

Universidad Católica de Santa María

Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica



**BACTERIAS ENDOFÍTICAS PARA OBTENER AGENTES CON ACTIVIDAD
ANTIBACTERIANA, AREQUIPA 2021.**

Tesis presentada por la bachiller:
Quispe Valdivia, Karem Yulisa
Para optar el Título Profesional de:
Químico Farmacéutico

Asesor:
Mtro. Candia Puma, Mayron Antonio

Arequipa – Perú

2022

UCSM-ERP

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA
FARMACIA Y BIOQUIMICA
TITULACIÓN CON TESIS
DICTAMEN APROBACIÓN DE BORRADOR

Arequipa, 21 de Enero del 2022

Dictamen: 004637-C-EPPyB-2022

Visto el borrador del expediente 004637, presentado por:

2007201802 - QUISPE VALDIVIA KAREM YULISA

Titulado:

**BACTERIAS ENDOFÍTICAS PARA OBTENER AGENTES CON ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA,
AREQUIPA 2021.**

Nuestro dictamen es:

APROBADO

**0270 - RAMIREZ ORELLANA JUAN ANDRES
DICTAMINADOR**



**0376 - LOPEZ VALENCIA YENNY CANDELARIA
DICTAMINADOR**



**1426 - JAVE MARQUEZ JESUS MERCEDES
DICTAMINADOR**





Dedicatoria

A mis padres que son mi mayor ejemplo de sacrificio y superación; quienes fueron el impulso para alcanzar esta anhelada meta.

Agradecimientos

Agradezco a mis padres Rosario y Napoleón, por darme la oportunidad de estudiar esta noble profesión, por su paciencia durante todos estos años, y estar presentes para recordarme la importancia de dar este paso en mi carrera profesional.

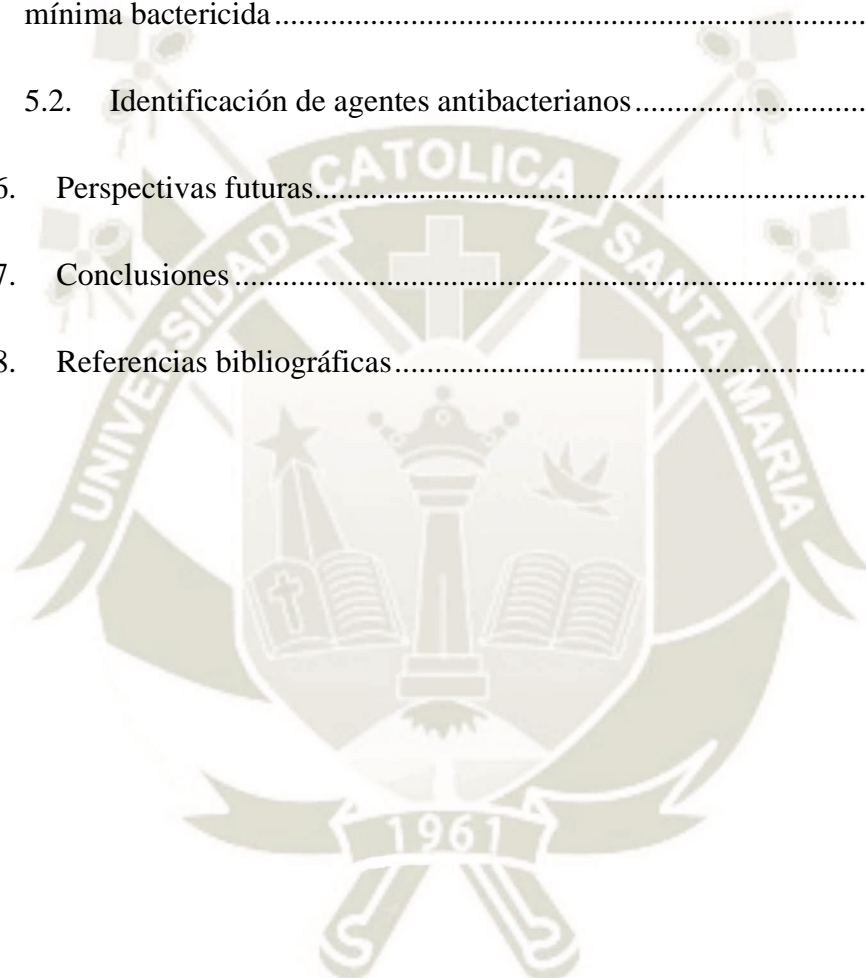
También agradezco a cada uno de mis docentes que fueron transmitiendo sus valiosos conocimientos y consejos durante mi formación académica.

Finalmente doy gracias a mis hermanas Yuliana y Yéssica, a mi cuñado Carlos y mi sobrina Danyela por su comprensión, aliento y consejos en los momentos difíciles, a mis sobrinas Carlita y Sofia por transmitirme su alegría y entusiasmo.

Índice general

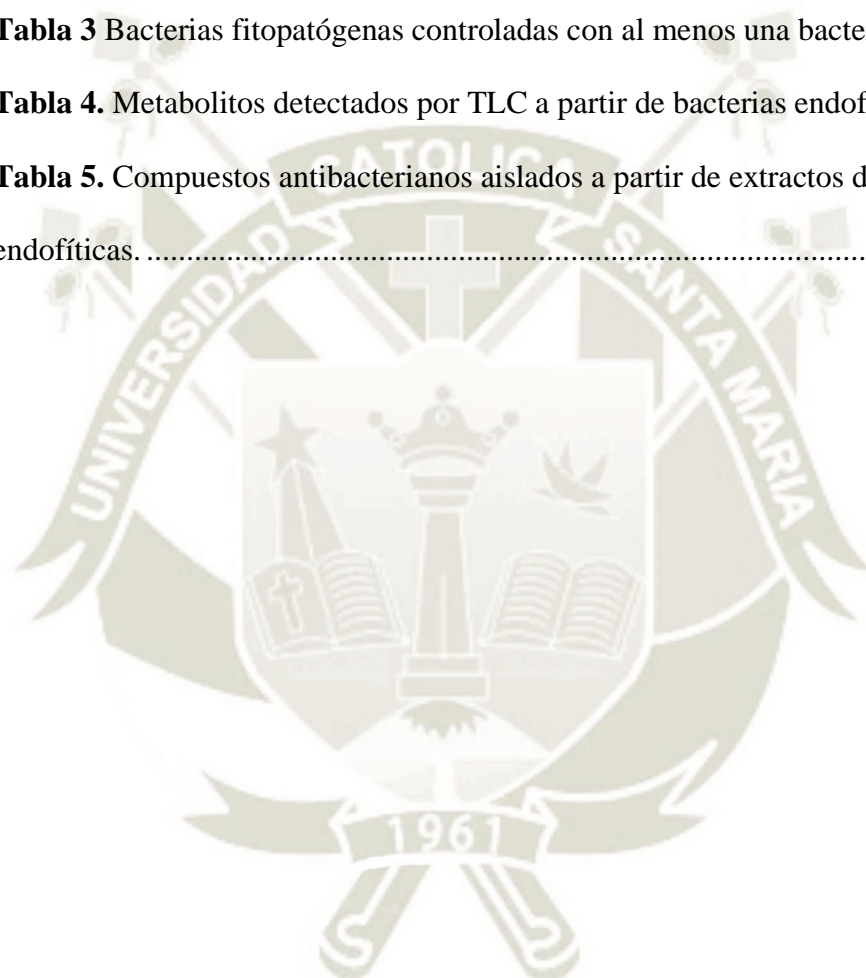
Índice de tablas.....	vii
Índice de figuras.....	viii
Lista de abreviaturas	ix
Resumen.....	xi
Abstract.....	xiii
1. Introducción	1
2. Metodología	2
2.1. Criterio de inclusión	3
2.2. Criterio de exclusión.....	3
3. Análisis bibliométrico	3
4. Bacterias endofíticas	8
4.1. Usos potenciales.....	9
5. Bacterias endofíticas como fuentes de agentes antibacterianos.....	11
5.1. Proceso de obtención de agentes antibacterianos a partir de bacterias endofíticas	11
5.1.1. Fuentes de aislamiento de bacterias endofíticas para la obtención de agentes con actividad antibacteriana.....	12
5.1.2. Aislamiento de bacterias endofíticas.....	18
5.1.3. Identificación de bacterias con actividad antibacteriana.....	27

5.1.4.	Extracción de agentes antibacterianos	32
5.1.5.	Evaluación de la actividad antibacteriana	32
5.1.5.1.	Evaluación preliminar	34
5.1.5.2.	Determinación de la concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida	36
5.2.	Identificación de agentes antibacterianos	38
6.	Perspectivas futuras.....	40
7.	Conclusiones.....	41
8.	Referencias bibliográficas.....	42



Índice de tablas

Tabla 1. Plantas estudiadas para el aislamiento de bacterias endofíticas.....	13
Tabla 2. Bacterias endofíticas con potencial capacidad para sintetizar agentes antibacterianos.....	19
Tabla 3 Bacterias fitopatógenas controladas con al menos una bacteria endofítica .	33
Tabla 4. Metabolitos detectados por TLC a partir de bacterias endofíticas.....	37
Tabla 5. Compuestos antibacterianos aislados a partir de extractos de bacterias endofíticas.....	39



Índice de figuras

Figura 1 Número de artículos científicos publicados en Scopus y WoS	4
Figura 2 Número de artículos científicos que cumplen con los criterios de inclusión y exclusión, según el año de publicación.	4
Figura 3. Diagrama del proceso de selección de artículos científicos en el presente estudio	5
Figura 4 Análisis bibliométrico de palabras clave en publicaciones de bacterias endofíticas, indizadas en Scopus. Mapa según palabras clave.....	6
Figura 5 Análisis bibliométrico de co-autoría en publicaciones de bacterias endofíticas, indizadas en Scopus. Mapa según países.....	7
Figura 6 Análisis bibliométrico de palabras clave en publicaciones de bacterias endofíticas, indizadas en WoS. Mapa según palabras clave.	7
Figura 7 Análisis bibliométrico de co-autoría en publicaciones de bacterias endofíticas, indizadas en WoS. Mapa según países.	8
Figura 8. Ensayo de crecimiento antagónico entre la bacteria endofítica (centro) y bacteria patógena.....	35
Figura 9. Crecimiento antagónico entre la bacteria endofítica y patógena. Ensayo en pozo.	36
Figura 10 Ensayo en parche de una bacteria endofítica contra <i>Listeria monocytogenes</i>	36

Lista de abreviaturas

°C	Grados Celsius
16S rRNA	Subunidad menor del ácido ribonucleico ribosomal
AA	Agar para actinomicetos
BE	Bacteria endofítica
BEs	Bacterias endofíticas
BHI	Medio infusión cerebro corazón
BM	Medio para Bacilos
COSY	Espectroscopia de correlación
DMSO	Dimetilsulfóxido
HMBC	Espectroscopia de correlación de enlace múltiple heteronuclear
HPLC	Cromatografía líquida de alta eficacia
HSQC	Espectroscopia de coherencia cuántica simple heteronuclear
ISP2	Agar de malta de levadura
ISP4	Agar almidón sal inorgánica
KB	Medio de King B
LB	Medio Luria-Bertani
MA	Agar marino
MBC	Concentración mínima bactericida
MEA	Agar extracto de malta
MIC	Concentración mínima inhibitoria
MRS	Medio de Man, Rogosa, Sharpe
NA	Agar nutritivo
NCBI	Centro Nacional para la Información Biotecnológica
NRM	Resonancia Magnética Nuclear
ODS	Objetivos de Desarrollo Sostenible
OMS	Organización Mundial de la Salud
PA	Agar peptona
PC	Medio plate count
PDA	Agar papa dextrosa

PSA	Agar peptona sucrosa
SCA	Agar almidón caseína
TLC	Cromatografía en capa fina
TSA	Agar de soya tríptico
TSB	Caldo soya tríptico
TYE	Agar extracto de levadura triptona
USA	Estados Unidos de América
UV	Ultravioleta
WA	Agar agua
WoS	Web of Science
YEA	Agar extracto de levadura
YEG	Medio extracto de levadura - glucosa
YIM38	Medio de metilofila
YNA	Agar nutritivo y extracto de levadura

Resumen

La preocupación por conseguir nuevas alternativas terapéuticas para el tratamiento de infecciones producidas por bacterias resistentes a antibióticos disponibles, trajo consigo el interés de buscar nuevos agentes antibacterianos. Los productos naturales de diversas fuentes biológicas presentan ciertas ventajas frente a compuestos sintéticos. Uno de los sistemas biológicos de gran interés son los microorganismos. Por lo que el presente estudio documental se enfoca en las bacterias endofíticas, los cuales son microorganismos que viven dentro de las plantas. El objetivo de este estudio es analizar los artículos publicados sobre el uso de bacterias endofíticas para la obtención de agentes con actividad antibacteriana. Además, se pretende ordenar y resumir la información disponible en los índices Scopus y Web of Science (WoS).

La búsqueda de artículos científicos se realizó en Scopus y WoS, utilizando los términos de búsqueda ["endophytic bacteria" AND ("antimicrobial activity" OR antibacterial)] en ambas bases de datos. Se consideró todos los artículos con información relevante sobre el tema, publicados hasta el 10 de noviembre del 2021. Se excluyeron artículos de revisión, meta-análisis, libros y capítulos de libros y aquellos artículos cuyo texto completo es en idioma con alfabeto distinto al latino. Además, se realizó un análisis bibliométrico utilizando el programa VOSviewer.

Como resultado de la búsqueda bibliográfica, se encontró 278 artículos entre Scopus y WoS. De estos, 44 documentos sólo están en WoS. Luego de aplicar los criterios de inclusión y exclusión, se determinó que 126 artículos científicos tienen información relevante para el presente estudio. Además, se evidenció que las bacterias endofíticas son microorganismos con un interés creciente en diversos sectores industriales. Con el fin de obtener agentes antibacterianos y luego del análisis de los artículos científicos, se determinó que el proceso de obtención de compuestos con actividad antibacteriana a partir de bacterias endofíticas consta de seis etapas, las cuales son: (i) selección del material vegetal, (ii) aislamiento de bacterias endofíticas, (iii) identificación de las bacterias aisladas, (iv) extracción de metabolitos activos, (v) evaluación de la actividad antibacteriana y (vi) aislamiento e identificación del metabolito activo.

Por otro lado, se evidenció una considerable variedad de plantas de las que se aislaron diversas bacterias, utilizando diversos medios de cultivo y los más utilizados son agar nutritivo, soya tríplico, Luria-Bertani, medio de aislamiento de actinomicetos, entre otros. Además, se identificó dos principales problemas: escasos estudios que aíslan, purifican e identifican el compuesto antibacteriano y muchos estudios que aislaron bacterias sin identificarlas genéticamente.

En conclusión, la búsqueda de agentes antibacterianos a partir de bacterias endofíticas es un área de la ciencia emergente con gran potencial. Los desafíos de los estudios enmarcados en esta área son: demostrar la influencia de la actividad metabólica de las bacterias endofíticas sobre las propiedades farmacológicas de las plantas medicinales y aislar e identificar nuevos compuestos antibacterianos que puedan ser estudiados como posibles fármacos.

Palabras clave: Actividad antibacteriana; Actividad antimicrobiano; Bacteria endofítica; Metabolito bacteriano; Plantas medicinales.



Abstract

The concern for finding new therapeutic alternatives to treat infections produced by bacteria resistant to available antibiotics brought with it the interest to search for new antibacterial agents. Natural products from various biological sources have certain advantages over synthetic compounds. One of the biological systems with great interest are microorganisms. Therefore, this documentary study focuses on endophytic bacteria, which are microorganisms that live inside plants. The objective of this study is to analyze the articles published about the use of endophytic bacteria to obtain agents with antibacterial activity. In addition, it is intended to order and summarize the information available in Scopus and Web of Science (WoS).

The search for scientific articles was carried out in Scopus and WoS, using the search terms ["endophytic bacteria" AND ("antimicrobial activity" OR antibacterial)] in both databases. All articles with relevant information on the subject, published until November 10, 2021, were considered. Review articles, meta-analysis, books and book chapters and those articles whose full text is in a language with an alphabet other than Latin were excluded. In addition, a bibliometric analysis was performed using the VOSviewer Software.

As a result, 278 articles were found between Scopus and WoS. Of these, 44 documents are only in WoS. After applying the inclusion and exclusion criteria, it was determined that 126 scientific articles have relevant information for the present study.

In addition, it was evidenced that endophytic bacteria are microorganisms with a growing interest in several industrial sectors. In order to obtain antibacterial agents, it was determined that the process to obtain compounds with antibacterial activity from endophytic bacteria consists of six stages. These stages are: (i) selection of plant material, (ii) isolation of endophytic bacteria, (iii) identification of isolated bacteria, (iv) extraction of active metabolites, (v) evaluation of antibacterial activity, and (vi) isolation and identification of the active metabolite.

On the other hand, there was evidence of a considerable variety of plants from which various bacteria were isolated, using various culture media and the most commonly used are nutrient agar, tryptic soybeans, Luria-Bertani, actinomycete isolation medium, among others. In addition, two main problems were identified: few studies that isolate, purify and identify the antibacterial compound and many studies that isolated bacteria without identifying them genetically.

In conclusion, the search for antibacterial agents from endophytic bacteria is an emerging area of science with great potential. The challenges of the studies framed in this area are: to demonstrate the influence of the metabolic activity of endophytic bacteria on the pharmacological properties of medicinal plants and to isolate and identify new antibacterial compounds that can be studied as possible drugs.

Keywords: Antibacterial activity; Antimicrobial activity; Endophytic bacteria; Bacterial metabolite; Medicinal plants.

1. INTRODUCCIÓN

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la resistencia a antimicrobianos puede producir infecciones intratables que conlleva no solamente problemas de salud, sino también sociales y económicas ¹. Tal es así que incluso se dice que la continua aparición de resistencia a los antimicrobianos puede limitar el logro de muchos Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) de la Organización de las Naciones Unidas, por ser un problema de salud pública y social ². En ese contexto, la búsqueda de nuevos agentes antibacterianos a partir de diversas fuentes es de interés mundial. Es por ello que existe un gran interés y preocupación de la comunidad científica en la búsqueda de nuevos antibióticos. Esta búsqueda es realizada principalmente a partir de fuentes de origen natural o biológico tales como: plantas, insectos y bacterias³. Además, los microorganismos son preferidos por la capacidad que tienen de incrementar su población en determinados medios de cultivo y la diversidad de especies y hábitat que poseen.

El interés por las bacterias como fuentes de nuevos agentes antibacterianos empezó en 1925 cuando se reportó por primera vez que una cepa de *Escherichia coli* inhibía el crecimiento de otras cepas de la misma especie ⁴. Así, posteriormente, a partir de cultivos bacterianos se desarrollaron fármacos como: cloranfenicol, colistina, eritromicina, estreptomicina, kanamicina, polimixina B, vancomicina, entre otros ^{5,6}. Actualmente, se sabe que nuevos antibióticos tales como teixobactin ³ que fue aislado de bacterias de suelo y darobactin ⁷ aislado de *Photorhabdus* que es un género de bacteria que vive dentro de nematodos están en proceso de desarrollo. Además, entre las bacterias más utilizadas se tiene a las aisladas de suelos ⁸⁻¹⁰, medios y organismos marinos ¹¹⁻¹³ y plantas ¹⁴⁻¹⁸. Estas últimas incluyen a las endofitas o bacterias endofíticas que en los últimos años aumentó su interés.

El interés por las bacterias endofíticas inicia principalmente por el deseo de investigar la relación que tienen con los vegetales y analizar si tienen un rol en las propiedades terapéuticas que poseen las plantas medicinales. Así, se tiene el reporte de la obtención de compuestos como: **ecomicina**, **pseudomicina**, **xiamixina** y

munumbicina quienes son antibacterianos, antimicóticos y antiplásmidos ¹⁹. Además, según la búsqueda en Scopus, el primer reporte de un estudio con el propósito de buscar nuevos agentes antibacterianos a partir de bacterias endofíticas es del año 1999. Desde entonces se publicaron diversos artículos que evalúan la actividad antibacteriana de extractos de cultivos bacterianos frente a bacterias patógenas para plantas, animales y humanos. Sin embargo, sólo existe una revisión general sobre las bacterias endofíticas como fuente de antibióticos y no existe revisiones sistemáticas sobre la obtención de agentes antibacterianos a partir de bacterias endofíticas. Es decir, se desconoce a profundidad el *estado del arte* de este tema. Por lo que el objetivo del presente estudio documental es analizar los estudios publicados sobre el uso de bacterias endofíticas para la obtención de agentes con actividad antibacteriana. Además, permitirá ordenar, analizar y resumir la información disponible en los índices Scopus y Web of Science.

