALLMANN J.; QUADT-HALLMANN A.; MAHAFFEE, W.; KLOEPPER J. 1997. Bacterial endophytes in agricultural crops. *Canadian Journal Microbiology*. 43:895-914.

HIRANO S.; HUPPER S. 2000. Bacteria in the leaf Ecosystem with emphasis on *Pseudomonas syringae* - a pathogen, Ice nucleus and Epiphyte. *Microbiology and Molecular Biology Review*. 64:624-653.

HIRONOBU, M.; HISAU M. 2008. Endophytic bacteria in the plant rice. *Microbes Environ* 23(2): 19-117.

HUREK, T.; REINHOLD-HUREK, B.; VAN M.; KELLENBERGER, E. 1994. Root colonization and systemic spreading of *Azoarcus* sp. Strain BH72 in grasses. *Journal of Bacteriology*. 176:1913-1923.

HUANG J. 1991. Ultrastructure of bacterial penetration in plants. *Annual Review of Phytopathology*. 24:141-157

JIMÉNEZ-SALGADO T.; FUENTES-RAMIREZ L.; TAPIA-HERNANDEZ A.; MASCARUA-ESPARZA M.; MARTINEZ-ROMERO E.; CABALLERO-MELLADO J. 1997. *Coffea arabica* L., a new host plant for *Acetobacter diazotrophicus*, and isolation of other nitrogen-fixing acetobacteria. *Applied Environmental Microbiology*. 63:3676-3683. <http://aem.asm.org/content/63/9/3676.abstract>.

KHAMMAS K.; KAISER P. 1991. Characterization of a pectinolytic activity in *Azospirillum irakense*. *Plant Soil*. 137:75-79. <http://www.springerlink.com/content/g9462u14p81t56n8/>.

KLOEPPER J.; SCHIPPERS B.; BAKKER P. 1992. Proposed limitation of the term endorhizosphere. *Phytopathology*. 82:726-727. http://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1992Articles/phyto82n07_726.pdf.

FERNANDEZ M.; FERRANDO L.; FERNANDEZ A. 2006. Molecular and functional diversity of endophytic bacteria from leaves of three rice varieties. In: Eleventh international symposium on microbial ecology (ISME-11), Vienna, Austria.

LONG H.; FURUYA N.; KUROSE D.; TAKESHITA M.; TAKANAMI, Y. 2003. Isolation of endophytic bacteria from *Solanum* sp. and their antibacterial activity against plant pathogenic bacteria. *Journal of the Faculty of Agriculture*. 48: 21-28.

MACCULLEY M. 2002. Niches for bacterium endophytes in crop plants: A plant Biologists view. Australian Journal of plant Physiology. 28:983-990. <http://www.publish.csiro.au/paper/PP01101.htm>.

MARON P.; RANJARD L.; MOUGEL C.; LEMANCEAU, P. 2006. Metaproteomics: A new Approach for Studying Functional Microbial Ecology. Microbial Ecology, 53:486-493. <http://www.jstor.org/pss/25256138>.

MELNICK R.; ZIDACK N.; BAILEY B.; MAXIMOVA S.; GUILTINAN M.; BACKMAN P. 2008. Bacterial endophytes: Bacillus spp. from annual crops as potential biological control agents of black pod rot of cacao. Biological Control 46:46–56. <http://ddr.nal.usda.gov/bitstream/10113/17317/1/IND44069189.pdf>.

MOORE F.; BARAC T.; BORREMANS B.; OEYEN L.; VANGRONSVELD J.; VAN DER LELIE D.; CAMPBELL C. D., MOORE E. R.B. 2006. Endophytic bacterial diversity in poplar trees growing on a BTEX-contaminated site: The characterisation of isolates with potential to enhance phytoremediation. Systematic and Applied Microbiology. 29:539–556. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0723202006000890>.

NANDAKUMAR R.; SHAHJAHAN A.; DICKSTEIN E.; GROTH D.; CLARK, C.; CARTWRIGHT R.; RUSH, M. 2009. *Burkholderia Glumae* and *B. gladioli* Cause bacterial panicle blight in rice in the Southern United States. Plant Dis. 93:896-905. http://www.apsnet.org/publications/plantdisease/2009/September/Pages/93_9_896.aspx.

NELSON K.; METHE B.; GEORGE A.; KOWALCHUK. 2007. Microbial Environmental Genomics. Microbial Ecology. 53: 367–368.

