

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

Facultad de Ciencias de la Vida

**“DESCUBRIENDO MICROORGANISMOS MESÓFILOS CON
CAPACIDAD DE PROMOCIÓN DE CRECIMIENTO VEGETAL PARA
PROMOVER UNA AGRICULTURA SOSTENIBLE”**

Proyecto de titulación

Previo a la obtención del Título de:

**Magister En Biociencias Aplicadas con Mención a
Biodescubrimiento**

Presentado por:

Rebeca Elizabeth Moreira Gómez

GUAYAQUIL - ECUADOR

Año: 2025

Dedicatoria

Este proyecto de titulación se lo dedicó a Dios en primero lugar, por solventar todos los problemas que surgieron a lo largo de mi trabajo investigativo. A mis padres, los esposos Moreira-Gómez quienes me apoyaron emocional y económicamente a lo largo de la maestría. Finalmente, a todas esas personas que hicieron todo lo posible por ayudarme.

Agradecimientos

Agradezco a mi profesor Milton Barcos por el conocimiento impartido y las directrices brindadas durante todo el proceso. También a mi tutor actual Jonathan Coronel por apoyarme en las dificultades que se presentaron a lo largo de la realización de la tesis.

Declaración Expresa

Yo Rebeca Elizabeth Moreira Gómez acuerdo y reconozco que:

La titularidad de los derechos patrimoniales de autor (derechos de autor) del proyecto de graduación corresponderá al autor o autores, sin perjuicio de lo cual la ESPOL recibe en este acto una licencia gratuita de plazo indefinido para el uso no comercial y comercial de la obra con facultad de sublicenciar, incluyendo la autorización para su divulgación, así como para la creación y uso de obras derivadas. En el caso de usos comerciales se respetará el porcentaje de participación en beneficios que corresponda a favor del autor o autores.

La titularidad total y exclusiva sobre los derechos patrimoniales de patente de invención, modelo de utilidad, diseño industrial, secreto industrial, software o información no divulgada que corresponda o pueda corresponder respecto de cualquier investigación, desarrollo tecnológico o invención realizada por mí/nosotros durante el desarrollo del proyecto de graduación, pertenecerán de forma total, exclusiva e indivisible a la ESPOL, sin perjuicio del porcentaje que me/nos corresponda de los beneficios económicos que la ESPOL reciba por la explotación de mi/nuestra innovación, de ser el caso.

En los casos donde la Oficina de Transferencia de Resultados de Investigación (OTRI) de la ESPOL comunique al autor que existe una innovación potencialmente patentable sobre los resultados del proyecto de graduación, no se realizará publicación o divulgación alguna, sin la autorización expresa y previa de la ESPOL.

Guayaquil, 25 de marzo del 2025.

Rebeca Elizabeth Moreira Gómez

Evaluadores

Ph.D María Jiménez Feijoo

Presidente

Ph. D. Jonathan Coronel León

Tutor

Ph. D. Denisse Peña Tapia

Cotutor

Ph. D. Patricia Manzano Santana

Evaluador

**Ph. D. Roberto Burbano
Villavicencio**

Evaluador

Resumen

En la agricultura la búsqueda de nuevos agentes promotores ha sido el principal tema de interés en los últimos años debido a la creciente demanda alimentaria, al mejoramiento de los cultivos y a la contaminación ambiental por uso indebido de fertilizantes. El rol de bacterias que promueven el crecimiento vegetal (BPCV) mediante mecanismos como solubilización de fósforo y potasio, fijación de nitrógeno, producción de fitohormonas y biosíntesis de sideróforos ha sido una respuesta para lograr una agricultura sustentable. Por lo tanto, este proyecto de investigación plantea identificar, caracterizar y someter a condiciones de invernadero a microorganismos mesófilos con capacidad de promoción de crecimiento vegetal obtenidos de cultivos agrícolas. La metodología empleada incluye el uso de medios de cultivo selectivos (Jensens, NBRIP, Aleksandrov y Agar Cas) para determinación de mecanismos promotores; la identificación molecular para cepas bacterianas y la evaluación de efectos fisiológicos en plantas de maíz en invernadero. De muestras de suelo de cultivos de cacao, banano y maíz; se obtuvo 13 cepas potenciales BPCV pertenecientes a los géneros *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Leclercia*, *Bacillus*, *Acinetobacter* y *Pseudomonas*; 9 cepas fueron escogidas por su capacidad de solubilizar fósforo y potasio; fijar nitrógeno; producir AIA y sideróforos en experimentos *in_vitro*. Las mismas divididas en grupos de 3 para N, P y K puestas en condiciones de invernadero, no presentaron influencia significativa para N, bacterias de P y K en cambio mostraron una influencia negativa debido a que el control mostró un mejor desarrollo. Por lo tanto, las BPCV no manifestaron capacidad promotora durante su caracterización en condiciones de invernadero, pero si en condiciones *in_vitro*, suponiendo que el comportamiento de las bacterias esta influenciado por demás variables a controlar.

Palabras Clave: Agricultura sostenible, bacterias promotoras de crecimiento vegetal (BPCV), NPK.

Abstract

*In agriculture, the search for new promoting agents has been the main topic of interest in recent years due to the growing food demand, crop improvement and environmental pollution by improper use of fertilizers. The role of bacteria that promote plant growth (BPCV) through mechanisms such as phosphorus and potassium solubilization, nitrogen fixation, phytohormone production and siderophore biosynthesis has been an answer to achieve sustainable agriculture. Therefore, this research project aims to identify, characterize and subject mesophilic microorganisms with plant growth promotion capacity obtained from agricultural crops to greenhouse conditions. The methodology employed includes the use of selective culture media (Jensen's, NBRIP, Aleksandrov and Cas Agar) for the determination of promoter mechanisms; molecular identification for bacterial strains and evaluation of physiological effects on maize plants in greenhouses. Thirteen potential BPCV strains belonging to the genera *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Leclercia*, *Bacillus*, *Acinetobacter* and *Pseudomonas* were obtained from soil samples of cocoa and banana crops; 9 strains were chosen for their capacity to solubilize phosphorus and potassium; fix nitrogen; produce AIA and siderophores *in_vitro* experiments. These strains were divided into groups of 3 for N, P and K under greenhouse conditions, and showed no significant influence for N, P and K bacteria, but showed a negative influence because the control showed a better development. Therefore, the BPCV did not show promoter capacity during their characterization under greenhouse conditions, but they did under *in_vitro* conditions, assuming that the behavior of the bacteria is influenced by other variables to be controlled.*

Keywords: *Sustainable agriculture, plant growth promoting bacteria (PGPB), NPK.*

Índice general

Resumen	I
<i>Abstract</i>	II
Índice general	III
Abreviaturas	VI
Simbología	VII
Índice de figuras	VIII
Índice de tablas	IX
CAPITULO 1	1
1.1 INTRODUCCIÓN	2
1.2 Descripción del problema	4
1.3 Justificación del problema	5
1.4 Objetivos	5
1.4.1 Objetivo General	5
1.4.2 Objetivo Específico	5
1.5 Marco teórico	6
1.5.1 Agricultura sustentable	6
1.5.2 Bacterias promotoras de crecimiento vegetal	7
1.5.3 Mecanismo de acción	8
1.5.4 Fijación biológica del nitrógeno	8
1.5.5 Solubilización de Fósforo	9

1.5.6	Solubilización de Potasio	9
1.5.7	Producción de fitohormonas	10
1.5.8	Producción de sideróforos.....	10
CAPITULO 2.....		11
2.1	METODOLOGÍA	12
2.2	Área de Estudio y colecta de muestras	12
2.3	Pre-enriquecimiento y aislamiento en medios selectivos de bacterias NPK.....	12
2.3.1	Fijadores de nitrógeno.....	13
2.3.2	Solubilizadoras de fósforo	13
2.3.3	Solubilizadoras de potasio	13
2.3.4	Conservación de cepas	14
2.4	Análisis Filogenético	14
2.4.1	Extracción de ADN.....	14
2.4.2	Amplificación por PCR del gen 16S rRNA y Secuenciación de los fragmentos amplificados.....	14
2.4.3	Análisis Bioinformático	15
2.5	Cuantificación colorimétrica del Ácido Indol Acético (AIA)	15
2.6	Producción de sideróforos.....	16
2.7	Diseño experimental	16
2.7.1	Condiciones del sistema.....	16
CAPITULO 3.....		19
3.1	Resultados y análisis	20

3.2	Aislamiento de bacterias solubilizadoras de PK y fijadoras de N	20
3.3	Evaluación y caracterización cualitativa de BSP, BSK y BFN	21
3.4	Identificación de BPCV	24
3.5	Producción de IAA y de sideróforos.....	28
3.6	Resultado del ensayo.....	32
3.7	Análisis de Gráficos Descriptivos.....	34
3.8	ANOVAS.....	37
3.9	ANOVA BFN	37
3.10	ANOVA BSP.....	38
3.11	ANOVA BSK	40
CAPITULO 4		43
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES		44
4.1	Conclusiones	44
4.2	Recomendaciones	44
Referencias.....		46
Apéndices.....		60