2. METODOLOGÍA

La búsqueda artículos científicos se realizó en los índices o bases de datos Scopus y Web of Science (WoS). Luego de un análisis previo sobre los descriptores adecuados para la presente investigación documental se decidió utilizar los términos de búsqueda ["endophytic bacteria" AND ("antimicrobial activity" OR antibacterial)] en ambas bases de datos. En Scopus, la búsqueda se realizó en los campos "Título, Resumen y Palabras Clave"; mientras que en WoS la búsqueda se realizó en "Todos los Campos" del artículo. El análisis bibliométrico de las publicaciones de bacterias endofíticas para la obtención de agentes con actividad antibacteriana se realizó utilizando el Software VOSviewer.

Debido a que la obtención de agentes antibacterianos a partir de bacterias endofíticas es una línea de investigación relativamente nueva. Tal es el caso que el primer artículo publicado en Scopus sobre el tema fue en el año 1999. Se consideraron todos los artículos encontrados en ambas bases de datos, según el criterio de búsqueda indicado en el párrafo anterior. Además, de todos los artículos encontrados, se realizó una selección según los siguientes criterios:

2.1. Criterio de inclusión

- Artículos originales que contienen información relevante sobre el tema de estudio.

2.2. Criterio de exclusión

- Artículos cuyo texto completo no esté disponible.
- Artículos de revisión, meta-análisis, libros o capítulos de libros.
- Artículo cuyo texto completo es en idioma con alfabeto distinto al latino.

3. ANÁLISIS BIBLIOMÉTRICO

Utilizando el criterio de búsqueda señalado en la parte metodológica, La **Figura 1** muestra el número de artículos encontrados en Scopus y WoS, siendo 234 y 152 artículos publicados hasta el 10 de noviembre del 2021, respectivamente. Además, sustrayendo los artículos indizados en ambas bases de datos (duplicados), se determinó que en total son 278 artículos publicados entre Scopus y WoS. De estos, 44 artículos sólo están en WoS. Asimismo, aplicando los criterios de inclusión y exclusión para la selección de artículos en la presente investigación documental, se determinó que son 126 documentos científicos los que están estrechamente relacionados con el tema del presente estudio y cumplen con los criterios de inclusión, según metodología. De los cuales, 14 artículos sólo están en WoS, 71 artículos están en ambos índices y el resto sólo está en Scopus (**Figura 2** y **Figura 3**). Además, se utilizaron artículos científicos con información relevante para contextualizar el tema, con los que sumaron un total de 178 artículos, visualizados en la lista de referencias bibliográficas.

De los artículos excluidos, la mayoría fueron por tratarse de estudios que evalúan la actividad antifúngica, otros fueron porque el estudio se refiere a hongos endofíticos, porque utilizaba a las bacterias endofíticas con otros fines o porque no se tiene acceso al artículo en texto completo.

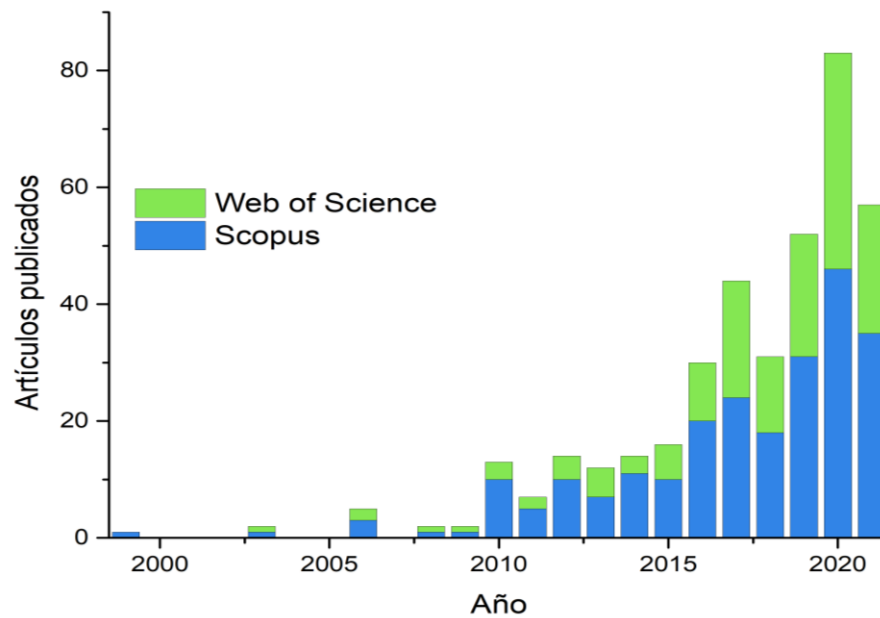


Figura 1 Artículos científicos publicados en Scopus y WoS (Criterio de búsqueda: ["endophytic bacteria" AND ("antimicrobial activity" OR antibacterial)])
Elaboración propia

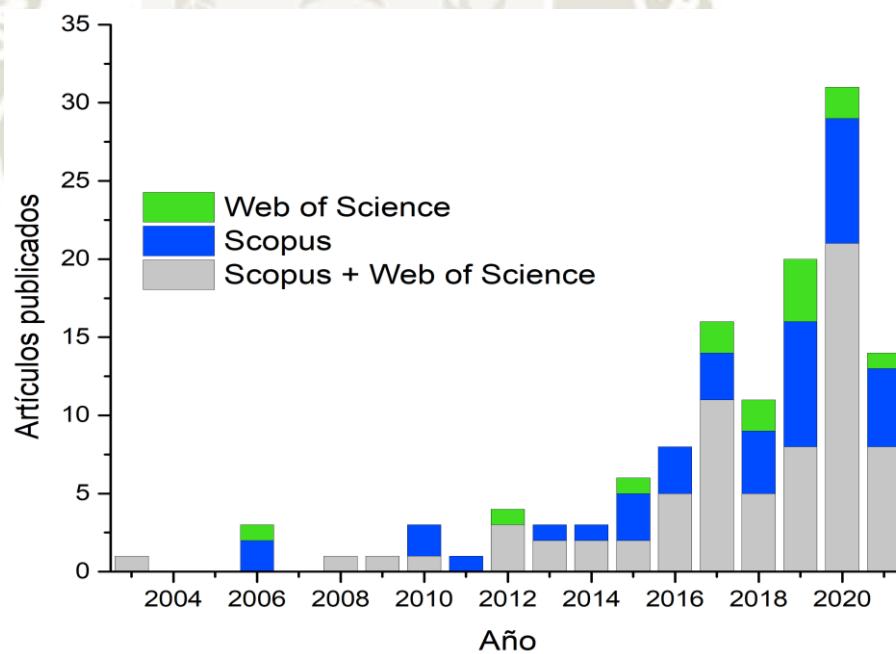


Figura 2 Número de artículos científicos que cumplen con los criterios de inclusión y exclusión, según el año de publicación.
Elaboración propia

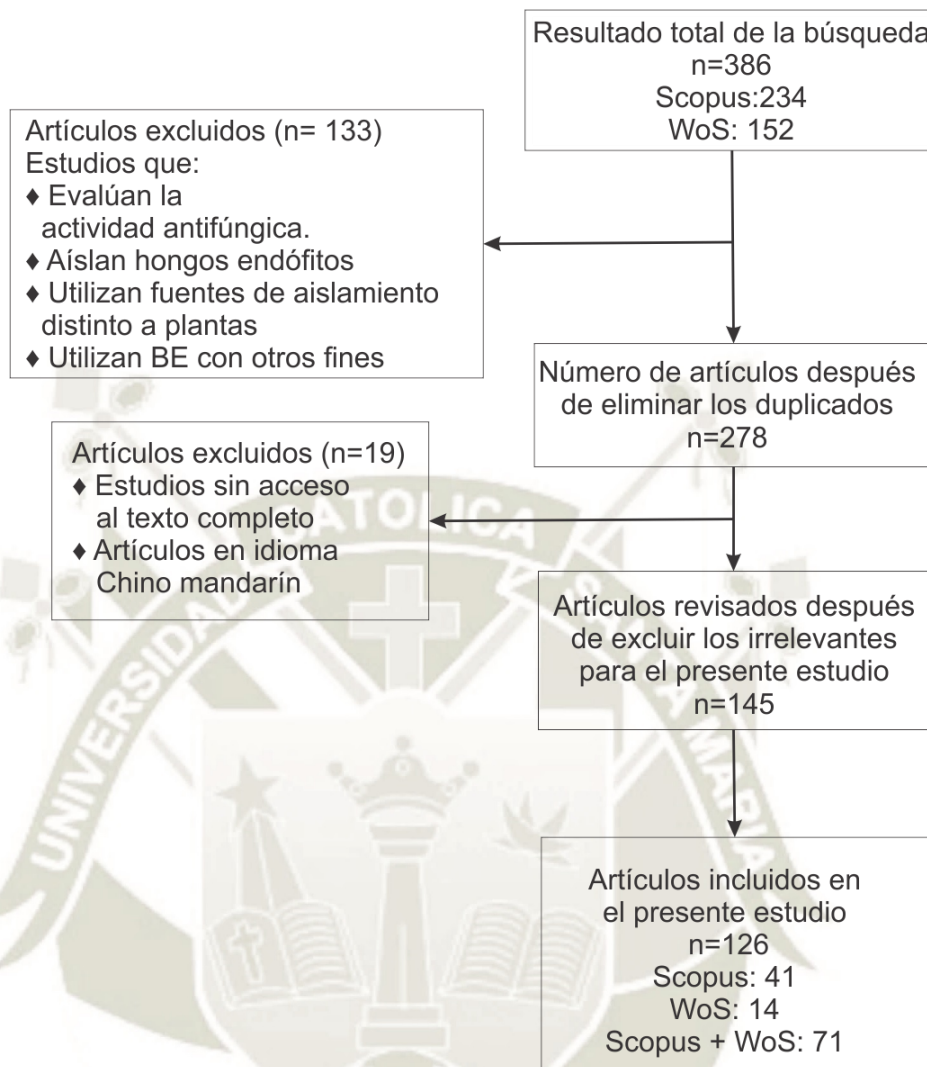


Figura 3. Diagrama del proceso de selección de artículos científicos en el presente estudio.

Elaboración propia

La búsqueda de artículos científicos en la base de datos Scopus evidenció que el término más utilizado como palabra clave es “endophytic bacteria”, seguido por “endophytes”, “antimicrobial activity”, “antibacterial activity”, entre otros (**Figura 4**). Además, la primera palabra clave tiene una fuerza total de enlace de 82, que según el manual de VOSViewer, este dato se refiere al número de publicaciones en la que dos términos aparecen juntos y cuanto mayor sea este valor, más fuerte es el vínculo²⁰. Además, el término “endophytic bacteria” tiene conexión con 19 palabras clave.

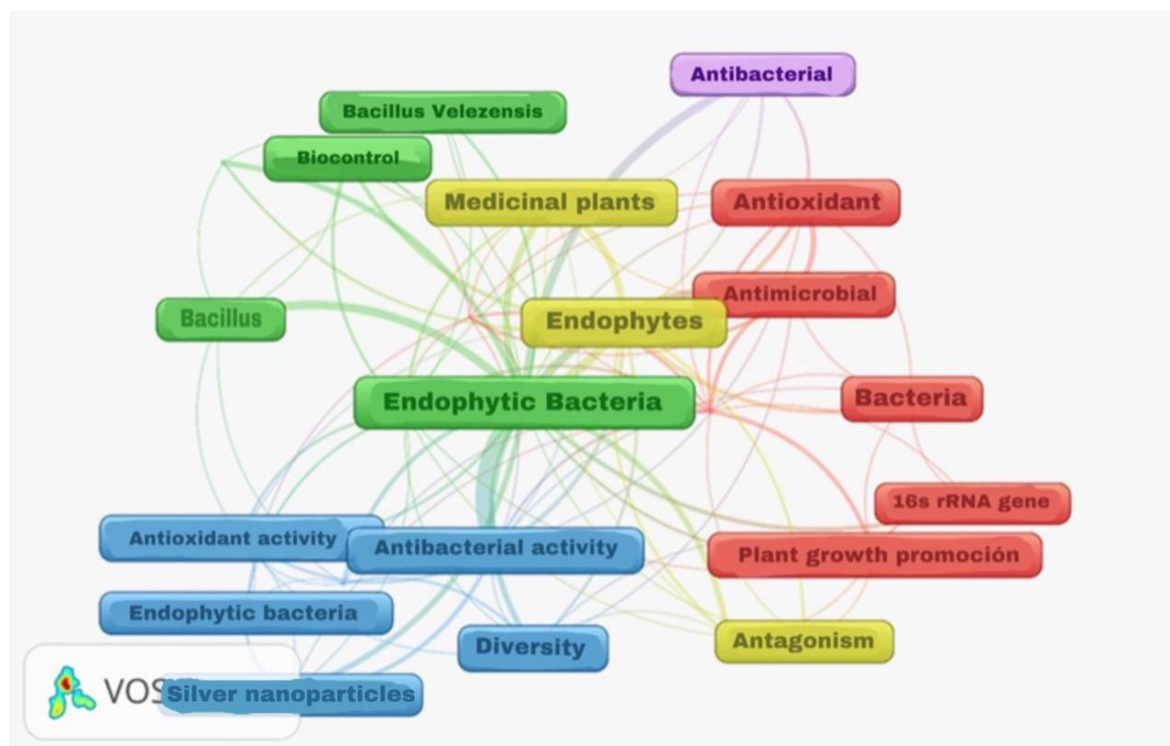


Figura 4 Análisis bibliométrico de palabras clave en publicaciones de bacterias endofíticas, indizadas en Scopus. Mapa según palabras clave. Elaborado con el programa VOSviewer.

Por otro lado, los autores que más artículos publicados del tema tienen en Scopus son Li Yan y Baek Kwang-Hyun, ambos con cinco artículos. Sin embargo, los autores más citados son Berg G. y Sunkar S. con 148 y 132 veces citados, respectivamente. Además, China, con 69 artículos, es el país que más publica en revistas indizadas en Scopus, seguido por India, Indonesia, Corea del Sur, Egipto y Brasil con 41, 29, 17, 13 y 11 documentos publicados, respectivamente. Los países que colaboran con China son: USA, Egipto, Canadá, Arabia Saudí y Uzbekistán (**Figura 5**).

En el caso de WoS, el término “endophytic bacteria” es la principal palabra clave con una fuerza total de enlace de 47. Además, este término tiene conexión con otros 15 términos de los cuales los más frecuentes son “Antimicrobial activity”, “endophytes”, “antibacterial activity”, “medicinal plants”, entre otros (**Figura 6**).

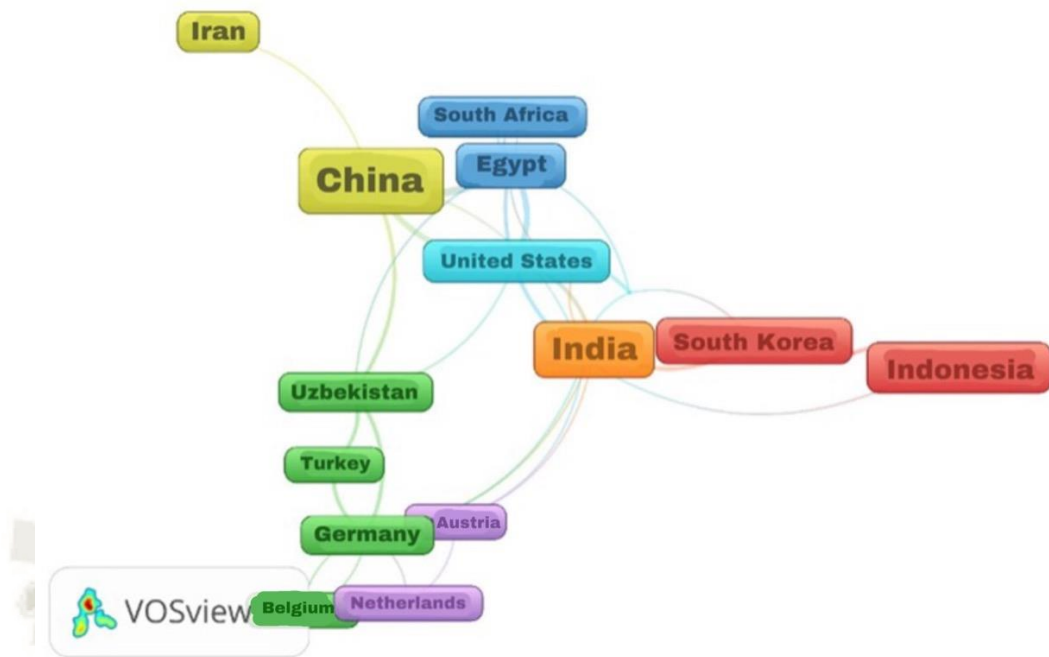
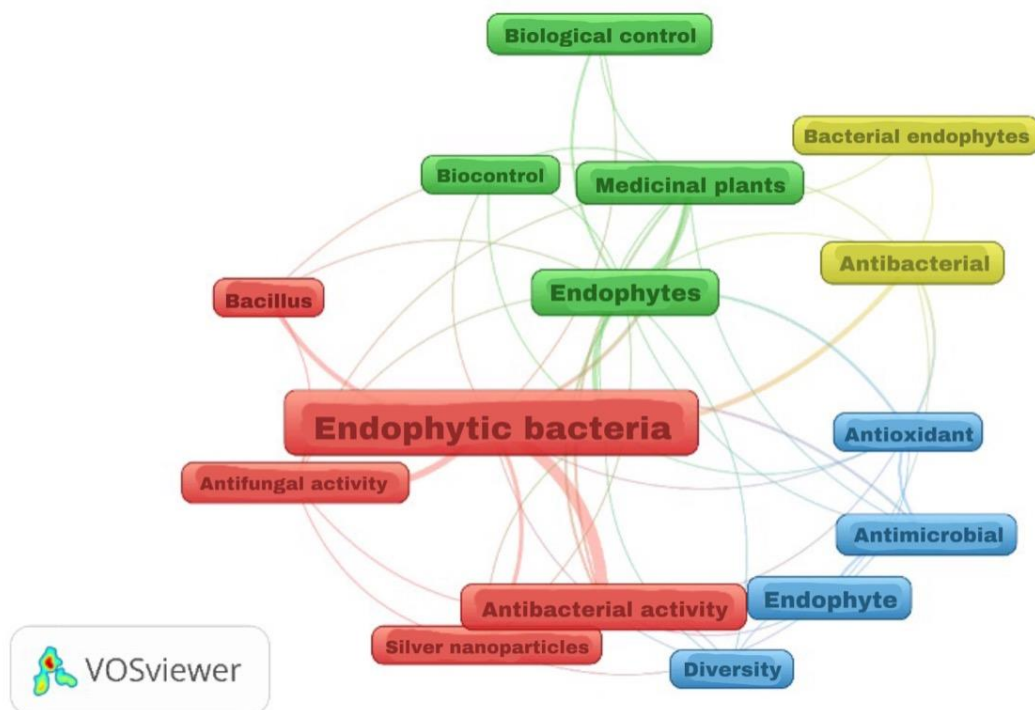


Figura 5 Análisis bibliométrico de co-autoría en publicaciones de bacterias endofíticas, indizadas en Scopus. Mapa según países.



Elaborado con el programa VOSviewer.

Figura 6 Análisis bibliométrico de palabras clave en publicaciones de bacterias endofíticas, indizadas en WoS. Mapa según palabras clave.

Elaborado con el programa VOSviewer.

Por otro lado, Se evidenció que Baek Kwang-Hyun es el autor que más artículos ha publicado (siete) hasta el momento. Sin embargo, Hedlund Brian P. y Li Li son los autores más citados (112 citas), siendo ambos coautores de tres artículos relacionados al tema. Además, el país que más publica sobre el tema es China, con 30 artículos; seguido por India con 26 artículos. El número de países que colaboran con China son cinco (USA, Pakistán, Egipto, Arabia Saudí y Bangladesh). Los países que colaboran con India son tres (Brasil, Arabia Saudí y USA), Ver **Figura 7**.

