



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA
CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS DE POSGRADO



AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE MICROORGANISMOS
BENÉFICOS E IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS EN LA
INTERACCIÓN CON PLANTAS

Por:

L.Q. Itzel Guadalupe Arteaga Ríos

Tesis presentada como requisito parcial para obtener el grado de
Maestra en Ciencias Agropecuarias



Aislamiento y Caracterización de Microorganismos Benéficos e Identificación de Metabolitos en la Interacción con Plantas por Arteaga Ríos Itzel Guadalupe se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA
CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS DE POSGRADO



AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE MICROORGANISMOS
BENÉFICOS E IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS EN LA
INTERACCIÓN CON PLANTAS

Por:

L.Q. Itzel Guadalupe Arteaga Ríos

Tesis presentada como requisito parcial para obtener el grado de
Maestra en Ciencias Agropecuarias

Director de Tesis: Dr. Pablo Delgado Sánchez
Codirector de Tesis: Dr. Raúl Ocampo Pérez

Asesoras: Dra. María de la Luz Guerrero González
Dra. Karen Beatriz Méndez Rodríguez

El trabajo titulado "Aislamiento y Caracterización de Microorganismos Benéficos e Identificación de Metabolitos en la Interacción con Plantas" fue realizado por la L.Q. Itzel Guadalupe Arteaga Ríos como requisito parcial para obtener el grado de Maestra en Ciencias Agropecuarias, y fue revisado y aprobado por el suscrito Comité de Tesis.

Dr. Pablo Delgado Sánchez

Director de Tesis

Firma

Dr. Raúl Ocampo Pérez

Codirector de Tesis

Firma

Dra. María de la Luz Guerrero González

Asesora

Firma

Dra. Karen Beatriz Méndez Rodríguez

Asesora

Firma

Ejido Palma de la Cruz, Municipio de Soledad de Graciano Sánchez, S.L.P. a 30 días del mes de agosto del 2023.

DEDICATORIA

*A mi madre, **Guadalupe Ríos**, por su sacrificio y esfuerzo para siempre darme lo necesario y ayudarme a lograr mis objetivos a lo largo de mi vida.*

*A mi padre, **Miguel Arteaga**, por su esfuerzo para ayudarme y alentarme a alcanzar mis metas.*

*A mi familia, especialmente a **Isabel Ríos, Ángel Ríos, Noé Ríos y Guadalupe Garza**, por todo su cariño, apoyo incondicional durante este proceso y ayudarme a llegar a donde he llegado.*

AGRADECIMIENTOS

A la **Universidad Autónoma de San Luis Potosí** por permitirme formar parte de su cuerpo estudiantil y ser la sede de la adquisición de mis conocimientos.

A la **Facultad de Agronomía y Veterinaria de la UASLP**, que me brindó los profesores necesarios para aprender y poder desarrollarme académicamente.

Al **Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología** (No. CVU 1133193) por brindarme la oportunidad de contar con el apoyo de la beca y así poder realizar mis estudios de maestría.

A el **Dr. Pablo Delgado Sánchez**, por sus enseñanzas, consejos y paciencia durante el periodo de mis estudios de grado. Gracias por guiarme en mis comienzos dentro del ámbito de la investigación y la ciencia.

A la **Dra. Karen Beatriz Méndez Rodríguez**, Laboratorio de Cromatografía del CIACyT-UASLP, por las facilidades proporcionadas que me permitieron completar mi trabajo de investigación, además de brindarme su tiempo y apoyo.

A los miembros de mi comité de tesis la **Dra. María de la Luz Guerrero González** y el **Dr. Raúl Ocampo Pérez**, por sus consejos, colaboración, apoyo y dirección de este trabajo.

A mis amigas y compañeros del **Laboratorio de Biotecnología** de la Facultad de Agronomía y Veterinaria, **Ana Ramírez, Estrella Hernández, Marcos Loredo y Andrea Torres**, por su apoyo y colaboraciones, las cuales me permitieron llevar a cabo con éxito mis experimentos.

A mis amigos, **Katia Gómez, Alejandro Yáñez, Diana Moreno, Rosa Acevedo, Brenda Juárez, Sharain Carmona, Alejandro Olmos, Erick González, Griselda Contreras, Ali Mendoza, Guillermo Velázquez, Carlos Posadas y Ángel Narváez**, cada uno de ellos que de alguna u otra forma han contribuido a lo largo de mi vida en mi desarrollo personal y profesional, gracias por creer en mí y regalarme su amistad.

A todas aquellas personas que de cierta forma contribuyeron o participaron en el desarrollo de esta investigación, hago extensivo mi más sincero agradecimiento.

CONTENIDO

DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
CONTENIDO	v
ÍNDICE DE CUADROS.....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
RESUMEN.....	xiv
SUMMARY	xvi
INTRODUCCIÓN	1
HIPÓTESIS.....	4
OBJETIVOS	¡Error! Marcador no definido.
Objetivo general.....	4
Objetivos específicos	4
REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
Biotecnología agrícola	5
Rhizobacterias promotoras del crecimiento vegetal	5
Mecanismos directos	7
Mecanismos indirectos	7
Generalidades de <i>Arabidopsis thaliana</i> y <i>Solanum lycopersicum</i>	9
MATERIALES Y MÉTODOS	11
Material experimental	11
ENSAYO 1: Aislamiento y caracterización de microorganismos benéficos.....	11
ENSAYO 2: Evaluación del efecto de las cepas bacterianas aisladas y sus metabolitos filtrados en <i>Arabidopsis thaliana</i> (Col-0)	13
ENSAYO 3: Evaluación del efecto de las cepas bacterianas y sus metabolitos filtrados en plántulas de <i>Solanum lycopersicum</i>	16
ENSAYO 4: Experimentos in vitro de las cepas y metabolitos filtrados seleccionados para la recuperación de compuestos orgánicos volátiles (COV's) en <i>A. thaliana</i>	17
Diseño experimental y estadístico	20
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	21

Evaluación del efecto de bacterias y sus metabolitos en plántulas de <i>Arabidopsis thaliana</i> Col-0.....	21
Evaluación del efecto de bacterias y sus metabolitos filtrados en plantas de jitomate bajo condiciones de invernadero	39
Identificación de compuestos orgánicos volátiles in vitro por GC-MS en plántulas <i>A. thaliana</i>	51
CONCLUSIONES	64
LITERATURA CITADA.....	65
ANEXOS	71

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Comparación de las medias del No. de nudos, No. de silicuas y peso total de semillas por planta, y la cantidad de semillas por silicua medidas en la cosecha para las diferentes interacciones de B31 y su filtrado respecto a los controles	25
2	Gráfica Comparación de las medias del No. de nudos, No. de silicuas y peso total de semillas por planta, y la cantidad de semillas por silicua medidas en la cosecha para las diferentes interacciones de Ba y su filtrado (BaF) respecto a los controles	29
3	Comparación de las medias del No. de nudos, No. de silicuas y peso total de semillas por planta, y la cantidad de semillas por silicua medidas en la cosecha para las diferentes interacciones de Bs y su filtrado (BsF) respecto a los controles	33
4	Comparación de las medias del No. de nudos, No. de silicuas y peso total de semillas por planta, y la cantidad de semillas por silicua medidas en la cosecha para las diferentes interacciones de Bf y su filtrado (BfF) respecto a los controles	37
5	Porcentajes de emergencia total, muerte pre-emergente, muerte post-emergente y sobrevivencia de las plántulas de jitomate a los 45 días	39
6	Compuestos encontrados a los 10, 13 y 16 dds en la interacción de plantas (At) sin inocular y el porcentaje de similitud reportado	51
7	Compuestos encontrados a los 10, 13 y 16 dds en la interacción de plantas con <i>B. simplex</i> (At/Bs) y de la bacteria sola sin plantas Bs ..	52
8	Compuestos encontrados a los 10, 13 y 16 dds en la interacción de plantas con <i>B. firmus</i> (At/Bf) y de la bacteria sola sin plantas Bf	56
9	Compuestos encontrados a los 10, 13 y 16 dds en la interacción de plantas con el filtrado de <i>B. firmus</i> (At/BfF) y del mismo sin plantas BfF	57

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Diagrama del proceso de recuperación e inyección de los compuestos orgánicos volátiles a través de la técnica de microextracción en fase sólida-SPME	19
2	Análisis de longitud de raíz y áreas foliares en plántulas de <i>A. thaliana</i> a los 14 y 21 días. (A, B) control por contacto y distancia (At, AtLB y At-LB), contacto de bacteria AtB31 y filtrado AtB31F, bacteria y filtrado a distancia At-B31 y At-B31F y (C, D) control de volátiles (At/ y At/LB) e interacciones de bacteria At/B31 y filtrado At/B31F. Las barras representan la media \pm DE, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas de la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$)	23
3	Evaluación del peso fresco de plántulas de <i>A. thaliana</i> a los 21 días. (A) interacciones por contacto y difusión en el medio, (B) interacciones por compuestos volátiles. Las barras representan la media \pm DE, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas de la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$)	24
4	Evaluación del efecto en el desarrollo de plántulas de <i>A. thaliana</i> Col-0 inoculadas en contacto y por difusión en el medio a los 14 y 21 días. At , plántulas sin inocular; AtB31 , plántulas inoculadas por contacto con la cepa; AtB31F , plántulas inoculadas por contacto con el filtrado de la cepa B31; At-B31 , inoculación en el medio con la cepa B31; At-B31F , inoculación en el medio con el filtrado de la cepa B31. Las flechas indican el sitio de inoculación	24

5	Evaluación del efecto de los compuestos volátiles en el desarrollo morfológico de plántulas de <i>A. thaliana</i> Col-0 inoculadas a los 14 y 21 días. At/ , plántulas sin inocular; At/B31 , plántulas inoculadas con la cepa B31; At/B31F , plántulas inoculadas con el filtrado de la cepa B31. Las flechas indican el sitio de inoculación	25
6	Análisis de longitud de raíz y áreas foliares en plántulas de <i>A. thaliana</i> a los 14 y 21 días. (A, B) control por contacto y distancia (At, AtLB y At-LB), contacto de bacteria AtBa y filtrado AtBaF, bacteria y filtrado a distancia At-Ba y At-BaF y (C, D) control de volátiles (At/ y At/LB) e interacciones de bacteria At/Ba y filtrado At/BaF. Las barras representan la media \pm DE, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas de la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$)	27
7	Evaluación del peso fresco de plántulas de <i>A. thaliana</i> a los 21 días. (A) interacciones por contacto y difusión en el medio, (B) interacciones por compuestos volátiles. Las barras representan la media \pm DE, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas de la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$)	28
8	Evaluación del efecto en el desarrollo de plántulas de <i>A. thaliana</i> Col-0 inoculadas en contacto y por difusión en el medio a los 14 y 21 días. At , plántulas sin inocular; AtBa , plántulas inoculadas por contacto con la cepa <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ; AtBaF , plántulas inoculadas por contacto con el filtrado de la cepa <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ; At-Ba , inoculación en el medio con la cepa <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ; At-BaF , inoculación en el medio con el filtrado de la cepa <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> . Las flechas indican el sitio de inoculación	29
9	Evaluación del efecto de los compuestos volátiles en el desarrollo morfológico de plántulas de <i>A. thaliana</i> Col-0 inoculadas a los 14 y 21 días. At/ , plántulas sin inocular; At/Ba , plántulas inoculadas con	29

	la cepa <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ; At/BaF , plántulas inoculadas con el filtrado de la cepa <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> . Las flechas indican el sitio de inoculación	
10	Análisis de longitud de raíz y áreas foliares en plántulas de <i>A. thaliana</i> a los 14 y 21 días. (A, B) control por contacto y distancia (At, AtLB y At-LB), contacto de bacteria AtBs y filtrado AtBsF, bacteria y filtrado a distancia At-Bs y At-BsF y (C, D) control de volátiles (At/ y At/LB) e interacciones de bacteria At/Bs y filtrado At/BsF. Las barras representan la media \pm DE, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas de la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$)	31
11	Evaluación del peso fresco de plántulas de <i>A. thaliana</i> a los 21 días. (A) interacciones por contacto y difusión en el medio, (B) interacciones por compuestos volátiles. Las barras representan la media \pm DE, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas de la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$)	32
12	Evaluación del efecto en el desarrollo de plántulas de <i>A. thaliana</i> Col-0 inoculadas en contacto y por difusión en el medio a los 14 y 21 días. At , plántulas sin inocular; AtBs , plántulas inoculadas por contacto con la cepa <i>Bacillus simplex</i> ; AtBsF , plántulas inoculadas por contacto con el filtrado de la cepa <i>Bacillus simplex</i> ; At-Bs , inoculación en el medio con la cepa <i>Bacillus simplex</i> ; At-BsF , inoculación en el medio con el filtrado de la cepa <i>Bacillus simplex</i> . Las flechas indican el sitio de inoculación	33
13	Evaluación del efecto de los compuestos volátiles en el desarrollo morfológico de plántulas de <i>A. thaliana</i> Col-0 inoculadas a los 14 y 21 días. At/ , plántulas sin inocular; At/Bs , plántulas inoculadas con la cepa <i>Bacillus simplex</i> ; At/BsF , plántulas inoculadas con el filtrado de la cepa <i>Bacillus simplex</i> . Las flechas indican el sitio de inoculación	34

14	Análisis de longitud de raíz y áreas foliares en plántulas de <i>A. thaliana</i> a los 14 y 21 días. (A, B) control por contacto y distancia (At, AtLB y At-LB), contacto de bacteria AtBf y filtrado AtBfF, bacteria y filtrado a distancia At-Bf y At-BfF y (C, D) control de volátiles (At/ y At/LB) e interacciones de bacteria At/Bf y filtrado At/BfF. Las barras representan la media \pm DE, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas de la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$)	36
15	Evaluación del peso fresco de plántulas de <i>A. thaliana</i> a los 21 días. (A) interacciones por contacto y difusión en el medio, (B) interacciones por compuestos volátiles. Las barras representan la media \pm DE, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas de la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$)	37
16	Evaluación del efecto en el desarrollo de plántulas de <i>A. thaliana</i> Col-0 inoculadas en contacto y por difusión en el medio a los 14 y 21 días. At , plántulas sin inocular; AtBf , plántulas inoculadas por contacto con la cepa <i>Bacillus firmus</i> ; AtBfF , plántulas inoculadas por contacto con el filtrado de la cepa <i>Bacillus firmus</i> ; At-Bf , inoculación en el medio con la cepa <i>Bacillus firmus</i> ; At-BfF , inoculación en el medio con el filtrado de la cepa <i>Bacillus firmus</i> . Las flechas indican el sitio de inoculación	37
17	Evaluación del efecto de los compuestos volátiles en el desarrollo morfológico de plántulas de <i>A. thaliana</i> Col-0 inoculadas a los 14 y 21 días. At , plántulas sin inocular; At/Bf , plántulas inoculadas con la cepa <i>Bacillus firmus</i> ; At/BfF , plántulas inoculadas con el filtrado de la cepa <i>Bacillus firmus</i> . Las flechas indican el sitio de inoculación	38
18	Comparación de medias en las diferentes variables morfológicas medidas en plántulas de <i>S. lycopersicum</i> a los 15, 30 y 45 días: (A) altura de plántula (cm), (B) diámetro de tallo (mm), (C) no. de hojas verdaderas, (D) largo de hoja (cm) y (E) ancho de hoja (cm). SI , plántulas sin inocular; SIB31 , plántulas inoculadas con la cepa B31;	42

	SIB31F , plántulas inoculadas con el filtrado de la cepa B31. Las barras representan la media \pm DE, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas de la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$)	
19	Comparación de medias en las diferentes variables morfológicas medidas en plántulas de <i>S. lycopersicum</i> a los 15, 30 y 45 días: (A) altura de plántula (cm), (B) diámetro de tallo (mm), (C) no. de hojas verdaderas, (D) largo de hoja (cm) y (E) ancho de hoja (cm). SI , plántulas sin inocular; SIBa , plántulas inoculadas con la cepa <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ; SIBaF , plántulas inoculadas con el filtrado de la cepa <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> . Las barras representan la media \pm DE, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas de la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$)	43
20	Comparación del crecimiento y desarrollo de plántulas de <i>S. lycopersicum</i> a los 45 días. SI , plántulas sin inocular; SIBa , plántulas inoculadas con la cepa <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ; SIBaF , plántulas inoculadas con el filtrado de la cepa <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	44
21	Comparación del crecimiento y desarrollo de plántulas de <i>S. lycopersicum</i> a los 45 días. SI , plántulas sin inocular; SIBa , plántulas inoculadas con la cepa <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ; SIBaF , plántulas inoculadas con el filtrado de la cepa <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	45
22	Comparación de medias en las diferentes variables morfológicas medidas en plántulas de <i>S. lycopersicum</i> a los 15, 30 y 45 días: (A) altura de plántula (cm), (B) diámetro de tallo (mm), (C) no. de hojas verdaderas, (D) largo de hoja (cm) y (E) ancho de hoja (cm). SI , plántulas sin inocular; SIBs , plántulas inoculadas con la cepa <i>Bacillus simplex</i> ; SIBsF , plántulas inoculadas con el filtrado de la cepa <i>Bacillus simplex</i> . Las barras representan la media \pm DE, letras	46

	diferentes indican diferencias estadísticamente significativas de la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$)	
23	Comparación del crecimiento y desarrollo de plántulas de <i>S. lycopersicum</i> a los 45 días. SI , plántulas sin inocular; SIBs , plántulas inoculadas con la cepa <i>Bacillus simplex</i> ; SIBsF , plántulas inoculadas con el filtrado de la cepa <i>Bacillus simplex</i>	47
24	Comparación de medias en las diferentes variables morfológicas medidas en plántulas de <i>S. lycopersicum</i> a los 15, 30 y 45 días: (A) altura de plántula (cm), (B) diámetro de tallo (mm), (C) no. de hojas verdaderas, (D) largo de hoja (cm) y (E) ancho de hoja (cm). SI , plántulas sin inocular; SIBf , plántulas inoculadas con la cepa <i>Bacillus firmus</i> ; SIBfF , plántulas inoculadas con el filtrado de la cepa <i>Bacillus firmus</i> . Las barras representan la media \pm DE, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas de la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$)	48
25	Comparación del crecimiento y desarrollo de plántulas de <i>S. lycopersicum</i> a los 45 días. SI , plántulas sin inocular; SIBf , plántulas inoculadas con la cepa <i>Bacillus firmus</i> ; SIBfF , plántulas inoculadas con el filtrado de la cepa <i>Bacillus firmus</i>	49
26	Evaluación del peso fresco (A) y peso seco (B) para la parte aérea en plántulas de <i>S. lycopersicum</i> a los 45 días. Las barras representan la media \pm DE, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas de la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$)	50
27	Evaluación del peso fresco (A) y peso seco (B) de raíz en plántulas de <i>S. lycopersicum</i> a los 45 días. Las barras representan la media \pm DE, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas de la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$)	50

RESUMEN

La aplicación de inoculantes a base de microorganismos benéficos es una alternativa eficiente, benefician a la planta y el medio en el que se encuentran, pues las interacciones que llevan a cabo en gran parte por la presencia de metabolitos secundarios (MS) y compuestos orgánicos volátiles (COV's) los cuáles participan dentro y fuera de la planta generando moléculas de señalización y de respuesta para estimular procesos fisiológicos. Se evaluaron cuatro bacterias *Bacillus amyloliquefaciens* (Ba), *B. Simplex* (Bs) y *B. Firmus* (Bf) y B31., y sus filtrados (F). El efecto de estas bacterias en diferentes interacciones planta-bacteria y planta-metabolitos en plantas de *Arabidopsis thaliana* (At) fueron evaluadas (por contacto AtB31, AtBa, AtBs y AtBf; difusión en el medio At-B31, At-Ba, At-Bs y At-Bf y volátiles At/B31, At/Ba, At/Bs At/Bf) y en *Solanum lycopersicum* (Sl) en invernadero (Sl, SlB31, SlBa, SlBs y SlBf). Los resultados para las interacciones *in vitro* por contacto y difusión mostraron que la longitud de raíz primaria a los 21 días para el tratamiento At-Ba y AtB31F fueron las mayores teniendo un incremento aproximado del 30% respecto al control (At); los tratamientos At-Ba y At-B31 promovieron una mayor área foliar a los 21 días con un aumento del 38% comparado al control; el peso fresco de las plántulas de *A. thaliana* fue incrementado en un 110% con el tratamiento At-Ba. Para efecto de volátiles el peso fresco aumentó un 78% con la inoculación de BfF, respecto al desarrollo foliar, At/BfF mostró un 45% más en comparación al control y At/Bs un 37% en la longitud radicular. Durante el estudio de la aplicación de la bacteria y sus filtrados en plantas de *A. thaliana* provenientes de los experimentos *in vitro* el tratamiento At/BsF y AtBfF generaron una mayor producción de silicuas por planta lo que se vio reflejado en un mayor rendimiento (peso total de semillas por planta), así como un aumento del 30% en la producción de semillas por silicua. En el experimento de invernadero, los filtrados de las cuatro bacterias demostraron diferencias estadísticas significativas en altura de plántula, diámetro de tallo, largo y ancho de hoja, lo que demuestra una mejor respuesta respecto al control y las demás bacterias inoculadas. De los COV's identificados en las interacciones planta-microorganismo o filtrado se dio la presencia de moléculas con diversos grupos funcionales, principalmente encontramos ésteres, cetonas, éteres, fenoles, ácidos alifáticos, alcoholes, aldehídos, alcanos, alquenos y algunos compuestos aromáticos, de una manera no tan abundante se recuperaron algunos

de familias como sesquiterpenos, cumarinas, ácidos carboxílicos, carbazoles, tiazoles, halogenuros e indoles. Los compuestos analizados en su mayoría no han sido encontrados en la literatura con reportes como agentes promotores del crecimiento vegetal, pero si es importante mencionar que por su naturaleza y las familias a las que pertenecen pueden derivar y desencadenar la síntesis de nuevas moléculas con aplicación agronómica.

Palabras clave: COVs, Interacción planta microorganismo, Metabolitos, PGPR.

SUMMARY

The application of inoculants based on beneficial microorganisms is an efficient alternative, they benefit the plant and the environment in which they are found, since the interactions that they carry out are largely due to the presence of secondary metabolites (MS) and volatile organic compounds. (VOC's) which participate inside and outside the plant generating signaling and response molecules to stimulate physiological processes. Four bacteria *Bacillus amyloliquefaciens* (Ba), *B. Simplex* (Bs) and *B. Firmus* (Bf) and B31., and their filtrates (F) were evaluated. The effect of these bacteria on different plant-bacteria and plant-metabolite interactions in *Arabidopsis thaliana* (At) plants were evaluated (by contact AtB31, AtBa, AtBs and AtBf; diffusion in the medium At-B31, At-Ba, At- Bs and At-Bf and volatiles At/B31, At/Ba, At/Bs At/Bf) and in *Solanum lycopersicum* (Sl) in the greenhouse (Sl, SlB31, SlBa, SlBs and SlBf). The results for the in vitro interactions by contact and diffusion showed that the length of the primary root at 21 days for the At-Ba and AtB31F treatment were the greatest, having an approximate increase of 30% compared to the control (At); the At-Ba and At-B31 treatments promoted a greater leaf area at 21 days with an increase of 38% compared to the control; the fresh weight of the *A. thaliana* seedlings was increased by 110% with the At-Ba treatment. For the effect of volatiles, the fresh weight increased by 78% with the inoculation of BfF, with respect to leaf development, At/BfF showed 45% more compared to the control and At/Bs 37% in root length. During the study of the application of the bacterium and its filtrates in *A. thaliana* plants from the in vitro experiments, the At/BsF and AtBfF treatment generated a greater production of siliques per plant, which was reflected in a higher yield (weight total seeds per plant), as well as a 30% increase in seed production per silique. In the greenhouse experiment, the filtrates of the four bacteria showed statistically significant differences in seedling height, stem diameter, leaf length and width, which demonstrates a better response compared to the control and the other inoculated bacteria. Of the VOC's identified in the plant-microorganism or filtrate interactions, the presence of molecules with various functional groups occurred, mainly we found esters, ketones, ethers, phenols, aliphatic acids, alcohols, aldehydes, alkanes, alkenes and some aromatic compounds, in a not so abundantly, some families such as sesquiterpenes, coumarins, carboxylic acids, carbazoles, thiazoles, halides and indoles were recovered. Most of the compounds

analyzed have not been found in the literature with reports as plant growth promoting agents, but it is important to mention that due to their nature and the families to which they belong, they can derive and trigger the synthesis of new molecules with agronomic application.

Keywords: VOCs, Plant microorganism interaction, Metabolites, PGPR.

INTRODUCCIÓN

Hoy en día la agricultura es una de las actividades con mayor importancia económica debido a las altas producciones de alimentos, lo que conlleva a más oportunidades laborales y promueve el desarrollo de agroindustrias. Durante los últimos años el uso de agroquímicos en la agricultura moderna ha generado preocupación por la contaminación ambiental, problemas de salud en la población, reducción de la biodiversidad y pérdida de la fertilidad del suelo, ya que hasta cierto punto es inevitable su uso en los sistemas agrícolas (FAO, 2019). Actualmente, la agricultura que sigue utilizando estos productos, que carece de tecnología y buenas prácticas agrícolas es cada vez menos viable debido a la presión ejercida por los impactos negativos al medio ambiente, y a su vez por la demanda de los mercados para tener productos de calidad y que se produzcan de una manera sostenible sin afectar al consumidor ni la biodiversidad; por lo que, la búsqueda de otro tipo de prácticas y manejos con enfoques sostenibles que contribuyan a cumplir estándares de producción específicos y a reducir el impacto ambiental son de gran interés (Gavrilescu y Chisti, 2005; Saedd *et al.*, 2017).

La producción de hortalizas enfrenta factores limitantes para el desarrollo de los cultivos en el suelo natural; como salinización, enfermedades y agotamiento de los suelos (Ruane y Sonnino, 2011). Jasso (2007), menciona que los eventos climáticos a los que están expuestos los cultivos, así como la presencia de plagas, virus, hongos y bacterias son los aspectos antagónicos que afectan a la agricultura tradicional. El desarrollo de cualquier cultivo genera una acción sinérgica entre los factores que hay en el entorno; esto nos lleva a darle prioridad a todos aquellos que condicionan el proceso productivo del cultivo, como el clima, sanidad, labores culturales, riego y nutrición (Alarcón, 2006; Molina-Romero *et al.*, 2015). Bajo ciertas condiciones, los cultivos se ven afectados ocasionando en la producción un bajo rendimiento y calidad, e inclusive pérdida total de los mismos (Villasanti y Pantoja, 2013). Para hacer frente a estos problemas los productos de origen microbiano derivados de la biotecnología agrícola son una alternativa eficiente, ya que han beneficiado a agricultores, consumidores y medio ambiente, dado que los rendimientos e ingresos agrícolas de productos biotecnológicos van en aumento, mientras

que las aplicaciones de agroquímicos han disminuido mejorando la calidad del suelo, agua y proporcionando alimentos saludables a la población (Hayat *et al.*, 2010; Cano, 2011; Cantrell *et al.*, 2012; Pathak *et al.*, 2017).

A la fecha, existen un gran número de reportes científicos que han demostrado el efecto positivo de microorganismos como promotores de crecimiento vegetal, debido a la producción de metabolitos primarios o secundarios con diversas aplicaciones. Algunos metabolitos secundarios (MS) y enzimas identificados en microorganismos han sido reportados con distintos mecanismos de acción en plantas, de los cuáles, los mecanismos directos favorecen la producción de fitohormonas y ayudan a la planta a solubilizar y captar nutrientes, los mecanismos indirectos participan en el antagonismo frente a organismos fitopatógenos y protección ante estrés del tipo biótico y abiótico; por otra parte, también se producen compuestos orgánicos volátiles o difusibles (Molina-Romero *et al.*, 2015; Zeilinger *et al.*, 2016; Mesa-Vanegas *et al.*, 2019). La interacción de estas biomoléculas con las plantas impacta directamente en el desarrollo morfofisiológico ya que se encuentran disponibles en la rizosfera, llegan a modificar la pared celular y generan un aumento en el tamaño de las hojas, diámetros de tallos y cambios en la estructura radicular (Verma *et al.*, 2007; Hayat *et al.*, 2010; Molina-Romero *et al.*, 2015; Mesa-Vanegas *et al.*, 2019).

Dicho lo anterior una de las técnicas analíticas que más se han utilizado para identificar los diversos compuestos producidos es la cromatografía de gases (GC, por sus siglas en inglés), la cual, es una herramienta que permite poder separar mezclas complejas, por otra parte, la espectrometría de masas (MS, por sus siglas en inglés) es una técnica que puede identificar de manera muy precisa cualquier sustancia pura, se usa en conjunto con otros métodos instrumentales como son UV-Vis, IR, NMR, Rayos X, por mencionar algunos. La espectrometría de masas ayuda a obtener información acerca de la estructura química, masa molecular y la composición elemental de moléculas a partir de su fragmentación por la ionización en fase vapor, con ella se pueden analizar moléculas de bajo y mediano peso molecular (hasta 450 Da) que llegan a ser volátiles o semivolátiles, moderadamente polares y termoestables (Gutiérrez y Droguet, 2002; Stashenko y

Martínez, 2010), de esta manera el uso de ambas da lugar a una técnica combinada GC-MS que permite llevar a cabo la separación e identificación de los compuestos producidos por los microorganismos benéficos. Muchos de estos compuestos han sido aplicados y caracterizados en plantas modelo como la *Arabidopsis thaliana* (Boyes et al., 2001) debido a que sus características permiten estudiar fácilmente sus procesos fisiológicos.

Por todo lo antes expuesto, identificar y caracterizar los compuestos que conforman a estos metabolitos es imprescindible porque nos permite conocer los aportes que pueden proporcionar a las plantas; dichas sustancias participan algunas veces en comunicaciones a larga distancia y envían señales dentro y fuera de las plantas ayudando a mejorar su desarrollo fisiológico, el presente trabajo de investigación pretende contribuir con la exploración de distintas interacciones (directas e indirectas) entre planta-microorganismos y planta-metabolitos para poder dilucidar cuáles son las interacciones que brindan mejores respuestas fisiológicas en las plantas y poder identificar los MS que participan en estas.

HIPÓTESIS

Los compuestos producidos por microorganismos benéficos en las interacciones directas e indirectas tienen un efecto positivo en la promoción del crecimiento de plantas de *Arabidopsis thaliana* y *Solanum lycopersicum*.

Objetivo general

Caracterizar microorganismos benéficos y evaluar su efecto en la promoción del crecimiento vegetal, así como identificar los metabolitos producidos a través de distintas interacciones con plantas de *Arabidopsis thaliana* y *Solanum lycopersicum*.

Objetivos específicos

- a) Aislar e identificar bacterias con efectos de promoción en el crecimiento vegetal.
- b) Evaluar el efecto de bacterias y sus metabolitos filtrados en interacciones directas e indirectas *in vitro* en plantas de *Arabidopsis thaliana* (Col-0).
- c) Evaluar el efecto de promoción de crecimiento de las bacterias y sus biofiltrados en plantas de *Solanum lycopersicum* bajo condiciones de invernadero.
- d) Aislar los metabolitos producidos por los microorganismos y los filtrados durante su interacción *in vitro* con plántulas de *Arabidopsis thaliana*.
- e) Analizar e identificar los compuestos extraídos de la interacción *in vitro* con la técnica de GC-MS.

REVISIÓN DE LITERATURA

Biotecnología Agrícola

El uso en exceso de agroquímicos, manejos agronómicos inadecuados (poco aprovechamiento de los fertilizantes utilizados) y efectos adversos por variaciones climatológicas han ocasionado que los niveles de erosión en el suelo aumenten y que a su vez disminuya la cantidad de materia orgánica presente en el mismo. A causa de estas situaciones se busca que las nuevas tecnologías para el sector agrícola tengan un enfoque sostenible donde se pueda maximizar el uso de los recursos naturales de forma adecuada para preservar al ambiente o bien tratar de recuperar la salud de los suelos cultivables, así como aumentar la calidad y cantidad de producción. La aplicación de inoculantes a base de microorganismos benéficos es una alternativa eficiente, ya que los diversos hongos y bacterias que existen benefician al hospedero y el sustrato en el que se encuentran debido a que participan en diversos mecanismos dentro y fuera de la planta (Feijoo, 2016; Vanegas *et al.*, 2019).

Rhizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal

Algunas bacterias benéficas se caracterizan por ser especies que colonizan la rizosfera y promueven el crecimiento y desarrollo vegetal, estas se conocen como rhizobacterias promotoras del crecimiento vegetal o Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) por sus siglas en inglés. A la fecha existen diversos estudios con diferentes especies y cepas PGPR explicando sus mecanismos de acción sobre la planta y la relación tan estrecha que tienen por medio de la producción de diferentes metabolitos secundarios (Molina-Romero *et al.*, 2015), dentro de estas rhizobacterias destacan géneros de importancia agrícola como *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Paenibacillus* y *Burkholderia*, por mencionar algunos. Dentro del género *Bacillus* sp. se encuentra una diversidad de bacterias que se han probado y estudiado en distintos cultivos y plantas modelo. *Bacillus firmus* es una especie que ha tomado importancia en estudios sobre la mitigación de efectos por estrés biótico y abiótico, ya que es una especie halotolerante y alcalófila (El-Esawi *et al.*, 2018; Asmat-Ortega, 2020). También tiene

funciones como agente de biocontrol por la producción de antimicrobianos y antagonistas para enfermedades relevantes (Arboleda-Zapata *et al.*, 2019; Quispe-Quispe *et al.*, 2020), es un potente nematicida (Viljoen *et al.*, 2019; Ghahremani *et al.*, 2020; Huang *et al.*, 2021), y principalmente se caracteriza como una bacteria que induce el crecimiento vegetativo a partir de la producción de sus metabolitos secundarios (MS). Esta bacteria ya se ha probado en diversos cultivos como soja, jitomate, amaranto, arroz, así como también en plantas modelo como la *Arabidopsis thaliana* (Chatterjee *et al.*, 2012; Ryu *et al.*, 2013; Schwartz *et al.*, 2013; El-Esawi *et al.*, 2018; Huang *et al.*, 2021; Dutta *et al.*, 2023). *Bacillus simplex* es una especie que en las últimas décadas se ha estudiado, por ser halotolerante, presentar efectos PGPR a través de la producción de auxinas, solubilización de fósforo y fijación de nitrógeno (Ertuk *et al.*, 2010), funge como agente biocontrol de hongos fitopatógenos y nemátodos por la producción de compuestos orgánicos volátiles-COV's como fenol, 2-propanona, 1-decanol, 2-nonanona, 2-undecanona, feniletanona, ciclohexeno y benzaldehído, también tiene la capacidad de reducir el Cr^{+6} lo cual la hace un potente agente para la disminución de la toxicidad de los metales pesados, se ha probado en cultivos de kiwi, soja, jitomate en plantas de *A. thaliana* y *Medicago truncatula* (Ertuk *et al.*, 2010; Ryu *et al.*, 2013; Schwartz *et al.*, 2013; Khan *et al.*, 2018; Xing *et al.*, 2020). Caso contrario *Bacillus amyloliquefaciens* que es una bacteria más ampliamente estudiada, se reconoce por sus efectos promotores del crecimiento vegetal al producir metabolitos que participan como el 3-hidroxi-2-butanona y 2,3-butanodiol, es un agente biocontrol efectivo debido a que tiene actividad xilanasa, pectinolítica, endopoligalacturonasa, celulasa, quitinasa, también se ha evaluado la inducción del crecimiento de plantas de *A. thaliana* en condiciones de salinidad a través COV's al conferirles tolerancia (Ryu *et al.*, 2013; Schwartz *et al.*, 2013; Khan *et al.*, 2018; Liu *et al.*, 2020). Como se ha mencionado anteriormente estas rizobacterias favorecen, protegen y facilitan el desarrollo y crecimiento de las plantas a través de dos mecanismos, los cuáles se reconocen como mecanismos directos e indirectos y consisten en:

Mecanismos directos

Son aquellos que benefician la nutrición y desarrollo de las plantas (Hayat *et al.*, 2010; Rojas-Solís *et al.*, 2013; Molina-Romero, *et al.*, 2015; Anguiano Cabello, *et al.*, 2018).

1. Fijación biológica de nitrógeno.

Es el proceso por el cual el N atmosférico se convierte en el ion amonio (NH_4^+) a través de la participación de la enzima nitrogenasa, algunas bacterias como *Azospirillum* spp y *Rhizobium* sp. favorecen la producción de NH_4^+ permitiéndole a la planta que lo pueda usar en ciertos procesos o como nutriente (Molina-Romero, *et al.*, 2015).

2. Solubilización de fosfatos.

La forma química del fósforo que es asimilable por las plantas corresponde a los iones $H_2PO_4^-$ y HPO_4^{2-} , por lo que algunas bacterias, por ejemplo, *Pseudomona fluorescens*, son capaces de solubilizarlo a partir de rocas fosfóricas utilizando enzimas como fosfatasas y fosfonatasas dejando libres los iones. Otra forma de solubilizarlo es por medio de la acidificación que producen algunos microorganismos como son el ácido glucónico o 2-ceto-glucónico, (Molina-Romero, *et al.*, 2015).

3. Producción de fitohormonas.

A la fecha se han identificado fitohormonas que son consideradas dentro de los principales compuestos que inducen los mecanismos de promoción de crecimiento, y generan en la planta un aumento de follaje y sistema radicular, pues regulan algunos genes del crecimiento y desarrollo de la planta, también benefician el flujo de protones lo que aumenta la capacidad de absorber nutrientes. Ejemplo de estas son las auxinas, citocininas, etileno y giberelinas (Molina-Romero *et al.*, 2015; Feijoo, 2016).

Mecanismos indirectos

Son los que aportan protección a las plantas de plagas y enfermedades a través de la inducción de resistencia sistémica, ayudan a mitigar los efectos del estrés biótico o abiótico (Hayat *et al.*, 2010; Rojas-Solís *et al.*, 2013; Molina-Romero *et al.*, 2015).

1. Metabolitos como agentes de biocontrol.

Algunos microorganismos eliminan a fitopatógenos por la producción de **MS** como el ácido cianídrico, ácido fenazina-1-carboxílico, pioluteorina, lipopéptidos cíclicos y el diacetilfloroglucinol (DAPG), estos pueden generar daño en la membrana celular de los patógenos. Particularmente se encuentran algunos tipos de compuestos que pueden suprimir los efectos de estos organismos patógenos, primero están los antibióticos que son producidos por algunos *Bacillus* sp., los cuales inhiben la síntesis de pared celular, desestabilizando la estructura de la membrana y llegando a inhibir genes de traducción para estas cepas; luego están los sideróforos (péptidos) clasificados como: carboxilatos, hidroxamatos, fenol catecoles y pioverdinas. Algunos de estos sideróforos acomplejan al hierro y lo protegen de invasores en la planta hospedera impidiendo que lo utilicen y solo lo dejan disponible para la nutrición de la planta (Molina-Romero *et al.*, 2015); como ejemplo de otros péptidos se encuentran la bacilisina, fengicina, iturina y difcidina como inhibidores del desarrollo de *Sclerotinia sclerotiorum* y otros hongos filamentosos (Camacho, 2017).