Abreviaturas

BPCV Bacterias Promotoras de Crecimiento Vegetal

BFN Bacterias Fijadoras de Nitrógeno

BSP Bacterias Solubilizadoras de Fósforo

BSK Bacterias Solubilizadoras de Potasio

ESPOL Escuela Superior Politécnica del Litoral

FAO Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura

Simbología

AIA	Acido indol acético
CAS	Chrome azurol s
HCl	Ácido clorhídrico
IBA	Ácido indol butírico
KOH	Óxido de potasio
ml	Mililitro
Og	Óxido de grafeno
pH	Potencial de Hidrógeno

Índice de figuras

Ilustración 1. Medio de cultivo Jensen inoculado con bacterias fijadoras de nitrógeno.....	22
Ilustración 2. Medio de cultivo Aleksandrov inoculado con bacterias mostrando solubilización de potasio.....	22
Ilustración 3. Medio de cultivo NBRIP inoculado con bacterias solubilizadoras de fósforo.....	23
Ilustración 4. Identificación de las bacterias promotoras mediante el árbol filogenético con modelo UPMA.....	26
Ilustración 5. Medio agar CAS inoculado con BPCV presenta halo característica diferencial para bacterias productoras de sideróforos.....	29
Ilustración 6. Microplaca lectura colorimétrica de AIA de BPCV.....	30
Ilustración 7. Diagramas de cajas sobre los niveles de clorofila en bacterias NPK.....	35
Ilustración 8. Evolución de la altura de la planta versus el tiempo en días de las bacterias NPK.....	36
Ilustración 9. Curva de calibración del estándar AIA.....	59
Ilustración 10. Diseño experimental de maíz inoculado con bacterias NPK y sustrato inorgánico.....	59
Ilustración 11. Levantamiento de datos, una vez terminado el tiempo del experimento.....	60
Ilustración 12. Medición de la variable longitud radicular.....	60
Ilustración 13. Diagramas de cajas NPK realizo a partir de las mediciones de las raíces al finalizar el experimento.....	61
Ilustración 14. Diagrama de cajas sobre mediciones de peso húmedo de bacterias NPK en condiciones de invernadero.....	62

Índice de tablas

Tabla 1. Diseño experimental realizado para bacterias solubilizadoras de fósforo con dos tratamientos (cepa y concentración) de cuatro niveles y con cinco replicas para cada uno.....	17
Tabla 2. Diseño experimental realizado para bacterias solubilizadoras de potasio con dos tratamientos (cepa y concentración) de cuatro niveles y con cinco replicas para cada uno.....	17
Tabla 3. Diseño experimental realizado para bacterias fijadoras de nitrógeno con un tratamiento (cepa) de cuatro niveles y con cinco replicas para cada uno.....	18
Tabla 4. Identificación principal de bacterias obtenidas por muestra.....	20
Tabla 5. Características principales de mecanismos de acción de las especies de cepas identificadas.....	27
Tabla 6. Evaluación cualitativa y cuantitativa de bacterias promotoras de crecimiento vegetal más referencias bibliográficas.....	32
Tabla 7. Síntesis de las caracterizaciones de la BPCV identificadas. Se suman los resultados positivos y se toma dicha cepa para experimentación.....	33
Tabla 8. ANOVA de las variables longitud radicular y clorofila realizados en cepas potenciales fijadoras de nitrógeno.....	38
Tabla 9. Tablas de ANOVAS de cuatro variables de respuesta para el diseño de BSP.....	39
Tabla 10. Tablas de ANOVAS de cuatro variables de respuesta para el diseño de BSK.....	41
Tabla 11. Tukey múltiple de comparación de medias de la variable longitud radicular con el factor cepas para el diseño experimental del BSP.....	40
Tabla 12. Tukey múltiple de comparación de medias de la variable longitud radicular con el factor concentración para el diseño experimental del BSP.....	41

Tabla 13. Tukey múltiple de comparación de medias de la variable longitud radicular con el factor cepas para el diseño experimental del BSK43

Tabla 14. Tukey múltiple de comparación de medias de la variable longitud radicular con el factor concentración para el diseño experimental del BSK.....44

CAPÍTULO 1

1.1 INTRODUCCIÓN

Los fertilizantes sintéticos o agroquímicos en general representan un producto indispensable para el crecimiento y mantenimiento de los cultivos, su empleo en el mercado mundial en 2024 fue de 384,37 mil millones de dólares, la mayoría van dirigidos a los cultivos extensivos como arroz, trigo y maíz cuya dosificación es dependiente de la edad, tipo de planta y estado nutricional del suelo (Mordor Intelligence, 2025). Los agroquímicos son considerados el principal problema de contaminación ambiental relacionada con la actividad agrícola, dicha actividad es indispensable para la obtención de alimentos para solventar la alimentación mundial, sin embargo, el uso de estos químicos ha provocado afecciones en las aguas subterráneas, suelo e incluso al propio cultivo (FAO, 2025). Ante esta problemática han surgido nuevas tecnologías como es el caso del uso de microorganismos como hongos, bacterias o rizobios que promueven el crecimiento vegetal debido a que promete obtener una mayor o igual producción agrícola con menor empleo de agroquímicos, protección ante fenómenos (ambientales y biológicos) y finalmente un menor impacto ambiental (Ke et al., 2021).

Los biofertilizantes son productos que contienen microorganismos como bacterias, hongos y algas que permiten en relación simbiótica mejorar las características fisiológicas del huésped (planta). Su uso ha llegado al punto de que diversos cultivos podrían mejorar su rendimiento en un 25% (Bhattacharyya & Jha, 2011; Mordor Intelligence, 2025). Dentro de este grupo tan grande se define en específico a las bacterias promotoras de crecimiento vegetal (BPCV) que han presentado en estudios, características beneficiosas para el huésped en el que habita. Dado que estos organismos no solo son capaces de solubilizar fósforo y potasio, así como de fijar nitrógeno, sino que también actúan como protectores frente a estrés ambientales (Alves de Andrade et al., 2023). Además, promueven la resistencia de plantas ante patógenos y generar metabolitos como auxinas y giberelinas, los cuales favorecen el

crecimiento vegetal entre otras funciones (Abdelaal et al., 2021; Bhattacharyya & Jha, 2011; Gouda et al., 2018).

Diversos estudios bajo condiciones de invernadero, cepas de bacterias han logrado tener una importante relevancia, por ejemplo, la especie *Enterobacter cloacae*, ha sido confirmada como fijadora de nitrógeno en pruebas con plantas de trigo (Chakraborty et al., 2019; Ji et al., 2020; Swamy et al., 2016). Además de su capacidad para aumentar significativamente los niveles de nitrógeno, esta especie demuestra ser tolerante al estrés salino, además de no afectar la biodiversidad de bacterias en el suelo y al mismo tiempo son productoras de fitohormonas (Chakraborty et al., 2019; Gou et al., 2023; Ji et al., 2020; Swamy et al., 2016).

En otros estudios, se ha identificado una amplia variedad de especies de *Bacillus* que también son fijadoras de nitrógeno, como la especie *Bacillus licheniformes* especialmente en plantas de maíz. En este contexto, se ha demostrado que esta cepa es capaz de producir AIA (ácido indol acético), ACC (1-aminociclopropano-1-1-carboxilato) y presentar una actividad antifúngica (Panichikkal et al., 2021; Yousuf et al., 2017). Por otra parte, y con respecto a su capacidad de resistencia a patógenos, *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens* y *Pseudomonas stutzeru* tuvieron resultados positivos contra el patógeno *Phytophthora capsici* en pepino (Islam et al., 2015). Por otro lado, en temas de biorremediación en suelo como muestra un estudio combinatorio planta/huésped *Bacillus methylotrophicos* y *Brassica rapa* mejorado con *Staphylococcus pasteurii* que remedia el suelo agrícola contaminado con PAH/DDT (Hidrocarburos aromáticos policíclicos/Diclorodineiltricloroetano) sin interrumpir la producción de los cultivos (Zheng et al., 2020). Mientras que otros casos exhibe diferentes especies de *Streptomyces* obtenidos de la rizosfera de distintas plantas y de suelo que han sido capaces de producir AIA y sideróforos (Vurukonda et al., 2020).

Por lo expuesto, el empleo de biofertilizantes se presenta como una opción rentable ya que, al ser ecológicos y de carácter natural, mejoran la fertilidad del suelo y elevan entre 10 a 40% el rendimiento de los cultivos (Mahanty et al., 2016). Por lo tanto, esta investigación tiene como objetivo identificar y caracterizar funcionalidades de bacterias obtenidas del suelo de cultivos agrícolas como maíz, banano y cacao y evaluarlas como potenciales productos de biofertilizante. Además de someterlos a condiciones de invernadero para determinar su capacidad de solubilización y fijación frente fuentes inorgánicas de P, K, y N en plantas de maíz. El propósito es favorecer la reducción del uso de agroquímicos y promover el cambio hacia bacterias promotoras que mejoren el rendimiento del cultivo para lograr una agricultura sustentable.