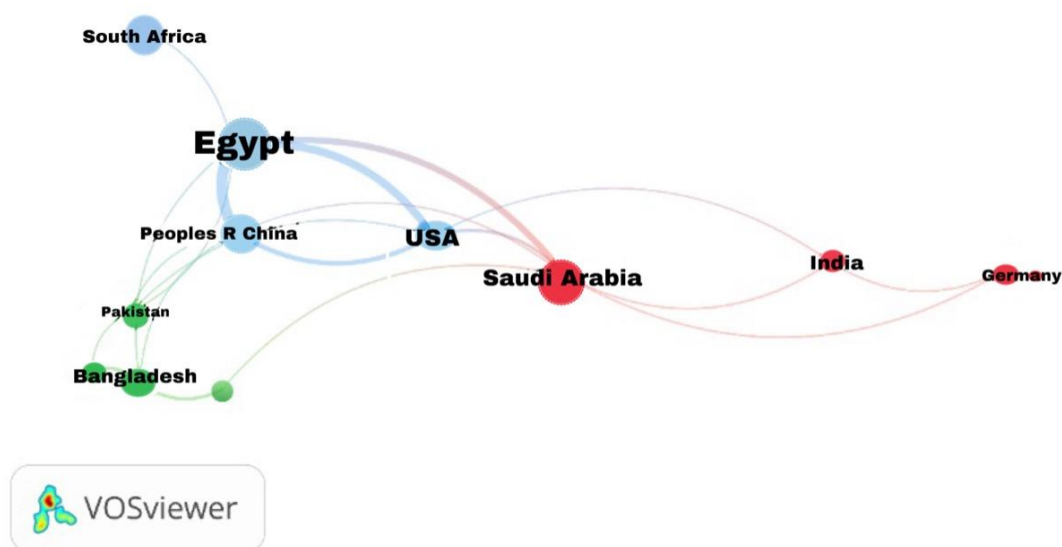


Figura 7 Análisis bibliométrico de co-autoría en publicaciones de bacterias endofíticas, indizadas en WoS. Mapa según países. Elaborado con el programa VOSviewer.

4. BACTERIAS ENDOFÍTICAS

Según Lodewyckx et al., la definición del término endófito ha ido cambiando con el transcurso del tiempo ²¹; así, en 1992 se denominó endófitos a los microorganismos localizados dentro de los tejidos internos de la epidermis. Posteriormente, en 1997 James & Olivares se referían a las bacterias endofíticas como microorganismos que pueden o no producir alguna enfermedad en la planta huésped ²². Sin embargo, en la

actualidad se define a las bacterias endofíticas como microorganismos que viven dentro de la planta durante cierta parte o todo su ciclo de vida ²³.

El origen de las bacterias endofíticas se desconoce. Sin embargo, según Hardoim et al. ²⁴, todas las plantas tienen en su interior microorganismos que desempeñan un rol fundamental en la planta. Los microorganismos que habitan el interior de la planta pertenecen a taxones bacterianos, fúngicos, protistas y arqueas. Además, en el caso de las bacterias, su transmisión puede ser de forma horizontal (a través de esporas en el aire o en el medio rizosférico) o vertical (través de las semillas o el polen) ²⁵

Así mismo, se sabe que las plantas se benefician de las bacterias endofíticas por adquirir protección frente a la colonización de otros microorganismos patógenos, degradación o disminución de compuestos tóxicos, obtención de nutrientes generados por las bacterias, fijación de nitrógeno y síntesis de fitohormonas ^{26,27}. Además, las bacterias endofíticas pueden intervenir en la síntesis de metabolitos secundarios con efectos biológicos beneficiosos ²⁸.

4.1. Usos potenciales

El interés por las bacterias endofíticas ha ido creciendo en diversas áreas. En la industria farmacéutica, diversos estudios reportan el uso de bacterias endofíticas para el desarrollo de nuevos fármacos o para la obtención de materia prima en la producción de fármacos. En el primer caso, se tiene por ejemplo el reporte de que *Bacillus cereus* SZ1 produce exopolisacáridos que previene el daño oxidativo del DNA y la oxidación celular ²⁹; *Streptomyces* SUK10 tiene la capacidad de sintetizar compuestos con actividad antimalárica ³⁰, *Pseudomonas helmanticensis* para la obtención de compuestos con actividad antibacteriana y anticáncida ³¹; *Bacillus subtilis* NCIB3610 para sintetizar monosacáridos, polisacáridos, y aminoácidos con actividad antibacteriana y antifúngica ³². Todos estos estudios sugieren un potencial uso de las bacterias señaladas en la industria farmacéutica para el desarrollo de nuevos fármacos. Por otro lado, una potencial fuente amigable con el medio ambiente de precursores en la producción de fármacos son

las bacterias endofíticas. Por ejemplo, Anjum & Chandra ³³ reportaron que *Microbacterium sp.*, aislado de *Catharanthus roseus*, tiene la capacidad de sintetizar Vindolina, un alcaloide de interés farmacéutico para la producción de vinblastina; Zou et al. ³⁴ reportaron que las bacterias endofíticas aisladas de *Ginkgo biloba* tienen la capacidad de sintetizar terpenos y flavonoides. Además, *Bacillus licheniformis* Syt1, aislado de *Dioscorea zingiberensis*, tiene la habilidad de sintetizar diosgenina que es un precursor de fármacos esteroideos y otros metabolitos de interés en la industria farmacéutica ³⁵.

En la agricultura, se reportó que estas bacterias se podrían utilizar como promotores de crecimiento, control de plagas, prevención y control de enfermedades en las plantas y mejorar la tolerancia de la planta a condiciones de estrés ^{25,36}. Además, se estima que el uso de este recurso disminuirá significativamente el uso de agroquímicos como fertilizantes, insecticidas, fungicidas y herbicidas ³⁷. Por lo que es una posible solución al problema de la seguridad alimentaria.

En la solución de problemas medioambientales, un potencial recurso para la remediación de contaminantes son las bacterias endofíticas. Así por ejemplo estos microorganismos actúan sinérgicamente con las plantas huésped para la fitorremediación de contaminantes orgánicos en agua ³⁸. Se observó también la capacidad de estas bacterias para la captación de metales pesados ^{39,40}. Incluso, se reportó que *Bacillus amyloliquefaciens* RWL, aislado de semillas de arroz, tienen la capacidad de promover el crecimiento de plantas, al mismo tiempo captar metales pesados de un suelo contaminado ⁴¹. Además, para contrarrestar los contaminantes producto de la industria farmacéutica, estas bacterias podrían ayudar en la degradación de medicamentos que llegan a los cultivos de plantas a través del agua de irrigación ⁴².

Otro potencial uso de las bacterias endofíticas es en el área nanotecnológico. Así, se reportó el uso de estas bacterias para la biosíntesis de nanopartículas

metálicas y no metálicas con actividad antibacteriana, antifúngica, antioxidante, y un posible uso contra el cáncer ⁴³⁻⁴⁵.

5. BACTERIAS ENDOFÍTICAS COMO FUENTES DE AGENTES ANTIBACTERIANOS

Los productos naturales se refieren a los metabolitos producidos por animales, plantas y microorganismos ⁴⁶. Además, debido al interés de conseguir productos naturales por su afinidad y mejor tolerancia en los seres humanos ⁷ es que la búsqueda de agentes antibacterianos a partir de bacterias endofíticas es una línea de investigación emergente. Como se verá más adelante, las BE son una fuente potencial para la obtención de nuevos agentes antibacterianos que puedan ser utilizados en la industria agrícola, alimentaria y farmacéutica (en el desarrollo de nuevos antibióticos).

5.1. Proceso de obtención de agentes antibacterianos a partir de bacterias endofíticas

El proceso completo de obtención de compuestos con actividad antibacteriana a partir de bacterias endofíticas consta de seis etapas, los cuales son: (i) selección del material vegetal, (ii) aislamiento de bacterias endofíticas, (iii) identificación de las bacterias aisladas, (iv) extracción de metabolitos activos, (v) evaluación de la actividad antibacteriana y (vi) aislamiento e identificación del metabolito activo.

En la práctica investigativa, la evaluación de la actividad antibacteriana frecuentemente se realiza en tres momentos del estudio: de forma preliminar (inmediatamente después del aislamiento del microorganismo), luego de obtener un extracto con solvente orgánico de bacterias endofíticas y después del aislamiento del posible metabolito con actividad antibacteriana. Cabe mencionar que casi todos los estudios publicados están constituidos por una parte de este proceso; generalmente se reporta desde el aislamiento de la bacteria endofítica

hasta la evaluación de la actividad antibacteriana de extractos de aislados bacterianos.

5.1.1. Fuentes de aislamiento de bacterias endofíticas para la obtención de agentes con actividad antibacteriana

Se puede inferir diversas estrategias para seleccionar las plantas con el fin de aislar sus endófitos. La principal justificación del uso de determinado material vegetal es el antecedente etnobotánico ⁴⁷, es decir, se consideran para su estudio las plantas con valor tradicional terapéutico. Otro motivo es la preocupación del riesgo de extinción de diversas especies vegetales por causa del cambio climático, una extracción indiscriminada y otras actividades humanas ⁴⁸⁻⁵⁰. El problema de extinción de plantas eliminaría potenciales fuentes de metabolitos con interés farmacológico, por lo que la comunidad científica expresa el interés de explorar de forma exhaustiva el potencial biotecnológico antes de la extinción completa de la planta, tal como reporta Liu et al. ⁵¹. Estas dos justificaciones son las que frecuentemente se hallan en los estudios que aíslan bacterias endofíticas. Sin embargo, Strobel & Daisy ⁵² sugieren que la estrategia de selección de plantas son también cuando el vegetal tiene un entorno ambiental único, especialmente las condiciones difíciles de supervivencia; plantas que son endémicas y plantas que crecen en zonas de gran biodiversidad. Además, se puede considerar como un criterio de selección de plantas por su valor como fuente ya comprobada de compuestos biológicos activos. Tal como sucede con las plantas del género *Taxus*, del que se obtiene paclitaxel (fármaco anticancerígeno) y que algunos investigadores ya reportaron potenciales agentes antibacterianos a partir de BE de esta planta ^{16,53,54}.

La **Tabla I** muestra 138 especies de plantas utilizadas para el aislamiento de bacterias endofíticas alrededor del mundo. Algunas plantas son estudiadas en diferentes lugares por distintos investigadores, por ejemplo: *Aloe vera*, estudiada en Malasia y en la India ^{55,56}; *Avicennia lanata*, estudiada

en Indonesia y Malasia ^{57,58}, *Calotropis procera*, estudiada en Pakistán y Egipto ^{59,60}; *Carica papaya* L., estudiada en Indonesia, Filipinas y Pakistán ⁶¹⁻⁶⁴; *Catharanthus roseus*, estudiada en la India y Birmania ⁶⁵⁻⁶⁷; *Centella asiatica* L., estudiada en la India y Malasia ^{67,68}; Citrus limón, estudiado en China y Pakistán ^{69,70}; *Curcuma cedoaria*, estudiada por diferentes investigadores en Indonesia ^{71,72}; *Hibiscus rosa-sinensis* L., estudiada por distintos investigadores en la India ^{67,73}; y otros. Además, otras plantas son reportadas en más de un artículo, por ejemplo: *Arabidopsis thaliana* ^{74,75}; *Bacopa monnieri* ^{76,77}; *Ginkgo biloba* L. ^{53,78} y *Taxus brevifolia* ^{16,53}. Por otro lado, algunos estudios le dan mayor importancia al potencial uso de las bacterias endofíticas aisladas y sus metabolitos, sin reportar la identidad del material vegetal utilizado. Esta situación ocurre por ejemplo con Webster et al. ⁷⁹ que señalan haber utilizado 24 especies de plantas que incluyen 19 géneros, de forma similar sucede con Beiranvand et al. ⁸⁰ quienes reportan haber utilizado 23 plantas medicinales en Irán.

Cabe mencionar que de todas las plantas utilizadas para el aislamiento de bacterias endofíticas en el mundo, sólo se tiene un artículo publicado indizado tanto en Scopus como en WoS. El artículo peruano fue publicado por Valdez-Nuñez et al. ⁸¹, el objetivo del estudio fue aislar BE en búsqueda de agentes antibacteriano contra *Burkholderia glumae* (fitopatógeno del arroz).

Tabla 1. Plantas estudiadas para el aislamiento de bacterias endofíticas

Planta huésped	Referencia
<i>Acalypha indica</i> Linn	82
<i>Achillea kellalensis</i>	83
<i>Aloe vera</i>	55,56
<i>Alternanthera brasiliana</i>	84
<i>Amorphophallus konjac</i>	85
<i>Andrographis paniculata</i> L.	67
<i>Angelica sinensis</i>	86

Planta huésped	Referencia
<i>Anisophyllea disticha</i>	87
<i>Anredera cordifolia</i>	88
<i>Arabidopsis thaliana</i>	74,75
<i>Arachis hypogaea</i>	89
<i>Arisaema</i>	90
<i>Armoracia rusticana</i>	91
<i>Artemisia annua</i> L.	92
<i>Astrocaryum sciophilum</i>	93
<i>Avicennia alba</i>	58
<i>Avicennia lanata</i>	57,58
<i>Avicennia marina</i>	58
<i>Azadirachta indica</i> (neem)	94
<i>Bacopa monnieri</i>	76,77
<i>Boscia variabilis</i> Collett & Hemsl	66
<i>Brassica campestris</i> L	95
<i>Brassica oleracea</i>	96
<i>Bruguiera cylindrica</i>	58
<i>Bruguiera gymnorrhiza</i>	58
<i>Byrsonima crassifolia</i>	97
<i>Calotropis gigantea</i>	73
<i>Calotropis procera</i>	59,60
<i>Camellia sinensis</i>	98
<i>Camellia assamica</i>	99
<i>Camellia oleifera</i>	100
<i>Capsicum annum</i>	101
<i>Carica papaya</i> L.	61–64
<i>Catharanthus roseus</i>	65–67
<i>Centella asiatica</i> L.	67,68
<i>Chenopodium album</i> L.	69
<i>Cichorium intybus</i> L.	102
<i>Cissus quadrangularis</i>	103

Planta huésped	Referencia
<i>Citrus aurantifolia</i>	104
<i>Citrus limon</i>	69,70
<i>Citrus spp.</i>	105
<i>Cocos nucifera</i> L.	106
<i>Coix lacryma-jobi</i>	107
<i>Commiphora wightii</i>	108
<i>Cosmos caudatus</i> Kunth	109
<i>Crinum macowanii</i>	110
<i>Curcuma aeruginosa</i>	72
<i>Curcuma xanthorrhiza</i>	72
<i>Curcuma zedoaria</i>	71,72
<i>Cymodocea rotundata</i>	111
<i>Dendrobium officinale</i>	112
<i>Dicoma anómala</i>	113
<i>Dryopteris uniformis</i>	114
<i>Echinacea purpurea</i>	115
<i>Enhalus acoroides</i>	111
<i>Ephedra foliata</i>	116
<i>Epimedium brevicornu</i> Maxim	117
<i>Equisetum arvense</i>	118
<i>Eugenia uniflora</i> L.	119
<i>Euterpe oleracea</i>	120
<i>Fagonia indica</i>	121
<i>Ficus minahassae</i>	122
<i>Garcinia mangostana</i> L.	123
<i>Ginkgo biloba</i> L.	53,78
<i>Glycine max</i>	124
<i>Glycyrrhiza uralensis</i>	125
<i>Grewia tenax</i>	108
<i>Hedyotis corymbosa</i> (L.) Lamk	126
<i>Helianthus annus</i> L.	69

Planta huésped	Referencia
<i>Hemsleya sinensis</i>	127
<i>Hibiscus rosa-sinensis</i> L.	67,73
<i>Holostemma ada-kodien</i>	128
<i>Hoya multiflora</i> Blume	129
<i>Hypericum perforatum</i>	130
<i>Hypericum scabrum</i>	83
<i>Hyptis suaveolens</i>	131
<i>Lonicera japonicae</i>	132
<i>Mahonia fortunei</i>	133
<i>Malus domestica</i> Borkh.	134
<i>Mangifera indica</i>	73
<i>Memecylon edule</i> Roxb	135
<i>Mentha arvensis</i> L.	67
<i>Mentha sativa</i> L.	32
<i>Mentha spicata</i>	136
<i>Messerschmidia sibirica</i>	137
<i>Metasequoia glyptostroboides</i>	53
<i>Millettia pachycarpa</i> Benth	47
<i>Morinda citrifolia</i> L.	138,139
<i>Musa accuminata</i> Colla	69
<i>Neesia altissima</i>	140
<i>Nerium oleander</i> L.	67
<i>Ocimum sanctum</i>	141
<i>Ocimum tenuiflorum</i> L.	67
<i>Olea europea</i>	142
<i>Origanum vulgare</i> L.	143
<i>Oryza sativa</i> L.	81
<i>Pajanelia longifolia</i>	144
<i>Panax quinquefolius</i>	145
<i>Peganum harmala</i> L.	146
<i>Pelargonium hortorum</i>	102

Planta huésped	Referencia
<i>Phaseolus vulgaris</i>	147
<i>Phragmites australis</i>	148
<i>Pimpinella pruatjan Molkend</i>	149
<i>Pinus densiflora</i>	53
<i>Piper retrofractum Vahl</i>	150
<i>Platycodon grandiflorum</i>	151
<i>Plectranthus amboinicus L.</i>	67
<i>Plectranthus tenuiflorus</i>	152
<i>Portulaca oleracea</i>	102
<i>Pseudobrickellia brasiliensis</i>	153
<i>Raphanus sativus L.</i>	154
<i>Rauwolfia serpentina (L.) Benth.</i> ex. Kurz	155
<i>Rhizophora apiculata</i>	57,58
<i>Rhizophora mucronata Lam.</i>	57,156
<i>Rumex pulcher</i>	83
<i>Salix babylonica</i>	53
<i>Salix chaenomeloides</i>	53
<i>salvia miltiorrhiza</i>	157
<i>Salvadora oleoides</i>	108
<i>Scutellaria baicalensis</i>	158
<i>Solanum lycopersicum L.</i>	159
<i>Solanum mauritianum</i>	160
<i>Solanum sp</i>	161
<i>Solanum tuberosum L.</i>	162,163
<i>Sonneratia caseolaris</i>	57,58
<i>Stachys lavandulifolia</i>	83
<i>Starja bachteriarica</i>	83
<i>Styrax benzoin L.</i>	164
<i>Syzygium polycephalum</i>	165
<i>Tamarindus indica Linn.</i>	166

Planta huésped	Referencia
<i>Taxus brevifolia</i>	16,53
<i>Taxus wallichiana</i> Zucc.	54
<i>Tectaria barberi</i>	167
<i>Tectona hamiltoniana</i> Wall	66
<i>Thalassia hemprichii</i>	111,168
<i>Tinospora cordifolia</i> (Wild.) Miers	66
<i>Vernonia anthelmintica</i>	169
<i>Xylocarpus moluccensis</i>	57

Elaboración propia.

5.1.2. Aislamiento de bacterias endofíticas

Tal como se conoce por definición, una bacteria endofítica es aquella bacteria localizada en el interior de una planta, además el microorganismo no produce daño alguno al vegetal. Por lo que se deduce que las poblaciones bacterianas ubicadas en la parte externa de la planta son microorganismos ajenos a las BE. Entonces, una de las etapas críticas de este procedimiento es eliminar los microorganismos de la parte externa del material vegetal. Según el procedimiento reportado, este proceso de esterilización se lleva a cabo utilizando etanol al 70% y 96%, hipoclorito de sodio en un rango de 2 al 5%, agua y materiales estériles. Para confirmar la esterilidad de la parte externa de la planta, se toma el agua del último lavado y se siembra en una placa con un determinado medio de cultivo.

En resumen, el proceso de esterilización de la parte externa del material vegetal consiste primeramente en el lavado de la planta para eliminar partículas de gran tamaño. Inmediatamente después, se lava con etanol por un determinado tiempo, que puede ir de 3 a 5 minutos. Posteriormente, se lava con solución de hipoclorito de sodio y finalmente se deja secar. Todo el procedimiento se lleva a cabo en condiciones asépticas.