2. Enzimas líticas y reguladores de estrés.

Las enzimas líticas degradan paredes celulares de los organismos patógenos, dentro de estas se encuentran las quitinasas, celulasas, beta-1,3 glucanasas, proteasas y lipasas, un ejemplo de bacteria que produce algunas de ellas es *Bacillus amyloliquefaciens*. Otros compuestos como fenazinas, pyrrolnitrina, 2,4-diacetilfloroglucinol, pioluteorina, visconinamida y tensinas tienen la misma función de degradación; el ácido harziánico está reportado con actividad supresora para *Pythium irregulare* y *Rhizoctonia solani* y como potenciador de crecimiento vegetal (Vinale *et al.*, 2009); 6-pentil- α -pirona está reportada como control de enfermedades para plantas de la vid (Chen *et al.*, 2012); 6-pentil-2H-piran-2-ona es un promotor de crecimiento (Mazzei *et al.*, 2016). Este último compuesto junto con el alcohol bencílico, alcohol 2-feniletílico, gama-butirolactona están reportados con actividades antifúngicas (Yang *et al.*, 2012); se ha demostrado que el 1 β -vinilciclopentano-1 α , 3 α -diol, 6-pentil-2H-piran-2-ona y 4-(2-hidroxietil) fenol funcionan como nematocidas (Mesa-Vanegas *et al.*, 2019). También

existen compuestos que regulan el estrés de la planta a través de la producción de etileno, tal es el caso de aquellas bacterias como *Pseudomonas oryzae* que son capaces de producir 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) desaminasa, pues esta enzima disminuye la producción de etileno generando así más fuentes de N para la planta (Molina-Romero *et al.*, 2015).

3. Compuestos orgánicos volátiles (COV's).

Algunos de los COV's como son los aldehídos, alcoholes, cetonas, hidrocarburos, índoles, derivados de ácidos grasos, terpenos y jasmonatos, de acuerdo con la literatura se han detectado que actúan como fitohormonas, estimulando la promoción del crecimiento vegetal. *Bacillus firmus* está reportado en la producción de ácido jasmónico y salicílico, acetoina y el 2,3-butanodiol están identificados como uno de los principales compuestos estimuladores del crecimiento vegetal producidos por *Bacillus simplex*, *B. cereus* y *B. subtilis*, entre otros (Gutiérrez-Luna *et al.*, 2010; Schwartz *et al.*, 2013; Molina-Romero *et al.*, 2015). La cremenolida es una lactona reportada como inhibidora de crecimiento radial de *Fusarium oxysporum* y *R. solani*, y como promotora de crecimiento en plantas de jitomate (Vinale *et al.*, 2016).

Generalidades de *Arabidopsis thaliana* y *Solanum lycopersicum*

Arabidopsis thaliana es una planta con etapa fenológica corta, es muy utilizada para experimentos ya que por el tamaño que llega a alcanzar (30 cm), la abundante producción de semillas y por tener un genoma pequeño y secuenciado en su totalidad permite trabajar eficientemente pues se cuenta con la ventaja de encontrar diferencias rápidamente. Además, su sistema radicular tiende a ser característico (la raíz primaria tiende a ser dominante y a lo largo de esta se pueden presentar raíces laterales) lo que permite también hacer evaluaciones rápidas a partir de las observaciones de este (Valentín, 2018).

El jitomate (*Solanum lycopersicum*) es uno de los cultivos hortícolas más importantes en México debido tanto al valor de su producción como a la demanda de mano de obra generando así más empleos, lo que lo coloca como el principal producto hortícola

de exportación del país (SIAP, 2021). En la actualidad el mundo enfrenta muchos problemas de carácter económico, social y ambiental; dadas estas situaciones se necesita que las nuevas tecnologías promuevan el desarrollo sostenible y sustentable en la producción de nuevos alimentos (Álvarez *et al.*, 2017). Este cultivo es considerado una de las hortalizas mayormente producidas en el mundo, en nuestro país se cultiva para atender la demanda nacional y de exportación generando un gran ingreso económico. En el año 2021 México ocupó el noveno puesto de producción a nivel mundial con 3,370,827 toneladas, es el principal exportador para EUA. Para el año 2021 Sinaloa ocupó el primer puesto en producción con 684,333 toneladas, seguido de este se posicionó San Luis Potosí con 380,175 toneladas producidas (SIAP, 2021).

Basados en los argumentos anteriores, el presente trabajo expone la investigación de distintas interacciones de las plantas, *Arabidopsis thaliana* y *Solanum lycopersicum*, con especies del género *Bacillus* sp y sus metabolitos filtrados con el fin de conocer cuál de estas interacciones brinda una respuesta positiva a la fisiología de la plántula e identificar las biomoléculas que participan en el proceso.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento en plántulas de *Arabidopsis thaliana* y *Solanum Lycopersicum* se estableció en el Laboratorio de Biotecnología en la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí (UASLP). El análisis cualitativo de metabolitos por GC-MS se llevó a cabo en el CIAAS que pertenece a las instalaciones de la Coordinación para la Innovación y Aplicación de la Ciencia y la Tecnología (CIACyT) de la UASLP.

Material Experimental

Para los experimentos se utilizaron de jitomate saladette (*Solanum Lycopersicum*) de crecimiento indeterminado híbrido DRTH 1002 de la compañía De Ruitter y de *Arabidopsis thaliana* ecotipo Columbia (COL-0) que fue reproducida y cosechada en el Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la UASLP.

Ensayo 1: Aislamiento y Caracterización de Microorganismos Benéficos

1.1. Aislamiento de microorganismos.

Se recolectaron muestras de suelo con cultivos de caña de azúcar y maíz establecidos en diferentes sitios ubicados en Cd. Mante, Tamaulipas y Encarnación de Díaz, Jalisco respectivamente. En cada lugar se colectó una muestra compuesta de 200 g de suelo para el análisis microbiológico. El aislamiento de las bacterias se realizó partiendo de la técnica de diluciones en serie, las cuales fueron cultivadas en agar LB Broth-Lennox al 5% de NaCl (Sigma-Aldrich®), medio utilizado de forma rutinaria para el crecimiento bacteriano conformado de 10 g/L de peptona tripsica de caseína, 5 g/L de extracto de levadura y 5 g/L de NaCl (Luria-Bertani; Bertani, 1951). Los cultivos fueron incubados a 38 ± 1 °C, durante 5 días se fue realizando el aislamiento diario de las colonias que presentaron aspectos morfológicos distintos entre sí. Una vez purificadas las colonias bacterianas primeramente se caracterizaron como Gram positivas o negativas; seguido de

esto se les realizó la prueba de actividad hemolítica en agar sangre con un periodo de incubación de 48 horas a 28 ± 1 °C, para descartar aquellas que resultasen patógenas, se utilizaron como criterios de clasificación la decoloración del medio para los cuales: una coloración verdosa alrededor de la zona de crecimiento indica que la bacteria es α hemolítica (hemólisis parcial), si el halo que rodea la colonia es totalmente transparente indica que es β hemolítica (hemólisis completa) y si no se percibe ningún halo circundante a la colonia significa que se tiene un microorganismo γ hemolítico (sin actividad hemolítica). Después de determinar el grado hemólisis, se seleccionaron aquellas que fueron γ hemolíticas y se realizaron ensayos *in vitro* en plántulas de jitomate con el fin de identificar las cepas que presentaran efectos en la promoción del desarrollo y crecimiento vegetal, con base en los resultados se seleccionaron 4 cepas bacterianas de interés para continuar con este trabajo, posteriormente 3 de ellas fueron identificadas molecularmente.

1.2. Extracción de ADN.

Se realizó una extracción de ADN a partir de cultivos en placas de LB al 5% con 48 h de crecimiento, el procedimiento fue realizado de la siguiente forma: 1) se tomó una sección de colonia que fue suspendida en 1000 μ L de agua destilada estéril; 2) se centrifugó a 13200 RPM durante 6 min a 4°C; 3) el sobrenadante se eliminó y el precipitado fue resuspendido en 750 μ L de CTAB al 2X; 4) se incubó a 65°C por 30 min con una agitación de 600 RPM; 5) posteriormente se añadieron 100 μ L de cloruro de sodio (NaCl) 5M y 100 μ L de metabisulfito de sodio (SDS) al 1% y nuevamente se incubó ahora a 40°C por 30 min; 6) se agregaron 750 μ L de una mezcla 1:1 de cloroformo y alcohol isoamílico; 7) se centrifugó a 13200 RPM por 10 min; 8) el sobrenadante se pasó a un microtubo limpio donde se le adicionaron 750 μ L de una mezcla de fenol/cloroformo/alcohol isoamílico y enseguida se centrifugó por 5 min a 13200 RPM; 9) nuevamente el sobrenadante se transfirió a un microtubo limpio y se agregaron 600 μ L de isopropanol (precipitación de ADN); 10) el tubo se guardó a -20°C por 12 h; 11) se centrifugó a 13200 RPM por 10 min y se retiró el sobrenadante; 12) el sobrenadante se lavó con 600 μ L de etanol al 75% y se volvió a centrifugar por 10 min a 1300 RPM; 13)

por último se decantó y el precipitado se hidrató con 35 µL de agua destilada estéril. Este precipitado se guardó en un vial a -20°C para su uso posterior en la amplificación de ADN.

1.3. Amplificación y secuenciación de ADN.

Para la amplificación por PCR del 16S rRNA se preparó un mix de 25 µL compuesto de la siguiente manera: 2.5 µL de buffer, 1.5 µL de MgCl₂, 0.5 µL de dNTP's, de primer QUGP-F1, primer QUGP-R1b y muestra de DNA (precipitado obtenido en el Apartado 1.2), 0.25 µL de Taq polimerasa y 18.75 µL de H₂O, esto se sometió bajo las siguientes condiciones de reacción: 94°C por 5 min para desnaturalizar la muestra y activar la polimerasa, seguido de 35 ciclos de 30 s a 94°C para la desnaturalización, 35 s a 53.8°C para la reacción y 90 s a 72°C para la extensión, después del ciclo final, las muestras se mantuvieron a 72°C por 10 min. Los productos de PCR se demostraron con la técnica de electroforesis en gel de bromuro de etidio. La secuenciación se realizó en las instalaciones del LANBAMA del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica-IPICYT y a partir de los resultados obtenidos se hizo una búsqueda en la librería del National Center for Biotechnology Information-NCBI. Las especies identificadas resultaron ser pertenecientes al género *Bacillus* sp, identificadas como *Bacillus simplex* con un porcentaje de similitud del 99.39%, *Bacillus firmus* con 99.39%, *Bacillus amyloliquefaciens* con 99.6%, y la última cepa utilizada aún no se encuentra identificada, su clave es B31.

Ensayo 2: Evaluación *in vitro* del Efecto de las Cepas Bacterianas Aisladas y sus Metabolitos Filtrados en *Arabidopsis thaliana* (Col-0)

2.1 Propagación de cepas.

Como medio de cultivo para la reproducción de células bacterianas en líquido se utilizó el caldo LB al 5% de NaCl, y con 12 g/L de agar bacteriológico (BD Bioxon®) para una producción de biomasa en placa. Los caldos una vez inoculados se incubaron por 48 h a 35°C con agitación de 130 RPM y los medios sólidos se incubaron a 38±1 °C por 48 h.

2.2. Filtrado de las cepas y preparación de inóculos bacterianos.

Para la separación de las células del caldo se utilizó un filtro de jeringa Millex® con poro de 0.22 μm , los biofiltrados se conservaron a 4°C hasta su uso. Los inóculos bacterianos se obtuvieron a partir de un lavado de placa con agua destilada estéril (1 ml), se hizo un barrido de placa con un asa de nicromel para remover de la superficie la biomasa, posteriormente se recolectó y traspasó a un tubo estéril. Se tomó una muestra del lavado para una dilución de 1:10 y se hizo su respectiva cuantificación para cada microorganismo con una cámara de Neubauer (Mrienfeld®) de 0.0025 mm^2 con profundidad de 0.1 mm^2 realizando las diluciones necesarias con agua estéril hasta llegar a una concentración de 1×10^6 UFC/mL, también se conservaron a 4°C (el volumen de preparación y de recolección variará según los volúmenes de inóculo que se vayan a manejar, así como el cultivo a establecer).

2.3. Protocolo de desinfección de semillas.

En un tubo cónico se colocaron las semillas de Col-0 y se realizaron varios lavados: 1) se agregaron 300 μl de etanol al 70% y se agitó por 60 segundos para posteriormente decantar; 2) se adicionaron 500 μl de NaClO al 20% agitando por 1 minutos y con un reposo de 2 minutos, luego se retiró el sobrenadante; 3) se repitió el paso 2 pero ahora agregando H_2O destilada estéril; 4) se añadieron 500 μL H_2O destilada estéril, se dejaron en reposo por 2 minutos y se decantaron; 5) se repitió el paso 4 dos veces más; al finalizar esto se adicionó H_2O destilada estéril nuevamente (300 μL); 6) se mantuvieron en obscuridad y a 4°C para sincronizar la germinación; 7) después de 48 horas se sembraron.

❖ Para el cultivo de plantas *in vitro* se utilizó el medio básico Murashigue & Skoog (MS*) compuesto por 0.5x de sales, suplementado con sacarosa al 50% y agar bacteriológico al 75%, con un pH ajustado de 5.7, el cual es el más utilizado debido a su composición con macro y micronutrientes, vitaminas y otros compuestos que benefician el desarrollo vegetativo de la planta.

❖ Las placas de cultivo se colocaron de forma vertical para favorecer el crecimiento de la planta, con luz constante y una densidad de flujo de fotones de $70 \mu\text{M m}^2\text{s}^{-1}$, la temperatura fue de $25 \pm 1^\circ\text{C}$.

2.4. Inoculación *in vitro* en plantas de *Arabidopsis thaliana*.

Se sembraron a 2 cm del borde superior de una placa 9 semillas de Col-0 (3 repeticiones), 7 días después de la siembra (dds) se llevaron a cabo las inoculaciones directas (contacto) e indirectas (difusibles y volátiles). Para las interacciones directas que son por contacto se utilizó 1 μL de caldo que estaba conformado por la cepa bacteriana en una concentración de 1×10^6 UFC/mL (AtB31, AtBa, AtBs y AtBf) o bien de filtrado (AtB31F, AtBaF, AtBsF y AtBfF) directamente sobre la planta, y para la interacción indirecta por compuestos difusibles de bacterias (At-B31, At-Ba, At-Bs y At-Bf) y filtrado (At-B31F, At-BaF, At-BsF y At-BfF) las inoculaciones se hicieron con 9 μL a 1 cm del borde inferior de la caja dispersándose de forma horizontal en el medio con la ayuda de un asa. Para las interacciones por volátiles (At/B31, At/Ba, At/Bs At/Bf, At/B31F, At/BaF, At/BsF y At/BfF) se utilizaron placas divididas, en la cuales, se sembraron 5 semillas y en la otra sección de la caja se dispersaron los inóculos con un asa de forma vertical. Los tratamientos control fueron: plantas sin inocular (At y At/) y otras inoculadas con el caldo LB al 5% filtrado (AtLB, At-LB y At/LB) para evaluar algún efecto que este medio nutritivo pudiera aportar a las plántulas. Las plantas se mantuvieron en monitoreo diario durante 15 días evaluando el comportamiento del área radicular y foliar, así como también se midió la longitud de la raíz principal, el área foliar a los 14 y 21 dds, peso fresco a los 21 dds

2.5. Transcurridos 21 dds se llevó a cabo un trasplante a maceta con una reinoculación.

La maceta de plástico contenía peat moss turba como sustrato. Las plantas se sometieron a una aclimatación, la cual consistió en cubrir la maceta con una bolsa de polipapel, 3 días después se retiró y se comenzó a regar. Posterior a la aclimatación se realizó una segunda reinoculación. Las plantas se mantuvieron en la cámara de

crecimiento bajo condiciones controladas con un fotoperiodo de 16/12 h luz y una temperatura de $24 \pm 1^\circ\text{C}$ hasta la obtención de semilla. Cada tratamiento tuvo 10 repeticiones. Las variables medidas en las plantas fueron: diámetro de roseta (cm), altura de planta (cm), no. de nudos por planta, no. de silicios por planta, no. de semillas por silicio, peso seco de semillas por planta (mg).

ENSAYO 3: Evaluación del Efecto de las Cepas Bacterianas y sus Metabolitos Filtrados en Plántulas de *Solanum lycopersicum*

3.1. Preparación de inóculos y semilleros.

Para la producción de inóculos tanto de cepas bacterianas como de biofiltrados se llevó a cabo toda la metodología antes mencionada en los Apartados 2.1 y 2.2. Las charolas de germinación fueron de unicel con 200 cavidades, el peat moss turba se esterilizó dos veces (24 h entre cada una), se utilizó agua corriente para preparar el sustrato. Calidad de agua de riego: pH= 8.2 y CE= 3.2 dS/m.

3.2. Protocolo de desinfección de semillas.

En un tubo cónico se colocaron las semillas de jitomate y se realizaron varios lavados: 1) se agregaron 2 mL de etanol al 70% agitando por 90 segundos, posteriormente se decantaron; 2) se adicionaron 3 mL de NaClO al 20% y se agitaron por 3 minutos, enseguida se desecharon; 3) se añadieron 5 mL de H_2O destilada estéril, se agitó por 2 minutos retirando el sobrenadante (repitiendo este paso de 8 a 10 veces o hasta que se observe la semilla o el agua sin color); 4) al finalizar la secuencia de pasos anterior se adicionaron 3 mL de H_2O destilada estéril nuevamente; 5) se mantuvieron en oscuridad y a 4°C para sincronizar la germinación; 6) después de 48 horas se sembraron.

3.3. Inoculación en plantas de jitomate en invernadero.

Se realizaron dos inoculaciones con las bacterias y sus metabolitos filtrados, la primera dosis a la siembra (100 μL) y la segunda a los 15 dds con 100 μL .

3.4. Manejo y toma de variables en plántulas de jitomate en invernadero.

Las plántulas se produjeron con riegos ligeros diarios, bajo condiciones de invernadero. La toma de datos morfológicos se realizó cada 15 días hasta llegar al final del experimento (45 dds).

VARIABLES MEDIDAS EN EL CULTIVO DE JITOMATE (PARA LA TOMA DE DATOS SE PROCEDIÓ A REALIZAR UN LAVADO MINUCIOSO DE LAS RAÍCES PARA ELIMINAR EL SUSTRATO; MONGE-CERDAS, 2007; GAMIÓN, *et al.*, 2012): SE CALCULÓ EL PORCENTAJE TOTAL DE EMERGENCIA (ET) CON LA FÓRMULA $\%ET = \frac{\text{No.de plántulas emergidas en el último conteo}}{\text{No.de semillas sembradas}} * 100$, altura de plántula (cm) y diámetro de tallo (mm), no. total de hojas (se consideró a partir de la salida de la primera hoja verdadera), largo y ancho de hoja (cm), peso fresco (g) donde se pesaron el tallo y hojas en conjunto y la raíz por separado, para la determinación de peso seco (g) las muestras frescas se introdujeron al horno a 75°C por 72 h.

Ensayo 4: Experimentos *in vitro* de las Cepas y Metabolitos Filtrados Seleccionados Para la Recuperación de Compuestos Orgánicos Volátiles (COV's) en *A. thaliana*

Una vez que se analizaron los resultados del ensayo 2, se seleccionaron dos tratamientos de bacterias (Bf y Bs) y uno de filtrado (BFf) por haber mostrado los mejores efectos en el desarrollo de las plántulas a través de compuestos volátiles.

4.1. Acondicionamiento de cajas Petri para la extracción de compuestos.

Se utilizaron cajas divididas donde se les hizo una perforación en el centro de la tapa y se les colocó en la parte superior un tapón, el cual posteriormente nos facilitaría la extracción de los COV's. Después de manipular las tapas, estas se sumergieron en una solución clorada por 30 minutos, enseguida se limpiaron con etanol al 70% y se secaron con papel estéril dentro una campana de flujo laminar, por último, se dejaron bajo luz UV 10 y 20 minutos para la parte superior y luego inferior respectivamente.

4.2. Inoculación en plántulas de *A. thaliana*.

Pasados dos días de incubación de las cajas modificadas se realizó la desinfección de semillas Col-0 (ver 2.3) y se sembraron 5 por placa (3 repeticiones por tratamiento). 7 dds así como se indica en el apartado 2.4 para volátiles se llevaron a cabo las inoculaciones (ver 2.2) de las dos bacterias y el biofiltrado, teniendo como tratamientos control: 1) medio con plantas; 2) medio con cada inóculo y 3) blanco del medio MS*.

4.3. Microextracción en fase sólida (SPME) de los compuestos volátiles.

A partir del día 10 dds se seleccionó una caja de las tres que había y se realizaron tres extracciones cada 3 días. Se insertó una fibra de microextracción en fase sólida (SPME) conformada por divinilbenzeno/carboxeno/polidimetilsiloxano (Supelco) a través de la septa y estuvo en contacto con el sistema *in vitro* durante 2 h por headspace. Transcurridas las horas la fibra se extrajo y se colocó en el puerto de inyección del GC-MS. Se tomaron como blancos de muestra las inyecciones de la fibra sola antes de cada muestreo, en seguida se realizaba un muestreo de una caja Petri que tenía únicamente el medio de cultivo MS, posteriormente se realizaron las extracciones de compuestos para el control de plantas las cuales no estaban inoculadas y de los tratamientos seleccionados, así como un control para cada bacteria y filtrado sin planta, esto con el fin de ver si se producían compuestos diferentes durante la interacción con las plantas. Las cajas se mantuvieron a 28°C con un fotoperiodo de 12/12 h luz con una densidad de flujo de fotones de $320 \mu\text{m}^2\text{s}^{-1}$, las extracciones se hicieron con las cajas bajo sus condiciones de crecimiento. Después de hacer la compilación de datos se realizó una comparación y eliminación de compuestos analizados presentes en el blanco de la fibra y el control del medio solo. A continuación, se muestra un esquema del sistema de extracción (Figura 1):

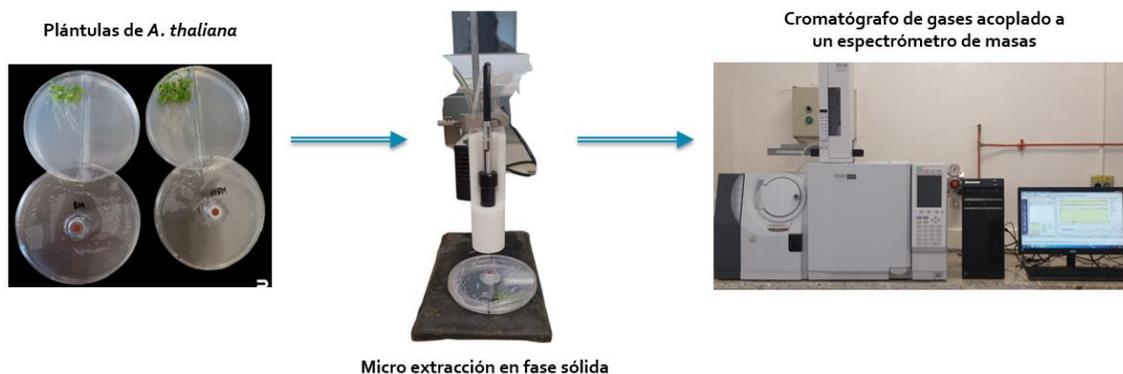


Figura 1. Diagrama del proceso de recuperación e inyección de los compuestos orgánicos volátiles a través de la técnica de microextracción en fase sólida-SPME.

4.4. Análisis e identificación de compuestos volátiles por GC-MS.

Los compuestos recuperados se analizaron por GC-MS, donde al hacer la inyección debido a sus propiedades químicas estos se separan dentro de la columna cromatográfica obteniéndose la elución sucesiva de los componentes, para posteriormente ser detectados en el espectrómetro de masas. Cada uno de los compuestos presentes se registran como picos cromatográficos en un cromatograma que se obtiene por muestra. Asimismo, para cada compuesto se obtiene un espectro de masas, el cual se basa en la obtención de iones y fragmentación de moléculas en el MS generado por ionización con impacto de electrones (EI). Una vez obtenidos estos iones, se registran de acuerdo con su masa y su carga (m/z), y se identifican mediante su respectivo espectro de masas, el espectrómetro de masas, además de proporcionar los espectros, actúa como detector cromatográfico al registrar la corriente iónica total generada, cuya representación gráfica constituye el cromatograma. La corriente iónica generada por todos los iones da lugar a un pico gaussiano de área proporcional a la concentración del compuesto detectado (Gutiérrez y Droquet, 2002). El análisis de los COV's se realizó utilizando un cromatógrafo de gases (Hewlett Packard HP 6890) acoplado a un detector de espectrometría de masas con impacto electrónico HP 5937 (Agilent Technologies) empleando una columna HP-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m). Las muestras se inyectaron en modo splitless con una duración de 10 min de desorción, la temperatura inicial fue de 60 °C durante 2 min, posteriormente aumentó a 250 °C con una velocidad

de 5 °C/min y se mantuvo así durante 10 min. Se utilizó helio como gas portador con un flujo constante de 1 mL/min.

Los compuestos volátiles se identificaron a través de la comparación de los datos espectrales de masas en la librería del NIST (data base v1195), considerando que hubiera un factor de similitud mayor o igual al 60% con referencia a los datos teóricos.

Diseño Experimental y Estadístico

Para los experimentos de evaluación *in vitro* de *A. thaliana* y evaluación de jitomate en invernadero se utilizaron diseños completamente al azar, teniendo una unidad experimental (UE) conformada por 9 individuos con 3 repeticiones para la evaluación de efectos por contacto y componentes difusibles. Para la evaluación de volátiles la UE fue establecida con 5 individuos y 5 repeticiones; posteriormente al trasplante de *A. thaliana* se establecieron los 29 tratamientos previos *in vitro* teniendo 10 plantas como UE; del experimento en el invernadero se establecieron 9 tratamientos y la UE tuvo 40 repeticiones. El análisis estadístico se realizó mediante un análisis de varianza con un nivel de significancia de $p=0.05$ y comparación de medias con la prueba de Tukey.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluación del Efecto de Bacterias y sus Metabolitos Filtrados en Plántulas de *Arabidopsis thaliana* Col-0

La participación de los microorganismos y los metabolitos secundarios-MS que producen generan aportes positivos en las interacciones planta-suelo-microorganismo, algunas veces un microorganismo por sí solo puede causar efectos benéficos o adversos a un sistema de cultivo, por lo que se genera interés en conocer más específicamente si el mismo microorganismo o sus compuestos producidos son quienes tienen la capacidad de actuar dentro del sistema de la planta activando o inhibiendo ciertas funciones bioquímicas. Se ha reportado que las señales que los macroorganismos generan para activar los procesos en las plantas son a través de algunos COV's, por ejemplo *B. subtilis* y *B. amyloliquefaciens* producen compuestos como la acetoina y el 2,3-butanodiol los cuales participan en las interacciones planta-bacteria provocando un incremento en el sistema radicular (Ryu *et al.*, 2005; Schwartz *et al.*, 2013).

Existe poca información al respecto de los COV's y cómo es su respuesta en la planta, por ello es de interés científico y agrícola, conocer mejor algunos artículos reportan que, si bien una bacteria tiene un efecto benéfico, a veces solo extraen los MS filtrados y no profundizan en las fases en las que se pueden encontrar dichas biomoléculas. Gutiérrez-Luna y colaboradores (2010) identificaron bacterias con actividad PGP y el beneficio en el desarrollo de plantas de *A. thaliana in vitro* el cual fue a través de las emisiones de COV's los cuales modularon la arquitectura del sistema radicular.

A su vez, tanto la participación directa (en contacto con la planta) o indirecta (producción de metabolitos solubilizados en el sustrato que llegan por difusión al sistema radicular de la planta o bien por la dispersión de algunos COV's producidos) de la cepa hace que cambien sus respuestas fisiológicas. La evaluación de bacterias con actividad PGPR en plantas de *A. thaliana* Col-0 *in vitro* nos ha permitido analizar sus posibles respuestas de acción más favorecedoras para las plantas, tomando en cuenta los distintos modos de acción tanto de la bacteria como de sus metabolitos filtrados.

Lograr identificar si el efecto PGPR se produce por la presencia del microorganismo o si es por la interacción de sus metabolitos se encuentra provechoso ya que al conocer mejor el sistema de respuesta del microorganismo se puede estimar que si es necesaria su aplicación directa en campo o bien si solo nos sirviese como precursor para producir algún compuesto químico que sea de interés agrobiotecnológico. Con base en las distintas interacciones posibles (3) y los tratamientos establecidos, se evaluó el comportamiento de las cuatro bacterias (B31, *B. amyloliquefaciens* - Ba, *B. simplex* - Bs y *B. firmus* - Bf), y sus filtrados-F (B31F, BaF, BsF y BfF), usando el caldo LB como testigo aparte de un tratamiento sin inocular. El estudio de los datos se dividió en dos partes, las cuales consisten primero en el análisis estadístico de la interacción de plantas por contacto (At) y compuestos difusibles (At-) para cada bacteria y su filtrado, así como para el caldo LB. La otra parte de evaluación es por efecto de compuestos volátiles (At/).

Las inoculaciones directas e indirectas con la bacteria B31 y su filtrado B31F nos arrojaron lo siguiente: en la Figura 2 se muestran los resultados de las longitudes de raíz y áreas foliares a los 14 y 21 días para las dos condiciones de interacción directas e indirectas. El tratamiento de contacto AtB31F presentó la mayor longitud (3.69 cm) y para volátiles fue At/B31 (3.59 cm) a los 21 dds (Figura 2A, C), así mismo, (Figura 2B) en el desarrollo foliar no se mostraron diferencias estadísticas entre las diferentes interacciones de bacteria y filtrado, pero si con los controles sin inocular y LB (Figura 2B), en (Figura 2D) At/B31 tuvo el promedio más alto de 3.76 cm² respecto a los demás tratamientos.

Los resultados en peso fresco de la plántula (Figura 3) a los 21 dds en las distintas condiciones de inoculación entre los tratamientos mostraron diferencias respecto a los controles, para (A) AtB31F y At-B31 tuvieron los mayores pesos (≈ 38 mg) y en las interacciones volátiles (B) At/B31F tuvo 41.525 mg. En un análisis de comparación entre las interacciones de esta bacteria y su filtrado, algunas variables morfofisiológicas se ven más favorecidas con la presencia de la bacteria, pero de forma indirecta, así mismo resalta que la inoculación de plantas solo con su filtrado también mejora e incrementa el desarrollo radicular. Cabe resaltar que desde el día 14 los tratamientos AtB31F y At/B31

ya presentaban una diferencia en su desarrollo vegetativo como se observa en la Figura 4 y 5.

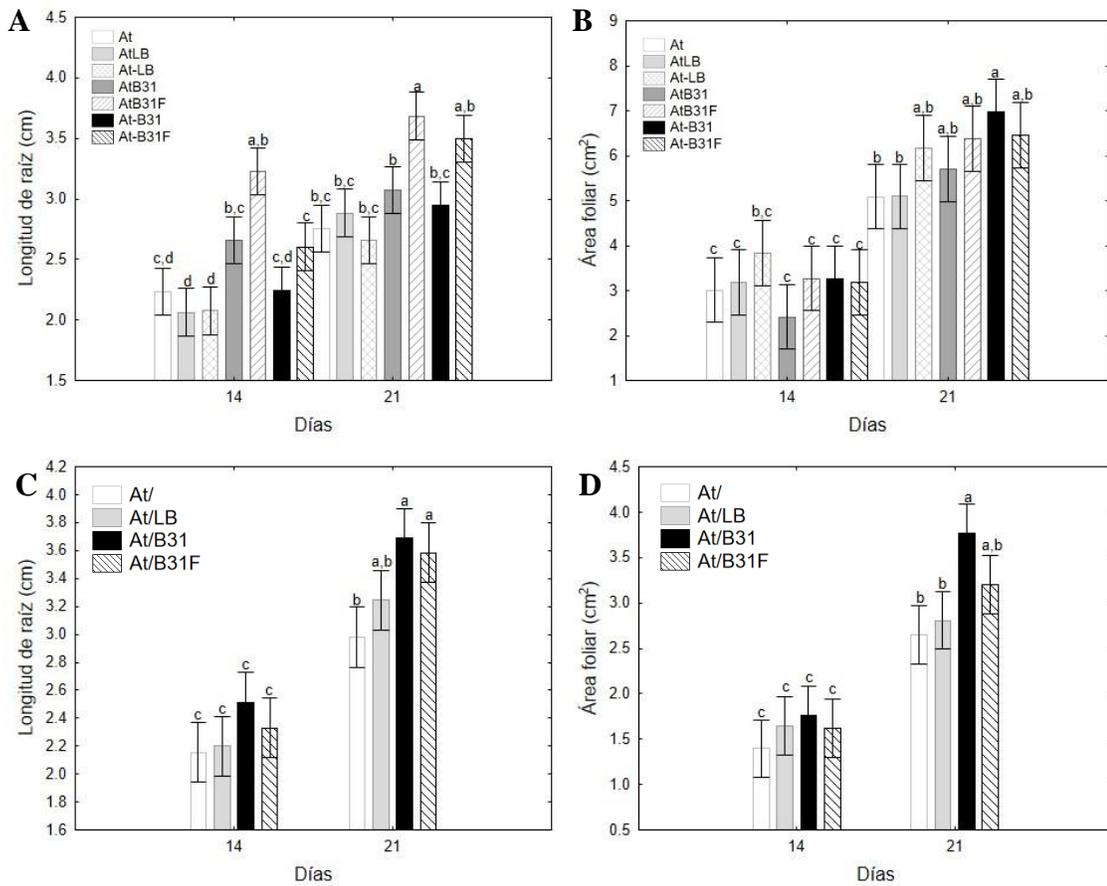


Figura 2. Análisis de longitud de raíz y áreas foliares en plántulas de *A. thaliana* a los 14 y 21 días. (**A, B**) control por contacto y distancia (*At*, *AtLB* y *At-LB*), contacto de bacteria *AtB31* y filtrado *AtB31F*, bacteria y filtrado a distancia *At-B31* y *At-B31F* y (**C, D**) control de volátiles (*At/* y *At/LB*) e interacciones de bacteria *At/B31* y filtrado *At/B31F*. Las barras representan la media \pm DE, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas de la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

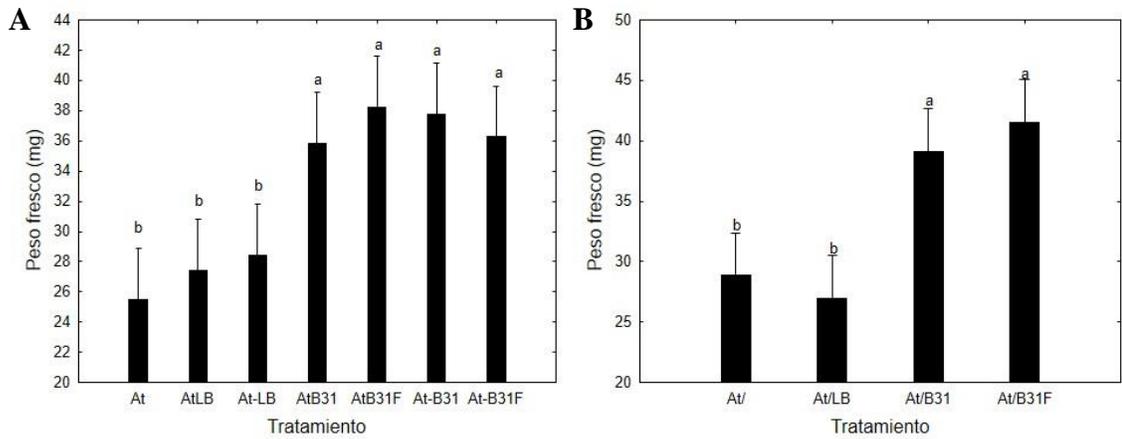


Figura 3. Evaluación del peso fresco de plántulas de *A. thaliana* a los 21 días. (A) interacciones por contacto y difusión en el medio, (B) interacciones por compuestos volátiles. Las barras representan la media \pm DE, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas de la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

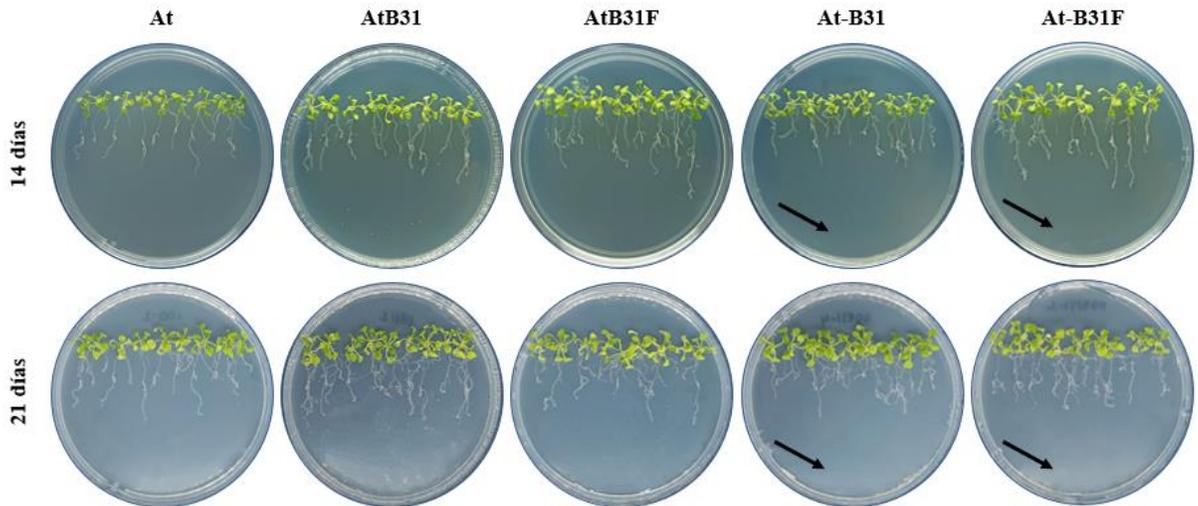


Figura 4. Evaluación del efecto en el desarrollo de plántulas de *A. thaliana* Col-0 inoculadas en contacto y por difusión en el medio a los 14 y 21 días. **At**, plántulas sin inocular; **AtB31**, plántulas inoculadas por contacto con la cepa; **AtB31F**, plántulas inoculadas por contacto con el filtrado de la cepa B31; **At-B31**, inoculación en el medio con la cepa B31; **At-B31F**, inoculación en el medio con el filtrado de la cepa B31. Las flechas indican el sitio de inoculación.