1.2 Descripción del problema

La agricultura representa una actividad indispensable para la obtención de alimentos de consumo diario. Sin embargo, dicha práctica fomenta efectos adversos al ambiente; los fertilizantes y plaguicidas son los principales causantes de la contaminación de las aguas subterráneas y suelo (FAO, 2025). Los fertilizantes químicos sintéticos dosificados erróneamente en grandes cantidades percolan en cuerpos de agua y rizosfera, provocando un desequilibrio en el ecosistema natural debido a sus especies químicas (nitratos y amonios) que reacciona con el entorno; lo que genera problemas no solo en el ambiente sino en la productividad agrícola (Capera-Rivas et al., 2020; Zandi & Basu, 2016). En Ecuador el costo de un saco de 50 kg de urea en 2022 supera los \$54, mientras que en 2023 el muriato de potasio ronda los \$58, precios elevados que difícilmente pueden ser costeados por un agricultor por lo tanto el uso de BPCV resulta de una alternativa sustentable en costos y desarrollo biológico al cultivo (Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2023).

1.3 Justificación del problema

La obtención de un bioproducto a base de una cepa bacteriana o de un consorcio de bacterias sería un progreso en la agricultura sostenible, dado que optimiza el ecosistema del suelo mejorando propiedades físicas y químicas; al mismo tiempo que no produce un efecto adverso (Ngalimat et al., 2021). Mientras que el uso indiscriminado de fertilizantes químicos para satisfacer la demanda alimentaria ha provocado contaminación y daño microbiológico a los suelos y paralelamente vuelve propensos a enfermedades a los cultivos comerciales. (Capera-Rivas et al., 2020)

Por lo tanto, utilizar biofertilizantes resulta ecológico por lo antes expuesto, logrando obtener un rendimiento semejante a los fertilizantes comerciales (Mahanty et al., 2016). Por lo tanto, identificar y caracterizar funcionalidades de bacterias de suelo como potenciales productos de biofertilizante y someterlos a condiciones de invernadero sería de vital importancia para ascender un escalón más al desarrollo de biofertilizantes comerciales y a promover una agricultura sustentable.

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo General

Evaluar microorganismos mesófilos con capacidad de promoción de crecimiento vegetal para una agricultura sostenible.

1.4.2 Objetivo Específico

- Aislar e identificar bacterias promotoras de crecimiento vegetal (BPCV) provenientes de cultivos comerciales de la costa ecuatoriana.
- Caracterizar bacterias solubilizadoras (P, K), fijadoras (N₂) y productoras de fitohormonas mediante pruebas bioquímicas y biología molecular.
- Evaluar el efecto de las cepas promisorias (BPCV) en plantas de maíz en condiciones de invernadero.

1.5 Marco teórico

1.5.1 *Agricultura sustentable*

La agricultura se presenta como una actividad indispensable por su necesidad de obtener alimentos para el consumo diario; del 95% de tierras agrícolas mundiales 38% es utilizado en cultivos como arroz, trigo y maíz (Mordor Intelligence, 2025). Asimismo, se estima los posibles problemas que poseerá en un futuro la agricultura por el continuo aumento poblacional e incremento en la demanda de alimento, las proyecciones estiman que para 2050 la población alcanzara los 9 700 millones de individuos (United Nations, 2019). Por otra parte, este no es el único problema asociado a la agricultura, sino que se presenta las continuas afectaciones relacionadas a la contaminación del medio ambiente; los químicos como fertilizantes y plaguicidas son los principales contaminantes de aguas subterráneas y suelo (FAO, 2025). Por lo tanto, los dos principales problemas conllevan al planteamiento de una agricultura sustentable, solo la definición de sostenibilidad en la agricultura implica el requisito de cubrir las necesidades alimentarias de la población, garantizando el bajo impacto al medio ambiente y a la rentabilidad productivo de los insumos cultivables (Cao et al., 2023; Pham & Smith, 2014).

Encontrar nuevos métodos o tecnología para fomentar una agricultura sustentable ha sido de interés en la actualidad (Arora et al., 2022). Solucionar los problemas correspondientes al uso de plaguicidas y fertilizantes ha sido considerado uno de los puntos clave dado que este grupo de químicos se convierten en pilar de la agricultura debido a la intervención en el desarrollo de la planta, control de plagas y rendimiento (Arora et al., 2022; Lykogianni et al., 2021). Contrariamente la mala praxis como la eliminación deficiente, falta de equipamiento adecuado y obtención de pesticidas ilegales conlleva a que su manejo indiscriminado provoque severos daños a la salud humana, ecosistema e irónicamente a la misma producción agrícola (Lykogianni et al., 2021). Entonces para conseguir los mismos

resultados beneficiosos de los plaguicidas y fertilizantes se han establecidos algunas tecnologías como por ejemplo la utilización de nanomateriales, recursos genéticos y empleo de organismos (Arora et al., 2022; Ke et al., 2021; Thudi et al., 2021).

Los nanomateriales son clasificados según su utilidad tales como los nanofertilizantes, nanopesticidas y la combinación de nanobiofertilizantes (Arora et al., 2022). Estos responden ante una problemática que poseen los químicos tradicionales y es que estos son lixiviados por el suelo por lo tanto la planta es incapaz de captar los nutrientes dados, por lo que al usar nanomateriales mejora la captación de estos nutrientes o eliminación de plagas al ser muy específicos en su formulación (Arora et al., 2022). Por otra parte, existen recursos genéticos como ensamblajes de secuencias genómicas, datos de secuenciación de germoplasma y bibliotecas de expresión génica han promovido un fitomejoramiento sistemático, básicamente el mejoramiento asistido por genómica es implementado para combatir el estrés biótico y abiótico mientras mejora la calidad nutricional en cultivos agrícolas (Thudi et al., 2021). Por último, se encuentra el uso de organismo mutualistas asociados a plantas que plantea la promoción de crecimiento vegetal (PGP), muchos de los microorganismos aislados han sido estudiados como potenciales biofertilizante y agentes de biocontrol (Ke et al., 2021). Su futura aplicación en cultivos agrícolas se enfoca en el bajo costo con alto rendimiento y poca probabilidad de degradación ambiental en comparación a los químicos tradicionales (Ke et al., 2021).

1.5.2 Bacterias promotoras de crecimiento vegetal

En general los organismos vegetales como las plantas se encuentran en una relación simbiótica con microorganismos del suelo o incluso con microorganismos que se ubican en su interior esto por lo general se debe a que las raíces están en contacto con el suelo y su diferentes nutrientes, a su vez el intercambio entre nutrientes del suelo y raíces provoca que las raíces exuden compuestos orgánicos solubles, sustancias que promueven la atracción de

diferentes microorganismos (Al-Tammar & Khalifa, 2022; Gouda et al., 2018). Este es el caso de bacterias y hongos, su relación se establece durante el desarrollo y crecimiento de la planta, por lo que cuando se fijan con el huésped toman el papel de mejorar las características de crecimiento y las condiciones del medio (Abdelaal et al., 2021; Gouda et al., 2018). A pesar de que bacterias y hongos cumplen diferentes mecanismos para la mejora de la planta, esta investigación se enfocara en las bacterias, Aquellas bacterias que se encuentran de forma libre en el suelo se denominan rizobacterias mientras que aquellas que se posicionan en el interior de la raíz del huésped, bacterias endófitas (Gouda et al., 2018). Las bacterias de vida libre poseen mecanismos como de fijación de nitrógeno y solubilización por lo tanto están involucrados en actividades bióticas del ecosistema del suelo que promueve el dinamismo y la sustentación de los cultivos, en base a esto se quiere lograr comercializarlas como un punto vial para una agricultura sostenible (Gouda et al., 2018).

1.5.3 Mecanismo de acción

Las BPCV poseen mecanismos que implica el mejoramiento de las fisiologías de las plantas (fijación, solubilización, producción de fitohormonas) la resistencia a patógenos y la neutralización del estrés ambiental (Al-Tammar & Khalifa, 2022).

1.5.4 Fijación biológica del nitrógeno

La fijación del nitrógeno por estas bacterias se considera como un mecanismo directo dado que es la interacción entre la bacteria a planta. Esta fijación la pueden realizar tanto bacterias simbióticas como no simbióticas a la planta, por lo que se establece una relación con la capacidad de la bacteria que tenga genes de fijación denominados genes nif que codifican a una enzima conocida como nitrogenasa (Abdelaal et al., 2021; Arsita et al., 2020a). El nitrógeno al ser un elemento gaseoso encontrado en el aire y que se queda atrapado en el suelo es de difícil acceso para la planta, pero de vital importancia para sus regulaciones orgánicas (Abdelaal et al., 2021). Las bacterias del suelo al logran convertir el

nitrógeno en una molécula orgánica mediante la enzima nitrogenasa convierte en un suelo mucho más productivo para las plantas (Abdelaal et al., 2021). El suelo que es más rico en consorcios de bacterias fijadores de nitrógeno son los que pertenecen a los cultivos de maíz debido a que esta planta es una alta demandante de nitrógeno biológico, por lo tanto, conviene una simbiosis con esta (Arsita et al., 2020).