Por otro lado, el aislamiento de las bacterias endofíticas consiste en extraer estos microorganismos utilizando determinados medios de cultivo. Estos medios de cultivo pueden ser selectivos tales como: Man, Rogosa y Sharpe (MRS), triptona de soya (TS), caseína de almidón (SC), medio marino, agar marino Zobell 2216, Luria Bertani (LB) y Rogosa SL (RMW). Los medios de cultivo no selectivos utilizados son: agar o caldo nutritivo (NA o NB), medio plate count (PC) extracto de levadura triptona (TYE), infusión cerebro corazón (BHI) y extracto de levadura (YN). Además, se evidencia el uso de medios no selectivos suplementados con determinados antimicrobianos para aislar bacterias endofíticas de forma selectiva. Es el caso del uso de ácido nalidíxico, cicloheximida, nistatina y ketoconazol. La **Tabla 2** muestra las bacterias endofíticas y su fuente de aislamiento. Estas bacterias fueron reportadas por su habilidad de sintetizar algún compuesto antibacteriano o mostrar un crecimiento antagónico frente a al menos una bacteria patógena para humanos o para vegetales. Además, se observa que algunos autores refieren que el detalle del proceso de aislamiento de las BE se consigna en otro artículo; por lo que el medio de cultivo utilizado se desconoce.

Tabla 2. Bacterias endofíticas con capacidad para sintetizar agentes antibacterianos

Planta huésped	Medio de cultivo	Bacteria endofítica	Referencia
<i>Acalypha indica</i> Linn	NA	<i>Staphylococcus saprophyticus</i> y <i>Luteimonas terrae</i>	82
<i>Aloe vera</i>	LB	<i>Ralstonia pickettii</i>	56
<i>Aloe vera</i>	NA	<i>Bacillus tequilensis</i> , <i>Pseudomonas entomophila</i> , <i>Chryseobacterium indologenes</i> y <i>Bacillus aerophilus</i>	55
<i>Alternanthera brasiliana</i>	NA	<i>Bacillus</i>	84
<i>Amorphophallus konjac</i>	-	<i>Bacillus subtilis</i> BSn5.	85

Planta huésped	Medio de cultivo	Bacteria endofítica	Referencia
<i>Andrographis paniculata</i> L.	TSA	<i>Paenibacillus dendritiformis</i> APL3.	67
<i>Angelica sinensis</i>	Varios	Bacterias de géneros <i>Proteobacteria</i> , <i>Actinobacteria</i> , <i>Bacteroidetes</i> , <i>Microgenomates</i> y <i>Saccharibacteria</i> .	86
<i>Anisophyllea disticha</i>	-	Bacterias de géneros <i>Bacillus</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Lysinibacillus</i> , <i>Paenibacillus</i> y <i>Mycobacterium</i> .	87
<i>Anredera cordifolia</i>	NA	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> CP043328.1	88
<i>Arabidopsis thaliana</i>	-	<i>Rhodococcus kyotonensis</i> KB10	74,75
<i>Arachis hypogaea</i>	NA	<i>Bacillus velezensis</i> LDO2	89
<i>Armoracia rusticana</i>	TSA	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> KRT1, <i>Serratia ficaria</i> KRT5 y <i>Pantoea agglomerans</i> KLT4	91
<i>Artemisia annua</i> L.	ISP2 y SCA	<i>Bacillus selenatarsenatis</i> y <i>Achromobacter xylosoxidans</i>	92
<i>Astrocaryum sciophilum</i>	PDA	<i>Luteibacter</i> sp. BSNB-0721	93
<i>Avicennia lunata</i>	TSA	<i>Serratia marcescens</i>	58
<i>Azadirachta indica</i> (neem)	KB	<i>Bacillus</i> sp.	94
<i>Bacopa monnieri</i>	NA	<i>Bacillus mojavensis</i>	77
<i>Boscia variabilis</i> Collett & Hemsl	BM	<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i> str. 168 y <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> DSM7	66
<i>Brassica campestris</i> L.	PDA	<i>Bacillus</i> sp., <i>Bacillus subtilis</i>	95
<i>Brassica oleracea</i>	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	96
<i>Bruguiera gymnorrhiza</i>	TSA	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	58
<i>Byrsonima crassifolia</i>	-	<i>Streptomyces ansochromogene</i>	97

Planta huésped	Medio de cultivo	Bacteria endofítica	Referencia
<i>Calotropis procera</i>	TSA, NA	<i>Bacillus siamensis</i> y <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	59
<i>Camellia assamica</i>	PDA	<i>Bacillus velezensis</i> FZ06	99
<i>Camellia oleífera</i>	NA	<i>Bacillus subtilis</i> 1-L-29	100
<i>Capsicum annuum</i>	NA	<i>Bacillus</i> sp.	101
<i>Carica papaya</i> L.	PSA	<i>Kosakonia</i> sp., <i>Sphingomonas</i> sp., <i>Bacillus</i> sp.	64
<i>Catharanthus roseus</i>	BM	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> DSM7	66
<i>Catharanthus roseus</i> G. Don	SCA	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> DSM7	66
<i>Centella asiatica</i> L.	NB	<i>Pantoea agglomerans</i> AR_PSBH2, <i>Bacillus gibsonii</i> AR_PBSTSB	68
<i>Centella asiatica</i> L.	TSA	<i>Paenibacillus dendritiformis</i> APL3	67
<i>Chenopodium album</i> L., <i>Helianthus annuus</i> L., <i>Musa accuminata</i> Colla	LB, Agar arroz	<i>Bacillus cereus</i> , <i>Bacillus megatarium</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Serratia marcescens</i> , <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Bacillus</i> spp., <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Stenotrophomonas</i> spp., <i>Stenotrophomonas</i> spp., <i>Micromonospora</i> spp.	69
<i>Cissus quadrangularis</i>	NA	<i>Achromobacter anxifer</i>	103
<i>Citrus aurantifolia</i>	NA	<i>Bacillus cereus</i> RNS_01, <i>Pantoea agglomerans</i> ZFJ-15, <i>Bacillus subtilis</i> 55C1-1 y <i>Bacillus pumilus</i> SH-B11	104
<i>Citrus limón</i>	LB	<i>Bacillus subtilis</i> L1-21	69,70
<i>Citrus</i> spp.	YNA	<i>Bacillus velezensis</i>	105
<i>Cocos nucifera</i> L.	NA	<i>Staphylococcus cohnii</i>	106
<i>Coix lacryma-jobi</i>	LB	<i>Paenibacillus amylolyticus</i> KMCLE06	107
<i>Commiphora wightii</i> , <i>Grewia tenax</i> , <i>Salvadora oleoides</i>	-	<i>Bacillus safensis</i> , <i>Bacillus subtilis</i>	108
<i>Cosmos caudatus</i> Kunth	TSA	<i>Serratia</i> sp., <i>Neisseria</i> sp., <i>Acinetobacter</i> sp., <i>Yersinia</i> sp.	109

Planta huésped	Medio de cultivo	Bacteria endofítica	Referencia
<i>Crinum macowanii</i>	PDA, NA	<i>Raoultella ornithinolytica</i> , <i>Acinetobacter guillouiae</i> , <i>Pseudomonas</i> <i>sp.</i> , <i>Pseudomonas palleroniana</i> , <i>Pseudomonas putida</i> , <i>Bacillus safensis</i> , <i>Enterobacter asburiae</i> , <i>Pseudomonas</i> <i>cichorii</i> y <i>Arthrobacter pascens</i>	110
<i>Curcuma aeruginosa</i>	NA	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> y <i>Bacillus</i> <i>cereus</i>	72
<i>Curcuma xanthorrhiza</i>	NA	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> y <i>Lysinibacillus sphaericus</i>	72
<i>Curcuma Zedoaria</i>	NA	<i>Citrobacter freundii</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Pseudomonas otitidis</i> y <i>Burkholderia</i> <i>cenocepacia</i>	71,72
<i>Cymodocea rotundata</i> , <i>Enhalus acoroides</i>	MA	<i>Bacillus megaterium</i> KAKJ6, <i>Bacillus</i> <i>sp.</i> BAB-4161, <i>Bacillus flexus</i> Marseille-P670, <i>Bacillus flexus</i> PR1, <i>Bacillus flexus</i> STRFG-13, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> DM1, <i>Shewanella algae</i> MARS-14, <i>Paracoccus zeaxanthinifaciens</i> F71025	111
<i>Dendrobium officinale</i>	ISP4	<i>Streptomyces sp.</i>	112
<i>Dicoma anómala</i>	NA	<i>Stenotrophomonas sp.</i> , <i>Enterobacter sp.</i> , <i>Staphylococcus sp.</i> , <i>Bacillus sp.</i>	113
<i>Dryopteris uniformis</i>	ISP4	<i>Streptomyces sp.</i>	114
<i>Ephedra foliata</i>	TSA	<i>Paenibacillus polymyxa</i> , <i>Bacillus</i> <i>australimaris</i> , <i>Bacillus zhangzhouensis</i> , <i>Bacillus atrophaeus</i> , <i>Microbacterium</i> <i>maritypicum</i> , <i>Kytococcus schroeteri</i> , <i>Brevundimonas diminuta</i>	116
<i>Epimedium brevicornu Maxim</i>	WA	<i>Phyllobacterium sp.</i>	117
<i>Equisetum arvense</i>	YNA	<i>Streptomyces albolongus</i> , <i>Dermacoccus</i> <i>sp.</i> , <i>Mycobacterium sp.</i> , <i>Streptomyces</i> <i>griseoaurantiacus</i> , <i>Paenibacillus sp.</i>	118
<i>Eugenia uniflora L.</i>	NA	<i>Bacillus cereus</i> , <i>Bacillus</i> <i>amyloliquefaciens</i> , y <i>Bacillus sp.</i>	119

Planta huésped	Medio de cultivo	Bacteria endofítica	Referencia
<i>Euterpe oleracea</i>	-	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	120
<i>Fagonia indica</i>	TSA	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> , <i>Bacillus tequilensis</i>	121
<i>Ficus minahassae</i>	NA	<i>Brachybacterium muris</i> , <i>Pseudacidovorax intermedius</i>	122
<i>Ginkgo biloba</i> L.	YNA	<i>Bacillus subtilis</i>	78
<i>Glycine max</i>	NA	<i>Bacillus</i> sp. y <i>Burkholderia</i> sp.	124
<i>Glycyrrhiza uralensis</i>	-	<i>Bacillus atrophaeus</i> and <i>Bacillus mojavensis</i>	125
<i>Holostemma adakodien</i>	NA	<i>Bacillus pumilus</i> , <i>Micrococcus luteus</i> y <i>Bacillus pseudomycoides</i>	128
<i>Hoya multiflora</i> Blume	NA	<i>Bacillus siamensis</i> KCTC-13613, <i>Bacillus aryabhatai</i> B82W22.	129
<i>Hypericum perforatum</i>	TSA	<i>Arthrobacter</i> , <i>Achromobacter</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Erwinia</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Pantoea</i> , <i>Serratia</i> , y <i>Stenotrophomonas</i>	130
<i>Hypericum scabrum</i>	PA y YEA	<i>Bacillus</i> sp.	83
<i>Hyptis suaveolens</i>	NA	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> y <i>Pseudomonas</i> sp.	131
<i>Lonicera japonicae</i>	PDA	<i>Bacillus subtilis</i>	132
<i>Mahonia fortunei</i>	NA	<i>Bacillus wiedmannii</i>	133
<i>Malus domestica</i> Borkh.	NA, AA	<i>Pantoea</i> sp., <i>Pseudomonas fluorescens</i>	134
<i>Memecylon edule</i> Roxb	NA	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> UD25	135
<i>Mentha sativa</i> L.	LB	<i>Bacillus subtilis</i> NCIB 3610	32
<i>Mentha spicata</i>	NA	<i>Pseudomonas putida</i> , <i>Pseudomonas pictorum</i> , <i>Bacillus thuringiensis</i> , <i>Pseudomonas straminea</i>	136
<i>Messerschmidia sibirica</i>	LB	<i>Pseudomonas alcaliphila</i> , <i>Bacillus subtilis</i>	137

Planta huésped	Medio de cultivo	Bacteria endofítica	Referencia
<i>Millettia pachycarpa</i> Benth	LB	<i>Paenibacillus peoriae</i> IBSD35	47
<i>Morinda citrifolia</i> L.	LB, TSA, R2A, PDA y MEA	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus licheniformis</i> , <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> , <i>Bacillus velezensis</i> y <i>Bacillus mojavensis</i>	139
<i>Morinda citrifolia</i> L.	NA	<i>Enterobacter cloacae</i>	138
<i>Neesia altissima</i>	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> UICC B-40	140
<i>Ocimum sanctum</i>	-	<i>Enterobacter cloacae</i>	141
<i>Olea europea</i>	LB	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	142
<i>Origanum vulgare</i> L.	TSA	<i>Agrobacterium</i> , <i>Arthrobacter</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Cellulosimicrobium</i> , <i>Chryseobacterium</i> , <i>Curtobacterium</i> , <i>Microbacterium</i> , <i>Micrococcus</i> y <i>Pantoea</i>	143
<i>Oryza sativa</i> L.	TSA	<i>Bacillus megaterium</i> , <i>Burkholderia vietnamiensis</i> , <i>Bacillus velezensis</i> , <i>Burkholderia vietnamiensis</i> , <i>Bacillus aryabhatai</i> y <i>Bacillus subtilis</i>	81
<i>Pajanelia longifolia</i>	PDA	<i>Enterococcaceae</i> sp.	144
<i>Panax quinquefolius</i>	-	<i>Chryseobacterium indologenes</i>	145
<i>Peganum harmala</i> L.	TSA y R2A	<i>Erwinia toletana</i> , <i>Erwinia piriflorinigra</i> , <i>Bacillus endophyticus</i> , <i>Brevibacterium halotolerans</i> , <i>Leucobacter chromiirensis</i> , <i>Leucobacter chromiirensis</i> y <i>Bacillus aryabhatai</i>	146
<i>Phaseolus vulgaris</i>	TSA	<i>Microbacterium testaceum</i>	147
<i>Phragmites australis</i>	-	<i>Stenotrophomonas</i> sp., <i>Achromobacter</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Halomonas</i> , <i>Janthinobacterium</i> , <i>Ochrobactrum</i> y <i>Pseudomonas</i>	148
<i>Pimpinella pruatjan</i> Molkend	TSB	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus cereus</i> y <i>Enterococcus faecalis</i>	149

Planta huésped	Medio de cultivo	Bacteria endofítica	Referencia
<i>Piper retrofractum</i> Vahl	TSA+YEG	<i>Lysobacter sp.</i> y <i>Pseudomonas sp.</i>	150
<i>Platycodon grandiflorum</i>	TSA	<i>Bacillus sp.</i>	151
<i>Plectranthus tenuiflorus</i>	TSA	<i>Bacillus megaterium</i> , <i>Bacillus pumilus</i> , <i>Bacillus licheniformis</i> , <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Paenibacillus sp.</i> , <i>Pseudomonas sp.</i> , y <i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	152
<i>Pseudobrickellia brasiliensis</i>	TSA	<i>Bacillus subtilis</i> y <i>Pseudomonas sp.</i>	153
<i>Raphanus sativus</i> L.	TSA	<i>Bacillus subtilis</i> y <i>Enterobacter sp.</i>	154
<i>Rauvolfia serpentina</i> (L.) Benth. ex. Kurz	TSA	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	155
<i>Rumex pulcher</i>	PA y YEA	<i>Bacillus sp.</i>	83
<i>Salvia miltiorrhiza</i>	-	<i>Pseudomonas brassicacearum</i> subsp. <i>Neoaurantiaca</i>	157
<i>Scutellaria baicalensis</i>	PDA	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ES-2	158
<i>Solanum lycopersicum</i> L.	TSA	<i>Bacillus cereus</i>	159
<i>Solanum mauritianum</i>	NA	<i>Pantoea ananatis</i> , <i>Pantoea eucalypti</i> , <i>Pantoea vagans</i>	160
<i>Solanum tuberosum</i> L.	YIM38	<i>Bacillus megaterium</i> NBRC 15308	163
<i>Syzygium polycephalum</i>	NA	<i>Bacillus pumilus</i> y <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	165
<i>Taxus brevifolia</i>	NA	<i>Bacillus thuringiensis</i>	53
<i>Taxus brevifolia</i>	NA, MRS, YNA, LB	<i>Bacillus altitudinis</i> , <i>Paenibacillus kribbensis</i> , <i>Paracoccus marinus</i> , <i>B. altitudinis</i> , <i>Staphylococcus hominis</i> , <i>Staphylococcus caprae</i>	16

Planta huésped	Medio de cultivo	Bacteria endofítica	Referencia
<i>Taxus wallichiana</i> Zucc.	TYE	<i>Burkholderia</i> sp.	54
<i>Thalassia hemprichii</i>	MA	<i>Bacillaceae</i> E2M1, <i>Bacillaceae</i> E2M3, <i>Bacillus</i> E2M4, <i>Bacillus</i> E2M7, <i>Bacillaceae</i> E2M8, <i>Pseudomonadaceae</i> C1M7, <i>Shewanellaceae</i> C2M3 y <i>Rhodobacteraceae</i> T1M3	111
<i>Vernonia anthelmintica</i>	TSA	<i>Micrococcus endophyticus</i> , <i>Bacillus megaterium</i> , <i>Pseudomonas chlororaphis</i> , <i>P. kilonensis</i> , <i>Stenotrophomonas pavanii</i> , <i>B. endophyticus</i> , <i>S. maltophilia</i> , <i>Pantoea ananatis</i> , <i>B. atrophaeus</i> y <i>M. flavus</i>	169
<i>Xylocarpus moluccensis</i>	NA	<i>Staphylococcus intermedius</i> , <i>Bacillus licheniformis</i> , <i>Staphylococcus lentus</i> , <i>Bacillus pumilus</i> y <i>Bacillus coagulans</i>	57

Elaboración propia.

Comparando las tablas 1 y 2, se evidencia que existen un considerable número de plantas de las que se aislaron bacterias no identificadas. Así, se tiene el reporte del aislamiento de BE de *Achillea kellalensis*, *Calotropis gigantea*, *Camellia sinensis*, *Cichorium intybus* L., *Garcinia mangostana* L., *Grewia tenax*, *Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk, *Hemsleya sinensis*, *Mangifera indica*, *Metasequoia glyptostroboides*, *Musa accuminata* Colla, *Panax quinquefolius*, *Pelargonium hortorum*, *Pinus densiflora*, *Portulaca oleracea*, *Rhizophora apiculata*, *Rhizophora mucronata* Lam., *Salix babylonica*, *Salix chaenomeloides*, *Salvadora oleoides*, *Solanum* sp., *Sonneratia caseolaris*, *Stachys lavandulifolia*, *Starja bacteriarica*, *Styrax benzoin* L., *Tamarindus indica* Linn., *Tectaria barberi*, *Tectona hamiltoniana* Wall y *Tinospora cordifolia* (Wild.) Miers. Sin embargo, se desconoce la identidad de estas bacterias.

5.1.3. Identificación de bacterias con actividad antibacteriana

La identificación de bacterias se realiza mediante la caracterización de las colonias según su forma, color y tamaño; pruebas bioquímicas que incluyen reacciones enzimáticas y degradación de azúcares y la identificación genética (a la que se da mayor importancia en los artículos científicos), por el análisis de la secuencia parcial o total del gen 16S rRNA. Una vez se tiene la secuencia genética, se evalúa la similitud en la base de datos de gen del National Center for Biotechnology Information (NCBI) ^{11,15,170-174}. Finalmente, se tiene una aproximación con un porcentaje de similitud de la identidad de la bacteria aislada. Este proceso concluye con el registro de la bacteria y la obtención de un código de acceso en el banco de gen antes mencionado.

Las bacterias aisladas para la evaluación de la actividad antibacteriana corresponden, mayoritariamente, a las divisiones de: *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes* y *Actinobacteria*. Además, se observa que se identificaron géneros de bacterias tales como: *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Pseudomonas*, *Leuconostoc*, *Paracoccus*, *Enterococcus*, *Pseudoalteromonas*, *Psychrobacter*, *Staphylococcus*, entre otros (**Tabla 2**). Todas estas bacterias fueron aisladas con el propósito de evaluar la actividad antibacteriana. Por ejemplo, la **Tabla 3** muestra algunas bacterias endofíticas aisladas que presentaron actividad antibacteriana frente a bacterias patógenas.

Tabla 3. Algunas bacterias endofíticas que controlaron al menos una bacteria patógena.