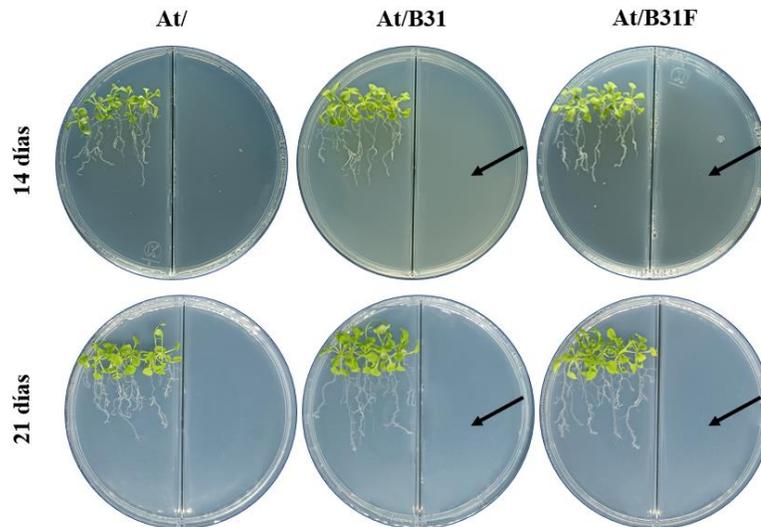


Figura 5. Evaluación del efecto de los compuestos volátiles en el desarrollo morfológico de plántulas de *A. thaliana* Col-0 inoculadas a los 14 y 21 días. **At/**, plántulas sin inocular; **At/B31**, plántulas inoculadas con la cepa B31; **At/B31F**, plántulas inoculadas con el filtrado de la cepa B31. Las flechas indican el sitio de inoculación.

La evaluación en plántula nos permite saber si las diferentes condiciones de los tratamientos posteriormente influirán en el desarrollo y rendimiento de plantas, por ellos se realizó una evaluación posterior donde estas plántulas se llevaron a maceta y estuvieron bajo las mismas condiciones, encontrándose de esta forma, todos los inóculos se aplicaron directamente sobre la raíz y el sustrato. Después de la cosecha obtuvimos los siguientes resultados: en el Cuadro 1 se distingue que el tratamiento con mayor no. de nudos, producción de semillas por silicua y peso total de semillas fue AtB31F, dejando ver que a pesar de que los otros tratamientos At-B31F y At/B31F también fueron inoculados de la misma forma, la interacción previa *in vitro* favoreció que al final las plantas desarrollaran mejores condiciones y producción, debido a que el filtrado favorece directamente el crecimiento radicular.

Cuadro 1. Comparación de las medias del No. de nudos, No. de silicuas y peso total de semillas por planta, y la cantidad de semillas por silicua medidas en la cosecha para las diferentes interacciones de B31 y su filtrado respecto a los controles.

Tratamiento	No. nudos	No. silicuas	Semillas por silicua	Peso total semillas (mg)
At	14 ^a	278 ^b	50.7 ^b	195.3 ^{bc}
AtLB	17 ^a	257 ^b	48.4 ^b	180.9 ^c
At-LB	18 ^a	304 ^b	52.5 ^{ab}	253.4 ^{bc}
At/	12 ^a	346 ^{ab}	46.3 ^b	231.8 ^{bc}
At/LB	16 ^a	281 ^b	46.1 ^b	199.7 ^{bc}
AtB31	22 ^a	475^a	55.9 ^{ab}	298.6 ^b
AtB31F	23^a	420 ^{ab}	57.1^a	429.6^a
At-B31	18 ^a	405 ^{ab}	57.0^a	252.4 ^{bc}
At-B31F	19 ^a	281 ^b	53.0 ^{ab}	276.1 ^{bc}
At/B31	19 ^a	406 ^{ab}	54.0 ^{ab}	369.7 ^{ab}
At/B31F	22 ^a	247 ^b	50.0 ^b	156.3 ^c

Ahora bien, presentamos los resultados para la bacteria *B. amyloliquefaciens* y su filtrado a los 14 y 21 dds. Como se muestra en la Figura 6A, B la interacción AtBa tuvo los menores valores tanto de longitud de raíz como área foliar, por otro lado, el filtrado en la interacción de contacto AtBaF demostró diferencias significativas respecto a AtBa, esto debido a que la bacteria presentó efectos negativos en las plantas a la concentración estándar que se seleccionó para todos los tratamientos, así mismo, At-Ba y At/Ba, ambos tratamientos indirectos con inóculo de bacteria demostraron un incremento en las longitudes radiales de 3.7 cm y 4.03 cm², respectivamente (Figura 6A y C) y el área foliar (7.1 cm y 4.1 cm²) como se observa en la Figura 6B y D. Es bien sabido que las plantas secretan metabolitos en sus raíces, en su mayoría compuestos fenólicos, los cuales atraen por medio de señalizaciones a las bacterias y esto hace que produzcan diferentes compuestos, dicha presencia de metabolitos pueden variar de acuerdo con la temperatura, luz y otras condiciones a las que puedan estar expuestas las plantas (Bukhat *et al.*, 2020).

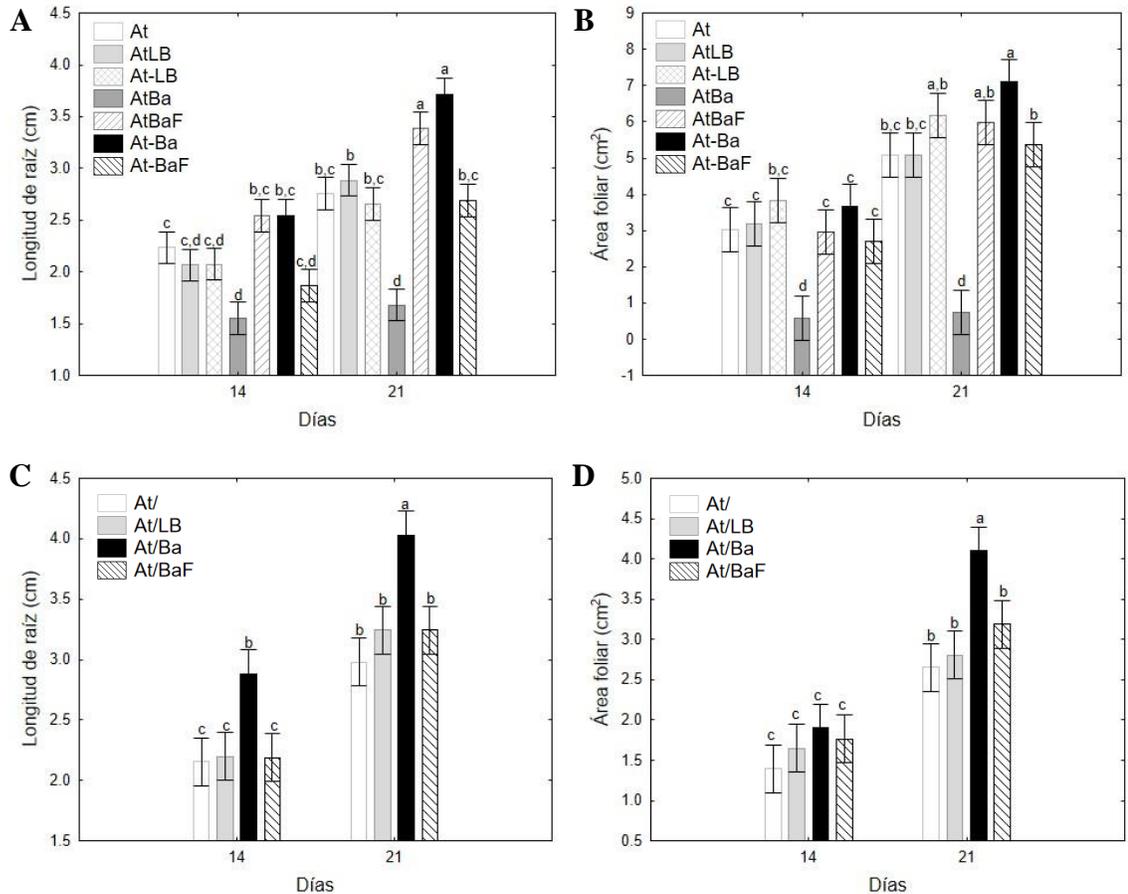


Figura 6. Análisis de longitud de raíz y áreas foliares en plántulas de *A. thaliana* a los 14 y 21 días. (A, B) control por contacto y distancia (At, AtLB y At-LB), contacto de bacteria AtBa y filtrado AtBaF, bacteria y filtrado a distancia At-Ba y At-BaF y (C, D) control de volátiles (At/ y At/LB) e interacciones de bacteria At/Ba y filtrado At/BaF. Las barras representan la media \pm DE, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas de la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

El peso fresco de las plántulas (Figura 7 A, B) fue considerablemente mayor para el tratamiento At-Ba con 53.96 mg. En las Figuras 8 y 9 se puede ver como fue el desarrollo fisiológico de la planta con la bacteria Ba al contacto, por distancia y volátiles, y como estos resultados son consistentes respecto a las variables analizadas *in vitro*. Una vez reinoculadas en maceta, el comportamiento de las distintas condiciones *in vitro*, así como para la evaluación de B31 es de relevancia, como observamos en el Cuadro 2, AtBa tuvo el menor desarrollo de planta (no. de nudos y no. de silicuas), así mismo presentó el más bajo rendimiento y producción de semillas por silicio. El bajo rendimiento reportado

también se debe a que al trasplante la mayoría de las plantas murieron, debido a que sus condiciones fisiológicas eran deficientes en comparación a todas las demás (Figura 8) y a su vez fue reinoculada con bacteria, lo que no le permitió sobrevivir. A pesar de que AtBaF no presentó valores mayores en comparación a At-Ba en el experimento *in vitro* es claro que una vez que se encuentra directo en la rizosfera de la planta le favoreció más ya que este tratamiento fue el de mayor producción de silicios y semillas, y por ende en su rendimiento que tuvo un 20% más en comparación a At-Ba, esto pudiese ser que así como ocurrió en AtBa, al estar en contacto la bacteria pudo causar efectos adversos en las plantas, siendo así que quizás su desarrollo radicular le ayudó a tomar nutrientes y agua más pronto respecto a AtBa que su sistema radicular estaba muy poco desarrollado. Desde este punto, un nuevo experimento que se puede establecer es que durante el desarrollo de plántulas se haga por medio de difusión de la bacteria y posteriormente ya en sustrato se aplique únicamente el filtrado, posiblemente así el desarrollo de la planta se vea más favorecido ya que sabemos que el fenotipo de la planta genera mayor cantidad de raíces al estar en contacto indirecto con la bacteria y cuando llegue al suelo pueda absorber más nutrientes.

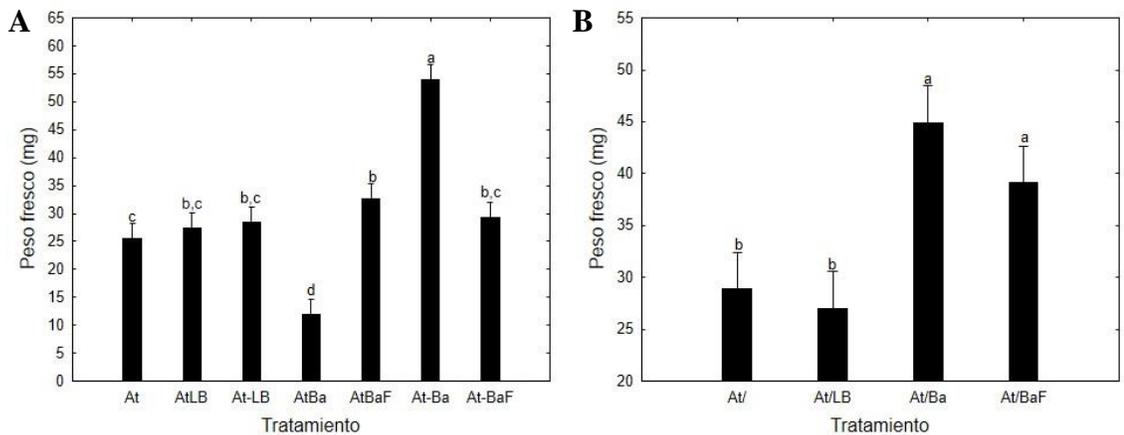


Figura 7. Evaluación del peso fresco de plántulas de *A. thaliana* a los 21 días. **(A)** interacciones por contacto y difusión en el medio, **(B)** interacciones por compuestos volátiles. Las barras representan la media \pm DE, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas de la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

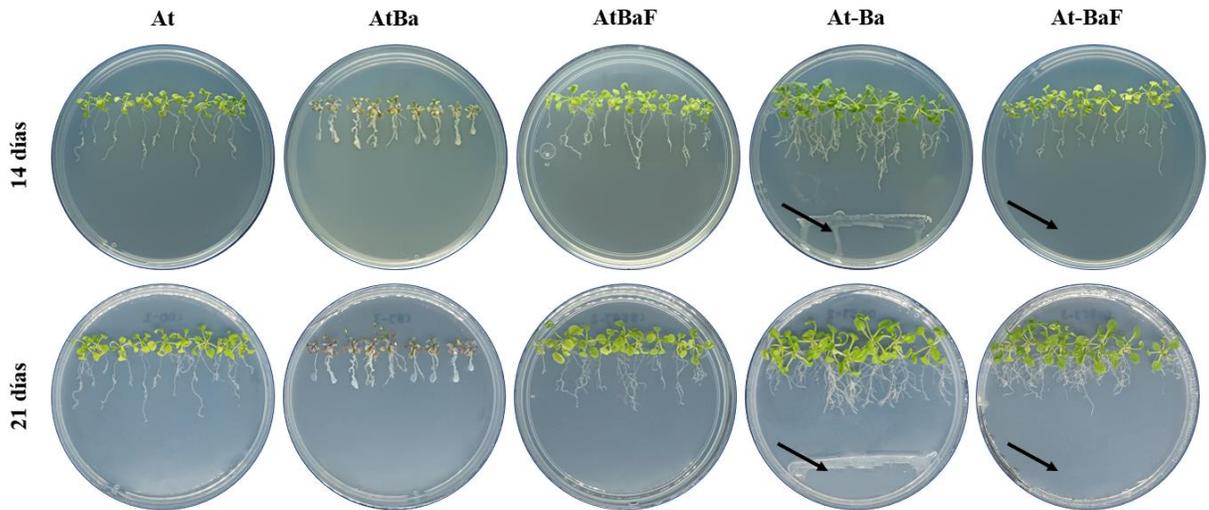


Figura 8. Evaluación del efecto en el desarrollo de plántulas de *A. thaliana* Col-0 inoculadas en contacto y por difusión en el medio a los 14 y 21 días. **At**, plántulas sin inocular; **AtBa**, plántulas inoculadas por contacto con la cepa *B. amyloliquefaciens*; **AtBaF**, plántulas inoculadas por contacto con el filtrado de la cepa *B. amyloliquefaciens*; **At-Ba**, inoculación en el medio con la cepa *B. amyloliquefaciens*; **At-BaF**, inoculación en el medio con el filtrado de la cepa *B. amyloliquefaciens*. Las flechas indican el sitio de inoculación.

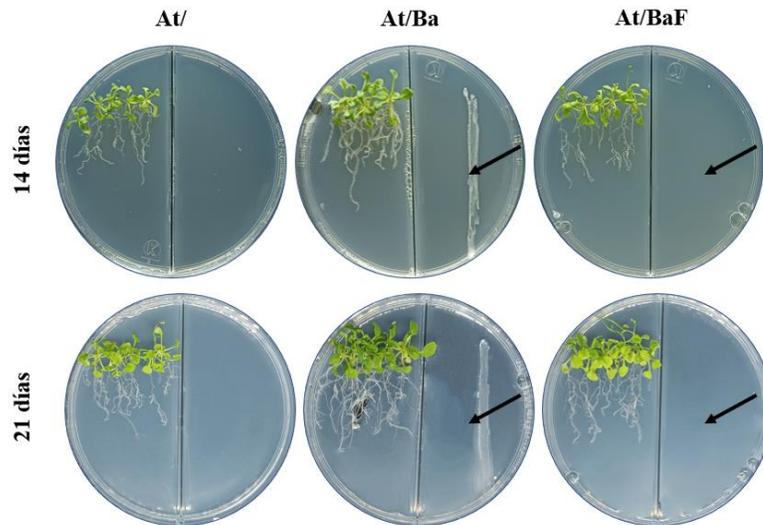


Figura 9. Evaluación del efecto de los compuestos volátiles en el desarrollo morfológico de plántulas de *A. thaliana* Col-0 inoculadas a los 14 y 21 días. **At/**, plántulas sin inocular; **At/Ba**, plántulas inoculadas con la cepa *B. amyloliquefaciens*; **At/BaF**, plántulas inoculadas con el filtrado de la cepa *B. amyloliquefaciens*. Las flechas indican el sitio de inoculación.

Cuadro 2. Comparación de las medias del No. de nudos, No. de silicuas y peso total de semillas por planta, y la cantidad de semillas por silicua medidas en la cosecha para las diferentes interacciones de Ba y su filtrado (BaF) respecto a los controles.

Tratamiento	No. nudos	No. silicuas	Semillas por silicua	Peso total semillas (mg)
At	14 ^a	278 ^b	50.7 ^{bc}	195.3 ^b
AtLB	17 ^a	257 ^b	48.4 ^{bc}	180.9 ^b
At-LB	18^a	304 ^{ab}	52.5 ^b	253.4 ^{ab}
At/	12 ^a	346 ^{ab}	46.3 ^c	231.8 ^b
At/LB	16 ^a	281 ^{ab}	46.1 ^c	199.7 ^b
AtBa	<u>10^a</u>	<u>63^c</u>	<u>42.8^c</u>	<u>38.4^c</u>
AtBaF	16 ^a	258 ^b	53.7 ^b	206.8 ^{ab}
At-Ba	16 ^a	283 ^{ab}	50.0 ^{bc}	301.3 ^{ab}
At-BaF	18^a	450^a	62.0^a	372.8^a
At/Ba	16 ^a	357 ^{ab}	49.0 ^{bc}	264.9 ^{ab}
At/BaF	10 ^a	166 ^{bc}	45.0 ^c	123.5 ^{bc}

La Figura 10A muestra las comparaciones de las longitudes de raíz donde estadísticamente se encontraron diferencias significativas para AtBs y AtBsF, siendo el tratamiento AtBsF el de mayor valor con 3.57 cm a los 21 días, al igual que en los tratamientos indirectos para volátiles (Figura 10C) At/Bs y At/BsF mostraron diferencias significativas (4.08 y 3.76 cm, respectivamente) respecto a los tratamientos de control. Para estos cuatro tratamientos (Figura 10B, D) el área foliar no presentó diferencias significativas. Cabe mencionar, que a los 14 días las plántulas en todas las distintas condiciones no presentaban ningún tipo de diferencia significativa, pero a los 21 días sus valores se dispararon notablemente. Para la variable de en peso fresco AtBsF, así como AtBs y At/Bs mostraron una mayor cantidad (Figura 11).

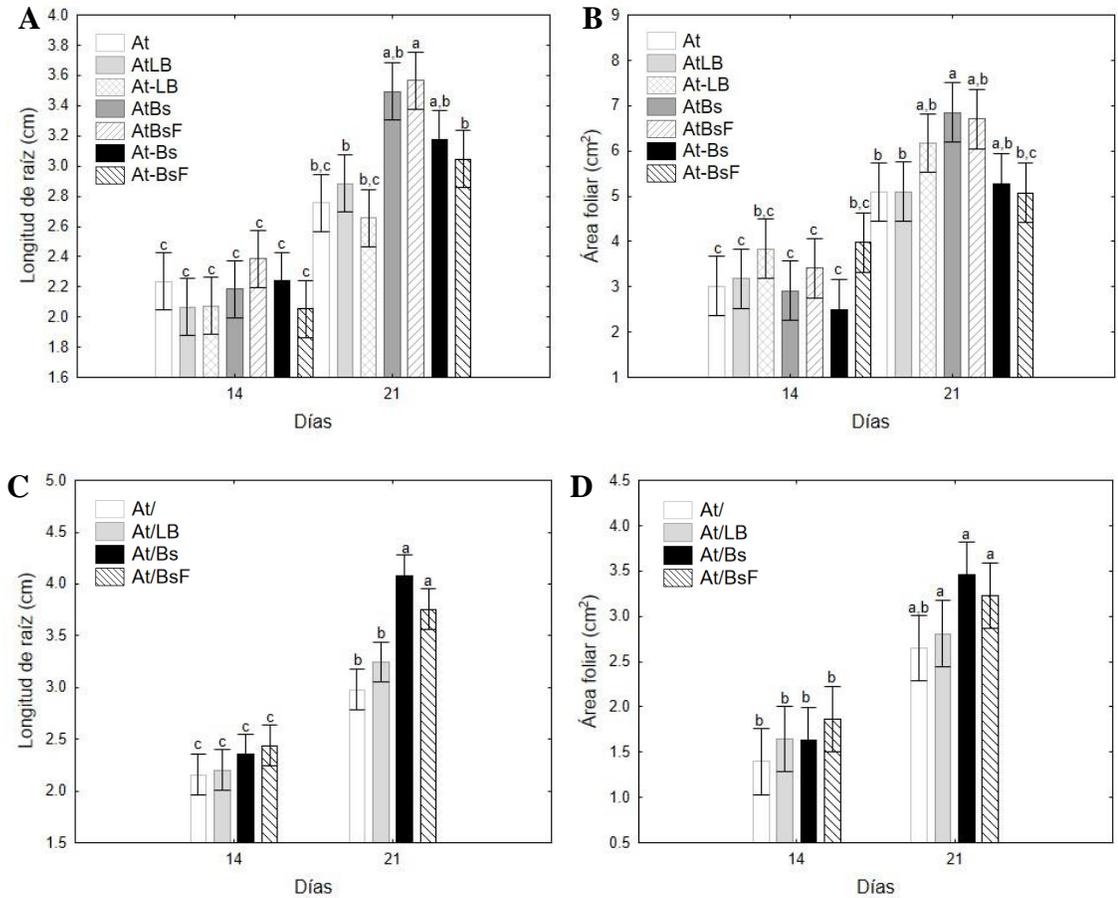


Figura 10. Análisis de longitud de raíz y áreas foliares en plántulas de *A. thaliana* a los 14 y 21 días. **(A, B)** control por contacto y distancia (At, AtLB y At-LB), contacto de bacteria AtBs y filtrado AtBsF, bacteria y filtrado a distancia At-Bs y At-BsF y **(C, D)** control de volátiles (At/ y At/LB) e interacciones de bacteria At/Bs y filtrado At/BsF. Las barras representan la media \pm DE, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas de la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

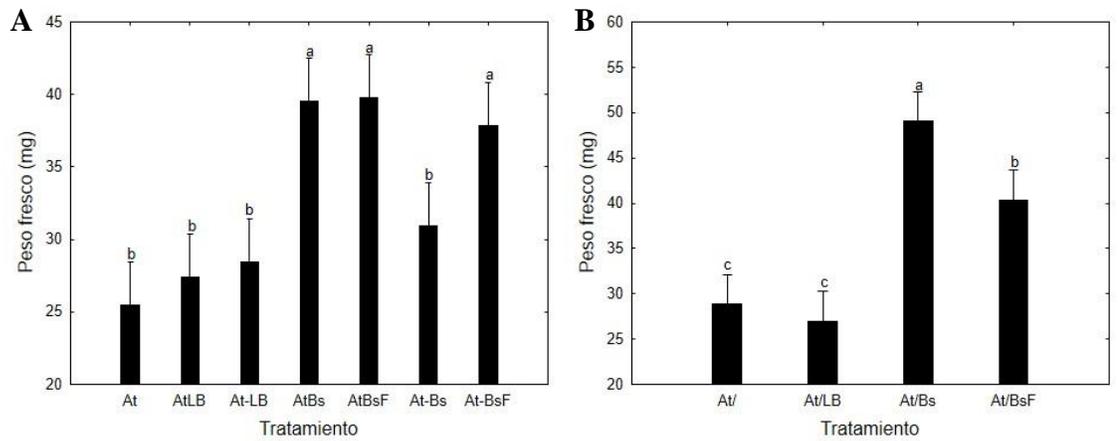


Figura 11. Evaluación del peso fresco de plántulas de *A. thaliana* a los 21 días. **(A)** interacciones por contacto y difusión en el medio, **(B)** interacciones por compuestos volátiles. Las barras representan la media \pm DE, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas de la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

En las Figuras 12 y 13 se pueden observar los distintos tratamientos y visualmente apreciar rosetas más grandes y raíces más desarrolladas en el tratamiento AtBs y At/Bs.

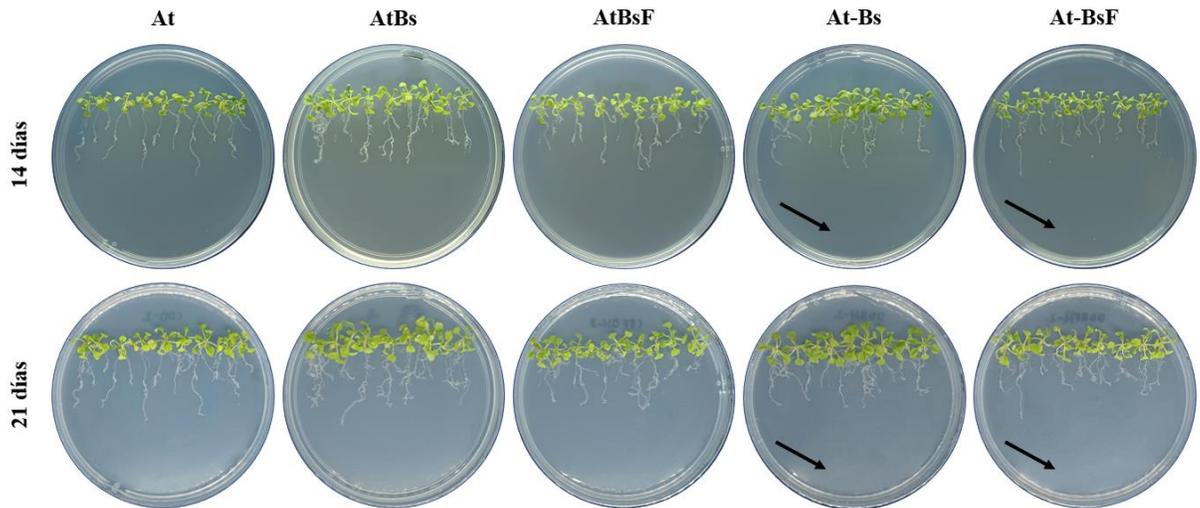


Figura 12. Evaluación del efecto en el desarrollo de plántulas de *A. thaliana* Col-0 inoculadas en contacto y por difusión en el medio a los 14 y 21 días. **At**, plántulas sin inocular; **AtBs**, plántulas inoculadas por contacto con la cepa *B. simplex*; **AtBsF**, plántulas inoculadas por contacto con el filtrado de la cepa *B. simplex*; **At-Bs**, inoculación en el medio con la cepa *B. simplex*; **At-BsF**, inoculación en el medio con el filtrado de la cepa *B. simplex*. Las flechas indican el sitio de inoculación.

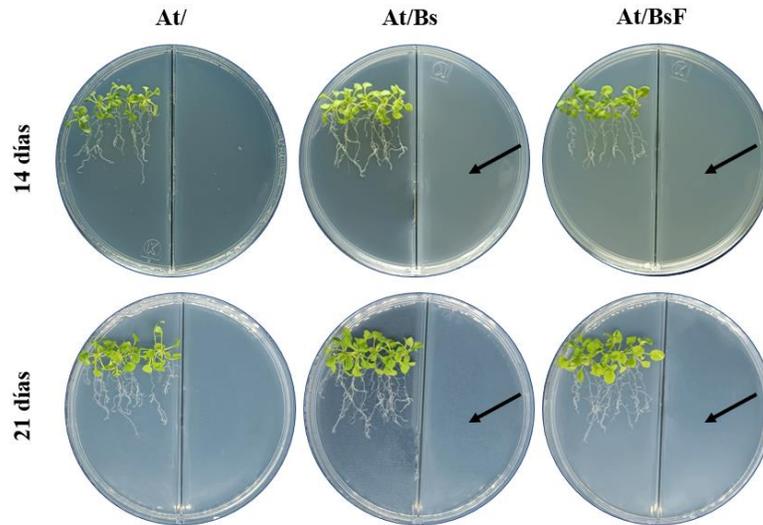


Figura 13. Evaluación del efecto de los compuestos volátiles en el desarrollo morfológico de plántulas de *A. thaliana* Col-0 inoculadas a los 14 y 21 días. **At/**, plántulas sin inocular; **At/Bs**, plántulas inoculadas con la cepa *B. simplex*; **At/BsF**, plántulas inoculadas con el filtrado de la cepa *B. simplex*. Las flechas indican el sitio de inoculación.

La presencia directa o indirecta de *B. simplex* en el sistema seguramente generó incrementos en longitud, área y peso fresco debido a las comunicaciones que tiene con la planta y sus exudados. Por la parte directa de contacto, los exudados liberan azúcares y ácidos orgánicos que sirven como nutrientes, de igual manera producen fenoles que actúan como moléculas de señalización para el caso de la interacción volátil (Fincheira y Quiroz, 2018; Huang *et al.*, 2021). En un estudio donde se quería evaluar la producción de nudos y desarrollo vegetativo de *Pisum sativum* inoculado con *B. simplex*, Schwartz y colaboradores (2013) encontraron que en el sustrato donde fue inoculado, este había secretado ácido indol acético, solubilizado fosfatos y produjo sideróforos, lo cual, favoreció el desarrollo de raíces laterales, así como el incremento de biomasa, lo cual se ve reflejado también en nuestros resultados. Durante la cosecha y evaluación de las plantas de *A. thaliana*, resultó que At/BsF tuvo el mejor desarrollo fisiológico y de rendimiento (Cuadro 3), a pesar de que en los resultados previos a este tratamiento no denotó diferencias significativas en plántula, el filtrado si lo hizo por contacto (AtBs), lo que

significa que el filtrado al estar en contacto con la planta los metabolitos filtrados favorecen significativamente todo el estadio de la planta.

Cuadro 3. Comparación de las medias del No. de nudos, No. de silicuas y peso total de semillas por planta, y la cantidad de semillas por silicua medidas en la cosecha para las diferentes interacciones de Bs y su filtrado (BsF) respecto a los controles.

Tratamiento	No. nudos	No. silicuas	Semillas por silicua	Peso total semillas (mg)
At	14 ^b	278 ^{bc}	50.7 ^{bc}	195.3 ^b
AtLB	17 ^b	257 ^c	48.4 ^{bc}	180.9 ^b
At-LB	18 ^b	304 ^{bc}	52.5 ^b	253.4 ^b
At/	12 ^b	346 ^{bc}	46.3 ^c	231.8 ^b
At/LB	16 ^b	281 ^{bc}	46.1 ^c	199.7 ^b
AtBs	17 ^b	357 ^{bc}	52.4 ^b	192.8 ^b
AtBsF	23 ^{ab}	456 ^{ab}	57.5 ^{ab}	372.2 ^a
At-Bs	28^a	404 ^{ab}	56.0 ^{ab}	264.9 ^b
At-BsF	21 ^{ab}	348 ^{bc}	57.0 ^{ab}	266.4 ^b
At/Bs	17 ^b	381 ^b	57.0 ^{ab}	266.0 ^b
At/BsF	26 ^{ab}	510^a	60.0^a	437.4^a

La última bacteria probada en estas diferentes condiciones (directas e indirectas) fue *B. firmus*, cabe mencionar que en este análisis se encontraron dos de los mejores fenotipos en plántulas. La interacción por contacto del filtrado AtBfF a los 14 y 21 días mostró los promedios más altos en longitud de raíz (Figura 14A), lo más interesante es durante la evaluación de volátiles (Figura 14C) porque este mismo filtrado pero indirecto At/BfF presentó diferencias significativas con una longitud de raíz de 3.92 cm, de igual manera el área foliar (Figura 14D) fue la mejor con 3.86 cm², mientras que las demás interacciones por contacto y difusión (Figura 13B) no presentaron diferencias estadísticas entre sí. En la Figura 15, se aprecian los resultados de los pesos frescos a los 21 días, donde por contacto (Figura 15A) AtBf obtuvo 41.24 mg y en volátiles (Figura 15B) la bacteria también obtuvo el peso más alto en el tratamiento At/Bf con 51.53 mg.

Como se había mencionado anteriormente, las plantas producen y liberan exudados a través de sus raíces, en un estudio previo con *B. firmus* y *A. thaliana* Huang (2021) reporta que los exudados de *A. thaliana* principalmente de plantas jóvenes atraen las respuestas de *B. firmus*, pues participan diversas biomoléculas que llevan a cabo las señales de comunicación, muchas de estas a larga distancia lo que nos explica el efecto los COV's en nuestras interacciones *in vitro*. Observamos en las Figuras 16 y 17 los fenotipos desarrollados en las plantas por estos tratamientos.

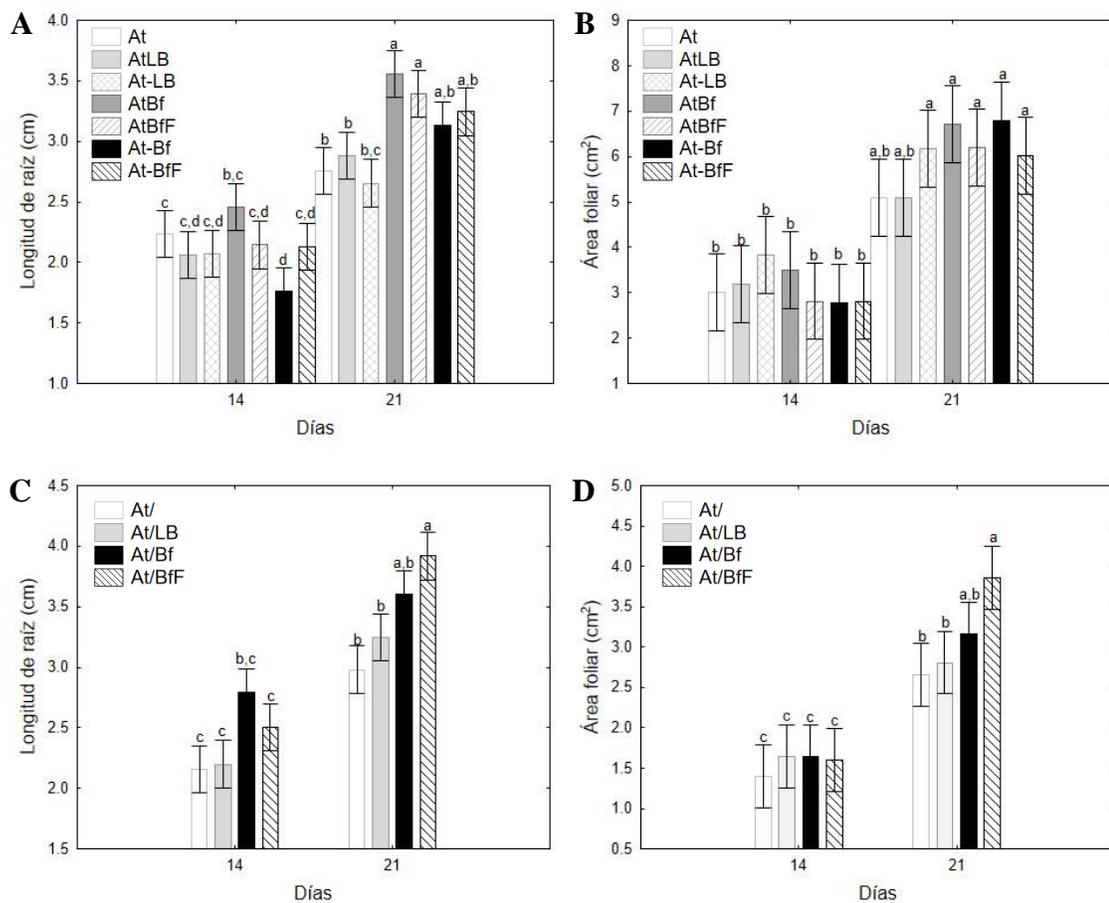


Figura 14. Análisis de longitud de raíz y áreas foliares en plántulas de *A. thaliana* a los 14 y 21 días. (A, B) control por contacto y distancia (At, AtLB y At-LB), contacto de bacteria AtBf y filtrado AtBfF, bacteria y filtrado a distancia At-Bf y At-BfF y (C, D) control de volátiles (At/ y At/LB) e interacciones de bacteria At/Bf y filtrado At/BfF. Las barras representan la media \pm DE, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas de la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

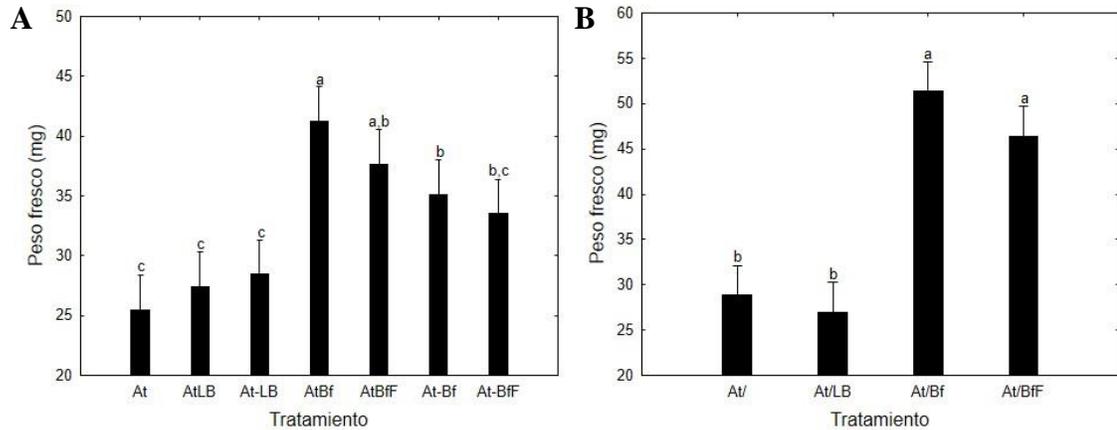


Figura 15. Evaluación del peso fresco de plántulas de *A. thaliana* a los 21 días. (A) interacciones por contacto y difusión en el medio, (B) interacciones por compuestos volátiles. Las barras representan la media \pm DE, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas de la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

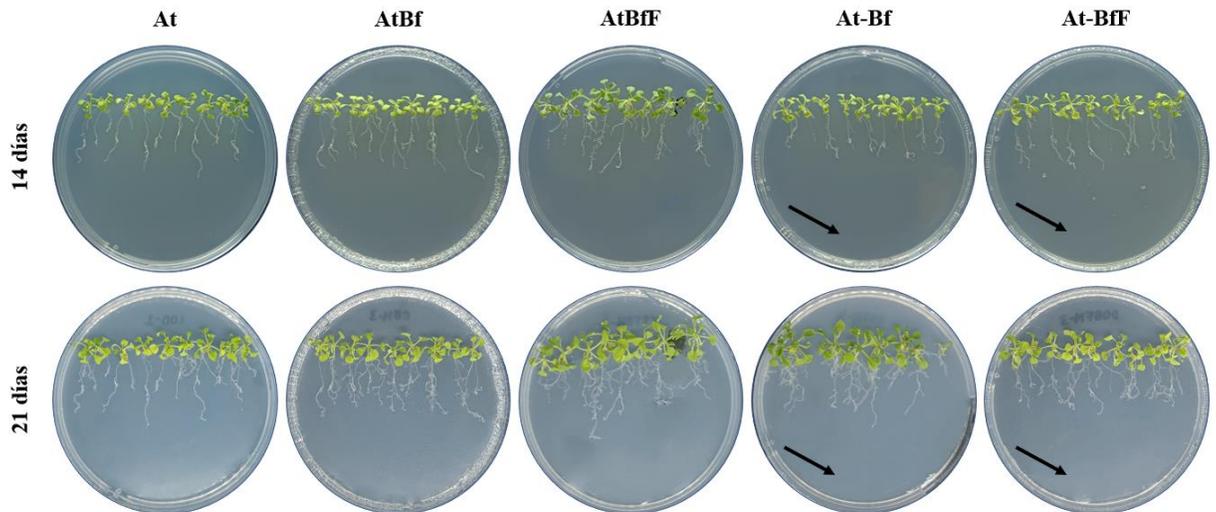


Figura 16. Evaluación del efecto en el desarrollo de plántulas de *A. thaliana* Col-0 inoculadas en contacto y por difusión en el medio a los 14 y 21 días. **At**, plántulas sin inocular; **AtBf**, plántulas inoculadas por contacto con la cepa *B. firmus*; **AtBfF**, plántulas inoculadas por contacto con el filtrado de la cepa *B. firmus*; **At-Bf**, inoculación en el medio con la cepa *B. firmus*; **At-BfF**, inoculación en el medio con el filtrado de la cepa *B. firmus*. Las flechas indican el sitio de inoculación.