1.5.5 Solubilización de Fósforo

El nitrógeno y fósforo son los macroelementos más necesitados por las plantas y estas las requieren en sus cantidades adecuadas para su correcto desarrollo (Gouda et al., 2018). Las bacterias no solo promueven la biodisponibilidad del fósforo inorgánico, sino que cambian de manera positiva el pH del suelo (Abdelaal et al., 2021; Gouda et al., 2018; Li et al., 2021). Cuando se realiza demasiado riego con fertilizantes fosfatados estos se fijan con el calcio en suelos calcáreos, las bacterias al solubilizar el fósforo bajan el pH del suelo, previene la precipitación del fósforo por cationes y mineraliza al fósforo con enzimas como las fosfatasas, CP liasas y fitasas (Abdelaal et al., 2021; Li et al., 2021).

1.5.6 Solubilización de Potasio

El potasio es un elemento que participa en la regulación de la absorción de CO₂ en plantas, potencia el desarrollo radicular y el crecimiento apical, por lo que se lo considera dentro de los macronutrientes importantes para el crecimiento de la planta (Gouda et al., 2018; Restrepo-Correa et al., 2017). Pero este es un elemento muy poco soluble en el suelo, este se encuentra en rocas insolubles y minerales de silicato las bacterias solubilizadoras logran disolver este elemento en forma de mica lo que promueve su absorción en cultivos (Gouda et al., 2018; Yaghoubi Khangahi et al., 2018). Las BPCV promueven la solubilización mediante la disminución de pH del medio lo que indica la liberación de ácidos orgánicos que logra la liberación de iones de potasio de potasio mineral ya sea por protonación o acidificación (Restrepo-Correa et al., 2017).

1.5.7 Producción de fitohormonas

Tanto estas bacterias como otros tipos de microorganismos pertenecientes a este grupo promotor vegetal producen variedad de metabolitos denominados fitohormonas, debido a la relación simbiótica con la planta, las bacterias regulan estas hormonas con el fin de mejorar el desarrollo del huésped y así obtener beneficios a cambio (Abdelaal et al., 2021). Por ejemplo, el grupo de metabolitos pertenecientes a las auxinas son unos de los más estudiados siendo el representante el ácido indol-3acético (AIA) relacionado al crecimiento de las raíces largas (Backer et al., 2018; Numan et al., 2018). Así también se encuentran las citoquininas las cuales se involucran en una mejora división celular y formación de raíces (Backer et al., 2018; Kozaki & Aoyanagi, 2022). Mientras que la producción de giberelinas por parte de estas bacterias está relacionada con la germinación de semillas, floración y desarrollo del tallo (Backer et al., 2018; Ngalamat et al., 2021). Los ejemplos de metabolitos anteriormente presentados no son los únicos productos de las bacterias, también se encuentran metabolitos secundarios con propiedades antibióticas como los lipopéptidos, propiedades antifúngicas como péptidos ricos en aminoácidos y saliendo del tema análogos cíclicos como agentes anticancerígenos (Narayanan & Glick, 2022).

1.5.8 Producción de sideróforos

El hierro se presenta como uno de los minerales con más abundancia en la tierra, el problema radica en la forma insoluble en la que se encuentra. Debido a que dicho elemento es indispensable para los organismos autótrofos por su papel en el metabolismo celular actuando como cofactor de ciertas enzimas; los microorganismos como las BPCV han evolucionado de tal manera que son capaces de sintetizar sideróforos, moléculas que ayudan a la solubilización del Fe (Vejan et al., 2016). Esto se da porque los sideróforos al ser compuestos de bajo peso molecular se unen al hierro y participan en la quelación del hierro férrico (Restrepo-Correa et al., 2017; Vejan et al., 2016).

CAPÍTULO 2

2.1 METODOLOGÍA

2.2 Área de Estudio y colecta de muestras

Se realizó un muestreo de suelo rizosférico en siete fincas ubicadas en las provincias; Los Ríos: Fca. Ramilla (-1.533637, -79.763373), Fca. Calichama (-1.513043, -79.734189), Fca. Vinces (-1.534870, -79.785078), Fca. Solanda (-1.544963, -79.760282), Fca. Caicedo (-1.538442, -79.764403) y Guayas: Fca. Matanegro (-2.898485, -79.677617), Fca. Colón (-2.918768, -79.705126). Se recolectaron 15 submuestras de suelo de diferentes posiciones de la hacienda correspondiente. Basado en el método de zigzag a 20 cm de profundidad del suelo y una distancia entre el punto de muestro y la planta de 10 cm (Agrocalidad, 2018). Finalmente fueron homogenizadas obteniendo una muestra compuesta de 1 kg de suelo rizosférico de cultivos de maíz, banano y cacao, fueron rotuladas y almacenadas en cuarto frío hasta su respectivo análisis (Agrocalidad, 2018).

2.3 Pre-enriquecimiento y aislamiento en medios selectivos de bacterias NPK

Soluciones pre-enriquecidas diferenciadas fueron empleadas para análisis NPK de la siguiente manera: Para bacterias fijadoras de nitrógeno se utilizó medio TSB en 90 ml de agua; para bacterias solubilizadoras de potasio 2.30 g de agua peptonada y 0.5 g de fosfato dipotásico en 90 ml de agua; y finalmente para bacterias solubilizadoras de fósforo 2.30 g de agua peptonada y 0.09 g de fosfato tricálcico (Arsita et al., 2020; K. S. Li et al., 2021; Yaghoubi Khanghahi et al., 2018). Posteriormente se tomó 90 ml del pre-enriquecimiento selectivo y 10 g de suelo, incubadas en el agitador New Brunswick durante 12 horas a temperatura ambiente (Arsita et al., 2020; K. S. Li et al., 2021; Yaghoubi Khanghahi et al., 2018).

A partir del medio de enriquecimiento se realizó diluciones seriadas (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}) y luego se sembraron en medios selectivos de acuerdo a la siguiente información.

2.3.1 Fijadores de nitrógeno

Para este grupo de microorganismos se utilizó el medio Jensen el cual presenta la siguiente composición: 20 g/L de glucosa, 1 g/L fosfato dipotásico, 0.5 g/L de sulfato de magnesio, 0.5 g/L de cloruro de sodio, 0.1 g/L sulfato de hierro, 0.005 g/L de molibdato de sodio, 2 g/L carbonato de calcio, 15 g/L agar, modificado con 0.08 g/L de azul de bromotimol. Se inocularon 100 µl de cada una de las diluciones previamente preparadas, aquellas bacterias fijadoras de nitrógeno presentaron un halo transparente como indicador de fijación del nitrógeno y un cambio de color del medio de verde a amarillo o azul (Arsita et al., 2020). Se eligieron aquellas bacterias potenciales y se las volvió a aislar hasta poseer una bacteria pura por cada placa (Arsita et al., 2020).

2.3.2 Solubilizadoras de fósforo

Para BSF, se utilizó medio NBRIP, dicho medio presenta la siguiente composición: en 10 g/L de glucosa, 0.3 g/L de cloruro de potasio, 0.3 g/L de cloruro de sodio, 0.03 g/L de sulfato férrico, 0.03 g/L de sulfato de magnesio, 0.5 g/L de sulfato de amonio, 1 g/L de sulfato tricálcico, 15 g/L de agar, modificado con 0.08 g/L de azul de bromotimol y a un pH de 7. Se inocularon 100 µL de las diluciones realizadas y se identificó como bacterias solubilizadoras de fósforo si presenta un halo y cambio de coloración de verde a amarillo (Li et al., 2021). Se re-aisló utilizando el mismo procedimiento hasta obtener bacterias diferenciadas por cada placa (Li et al., 2021).

2.3.3 Solubilizadoras de potasio

El medio Aleksandrov se empleó para la determinación de bacterias solubilizadoras de potasio, modificado de la siguiente manera 5g/L de glucosa, 0.1 g/L de cloruro férrico, 2 g/L de carbonato de calcio, 0.005 g/L de sulfato de magnesio heptahidratado, 2 g/L de fosfato de calcio, 2 g/L fosfato de potasio dibásico, 20 g/L de agar y 0.1 g/L de azul de bromotimol. Se inoculó con 100 µL de bacteria y se sembró, aquellas colonias identificadas como

solubilizadoras de potasio presentaron un halo diferencial y un cambio de color de las colonias con respecto al medio, igualmente que con los otros ensayos se aisló las bacterias hasta tenerlas diferenciadas por placa (Karthika et al., 2020; Parmar & Sindhu, 2013; Raji & Thangavelu, 2021; Zhou et al., 2021).

2.3.4 Conservación de cepas

Las bacterias que presentaron actividad fijadora y solubilizadoras se las conservó en una solución esterilizada de TSB y glicerol al 25%. El proceso consistió en colocar 1 ml de la solución en tubos de conservación, rotularlos según la muestra donde finalmente se tomó una colonia de la muestra y se la colocó en la solución. Los tubos con microorganismos de interés fueron almacenados en un congelador a -80°C (López-De Ávila et al., 2019).