Planta huésped	Bacteria Endofítica	Bacteria susceptible
Acalypha indica Linn	<i>Staphylococcus saprophyticus</i> y <i>Luteimonas terrae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Aloe vera</i>	<i>Bacillus tequilensis</i> , <i>Pseudomonas entomophila</i> , <i>Chryseobacterium indologenes</i> y <i>Bacillus aerophilus</i> .	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> patógena, <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Salmonella Typhimurium</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i> y <i>Candida albicans</i>

<i>Andrographis paniculata</i> L.	<i>Paenibacillus dendritiformis</i> APL3	<i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella</i> sp., <i>Staphylococcus</i> sp. y <i>Pseudomonas</i> sp.
<i>Angelica sinensis</i>	Bacterias de géneros <i>Proteobacteria</i> , <i>Actinobacteria</i> , <i>Bacteroidetes</i> , <i>Microgenomates</i> y <i>Saccharibacteria</i> .	<i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i> y <i>Streptococcus</i> <i>pneumoniae</i> .
<i>Anredera cordifolia</i>	<i>Pseudomona aeruginosa</i> CP043328.1	<i>Bacillus cereus</i> (ATCC 10102) y <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25925) y de 0,391 mg/ml frente a <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922) y <i>Proteus mirabilis</i> (ATCC 25933)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	<i>Variovorax paradoxus</i> KB5 y <i>Rhodococcus kyotonensis</i> KB10	<i>Pseudomonas syringae</i> pv.
<i>Armoracia rusticana</i>	<i>Stenotrophomonas</i> <i>maltophilia</i> KRT1, <i>Serratia</i> <i>ficaria</i> KRT5 y <i>Pantoea</i> <i>agglomerans</i> KLT4.	<i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia</i> <i>coli</i>
<i>Astrocaryum sciophilum</i>	<i>Luteibacter</i> sp. BSNB-0721	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a la meticilina (MRSA).
<i>Azadirachta indica</i> (neem)	<i>Bacillus</i> sp.	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus</i> <i>pyogenes</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Escherichia</i> <i>coli</i> , <i>Salmonella Typhimurium</i> . y <i>Klebsiella pneumoniae</i> .
<i>Bacopa monnieri</i>	<i>Bacillus mojavensis</i>	<i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella enterica</i> <i>Typhi</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Klebsiella</i> <i>pneumoniae</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> .
<i>Boscia variabilis</i> Collett & Hemsl	<i>Bacillus subtilis</i> subsp. subtilis str. 168 y <i>Bacillus</i> <i>amyloliquefaciens</i> DSM7	<i>Salmonella typhi</i> , <i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Enterococcus fecalis</i> , <i>Bacillus</i> <i>cereus</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Byrsonima crassifolia</i>	<i>Streptomyces</i> <i>ansochromogene</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia</i> <i>coli</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Calotropis procera</i>	<i>Bacillus siamensis</i> y <i>Bacillus</i> <i>amyloliquefaciens</i>	<i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella</i> <i>pneumoniae</i> , <i>Streptococcus</i> <i>agalactiae</i> , <i>Salmonella</i>

		<i>typhi</i> , <i>Serratia marcescens</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> .
<i>Camellia oleífera</i>	<i>Bacillus subtilis</i> 1-L-29	<i>Pseudomonas syringae</i> .
<i>Carica papaya</i> L.	<i>Kosakonia sp.</i> , <i>Sphingomonas sp.</i> , <i>Bacillus sp.</i>	<i>Erwinia mallotivora</i>
<i>Centella asiatica</i> L.	<i>Paenibacillus dendritiformis</i> APL3	<i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella sp.</i> , <i>Staphylococcus sp.</i> y <i>Pseudomonas sp.</i>
<i>Cissus quadrangularis</i>	<i>Achromobacter anxifer</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Escherichia coli</i> , y <i>Klebsiella pneumoniae</i> .
<i>Citrus spp.</i>	<i>Bacillus velezensis</i>	<i>Xanthomonas citri</i>
<i>Cosmos caudatus</i> Kunth	<i>Serratia sp.</i> , <i>Neisseria sp.</i> , <i>Acinetobacter sp.</i> , <i>Yersinia sp.</i>	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .
<i>Curcuma aeruginosa</i>	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> y <i>Bacillus cereus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a la metilicina (MRSA), <i>Klebsiella pneumoniae</i> y <i>Citrobacter freundii</i> .
<i>Curcuma Zedoaria</i>	<i>Citrobacter freundii</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Pseudomonas otitidis</i> y <i>Burkholderia cenocepacia</i>	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i> .
<i>Dicoma anómala</i>	<i>Stenotrophomonas sp.</i> , <i>Enterobacter sp.</i> , <i>Staphylococcus sp.</i> , <i>Bacillus sp.</i>	<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922), <i>Bacillus cereus</i> (ATCC 10876), <i>Staphylococcus aureus</i> (NCTC 6571), <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853) y <i>Klebsiella oxytoca</i> (ATCC 13182)
<i>Dryopteris uniformis</i>	<i>Streptomyces sp.</i>	<i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Salmonella Typhimurium</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , y <i>Escherichia coli</i>
<i>Ephedra foliata</i>	<i>Paenibacillus polymyxa</i> , <i>Bacillus australimaris</i> , <i>Bacillus zhangzhouensis</i> , <i>Bacillus atrophaeus</i> , <i>Microbacterium maritypicum</i> , <i>Kytococcus schroeteri</i> , <i>Brevundimonas diminuta</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> y <i>Escherichia coli</i> .

<i>Equisetum arvense</i>	<i>Streptomyces albolongus</i> , <i>Dermaococcus</i> sp., <i>Mycobacterium</i> sp., <i>Streptomyces</i> <i>griseoaurantiacus</i> , <i>Paenibacillus</i> sp.	<i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i>
<i>Eugenia uniflora</i> L.	<i>Bacillus cereus</i> , <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> , y <i>Bacillus</i> sp.	<i>Streptococcus bovis</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Escherichia coli</i> y <i>Salmonella enterica</i>
<i>Fagonia indica</i>	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> , <i>Bacillus tequilensis</i> .	<i>Klebsiella pneumonia</i> y <i>B. subtilis</i> .
<i>Ficus minahassae</i>	<i>Brachybacterium muris</i> , <i>Pseudacidovorax intermedius</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i> .
<i>Ginkgo biloba</i> L.	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia coli</i> ATCC 43890, <i>Salmonella Typhimurium</i> ATCC 19586, <i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876, <i>Listeria monocytogenes</i> ATCC19115 y <i>Staphylococcus aureus</i> .ATCC 12600.
<i>Hoya multiflora</i> Blume	<i>Bacillus siamensis</i> KCTC-13613, <i>Bacillus aryabhatai</i> B82W22.	<i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i> .
<i>Mahonia fortunei</i>	<i>Bacillus wiedmannii</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Memecylon edule</i> Roxb	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> UD25	<i>Streptococcus</i> sp., methicillin resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA), <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Bacillus cereus</i> y <i>Escherichia coli</i> .
<i>Mentha sativa</i> L.	<i>Bacillus subtilis</i> NCIB 3610	<i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Morinda citrifolia</i> L.	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus licheniformis</i> , <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> , <i>Bacillus velezensis</i> y <i>Bacillus mojaveni</i>	<i>E. coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> .
<i>Morinda citrifolia</i> L.	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Shigella dysenteriae</i> y <i>Streptococcus mutans</i>

<i>Ocimum sanctum</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Salmonella entérica</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .
<i>Panax quinquefolius</i>	<i>Chryseobacterium indologenes</i>	<i>Pseudomonas syringae</i> pv.
<i>Peganum harmala</i> L.	<i>Erwinia toletana</i> , <i>Erwinia piriflorinigran</i> , <i>Bacillus endophyticus</i> , <i>Brevibacterium halotolerans</i> , <i>Leucobacter chromiirestiens</i> , <i>Leucobacter chromiirestiens</i> y <i>Bacillus aryabhatai</i>	<i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a <u>la</u> <i>meticilina</i> (MRSA), <i>Enterococcus faecium</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .
<i>Pimpinella pruatjan</i> Molkend	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus cereus</i> y <i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Plectranthus tenuiflorus</i>	<i>Bacillus megaterium</i> , <i>Bacillus pumilus</i> , <i>Bacillus licheniformis</i> , <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Paenibacillus sp.</i> , <i>Pseudomonas sp.</i> , y <i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Streptococcus agalactiae</i> y <i>Proteus mirabilis</i>
<i>Rauvolfia serpentina</i> (L.) Benth. ex. Kurz	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Micrococcus</i> , <i>Arthrobacter</i> , <i>Rhodobacter</i> , <i>Mycobacterium</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Escherichia</i> , <i>Staphylococcus</i> y <i>Klebsiella</i> .
<i>Solanum mauritianum</i>	<i>Pantoea ananatis</i> , <i>Pantoea eucalypti</i> , <i>Pantoea vagans</i>	<i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Syzygium polycephalum</i>	<i>Bacillus pumilus</i> y <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> y <i>Bacillus cereus</i>
<i>Taxus brevifolia</i>	<i>Bacillus altitudinis</i> , <i>Paenibacillus kribbensis</i> , <i>Paracoccus marinus</i> , <i>B. altitudinis</i> , <i>Staphylococcus hominis</i> , <i>Staphylococcus caprae</i>	<i>Bacillus cereus</i> ATCC10876, <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC12600, <i>Listeria monocytogenes</i> ATCC19115, <i>Escherichia coli</i> ATCC43890 y <i>Salmonella Typhimurium</i> ATCC19585.

<i>Thalassia hemprichii</i>	<i>Bacillaceae</i> E2M1, <i>Bacillaceae</i> E2M3, <i>Bacillus</i> E2M4, <i>Bacillus</i> E2M7, <i>Bacillaceae</i> E2M8, <i>Pseudomonadaceae</i> C1M7, <i>Shewanellaceae</i> C2M3 y <i>Rhodobacteraceae</i> T1M3	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a la <i>meticilina (MRSA)</i>
-----------------------------	--	--

Elaboración propia.

5.1.4. Extracción de agentes antibacterianos

La extracción de agentes antibacterianos a partir de cultivos bacterianos se utiliza medios de cultivo líquido. Este medio de cultivo se incubó durante un determinado tiempo y temperatura (generalmente entre 28 a 30 grados Celsius), con agitación constante en un rango de 100 a 300 rpm. Posteriormente, el cultivo bacteriano se centrifuga de 9000 a 10000 rpm por alrededor de 20 minutos. A partir de las dos fases del residuo centrifugado, se realiza un proceso de extracción con solventes orgánicos tales como acetato de etilo, acetato de amilo, éter de petróleo, metanol o acetona, tanto del supernadante, como del sedimento. Finalmente, se procesa a evaporar el solvente orgánico y se conserva en estado sólido o en solución con metanol o dimetilsulfóxido (DMSO).

5.1.5. Evaluación de la actividad antibacteriana

Las bacterias endofíticas son evaluadas por su capacidad de producir agentes antibacterianos frente a bacterias patógenas. Así por ejemplo se tiene el reporte de Muzzamal et al. ⁶⁹, quienes evaluaron la actividad antibacteriana frente a bacterias formadoras de biopelículas. Además, diversos estudios reportan el potencial uso de las bacterias endofíticas para prevenir, controlar y eliminar microorganismos patógenos de plantas. La **Tabla 4** muestra las bacterias fitopatógenas de importancia en el sector agrario. Al menos una bacteria endofítica fue capaz de sintetizar metabolitos con actividad antibacteriana frente a estas bacterias patógenas. Se observa que tres de los fitopatógenos más utilizados para evaluar la actividad antibacteriana de las

BE son *Erwinia carotovora*, *Pseudomonas syringae* y *Ralstonia solanacearum*, patógenos que producen daño a diversas plantas.

Tabla 4 Bacterias fitopatógenas controladas con al menos una bacteria endofítica

Bacterias fitopatógenas	Referencia
<i>Acidovorax avenae</i>	161
<i>Acidovorax citrulli</i>	137
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	161
<i>Burkholderia cepacia</i>	161
<i>Burkholderia glumae</i>	81
<i>Chryseobacterium sp</i>	117
<i>Clavibacter michiganensis</i>	161
<i>Erwinia carotovora</i>	70,85,90,137,161,162
<i>Pectobacterium carotovorum</i>	79
<i>Pseudomonas syringae</i>	70,75,100,137,161
<i>Ralstonia solanacearum</i>	70,137,159,161,162,175,176
<i>Xanthomonas campestris</i>	161,177
<i>Xanthomonas cirri</i>	53,70
<i>Xanthomonas oryzae</i>	65,70,161

Elaboración propia.

Por otro lado, la mayoría de estudios se enfocan en la evaluación de la actividad antibacteriana de bacterias endofíticas frente a patógenos del ser humano. Así se tiene que la evaluación de la actividad antibacteriana de BE generalmente se realiza utilizando bacterias tales como: *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus*, *S. aureus* metilino resistente, *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus haemolyticus*.

En general, la evaluación de la actividad antibacteriana se realiza mediante la técnica de difusión en disco, el cual consiste en la preparación de un medio de cultivo al cual se siembra un inóculo de bacteria patógena y se

coloca un disco impregnado con el extracto que se desea evaluar. Este disco es de papel de celulosa de 6mm de diámetro al cual se impregna una determinada cantidad de extracto problema o compuesto aislado. Este extracto o compuesto aislado generalmente está en solución de metanol o DMSO y se espera que seque para colocarlo sobre el medio de cultivo con inóculo de bacteria patógena. Posteriormente se lleva a la incubadora a una determinada temperatura durante 24 horas. Finalmente, si se observa la formación de un halo, se concluye que el extracto problema tiene compuestos con actividad antibacteriana frente al patógeno. Este ensayo requiere de una prueba control con solvente y el uso de un antibiótico. El primero para evaluar el efecto del solvente utilizado para disolver el extracto de BE y el segundo para comparar la actividad antibacteriana del extracto. Todos los estudios señalan realizar el ensayo por lo menos tres veces.

5.1.5.1. Evaluación preliminar

Casi todos los estudios reportan un ensayo preliminar de la actividad antibacteriana. Este ensayo consiste en un procedimiento previo a la extracción con solvente orgánico y sirve para determinar, de forma rápida, si una BE tiene la capacidad de sintetizar metabolitos antibacterianos. Los estudios que refieren este tipo de ensayo utilizan principalmente dos métodos: el de crecimiento antagónico y el cultivo en parche.

El método de cultivo dual o ensayo de crecimiento antagónico consiste en la inoculación tanto de la BE como de la bacteria patógena frente a la que se desea evaluar la actividad antibacteriana. Muchos estudios reportan este método de dos formas. La primera, se siembra la BE sobre un medio sólido inoculado con la bacteria patógena. La **Figura 8**, tomado de Sun et al. ¹³⁹, muestra un ejemplo de este ensayo, en la que los autores cultivaron bacterias endofíticas en presencia de *Staphylococcus aureus*. Otra forma de realizar este ensayo es mediante el sembrado de las BE en pozo o en disco en un medio de

cultivo sólido que contiene la bacteria patógena. La **Figura 9** muestra la zona de inhibición de una BE contra *Ralstonia solanacearum* (una bacteria fitopatogena), en el que 200 μ L de una suspensión de BE se colocó en un pozo de 6mm de diámetro en un medio sólido con el fitopatogeno y se incubó a 28°C durante 72 horas. Finalmente, se mide el diámetro de inhibición. En ambas formas de este ensayo, el tiempo de incubación es el mismo para ambas bacterias, es decir la BE y la patógena se siembran al mismo tiempo; y es la diferencia con el método en parche.



Figura 8. Ensayo de crecimiento antagónico entre la bacteria endofítica (centro) y bacteria patógena (*Staphylococcus aureus*). Tomado de Sun et al. ¹³⁹.

Por otro lado, el método en parche (**Figura 10**) consiste en el sembrado de la bacteria endofítica en forma de parche sobre un medio sólido, luego se deja incubar de 28 a 30 °C durante 24 a 48 horas. Posteriormente, las BEs se someten a un tratamiento con vapor de cloroformo y luz UV con el fin de destruirlas. Luego de este tratamiento, se agrega un medio con 0.7% de agar que contiene la bacteria patógena sobre el medio con la BE destruida. Una vez que solidifica el nuevo medio, se deja incubar a 37°C por 24 horas. Finalmente, se mide el diámetro de la zona de inhibición.



Figura 9. Crecimiento antagonico entre la bacteria endofítica y patógena (*Ralstonia solanacearum*). Ensayo en pozo. Tomado de Wang & Liang ¹⁷⁶

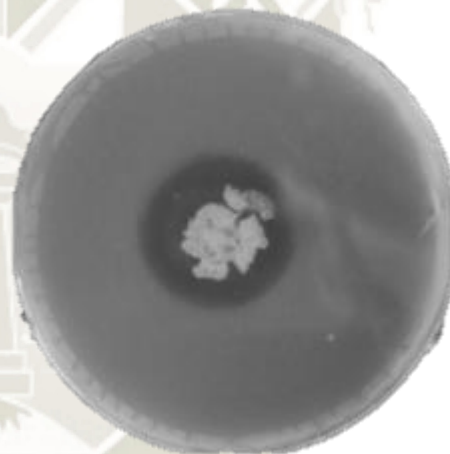


Figura 10 Ensayo en parche de una bacteria endofítica contra *Listeria monocytogenes*. Tomado de Islam et al. ⁷⁸

5.1.5.2. Determinación de la concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida

La concentración mínima inhibitoria (MIC) y la concentración mínima bactericida (MBC) son las mínimas concentraciones que producen la inhibición del crecimiento bacteriano y la muerte de las bacterias, respectivamente. Estos ensayos generalmente se realizan utilizando fracciones de extractos de BEs con solventes orgánicos o compuestos puros aislados de los extractos bacterianos. Este

parámetro permite caracterizar y comparar a los nuevos agentes antibacterianos. Mientras menores sean la MIC y MBC, mejor es la actividad antibacteriana del compuesto antibacteriano.

a) Concentración mínima inhibitoria

La determinación de la MIC se realiza mediante el método de microdilución. Tal como describe Balouiri et al.¹⁷⁸, se realiza una dilución seriada del compuesto aislado en una placa de 96 pocillos con un caldo de cultivo. Posteriormente, se transfiere un volumen de suspensión de bacteria patógena a cada pocillo y se deja incubar de 30 a 37°C durante 18 a 24 horas. Transcurrido el tiempo se determina, visualmente, la menor concentración del compuesto en estudio que produce la inhibición del crecimiento de la bacteria patógena.

b) Concentración mínima bactericida

Por otro lado, la MBC se determina utilizando el medio de cultivo resultado del anterior procedimiento. Para lo cual, se toma el contenido de los pocillos de la MIC y la siguiente concentración más alta del compuesto en estudio y transfiere a un medio de cultivo sólido y se deja incubar a 37°C durante 24 horas. Posteriormente, se determina la MBC, el mismo que corresponde a la menor concentración del compuesto antibacteriano que produce la muerte del 99,9% de bacterias³.

Tabla 5. Metabolitos de bacterias endofíticas detectados por TLC.

Bacteria endofítica	Metabolito detectado	Fase móvil	Proporción	Referencia
<i>Acinetobacter sp.</i> ACMS25	Glucolípidos	Cloroformo–metanol- agua	65:15:2	65

Actinobacterias endofíticas*	Ésteres, aminas, fenoles, metilpentosas e índoles	Diclorometano-metanol	2:1	61
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	lipopéptidos	Butanol-metanol-agua	39:10:20	142
<i>Bacillus sp.</i>	Lipopéptidos	Hexano-acetato de etilo-metanol	-	101
<i>Bacillus subtilis</i> y <i>Enterococcus faecalis</i>	alcaloides	Acetato de etilo-n-hexano	4:6	149
<i>Bacillus velezensis</i> FZ06	Lipopéptidos	Cloroformo-metanol-agua	7:3:2	99
<i>Paenibacillus amylolyticus</i> KMCLE06	Ácido dipicolínico	Acetato de etilo-n-butanol-ácido acético-agua	3:6:1:1	107
<i>Pseudomonas</i> RAU 305	Fenacinas	Cloroformo-metanol	2:1	155
<i>Serratia sp.</i> , <i>Neisseria sp.</i> , <i>Acinetobacter sp.</i> , y <i>Yersinia sp.</i>	Flavonoides	Cloroformo-metanol	1:4	109
<i>Stenotrophomonas sp.</i> , <i>Micromonospora sp.</i> , <i>Pseudomonas sp.</i> , <i>Bacillus subtilis</i>	Aminas, índoles, fenoles, esteroides y terpenos	Diclorometano-metanol	-	69

Elaboración propia.