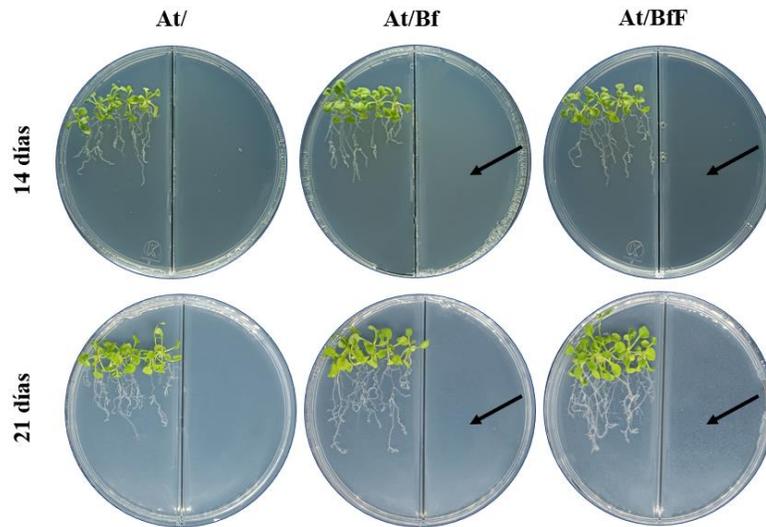


Figura 17. Evaluación del efecto de los compuestos volátiles en el desarrollo morfológico de plántulas de *A. thaliana* Col-0 inoculadas a los 14 y 21 días. **At/**, plántulas sin inocular; **At/Bf**, plántulas inoculadas con la cepa *B. firmus*; **At/BfF**, plántulas inoculadas con el filtrado de la cepa *B. firmus*. Las flechas indican el sitio de inoculación.

Como se observa en el Cuadro 4, podemos decir que la inoculación del filtrado BfF promueve un mayor número de nudos por plantas (AtBfF y At-BfF), si bien la bacteria por contacto también nos genera más nudos y semillas por silicua, pero en comparación a At/BfF que tuvo más silicuas y menos nudos se observa que el filtrado da plantas más pequeñas pero una producción mayor, mientras que con la bacteria tenemos plantas más robustas, pero con menor producción. Para estas últimas bacterias, evaluar nuevos experimentos con *B. firmus* en una interacción *in vitro* con su filtrado volátil y al llevar las plantas a sustrato agregar el filtrado de *B. simplex*, con esto se puede buscar como potenciar el fenotipo para que una vez establecida la planta obtenga un mayor provecho de nutrientes y retención de agua.

Cuadro 4. Comparación de las medias del No. de nudos, No. de silicuas y peso total de semillas por planta, y la cantidad de semillas por silicua medidas en la cosecha para las diferentes interacciones de Bf y su filtrado (BfF) respecto a los controles.

Tratamiento	No. nudos	No. silicuas	Semillas por silicua	Peso total semillas (mg)
At	14 ^a	278 ^b	50.7 ^c	195.3 ^b
AtLB	17 ^a	257 ^b	48.4 ^c	180.9 ^b
At-LB	18 ^a	304 ^b	52.5 ^{bc}	253.4 ^b
At/	12 ^a	346 ^{ab}	46.3 ^c	231.8 ^b
At/LB	16 ^a	281 ^b	46.1 ^c	199.7 ^b
AtBf	20 ^a	317 ^{ab}	54.0 ^{bc}	276.0 ^b
AtBfF	20 ^a	404 ^{ab}	59.7 ^{ab}	312.4 ^{ab}
At-Bf	21 ^a	423 ^{ab}	63.0^a	307.9 ^{ab}
At-BfF	20 ^a	330 ^{ab}	57.0 ^b	277.2 ^b
At/Bf	19 ^a	349 ^{ab}	56.0 ^{bc}	304.6 ^{ab}
At/BfF	18 ^a	428^a	61.0 ^{ab}	397.0^a

Evaluación del Efecto de Bacterias y sus Metabolitos Filtrados en Plántulas de *S. Lycopersicum* Bajo Condiciones de Invernadero

Para el estudio de almácigo se consideraron las condiciones de la calidad del agua para establecer este experimento, así como el hecho de realizar dos inoculaciones una a la siembra y la segunda a los 15 dds donde la plántula ya se encuentra emergida totalmente. En el Cuadro 5 se pueden analizar que de los porcentajes de emergencia total a los 10 dds el tratamiento con el filtrado B31F fue el que tuvo un mayor porcentaje (82.5%) y el tratamiento con Ba fue el de menor emergencia con 67.5 %. El porcentaje de muerte pre-emergente se obtuvo con base al total de semillas plantadas respecto a las que emergieron, la muerte post-emergente, así como la sobrevivencia de plántulas se consideraron hasta el último día de medición (45 dds) donde se contaron las plantas que se mantuvieron en condiciones óptimas. El tratamiento Ba tuvo 32.5 % de muerte pre-emergente seguido de Bf y sus filtrados BaF y BfF con 30%, el filtrado B31F tuvo el menor porcentaje de muertes pre y post-emergentes (17.5 y 0 % respectivamente), es de interés que si bien la inoculación directa de Ba inhibe la germinación de la semilla y por tanto nos da un menor

valor de %ET al llegar a la muerte post-emergente vemos que el tratamiento control es quien sufrió la mayor pérdida de plantas durante el lapso de los 45 días, resultando al final un porcentaje de sobrevivencia que es el menor (53%) en comparación al mejor tratamiento que fue B31F con un 82.5 %, esto se puede deber a que las bacterias y sus MS benefician protegiendo e induciendo resistencia sistémica al hospedero, además de que las bacterias que utilizamos se caracterizan por ser especies halófitas y alcalófilas, dicho esto estas propiedades pudieron beneficiar el desarrollo de las plántulas principalmente de la calidad del agua de riego.

Cuadro 5. Porcentajes de emergencia total, muerte pre-emergente, muerte post-emergente y sobrevivencia de las plántulas de jitomate a los 45 días.

Tratamiento	% ET¹	%Muerte pre-emergente	% Muerte post-emergente	%Sobrevivencia
Control	78	21	<u>26</u>	<u>53</u>
B31	72.5	27.5	2.5	70
B31F	<u>82.5</u>	<u>17.5</u>	<u>0</u>	<u>82.5</u>
Ba	<u>67.5</u>	<u>32.5</u>	5	62.5
BaF	70	30	2.5	67.5
Bs	77.5	22.5	5	72.5
BsF	75	25	2.5	72.5
Bf	70	30	5	65
BfF	70	30	<u>0</u>	70

¹ET. Emergencia total.

Durante la etapa de desarrollo de plántula se hicieron las 3 mediciones correspondientes a sus tiempos establecidos, donde se pudo denotar que conforme pasaba el tiempo la acumulación de precipitados en el sustrato eran evidentes y obvias considerando la procedencia del agua de riego. Al igual que el experimento anterior, el análisis de datos se realizó de forma comparativa entre el control y la bacteria de interés, así como su filtrado. En la Figura 18 se presentan las comparaciones de medias (15

plantas) para las distintas variables morfológicas medidas. En lo que respecta a la altura, diámetro de tallo, largo y ancho de hojas el B31F presentó diferencias altamente significativas. Para el no. de hojas promedio si bien no existen diferencias estadísticas, el tratamiento B31F tuvo un mayor número de plantas con 3 hojas respecto a los otros dos tratamientos. En la Figura 19 se observa el desarrollo vegetativo completo que alcanzó la plántula, donde la parte aérea está más desarrollada con el tratamiento B31F, pero a pesar de que no existan diferencias significativas entre el control y B31 el desarrollo radial de este último es notorio, quizás la bacteria solamente le ayuda en el crecimiento de raíces lo que puede ayudar a la planta a una mayor captación de nutrientes.

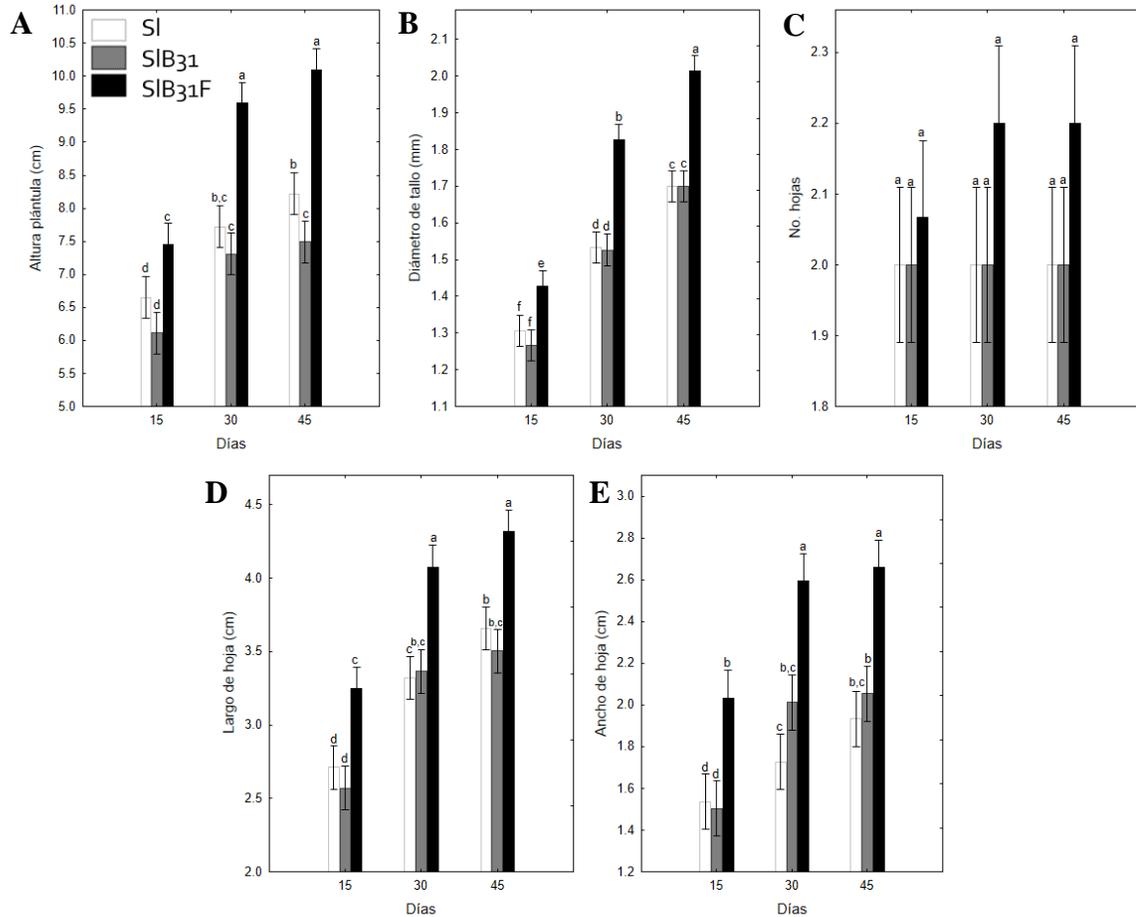


Figura 18. Comparación de medias en las diferentes variables morfológicas medidas en plántulas de *S. lycopersicum* a los 15, 30 y 45 días: (A) altura de plántula (cm), (B) diámetro de tallo (mm), (C) no. de hojas verdaderas, (D) largo de hoja (cm) y (E) ancho de hoja (cm). SI, plántulas sin inocular; SIB31, plántulas inoculadas con la cepa B31; SIB31F, plántulas inoculadas con el filtrado de la cepa B31. Las barras representan la media \pm DE, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas de la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).



Figura 19. Comparación del crecimiento y desarrollo de plántulas de *S. lycopersicum* a los 45 días. **SI**, plántulas sin inocular; **SIB31**, plántulas inoculadas con la cepa B31; **SIB31F**, plántulas inoculadas con el filtrado de la cepa B31.

Los tratamientos Ba y BaF no mostraron diferencias significativas entre ellos, pero si respecto al control para todas las variables medidas. En la Figura 20 se puede apreciar que la tendencia de crecimiento y diferencias entre los tratamientos es denotada desde el día 15. El tratamiento BaF es el que presentó un mejor desarrollo morfológico visualmente hablando en comparación a todos los tratamientos de las diversas bacterias y sus filtrados en estudio (Figura 21). En la interacción de Bs y BsF se observan resultados similares a B31 (Figura 22), donde el filtrado es el que muestra diferencias significativas en todas las mediciones y la bacteria no presenta diferencias respecto al control, aunque al igual que B31 el desarrollo radicular de la planta es mayor (Figura 23).

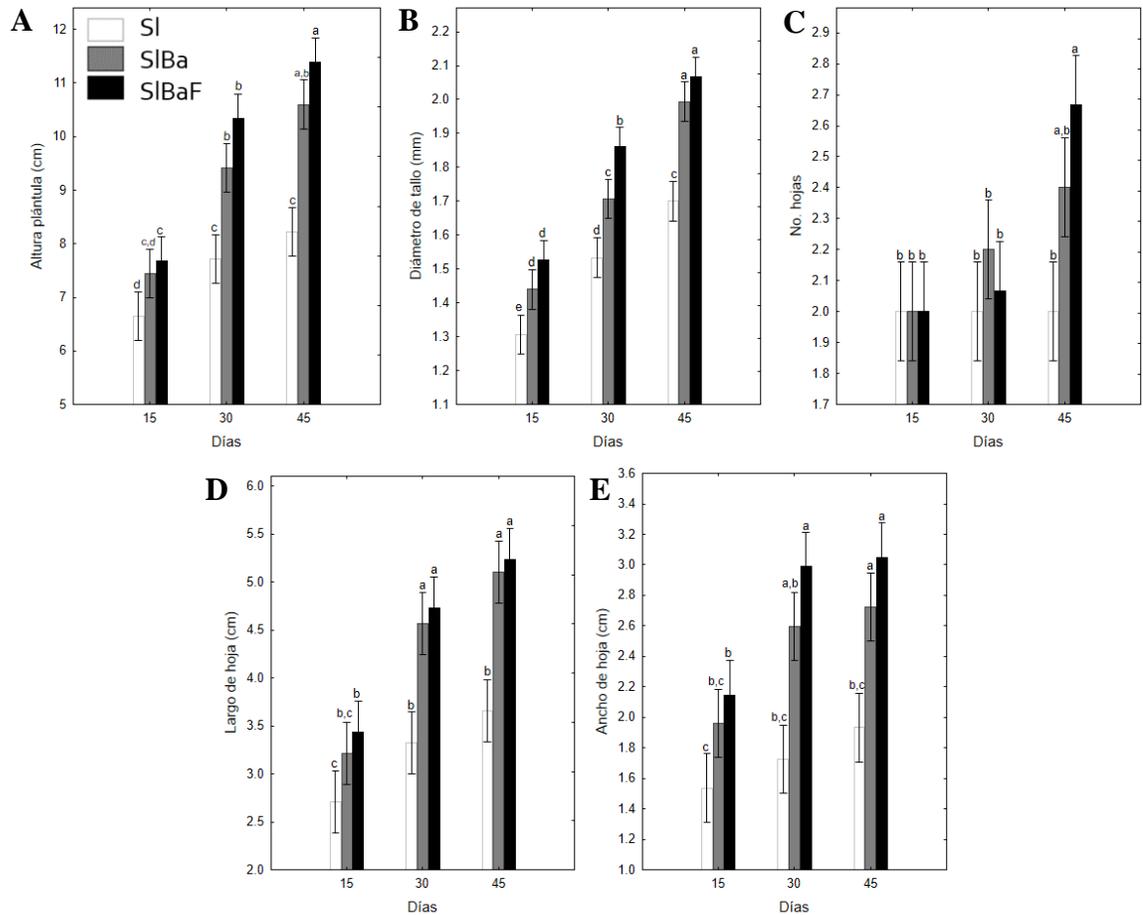


Figura 20. Comparación de medias en las diferentes variables morfológicas medidas en plántulas de *S. lycopersicum* a los 15, 30 y 45 días: **(A)** altura de plántula (cm), **(B)** diámetro de tallo (mm), **(C)** no. de hojas verdaderas, **(D)** largo de hoja (cm) y **(E)** ancho de hoja (cm). **SI**, plántulas sin inocular; **SIBa**, plántulas inoculadas con la cepa *B. amyloliquefaciens*; **SIBaF**, plántulas inoculadas con el filtrado de la cepa *B. amyloliquefaciens*. Las barras representan la media \pm DE, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas de la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).



Figura 21. Comparación del crecimiento y desarrollo de plántulas de *S. lycopersicum* a los 45 días. **SI**, plántulas sin inocular; **SIBa**, plántulas inoculadas con la cepa *B. amyloliquefaciens*; **SIBaF**, plántulas inoculadas con el filtrado de la cepa *B. amyloliquefaciens*.

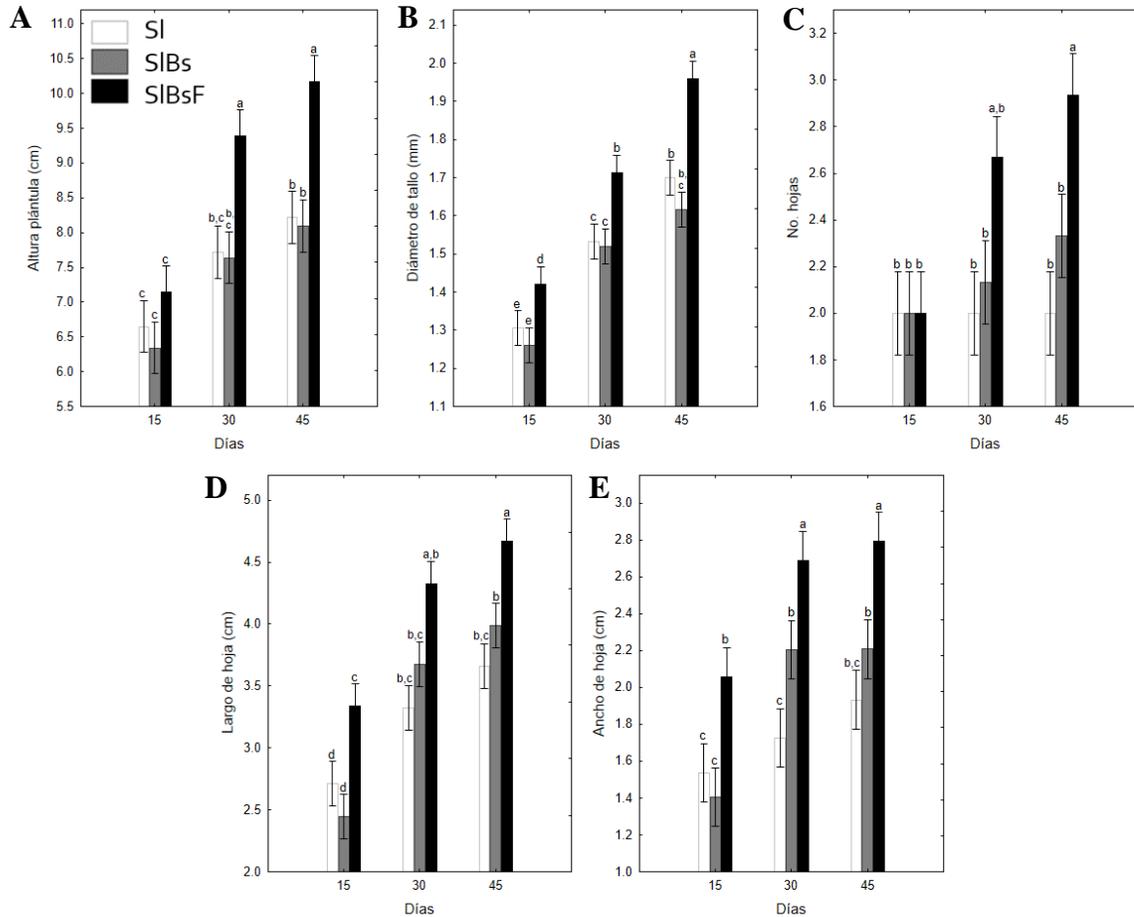


Figura 22. Comparación de medias en las diferentes variables morfológicas medidas en plántulas de *S. lycopersicum* a los 15, 30 y 45 días: **(A)** altura de plántula (cm), **(B)** diámetro de tallo (mm), **(C)** no. de hojas verdaderas, **(D)** largo de hoja (cm) y **(E)** ancho de hoja (cm). **SI**, plántulas sin inocular; **SIBs**, plántulas inoculadas con la cepa *B. simplex*; **SIBsF**, plántulas inoculadas con el filtrado de la cepa *B. simplex*. Las barras representan la media \pm DE, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas de la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).



Figura 23. Comparación del crecimiento y desarrollo de plántulas de *S. lycopersicum* a los 45 días. **SI**, plántulas sin inocular; **SIBs**, plántulas inoculadas con la cepa *B. simplex*; **SIBsF**, plántulas inoculadas con el filtrado de la cepa *B. simplex*.

La cuarta bacteria evaluada dio como resultado diferencias significativas para BfF, siendo este tratamiento el de mayor altura, diámetro y largo de hoja seguido de Bf, el BfF tuvo las hojas más anchas (Figura 24). En la Figura 25 se observa que las raíces de Bf son más largas y las raíces de BfF a pesar de verse más cortas tienen mayor área radicular y la morfología de sus hojas se ve mejor y mayor desarrollada.

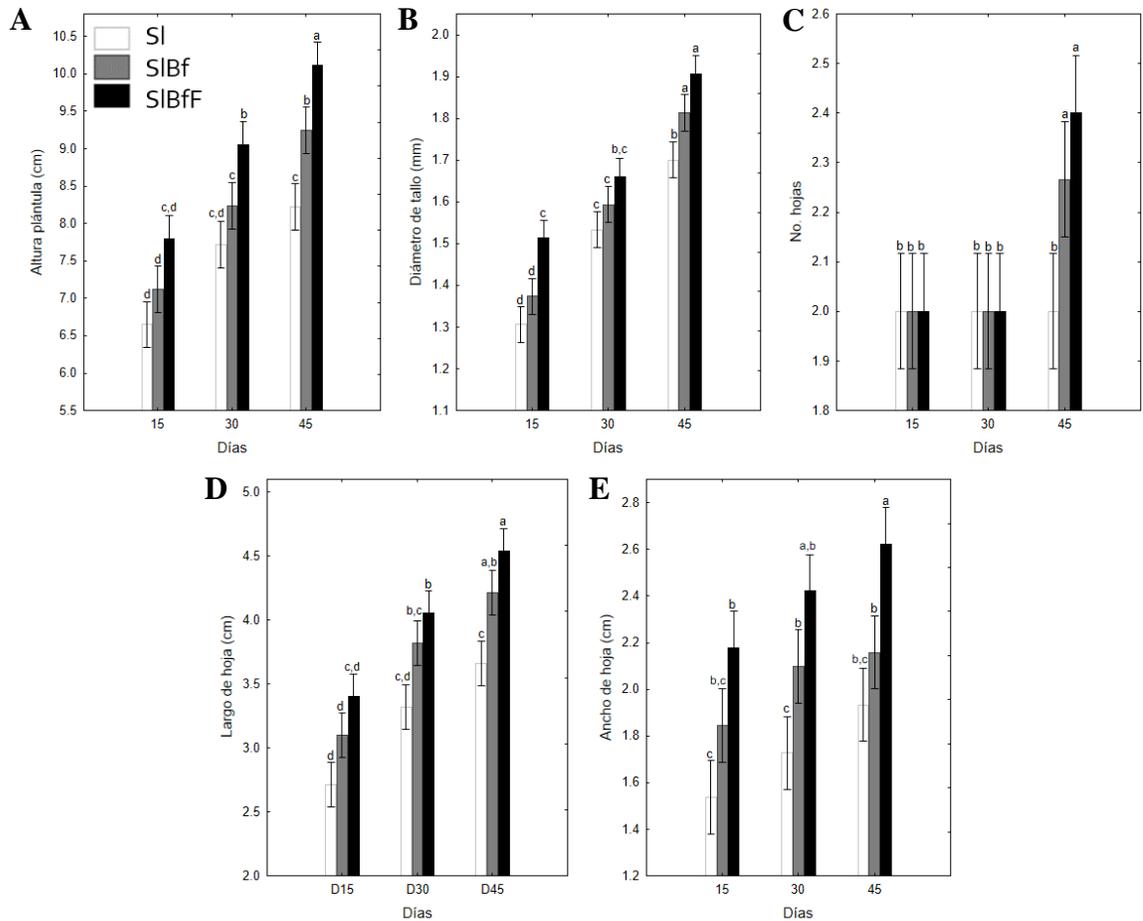


Figura 24. Comparación de medias en las diferentes variables morfológicas medidas en plántulas de *S. lycopersicum* a los 15, 30 y 45 días: **(A)** altura de plántula (cm), **(B)** diámetro de tallo (mm), **(C)** no. de hojas verdaderas, **(D)** largo de hoja (cm) y **(E)** ancho de hoja (cm). **SI**, plántulas sin inocular; **SIBf**, plántulas inoculadas con la cepa *Bacillus firmus*; **SIBfF**, plántulas inoculadas con el filtrado de la cepa *Bacillus firmus*. Las barras representan la media \pm DE, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas de la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

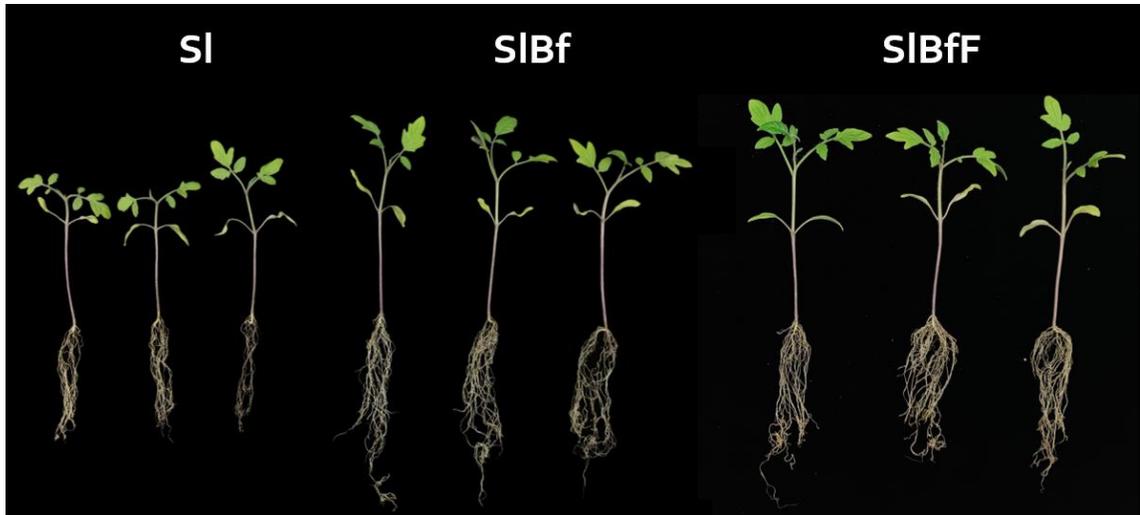


Figura 25. Comparación del crecimiento y desarrollo de plántulas de *S. lycopersicum* a los 45 días. **SI**, plántulas sin inocular; **SIBf**, plántulas inoculadas con la cepa *B. firmus*; **SIBfF**, plántulas inoculadas con el filtrado de la cepa *B. firmus*.

De las evaluaciones en invernadero los resultados arrojaron que las plantas tratadas con los filtrados tuvieron mejor desarrollo vegetativo y una respuesta más efectiva a %ET y sobrevivencia, las bacterias producen metabolitos, de los cuales, algunos de ellos son ácidos orgánicos, y pueden ayudar a favorecer la solubilización de sales, carbonatos y bicarbonatos, dejando disponibilidad a las raíces el acceso a nutrientes y algunos metales que requiera la planta los cuales pueden ser atrapados por los precipitados que se forman (Huang *et al.*, 2021). En la Figura 26 se presenta la comparación de medias de los pesos en fresco y seco para la parte aérea de la planta, BaF tuvo una diferencia altamente significativa siendo el tratamiento con mayor peso fresco de la parte aérea, seguido del B31F, Ba, BsF y BfF fueron los siguientes tratamientos con mayor peso. Después del proceso de secado, BaF y BfF fueron los que tuvieron diferencias significativas con valores de las medias más altos.

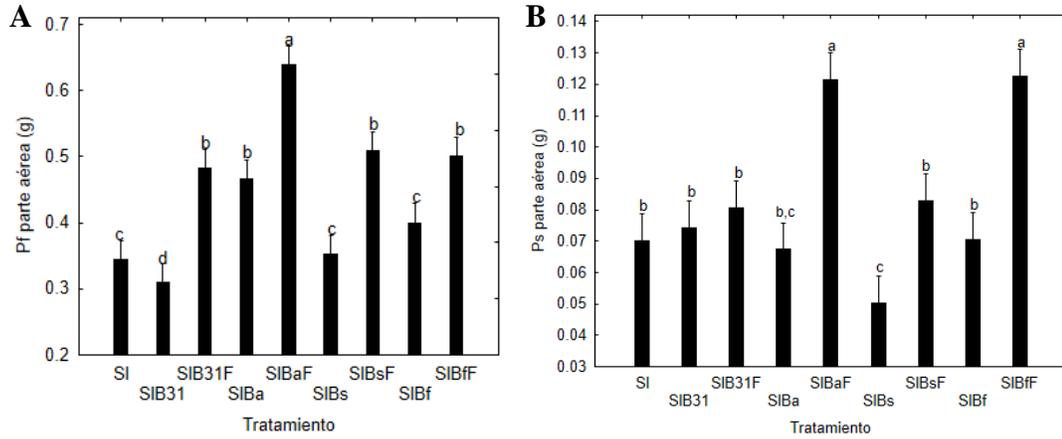


Figura 26. Evaluación del peso fresco (A) y peso seco (B) para la parte aérea en plántulas de *S. lycopersicum* a los 45 días. Las barras representan la media \pm DE, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas de la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

Para la parte de raíz en fresco B31F, BaF, Bf y BfF tuvieron diferencias significativas respecto al control, y en el peso seco BaF, BfF y B31F fueron los que presentaron mayor peso y diferencias estadísticas en comparación al tratamiento control (Figura 27).

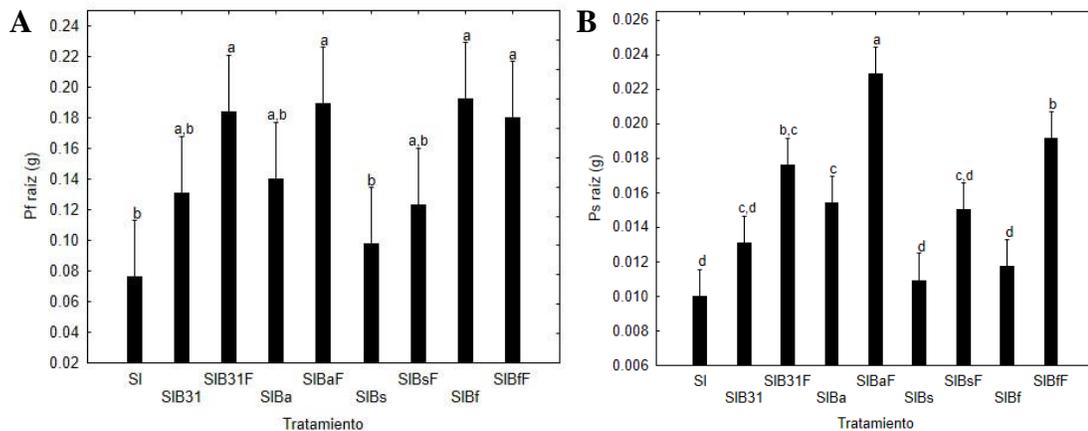


Figura 27. Evaluación del peso fresco (A) y peso seco (B) de raíz en plántulas de *S. lycopersicum* a los 45 días. Las barras representan la media \pm DE, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas de la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

De los resultados que arrojaron los experimentos observamos que los compuestos químicos que provienen de las bacterias, así como la interacción *in situ* que se lleva a cabo y las condiciones en las cuales se establece el cultivo pueden influir en la producción o transformación de nuevas biomoléculas (Vanegas *et al.*, 2019). Las sustancias producidas por las bacterias presentes en los filtrados pueden acidificar el medio de cultivo o sustrato en el que crecen las plantas y puede llegar a alterar el crecimiento y desarrollo de estas.

Cabe resaltar que lo que queríamos lograr era identificar si las respuestas favorables al cultivo en distintas condiciones eran por efectos de la presencia directa de un microorganismo o si era por la participación de los metabolitos producidos. Basados en lo que resultó de las evaluaciones en *A. thaliana* se identificaron los compuestos orgánicos volátiles producidos en las interacciones indirectas de tres tratamientos seleccionados a partir de los mejores fenotipos y rendimientos de las plantas, *B. simplex*, *B. firmus* y el filtrado de este (BfF).

Identificación de Compuestos Orgánicos Volátiles *in vitro* por GC-MS en Plántulas *A. thaliana*

Durante los experimentos realizados *in vitro* previamente se observó que a los 10 días (3 días posteriores a la inoculación) se comenzaban a observar cambios en el fenotipo y desarrollo de las plántulas, por esto se hizo un análisis de una misma caja de interacción cada tres días hasta el día 16 días. Los COV's participan de manera indirecta (Fincheira y Quiroz, 2018; Bukhat *et al.*, 2020), en la actualidad existen estudios que comprueban que estas biomoléculas tienen participaciones importantes en el desarrollo, crecimiento y protección de las plantas mediante regulaciones en los procesos fisiológicos debido a que activan moléculas de señalización (Gutiérrez-Luna *et al.*, 2010; Schwartz *et al.*, 2013; Molina-Romero *et al.*, 2015; Bukhat *et al.*, 2020), aunque aún son desconocidos sus modos de acción. Los COV's son biomoléculas con una parte lipofílica, de bajo peso molecular y con altas presiones de vapor, lo que les permite translocarse fácilmente en el ambiente que se encuentren, se sintetizan en diferentes rutas metabólicas y participan a larga distancia en la comunicación de planta- microorganismo, su naturaleza radica de las principales familias de las que provienen como por ejemplo, alcanos, alquenos, cetonas,

terpenoides, alcoholes, fenoles, terpenos, sesquiterpenos, compuestos azufrados y cumarinas (Fincheira y Quiroz, 2018; Bukhat *et al.*, 2020; Piechulla *et al.*, 2020). Partiendo de las interacciones de estos compuestos con plantas de *A. thaliana*, se obtuvieron los siguientes resultados para los distintos tratamientos en sus diferentes días de muestreo. En el Cuadro 6, se muestran los compuestos producidos únicamente por las plántulas, los días 10 y 13 se lograron identificar 17 compuestos respectivamente, en el día 16 se recuperaron 20, dentro de todos ellos solamente 2 se encontraron durante todo el muestreo (acetofenona y 2,6,10-trimetil-dodecano), lo que nos deja ver que la planta conforme crece va secretando diferentes compuestos, el muestreo por tiempo se hizo con el fin de identificar si durante un lapso las biomoléculas liberadas cambiaban o se mantenían. Así mismo, el muestreo en un tratamiento de interacción bacteria-plantas y uno donde solo se encuentre el inóculo es de interés porque sabemos que algunos microorganismos se ven atraídos por las secreciones de los exudados de las raíces, y por ende la producción de compuestos se verá alterada (Huang *et al.*, 2021) generando cambios en las respuestas de las rutas de señalización de las plantas. Los COV's participan en comunicaciones a larga distancia (Fincheira y Quiroz, 2018; Bukhat *et al.*, 2020; Piechulla *et al.*, 2020), tal es el caso de nuestro estudio con *B. simplex* en intracción (At/Bs) y sin interacción con plantas (Bs), encontramos que durante los días 10 y 13 solamente se repitieron el undecano, 5-metil-undecano y 2-iodoadamantano, todos ellos tanto en At/Bs y Bs, en el día 16 únicamente el octahidro-4,7-metano-1H-inden-1-ol (Cuadro 7). El total de compuestos encontrados a los 10 dds fue de 8 y 9, respectivamente para cada tratamiento, a los 13 dds 20 y 10, durante el muestreo final se obtuvieron 35 y 16 compuestos, estos resultados permiten ver que, así como en el control durante pasan los días las biomoléculas producidas cambian por el estadio de la plántula ya que los compuestos liberados se van transformando. Por otro lado, a los días 13 y 16 observamos que existe una mayor producción de COV's en las interacciones donde tenemos a la bacteria con la planta respecto a los tratamientos control (At) y sin plantas (Bs), en comparación al control, se encontró que en At/Bs estaba la presencia de 8 compuestos (nonadecano, (Z)-13-Octadecenal, tetradecyl-oxirano, 2,6,10-trimetil-dodecano, 2,4-

bis(trimetilsiloxy)-benzaldehído, 13-octadecadienol-2-metil-Z,Z-3 y 2,5-bis[(trimetilsilyl)oxy]-benzaldehído), los cuáles son producidos por *A. thaliana*.

Cuadro 6. Compuestos encontrados a los 10, 13 y 16 dds en la interacción de plantas (At) sin inocular y el porcentaje de similitud reportado.