2.4 Análisis Filogenético

2.4.1 Extracción de ADN

Las cepas de NPK aisladas, se identificaron mediante métodos moleculares para lo cual se realizó una extracción de ADN. A partir de una colonia de microorganismos de interés se colocó en una solución de NaOH (20mM) hasta su dilución total, posteriormente la solución se mezcla en vortex durante 5 segundos. Asimismo, se lo lleva a -80°C por 20 minutos, finalmente la muestra se coloca en el termociclador a 98°C por 10 minutos, para romper de forma controlada las paredes celulares y obtener el ADN o ARN del interior del microorganismo (Pérez-Pérez et al., 2019).

2.4.2 Amplificación por PCR del gen 16S rRNA y Secuenciación de los fragmentos amplificados

Para obtener una identificación de las cepas NPK se realizó un mix de PCR de 15 µL, el cual contiene 7.5 µL de Go taq, 0.3 µL de Foward, 0.3 µL de Reverse, 5.9 µL de agua y finalmente 1 µL de muestra. Esto se realizó con el fin de amplificar una región del gen 16S

rRNA con los cebadores universales 27F y 1492R. Una vez confirmado la integridad de las muestras de PCR mediante electroforesis en gel de agarosa, se envió a secuenciar en Macrogen, Inc mediante el método de Sanger el cual utiliza terminadores de cadena dideoxinucleótidos y electroforesis capilar (Arsita et al., 2020).

2.4.3 Análisis Bioinformático

Una vez realizado obtenido secuencias correspondientes. Se realizó una limpieza utilizando el programa Finch Tv con el fin de obtener los mejores picos de cada una de las muestras, esto se realizó con ambas secuencias detallando que en el reverse es necesario invertir la secuencia para poseer las dos secuencias de una muestra en un solo sentido. Al efectuar este paso se utilizó Prabi una página web que es usada para proporcionar secuencias consenso. Estas se compararon mediante un análisis nBlast con secuencias tipo que se encuentran disponibles en la base de datos NCBI y finalmente se utilizó el programa MEGA11 para obtener un árbol filogenético con el método UPMA tree con el modelo Tamura 3-parameter.

2.5 Cuantificación colorimétrica del Ácido Indol Acético (AIA)

Las cepas se sometieron a la identificación de la producción de AIA mediante el método de Salkowski. Este método consistió en sembrar en medio LB las bacterias seleccionadas durante 3 día a 30°C, posteriormente se tomó 1 ml de este cultivo bacteriano y se le agregó a una solución de LB + 0.1% de triptófano, el nuevo cultivo se lo incubó durante 7 días a 30°C en completa oscuridad. Pasado el tiempo se centrifugó el medio a 15 000 RPM durante 10 minutos y se extrajo 1 ml de sobrenadante y se lo colocó en un tubo con 2 ml de reactivo de Salkowski (Glickmann & Dessaux, 1995; Gordon & Weber, 1951; Sarwar et al., 1992; Pattnaik et al., 2020). Para su posterior incubación a temperatura ambiente por durante 45 minutos en completa oscuridad y se medición en un espectrofotómetro UV-vis a 600 nm

de absorbancia, la concentración se calculó a partir de un gráfico estándar de AIA marca Sigma-Aldrich que osciló entre 0.01 y 0.4 $\mu\text{g ml}^{-1}$ (Deepa et al., 2010; Pattnaik et al., 2020).

2.6 Producción de sideróforos

Este ensayo se realizó cualitativamente aplicando el método CAS (Chrome Azurol S) agar el cual se basa en la competencia por el hierro enfrentado a un complejo férrico de cromo azurol S (Ramírez-Cariño et al., 2023). Las bacterias se inocularon en el medio mencionado y se incubaron a 28°C durante 2 semanas en la oscuridad. Aquellas colonias que produjeron zonas anaranjadas se consideraron cepas positivas a producción de sideróforos (Ramírez-Cariño et al., 2023; Rashid et al., 2012; Santos et al., 2023).

2.7 Diseño experimental

Se usó un diseño completamente al azar (DCA), en donde evaluó el crecimiento de la planta en base a la inoculación de NPK y fertilización inorgánica. Se estableció dos tratamientos con cuatro niveles del factor P y cuatro niveles del factor K con cinco réplicas en cada nivel evaluando las variables de respuestas: altura, número de hojas, longitud radicular y clorofila durante cuatro semanas para cada experimento. Paralelamente se realizó un DCA de un factor con dos tratamientos para el factor N con cinco réplicas evaluando las variables de respuesta antes mencionadas.

2.7.1 Condiciones del sistema

La eficacia de las cepas en conjunto a la utilización de fertilizante inorgánico fue evaluada bajo condiciones controladas, utilizando como referencia el cultivo de maíz. Se estableció tres ensayos independientes para N, P, y K, en donde el sustrato base fue compuesto por turba; tamo de arroz y arena en proporción de 7:2:1; se empleó dos fuentes inorgánicas de P y K (P: roca fosfórica, K: muriato de potasio) con cuatro niveles de dosificación (0, 104, 208, 417 kg/ha P y 0, 65, 130, 260 kg/ha K) y 3 bacterias catalogadas

in_vitro como solubilizadoras de P o K como se muestra en las tablas 1 y 2. Por otro lado, se evaluó tres cepas fijadoras de nitrógeno con inóculo y sin inóculo para determinar la fijación del nitrógeno gaseoso obtenido del aire de la atmósfera del suelo (tabla 3). El número de réplicas y sustrato fue el mismo que se utilizó en el ensayo de PK (Rady et al., 2022; Schwarz et al., 2018). Los parámetros evaluados fueron la altura de la planta, concentración de clorofila y longitud radicular.

Tabla 1.

Diseño experimental realizado para bacterias solubilizadoras de fósforo con dos tratamientos (cepa y concentración) de cuatro niveles y con cinco replicas para cada uno.

Concentración		Bacterias			
Roca fosfórica (Kg/ha)		P1	P2	P3	SP
0	C0	5 réplicas	5 réplicas	5 réplicas	5 réplicas
104	C1	5 réplicas	5 réplicas	5 réplicas	5 réplicas
208	C2	5 réplicas	5 réplicas	5 réplicas	5 réplicas
417	C3	5 réplicas	5 réplicas	5 réplicas	5 réplicas

Nota: C0, C1, C2, C3: concentración de roca fosfórica al 0%, 50%, 100% y 200%

respectivamente; P: bacteria potencialmente solubilizadoras de fósforo; numeración 1, 2, 3: cantidad de especies a evaluar; SP: Sin inóculo o sin cepa P.

Tabla 2.

Diseño experimental realizado para bacterias solubilizadoras de potasio con dos tratamientos (cepa y concentración) de cuatro niveles y con cinco replicas para cada uno.

Concentración		Bacterias			
Muriato de potasio (Kg/ha)		K1	K2	K3	SP
0	C0	5 réplicas	5 réplicas	5 réplicas	5 réplicas
65	C1	5 réplicas	5 réplicas	5 réplicas	5 réplicas
130	C2	5 réplicas	5 réplicas	5 réplicas	5 réplicas
260	C3	5 réplicas	5 réplicas	5 réplicas	5 réplicas

Nota: C0, C1, C2, C3: concentración de muriato de potasio al 0%, 50%, 100% y 200%

respectivamente; K: bacteria potencialmente solubilizadoras de potasio; numeración 1, 2, 3: cantidad de especies a evaluar; SK: Sin inóculo o sin cepa K.

Tabla 3.

Diseño experimental realizado para bacterias fijadoras de nitrógeno con un tratamiento (cepa) de cuatro niveles y con cinco replicas para cada uno.

	Bacterias			
	N1	N2	N3	SN
C0	5 réplicas	5 réplicas	5 réplicas	5 réplicas

Nota: C0: Sin concentración de ningún tipo, especialmente los fertilizantes nitrogenados; N: bacterias potencialmente fijadoras de nitrógeno; numeración 1, 2, 3: cantidad de especies a evaluar; SN: Sin inoculo o sin cepa N.

CAPÍTULO 3

3.1 Resultados y análisis

3.2 Aislamiento de bacterias solubilizadoras de PK y fijadoras de N

Se obtuvieron 34 aislamientos a partir de muestras de banano, cacao y maíz, utilizando distintos medios selectivos. Las muestras con mayor diversidad microbiana fueron de la zona de Ramilla de cacao y Vines Ríos maíz, con 7 aislamientos cada una, seguidas del grupo "Pull" con 10 aislamientos. El uso de códigos por muestra y por medio selectivo permitió identificar aislamientos específicos según el sustrato y el método de cultivo aplicado (Tabla 4). Estos resultados reflejan una variabilidad microbiana influenciada por el origen de la muestra y las condiciones de aislamiento, destacando una mayor diversidad en cacao y maíz en comparación con el banano.

Tabla 4.

Identificación principal de bacterias obtenidas por muestra.