NEWMAN L.; REYNOLDS, C. 2005. Bacteria and phytoremediation: new uses for endophytic bacteria in plants. Trends in Biotechnology. 23 (1): 6-8. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167779904003270>.

PAOLINO G.; SCAVINO, A. 2004. Molecular and physiological diversity of anoxygenic phototrophic bacteria in rice fields from temperate climate: Abstracts of tenth International symposium on Microbial Ecology ISME-10, “Microbial Planet: sub surface to space”, Cancun, Mexico.

PEREZ C.; SAAVEDRA, E. 2011. Avances en el manejo integrado de la bacteria *Burkholderia glumae* en el cultivo de arroz en el Caribe Colombiano. Rev. Colombiana Cienc. Anim. 3(1): 111-124.

QUADT-HALLMANNA.; BENHAMOU N.; KLOEPPER J. 1997. Bacterial endophytes in cotton: mechanisms of entering the plant. Canadian Journal of Microbiology. 43:577-582. <http://www.bashanfoundation.org/kloepper/kloepperentering.pdf>.

ROSENBLUETH M.; MARTINEZ L.; SILVA J., MARTINEZ-ROMERO E. 2004. *Klebsiella variicola*, a novel species with clinical and plant-associated isolates. Systematic and Applied Microbiology. 27:27-35. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0723202004702349>.

SAKIYAMA C.; PAULA E.; PEREIRA P.; BORGES A.; SILVA D. 2001. Characterization of pectin lyase produced by an endophytic strain isolated from coffee cherries. Letter in Applied Microbiology. 333. p. 117-121. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1472-765x.2001.00961.x/pdf>.

SESSITSCH A.; REITER B.; PFEIFER U.; WILHELM E. 2002. Cultivation-independent population analysis of bacterial endophytes in three potato varieties based on eubacterial and Actinomycetes-specific PCR of 16S rRNA genes. FEMS Microbiology Ecology. 39:23-32. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1574-6941.2002.tb00903.x/pdf>.

SHIOMI H.; ALVES S.; SOARES, I.; VIEIRA, F.; WAGNER, B. 2006. Bioprospecting Endophytic Bacteria for Biological Control of Coffee leaf rust. Sci. Agric. 63(1): 32-39. <http://www.scielo.br/pdf/sa/v63n1/27900.pdf>.

STURZ A.; NOWAK.. An endophytic community of rhizobacteria and the strategies requires to create yield enhancing associations with crops. Appl Soil Ecol 2000;15:183–90.

TAN R.; ZOU X. 2001. Endophytes: A Rich source functional de metabolites. Nature Products. 18:448 -459.

TIAN X.; CAO L.; TAN H.; ZENG Q.; JIA Y.; HAN W.; et al. 2004. Study on the communities of endophytic fungi and endophytic actinomycetes from rice and their anti-pathogenic activities in vitro. World J. Microbiol Biotechnol. 20:303–9.

TSAVKELOVA E.; CHERDYNTSEVA T.; BOTINA S.; NETRUSOV A.; 2007. Bacteria associated with orchid roots and microbial production of auxin. *Microbiological Research*. 162: 69-76.

VAN DER LELIE D.; BARAC T.; TAGHAVI S.; VANGRONSVELD J. 2005. Response to Newman. New uses of endophytic bacteria to improve phytoremediation. *TRENDS in Biotechnology*. 23(1): 8-12.

VAN A. 2004. Biodegradation of Nitro-Substituted Explosives 2,4,6-Trinitrotoluene, Hexahydro-1,3,5-Trinitro-1,3,5-Triazine, and Octahydro-1,3,5,7-Tetranitro-1,3,5-Tetrazocine by a Phytosymbiotic *Methylobacterium* sp. Associated with Poplar Tissues (*Populus deltoides* / *nigra* DN34). *Applied Environmental Microbiology*. 70: 508–517. <http://aem.asm.org/content/70/1/508>.

VERMA S.; SINGH, A.; CHOWDHURY, S.; TRIPATHI, A. 2004. Endophytic colonization ability of two deep-water rice endophytes, *Pantoea* sp. and *Ochrobactrum* sp. using green fluorescent protein reporter. *Biotechnology Letter*. 26:425-429. <http://www.springerlink.com/content/r684177w68464232/>.