AT - 10 días			AT - 13 días	
NO.	COMPUESTO	%	COMPUESTO	%
1	4,7-Methano-5H-inden-5-one, octahydro-	96	4,7-Methano-5H-inden-5-one, octahydro-	98
2	Ethanol, 2-(9-octadecenyloxy)-, (Z)-	93	Cyclopenta[g]-2-benzopyran, 1,3,4,6,7,8-hexahydro-4,6,6,7,8,8-hexamethyl-	96
3	1-Cyclohexylnonene	93	Hexadecanal	93
4	2-Propenoic acid, n-tridecyl ester	91	1,3,5,7-Cyclooctatetraene	90
6	Cyclododecane	90	Bicyclo[4.2.0]octa-1,3,5-triene	90
7	Styrene	90	Styrene	87
8	1,15-Hexadecadiene	90	Benzothiazole	81
9	E-2-Octadecadecen-1-ol	87	1,3-Bis(trimethylsilyl)benzene	78
10	Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (S)-	81	13-Octadecenal, (Z)-	76
11	1,5-Cyclooctadiene, 1,5-dimethyl-	81	7-Heptadecene, 1-chloro-	76
12	9-Octadecenoic acid (Z)-, octadecyl ester	72	2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate	72
13	Acetophenone	64	Tetratetracontane	64
14	1,1-Dodecanediol, diacetate	64	Acetophenone	64
15	1-Dotriacontanol	64	1-Cyclohexylnonene	64
16	1,2-Benzenedicarboxylic acid, diisooctyl ester	64	Phosphonic acid, dioctadecyl ester	60
17	Aspidospermidin-17-ol, 1-acetyl-19,21-epoxy-15,16-dimethoxy-	64	Dodecane, 2,6,10-trimethyl-	59
AT - 16 días				
1	Diethyl Phthalate	98		
2	4,7-Methano-5H-inden-5-one, octahydro-	96		
3	13-Octadecenal, (Z)-	93		
4	Bicyclo[4.2.0]octa-1,3,5-triene	93		
5	Styrene	93		
6	1,3,5,7-Cyclooctatetraene	93		

7	Dotriacontane	83
8	Benzothiazole	81
9	Oxirane, tetradecyl-	80
10	Benzene, (1-methyldecyl)-	72
11	Hexadecane, 1-chloro-	72
12	Hexatriacontane	72
13	Nonadecane	72
14	7H-Dibenzo[b,g]carbazole, 7-methyl	64
15	1,3-Bis(trimethylsilyl)benzene	64
16	Silane, 1,4-phenylenebis(trimethyl-	64
17	1,3,6-Heptatriene, 2,5,5-trimethyl-	64
18	Pentacosane	64
19	Dodecane, 2,6,10-trimethyl-	53
20	Tetracontane, 3,5,24-trimethyl-	50

Cuadro 7. Compuestos encontrados a los 10, 13 y 16 dds en la interacción de plantas con *B. simplex* (At/Bs) y de la bacteria sola sin plantas Bs.

At/Bs – 10 días			Bs – 10 días	
NO.	COMPUESTO	%	COMPUESTO	%
1	Acetic acid, 1,7,7-trimethyl-bicyclo[2.2.1]hept-2-yl ester	91	Dodecane	90
2	Phenol, 4-(1,1-dimethylpropyl)-	86	Ethylbenzene	87
3	Octane, 1,1'-oxybis-	68	Decane, 2,3,5,8-tetramethyl-	72
4	Nonane, 4-methyl-	64	Propanoic acid, 2-methyl-, 3-hydroxy-2,4,4-trimethylpentyl ester	72
5	Undecane	90	3-Carene	70
6	Undecane, 5-methyl-	87	7-Oxabicyclo[2.2.1]heptane, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-	70
7	2-Iodoadamantane	72	Undecane	86
8	Nonadecane	80	Undecane, 5-methyl-	78
9			2-Iodoadamantane	64
At/Bs - 13 días			Bs - 13 días	
1	Tetradecanoic acid	96	Ethylbenzene	90
2	n-Pentadecanoic acid, trimethylsilyl ester	96	Benzene, 1,2-dimethyl-	87
3	Oleic acid TMS	93	Dodecane, 4,6-dimethyl-	78
4	Palmitelaidic acid, trimethylsilyl ester	91	Dodecane	74
5	Octadecanoic acid	86	Acetic acid, 1,7,7-trimethyl-bicyclo[2.2.1]hept-2-yl ester	64

6	9-Octadecenoic acid (Z)-, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester	78	Undecane, 2,8-dimethyl-	59
7	9-Undecen-2-one, 6,10-dimethyl-	70	2-Norbornanone	59
8	Hexane, 3,3-dimethyl-	64	Undecane	90
9	Adamantane, 1-chloro-	64	2-Iodoadamantane	64
10	Decane, 3,7-dimethyl-	62	Undecane, 5-methyl-	59
11	Dibenz[a,h]anthracene	59		
12	Dihydrocoumarin, 4,4,5,7,8-pentamethyl	59		
13	Undecane, 5-methyl-	87		
14	2-Iodoadamantane	72		
15	13-Octadecenal, (Z)-	93		
16	Oxirane, tetradecyl-	90		
17	Nonadecane	89		
18	Dodecane, 2,6,10-trimethyl-	72		
19	Benzaldehyde, 2,4-bis(trimethylsiloxy)-	64		
20	Benzaldehyde, 2,5-bis(trimethylsiloxy)-	64		
At/Bs - 16 días			Bs - 16 días	
1	Octanal, 2-(phenylmethylene)-	99	1-Nonadecene	94
2	6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-, (R)-	98	Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 1,7,7-trimethyl-, acetate, (1S-endo)-	91
3	2-Propenoic acid, 3-phenyl-, methyl ester	97	Ethylbenzene	90
4	Benzaldehyde, 4-methoxy-	97	Phenol, 4-(1,1-dimethylpropyl)-	80
5	Piperonal (3,4-methyldioxybenzaldehyde)	97	Phenol	72
6	2-Propenoic acid, 3-phenyl-, ethyl ester	96	Hexadecane, 3-methyl-	72
7	Benzyl Benzoate	96	Decane	72
8	2-Naphthyl methyl ketone	96	Dodecane, 4,6-dimethyl-	72
9	Naphthalene, 2-ethoxy-	95	Undecane, 5-methyl-	72
10	n-Hexyl salicylate	95	Tricyclo[4.2.1.1(2,5)]decan-9-ol, acetate, stereoisomer	64
11	2H-1-Benzopyran-2-one	95	Undecane	64
12	Cinnamaldehyde, (E)-	95	Tridecanol	64
13	Silane, [(3,7-dimethyl-6-octenyl)oxy]trimethyl-	95	N-(2-Acetylcyclopentylidene)cyclohexylamine	59
14	1'-Acetonaphthone	94	Undecane, 4-methyl-	59
15	1,4-Methanoazulene, decahydro-4,8,8-trimethyl-9-methylene-, [1S-(1.alpha.,3a.beta.,4.alpha.,8a.beta.)]-	93	Dodecane	59
16	Heptanal, 2-(phenylmethylene)-	93	4,7-Methano-1H-inden-1-ol, octahydro-	53
17	E-11-Hexadecenal	93		
18	Lilial (Butilfenil metilpropional)	92		

19	Cyclopentadecanone, 2-hydroxy-	92
20	Benzoic acid, 2-hydroxy-, pentyl ester	90
21	5H-Naphtho[2,3-c]carbazole, 5-methyl-	72
22	7H-Dibenzo[b,g]carbazole, 7-methyl-	72
23	2-Dodecene, (Z)-	70
24	1-Hexadecene	68
25	Phenoxy ethyl isobutyrate	64
26	Benzoic acid, 2-hydroxy-, 3-methylbutyl ester	64
27	1-Dodecanol, 2-methyl-, (S)-	62
28	12-Methyl-E,E-2,13-octadecadien-1-ol	62
29	Benzoic acid, 2-hydroxy-, phenylmethyl ester	60
30	Oxacyclotetradecane-2,11-dione, 13-methyl-	60
31	4,7-Methano-1H-inden-1-ol, octahydro-	76
32	2-Methyl-Z,Z-3,13-octadecadienol	93
33	Oxirane, tetradecyl-	91
34	Benzaldehyde, 2,4-bis(trimethylsiloxy)-	59
35	Benzaldehyde, 2,5-bis[(trimethylsilyl)oxy]-	60

Durante el muestreo de metabolitos volátiles de *B. firmus* en intracción (At/Bf) y sin interacción con plantas (Bf), si observamos el Cuadro 8, a los 10, 13 y 16 días encontramos 6, 8 y 10 compuestos respectivamente, mientras que Bf liberó 12, 7 y 5 biomoléculas respectivamente conforme pasaron los días, al día 10 entre At/Bf y Bf se produjeron únicamente 2 compuestos similares, 4-(1,1-dimetilpropil)-fenol y dodecano; al día 13 solamente se compartió uno, 3-dimetil-4b-(3-metilbut-2-enil)-cyclohexano1-metilideno-2b-hidroximetil-3; el día 16 no hubo ningún metabolito en común. Con respecto a el control At, de los compuestos encontrados 3 fueron iguales, al día 10 y 13 fue 13-octadecadienol 2-Metil-Z, Z-3, y a los días 13 y 16 2,5-[bis(trimetilsilyl)oxy]-benzaldehído y 2,4-bis[(trimetilsilyl)oxy]-benzaldehído. En estos tratamientos se extrajeron pocos compuestos y con porcentajes de similitud más bajos.

Cuadro 8. Compuestos encontrados a los 10, 13 y 16 dds en la interacción de plantas con *B. firmus* (At/Bf) y de la bacteria sola sin plantas Bf.

At/Bf - 10 días			Bf - 10 días	
NO.	COMPUESTO	%	COMPUESTO	%
1	Benzoic acid, 4-methyl-2-trimethylsilyloxy-, trimethylsilyl ester	72	Phenol	83
2	2-Iodoadamantane	64	Undecane	81
3	1-Ethyl-1(1-cyclobutylidenethyl)cyclobutane	62	Hexane	78
4	Phenol, 4-(1,1-dimethylpropyl)-	72	3a,6-Methano-3ah-inden-5(4H)-one, hexahydro-	76
5	Dodecane	64	Tritetracontane	72
6	2-Methyl-Z,Z-3,13-octadecadienol	91	6-Octadecenal	64
7			Oxirane, hexadecyl-	62
8			6-Butyl-1,4-cycloheptadiene	60
9			Carbamic acid, butylmethyl-, phenyl ester	60
10			Dodecane	93
11			Phenol, 4-(1,1-dimethylpropyl)-	90
12			p-Trimethylsilyloxyphenyl-(trimethylsilyloxy)trimethylsilylacylate	64
At/Bf - 13 días			Bf - 13 días	
1	1H-Cyclopropa[a]naphthalene, 1a,2,3,5,6,7,7a,7b-octahydro-1,1,7,7a-tetramethyl-, [1aR-(1a.alpha.,7.alpha.,7a.alpha.,7b.alpha.)]-	80	Dodecane	86
2	1-Formyl-2,2,6-trimethyl-3-(3-methylbut-2-enyl)-6-cyclohexene	64	Bicyclo[3.3.1]non-6-ene-3,9-dione	86
3	Isoaromadendrene epoxide	64	2(1H)-Naphthalenone, octahydro-4a-methyl-7-(1-methylethyl)-, (4a.alpha.,7.beta.,8a.beta.)-Oxime-, methoxy-phenyl-	84
4	Bicyclo[5.2.0]nonane, 4-methylene-2,8,8-trimethyl-2-vinyl-	60	3-Carene	74
5	1,5-Cyclodecadiene, (E,Z)-	59	1H-3a,7-Methanoazulene, octahydro-1,4,9,9-tetramethyl-	70
6	1-Methylidene-2b-hydroxymethyl-3,3-dimethyl-4b-(3-methylbut-2-enyl)-cyclohexane	72	1-Methylidene-2b-hydroxymethyl-3,3-dimethyl-4b-(3-methylbut-2-enyl)-cyclohexane	64
7	2-Methyl-Z,Z-3,13-octadecadienol	55		50
8	Benzaldehyde, 2,5-bis[(trimethylsilyl)oxy]-	50		

At/Bf – 16 días			Bf – 16 días		
1	Cyclohexane, 1,1,2-trimethyl-3,5-bis(1-methylethenyl)-, (2.alpha.,3.alpha.,5.beta.)-	83	2(1H)-Naphthalenone, octahydro-4a-methyl-7-(1-methylethyl)-, (4a.alpha.,7.beta.,8a.beta.)-	78	
2	4,7-Methano-1H-indene, 2,4,5,6,7,7a-hexahydro-	83	Propanoic acid, 2-methyl-, tert-butyltrimethylsilyl ester	64	
3	Naphthalene, decahydro-4a-methyl-1-methylene-7-(1-methylethenyl)-, [4aR-(4a.alpha.,7.alpha.,8a.beta.)]-	70	Adamantane, cyclopropylidene-	56	
4	2-Iodoadamantane	64	7-Pentadecyne	56	
5	Pregnan-20-one, 3-hydroxy-, (3.beta.)-	64	2-Methyl-7-phenylindole	53	
6	1s,4R,7R,11R-1,3,4,7-Tetramethyltricyclo[5.3.1.0(4,11)]undec-2-en-8-one	60			
7	Cedran-diol, 8S,14-	60			
8	2-Dodecen-1-yl(-)succinic anhydride	56			
9	Tricyclo[4.3.0.07,9]non-3-ene, 2,2,5,5,8,8-hexamethyl-, (1.alpha.,6.beta.,7.alpha.,9.alpha.)-	55			
10	Benzaldehyde, 2,4-bis(trimethylsiloxy)-	59			

En el Cuadro 9 encontramos un número superior de compuestos en comparación a todos los tratamientos anteriores, a los días 10 para At/BfF se extrajeron 34 compuestos y 2 para BfF, a los 13 días 19 y 7 compuestos, respectivamente, por último, en el día 16 se lograron recuperar 35 y 9 especies químicas para cada tratamiento, todas ellas en su mayoría con porcentajes de similitud altos. Comparando la lista con la del tratamiento control solo de At un total de 8 compuestos se presentaron, de estos en el día 10 la mayoría (13-octadecadienol-2-metil-Z,Z-3, 1,5-dimetil-1,5-ciclooctadieno, 1,15-hexadecadieno, ciclododecano, nonadecano, ácido dioctadecil éster fosfónico), a los días 13 y 16, ácido Z-8-metil-9-tetradecenoico, 2,4-bis[(trimetilsilyl)oxy]-benzaldehído y 1,5-dimetil-1,5-ciclooctadieno. En su mayoría las moléculas analizadas no se repiten, lo cual nos deja un amplio espectro de diferencias entre cada inóculo AtBs, AtBf y AtBfF, dejándonos ver que son microorganismos o biomoléculas que actúan y producen en la planta distintas respuestas a través de las sustancias que se generan. Entre AtBfF y Bf en la primera extracción no hubo semejanzas en los resultados, en los muestreos posteriores compartieron 2 productos en el día 13 y 16 respectivamente, 2-dodecen-1-il(-) succínico

anhidrido y acetato(E,E)-3,7,11-trimetil-2,6,10-dodecatrien-1-ol; biciclo[4.1.1]oct-2-eno y 13-octadecadien-1-ol-12-metil-E,E-2.

Cuadro 9. Compuestos encontrados a los 10, 13 y 16 días en la interacción de plantas con el filtrado de *B. firmus* (At/BfF) y del mismo sin plantas BfF.

At/BfF – 10 días			BfF – 10 días	
NO.	COMPUESTO	%	COMPUESTO	%
1	8-Octadecenoic acid, methyl ester, (E)-	99	Undecane	53
2	12-Octadecenoic acid, methyl ester	99	1,6,9-Tetradecatriene	53
3	Octadecanoic acid, methyl ester	98		
4	Hexadecanoic acid, methyl ester	97		
5	E-9-Tetradecenal	93		
6	2,6,10,14,18-Pentamethyl-2,6,10,14,18-eicosapentaene	91		
7	(s)(+)-Z-13-Methyl-11-pentadecen-1-ol acetate	91		
8	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	91		
9	1-Heptadecene	90		
10	7-Pentadecyne	90		
11	1,5,9,13-Tetradecatetraene	89		
12	Propyleneglycol monooleate	87		
13	9-Octadecenoic acid (Z)-, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester	87		
14	1,3,6,10-Cyclotetradecatetraene, 3,7,11-trimethyl-14-(1-methylethyl)-, [S-(E,Z,E,E)]-	87		
15	Oxacycloheptadecan-2-one	87		
16	Z,Z-10,12-Hexadecadienal	84		
17	1,E-8,Z-10-Hexadecatriene	83		
18	1,5,9-Decatriene, 2,3,5,8-tetramethyl-	83		
19	Cyclopropaneoctanal, 2-octyl-	81		
20	1,3,6-Heptatriene, 2,5,6-trimethyl-	80		
21	Undecane, 3,5-dimethyl-	78		
22	Undecane, 5-methyl-	78		
23	Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis(1-methylethenyl)-, [1S-(1.alpha.,2.beta.,4.beta.)]-	78		

24	9-Oxabicyclo[6.1.0]nonane	78	
25	Undecane, 4,6-dimethyl-	72	
26	2-Dodecen-1-yl(-)succinic anhydride	68	
27	Decyl oleate	64	
28	5-Eicosene, (E)-	60	
29	2-Methyl-Z,Z-3,13-octadecadienol	95	
30	1,5-Cyclooctadiene, 1,5-dimethyl-	93	
31	1,15-Hexadecadiene	90	
32	Cyclododecane	64	
33	Nonadecane	62	
34	Phosphonic acid, dioctadecyl ester	60	
At/BfF – 13 días		BfF – 13 días	
1	2-Heptadecenal	93	Cyclohexanol, 3-ethenyl-3-methyl-2-(1-methylethenyl)-6-(1-methylethyl)-, [1R-(1.alpha.,2.alpha.,3.beta.,6.alpha.)]-
2	7-Pentadecyne	91	Cyclohexene, 4-(4-ethylcyclohexyl)-1-pentyl-
3	Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2-(1-methylethenyl)-4-(1-methylethylidene)-	91	Farnesol isomer a
4	E-11,13-Dimethyl-12-tetradecen-1-ol acetate	90	(-)-Neoclovene-(II), dihydro-
5	Phenol, 4-(1,1-dimethylpropyl)-	74	1-Naphthalenepropanol, .alpha.-ethenyldecahydro-5-(hydroxymethyl)-.alpha.,5,8a-trimethyl-2-methylene-, [1S-[1.alpha.(R*),4a.beta.,5.beta.,8a.alpha.]]-
6	Benzoic acid, 4-methyl-2-trimethylsilyloxy-, trimethylsilyl ester	72	2,6,10-Dodecatrien-1-ol, 3,7,11-trimethyl-, (Z,E)-
7	Undecane, 5-methyl-	72	2-Dodecen-1-yl(-)succinic anhydride
8	Octane, 6-ethyl-2-methyl-	72	
9	12-Methyl-E,E-2,13-octadecadien-1-ol	64	
10	1,11-Tridedicen	62	
11	E-11-Hexadecenal	62	
12	1-Naphthalenepropanol, .alpha.-ethenyldecahydro-5-(hydroxymethyl)-.alpha.,5,8a-trimethyl-2-methylene-, [1S-[1.alpha.(R*),4a.beta.,5.beta.,8a.alpha.]]-	62	
13	Cyclohexanol, 2-methyl-5-(1-methylethenyl)-	60	
14	2-Dodecen-1-yl(-)succinic anhydride	86	
15	2,6,10-Dodecatrien-1-ol, 3,7,11-trimethyl-, acetate, (E,E)-	76	
16	2-Methyl-Z,Z-3,13-octadecadienol	96	

17	Z-8-Methyl-9-tetradecenoic acid	78		
18	Cyclododecane	70		
19	Benzaldehyde, 2,4-bis(trimethylsiloxy)-	59		
At/BtF - 16 días			BtF – 16 días	
1	Hexadecanoic acid, trimethylsilyl	99	1-Tricosene	92
2	Tetradecanoic acid, trimethylsilyl ester	98	3-Methyl-3H-naphth[1,2-E]indol-10-ol	91
3	Cyclohexadecane	95	Cyclohexene, 4-(4-ethylcyclohexyl)-1-pentyl-	90
4	Oleic acid TMS	93	9,17-Octadecadienal, (Z)-	89
5	1-Heptadecene	93	Isocyclocitral	86
6	Z,E-3,13-Octadecadien-1-ol acetate	92	Hexadecenoic acid, Z-11-	84
7	1-Nonadecene	92	Z-10-Methyl-11-tetradecen-1-ol propionate	70
8	1,11-Tridecicene 72	92	1-Pentadecene	64
9	Trimethylsilyl ether of glycerol	91	12-Methyl-E, E-2,13-octadecadien-1-ol	64
10	Palmitelaidic acid, trimethylsilyl ester	90	Bicyclo[4.1.1]oct-2-ene	50
11	Cyclododecanone, 2-methylene-	90		
12	Cyclotetradecane	90		
13	E-14-Hexadecenal	90		
14	4-n-Hexylthiane, S,S-dioxide	90		
15	9-Octadecenamamide, (Z)-	89		
16	7,11-Hexadecadienal	89		
17	9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester	89		
18	Octadecanamamide	86		
19	1-Hexadecene	86		
20	Octadecanoic acid	86		
21	Hexadecanoic acid, 2-hydroxy-, methyl ester	83		
22	Cyclohexane, 1,1',1''-(1-propanyl-2-ylidene)tris-	80		
23	Cedrol	80		
24	E-11-Hexadecenal	74		
25	1,5-Cyclodecadiene, (E,Z)-	74		
26	Benzoic acid, 4-methyl-2-trimethylsilyloxy-, trimethylsilyl ester	72		
27	p-Trimethylsilyloxyphenyl-bis(trimethylsilyloxy)ethane	64		
28	1H-Trindene, 2,3,4,5,6,7,8,9-octahydro-1,1,4,4,9,9-hexamethyl-	64		
29	p-Menth-8(10)-en-9-ol, cis-	64		
30	Oleyl Alcohol	64		

31	Undecanoic acid, 11-fluoro-, trimethylsilyl ester	60
32	Bicyclo[4.1.1]oct-2-ene	92
33	12-Methyl-E,E-2,13-octadecadien-1-ol	90
34	Z-11(13,14-Epoxy)tetradecen-1-ol acetate	93
35	2-Methyl-Z,Z-3,13-octadecadienol	84

De acuerdo con la literatura principalmente los COV's como aldehídos, alcoholes, cetonas, hidrocarburos, indoles y jasmonatos, son los que actúan como fitohormonas, estimulando la promoción del crecimiento y el desarrollo vegetal (Gutiérrez-Luna *et al.*, 2010; Schwartz *et al.*, 2013; Molina-Romero *et al.*, 2015; Jishma *et al.*, 2017; Fincheira y Quiroz, 2018; Bukhat *et al.*, 2020; Piechulla *et al.*, 2020). En las interacciones planta-microorganismo se dio la presencia de moléculas con diversos grupos funcionales, principalmente encontramos ésteres (benzoato de bencilo, Z-10-metil-11-tetradecen-1-ol propionato, n-hexyl salicilato, isobutirato de fenoxietilo y diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol), cetonas (oxacicloheptadecan-2-ona, 6,10-dimethyl-9-undecen-2-ona, 2-norbornanona, 3-hydroxy-pregnan-20-ona, 2-metileno-ciclododecanona, 1'-acetonaftona, 2-hydroxy-ciclopentadecanona, éteres (2-etoxy-naftaleno, isoaromadendreno epóxido, 9-oxabicyclo[6.1.0]nonano y 1,1'-oxybis-octano), fenoles (4-(1,1-dimetilpropil)-fenol y fenol), ácidos alifáticos (ácido hexadecanoico derivado de TMS, ácido palmitelaidico y oleico TMS), alcoholes (tridecanol, cedrol, farnesol y (S)-1-dodecanol-2-methyl-), aldehídos (piperonal, isociclocitral, (E)-cinamaldeído, hexadecenal, lilial y 2-heptadecenal), alcanos (dodecano, hexano y undecano), alquenos (3-careno, 7-heptadeceno y 1-nonadeceno) y algunos compuestos aromáticos (etilbenceno y 1-metildecil-benceno), de una manera no tan abundante se recuperaron algunos de familias como sesquiterpenos (longifoleno), cumarinas (cumarina [2H-1-benzopirán-2-ona] y 4,4,5,7,8-pentametil dihidrocumarina), ácidos carboxílicos (ácidos tetra, hexa y octadecanoicos), carbazoles (7-metil-7H-dibenzo[b,g]carbazol y 5-metil-5H-nafto[2,3-c]carbazol), tiazoles (benzotiazol), halogenuros (1-clorohexadecano, 2-iodoadamantano y 1-cloro-7-heptadeceno) e indoles (3-metil-3H-nafto[1,2-E]indol-10-ol y 2-metil-7-fenilindol).

Respecto a lo ya reportado de algunos COV's encontramos por ejemplo, que algunos ácidos como el hexadecanoico, dodecanoico y el dodecano mostraron actividades antifúngicas contra especies de hongos fitopatógenos como *Aspergillus niger*, *A. flavus* y *Fusarium solani* (Mohy y Mohyeldin, 2018), también existen trabajos que indican que compuestos de las familias como piperonal y cumarinas tienen propiedades antibacterianas (Shahrajabian y Sun, 2023), por otra parte compuestos fenólicos y derivados de cumarinas se han estado probando con efectos insecticidas (Walia *et al.*, 2017), el aceite esencial de cinamaldehído obtenido de las hojas de *Cinnomomum osmophloeum* ha sido estudiado con efectos potenciales con actividad larvicida contra mosquitos (Cheng *et al.*, 2004), el citral se ha probado contra ácaros y se utiliza como materia prima para producir plaguicidas (Ellis y Baxendale, 1997). Así mismo, se han llevado a cabo estudios de compuestos extraídos de algunas especies de *Asparagus* donde el benzaldehído, pregnano-11,20-diona y algunos otros aldehídos, éteres y alcoholes presentaron actividad contra *Escherichia coli* y *Brucella* spp. (Dowek, 2022).

Los compuestos analizados en su mayoría no han sido encontrados en la literatura con reportes como agentes promotores del crecimiento vegetal, pero sí es importante mencionar que por su naturaleza y las familias a las que pertenecen pueden derivar y desencadenar la síntesis de nuevas moléculas, o bien, de todos los compuestos participes se generan mezclas complejas que pueden producir distintas respuestas y cambios en las comunicaciones de la planta y el microorganismo, la producción y síntesis de metabolitos puede variar según la especie utilizada y las condiciones en las que esta se encuentre, también algunos llegan a ser exclusivos de ciertos organismos (Jishma *et al.*, 2017), lo que nos deja ver que estamos ante sistemas ampliamente diversos y complejos. Basado con lo que se ha estado estudiando, se ha encontrado que las plantas son capaces de percibir señales de los COV's y de los demás metabolitos que producen las bacterias, todos los beneficios que generan las cepas están implicados en funciones para el desarrollo del sistema de raíces, así como la asimilación de agua y nutrientes (Fincheira y Quiroz, 2018). Los exudados de las raíces permiten la comunicación, y mucho de esto se ve implicado principalmente por su composición y naturaleza química (Fincheira y Quiroz, 2018; Bukhat *et al.*, 2020; Piechulla *et al.*, 2020).

CONCLUSIONES

Se lograron aislar y caracterizar cuatro bacterias con características de crecimiento vegetal. Los filtrados demostraron un efecto superior en la promoción de crecimiento vegetal comparado con la aplicación directa de las bacterias. Los mejores efectos en la promoción de crecimiento vegetal *in vitro* para *Arabidopsis thaliana* fueron los tratamientos de At/Bs, At/Bf y At/BfF, para el caso de la evaluación de rendimiento los tratamientos AtB31F, At-BaF, At/BsF y At/BfF esto nos indica que el pretratamiento de interacciones en plántulas afecta el desarrollo posterior del cultivo, y que el efecto de los filtrados en plantas de *A. thaliana* y jitomate son consistentes en el crecimiento vegetal. Con base en nuestro análisis, proponemos que las mezclas de compuestos presentes en los filtrados y su respuesta a las interacciones de las moléculas de señalización liberadas por las plantas y el ambiente pueden ser de los principales factores que influyen en la arquitectura y el crecimiento de la raíz, siendo probable que las características bacterianas de cada especie y la producción de su metabolismo participen en ello, con esto podremos generar posteriormente nuevas estrategias de tratamientos en almácigos y en trasplantes para garantizar un amplio espectro de participación de estas biomoléculas.

LITERATURA CITADA

- Adekambi, S. A., Adegbola, P. Y., & Arouna, A. (2010). *Perception paysanne et adoption des biopesticides et/ou extraits botaniques en production maraîchère au Bénin* (No. 308-2016-5077, i-21).
- Alarcón A. (2006). *Anuario estadístico: Yucatán* (Vol. 1). Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática.
- Alaylar, B. (2022). Isolation and characterization of culturable endophytic plant growth-promoting *Bacillus* species from *Mentha longifolia* L. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 46(1), 73-82.
- Álvarez Medina, M. T., Núñez Ramírez, M. A., Wendlandt Amezaga, T. R. (2017). Caracterización de la cadena de valor del tomate rojo fresco en México (Characterization of the of red fresh tomato value chain in Mexico). *Revista Global de Negocios*, 5(3), 45-58.
- Anguiano Cabello, J. C., Flores Olivas, A., Olalde Portugal, V., Arredondo Valdés, R., Laredo Alcalá, E. I. (2019). Evaluation of *Bacillus subtilis* as promoters of plant growth. *Revista bio ciencias*, 6.
- Bertani, G. (1951). Studies on lysogenesis I.: the mode of phage liberation by lysogenic *Escherichia coli* 1. *Journal of bacteriology*, 62(3), 293.
- Bosch, M., Costa, J.L., Cabria F.N., Aparicio, V.C. (2012). Relación entre la variabilidad espacial de la conductividad eléctrica y el contenido de sodio del suelo. *Ciencia del Suelo*. 30(2), 27-38.
- Bukhat, S., Imran, A., Javaid, S., Shahid, M., Majeed, A., Naqqash, T. (2020). Communication of plants with microbial world: Exploring the regulatory networks for PGPR mediated defense signaling. *Microbiological research*, 238, 126-486.
- Camacho, A. B. (2017). Bacterias antagonistas a *Sclerotinia sclerotiorum* como una alternativa biológica al control del moho blanco en frijol.
- Cano, M. A. (2011). Interacción de microorganismos benéficos en plantas: Micorrizas, *Trichoderma* spp. y *Pseudomonas* spp. Una revision. *Revista UDCA Actualidad y Divulgación Científica*, 14(2), 15-31.
- Cantrell C.L., Dayan F.E., Duke S.O. (2012). Natural products assources for new pesticides. *Journal of Natural Products*, 75(6): 1231-1242.

- Cepeda-Guzmán, A, Valdez-Aguila, LA, Castillo-González, AM, Ruiz-Torres, NA, Roblesdo-Torres, V, Mendoza-Villarreal, R. (2014). Respuestas de lechuga a la conductividad eléctrica con riego superficial y subrrigación. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 5(7), 1233-1245.
- Chatterjee, S., Sau, G. B., Sinha, S., Mukherjee, S. K. (2012). Effect of co-inoculation of plant growth-promoting rhizobacteria on the growth of amaranth plants. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 58(12), 1387-1397.
- Chen, L.H.; Cui, Y.Q.; Yang, X.M.; Zhao, D.K.; Shen, Q.R. (2012). An antifungal compound from *Trichoderma harzianum* SQR-T037 effectively controls *Fusarium* wilt of cucumber in continuously cropped soil. *Australas. Plant Path.* 41, 239–245.
- Cheng S.S., Liu JY, Tsai K.H., Chen W.J., Chang S.T. (2004). Composición química y actividad larvicida de mosquitos de aceites esenciales de hojas de diferentes procedencias de *Cinnamomum osmophloeum*. *J Agric Food Chem* 52, 4395–4400
- Dowek, S. I. (2022). Biochemical Studies on Some Palestinian Medical Plants. [Tesis de Maestría, Hebron University]. Hebron University Institutional Repository: <http://dspace.hebron.edu:8080/xmlui/handle/123456789/1172>
- Dutta, S., Kang, J. A., Van Khanh, N., Choi, S. Y., Lee, Y. H. (2023). 세균벼알마름 방제 및 식물 생육촉진 효과를 나타내는 *Cytobacillus firmus* JBRS159 균주의 유전체 염기서열. *Korean Journal of Microbiology*, 59(1), 55-57.
- El-Esawi, MA, Alaraidh, IA, Alsahli, AA, Alamri, SA, Ali, HM y Alayafi, AA (2018). *Bacillus firmus* (SW5) aumenta la tolerancia a la sal en la soja (*Glycine max* L.) mediante la modulación de la arquitectura del sistema radicular, los sistemas de defensa antioxidantes y la expresión de genes de respuesta al estrés. *Fisiología y bioquímica vegetal*, 132, 375-384.
- Ellis, M. D., Baxendale, F. P. (1997). Toxicity of seven monoterpenoids to tracheal mites (Acari: Tarsonemidae) and their honey bee (Hymenoptera: Apidae) hosts when applied as fumigants. *Journal of economic entomology*, 90(5), 1087-1091.
- Erturk, Y., Ercisli, S., Haznedar, A., Cakmakci, R. (2010). Effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on rooting and root growth of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) stem cuttings. *Biological Research*, 43(1), 91-98.
- Feijoo, M.A.L. (2016). Microorganismos eficientes y sus beneficios para los agricultores. *Revista Científica Agroecosistemas*, 4(2), 31-40.

- Fincheira, P., Quiroz, A. (2018). Microbial volatiles as plant growth inducers. *Microbiological Research*, 208, 63-75.
- Food and Agriculture Organization of the United States (FAO). (2019). Agricultura mundial: hacia los años 2015/2030. Rome (Italia): FAO.
- French, E. R. y Hebert, T. T. (1980). Métodos de investigación fitopatológica. No. 43. Bib. Orton IICA/CATIE. Pp. 37.
- Gavrilescu, M. y Chisti, Y. (2005). Biotechnology a sustainable alternative for chemical industry. *Biotechnology advances*, 23(7-8), 471-499.
- Gutiérrez Bouzán, M. y Droguet, M. (2002). La cromatografía de gases y la espectrometría de masas: identificación de compuestos causantes de mal olor. *Boletín Intexter*, julio 2002, 122, 35-41.
- Gutiérrez-Luna, F.M., López-Bucio, J., Altamirano-Hernández, J. (2010). Las rizobacterias que promueven el crecimiento de las plantas modulan la arquitectura del sistema de raíces en *Arabidopsis thaliana* a través de la emisión de compuestos orgánicos volátiles. *Simbiosis* 51, 75–83.
- Hansen, V., Bonnichsen, L., Nunes, I., Sexlinger, K., Lopez, S. R., Van Der Bom, F. J. T., Jensen, L. S. (2020). Seed inoculation with *Penicillium bilaiae* and *Bacillus simplex* affects the nutrient status of winter wheat. *Biology and Fertility of Soils*, 56, 97-109.
- Hayat, R., Ali, S., Amara, U., Khalid, R., Ahmed, I. (2010). Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. *Annals of microbiology*, 60(4), 579-598.
- Huang, M., Bulut, A., Shrestha, B., Matera, C., Grundler, F. M., Schleker, A. S. S. (2021). *Bacillus firmus* I-1582 promotes plant growth and impairs infection and development of the cyst nematode *Heterodera schachtii* over two generations. *Scientific reports*, 11(1), 14114.
- Jasso, C. (2007). INIFAP, Curso de hortalizas en invernadero.
- Jishma, P., Hussain, N., Chellappan, R., Rajendran, R., Mathew, J., Radhakrishnan, E. K. (2017). Strain-specific variation in plant growth promoting volatile organic compounds production by five different *Pseudomonas* spp. as confirmed by response of *Vigna radiata* seedlings. *Journal of applied microbiology*, 123(1), 204-216.

- Khan, N., Martínez-Hidalgo, P., Ice, T. A., Maymon, M., Humm, E. A., Nejat, N., Hirsch, A. M. (2018). Antifungal activity of *Bacillus* species against *Fusarium* and analysis of the potential mechanisms used in biocontrol. *Frontiers in microbiology*, 9, 2363.
- Liu, S., Tian, Y., Jia, M., Lu, X., Yue, L., Zhao, X., Wang, R. (2020). Induction of salt tolerance in *Arabidopsis thaliana* by volatiles from *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 via the jasmonic acid signaling pathway. *Frontiers in Microbiology*, 11, 562934.
- Maguire, J. D. (1962). Speed of germination Aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor 1. *Crop science*, 2(2), 176-177.
- Mazzei, P., Vinale, F., Woo, S.L., Pascale, A., Lorito, M., Piccolo, A. (2016). Metabolomics by ¹H-HRMAS-NMR of tomato plants treated with two secondary metabolites isolated from *Trichoderma*. *J. Agric. Food. Chem.* 64, 1021–1055.
- Mohy El-Din, S. M., Mohyeldin, M. M. (2018). Component analysis and antifungal activity of the compounds extracted from four brown seaweeds with different solvents at different seasons. *Journal of Ocean University of China*, 17, 1178-1188.
- Molina-Romero, D., Bustillos-Cristales, M. D. R., Rodríguez-Andrade, O., Morales-García, Y. E., Santiago-Saenz, Y., Castañeda-Lucio, M., Muñoz-Rojas, J. (2015). Mecanismos de fitoestimulación por rizobacterias, aislamientos en América y potencial biotecnológico. *Biológicas*, 17(2), 24-34.
- Monge-Cerdas, A. S. (2007). Evaluación del crecimiento y desarrollo de plántulas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) Mill y Chile dulce (*Capsicum annuum*) Linn, mediante la utilización de seis sustratos y tres métodos de fertilización en el cantón de San Carlos, Costa Rica. [Tesis Doctoral, Instituto Tecnológico de Costa Rica]. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/60991235.pdf>
- Pathak, J., Pandey, A., Singh, S. P., Sinha, R. P. (2017). World Agriculture and Impact of Biotechnology. En: Dubey SK, PandeyA, Sangwan RS. Current Developments in Biotechnology and Bioengineering. Amsterdam: Elsevier. 1-22.
- Piechulla, B., Lemfack, M. C., & Magnus, N. (2020). Bioactive bacterial organic volatiles: an overview and critical comments. *Bacterial Volatile Compounds as Mediators of Airborne Interactions*, 39-92.
- Rhoades, J. D., Chanduvi, F., Lesch, S. M. (1999). Soil salinity assessment: Methods and interpretation of electrical conductivity measurements. FAO Irrigation and Drainage. Roma, Italy. 57.