Muestra	Código Muestra	por	Código por Medio Selectivo	Número de Aislamientos
<i>Matanegro Banano</i>	MB1.1, MB2.1,	MB2.2,	K1, K2, K3	3
<i>Ramilla Cacao</i>	RC5.2, RC5.12, RC9, RC8.1	RC5.11, RC3.1, RC8.2	K4, K5, K11, K12, N5, N6, N12	7
<i>Solanda Banano</i>	SB5		K6	1
<i>Caicedo Banano</i>	CB9		K8	1
<i>Colon Banano</i>	CoB8.1, CoB8.2		K9, K10	2
<i>Calichama Cacao</i>	CC15, CC2.2	CC2.1	N1, N2.1, N2.2	3
<i>Vines Ríos Maíz</i>	RM1, RM5.1, RM 3.1, RM4.3	RM2.2, RM5.2, RM3.2,	N3, N4, N7, N8, N9, N10, N11	7
<i>Pull CB, CC, SC, SB, CoC</i>	2p, 5p, 12p, 4p, 15p, 8p	1p, 13p, 10p, 3p,	P1, P2, P3, P4, P5, P6, P7, P8, P9, P10	10
TOTAL				34

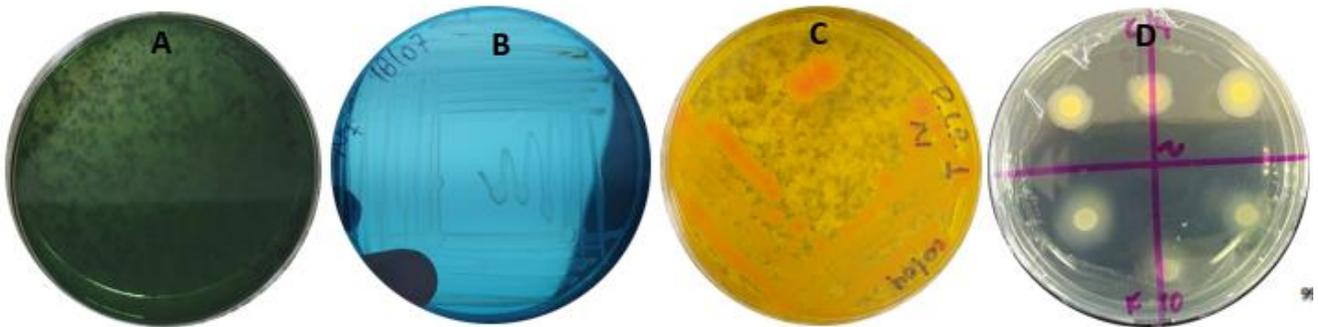
3.3 Evaluación y caracterización cualitativa de BSP, BSK y BFN

Como recordatorio los 3 medios (Jensen, Aleksandrov y NBRIP) fueron modificados con azul de bromotimol, un colorante susceptible al cambio del pH, como punto inicial todos los medios son verdes debido a su pH de 7, si acidifica el medio se torna amarillo y si alcaliniza se torna azul. Inicialmente las BFN mostraron el siguiente comportamiento como se aprecia en la ilustración 1, placas con tonalidades amarillas y azules que indican reacciones metabólicas de las bacterias con el medio. Posteriormente como se muestra en la ilustración 2 las BSK presentaron cambio de color de verde a amarillo con diferenciación en sus tonalidades suaves además de nuevas características ejemplificadas en colonias crecientes por debajo del medio de cultivo, esto se aprecia debido a que el medio cambia de color de verde a amarillo, pero no se aprecian bacterias en la superficie. Las BSP sólo mostraron la

típica coloración amarilla tanto para la colonia como para el medio (Ilustración 3) (Arsita et al., 2020).

Ilustración 1.

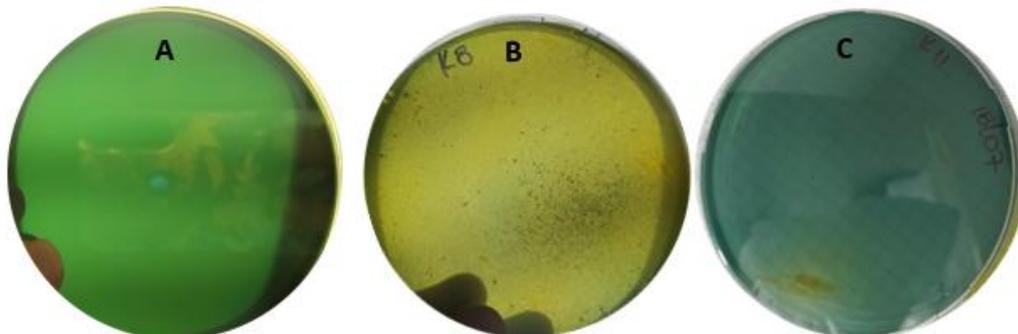
Medios de cultivos Jensen inoculados con bacterias potenciales fijadoras de nitrógeno



Nota: A: Medio de cultivo sin inocular coloración verde. B: Medio inoculado presenta coloración azul C: Medio inoculado muestra coloración amarilla. D: Halo en medio Jensen sin teñir.

Ilustración 2.

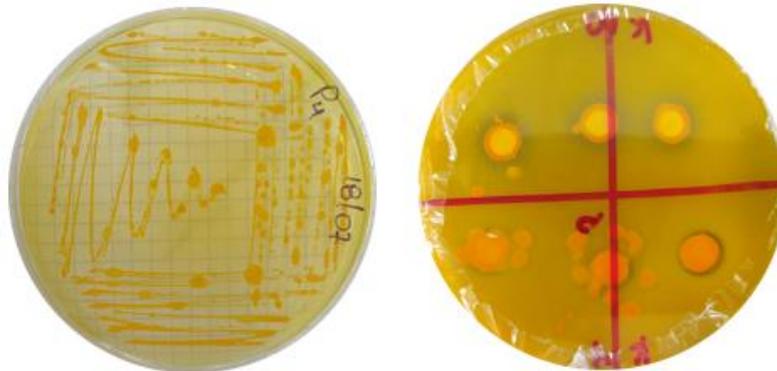
Medio de cultivo Aleksandrov inoculado con bacterias mostrando solubilización de potasio



Nota: A: Medio de cultivo sin inocular presenta coloración verde B: Medio inoculado con bacterias solubilizadoras de potasio se muestra el cambio del medio de verde a amarillo. C: Medio inoculado con una baja presencia de colonias, pero con un cambio visible de color en el medio.

Ilustración 3.

Medio de cultivo NBRIP inoculado con bacterias solubilizadoras de fósforo.



La ilustración 1 presenta dos reacciones en relación con el color, amarillo y azul, las BFN realizan reacciones metabólicas que favorecen el cambio de tonalidad debido a los productos excretados al medio, estas bacterias durante la fijación de nitrógeno efectúan una reacción mediante la utilización de la enzima nitrogenasa la cual se encarga de convertir el nitrógeno atmosférico (N_2) más ATP en amonio (HN_3) e hidrógeno gaseoso (H_2); productos finales que toman las plantas para adquirir el nitrógeno, pero el mismo al ser una base débil sube el pH del medio tornándolo azul y considerándose positivo para aquellas bacterias fijadora de nitrógeno (Hoffman et al., 2014; Restrepo-Correa et al., 2017). Por otra parte, lograr determinar el color amarillo del medio es desafiante debido a que no se ha registrado el porqué del mismo por lo que se infiere que la bacteria este secretando ácidos orgánicos, por respiración metabólica o simplemente ejerciendo una reacción nitrificante dando como productos nitritos, nitratos y protones (H^+) lo que provoca la acidificación del medio (Shaikh & Jagtap, 2023). Por lo tanto, en la mayoría de literatura revisada sugiere que se considere positivo a la coloración azul del medio sin embargo seria de utilidad estudiar a profundidad aquellas bacterias que proporcionen el medio amarillo y determinar si efectivamente son fijadoras de nitrógeno con otras cualidades o no.

Asimismo, se establece el cuadro de acción de las solubilizadoras tanto de potasio como de fósforo en términos generales ambas producen ácidos orgánicos lo que provoca la acidez del medio y por lo tanto el cambio de tonalidad de verde a amarillo (Karthika et al., 2020; Raji & Thangavelu, 2021; Zhou et al., 2021). En el caso de las BSK, el mecanismo de acción radica en la acidificación de la rizosfera, reduciendo el pH de la zona mediante la excreción de diferentes ácidos orgánicos como ácido succínico, oxálico, glucónico, cítrico, entre otros; lo que promueve la liberación de protones de potasio atrapados en minerales circundantes (Olaniyan et al., 2022). En base a esto la ilustración 2 no muestra un cambio drástico de color como se debería denotar, por lo que podría deberse a diferentes razones como la modificación del medio Aleksandrov, no solo por el colorante agregado sino por el cambio de uno de los principales componentes que es la MICA con fosfato dipotásico como fuente de potasio, además considerar que el medio modificado prolongaría el tiempo de incubación de las bacterias.