5.1.6. Identificación de agentes antibacterianos

Muchos estudios refieren que la identificación de los compuestos aislados se realiza a partir de fracciones de extracto bacteriano con solventes orgánicos luego de determinar la actividad antibacteriana del compuesto o grupo de compuestos en estudio. Este procedimiento se realiza para detectar los grupos de metabolitos activos o para identificar el metabolito activo que sintetiza la bacteria endofítica en estudio.

La detección de grupos de metabolitos presentes en el extracto crudo de bacterias endofíticas se realiza mediante cromatografía en capa fina (TLC) utilizando diversas fases móviles para cada grupo de compuestos, tal como se muestra en la **Tabla 5**. Esta tabla muestra los estudios que reportaron las bacterias endofíticas aisladas y su metabolito con actividad antibacteriana frente a al menos una bacteria patógena. Todos esos grupos de compuestos fueron detectados mediante TLC.

Por otro lado, la identificación del o los compuestos antibacterianos se realiza a partir de aislados puros. Tal como se evidencia en diversos estudios, usualmente se utiliza la técnica de HPLC preparativa para aislar, purificar y concentrar el compuesto responsable de la actividad antibacteriana. Posteriormente, se suele utilizar técnicas analíticas como la espectrometría de masas y resonancia magnética nuclear (NRM), tanto de protón (^1H) como de carbono 13 (^{13}C). Utilizando la técnica de NRM se aplican los métodos de espectroscopia de correlación (COSY), espectroscopia de coherencia cuántica simple heteronuclear (HSQC) y espectroscopia de correlación de enlace múltiple heteronuclear (HMBC). Estos métodos permiten dilucidar la estructura química e identificar al compuesto antibacteriano aislado de la bacteria endofítica. La **Tabla 6** muestra los compuestos con actividad antibacteriana aislados de extractos de bacterias endofíticas.

Tabla 6. Compuestos antibacterianos de extractos bacterianos.

Bacteria endofítica	Compuesto identificado	Referencia
<i>Acinetobacter sp.</i>	“Biosurfactante glicolípido”	65
<i>Bacillus megaterium</i> , <i>B. Mycoides</i> y <i>B. cereus</i>	Ácido (9Z,11E)-13-hidroxi-9,11-octadecadienóico Ácido (10E,12Z)-9-hidroxi-10,12-octadecadienóico Ácido (10E,12E)-9-hidroxi-10,12-octadecadienóico Ácido (8E,12Z)-10-hidroxi-8,12-octadecadienóico Ácido (9Z,13E)-12-hidroxi-9,13-octadecadienóico	84

<i>Bacillus wiedmannii</i>	23R-hidroxi-(20Z,24R)-ergosta-4,6,8(14),20(22)-tetraen-3-ona	133
<i>Luteibacter sp.</i> BSNB-0721	Ácido (R)-2-hidroxi-13-metiltetradecanóico	93
	Ácido (R)-3-hidroxi-14-metiltetradecanóico	
	Ácido (S)- β -hidroxipalmítico	
	Ácido (R)-3-hidroxi-15-metilhexadecanóico	
	Ácido 13-metiltetradecanóico	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> UICC-B-40	Ácido (9Z)-hexadecenóico	140
	Ácido 15-Metil-(9Z)-hexadecenóico	
<i>Pseudomonas brassicacearum</i>	(2E,5E)-feniltetradeca-2,5-dienoato	157
<i>Streptomyces sp.</i> SH-1.2-R-15	“Cliclopéptidos”	112
	(+)-estreptazolina	
	estrepchazolinas A	
	estrepchazolinas B	
	(R)-(E,E)-2-(1,3-penta-dienil)-piperidina	

Elaboración propia.

6. PERSPECTIVAS FUTURAS

La búsqueda de compuestos con actividad antibacteriana a partir de bacterias endofíticas es una línea de investigación relativamente reciente. Además, en nuestro país sólo existe un artículo publicado e indizado en las bases de datos utilizadas en el presente estudio. Es decir, para nuestro medio es un área de investigación nuevo. Por lo que constituye un área de la ciencia con diversas posibilidades de estudio, más aún porque el Perú es un país con gran diversidad vegetal.

El uso de plantas medicinales en nuestro país se extiende por todo el territorio geográfico. Sin embargo, en los últimos años surgió la preocupación por la extinción de diversas especies vegetales debido a diversos motivos⁴⁸⁻⁵⁰. Una posible solución a este problema emergente es el estudio de bacterias endofíticas de las plantas medicinales en peligro de extinción. Especialmente si ya se tiene el reporte de que

ciertos metabolitos de las bacterias endofíticas tienen propiedades biológicas similares a la planta huésped ¹⁶⁹. Por lo que estudios futuros deberán analizar y comparar la composición química de extractos de planta y bacterias endofíticas.

Por otro lado, dado que existen diversos estudios que solamente reportan un efecto de crecimiento antagónico o la actividad antibacteriana de extractos crudos de bacterias endofíticas frente a bacterias patógenas; se desconoce la identidad del o los compuestos activos. Por lo que es necesario realizar estudios que alcancen identificar al agente antibacteriano con el fin de realizar ensayos in-vivo, evaluar la toxicidad, analizar su estabilidad y demás estudios con el fin de desarrollar nuevos antibióticos.

7. CONCLUSIONES

- 1) La búsqueda de artículos científicos que aíslan bacterias endofíticas y evalúan su capacidad para producir compuestos con actividad antibacteriana evidenció la existencia de 126 documentos estrechamente relacionados al tema e indizados en Scopus y WoS.
- 2) La mayoría de los artículos excluidos fueron debido a que evaluaron la actividad antifúngica, en lugar de la actividad antibacteriana.
- 3) El incremento de casos de resistencia a antibióticos disponibles y las limitaciones para el tratamiento de estas infecciones produjo el interés de la búsqueda de moléculas antibacterianas que puedan convertirse en nuevos fármacos y debido a ciertas ventajas, se prefiere fuentes naturales.
- 4) Se identificó diversas bacterias endofíticas que constituyen una potencial fuente de producción de nuevos agentes antibacterianos.
- 5) Se tiene escasos estudios que identificaron el metabolito activo y por ende existe un limitado número de potenciales agentes antibacterianos útiles en la práctica clínica. Por lo que es necesario realizar estudios profundos a fin de dilucidar la estructura química de los compuestos activos que producen las bacterias endofíticas.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. World Health Organization. New report calls for urgent action to avert antimicrobial resistance crisis [Internet]. Joint News Release. 2019 [cited 2021 Oct 28]. Available from: <https://www.who.int/news-room/detail/29-04-2019-new-report-calls-for-urgent-action-to-avert-antimicrobial-resistance-crisis>
2. Gajdács M, Urbán E, Stájer A, Baráth Z. Antimicrobial resistance in the context of the sustainable development goals: A brief review. *Eur J Investig Heal Psychol Educ.* 2021;11(1):71–82.
3. Ling LL, Schneider T, Peoples AJ, Spoering AL, Engels I, Conlon BP, Mueller A, Schäberle TF, Hughes DE, Epstein S, Jones M, Lazarides L, Steadman VA, Cohen DR, Felix CR, Fetterman KA, Millett WP, Nitti AG, Zullo AM, Chen C, Lewis K. A new antibiotic kills pathogens without detectable resistance. *Nature.* 2015 Jan 7;517(7535):455–459. PMID: 25561178
4. Ben-Gurion R, Hertman I. Bacteriocin-like Material Produced by *Pasteurella pestis*. *J Gen Microbiol.* 1958 Oct 1;19(2):289–297.
5. Nasfi Z, Busch H, Kehraus S, Linares-Otoya L, König GM, Schäberle TF, Bachoual R. Soil bacteria isolated from tunisian arid areas show promising antimicrobial activities against gram-negatives. *Front Microbiol. Frontiers Media S.A.;* 2018 Nov 13;9(NOV).
6. Sethi S, Kumar R, Gupta S. Antibiotic production by microbes isolated from soil. *Int J Pharm Sci Res.* 2013;4(8):2967–2973.
7. Imai Y, Meyer KJ, Inishi A, Favre-Godal Q, Green R, Manuse S, Caboni M, Mori M, Niles S, Ghiglieri M, Honrao C, Ma X, Guo JJ, Makriyannis A, Linares-Otoya L, Böhringer N, Wuisan ZG, Kaur H, Wu R, Mateus A, Typas A, Savitski MM, Espinoza JL, O'Rourke A, Nelson KE, Hiller S, Noinaj N, Schäberle TF, D'Onofrio A, Lewis K. A new antibiotic selectively kills Gram-negative pathogens. *Nature.* 2019 Dec 19;576(7787):459–464. PMID: 31747680
8. Nasfi Z, Busch H, Kehraus S, Linares-Otoya L, König GM, Schäberle TF, Bachoual R. Soil Bacteria Isolated From Tunisian Arid Areas Show Promising

- Antimicrobial Activities Against Gram-Negatives. *Front Microbiol. Frontiers*; 2018 Nov 13;9:2742.
9. Chaudhary DK, Khulan A, Kim J. Development of a novel cultivation technique for uncultured soil bacteria. *Sci Rep*. 2019 Dec 30;9(1):6666.
 10. Gislin D, Sudarsanam D, Antony Raj G, Baskar K. Antibacterial activity of soil bacteria isolated from Kochi, India and their molecular identification. *J Genet Eng Biotechnol*. No longer published by Elsevier; 2018 Dec 1;16(2):287–294.
 11. Aullybux AA, Puchooa D, Bahorun T, Jeewon R. Phylogenetics and antibacterial properties of exopolysaccharides from marine bacteria isolated from Mauritius seawater. *Ann Microbiol*. Springer International Publishing; 2019 Jun 13;1–16.
 12. Miari M, Tanelian A, Fayad AA, Itani D, Matar GM. Combating antimicrobial resistance by utilizing novel antibiotics from soil and marine microorganisms in Lebanon. *Int J Infect Dis*. International Society for Infectious Diseases; 2019;79(2019):52.
 13. Haber M, Ilan M. Diversity and antibacterial activity of bacteria cultured from Mediterranean *Axinella* spp. sponges. *J Appl Microbiol*. John Wiley & Sons, Ltd (10.1111); 2014 Mar 1;116(3):519–532.
 14. Pratiwi RH, Hidayat I, Hanafi M, Mangunwardoyo W. Antibacterial compound produced by *Pseudomonas aeruginosa* strain UICC B-40, an endophytic bacterium isolated from *Neesia altissima*. *J Microbiol*. The Microbiological Society of Korea; 2017 Apr 26;55(4):289–295.
 15. Hong CE, Jo SH, Jeong H, Park JM. Draft Genome Sequence of the Endophytic Strain *Rhodococcus kyotonensis* KB10, a Potential Biodegrading and Antibacterial Bacterium Isolated from *Arabidopsis thaliana*. *Genome Announc*. 2016 Aug 25;4(4):636–652.
 16. Islam N, Choi J, Baek K-H. Antibacterial Activities of Endophytic Bacteria Isolated from *Taxus brevifolia* Against Foodborne Pathogenic Bacteria. *Foodborne Pathog Dis*. Mary Ann Liebert, Inc. 140 Huguenot Street, 3rd Floor New Rochelle, NY 10801 USA; 2018 May 1;15(5):269–276.
 17. Singh AK, Sharma RK, Sharma V, Singh T, Kumar R, Kumari D. Isolation,

- morphological identification and in vitro antibacterial activity of endophytic bacteria isolated from *Azadirachta indica* (neem) leaves. *Vet World*. 2017 May;10(5):510–516.
18. Chiellini C, Maida I, Maggini V, Bosi E, Mocali S, Emiliani G, Perrin E, Firenzuoli F, Mengoni A, Fani R. Preliminary data on antibacterial activity of *Echinacea purpurea* -associated bacterial communities against *Burkholderia cepacia* complex strains, opportunistic pathogens of Cystic Fibrosis patients. *Microbiol Res. Urban & Fischer*; 2017 Mar 1;196:34–43.
 19. Bhore S, Christina A, Christopher V. Endophytic bacteria as a source of novel antibiotics: An overview. *Pharmacogn Rev*. 2013;7(1):11. PMID: 23922451
 20. Jan van Eck N, Waltman L. Manual for VOSviewer version 1.6.6 [Internet]. 2017 [cited 2021 Nov 11]. Available from: https://www.vosviewer.com/documentation/Manual_VOSviewer_1.6.6.pdf
 21. Lodewyckx C, Vangronsveld J, Porteous F, Moore ERB, Mezgeay M, Lelie D Van Der, Edward RB, Taghavi S. Endophytic Bacteria and Their Potential Applications Endophytic Bacteria and Their Potential Applications. *CRC Crit Rev Plant Sci*. 2010;(February 2013):37–41.
 22. James EK, Olivares FL. Infection and Colonization of Sugar Cane and Other Gramineous Plants by Endophytic Diazotrophs. *CRC Crit Rev Plant Sci*. 1998;17(1):77–119.
 23. Mitra SS, Biswas P, Mukherjee A, Nongdam P, Pandey DK, Dey A. Endophytes producing bioactive compounds from *Piper* spp.: a review on utilization, bottlenecks, and future perspectives. *Volatiles Metab Microbes*. Elsevier; 2021. p. 429–448.
 24. Hardoim PR, Overbeek LS van, Berg G, Pirttilä AM, Compant S, Campisano A, Döring M, Sessitsch A. The Hidden World within Plants: Ecological and Evolutionary Considerations for Defining Functioning of Microbial Endophytes. *Microbiol Mol Biol Rev* [Internet]. American Society for Microbiology (ASM); 2015 Sep [cited 2021 Dec 12];79(3):293. Available from: [/pmc/articles/PMC4488371/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26136581/) PMID: 26136581
 25. Burrigoni SG, Jeon J. Applications of endophytic microbes in agriculture, biotechnology, medicine, and beyond. *Microbiol Res. Urban & Fischer*; 2021

- Apr 1;245:126691. PMID: 33508761
26. Puri A, Padda KP, Chanway CP. Plant Growth Promotion by Endophytic Bacteria in Nonnative Crop Hosts. In: Maheshwari DK, Annapurna K, editors. *Endophytes Crop Product Prot.* Cham: Springer International Publishing; 2017. p. 11–45.
 27. Marisa KC, Erik WT. Immunolocalization of Dinitrogenase Reductase Produced by *Klebsiella pneumoniae* in Association with *Zea mays* L. *Appl Environ Microbiol.* 2000;66(2):783–787.
 28. Wu W, Chen W, Liu S, Wu J, Zhu Y, Qin L, Zhu B. Beneficial Relationships Between Endophytic Bacteria and Medicinal Plants. *Front Plant Sci.* 2021;12(April):1–13.
 29. Zheng LP, Zou T, Ma YJ, Wang JW, Zhang YQ. Antioxidant and DNA damage protecting activity of exopolysaccharides from the endophytic bacterium *Bacillus Cereus* SZ1. *Molecules. Multidisciplinary Digital Publishing Institute;* 2016 Feb 4;21(2):174. PMID: 26861269
 30. Baba MS, Zin NM, Hassan ZAA, Latip J, Pethick F, Hunter IS, Edrada-Ebel RA, Herron PR. In vivo antimalarial activity of the endophytic actinobacteria, *Streptomyces* SUK 10. *J Microbiol. Springer;* 2015 Dec 2;53(12):847–855. PMID: 26626355
 31. Sulistiyani TR, Masrukhin, Purnaningsih I, Napitupulu TP, Budiyanto A, Kanti A, Sudiana IM. Endophytic bacteria diversity from zingiberaceae and anticandidal characterization produced by *pseudomonas helmanticensis*. *J Teknol. Penerbit UTM Press;* 2020 Dec 7;83(1):7–17.
 32. Matloub AA, Gomaa EZ, Hassan AA, Elbatanony MM, El-Senousy WM. Comparative Chemical and Bioactivity Studies of Intra- and Extracellular Metabolites of Endophytic Bacteria, *Bacillus subtilis* NCIB 3610. *Int J Pept Res Ther. Springer Netherlands;* 2020;26(1):497–511.
 33. Anjum N, Chandra R. Endophytic bacteria of *Catharanthus roseus* as an alternative source of vindoline and application of response surface methodology to enhance its production. *Arch Biol Sci. Institut za Bioloska Istrazivanja;* 2019;71(1):27–38.
 34. Zou K, Liu X, Hu Q, Zhang D, Fu S, Zhang S, Huang H, Lei F, Zhang G,

- Miao B, Meng D, Jiang L, Liu H, Yin H, Liang Y. Root Endophytes and Ginkgo biloba Are Likely to Share and Compensate Secondary Metabolic Processes, and Potentially Exchange Genetic Information by LTR-RTs. *Front Plant Sci. Frontiers Media S.A.*; 2021 Jul 9;12:1370.
35. Hu Z, Wang C, Pan L, Han S, Jin M, Xiang Y, Zheng L, Li Z, Cao R, Qin B. Identification and a phased pH control strategy of diosgenin bio-synthesized by an endogenous *Bacillus licheniformis* Syt1 derived from *Dioscorea zingiberensis* C. H. Wright. *Appl Microbiol Biotechnol* 2021 10524 [Internet]. Springer; 2021 Nov 29 [cited 2021 Dec 12];105(24):9333–9342. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00253-021-11679-z>
36. Firdous J, Lathif NA, Mona R, Muhamad N. Endophytic bacteria and their potential application in agriculture: A review. *Indian J Agric Res.* 2019;53(1):1–7.
37. White JF, Kingsley KL, Zhang Q, Verma R, Obi N, Dvinskikh S, Elmore MT, Verma SK, Gond SK, Kowalski KP. Review: Endophytic microbes and their potential applications in crop management. *Pest Manag Sci.* John Wiley & Sons, Ltd; 2019 Oct 27;75(10):2558–2565. PMID: 31228333
38. Singh T, Awasthi G, Tiwari Y. Recruiting endophytic bacteria of wetland plants to phytoremediate organic pollutants. *Int J Environ Sci Technol.* Springer; 2021 Jun 16;1–12.
39. Prakash J. Potential application of endophytes in bioremediation of heavy metals and organic pollutants and growth promotion: mechanism, challenges, and future prospects. *Bioremediation Environ Sustain.* Elsevier; 2021 Jan 1;91–121.
40. Mello IS, Targanski S, Pietro-Souza W, Frutuoso Stachack FF, Terezo AJ, Soares MA. Endophytic bacteria stimulate mercury phytoremediation by modulating its bioaccumulation and volatilization. *Ecotoxicol Environ Saf.* *Ecotoxicol Environ Saf*; 2020 Oct 1;202:110818. PMID: 32590206
41. Shahzad R, Bilal S, Imran M, Khan AL, Alosaimi AA, Al-Shwyeh HA, Almahasheer H, Rehman S, Lee IJ. Amelioration of heavy metal stress by endophytic *Bacillus amyloliquefaciens* RWL-1 in rice by regulating metabolic changes: potential for bacterial bioremediation. *Biochem J.* *Biochem J*; 2019