- Ruane, J., Sonnino, A. (2011). Agricultural biotechnologies in developing countries and their possible contribution to food security. *Journal of Biotechnology*, 156(4): 356-363.
- Ryu, C. M., Hu, C. H., Locy, R. D., Kloepper, J. W. (2005). Study of mechanisms for plant growth promotion elicited by rhizobacteria in *Arabidopsis thaliana*. *Plant and Soil*, 268(1), 285-292.
- Saeed, M.F., Shaheen, M., Ahmada, I., Zakir, A., Nadeema, M., Chishti, A.A., Shahid, M., Bakhsh, K., Damalas, C.A. (2017). Pesticide exposure in the local community of Vehari District in Pakistan: An assessment of knowledge and residues in human blood. *Science of The Total Environment*, 587-588: 137-144.
- Schwartz, A. R., Ortiz, I., Maymon, M., Herbold, C. W., Fujishige, N. A., Vijanderan, J. A., Hirsch, A. M. (2013). *Bacillus simplex* a little known PGPB with anti-fungal activity alters pea legume root architecture and nodule morphology when coinoculated with *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*. *Agronomy*, 3(4), 595-620.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, (SIAP). (2021). Panorama Agroalimentario, 2020. Disponible en: https://nube.siap.gob.mx/gobmx_publicaciones_siap/pag/2020/Atlas-Agroalimentario-2021
- Shahrajabian, M. H., Sun, W. (2023). Survey on medicinal plants and herbs in traditional Iranian medicine with antioxidant, anti-viral, anti-microbial, and anti-inflammation properties. *Letters in Drug Design and Discovery*, 20(11), 1707-1743.
- Stashenko, E. E., Martínez, J. R. (2010). Separar, fragmentar e integrar: la rutina de un análisis por GC-MS. Patrones de fragmentación de moléculas orgánicas. *Scientia Chromatographica*, 2(2), 23-46.
- Tak, H. I., Bakhtiyar, Y., Ahmad, F., Inam, A., Lee, T. S. (2012). Effluent quality parameters for safe use in agriculture. *Water quality, soil and managing irrigation of crops*, 23-36.
- Gamiño, M., Vázquez, J. R. C., Télles, J. A. R., Garza, E. (2012). INIFAP. Guía para cultivar jitomate en condiciones de malla sombra en San Luis Potosí.
- Valentín, M. Karina J. (2018). Efecto de la sacarosa, cromo y deficiencia de fosfato, sobre el crecimiento y desarrollo de la raíz de *Arabidopsis thaliana* L. [Tesis de Maestría, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo]. Repositorio Institucional

- Vanegas, A. M., Pavas, D. A., Osorno, J. C. (2019). Metabolitos secundarios en *Trichoderma* sp. y sus aplicaciones biotecnológicas agrícolas. *Actualidades Biológicas*, 41(111), 32-44.
- Verma, M., Brar, S. K., Tyagi, R. D., Surampalli, R.Y., Valero, J. R. (2007). Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: panoply of biological control. *Biochemical Engineering Journal*, 37(1): 1-20.
- Villasanti, C., y Pantoja, A. (2013). El cultivo de tomate con buenas prácticas agrícolas en la agricultura urbana y periurbana. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura: Asunción, Paraguay.
- Vinale, F., Strakowska, J., Mazzei, P., Piccolo, A., Marra, R., Lombardi, N., Manganiello, G., Pascale, A., Woo, S.L., Lorito, M. (2016). Cremenolide, a new antifungal, 10-member lactone from *Trichoderma cremeum* with plant growth promotion activity. *Nat. Prod. Res.* 30, 2575–2581
- Vinale, F., Flematti, G., Sivasithamparam, K., Lorito, M., Marra, R., Skelton, B. W., & Ghisalberti, E. L. (2009). Harzianic acid, an antifungal and plant growth promoting metabolite from *Trichoderma harzianum*. *Journal of Natural Products*, 72(11), 2032-2035.
- Walia, S., Saha, S., Tripathi, V., Sharma, K. K. (2017). Phytochemical biopesticides: some recent developments. *Phytochemistry reviews*, 16, 989-1007.
- Xing, Z., Wu, X., Zhao, J., Zhao, X., Zhu, X., Wang, Y., Duan, Y. (2020). Isolation and identification of induced systemic resistance determinants from *Bacillus simplex* Sneb545 against *Heterodera glycines*. *Scientific Reports*, 10(1), 11586.
- Yang, Z., Yu, Z., Lei, L., Xia, Z., Shao, L., Zhang, K., Li, G. (2012). Nematicidal effect of volatiles produced by *Trichoderma* sp. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 15(4), 647-650.
- Zeilinger, S., Gruber, S., Bansal, R., Mukherjee, P. K. (2016). Secondary metabolism in *Trichoderma*-Chemistry meets genomics. *Fungal Biology Reviews*, 30(2): 74-90.

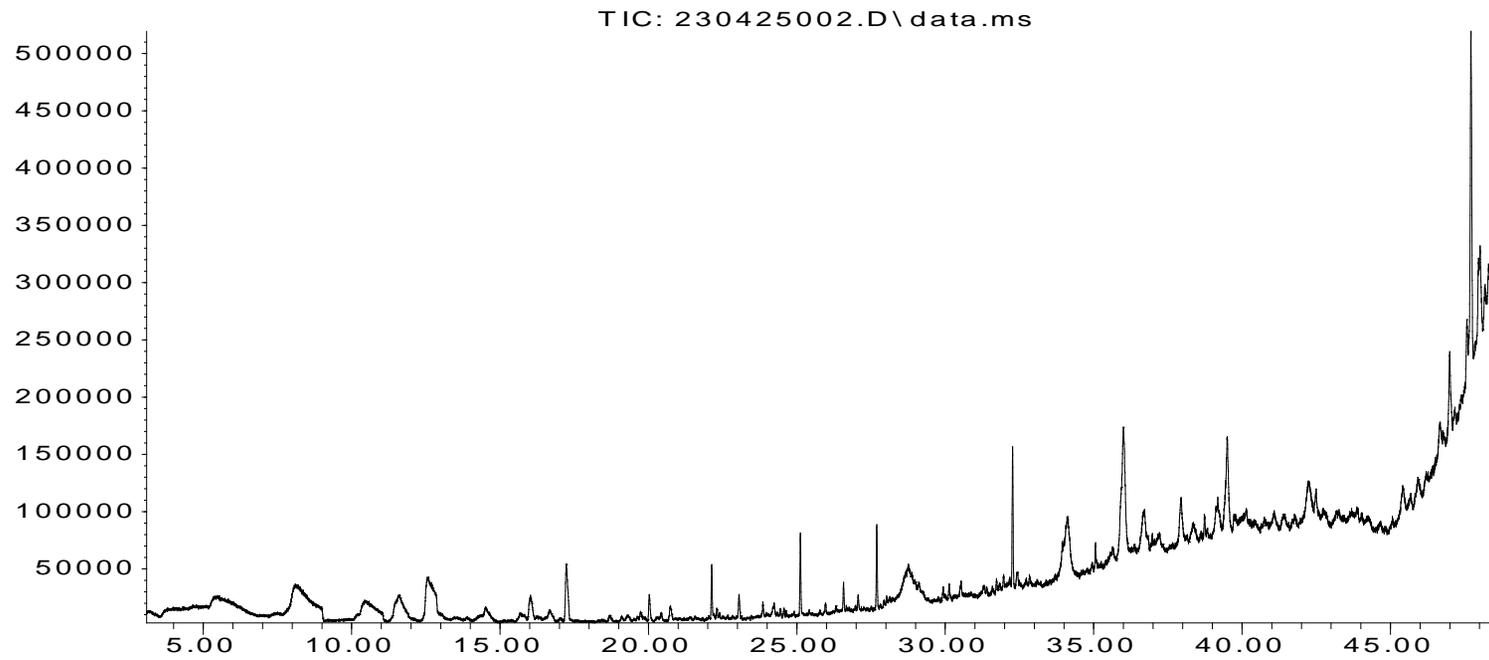
ANEXOS

Tabla 1. Compuestos encontrados a los 10 días en la interacción de plantas (At) sin inocular, fórmula, tiempo de retención, grupo funcional característico y el número de identificación para cada sustancia (CAS).

<i>At</i> - 10 días						
	COMPUESTO	FM¹	TR²(min)	GF³	CAS⁴	%
1	4,7-Methano-5H-inden-5-one, octahydro-	C10H14O	23.054	cetona	13380-94-4	96
2	Ethanol, 2-(9-octadecenyloxy)-, (Z)-	C20H40O2	36.002	éter	5353-25-3	93
3	1-Cyclohexylnonene	C15H28	36.063	alqueno	114614-84-5	93
4	2-Propenoic acid, n-tridecyl ester	C17H32O	32.27	éster	245-63-8	91
6	Cyclododecane	C12H24	27.063	alcano	294-62-2	90
7	Styrene	C8H8	10.426	aromático	100-42-5	90
8	1,15-Hexadecadiene	C16H30	35.941	alqueno	21964-51-2	90
17	Aspidospermidin-17-ol, 1-acetyl-19,21-epoxy-15,16-dimethoxy-	C23H30N2O5	39.329	amina	2122-26-1	90
9	E-2-Octadecadecen-1-ol	C18H36O	36.732	alcohol	131-10-2	87
10	Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (S)-	C10H16		alqueno	5989-54-8	81
11	1,5-Cyclooctadiene, 1,5-dimethyl-	C10H16	14.492	alqueno	3760-14-3	81
12	9-Octadecenoic acid (Z)-, octadecyl ester	C36H70O2	37.915	éster	17673-49-3	72
13	Acetophenone	C8H8O	15.722	cetona	98-86-2	64
14	1,1-Dodecanediol, diacetate	C16H30O4		alcohol		64
15	1-Dotriacontanol	C32H66O	38.345	alcohol	6624-79-9	64
16	1,2-Benzenedicarboxylic acid, diisooctyl ester	C24H38O4	34.15	éster	27554-26-3	64

¹FM. Fórmula molecular. ²TR. Tiempo de retención. ³GF. Grupo funcional. ⁴CAS. Chemical Abstracts Service.

Abundance



Time-->

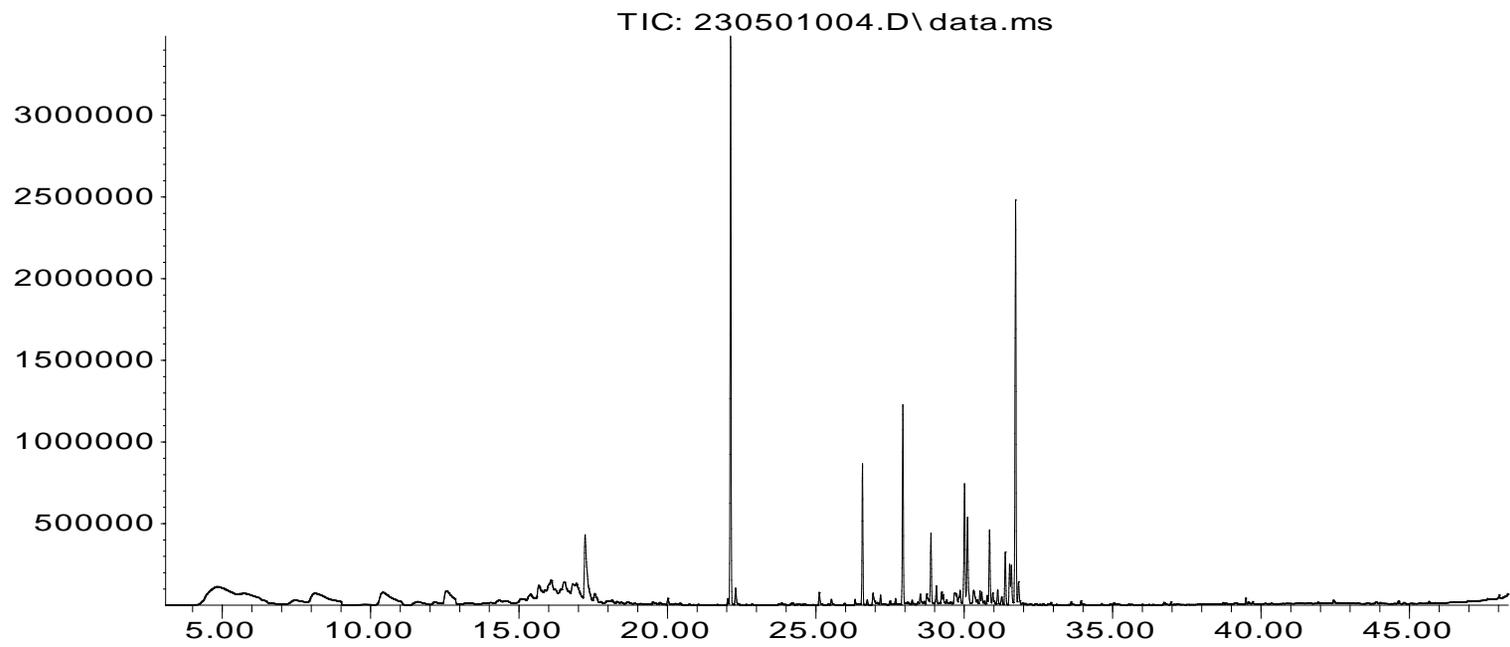
Figura 1. Cromatograma de la interacción de plantas (At) sin inocular a los 10 días.

Tabla 2. Compuestos encontrados a los 10 días en la interacción de plantas con la bacteria *B. simplex* (At/Bs), fórmula, tiempo de retención, grupo funcional característico y el número de identificación para cada sustancia (CAS).

<i>At/Bs</i> - 10 días					
COMPUESTO	FM ¹	TR ² (min)	GF ³	CAS ⁴	%
1 Acetic acid, 1,7,7-trimethyl-bicyclo[2.2.1]hept-2-yl ester	C12H20O2	22.322	éster	92618-89-8	91
2 Phenol, 4-(1,1-dimethylpropyl)-	C11H16O	25.153	fenol	80-46-6	86
3 Octane, 1,1'-oxybis-	C16H34O	17.449	éter	629-82-3	68
4 Nonane, 4-methyl-	C10H22	17.635	alcano	17301-94-9	64
5 Undecane	C11H24	16.957	alcano	1120-21-4	90
6 Undecane, 5-methyl-	C12H26	16.835	alcano	1632-70-8	87
7 2-Iodoadamantane	C10H15I	28.878	halogenuro	210-25-2	72
8 Nonadecane	C19H40	17.144	alcano	629-92-5	80

¹FM. Fórmula molecular. ²TR. Tiempo de retención. ³GF. Grupo funcional. ⁴CAS. Chemical Abstracts Service.

Abundance



Time-->

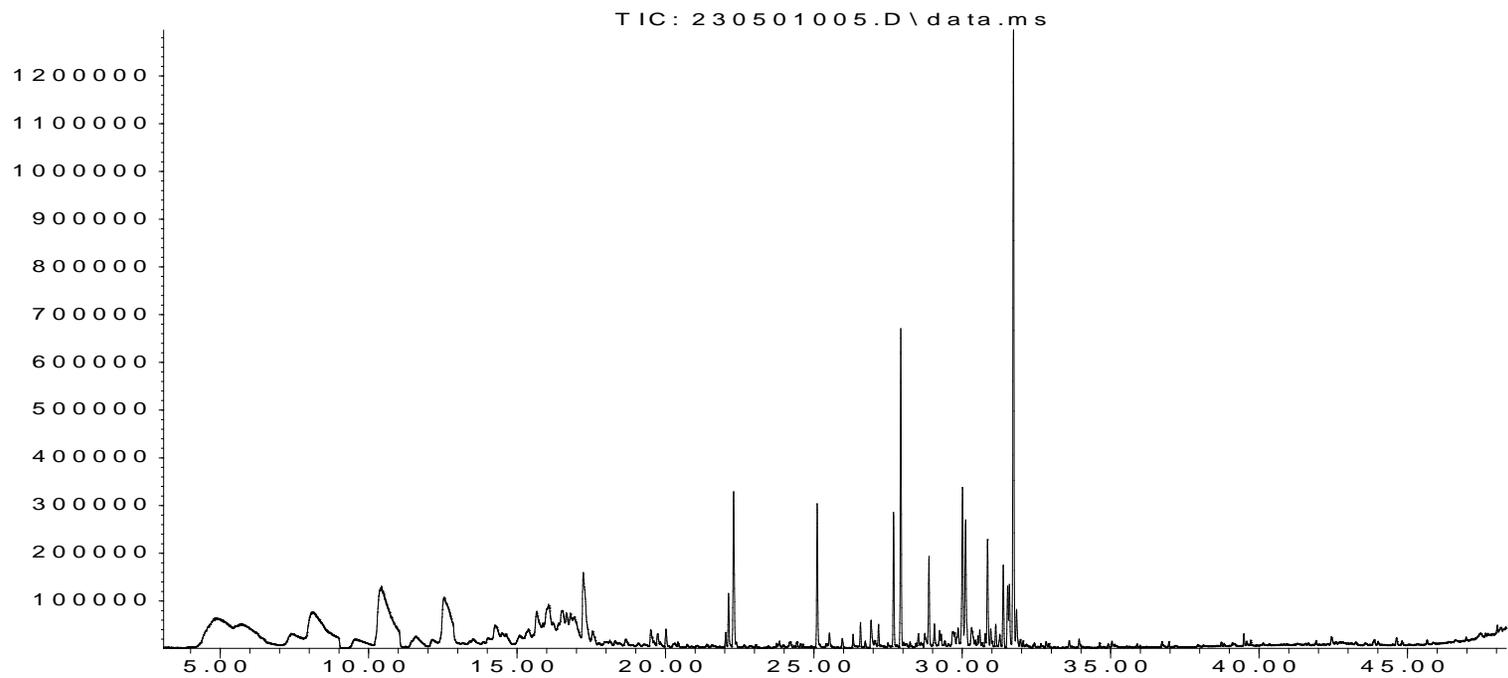
Figura 2. Cromatograma de la interacción de plantas con la bacteria *B. simplex* (*At/Bs*), a los 10 días.

Tabla 3. Compuestos encontrados a los 10 días en la interacción de la bacteria *B. simplex* (*Bs*) sin plantas, fórmula, tiempo de retención, grupo funcional característico y el número de identificación para cada sustancia (CAS).

<i>Bs</i> - 10 días					
COMPUESTO	FM ¹	TR ² (min)	GF ³	CAS ⁴	%
1 Dodecane	C12H26	19.508	alcano	112-40-3	90
2 Ethylbenzene	C8H10	9.5	arómico	100-52-7	87
3 Decane, 2,3,5,8-tetramethyl-	C14H30	16.157	alcano	192823-15-7	72
4 Propanoic acid, 2-methyl-, 3-hydroxy-2,4,4-trimethylpentyl ester	C12H24O3	25.554	éster	77-68-9	72
5 3-Carene	C10H16		alqueno	13466-78-9	70
6 7-Oxabicyclo[2.2.1]heptane, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-	C10H18O	14.064	éter	470-67-7	70
7 Undecane	C11H24	16.713	alcano	1120-21-4	86
8 Undecane, 5-methyl-	C12H26	16.835	alcano	1632-70-8	78
9 2-Iodoadamantane	C10H15I	28.878	halogenuro	210-25-2	64

¹FM. Fórmula molecular. ²TR. Tiempo de retención. ³GF. Grupo funcional. ⁴CAS. Chemical Abstracts Service.

Abundance



Time -->

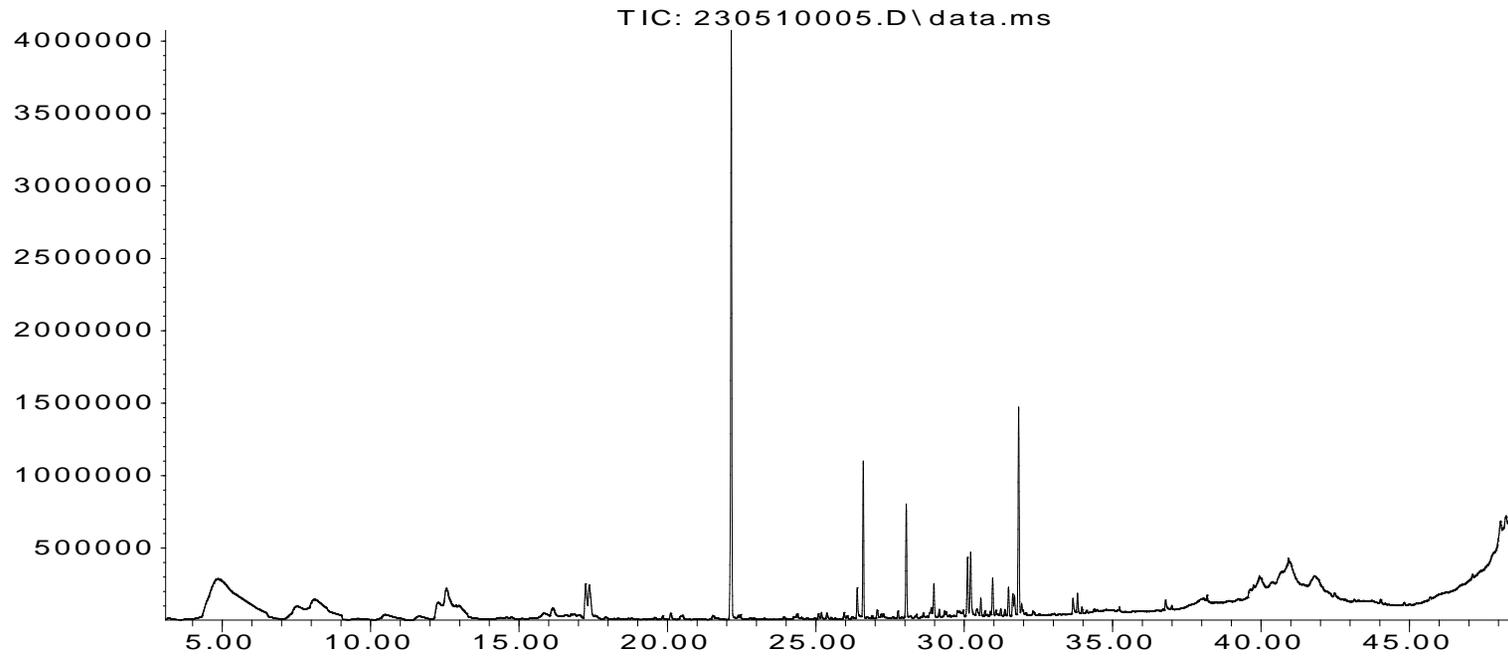
Figura 3. Cromatograma de la interacción de la bacteria *B. simplex* (*Bs*) sin plantas a los 10 días.

Tabla 4. Compuestos encontrados a los 10 días en la interacción de plantas con la bacteria *B. firmus* (*At/Bf*), fórmula, tiempo de retención, grupo funcional característico y el número de identificación para cada sustancia (CAS).

<i>At/Bf</i> - 10 días					
COMPUESTO	FM ¹	TR ² (min)	GF ³	CAS ⁴	%
1 Benzoic acid, 4-methyl-2-trimethylsilyloxy-, trimethylsilyl ester	C14H24O3Si2	17.366	éster	153-59-3	72
2 2-Ioadamantane	C10H15I	28.982	halogenuro	210-25-2	64
3 1-Ethyl-1(1-cyclobutylidenethyl)cyclobutane	C12H20	29.147	alcano	215-13-7	62
4 Phenol, 4-(1,1-dimethylpropyl)-	C11H16O	25.401	fenol	80-46-6	72
5 Dodecane	C12H26	17.007	alcano	112-40-3	64
6 2-Methyl-Z,Z-3,13-octadecadienol	C19H36O	47.525	alcohol	130-90-5	91

¹FM. Fórmula molecular. ²TR. Tiempo de retención. ³GF. Grupo funcional. ⁴CAS. Chemical Abstracts Service.

Abundance



Time-->

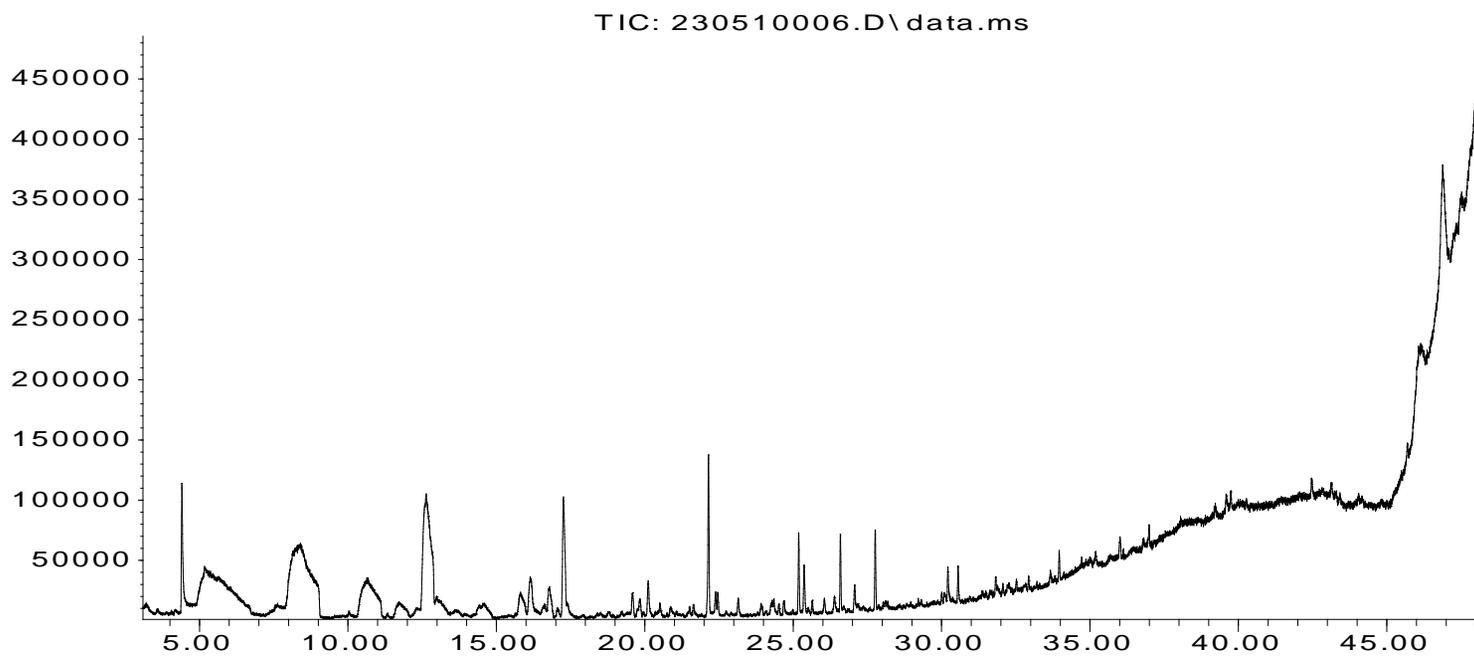
Figura 4. Cromatograma de la interacción de plantas con la bacteria *B. firmus* (At/Bf), a los 10 días.

Tabla 5. Compuestos encontrados a los 10 días en la interacción de la bacteria *B.firmus* (*Bf*) sin plantas, fórmula, tiempo de retención, grupo funcional característico y el número de identificación para cada sustancia (CAS).

<i>Bf</i> - 10 días						
	COMPUESTO	FM ¹	TR ² (min)	GF ³	CAS ⁴	%
1	Phenol	C6H6O	13.074	fenol	108-95-2	83
2	Undecane	C11H24	16.587	alcano	1120-21-4	81
3	Hexane	C6H14	4.404	alcano	110-54-3	78
4	3a,6-Methano-3ah-inden-5(4H)-one, hexahydro-	C10H14O	23.118	cetona		76
5	Tritetracontane	C43H88	22.44	alcano	7098-21-7	72
6	6-Octadecenal	C18H34O	37.33	aldehído	56554-88-2	64
7	Oxirane, hexadecyl-	C18H36O	47.033	éter	7390-81-0	62
8	6-Butyl-1,4-cycloheptadiene	C11H18	23.183	alqueno	22735-58-6	60
9	Carbamic acid, butylmethyl-, phenyl ester	C12H17NO2	13.013	éster	56644-61-0	60
10	Dodecane	C12H26	19.573	alcano	112-40-3	93
11	Phenol, 4-(1,1-dimethylpropyl)-	C11H16O	25.365	fenol	80-46-6	90

¹FM. Fórmula molecular. ²TR. Tiempo de retención. ³GF. Grupo funcional. ⁴CAS. Chemical Abstracts Service.

Abundance



Time-->

Figura 5. Cromatograma de la interacción de la bacteria *B. firmus* (*Bf*) sin plantas a los 10 días.

Tabla 6. Compuestos encontrados a los 10 días en la interacción de plantas con el filtrado de la bacteria *B. firmus* (At/BfF), fórmula, tiempo de retención, grupo funcional característico y el número de identificación para cada sustancia (CAS).

<i>At/BfF</i> - 10 días						
	COMPUESTO	FM ¹	TR ² (min)	GF ³	CAS ⁴	%
1	8-Octadecenoic acid, methyl ester, (E)-	C19H36O2	40.682	éster	26528-50-7	99
2	12-Octadecenoic acid, methyl ester	C19H38O2	40.685	éster	56554-46-2	99
3	Octadecanoic acid, methyl ester	C19H38O2	41.17	éster	112-61-8	98
4	Hexadecanoic acid, methyl ester	C17H34O2	39.515	éster	112-39-0	97
5	E-9-Tetradecenal	C14H26O		aldehído		93
6	2,6,10,14,18-Pentamethyl-2,6,10,14,18-eicosapentaene	C25H42	46.789	alqueno	75581-03-2	91
7	(s)(+)-Z-13-Methyl-11-pentadecen-1-ol acetate	C18H34O2	39.207	éster	130-84-8	91
8	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	C18H32O2	46.477	ácido carboxílico	60-33-3	91
9	1-Heptadecene	C17H34O2	32.119	alqueno	6765-39-5	90
10	7-Pentadecyne	C15H28	48.142	alquino	22089-89-0	90
11	1,5,9,13-Tetradecatetraene		48.329	alqueno	51487-38-8	89
12	Propyleneglycol monoleate	C21H40O3	47.582	éster	132-46-8	87
13	2-monoolein	C21H40O4	47.582	éster	003443-84-3	87
14	1,3,6,10-Cyclotetradecatetraene, 3,7,11-trimethyl-14-(1-methylethyl)-, [S-(E,Z,E,E)]-	C20H32	38.467	aromático	1898-13-1	87
15	Oxacycloheptadecan-2-one	C16H30O2		cetona	109-29-5	87
16	Z,Z-10,12-Hexadecadienal	C16H28O	33.784	aldehído	130-86-6	84
17	1,E-8,Z-10-Hexadecatriene	C16H28O	31.502	alqueno	625-33-8	83
18	1,5,9-Decatriene, 2,3,5,8-tetramethyl-	C14H24	37.111	alqueno	230646-72-7	83
19	Cyclopropaneoctanal, 2-octyl-	C19H36O2	45.616	aldehído	56196-06-6	81
20	1,3,6-Heptatriene, 2,5,6-trimethyl-	C10H16	37.667	alqueno	42123-66-0	80

21	Undecane, 3,5-dimethyl-	C13H28	16.526	alcano	17312-81-1	78
22	Undecane, 5-methyl-	C12H26	15.909	alcano	1632-70-8	78
23	Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis(1-methylethenyl)-, [1S-(1.alpha.,2.beta.,4.beta.)]-	C15H24		alqueno	515-13-9	78
24	9-Oxabicyclo[6.1.0]nonane	C8H14O		éter	286-62-4	78
25	Undecane, 4,6-dimethyl-	C12H28	16.218	alcano	17312-82-2	72
26	2-Dodecen-1-yl(-)succinic anhydride	C16H26O3	33.041	anhídrido	19780-11-1	68
27	Decyl oleate	C28H54O2	44.507	éster	3687-46-5	64
28	5-Eicosene, (E)-	C20H40		alqueno	74685-30-6	60
29	2-Methyl-Z,Z-3,13-octadecadienol	C19H36O	44.137	alcohol	130-90-5	95
30	1,5-Cyclooctadiene, 1,5-dimethyl-	C10H16	14.739	alqueno	3760-14-3	93
31	1,15-Hexadecadiene	C16H30	35.076	alqueno	21964-51-2	90
32	Cyclododecane	C12H24		alcano	294-62-2	64
33	Nonadecane	C19H40		alcano	629-92-5	62
34	Phosphonic acid, dioctadecyl ester	C36H75O3P	36.433	éster	19047-85-9	60

¹FM. Fórmula molecular. ²TR. Tiempo de retención. ³GF. Grupo funcional. ⁴CAS. Chemical Abstracts Service.

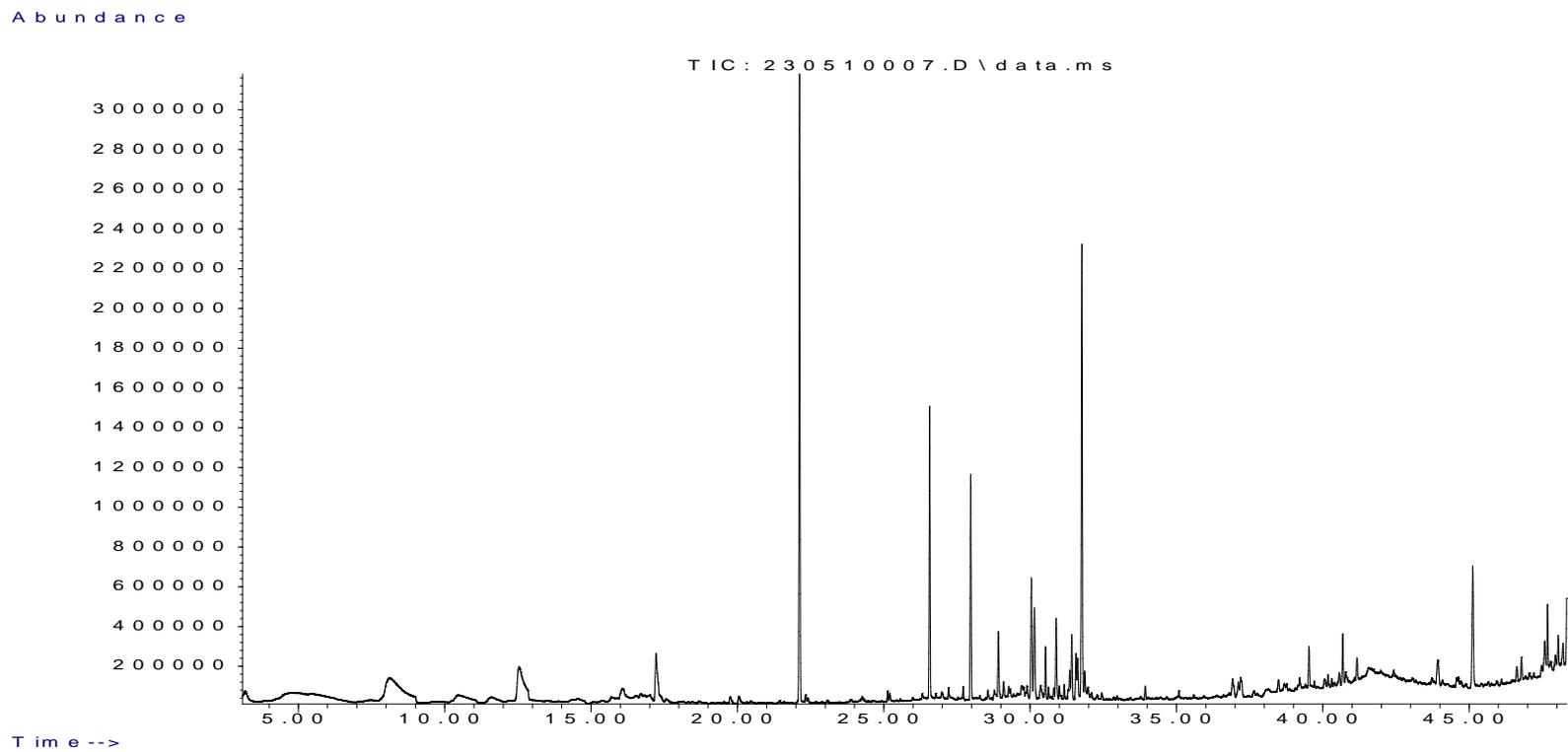


Figura 6. Cromatograma de la interacción de plantas con el filtrado de la bacteria *B. firmus* (At/BfF) a los 10 días.

Tabla 7. Compuestos encontrados a los 10 días en la interacción con el filtrado de la bacteria *B.firmus* (*BfF*) sin plantas, fórmula, tiempo de retención, grupo funcional característico y el número de identificación para cada sustancia (CAS).

<i>BfF</i> - 10 días					
COMPUESTO	FM ¹	TR ² (min)	GF ³	CAS ⁴	%
1 Undecane	C11H24		alcano	1120-21-4	53
2 1,6,9-Tetradecatriene					53

¹FM. Fórmula molecular. ²TR. Tiempo de retención. ³GF. Grupo funcional. ⁴CAS. Chemical Abstracts Service.

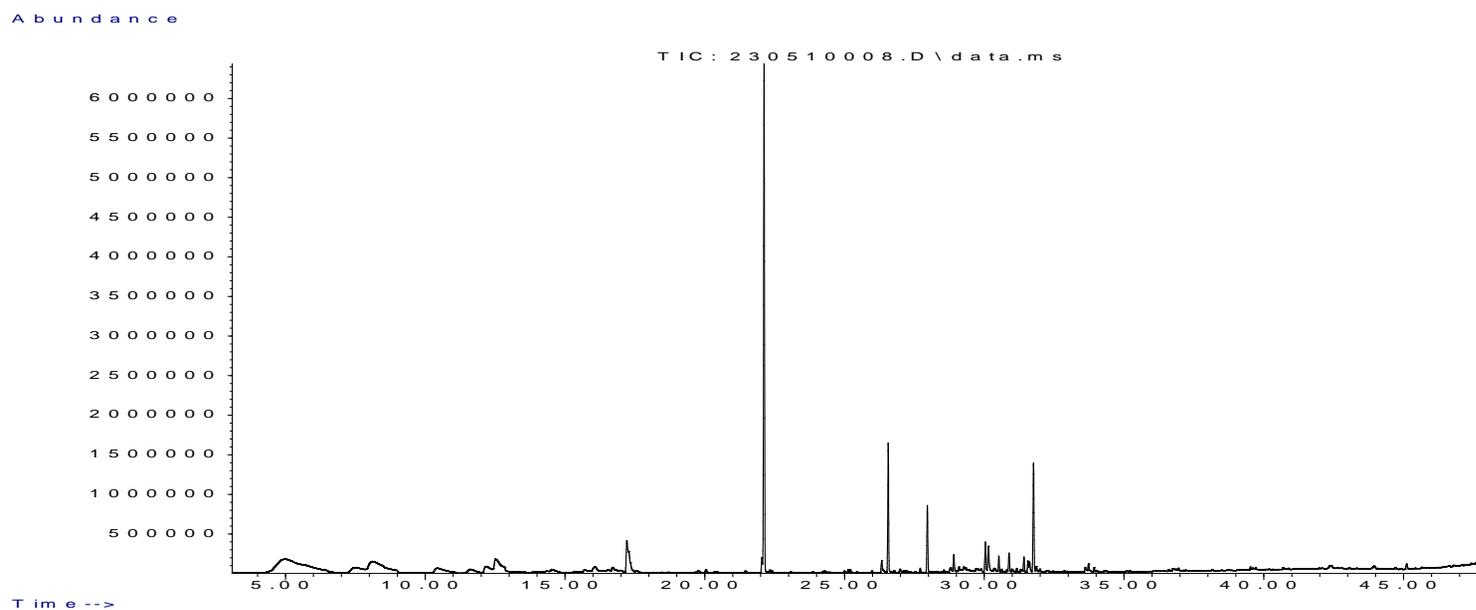


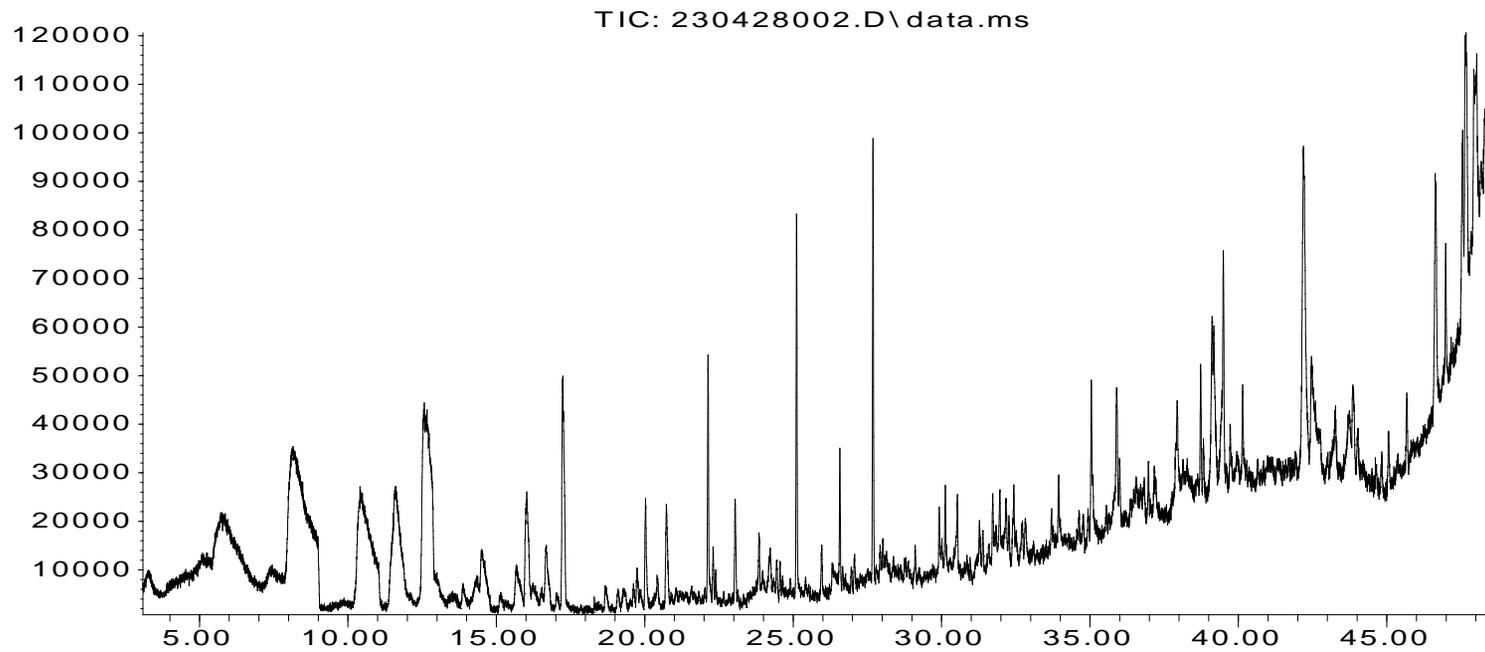
Figura 7. Cromatograma de la interacción de plantas con el filtrado de la bacteria *B. firmus* (*At/BfF*) sin plantas a los 10 días.