Caso contrario, las BSP presentan dos mecanismos de solubilización; primeramente, se encuentra la acidificación ejemplificada en el párrafo anterior ambas solubilizadoras excretan los mismos ácidos, pero en donde el ácido 2-cetoglutarato y ácido glucónico se encuentran en mayoría en esta clasificación además de verse involucrados en la solubilización del fósforo inorgánico mineral (Rawat et al., 2020). Posteriormente y la diferenciación entre BSP Y BSK es la presencia de enzimas como la fosfatasa, fitasa y fosfonatasas, encargadas de la solubilización del fósforo orgánico permitiendo la reducción de macromoléculas a monómeros o iones pequeños, moléculas mucho más asimilables para la planta (Rawat et al., 2020; Restrepo-Correa et al., 2017).

3.4 Identificación de BPCV

Se identificaron 13 cepas bacterianas a partir del análisis filogenético en MEGA11, en donde se obtuvo los géneros como *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Bacillus*, *Acinetobacter*,

Leclercia Priestia, Pseudomona y Bordetella. Se destaca, que gran parte de las bacterias identificadas son Gran-negativas además de ser catalogadas como patógenos humanos pero que promueven el crecimiento vegetal (Flores Clavo et al., 2023; Pattnaik et al., 2020; Rios-Galicia et al., 2021; Singh et al., 2022).

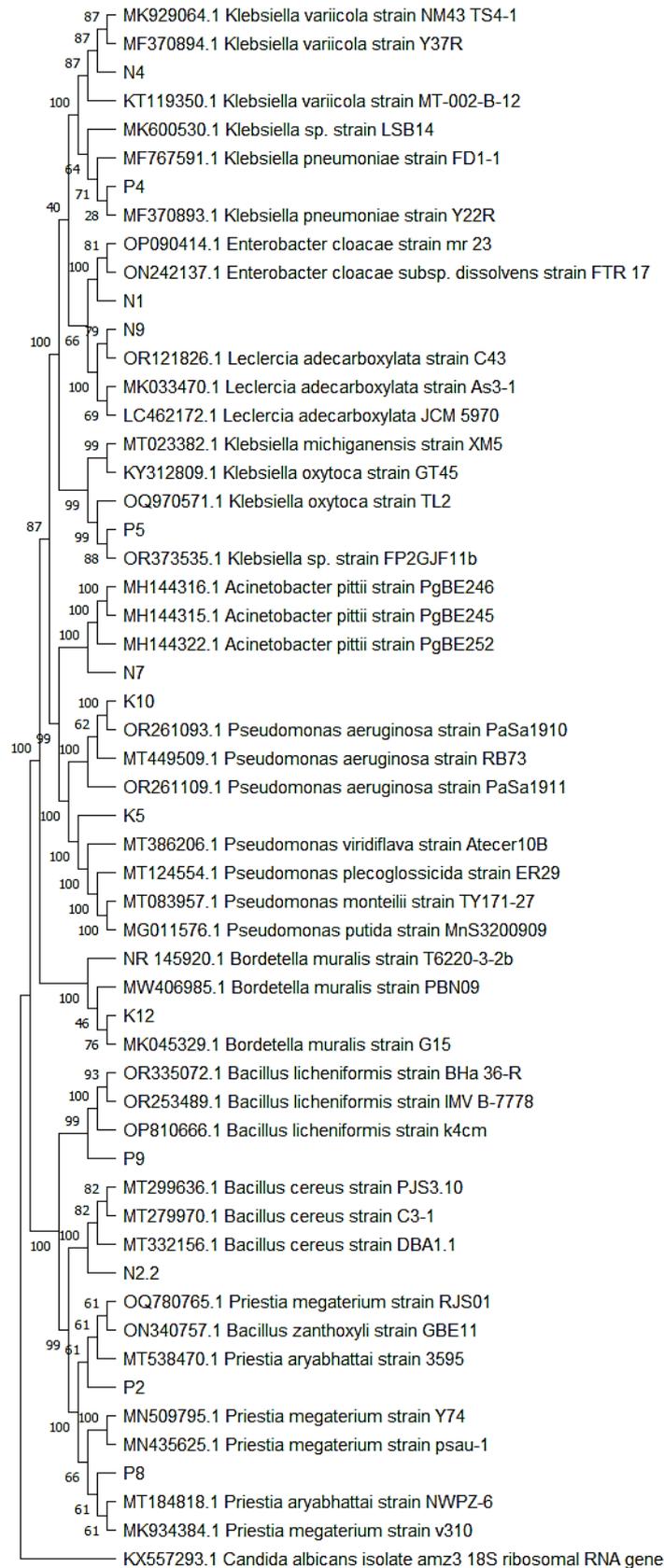


Ilustración 4. Identificación de las bacterias promotoras mediante el árbol filogenético con modelo UPMA.

En la siguiente tabla se especifica las características que presenta cada una de las cepas encontradas en la bibliografía.

Tabla 5.

Características principales de mecanismos de acción de las especies de cepas identificadas.

Especie	Mecanismo de acción			Referencia
	BFN	BSP	BSK	
<i>Enterobacter cloacae</i>	+	+	+	(Pattnaik et al., 2020; Singh et al., 2022)
<i>Bacillus cereus</i>	+	+	+	(Karthika et al., 2020; Raji & Thangavelu, 2021; Zhou et al., 2021)
<i>Klebsiella variicola</i>	+	+	+	(Rios-Galicia et al., 2021; Wang et al., 2020)
<i>Acinetobacter pittii</i>	+	+	+	(He & Wan, 2021; Yaghoubi Khanghahi et al., 2021)
<i>Leclercia adecarboxylata</i>	+	+	+	(Chen et al., 2024; Pang et al., 2022)
<i>Pseudomonas sp.</i>	+	+	+	(Hernández et al., 2023; Yaghoubi Khanghahi et al., 2021)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	+	+	(Kumawat et al., 2019; Yaghoubi Khanghahi et al., 2021)
<i>Bordetella muralis</i>	n/e	+	n/e	(Flores Clavo et al., 2023)
<i>Priestia sp.1</i>	+	+	-	(Ramírez-Cariño et al., 2023; Santos et al., 2023)
<i>Klebsiella sp.1</i>	+	+	+	(Gohil et al., 2023; Kour et al., 2020; Liu et al., 2016)
<i>Bacillus licheniformis</i>	+	+	+	(Abadi et al., 2021; Kour et al., 2020; Medison et al., 2023)

Nota: n/e = no encontrado. El cuadro presenta 11 especies de 13 debido a que existen sp 1 y sp 2 del mismo género sin embargo para evitar repeticiones se decidió solo tomar una.

La tabla 5 presenta registros de la especie en cuestión relacionada con su capacidad de fijar nitrógeno, solubilizar fósforo o potasio dentro de la literatura, si bien existen especies que se presentan positivas a los 3 mecanismos es de destacar que los artículos de donde se obtuvo la información no evaluaron en conjunto sus capacidades para NPK. Además, que las

capacidades de las especies evaluadas dependían de la cepa aislada. Por ejemplo, Pang et al, 2022 quien estudió a *Leclercia* presentó resultados negativos como solubilizadoras de potasio; caso contrario de Chen et al, 2024 que mostró resultados positivos, además de que realizó estudios genéticos para demostrar que dicha bacteria posee genes involucrados en la fijación nitrógeno, solubilización de potasio y fósforo y producción de diferentes fitohormonas y sideróforos. Por otra parte, Hernández et al, 2023 menciona que varias especies del género *Pseudomonas* poseen diferentes mecanismos NPK, pero que otras no mostraban los mismos efectos.

Un caso destacable en la bibliografía es la escasa información disponible sobre *Bordetella muralis*. Sin embargo, se encontró un artículo que la menciona como un posible promotor de crecimiento vegetal, aunque sin proporcionar detalles al respecto (Sukweenadhi et al., 2022). Por otro lado, otras especies de género *Bordetella* si presentan características promotoras como solubilizadoras de potasio (Verma et al., 2015). Además, Flores Clavo et al, 2023 aislaron una cepa B, muralis, con capacidad de solubilizar fósforo.