- Nov 15;476(21):3385–3400. PMID: 31696207
42. Sauvêtre A, Eichhorn P, Pérez S. Metabolism of Pharmaceuticals in Plants and Their Associated Microbiota. *Handb Environ Chem*. Springer, Cham; 2020;103:221–264.
 43. Shariq Ahmed M, Soundhararajan R, Akther T, Kashif M, Khan J, Waseem M, Srinivasan H. Biogenic AgNPs synthesized via endophytic bacteria and its biological applications. *Environ Sci Pollut Res*. Springer Verlag; 2019 Sep 1;26(26):26939–26946. PMID: 31309423
 44. Nirmala C, Sridevi M. Characterization, Antimicrobial and Antioxidant Evaluation of Biofabricated Silver Nanoparticles from Endophytic *Pantoea anthophila*. *J Inorg Organomet Polym Mater*. Springer; 2021 Sep 1;31(9):3711–3725.
 45. Ibrahim E, Zhang M, Zhang Y, Hossain A, Qiu W, Chen Y, Wang Y, Wu W, Sun G, Li B. Green-Synthesization of Silver Nanoparticles Using Endophytic Bacteria Isolated from Garlic and Its Antifungal Activity against Wheat Fusarium Head Blight Pathogen *Fusarium graminearum*. *Nanomaterials*. MDPI AG; 2020 Jan 27;10(2):219. PMID: 32012732
 46. Christina A, Christopher V, Bhore SJ. Endophytic bacteria as a source of novel antibiotics: An overview. *Pharmacogn Rev*. (13).
 47. Ngashangva N, Mukherjee P, Sharma KC, Kalita MC, Indira S. Analysis of Antimicrobial Peptide Metabolome of Bacterial Endophyte Isolated From Traditionally Used Medicinal Plant *Millettia pachycarpa* Benth. *Front Microbiol*. Frontiers Media S.A.; 2021 Jun 1;12:1192.
 48. Mommer L, Cotton TEA, Raaijmakers JM, Termorshuizen AJ, van Ruijven J, Hendriks M, van Rijssel SQ, van de Mortel JE, van der Paauw JW, Schijlen EGWM, Smit-Tiekstra AE, Berendse F, de Kroon H, Dumbrell AJ. Lost in diversity: the interactions between soil-borne fungi, biodiversity and plant productivity. *New Phytol*. John Wiley & Sons, Ltd (10.1111); 2018 Apr 1;218(2):542–553.
 49. Valiente-Banuet A, Aizen MA, Alcántara JM, Arroyo J, Cocucci A, Galetti M, García MB, García D, Gómez JM, Jordano P, Medel R, Navarro L, Obeso JR, Oviedo R, Ramírez N, Rey PJ, Traveset A, Verdú M, Zamora R. Beyond

- species loss: the extinction of ecological interactions in a changing world. Johnson M, editor. *Funct Ecol*. John Wiley & Sons, Ltd (10.1111); 2015 Mar 1;29(3):299–307.
50. Bussmann RW, Malca-García G, Glenn A, Sharon D, Chait G, Díaz D, Pourmand K, Jonat B, Somogy S, Guardado G, Aguirre C, Chan R, Meyer K, Kuhlman A, Townesmith A, Effio-Carbajal J, Frías-Fernandez F, Benito M. Minimum inhibitory concentrations of medicinal plants used in Northern Peru as antibacterial remedies. *J Ethnopharmacol*. 2010 Oct;132(1):101–108.
 51. Liu Y-H, Guo J-W, Salam N, Li L, Zhang Y-G, Han J, Mohamad OA, Li W-J. Culturable endophytic bacteria associated with medicinal plant *Ferula songorica*: molecular phylogeny, distribution and screening for industrially important traits. *3 Biotech*. 2016 Dec 28;6(2):209.
 52. Strobel G, Daisy B. Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2003;67(4):491–502. PMID: 14665674
 53. Islam MN, Ali MS, Choi SJ, Hyun JW, Baek KH. Biocontrol of Citrus Canker Disease Caused by *Xanthomonas citri* subsp. *citri* Using an Endophytic *Bacillus thuringiensis*. *Plant Pathol J [Internet]*. The Korean Society of Plant Pathology; 2019 [cited 2021 Dec 17];35(5):486. Available from: [/pmc/articles/PMC6788417/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31632223/) PMID: 31632223
 54. Adhikari P, Pandey A. Antimicrobial compound production by pigment producing endophytic bacterium (*Burkholderia* sp. GBPI_TWL) isolated from *Taxus wallichiana* Zucc. *Biologia (Bratisl)*. Springer; 2021 Oct 25;76(11):3567–3578.
 55. Adewale Akinsanya M, Kheng Goh J, Ping Lim S, Su Yien Ting A. Diversity, antimicrobial and antioxidant activities of culturable bacterial endophyte communities in *Aloe vera*. *FEMS Microbiol Lett*. 2015;362:184.
 56. Sinha A, Priya R, Nimisha M, Jabez Osborne W. Impact of endophytic *Ralstonia* sp. From *Aloe vera* gel and its antimicrobial activity. *Asian J Pharm Clin Res*. 2015;8(1):259–262.
 57. Eldeen IM. Isolation of 12 bacterial endophytes from some mangrove plants and determination of, antimicrobial properties of the isolates and the plant

- extracts. *Int J Phytomedicine*. 2014 Oct 14;6(3):425–432.
58. Pramono H, Irawan NT, Firdaus MRA, Sudarno, Sulmartiwi L, Mubarak AS. Bacterial endophytes from mangrove leaves with antibacterial and enzymatic activities. *Malays J Microbiol*. 2019;15(7):543–553.
59. Hagaggi NSA, Mohamed AAA. Plant–bacterial endophyte secondary metabolite matching: a case study. *Arch Microbiol*. Springer Berlin Heidelberg; 2020;202(10):2679–2687. PMID: 32719949
60. Hamayun M, Khan N, Khan MN, Qadir M, Hussain A, Iqbal A, Khan SA, Ur Rehman K, Lee IJ. Antimicrobial and plant growth-promoting activities of bacterial endophytes isolated from *Calotropis procera* (Ait.) W.T. Aiton. *Biocell*. 2021;45(2):363–369.
61. Saleem M, Cheema MT, Hassan A, Shaukat S, Sajid I. Endophytes and plant extracts of carica papaya linn. Exhibit promising antibacterial and in-vitro antitumor activity. *J Anim Plant Sci*. 2020;30(4):1037–1046.
62. Sarjono PR, Putri LD, Budiarti CE, Mulyani NS, Ngadiwiyana, Ismiyanto, Kusriani D, Adiwibawa Prasetya NB. Antioxidant and antibacterial activities of secondary metabolite endophytic bacteria from papaya leaf (*Carica papaya* L.). *IOP Conf Ser Mater Sci Eng*. 2019;509(1).
63. Sarjono PR, Silvia D, Mulyani NS, Ismiyanto, Ngadiwiyana, Prasetya NBA, Andriani Y. Antimicrobial activity of secondary metabolites of endophytic bacteria F4 of papaya leaf (*Carica papaya* L.). *J Phys Conf Ser*. 2021;1943(1).
64. Rivarez MPS, Parac EP, Dimasingkil SFM, Magdalita PM. Influence of native endophytic bacteria on the growth and bacterial crown rot tolerance of papaya (*Carica papaya*). *Eur J Plant Pathol*. *European Journal of Plant Pathology*; 2021;161(3):593–606.
65. Shalini D, Benson A, Gomathi R, John Henry A, Jerritta S, Melvin Joe M. Isolation, characterization of glycolipid type biosurfactant from endophytic *Acinetobacter* sp. ACMS25 and evaluation of its biocontrol efficiency against *Xanthomonas oryzae*. *Biocatal Agric Biotechnol*. Elsevier; 2017 Jul 1;11:252–258.
66. Myo EM, Maung CEH, Mya KM, Khai AA. Characterization of bacterial endophytes from Myanmar medicinal plants for antimicrobial activity against

- human and plant pathogens. *Brazilian J Pharm Sci. Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas*; 2020 Mar 16;56.
67. Radhakrishnan R, Ajithkumar P, Arun M, Sathasivam R, Sandhya S, Choi J, Pradeep B V., Park SU. An endophyte *Paenibacillus dendritiformis* strain APL3 promotes *Amaranthus polygonoides* L. sprout growth and their extract inhibits food-borne pathogens. *Plant Sci Today*. 2021;8(4):941–947.
68. Rafat A, Philip K, Muniandy S. A novel source of bioactive compounds: Endophytic bacteria isolated from *Centella asiatica*. *J Pure Appl Microbiol*. 2012;6(1):11–20.
69. Muzzamal H, Sarwar R, Sajid I, Hasnain S. Isolation, identification and screening of endophytic bacteria antagonistic to biofilm formers. *Pak J Zool*. 2012;44(1):249–257.
70. Munir S, Li Y, He P, He P, He P, Cui W, Wu Y, Li X, He Y. *Bacillus subtilis* L1-21 Possible assessment of inhibitory mechanism against phytopathogens and colonization in different plant hosts. *Pakistan J Agric Res*. 2018;55(4):996–1002.
71. Sulistiyani TR, Lisdiyanti P, Lestari Y. Screening of antimicrobial and toxicity activity of endophytic bacteria associated with *Curcuma Zedoaria*. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci*. 2019.
72. Indrawati I, Rossiana N, Diresna DS. Bioprospecting of Bacterial Endophytes from *Curcuma aeruginosa*, *Curcuma xanthorrhiza* and *Curcuma zedoaria*as Antibacterial Against Pathogenic Bacteria. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci*. 2018;197(1):0–7.
73. Vijayalakshmi R, Kairunnisa K, Sivvaswamy N, Dharan SS, Natarajan S. Enzyme production and antimicrobial activity of endophytic bacteria isolated from medicinal plants. *Indian J Sci Technol*. 2016;9(14).
74. Hong CE, Jo SH, Jo IH, Jeong H, Park JM. Draft genome sequence of the endophytic bacterium *Variovorax paradoxus* KB5, Which has antagonistic activity against a phytopathogen, *Pseudomonas syringae* pv. tomato DC3000. *Genome Announc*. 2017;5(36):5–7.
75. Hong CE, Jo SH, Jeong H, Park JM. Draft Genome Sequence of the Endophytic Strain *Rhodococcus kyotonensis* KB10, a Potential Biodegrading

- and Antibacterial Bacterium Isolated from *Arabidopsis thaliana*. *Genome Announc* [Internet]. American Society for Microbiology (ASM); 2016 [cited 2021 Dec 16];4(4):636–652. Available from: [/pmc/articles/PMC4939786/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27389269/) PMID: 27389269
76. Jasim B, Sreelakshmi KS, Mathew J, Radhakrishnan EK. Surfactin, Iturin, and Fengycin Biosynthesis by Endophytic *Bacillus* sp. from *Bacopa monnieri*. *Microb Ecol*. 2016;72(1):106–119. PMID: 27021396
 77. Jasim B, Sreelakshmi S, Mathew J, Radhakrishnan EK. Identification of endophytic *Bacillus mojavensis* with highly specialized broad spectrum antibacterial activity. *3 Biotech*. Springer Berlin Heidelberg; 2016 Dec 1;6(2):187.
 78. Islam MN, Choi J, Baek K-H. Control of Foodborne Pathogenic Bacteria by Endophytic Bacteria Isolated from *Ginkgo biloba* L. *Foodborne Pathog Dis*. Mary Ann Liebert Inc.; 2019 Oct 1;16(10):661–670.
 79. Webster G, Mullins AJ, Cunningham-Oakes E, Renganathan A, Aswathanarayan JB, Mahenthalingam E, Vittal RR. Culturable diversity of bacterial endophytes associated with medicinal plants of the Western Ghats, India. *FEMS Microbiol Ecol*. Oxford Academic; 2020 Sep 1;96(9). PMID: 32710748
 80. Beiranvand M, Amin M, Hashemi-Shahraki A, Romani B, Yaghoubi S, Sadeghi P. Antimicrobial activity of endophytic bacterial populations isolated from medical plants of Iran. *Iran J Microbiol*. Tehran University of Medical Sciences; 2017;9(1):11. PMID: 28775818
 81. Valdez-Nuñez RA, Ríos-Ruiz WF, Ormeño-Orrillo E, Torres-Chávez EE, Torres-Delgado J. Caracterización genética de bacterias endofíticas de arroz (*Oryza sativa* L.) con actividad antimicrobiana contra *Burkholderia glumae*. *Rev Argent Microbiol*. Elsevier Doyma; 2020 Oct 1;52(4):315–327. PMID: 32147231
 82. Rahmawati FD, Suharjono. Potency of endophytic and rhizospheric bacteria of akar kucing (*Acalypha indica* linn.) as antibacteria against *klebsiella pneumoniae*. *J Trop Life Sci*. 2021;11(2):171–179.
 83. Ebrahimi A, Asgharian S, Habibian S. Antimicrobial activities of isolated

- endophytes from some Iranian Native Medicinal Plants. *Iran J Pharm Sci.* 2010;6(3):217–222.
84. Trapp MA, Kai M, Mithöfer A, Rodrigues-Filho E. Antibiotic oxylipins from *Alternanthera brasiliana* and its endophytic bacteria. *Phytochemistry.* 2015;110:72–82. PMID: 25433629
85. Deng Y, Zhu Y, Wang P, Zhu L, Zheng J, Li R, Ruan L, Peng D, Sun M. Complete Genome Sequence of *Bacillus subtilis* BSn5, an Endophytic Bacterium of *Amorphophallus konjac* with Antimicrobial Activity for the Plant Pathogen *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*. *J Bacteriol. American Society for Microbiology (ASM);* 2011 Apr;193(8):2070. PMID: 21317323
86. Zhang XG, Guo SJ, Wang WN, Wei GX, Ma GY, Ma X Di. Diversity and Bioactivity of Endophytes From *Angelica sinensis* in China. *Front Microbiol.* 2020;11(August):1–15.
87. Abidin ZAZ, Zolkefli N, Shahari R, Chowdhury AJK. Endophytic bacteria of *anisophyllea disticha* (Raja berangkat) from tropical lake environment in Malaysia. *Desalin Water Treat.* 2020;188(August):282–287.
88. Nxumalo CI, Ngidi LS, Shandu JSE, Maliehe TS. Isolation of endophytic bacteria from the leaves of *Anredera cordifolia* CIX1 for metabolites and their biological activities. *BMC Complement Med Ther. BioMed Central;* 2020 Oct 7;20(1). PMID: 33028279
89. Chen L, Shi H, Heng J, Wang D, Bian K. Antimicrobial, plant growth-promoting and genomic properties of the peanut endophyte *Bacillus velezensis* LDO2. *Microbiol Res. Urban & Fischer;* 2019 Jan 1;218:41–48. PMID: 30454657
90. Gong M, Lin T, Huang J, Zeng B. Screening of endophytic bacteria isolated from two kinds of antarctic plant antagonistic konjac soft rot disease. *AIP Conf Proc [Internet]. AIP Publishing LLC AIP Publishing;* 2018 Apr 27 [cited 2021 Dec 16];1956(1):020048. Available from: <https://aip.scitation.org/doi/abs/10.1063/1.5034300>
91. Egamberdieva D, Shurigin V, Alaylar B, Wirth S, Bellingrath-Kimura SD. Bacterial endophytes from horseradish (*Armoracia rusticana* G. Gaertn., B. Mey. & Scherb.) with antimicrobial efficacy against pathogens. *Plant, Soil*

- Environ. 2020;66(7):309–316.
92. Husseiny S, Dishisha T, Soliman HA, Adeleke R, Raslan M. Characterization of growth promoting bacterial endophytes isolated from *Artemisia annua* L. South African J Bot. Elsevier; 2021 Dec 1;143:238–247.
93. Barthélemy M, Elie N, Pellissier L, Wolfender JL, Stien D, Touboul D, Eparvier V. Structural Identification of Antibacterial Lipids from Amazonian Palm Tree Endophytes through the Molecular Network Approach. Int J Mol Sci. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2019 Apr 2;20(8). PMID: 31022840
94. Singh AK, Sharma RK, Sharma V, Singh T, Kumar R, Kumari D. Isolation, morphological identification and in vitro antibacterial activity of endophytic bacteria isolated from *Azadirachta indica* (neem) leaves. Vet World. Veterinary World; 2017;10(5):510. PMID: 28620254
95. Haque MA, Lee JH, Cho KM. Endophytic bacterial diversity in Korean kimchi made of Chinese cabbage leaves and their antimicrobial activity against pathogens. Food Control. Elsevier Ltd; 2015;56(October 2015):24–33.
96. Sunkar S, Valli Nachiyar C. Isolation and characterization of an endophytic bacterium from *Brassica oleracea* with potential enzyme and antibacterial activity. Asian J Pharm Clin Res. 2013;6(2):183–187.
97. Amorim EA da F, Castro EJM, Souza SV da, Alves MS, Dias LRL, Melo MHF, da Silva IMA, Villis PCM, Bonfim MRQ, Falcai A, Silva MRC, Monteiro-Neto V, Aliança A, da Silva LCN, de Miranda R de CM. Antimicrobial Potential of *Streptomyces ansochromogenes* (PB3) Isolated From a Plant Native to the Amazon Against *Pseudomonas aeruginosa*. Front Microbiol. Frontiers Media S.A.; 2020 Oct 9;11:2421.
98. Sari SA, Pujiyanto S, Suprihadi A. Antibacterial activity tests of isolate endophytic bacteria from the tea plant (*Camellia sinensis*) against *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. J Phys Conf Ser. 2020;1524(1).
99. Li FZ, Zeng YJ, Zong MH, Yang JG, Lou WY. Bioprospecting of a novel endophytic *Bacillus velezensis* FZ06 from leaves of *Camellia assamica*: Production of three groups of lipopeptides and the inhibition against food

- spoilage microorganisms. *J Biotechnol.* Elsevier; 2020 Nov 10;323:42–53.
PMID: 32739396
100. Xu JX, Li ZY, Lv X, Yan H, Zhou GY, Cao LX, Yang Q, He YH. Isolation and characterization of *Bacillus subtilis* strain 1-L-29, an endophytic bacteria from *Camellia oleifera* with antimicrobial activity and efficient plant-root colonization. *PLoS One.* Public Library of Science; 2020 Apr 1;15(4):e0232096. PMID: 32339210
 101. Jasim B, Mathew J, Radhakrishnan EK. Identification of a novel endophytic *Bacillus* sp. from *Capsicum annuum* with highly efficient and broad spectrum plant probiotic effect. *J Appl Microbiol.* Blackwell Publishing Ltd; 2016 Oct 1;121(4):1079–1094. PMID: 27359249
 102. Lotfalian S, Ebrahimi A, Mahzoonieh MR. Antimicrobial activity of isolated bacterial endophytes from *Cichorium intybus* L, *Pelargonium hortorum*, and *Portulaca oleracea* against human nosocomial bacterial pathogens. *Jundishapur J Nat Pharm Prod.* 2017;12(1):1–6.
 103. Anwar P, Sezhian U, Narasingam A. Bioactive compound analysis and bioactivities of endophytic bacteria from *Cissus quadrangularis*. *Int J Pharm Sci Res.* 2020;11(11):5553–5560.
 104. Jannah M, Agustien A, Zam SI, Lalfari RS, Aldi Y, Dewi AP, Djamaan A. Isolation and characterization of antibiotic-producing endophytic bacteria from *Citrus aurantifolia* swingle. *J Pure Appl Microbiol.* 2018;12(3):1473–1481.
 105. Rabbee MF, Sarafat Ali M, Baek KH. Endophyte *Bacillus velezensis* Isolated from *Citrus* spp. Controls streptomycin-resistant *xanthomonas citri* subsp. *Citri* that causes citrus bacterial canker. *Agronomy.* Multidisciplinary Digital Publishing Institute; 2019 Aug 20;9(8):470.
 106. Sriram KP, Mangrolia U, Osborne WJ. Isolation and characterization of culturable indigenous endophytic bacteria in the tender coconut. *Food Biotechnol.* Taylor & Francis; 2020;34(3):228–242.
 107. Anandan K, Vittal RR. Endophytic *Paenibacillus amylolyticus* KMCLE06 Extracted Dipicolinic Acid as Antibacterial Agent Derived via Dipicolinic Acid Synthetase Gene. *Curr Microbiol.* Springer US; 2019;76(2):178–186.