Tabla 8. Compuestos encontrados a los 13 días en la interacción de plantas (At) sin inocular, fórmula, tiempo de retención, grupo funcional característico y el número de identificación para cada sustancia (CAS).

<i>At</i> - 13 días					
COMPUESTO	FM ¹	TR ² (min)	GF ³	CAS ⁴	%
1 4,7-Methano-5H-inden-5-one, octahydro-	C10H14O	23.043	cetona	13380-94-4	98
2 Cyclopenta[g]-2-benzopyran, 1,3,4,6,7,8-hexahydro-4,6,6,7,8,8-hexamethyl-	C18H26	35.047	éter	1222-05-5	96
3 Hexadecanal	C16H32O	28.476	aldehído	629-80-1	93
4 1,3,5,7-Cyclooctatetraene	C8H8	10.856	aromático	629-20-9	90
6 Bicyclo[4.2.0]octa-1,3,5-triene	C8H8	10.6	aromático	694-87-1	90
7 Styrene	C8H8	10.3	aromático	100-42-5	87
8 Benzothiazole	C7H5NS	20.729	tiazole	95-16-9	81
17 1,3-Bis(trimethylsilyl)benzene	C12H22Si2	8.204	silano	13183-70-5	78
9 13-Octadecenal, (Z)-	C18H34O	38.729	aldehído	58594-45-9	76
10 7-Heptadecene, 1-chloro-	C17H33Cl		halogenuro	56554-78-0	76
11 2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate	C16H30O4	29.923	éster	6846-50-0	72
12 Tetratetracontane	C44H90	26.668	alcano	7098-22-8	64
13 Acetophenone	C8H8O	15.848	cetona	98-86-2	64
14 1-Cyclohexylnonene	C15H28	35.808	alqueno	114614-84-5	86
15 Phosphonic acid, dioctadecyl ester	C36H75O3P	32.241	éster	19047-85-9	60
16 Dodecane, 2,6,10-trimethyl-	C15H32	22.379	alcano	3891-98-3	59

¹FM. Fórmula molecular. ²TR. Tiempo de retención. ³GF. Grupo funcional. ⁴CAS. Chemical Abstracts Service.

Abundance



Time-->

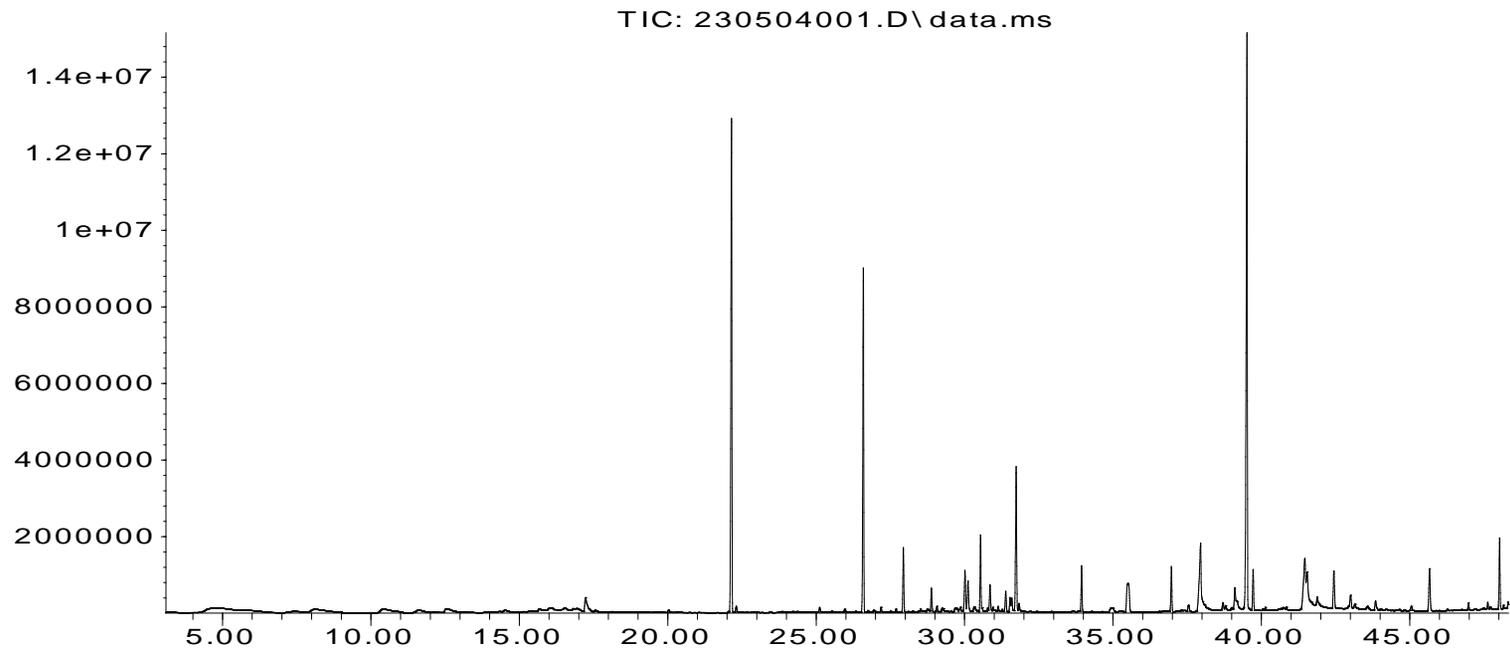
Figura 8. Cromatograma de la interacción de plantas (At) sin inocular a los 13 días.

Tabla 9. Compuestos encontrados a los 13 días en la interacción de plantas con la bacteria *B. simplex* (*At/Bs*), fórmula, tiempo de retención, grupo funcional característico y el número de identificación para cada sustancia (CAS).

<i>At/Bs</i> - 13 días						
	COMPUESTO	FM ¹	TR ² (min)	GF ³	CAS ⁴	%
1	Tetradecanoic acid, trimethylsilyl ester	C17H36O2Si	35.51	silano	18603-17-3	99
2	Tetradecanoic acid	C14H28O2	37.95	ácido carboxílico	544-63-8	96
3	n-Pentadecanoic acid, trimethylsilyl ester	C18H38O2Si	37.545	silano	217-01-0	96
4	Oleic acid TMS	C21H42O2Si	43.007	silano	141-48-4	93
5	Palmitelaidic acid, trimethylsilyl ester		39.206	silano	79-00-7	91
6	Octadecanoic acid	C18H36O2	38.098	ácido carboxílico	57-11-4	86
7	2-monoolein	C21H40O4	47.629		3443-84-3	78
8	9-Undecen-2-one, 6,10-dimethyl-	C13H24O	31.441	cetona	4433-36-7	70
9	Hexane, 3,3-dimethyl-	C8H18	17.94	alcano	563-16-6	64
10	Adamantane, 1-chloro-	C10H15Cl	28.853	halogenuro	935-56-8	64
11	Decane, 3,7-dimethyl-	C12H26	17.054	alcano	17312-54-8	62
12	Dibenz[a,h]anthracene	C22H14	44.259	aromático	53-70-3	59
13	Dihydrocoumarin, 4,4,5,7,8-pentamethyl	C14H18O2	27.185	cumarina	132-60-7	59
14	Undecane, 5-methyl-	C12H26	16.835	alcano	1632-70-8	87
15	2-Iodoadamantane	C10H15I	28.886	halogenuro	210-25-2	72
16	13-Octadecenal, (Z)-	C18H34O	38.797	aldehído	58594-45-9	93
17	Oxirane, tetradecyl-	C16H32O	33.041	éter	7320-37-8	90
18	Nonadecane	C19H40		alcano	629-92-5	89
19	Dodecane, 2,6,10-trimethyl-	C15H32	17.355	alcano	3891-98-3	72
20	Benzaldehyde, 2,4-bis(trimethylsiloxy)-	C13H22O3Si2	17.226	silano	33617-38-8	64

¹FM. Fórmula molecular. ²TR. Tiempo de retención. ³GF. Grupo funcional. ⁴CAS. Chemical Abstracts Service.

Abundance



Time-->

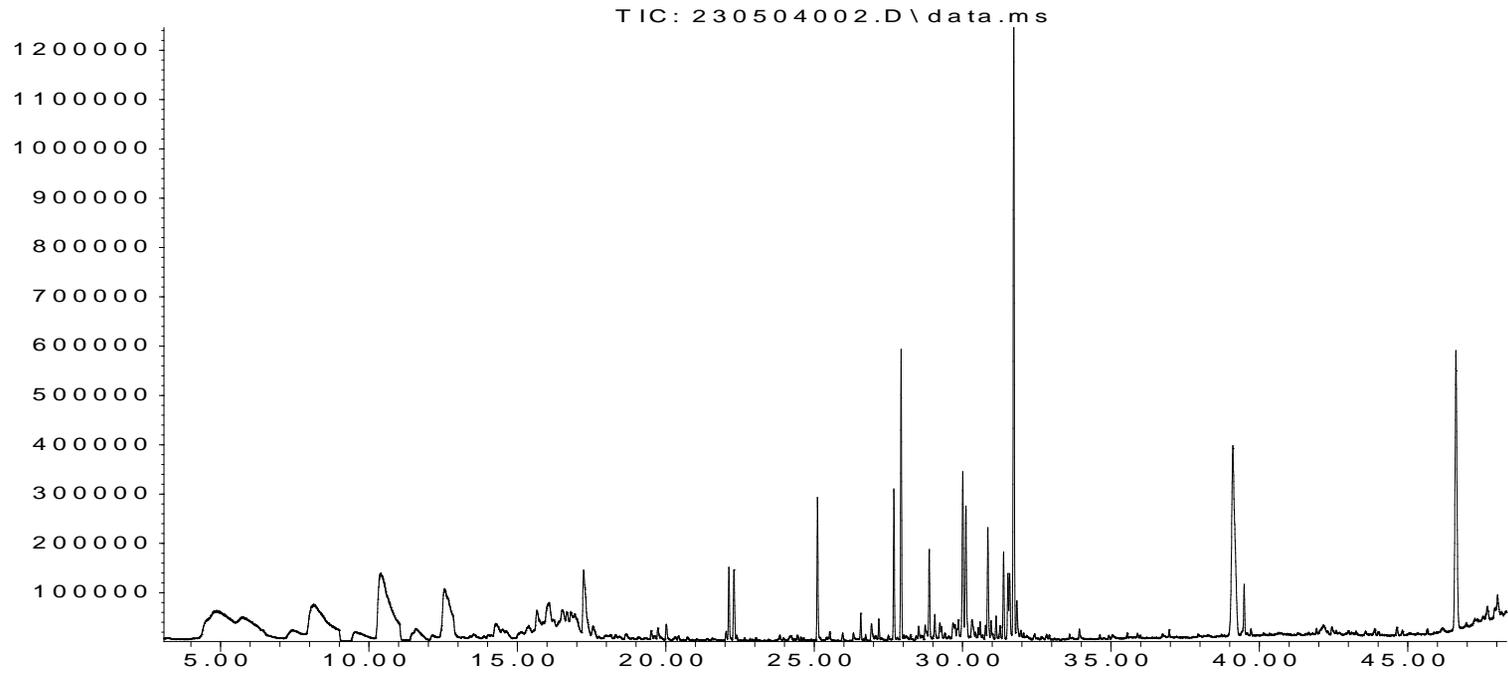
Figura 9. Cromatograma de la interacción de plantas con la bacteria *B. simplex* (*At/Bs*), a los 13 días.

Tabla 10. Compuestos encontrados a los 13 días en la interacción de la bacteria *B. simplex* (*Bs*) sin plantas, fórmula, tiempo de retención, grupo funcional característico y el número de identificación para cada sustancia (CAS).

<i>Bs</i> - 13 días					
COMPUESTO	FM ¹	TR ² (min)	GF ³	CAS ⁴	%
1 Ethylbenzene	C8H10	9.5	aromático	100-41-4	90
2 Benzene, 1,2-dimethyl-	C8H10		aromático	95-47-6	87
3 Dodecane, 4,6-dimethyl-	C14H30	16.544	alcano	61141-72-8	86
4 Dodecane	C12H26		alcano	112-40-3	74
5 Acetic acid, 1,7,7-trimethyl-bicyclo[2.2.1]hept-2-yl ester	C12H20O2		éster	92618-89-8	64
6 Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 1,7,7-trimethyl-, acetate, (1S-endo)-	C12H20O2		éster	5655-61-8	64
7 Undecane, 2,8-dimethyl-	C13H28	16.229	alcano	17301-25-6	59
8 2-Norbornanone	C7H10	31.132	cetona	497-38-1	59
9 Undecane	C11H24	17.531	alcano	1120-21-4	90
10 2-Iodoadamantane	C10H15I	28.853	halogenuro	210-25-2	64
11 Undecane, 5-methyl-	C12H26	16.835	alcano	1632-70-8	74

¹FM. Fórmula molecular. ²TR. Tiempo de retención. ³GF. Grupo funcional. ⁴CAS. Chemical Abstracts Service.

Abundance



Time-->

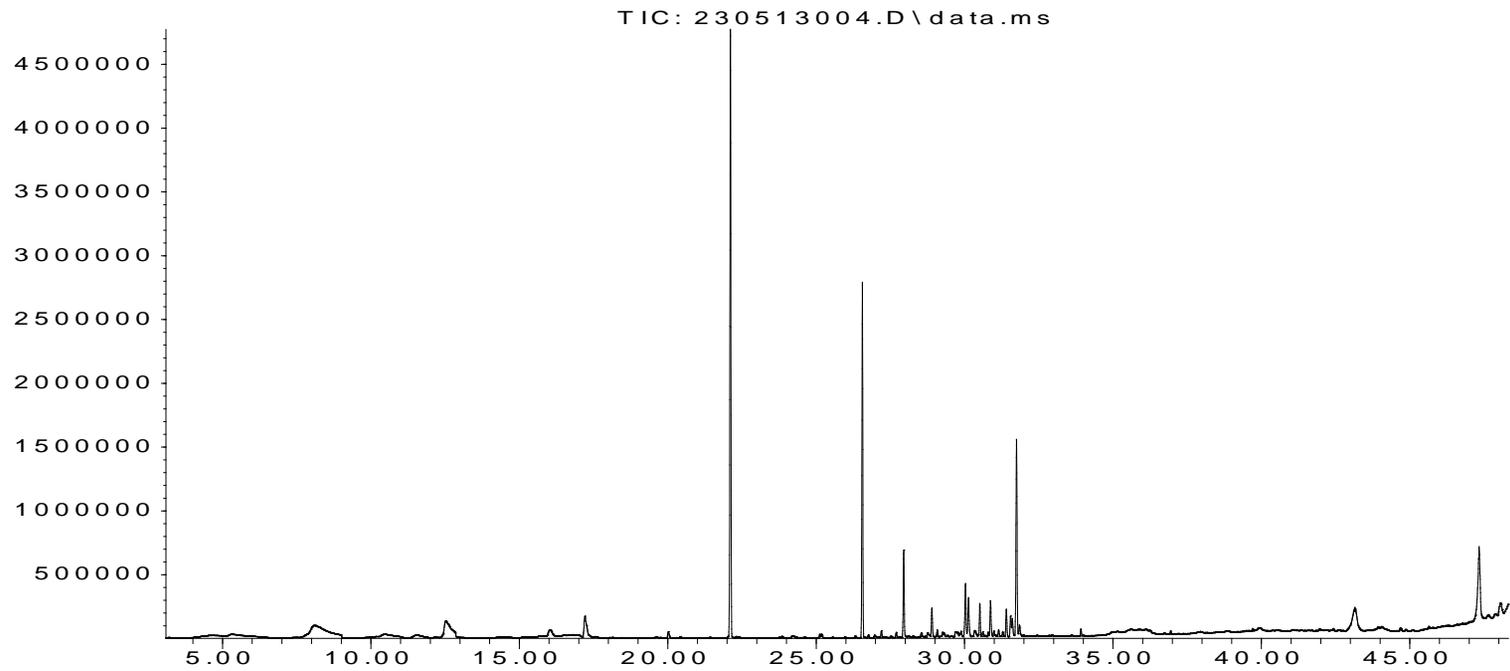
Figura 10. Cromatograma de la interacción de la bacteria *B. simplex* (*Bs*) sin plantas a los 13 días.

Tabla 11. Compuestos encontrados a los 10 días en la interacción de plantas con la bacteria *B. firmus* (*At/Bf*), fórmula, tiempo de retención, grupo funcional característico y el número de identificación para cada sustancia (CAS).

<i>At/Bf</i> - 13 días					
COMPUESTO	FM ¹	TR ² (min)	GF ³	CAS ⁴	%
1 1H-Cyclopropa[a]naphthalene, 1 ^a ,2,3,5,6,7,7 ^a ,7b-octahydro-1,1,7,7 ^a -tetramethyl-, [1aR-(1 ^a .alpha.,7.alpha.,7 ^a .alpha.,7b.alpha.)]-	C15H24		aromático	17334-55-3	80
2 1-Formyl-2,2,6-trimethyl-3-(3-methyl-but-2-enyl)-6-cyclohexene	C15H24O		aldehído		64
3 Isoaromadendrene epoxide	C15H24O		éter		64
4 Bicyclo[5.2.0]nonane, 4-methylene-2,8,8-trimethyl-2-vinyl-	C15H24		alqueno		60
5 1,5-Cyclodecadiene, (E,Z)-	C10H16		aromático	1124-78-3	59
6 1-Methylidene-2b-hydroxymethyl-3,3-dimethyl-4b-(3-methylbut-2-enyl)-cyclohexane	C15H26O		alcohol		72
7 2-Methyl-Z,Z-3,13-octadecadienol	C19H36O		alcohol	130-90-5	55
8 Benzaldehyde, 2,5-bis[(trimethylsilyl)oxy]-	C13H22O2Si2		silano	56114-69-3	50

¹FM. Fórmula molecular. ²TR. Tiempo de retención. ³GF. Grupo funcional. ⁴CAS. Chemical Abstracts Service.

Abundance



Time-->

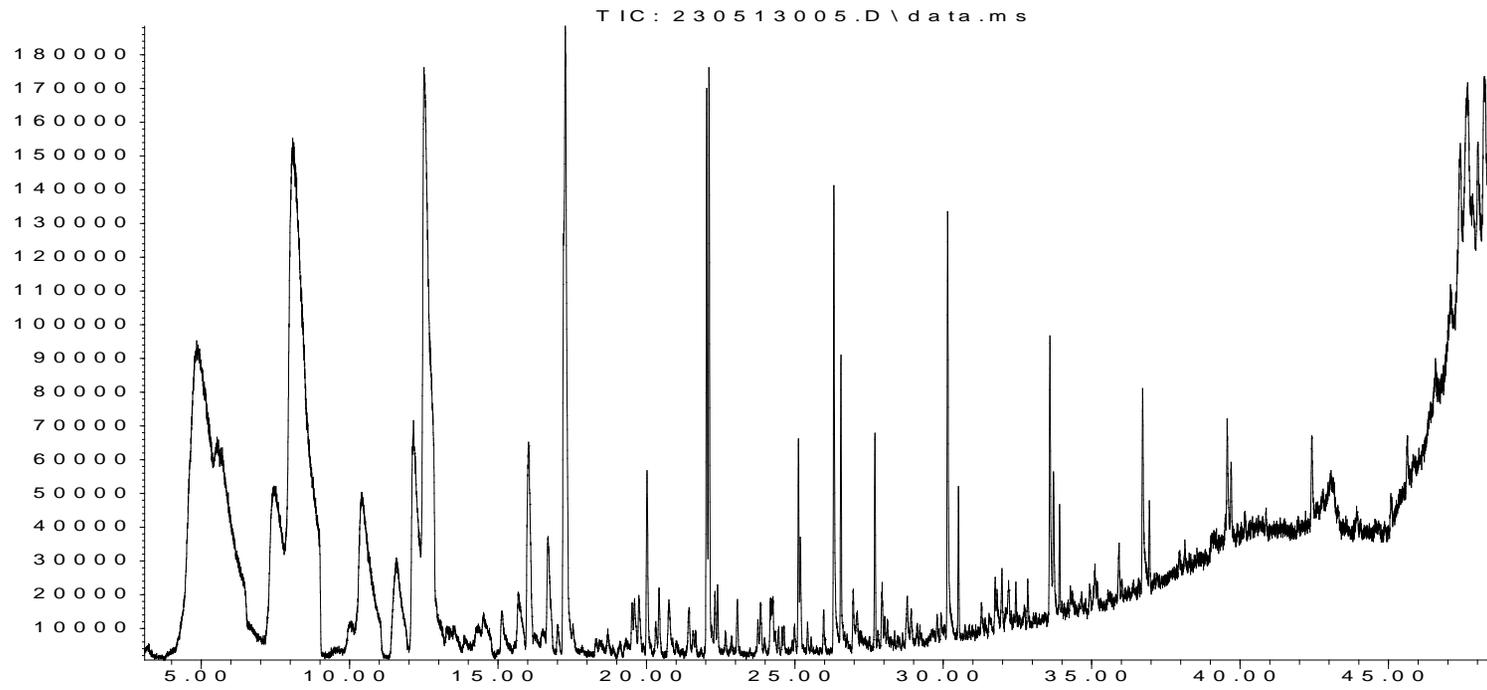
Figura 11. Cromatograma de la interacción de plantas con la bacteria *B. firmus* (At/Bf), a los 13 días.

Tabla 12. Compuestos encontrados a los 13 días en la interacción de la bacteria *B.firmus* (*Bf*) sin plantas, fórmula, tiempo de retención, grupo funcional característico y el número de identificación para cada sustancia (CAS).

<i>Bf</i> - 13 días					
COMPUESTO	FM ¹	TR ² (min)	GF ³	CAS ⁴	%
1 Dodecane	C12H26		alcano	112-40-3	86
2 Bicyclo[3.3.1]non-6-ene-3,9-dione	C9H10O2		alqueno		86
3 2(1H)-Naphthalenone, octahydro-4a-methyl-7-(1-methylethyl)-, (4a.alpha.,7.beta.,8a.beta.)-	C14H24O		cetona	54594-42-2	84
4 Oxime-, methoxy-phenyl-	C8H9NO2		oxima	67160-14-9	74
5 3-Carene	C10H16		aromático	13466-78-9	70
6 1H-3a,7-Methanoazulene, octahydro-1,4,9,9-tetramethyl-	C15H26		alcano	25491-20-7	64
7 1-Methylidene-2b-hydroxymethyl-3,3-dimethyl-4b-(3-methylbut-2-enyl)-cyclohexane	C15H26O		alcohol		50

¹FM. Fórmula molecular. ²TR. Tiempo de retención. ³GF. Grupo funcional. ⁴CAS. Chemical Abstracts Service.

Abundance



Time -->

Figura 12. Cromatograma de la interacción de la bacteria *B. firmus* (*Bf*) sin plantas a los 13 días.

Tabla 13. Compuestos encontrados a los 13 días en la interacción de plantas con el filtrado de la bacteria *B. firmus* (At/BfF), fórmula, tiempo de retención, grupo funcional característico y el número de identificación para cada sustancia (CAS).

<i>At/BfF</i> - 13 días						
	COMPUESTO	FM ¹	TR ² (min)	GF ³	CAS ⁴	%
1	2-Heptadecenal	C17H32O		aldehído		93
2	7-Pentadecyne	C15H28		alquino	22089-89-0	91
3	Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2-(1-methylethenyl)-4-(1-methylethylidene)-	C15H24		alqueno	03242-08-8	91
4	E-11,13-Dimethyl-12-tetradecen-1-ol acetate	C18H34O2		éster	400037-00-5	90
5	Phenol, 4-(1,1-dimethylpropyl)-	C11H16O		fenol	80-46-6	74
6	Benzoic acid, 4-methyl-2-trimethylsilyloxy-, trimethylsilyl ester					72
7	Undecane, 5-methyl-	C12H26		alcano	1632-70-8	72
8	Octane, 6-ethyl-2-methyl-	C11H24		alcano	62016-19-7	72
9	12-Methyl-E,E-2,13-octadecadien-1-ol	C19H36O		alcohol		64
10	1,11-Tridedicen					62
11	E-11-Hexadecenal	C1630O		aldehído	57491-33-5	62
12	1-Naphthalenepropanol, .alpha.-ethenyldecahydro-5-(hydroxymethyl)-.alpha.,5,8a-trimethyl-2-methylene-, [1S-[1.alpha.(R*),4a.beta.,5.beta.,8a.alpha.]]-	C20H24O		alcohol	1438-62-6	62
13	Cyclohexanol, 2-methyl-5-(1-methylethenyl)-	C10H18O		alcohol	619-01-2	60
14	2-Dodecen-1-yl(-)succinic anhydride	C16H26O3		anhídrido	19780-11-1	86
15	2,6,10-Dodecatrien-1-ol, 3,7,11-trimethyl-, acetate, (E,E)-	C17H28O2		éster	4128-17-0	76

16	2-Methyl-Z,Z-3,13-octadecadienol	C19H36O	alcohol	130-90-5	96
17	Z-8-Methyl-9-tetradecenoic acid	C15H28O2	ácido carboxílico	457653-87- 1	78
18	Cyclododecane	C12H24	alcano	294-62-2	70
19	Benzaldehyde, 2,4-bis(trimethylsiloxy)-	C13H22O3Si2	silano	33617-38-8	59

¹FM. Fórmula molecular. ²TR. Tiempo de retención. ³GF. Grupo funcional. ⁴CAS. Chemical Abstracts Service.

Abundance

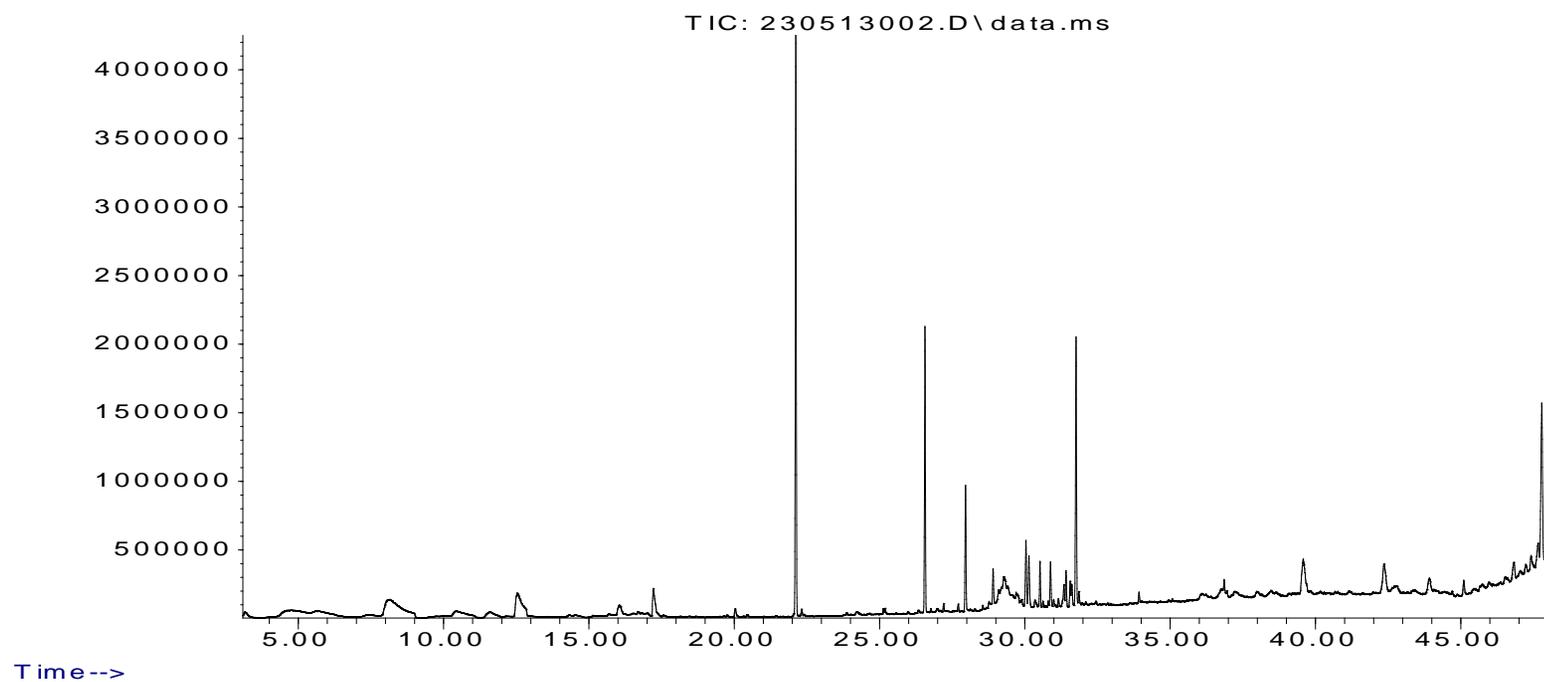


Figura 13. Cromatograma de la interacción de plantas con el filtrado de la bacteria *B. firmus* (At/BfF) a los 13 días.

Tabla 14. Compuestos encontrados a los 13 días en la interacción con el filtrado de la bacteria *B.firmus* (*BfF*) sin plantas, fórmula, tiempo de retención, grupo funcional característico y el número de identificación para cada sustancia (CAS).

<i>BfF</i> - 13 días					
COMPUESTO	FM ¹	TR ² (min)	GF ³	CAS ⁴	%
1 Cyclohexanol, 3-ethenyl-3-methyl-2-(1-methylethenyl)-6-(1-methylethyl)-, [1R-(1.alpha.,2.alpha.,3.beta.,6.alpha.)]-	C15H26O		alcohol	35727-45-8	80
2 Cyclohexene, 4-(4-ethylcyclohexyl)-1-pentyl-	C19H34		alqueno	301643-32-3	74
3 Farnesol isomer a	C15H26O		alcohol	106-28-5	70
4 (-)-Neoclovene-(II), dihydro-					68
5 1-Naphthalenepropanol, .alpha.-ethenyldecahydro-5-(hydroxymethyl)-.alpha.,5,8a-trimethyl-2-methylene-, [1S-[1.alpha.(R*),4a.beta.,5.beta.,8a.alpha.]]-	C20H34O		alcohol	1438-62-6	64
6 2,6,10-Dodecatrien-1-ol, 3,7,11-trimethyl-, (Z,E)-	C17H28O2		éster	4128-17-0	66
7 2-Dodecen-1-yl(-)succinic anhydride	C16H26O3		anhídrido	19780-11-1	64

¹FM. Fórmula molecular. ²TR. Tiempo de retención. ³GF. Grupo funcional. ⁴CAS. Chemical Abstracts Service.

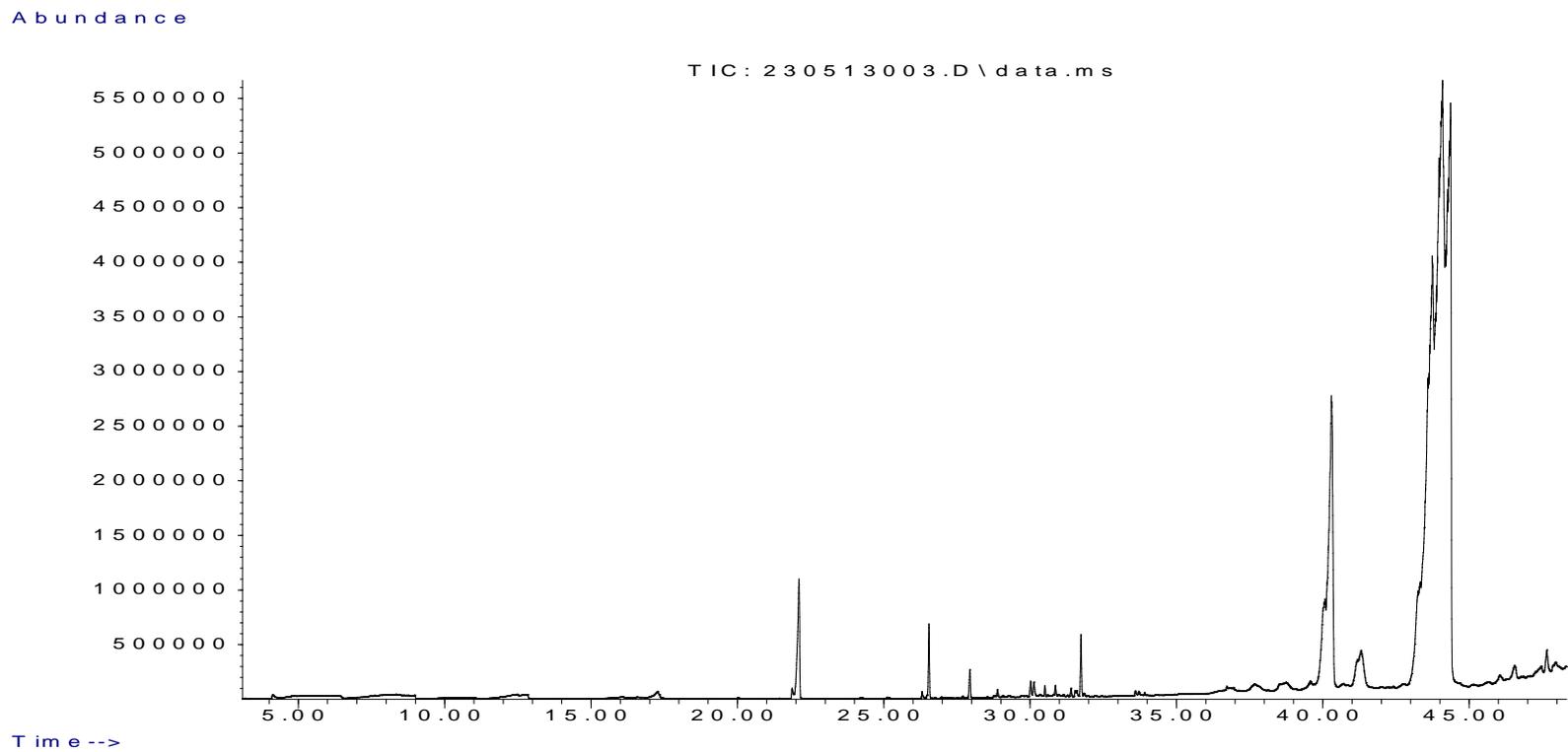


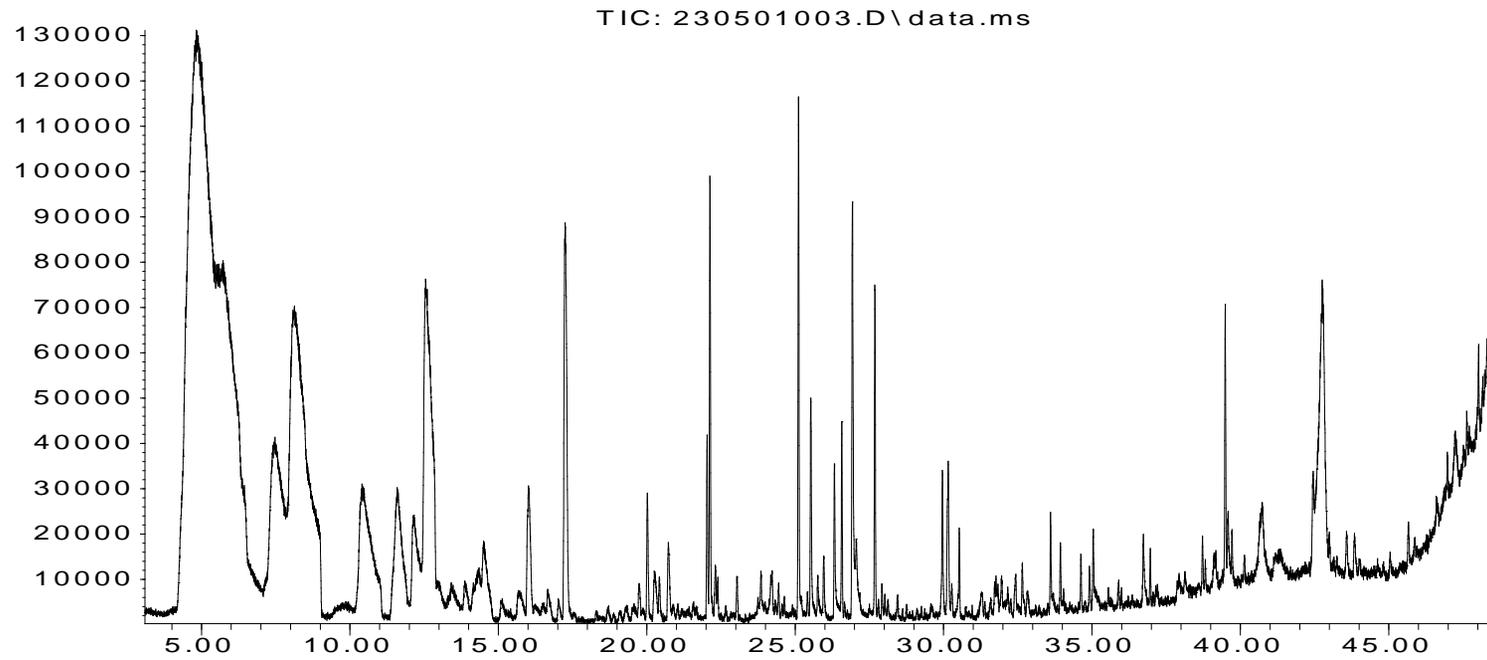
Figura 14. Cromatograma de la interacción de plantas con el filtrado de la bacteria *B. firmus* (At/BfF) sin plantas a los 13 días.

Tabla 15. Compuestos encontrados a los 16 días en la interacción de plantas (At) sin inocular, fórmula, tiempo de retención, grupo funcional característico y el número de identificación para cada sustancia (CAS).

<i>At</i> - 16 días						
	COMPUESTO	FM¹	TR²(min)	GF³	CAS⁴	%
1	Diethyl Phthalate	C12H14O4	29.959	éster	84-66-2	98
2	4,7-Methano-5H-inden-5-one, octahydro-	C10H14O	22.936	cetona	13380-94-4	96
3	13-Octadecenal, (Z)-	C18H34O		aldehído	58594-45-9	93
4	Bicyclo[4.2.0]octa-1,3,5-triene	C8H8	10.609	aromático	694-87-1	93
5	Styrene	C8H8	10.426	aromático	100-42-5	93
6	1,3,5,7-Cyclooctatetraene	C8H8	10.365	aromático	629-20-9	93
7	Dotriacontane	C32H66	34.624	alcano	544-85-4	83
8	Benzothiazole	C7H5N5	20.725	tiazole	95-16-9	81
9	Oxirane, tetradecyl-	C16H32O	35.037	éter	007320-37-8	80
10	Benzene, (1-methyldecyl)-	C17H28	32.657	aromático	4536-88-3	72
11	Hexadecane, 1-chloro-	C16H33Cl	25.153	halogenuro	04860-03-1	72
12	Hexatriacontane	C36H74	25.153	alcanoo	84-66-2	72
13	Nonadecane	C19H40	32.428	alcano	629-92-5	72
14	7H-Dibenzo[b,g]carbazole, 7-methyl	C21H15N	12.536	carbazol	3557-49-1	64
15	1,3-Bis(trimethylsilyl)benzene	C12H22Si2	8.143	silano	2060-89-1	64
16	Silane, 1,4-phenylenebis(trimethyl-	C12H22Si2	8.143	silano	13183-70-5	64
17	1,3,6-Heptatriene, 2,5,5-trimethyl-	C10H16		alqueno	29548-02-5	64
18	Pentacosane	C25H52		alcano	629-99-2	64
19	Dodecane, 2,6,10-trimethyl-	C15H32		alcano	3891-98-3	53

¹FM. Fórmula molecular. ²TR. Tiempo de retención. ³GF. Grupo funcional. ⁴CAS. Chemical Abstracts Service.

Abundance



Time-->

Figura 15. Cromatograma de la interacción de plantas (At) sin inocular a los 16 días.

Tabla 16. Compuestos encontrados a los 16 días en la interacción de plantas con la bacteria *B. simplex* (*At/Bs*), fórmula, tiempo de retención, grupo funcional característico y el número de identificación para cada sustancia (CAS).

<i>At/Bs</i> - 16 días					
COMPUESTO	FM ¹	TR ² (min)	GF ³	CAS ⁴	%
1 Octanal, 2-(phenylmethylene)-	C15H20O	33.831	aldehído	101-86-0	99
2 6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-, (R)-	C10H20O	19.404	alcohol	1117-61-9	98
3 2-Propenoic acid, 3-phenyl-, methyl ester	C10H10O2	24.784	éster	103-26-4	97
4 Benzaldehyde, 4-methoxy-	C8H8O2	20.614	aldehído	123-11-5	97
5 Piperonal (3,4-methyldioxybenzaldehyde)	C8H6O3	23.42	aldehído	120-57-0	97
6 2-Propenoic acid, 3-phenyl-, ethyl ester	C10H10O2	24.787	éster	103-26-4	96
7 Benzyl Benzoate	C14H12O2	34.462	éster	120-51-4	96
8 2-Naphthyl methyl ketone	C12H10O	31.11		93-08-3	96
9 Naphthalene, 2-ethoxy-	C12H12O	28.799	éter	93-18-5	95
10 n-Hexyl salicylate	C13H18O3	32.302	éster	6259-76-3	95
11 Coumarin (2H-1-Benzopyran-2-one)	C9H6O2	26.51	cumarina	91-64-5	95
12 Cinnamaldehyde, (E)-	C9H8O	21.64	aldehído	14371-10-9	95
13 Silane, [(3,7-dimethyl-6-octenyl)oxy]trimethyl-	C13H28OSi	22.257	silano	18419-09-5	95
14 1'-Acetonaphthone	C12H10O	31.103	cetona	941-98-0	94
15 Longifolene (1,4-Methanoazulene, decahydro-4,8,8-trimethyl-9-methylene-, [1S-(1.alpha.,3a.beta.,4.alpha.,8a.beta.)]-)	C15H24		sesquiterpeno	475-20-7	93
16 Cinnamaldehyde, alpha-pentyl-	C14H18O	31.538	aldehído	122-40-7	93
17 E-11-Hexadecenal	C16H30O	35.352	aldehído	130-86-1	93
18 Lilial (Buthylphenyl-methylpropional)	C14H20O	28.645	aldehído	80-54-6	92
19 Cyclopentadecanone, 2-hydroxy-	C15H28O2	33.099	cetona	4727-18-8	92
20 Benzoic acid, 2-hydroxy-, pentyl ester	C12H16O3	29.84	éster	2050-08-0	90

21	5H-Naphtho[2,3-c]carbazole, 5-methyl-	C21H15N	12.704	carbazol	25-44-3	72
22	7H-Dibenzo[b,g]carbazole, 7-methyl-	C21H15N	12.582	carbazol	3557-49-1	72
23	2-Dodecene, (Z)-	C12H24		alqueno	7206-26-0	70
24	1-Hexadecene	C16H32	30.343	alqueno	629-73-2	90
25	Phenoxy ethyl isobutyrate	C12H16O3	28.258	éster	103-60-6	64
26	Benzoic acid, 2-hydroxy-, 3-methylbutyl ester	C12H16O3		éster	87-20-7	64
27	1-Dodecanol, 2-methyl-, (S)-	C13H28O		alcohol	22663-61-2	62
28	12-Methyl-E,E-2,13-octadecadien-1-ol	C19H36O		alcohol	130-90-4	62
29	Benzoic acid, 2-hydroxy-, phenylmethyl ester	C14H12O3	36.694	éster	118-58-1	60
30	Oxacyclotetradecane-2,11-dione, 13-methyl-	C14H24O3		cetona	74685-36-2	60
31	4,7-Methano-1H-inden-1-ol, octahydro-	C10H16O	28.428	alcohol	55255-97-5	76
32	2-Methyl-Z,Z-3,13-octadecadienol	C19H36O	33.396	alcohol	130-90-5	90
33	Oxirane, tetradecyl-	C16H32O		éter	7320-37-8	91
34	Benzaldehyde, 2,4-bis(trimethylsiloxy)-	C13H22O3Si2	17.251	silano	33617-38-8	59
35	Benzaldehyde, 2,5-bis[(trimethylsilyl)oxy]-	C13H22O2Si2	16.157	silano	56114-69-3	60

¹FM. Fórmula molecular. ²TR. Tiempo de retención. ³GF. Grupo funcional. ⁴CAS. Chemical Abstracts Service.

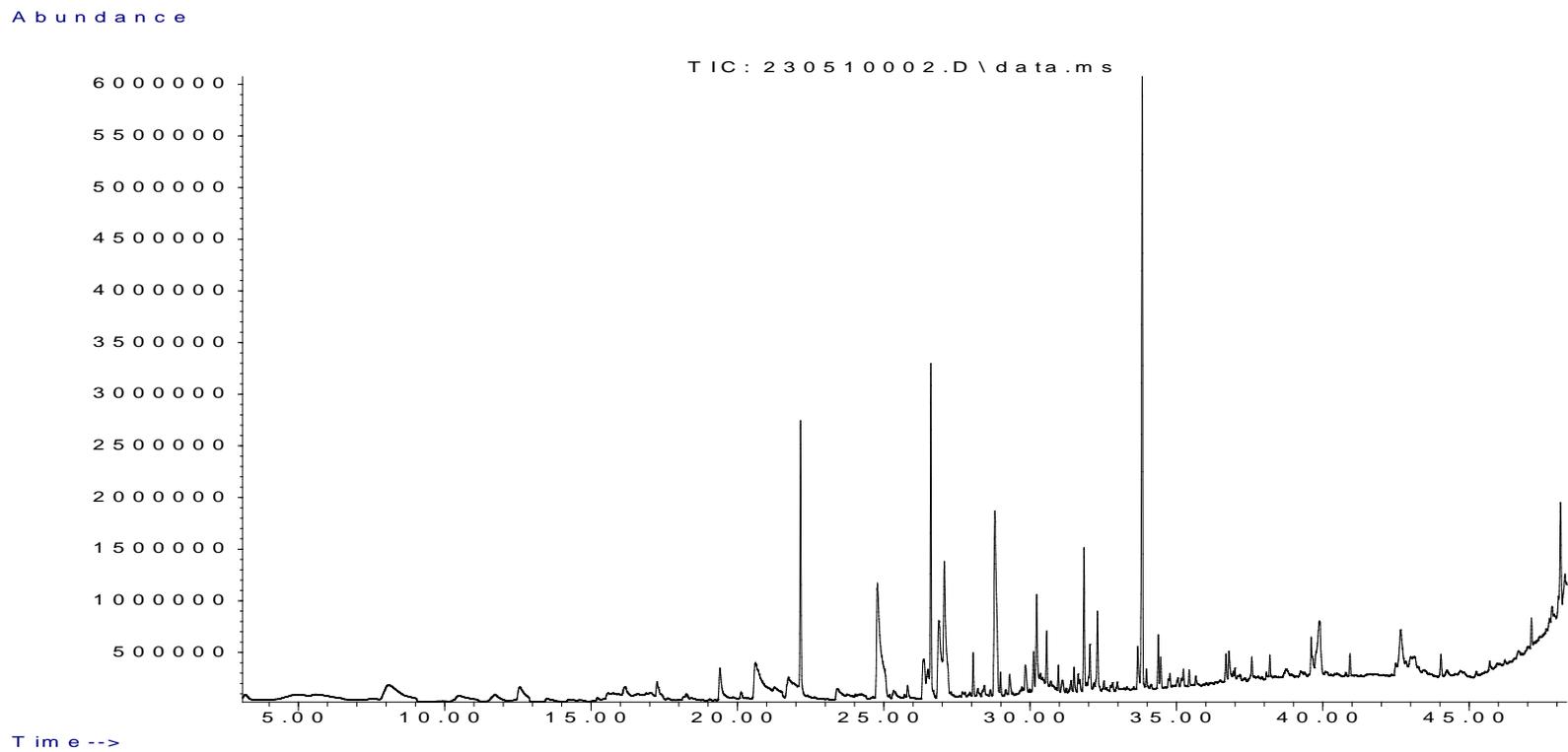


Figura 16. Cromatograma de la interacción de plantas con la bacteria *B. simplex* (At/Bs), a los 16 días.

Tabla 17. Compuestos encontrados a los 16 días en la interacción de la bacteria *B. simplex* (*Bs*) sin plantas, fórmula, tiempo de retención, grupo funcional característico y el número de identificación para cada sustancia (CAS).

<i>Bs</i> - 16 días						
COMPUESTO	FM ¹	TR ² (min)	GF ³	CAS ⁴	%	
1 1-Nonadecene	C19H38		alqueno	18435-45-5	94	
2 Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 1,7,7-trimethyl-, acetate, (1 <i>S</i> -endo)-	C12H20O2	22.386	éster	5655-61-8	91	
3 Ethylbenzene	C8H10	9.808	aromático	100-41-4	90	
4 Phenol, 4-(1,1-dimethylpropyl)-	C11H16O	25.401	fenol	80-46-6	80	
5 Phenol	C6H6O	13.189	fenol	108-95-2	72	
6 Hexadecane, 3-methyl-	C17H36	15.109	alcano	6418-43-5	72	
7 Decane	C10H22	16.957	alcano	124-18-5	72	
8 Dodecane, 4,6-dimethyl-	C14H30	16.957	alcano	61141-72-8	72	
9 Undecane, 5-methyl-	C12H26	16.533	alcano	1632-70-8	72	
10 Tricyclo[4.2.1.1(2,5)]decan-9-ol, acetate, stereoisomer	C10H16O	31.932	alcohol	66953-31-9	64	
11 Undecane	C11H24	15.722	alcano	1120-21-4	64	
12 Tridecanol	C13H28O	18.496	alcohol	112-70-9	64	
13 N-(2-Acetylcyclopentylidene)cyclohexylamine	C13H21NO	7.35	amina		59	
14 Undecane, 4-methyl-	C12H26	17.448	alcano	2980-69-0	59	
15 Dodecane	C12H26	17.082	alcano	112-40-3	59	
16 4,7-Methano-1 <i>H</i> -inden-1-ol, octahydro-	C10H16O		alcohol	55255-97-5	53	

¹FM. Fórmula molecular. ²TR. Tiempo de retención. ³GF. Grupo funcional. ⁴CAS. Chemical Abstracts Service.

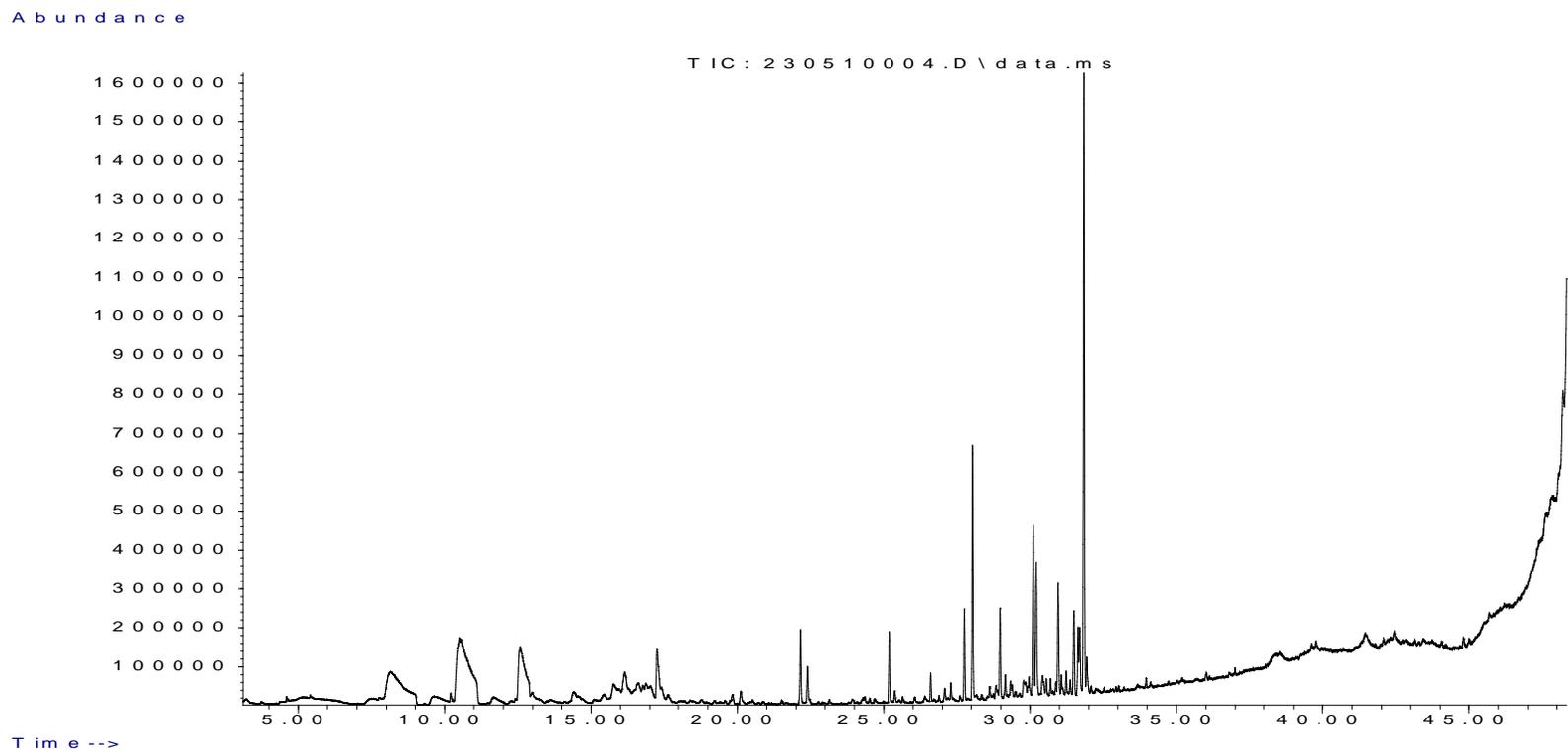


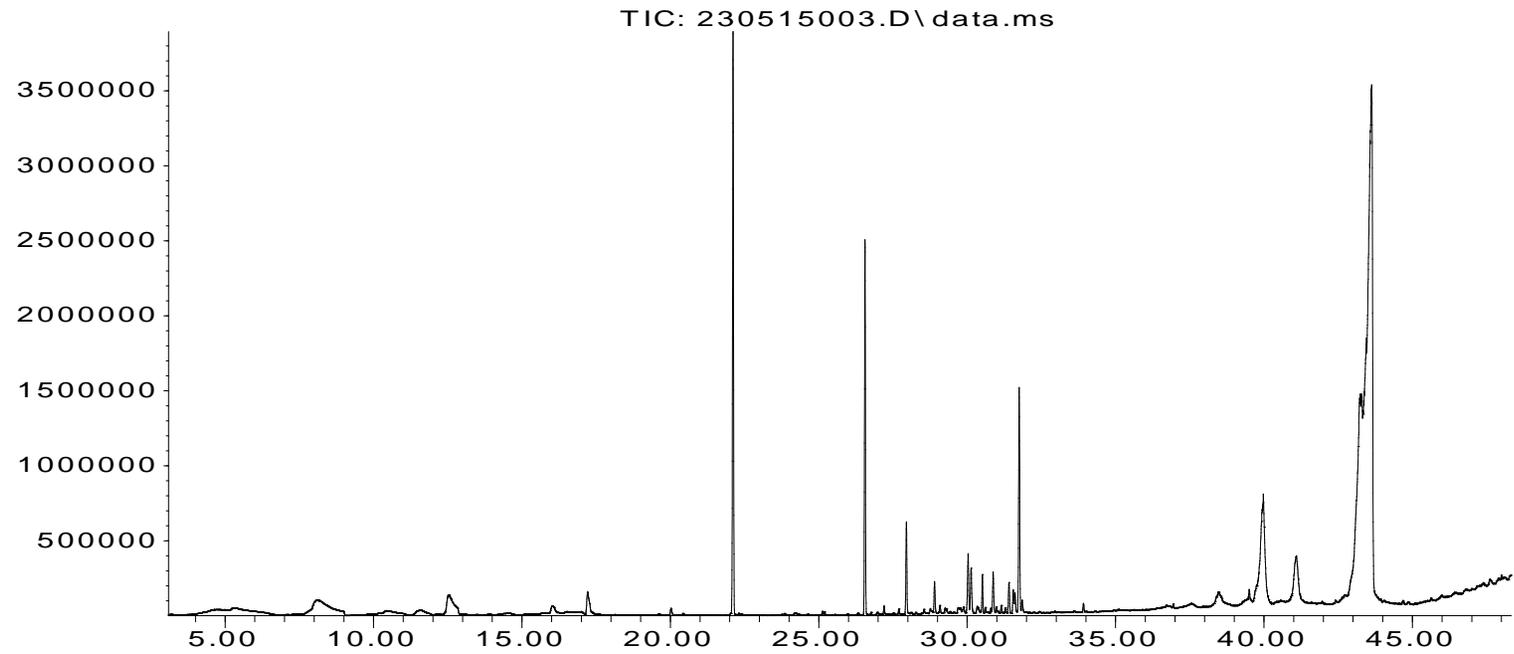
Figura 17. Cromatograma de la interacción de la bacteria *B. simplex* (*Bs*) sin plantas a los 16 días.

Tabla 18. Compuestos encontrados a los 16 días en la interacción de plantas con la bacteria *B. firmus* (*At/Bf*), fórmula, tiempo de retención, grupo funcional característico y el número de identificación para cada sustancia (CAS).

<i>At/Bf</i> - 16 días					
COMPUESTO	FM ¹	TR ² (min)	GF ³	CAS ⁴	%
1 Cyclohexane, 1,1,2-trimethyl-3,5-bis(1-methylethenyl)-, (2.alpha.,3.alpha.,5.beta.)-					83
2 4,7-Methano-1H-indene, 2,4,5,6,7,7a-hexahydro-					83
3 Naphthalene, decahydro-4a-methyl-1-methylene-7-(1-methylethenyl)-, [4aR-(4a.alpha.,7.alpha.,8a.beta.)]-	C15H24		alqueno	17066-67-0	70
4 2-Iodoadamantane	C10H15I	28.9	halogenuro	210-25-2	64
5 Pregnan-20-one, 3-hydroxy-, (3.beta.)-	C21H30O2		cetona	1162-53-4	64
6 1s,4R,7R,11R-1,3,4,7-Tetramethyltricyclo[5.3.1.0(4,11)]undec-2-en-8-one	C15H22O		cetona		60
7 Cedran-diol, 8S,14-	C15H26O		alcohol	62600-05-9	60
8 2-Dodecen-1-yl(-)succinic anhydride	C16H26O3		anhídrido	19780-11-1	56
9 Tricyclo[4.3.0.07,9]non-3-ene, 2,2,5,5,8,8-hexamethyl-, (1.alpha.,6.beta.,7.alpha.,9.alpha.)-	C15H24		alqueno		55
10 Benzaldehyde, 2,4-bis(trimethylsiloxy)-	C13H22O3Si2		silano	33617-38-8	59

¹FM. Fórmula molecular. ²TR. Tiempo de retención. ³GF. Grupo funcional. ⁴CAS. Chemical Abstracts Service.

Abundance



Time-->

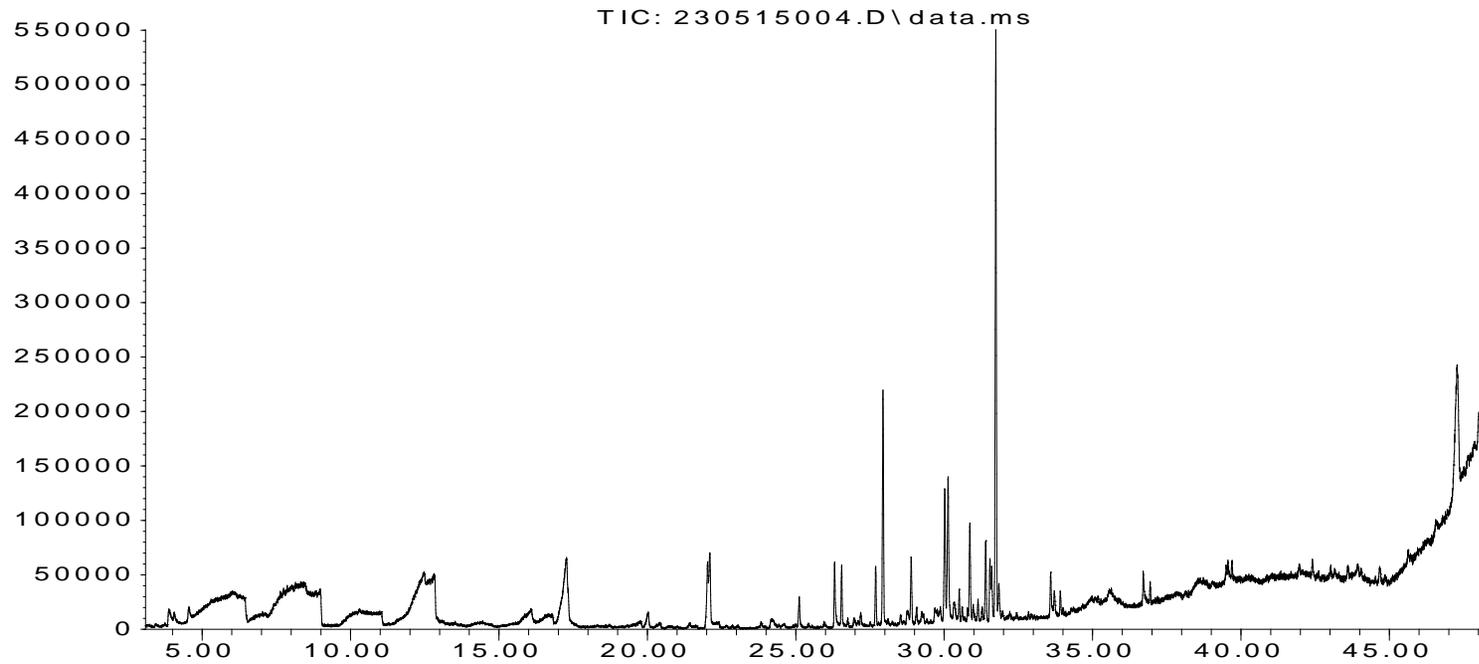
Figura 18. Cromatograma de la interacción de plantas con la bacteria *B. firmus* (At/Bf), a los 16 días.

Tabla 19. Compuestos encontrados a los 16 días en la interacción de la bacteria *B.firmus* (*Bf*) sin plantas, fórmula, tiempo de retención, grupo funcional característico y el número de identificación para cada sustancia (CAS).

<i>Bf</i> - 16 días					
COMPUESTO	FM ¹	TR ² (min)	GF ³	CAS ⁴	%
1 2(1H)-Naphthalenone, octahydro-4a-methyl-7-(1-methylethyl)-, (4a.alpha.,7.beta.,8a.beta.)-	C14H24O		cetona	54594-42-2	78
2 Propanoic acid, 2-methyl-, tert-butyldimethylsilyl ester	C10H22O2Si		silano	111864-21-2	64
3 Adamantane, cyclopropylidene-					56
4 7-Pentadecyne	C15H28		alquino	22089-89-0	56
5 2-Methyl-7-phenylindole	C15H13N		indol		53

¹FM. Fórmula molecular. ²TR. Tiempo de retención. ³GF. Grupo funcional. ⁴CAS. Chemical Abstracts Service.

Abundance



Time-->

Figura 19. Cromatograma de la interacción de la bacteria *B. firmus* (*Bf*) sin plantas a los 16 días.

Tabla 20. Compuestos encontrados a los 16 días en la interacción de plantas con el filtrado de la bacteria *B. firmus* (*At/BfF*), fórmula, tiempo de retención, grupo funcional característico y el número de identificación para cada sustancia (CAS).

<i>At/BfF</i> - 16 días					
COMPUESTO	FM ¹	TR ² (min)	GF ³	CAS ⁴	%
1 Hexadecanoic acid, trimethylsilyl	C19H40O2Si	39.221	ácido alifático	55520-89-3	99
2 Tetradecanoic acid, trimethylsilyl ester	C17H36O2Si	34.276	ácido alifático	18603-17-3	98
3 Cyclohexadecane	C16H32		alcano	295-65-8	95
4 Oleic acid TMS	C21H42O2Si	43.075	ácido alifático	141-48-4	93
5 1-Heptadecene	C17H34		alqueno	6765-39-5	93
6 Z,E-3,13-Octadecadien-1-ol acetate	C20H36O	47.424	éster	131-01-6	92
7 1-Nonadecene	C19H38		alqueno	18435-45-5	92
8 1,11-Tridedicen					92
9 Trimethylsilyl ether of glycerol	C12H32O3Si3	19.304	silano	06787-10-6	91
10 Palmitelaidic acid, trimethylsilyl ester		38.848	ácido alifático	79-00-7	90
11 Cyclododecanone, 2-methylene-	C13H22O	38.88	cetona	3045-76-9	90
12 Cyclotetradecane	C14H28		alcano	295-17-0	90
13 E-14-Hexadecenal	C16H30O		aldehído	330207-53-9	90
14 4-n-Hexylthiane, S,S-dioxide	C11H22O2S		sulfona		90
15 9-Octadecenamida, (Z)-	C15H35NO	46.603	amida	301-02-0	89
16 7,11-Hexadecadienal	C16H28O		aldehído	96883-53-3	89
17 9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester	C19H36O2		éster	112-62-9	89
18 Octadecanamida	C18H37NO	47.044	amida	124-26-5	86

19	1-Hexadecene	C16H32		alqueno	629-73-2	86
20	Octadecanoic acid	C18H36O2	42.106	ácido carboxílico	57-11-4	86
21	Hexadecanoic acid, 2-hydroxy-, methyl ester	C17H34O3	42.099	éster	16742-51-1	83
22	Cyclohexane, 1,1',1''-(1-propanyl-2-ylidene)tris-	C30H54	47.511	alcano	55682-89-8	80
23	Cedrol	C15H26O		alcohol	77-53-2	80
24	E-11-Hexadecenal	C16H30O		aldehído	130-86-1	74
25	1,5-Cyclodecadiene, (E,Z)-	C10H16		alqueno	1124-78-3	74
26	Benzoic acid, 4-methyl-2-trimethylsilyloxy-, trimethylsilyl ester	C14H24O3Si		ácido alifático		72
27	p-Trimethylsilyloxyphenyl- bis(trimethylsilyloxy)ethane	C17H34O3Si3	17.219	silano	79-08-1	64
28	1H-Trindene, 2,3,4,5,6,7,8,9-octahydro- 1,1,4,4,9,9-hexamethyl-	C21H30		aromático	55682-87-6	64
29	p-Menth-8(10)-en-9-ol, cis-					64
30	Oleyl Alcohol	C18H36O		alcohol	143-28-2	64
31	Undecanoic acid, 11-fluoro-, trimethylsilyl ester	C14H29FO2Si		silano	26305-97-5	60
32	Bicyclo[4.1.1]oct-2-ene	C8H12		alqueno		92
33	12-Methyl-E,E-2,13-octadecadien-1-ol	C19H36O	40.082	alcohol	130-90-4	90
34	Z-11(13,14-Epoxy)tetradecen-1-ol acetate					93
35	2-Methyl-Z,Z-3,13-octadecadienol	C19H36O	39.874	alcohol	130-90-5	87

¹FM. Fórmula molecular. ²TR. Tiempo de retención. ³GF. Grupo funcional. ⁴CAS. Chemical Abstracts Service.

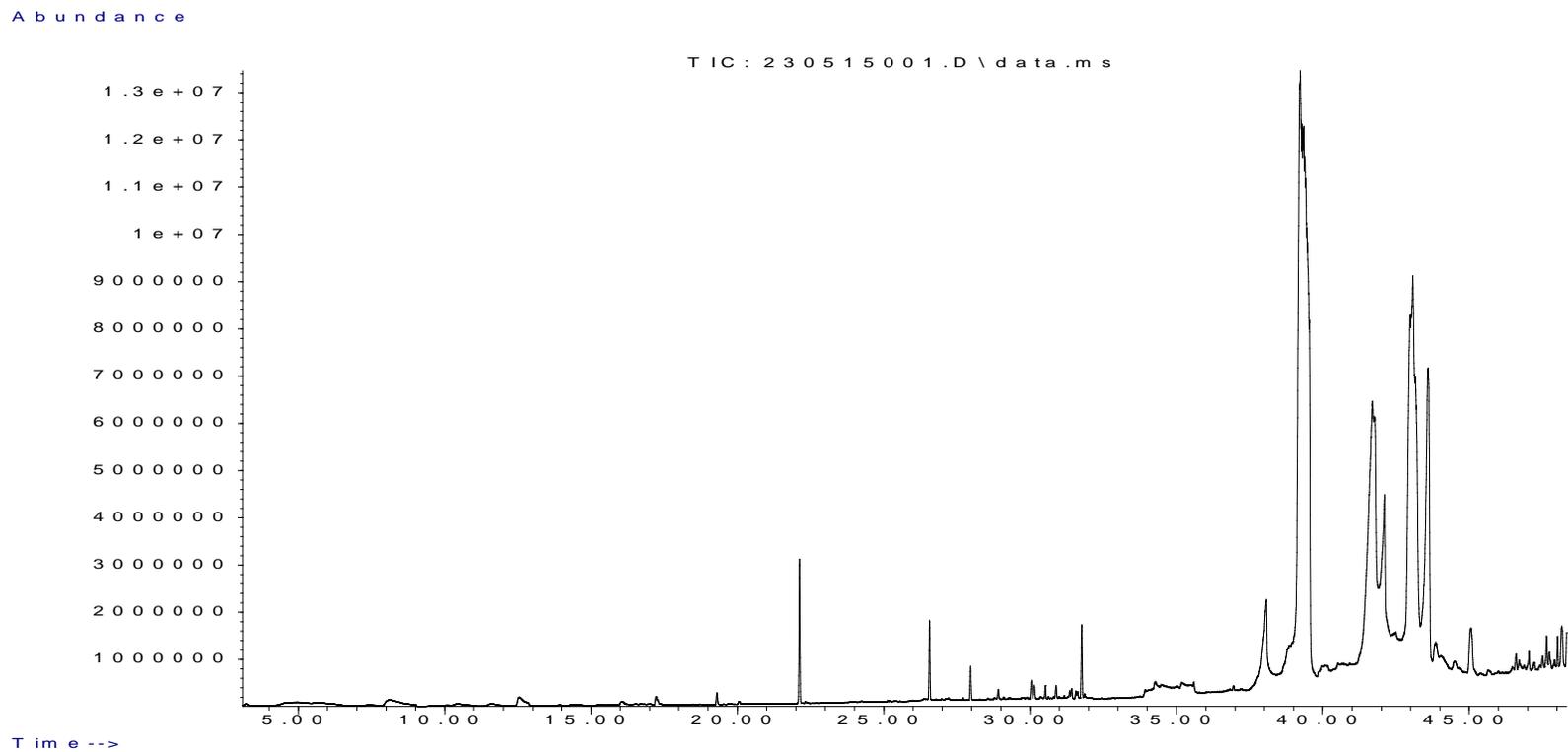


Figura 20. Cromatograma de la interacción de plantas con el filtrado de la bacteria *B. firmus* (At/BfF) a los 16 días.

Tabla 21. Compuestos encontrados a los 16 días en la interacción con el filtrado de la bacteria *B.firmus* (*BfF*) sin plantas, fórmula, tiempo de retención, grupo funcional característico y el número de identificación para cada sustancia (CAS).

<i>BfF</i> - 16 días						
	COMPUESTO	FM ¹	TR ² (min)	GF ³	CAS ⁴	%
1	1-Tricosene	C23H46		alqueno	18835-32-0	92
2	3-Methyl-3H-naphth[1,2-E]indol-10-ol	C17H13NO	47.747	indol	98033-21-7	91
3	Cyclohexene, 4-(4-ethylcyclohexyl)-1-pentyl-	C19H34		alqueno	301643-32-3	90
4	9,17-Octadecadienal, (Z)-	C18H32O		aldehído	56554-35-9	89
5	Isocyclocitral	C10H16O		aldehído	1335-66-6	86
6	Hexadecenoic acid, Z-11-	C16H30O2		ácido carboxílico	2416-20-8	84
7	Z-10-Methyl-11-tetradecen-1-ol propionate			éster		70
8	1-Pentadecene	C15H30		alqueno	13360-61-7	64
9	12-Methyl-E,E-2,13-octadecadien-1-ol	C19H36O		alcohol	130-90-4	64
10	Bicyclo[4.1.1]oct-2-ene	C8H12		alqueno		50

¹FM. Fórmula molecular. ²TR. Tiempo de retención. ³GF. Grupo funcional. ⁴CAS. Chemical Abstracts Service.

Abundance

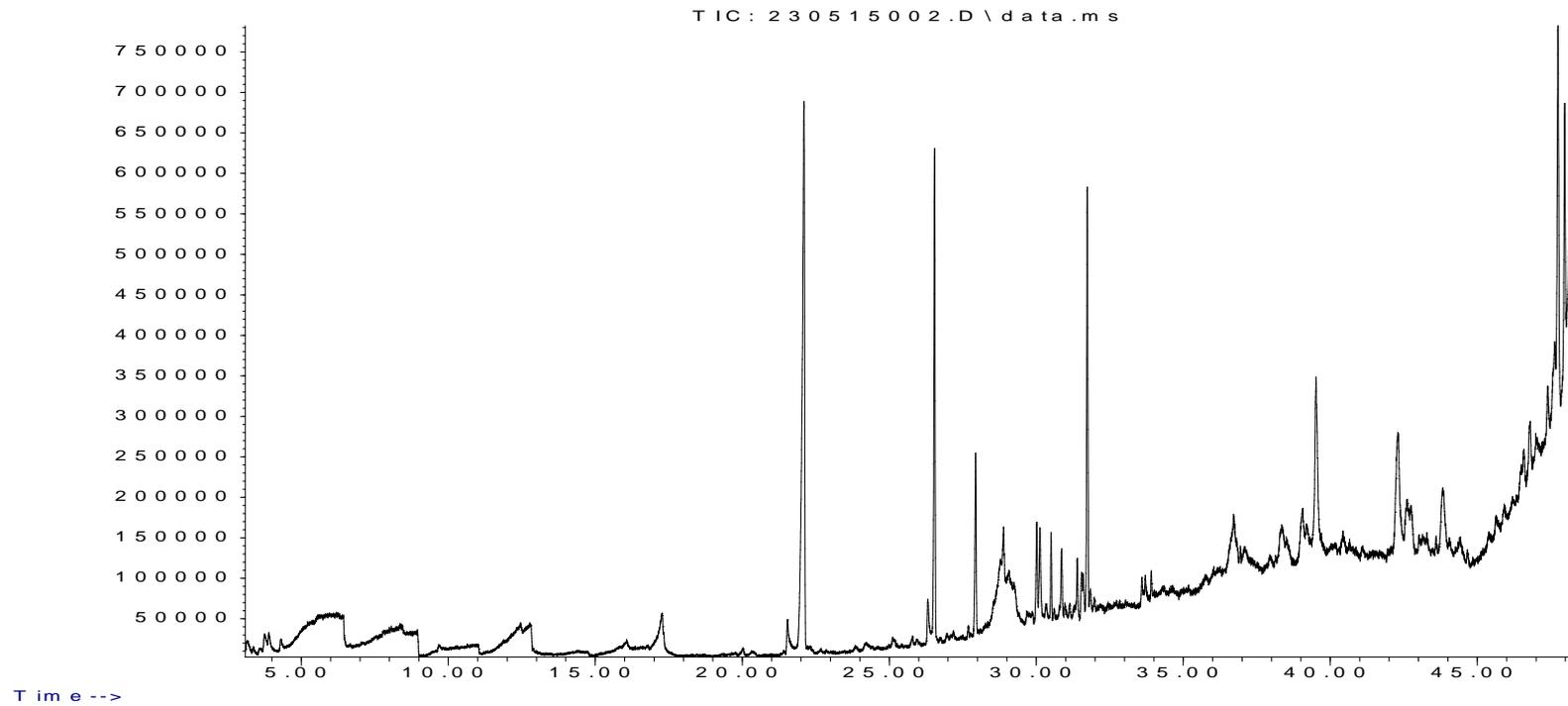


Figura 21. Cromatograma de la interacción de plantas con el filtrado de la bacteria *B. firmus* (BfF) sin plantas a los 16 días.