- PMID: 30498942
108. Priyanka SR, Jinal HN, Amaresan N. Diversity and Antimicrobial Activity of Plant Associated Bacteria from Selected Medicinal Plants in Kutch, Dhinodhar Hill, Gujarat. *Natl Acad Sci Lett. Springer India*; 2018;41(3):137–139.
 109. Ramadhan F, Mukarramah L, Oktavia FARH, Yulian R, Annisyah NH, Asyiah IN. Flavonoids from endophytic bacteria of cosmos caudatus Kunth. Leaf as anticancer and antimicrobial. *Asian J Pharm Clin Res.* 2018;11(1):200–204.
 110. Sebola TE, Uche-Okereafor NC, Mekuto L, Makatini MM, Green E, Mavumengwana V. Antibacterial and Anticancer Activity and Untargeted Secondary Metabolite Profiling of Crude Bacterial Endophyte Extracts from *Crinum macowanii* Baker Leaves. *Int J Microbiol. Hindawi*; 2020;2020.
 111. Fitri DS, Pangastuti A, Susilowati A, Sutarno. Endophytic bacteria producing antibacterial against methicillin-resistant staphylococcus aureus (MRSA) in seagrass from Rote Ndao, East Nusa Tenggara, Indonesia. *Biodiversitas.* 2017;18(2):733–740.
 112. Zhao H, Chen X, Chen X, Zhu Y, Kong Y, Zhang S, Deng X, Ouyang P, Zhang W, Hou S, Wang X, Xie T. New peptidendrocins and anticancer chartreusin from an endophytic bacterium of *Dendrobium officinale*. *Ann Transl Med. AME Publications*; 2020 Apr;8(7):455–455. PMID: 32395499
 113. Makuwa SC, Serepa-Dlamini MH. The Antibacterial Activity of Crude Extracts of Secondary Metabolites from Bacterial Endophytes Associated with *Dicoma anomala*. Chaves Lopez C, editor. *Int J Microbiol. Hindawi Limited*; 2021 Apr 12;2021:1–12.
 114. Das G, Park S, Baek KH. Diversity of Endophytic Bacteria in a Fern Species *Dryopteris uniformis* (Makino) Makino and Evaluation of Their Antibacterial Potential Against Five Foodborne Pathogenic Bacteria. *Foodborne Pathog Dis.* 2017;14(5):260–268. PMID: 28418717
 115. Chiellini C, Maida I, Maggini V, Bosi E, Mocali S, Emiliani G, Perrin E, Firenzuoli F, Mengoni A, Fani R. Preliminary data on antibacterial activity of *Echinacea purpurea*-associated bacterial communities against *Burkholderia*

- cepacia complex strains, opportunistic pathogens of Cystic Fibrosis patients. *Microbiol Res. Urban & Fischer*; 2017 Mar 1;196:34–43. PMID: 28164789
116. Ghiasvand M, Makhdoumi A, Matin MM, Vaezi J. Exploring the bioactive compounds from endophytic bacteria of a medicinal plant: *Ephedra foliata* (Ephedrales: Ephedraceae). *Adv Tradit Med. Springer Singapore*; 2020 Mar 4;20(1):61–70.
117. He RL, Wang GP, Liu XH, Zhang CL, Lin FC. Antagonistic bioactivity of an endophytic bacterium isolated from *Epimedium brevicornu* Maxim. *African J Biotechnol.* 2009;8(2):191–195.
118. Das G, Patra JK, Baek K-H. Antibacterial Properties of Endophytic Bacteria Isolated from a Fern Species *Equisetum arvense* L. Against Foodborne Pathogenic Bacteria *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* O157:H7. *Foodborne Pathog Dis. Mary Ann Liebert Inc.*; 2017 Jan 1;14(1):50–58.
119. Indrawati I, Safitri FAL, Rossiana N. Bioprospecting of fruit extract and endophytic bacteria isolated from dewandaru (*Eugenia uniflora* L.) as antibacterial against colorectal bacteria. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci.* 2020;457(1).
120. Abe Sato ST, Marques JM, da Luz de Freitas A, Sanches Progênio RC, Nunes MRT, Mota de Vasconcelos Massafra J, Gomes Moura F, Rogez H. Isolation and Genetic Identification of Endophytic Lactic Acid Bacteria From the Amazonian Açai Fruits: Probiotics Features of Selected Strains and Their Potential to Inhibit Pathogens. *Front Microbiol. Frontiers Media S.A.*; 2021 Jan 8;11:3396.
121. Rahman L, Shinwari ZK, Iqar I, Rahman L, Tanveer F. An assessment on the role of endophytic microbes in the therapeutic potential of *Fagonia indica*. *Ann Clin Microbiol Antimicrob. BioMed Central*; 2017 Aug 1;16(1). PMID: 28764775
122. Tallei TE, Linelejan YT, Umboh SD, Adam AA, Muslem, Idroes R. Endophytic Bacteria isolated from the leaf of *Langusei* (*Ficus minahassae* Tesym. & de Vr.) and their antibacterial activities. *IOP Conf Ser Mater Sci Eng.* 2020;796(1).
123. Rivai H, Asia A, Rina W, Alen Y, Handayani D, Aldi Y, Marlina, Akmal D.

- Isolation of endophytic bacteria from bark, leaf, and pericarp of mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) and testing of the antimicrobial activity. *Res J Pharm Biol Chem Sci.* 2016;7(1):1910–1920.
124. de Almeida Lopes KB, Carpentieri-Pipolo V, Fira D, Balatti PA, López SMY, Oro TH, Stefani Pagliosa E, Degrassi G. Screening of bacterial endophytes as potential biocontrol agents against soybean diseases. *J Appl Microbiol.* John Wiley & Sons, Ltd; 2018 Nov 1;125(5):1466–1481. PMID: 29978936
125. Mohamad OAA, Li L, Ma JB, Hatab S, Xu L, Guo JW, Rasulov BA, Liu YH, Hedlund BP, Li WJ. Evaluation of the antimicrobial activity of endophytic bacterial populations from Chinese traditional medicinal plant licorice and characterization of the bioactive secondary metabolites produced by *Bacillus atrophaeus* Against *Verticillium dahliae*. *Front Microbiol.* Frontiers Media S.A.; 2018 May 9;9(MAY).
126. Viogenta P, Nurjanah S, Mulyani YWT, Susanti L. Isolation and antimicrobial test of endophytic bacteria from pearl grass (*Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk). *Int J Sci Technol Res.* 2020;9(1):2768–2772.
127. Tang M, Gong M, Xu C, Wu S, Liu F. Identification and crude protein extract of endophytic bacteria strain KLXD06 antagonistic against MRSA isolated from *Hemsleya sinensis*. *Pak J Pharm Sci. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences;* 2014 Jul 1;27(4):1089–1092. PMID: 25016271
128. Pushkaran P, Daniel D, Subramaniyan S, Sandhia GS. Isolation and characterisation of endophytic bacteria from *holostemma ada-kodien schult.* *J Pure Appl Microbiol.* 2020;14(3):1949–1960.
129. Alvionita DN, Rahayu SRI, Mubarak NR. Characterization, identification, and analysis of bioactive compound of endophytic bacteria from *Hoya multiflora* Blume. *Biodiversitas J Biol Divers. Society for Indonesian Biodiversity;* 2020 Jan 1;21(1):195–202.
130. Egamberdieva D, Wirth S, Behrendt U, Ahmad P, Berg G. Antimicrobial Activity of Medicinal Plants Correlates with the Proportion of Antagonistic Endophytes. *Front Microbiol.* Frontiers Media SA; 2017 Feb 9;8(FEB). PMID: 28232827
131. Das I, Kumar Panda M, Rath CC, Tayung K. Bioactivities of bacterial

- endophytes isolated from leaf tissues of *Hyptis suaveolens* against some clinically significant pathogens. *J Appl Pharm Sci*. 2017;7(08):131–136.
132. Wang C, Liu Y, Feng S, Yang Z. Characteristics and bioactivity of a chlorogenic acid-producing endophytic bacterium isolated from *Lonicera japonica*. *Int J Agric Biol*. 2019;21(4):743–749.
133. Wang ZR, Li G, Ji LX, Wang HH, Gao H, Peng XP, Lou HX. Induced production of steroids by co-cultivation of two endophytes from *Mahonia fortunei*. *Steroids*. Elsevier; 2019 May 1;145:1–4. PMID: 30738076
134. Miliute I, Buzaitė O, Gelvonauskienė D, Sasnauskas A, Stanys V, Baniulis D. Plant growth promoting and antagonistic properties of endophytic bacteria isolated from domestic apple. *Zemdirbyste-Agriculture*. 2016;103(1):77–82.
135. Bhoonobtong A, Sodngam S, Boonlue S, Bunyatratchata W, Mongkolthanarukk W. Antibiotics constituents of endophytic *Bacillus amyloliquefaciens* UD25 extracted from a medicinal plant, *Memecylon edule* Roxb. *Chiang Mai J Sci*. 2017;44(3):788–799.
136. Adewale AM, Kheng GJ, Ping LS, Yien TAS. Antimicrobial and enzymatic activities of endophytic bacteria isolated from *Mentha spicata* (MINT). *Malays J Microbiol*. 2015;11(Specialissue2):102–108.
137. Zhang C, Tian XY, Zhang CS. Diversity and probiotic activities of endophytic bacteria associated with the coastal halophyte *Messerschmidia sibirica*. *Appl Soil Ecol*. Elsevier; 2019 Nov 1;143:35–44.
138. Sogandi, Nilasari P. Isolation and molecular identification of Endophytic bacteria from Noni fruits (*Morinda citrifolia* L.) and their antibacterial activity. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci*. 2019;299(1).
139. Sun B, Jing R, Wang Z, Tian L, Mao F, Liu Y. Diversity and community structure of endophytic *Bacillus* with antagonistic and antioxidant activity in the fruits of Xisha Wild Noni (*Morinda citrifolia* L.). *Microb Pathog*. Academic Press; 2021 Sep 1;158:105065. PMID: 34175435
140. Pratiwi RH, Hidayat I, Hanafi M, Mangunwardoyo W. Antibacterial compound produced by *Pseudomonas aeruginosa* strain UICC B-40, an endophytic bacterium isolated from *Neesia altissima*. *J Microbiol*. 2017;55(4):289–295. PMID: 28124775

141. Panigrahi S, Rath CC. In vitro characterization of antimicrobial activity of an endophytic bacterium *Enterobacter cloacae* (MG001451) isolated from *Ocimum sanctum*. *South African J Bot. Elsevier*; 2021 Dec 1;143:90–96.
142. Soussi S, Essid R, Hardouin J, Gharbi D, Elkahoui S, Tabbene O, Cosette P, Jouenne T, Limam F. Utilization of Grape Seed Flour for Antimicrobial Lipopeptide Production by *Bacillus amyloliquefaciens* C5 Strain. *Appl Biochem Biotechnol*. 2019;187(4):1460–1474. PMID: 30251231
143. Castronovo LM, Calonico C, Ascrizzi R, Del Duca S, Delfino V, Chioccioli S, Vassallo A, Strozza I, De Leo M, Biffi S, Bacci G, Bogani P, Maggini V, Mengoni A, Pistelli L, Lo Nostro A, Firenzuoli F, Fani R. The Cultivable Bacterial Microbiota Associated to the Medicinal Plant *Origanum vulgare* L.: From Antibiotic Resistance to Growth-Inhibitory Properties. *Front Microbiol. Frontiers Media S.A.*; 2020 May 8;11:862.
144. Gowthami GA, Das S, Karthik Y, Kalyani MI. Study of antibacterial, anti-proliferative and pro-apoptotic potential of the cell extracts of endophytic fungi and bacteria isolated from *Pajanelia longifolia* (Willd.) K. Schuman. *Plant Sci Today*. 2021;8(3):501–508.
145. Hong CE, Kim JU, Lee JW, Bang KH, Jo I-H. Complete Genome Sequence of the Endophytic Bacterium *Chryseobacterium indologenes* PgBE177, Isolated from *Panax quinquefolius*. *Microbiol Resour Announc [Internet]. American Society for Microbiology*; 2018 Oct 11 [cited 2021 Dec 19];7(14). Available from: <https://doi.org/10.1128/MRA>
146. Bibi F. Diversity of antagonistic bacteria isolated from medicinal plant *Peganum harmala* L. *Saudi J Biol Sci. Elsevier*; 2017;24(6):1288–1293. PMID: 28855824
147. Lopes RBM, De Oliveira Costa LE, Vanetti MCD, De Araújo EF, De Queiroz MV. Endophytic bacteria isolated from common bean (*Phaseolus vulgaris*) exhibiting high variability showed antimicrobial activity and quorum sensing inhibition. *Curr Microbiol. Springer New York LLC*; 2015 Oct 1;71(4):509–516. PMID: 26202846
148. Delfino V, Calonico C, Nostro A Lo, Castronovo LM, Del Duca S, Chioccioli S, Coppini E, Fibbi D, Vassallo A, Fani R. Antibacterial activity of bacteria

- isolated from *Phragmites australis* against multidrug-resistant human pathogens. *Future Microbiol. Future Medicine Ltd.*; 2021 Mar 1;16(5):291–303. PMID: 33709774
149. Purwestri YA, Kartikasari N, Putri SG, Wilson W, Sembiring L. Metabolic profiling of endophytic bacteria from Purwoceng (*Pimpinella pruatjan* Molkend) root and antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *AIP Conf Proc.* 2016. p. 020063.
 150. Aunpad R, Pipatsatitpong D, Klabthawee N. Isolation, diversity and antimicrobial activity of endophytic bacteria from *Piper retrofractum* Vahl. *Maejo Int J Sci Technol.* 2017;11(3):200–210.
 151. Asraful Islam SM, Math RK, Kim JM, Yun MG, Cho JJ, Kim EJ, Lee YH, Yun HD. Effect of plant age on endophytic bacterial diversity of balloon flower (*Platycodon grandiflorum*) root and their antimicrobial activities. *Curr Microbiol.* 2010;61(4):346–356. PMID: 20221603
 152. El-Deeb B, Fayez K, Gherbawy Y. Isolation and characterization of endophytic bacteria from *Plectranthus tenuiflorus* medicinal plant in Saudi Arabia desert and their antimicrobial activities. *J Plant Interact.* 2013;8(1):56–64.
 153. Cardoso VM, Campos FF, Santos ARO, Ottoni MHF, Rosa CA, Almeida VG, Graef CFF. Biotechnological applications of the medicinal plant *Pseudobrickellia brasiliensis* and its isolated endophytic bacteria. *J Appl Microbiol.* 2020;129(4):926–934. PMID: 32298521
 154. Seo WT, Lim WJ, Kim EJ, Yun HD, Lee YH, Cho KM. Endophytic bacterial diversity in the young radish and their antimicrobial activity against pathogens. *J Appl Biol Chem.* 2010;53(4):493–503.
 155. Pal A, Paul AK. In vitro antimicrobial activity screening of bacteria endophytic to ethnomedicinal plant *rauwolfia serpentina* (L.) benth. ex. kurz. *J Appl Biotechnol Reports.* 2020;7(3):177–185.
 156. Maulani BIG, Rasmi DAC, Zulkifli L. Isolation and characterization of endophytic bacteria from mangrove *Rhizophora mucronata* Lam. and antibacterial activity test against some pathogenic bacteria. *J Phys Conf Ser.* 2019;1402(3).

157. Li X, Tang H-Y, Duan J-L, Gao J-M, Xue Q-H. Bioactive alkaloids produced by *Pseudomonas brassicacearum* subsp. *Neoaurantiaca*, an endophytic bacterium from *Salvia miltiorrhiza*. *Nat Prod Res.* 2013 Mar;27(4–5):496–499.
158. Sun L, Lu Z, Bie X, Lu F, Yang S. Isolation and characterization of a co-producer of fengycins and surfactins, endophytic *Bacillus amyloliquefaciens* ES-2, from *Scutellaria baicalensis* Georgi. *World J Microbiol Biotechnol.* 2006;22(12):1259–1266.
159. Barretti PB, de Souza RM, Pozza EA. Endophytic bacteria as agents of plant growth promotion in tomato and inhibition in vitro of *Ralstonia solanacearum*. *Ciência e Agrotecnologia. Editora da UFLA;* 2008;32(3):731–739.
160. Uche-Okerefor N, Sebola T, Tapfuma K, Mekuto L, Green E, Mavumengwana V. Antibacterial Activities of Crude Secondary Metabolite Extracts from *Pantoea* Species Obtained from the Stem of *Solanum mauritianum* and Their Effects on Two Cancer Cell Lines. *Int J Environ Res Public Health. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI);* 2019 Feb 1;16(4):602. PMID: 30791418
161. Long HH, Furuya N, Kurose D, Takeshita M, Takanami Y. Isolation of endophytic bacteria from *Solanum* sp. and their antibacterial activity against plant pathogenic bacteria. *J Fac Agric Kyushu Univ.* 2003;48(1–2):21–28.
162. Rasche F, Marco-Noales E, Velvis H, Van Overbeek LS, López MM, Van Elsas JD, Sessitsch A. Structural characteristics and plant-beneficial effects of bacteria colonizing the shoots of field grown conventional and genetically modified T4-lysozyme producing potatoes. *Plant Soil.* 2006;289(1–2):123–140.
163. Liu JM, Wang SS, Zheng X, Jin N, Lu J, Huang YT, Fan B, Wang FZ. Antimicrobial Activity Against Phytopathogens and Inhibitory Activity on Solanine in Potatoes of the Endophytic Bacteria Isolated From Potato Tubers. *Front Microbiol.* 2020;11(November):1–16.
164. Siregar R V., Suryanto D, Yurnaliza. Antibacterial Ability of Endophytic Bacteria Isolated from Kemenyan (*Styrax benzoin* L.). *IOP Conf Ser Earth Environ Sci.* 2019;305(1).

165. Indrawati I, Rossiana N, Hidayat TR. Antibacterial Activity of Bacterial Endophytes from Kupa Plant (*Syzygium Polycepalum* Miq. (Merr & Perry) Against Pathogenic Bacteria. IOP Conf Ser Earth Environ Sci. 2018 Jun;166(1):012013.
166. Chigurupati S, Vijayabalan S, Selvarajan KK, Aldubayan M, Alhowail A, Mani V, Das S. Antimicrobial Exploration Between Counterpart Endosymbiont and Host Plant (*Tamarindus indica* Linn.). Curr Pharm Biotechnol. Bentham Science Publishers Ltd.; 2019 Oct 28;21(5):384–389. PMID: 31657678
167. Munir E, Mamangkey J, Lutfia A, Yurnaliza. Antibacterial and phosphate solubilization activity of endophytic bacteria isolated from Pteridophyta (*Tectaria barberi*). IOP Conf Ser Earth Environ Sci. 2019;305(1).
168. Ismet MS, Jayenti ED, Ismiati P, Utomo RP, Srimariana ES, Hastuti YP. Potential of associative bacteria isolates from seagrass ecosystem. IOP Conf Ser Earth Environ Sci. 2020;429(1).
169. Rustamova N, Wubulikasimu A, Mukhamedov N, Gao Y, Egamberdieva D, Yili A. Endophytic Bacteria Associated with Medicinal Plant *Vernonia anthelmintica*: Diversity and Characterization. Curr Microbiol 2020 778. Springer; 2020 Mar 24;77(8):1457–1465. PMID: 32211943
170. Techo S, Visessanguan W, Vilaichone R, Tanasupawat S. Characterization and Antibacterial Activity Against *Helicobacter pylori* of Lactic Acid Bacteria Isolated from Thai Fermented Rice Noodle. Probiotics Antimicrob Proteins. 2019 Mar 23;11(1):92–102.
171. Reis NA, Saraiva MAF, Duarte EAA, de Carvalho EA, Vieira BB, Evangelista-Barreto NS. Probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from human milk. J Appl Microbiol. John Wiley & Sons, Ltd (10.1111); 2016 Sep 1;121(3):811–820.
172. NI K, YANG H, HUA W, WANG Y, PANG H. Selection and characterisation of lactic acid bacteria isolated from different origins for ensiling *Robinia pseudoacacia* and *Morus alba* L. leaves. J Integr Agric. 2016 Oct;15(10):2353–2362.
173. Nandi A, Dan SK, Banerjee G, Ghosh P, Ghosh K, Ringø E, Ray AK.

- Probiotic Potential of Autochthonous Bacteria Isolated from the Gastrointestinal Tract of Four Freshwater Teleosts. *Probiotics Antimicrob Proteins*. Springer US; 2017 Mar 24;9(1):12–21.
174. Goecke F, Labes A, Wiese J, Imhoff JF. Phylogenetic analysis and antibiotic activity of bacteria isolated from the surface of two co-occurring macroalgae from the Baltic Sea. *Eur J Phycol*. 2013 Feb;48(1):47–60.
175. Ramesh R, Phadke GS. Rhizosphere and endophytic bacteria for the suppression of eggplant wilt caused by *Ralstonia solanacearum*. *Crop Prot*. Elsevier; 2012 Jul 1;37:35–41.
176. Wang X, Liang G. Control efficacy of an endophytic bacillus *amyloliquefaciens* strain BZ6-1 against peanut bacterial wilt, *ralstonia solanacearum*. *Biomed Res Int*. 2014;2014. PMID: 24527448
177. Romero FM, Rossi FR, Gárriz A, Carrasco P, Ruíz OA. A bacterial endophyte from apoplast fluids protects canola plants from different phytopathogens via antibiosis and induction of host resistance. *Phytopathology*. American Phytopathological Society; 2019 Mar 1;109(3):375–383. PMID: 30156501
178. Balouiri M, Sadiki M, Ibensouda SK. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. Xi'an Jiaotong University; 2016. p. 71–79. PMID: 29403965