3.5 Producción de IAA y de sideróforos

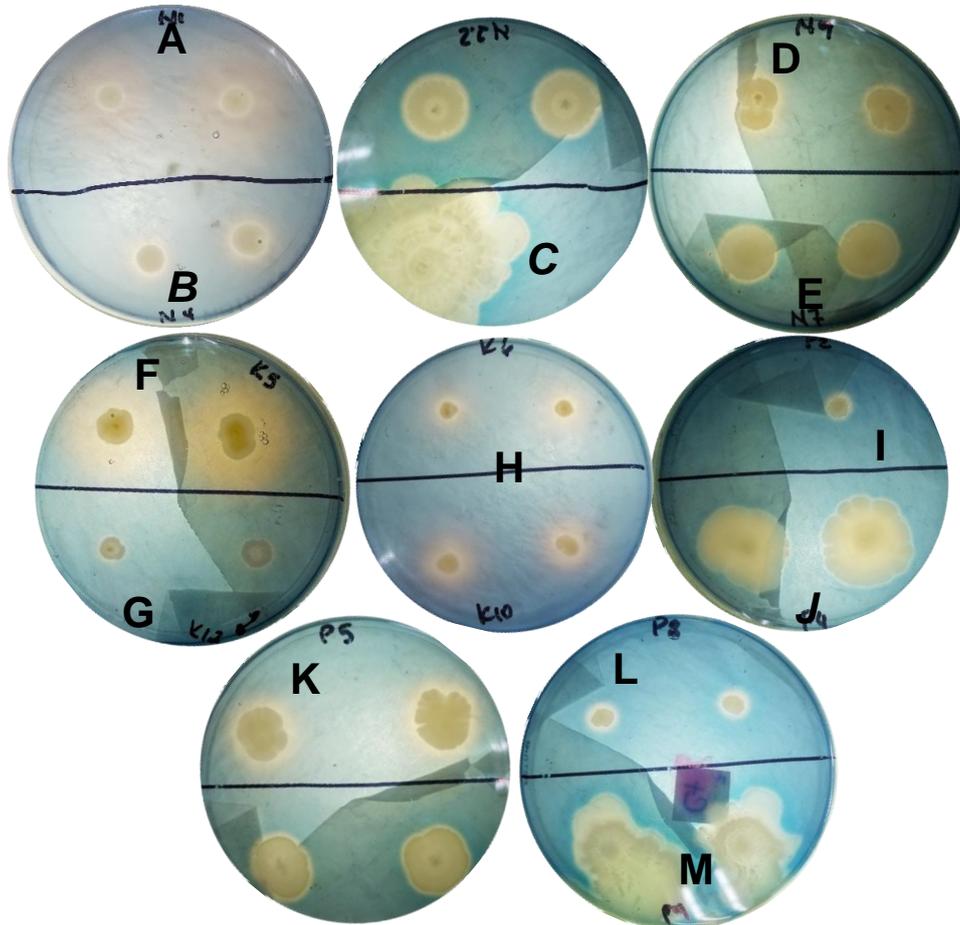
Las bacterias identificadas también se sometieron a la detección de sideróforos mediante el uso del medio agar CAS en donde se consideraba positivos aquellos que formaban un halo de color anaranjado. Por lo tanto, se confirmaron nueve bacterias como positivas en producción de sideróforos; identificadas son: *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella variicola*, *Acinetobacter pittii*, *Leclercia adecarboxylata*, *Pseudomonas sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Priestia sp.1*, *Klebsiella sp.1* y *Klebsiella sp.2*.

Por otra parte, la producción de AIA por cepa se reveló positiva utilizando reactivo de Salkowski por cambio de color del medio de marrón a rosado, cabe destacar que los tonos se encontraban de forma muy tenue (Ilustración 6), pero se confirmó con una cuantificación mediante el uso de un estándar de AIA y se obtuvo una curva de calibración como se muestra

en la ilustración 9 en apéndices. Por otra parte, se muestra en la tabla 6 los datos cuantitativos y cualitativos de este proceso.

Ilustración 5.

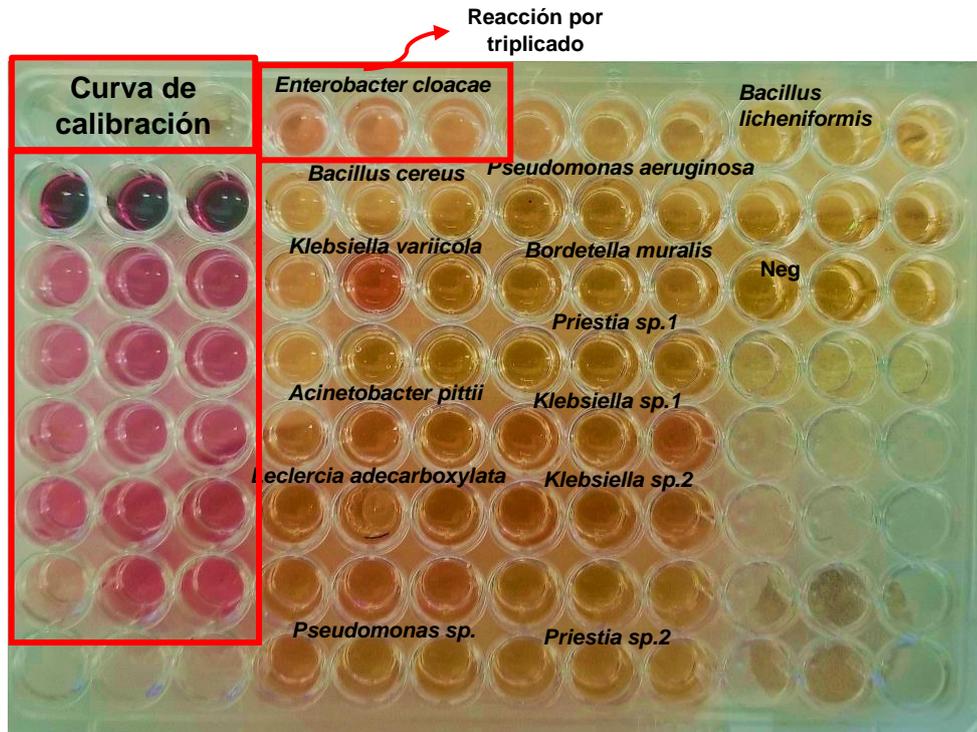
Medio agar CAS inoculado con BPCV presenta halo característico diferencial para bacterias productoras de sideróforos.



Nota: A: *Enterobacter cloacae*; B: *Klebsiella variicola*; C: *Bacillus cereus*; D: *Leclercia adecarboxylata*; E: *Acinetobacter pittii*; F: *Bordetella muralis*; G: *Pseudomonas sp.*; H: *Pseudomonas aeruginosa*; I: *Priestia sp.1*; J: *Klebsiella sp.1*; K: *Klebsiella sp.2*; L: *Priestia sp.*; M: *Bacillus licheniformis*.

Ilustración 6.

Microplaca lectura colorimétrica de AIA de BPCV



Nota: Reacción por triplicado entre sobrenadante de medio de cultivo inoculado con las bacterias respectivas más reactivo Salkowski en microplaca de lectura de absorbancia.

Tabla 6.

Evaluación cualitativa y cuantitativa de bacterias promotoras de crecimiento vegetal más referencias bibliográficas.

Cepa	En la Investigación			Literatura		
	Colorimétrico	Concentración μg ml ⁻¹	SDP	AIA μg ml ⁻¹	SDP	REFERENCIA
<i>Enterobacter cloacae</i>	+	21,42	+	• 114 • 0.364	• n/e • -	• (Pattnaik et al., 2020) • (Singh et al., 2022)
<i>Bacillus cereus</i>	-	7,83	-	• 22.54 • 45.87	• +	• (Zhou et al., 2021) • (Tripathi et al., 2022)
<i>Klebsiella variicola</i>	+	12,59	+	• 9.03	+	(Rios-Galicia et al., 2021)
<i>Acinetobacter pittii</i>	+	9,68	+	+ (n/v)	n/e	(He & Wan, 2021)
<i>Leclercia adecarboxylata</i>	+	16,41	+	2.6	+	(Snak et al., 2021)
<i>Pseudomonas sp.</i>	+	11,23	+	+	+	(Kumawat et al., 2019)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	8,18	+	43.6	+	(Kumawat et al., 2019)
<i>Bordetella muralis</i>	-	5,20	-	68.91	n/e	(Flores Clavo et al., 2023)
<i>Priestia sp.1</i>	-	3,76	+	3.1	+	(Ramírez-Cariño et al., 2023; Santos et al., 2023)
<i>Klebsiella sp.1</i>	+	19,26	+	106.0	+	(Gohil et al., 2023; Liu et al., 2016)
<i>Klebsiella sp.2</i>	+	23,85	+	106.0	+	(Gohil et al., 2023; Liu et al., 2016)
<i>Priestia sp.2</i>	-	3,56	-	3.1	+	(Ramírez-Cariño et al., 2023; Santos et al., 2023)
<i>Bacillus licheniformis</i>	-	0,92	-	450 mg/l	+	(Medison et al., 2023)

Nota: n/v= no registra valor; n/e= no estudiado

Tomando en cuenta los datos de la anterior tabla, se mantiene lo antes mencionado, las cepas identificadas en el trabajo investigativo a pesar de ser de la misma especie identificada en bibliografía no presentan en su totalidad las mismas características de las referencias (Kumawat et al., 2019, Ramírez-Cariño et al., 2023; Santos et al., 2023; Zhou et al., 2021). Sin embargo, con los estudios previos se logra establecer un precedente general sobre la capacidad que posee estas cepas sobre la producción de AIA y de Sideróforos. Por ejemplo, en el trabajo de investigación se obtuvo resultados negativos o con baja producción de AIA, no obstante, en la bibliografía al menos una cepa de la especie correspondiente estudiada mostraba presencia, por lo tanto, potenciaría más estudios referentes a la bacteria cuyo resultado sea negativo (Kumawat et al., 2019, Ramírez-Cariño et al., 2023; Santos et al., 2023).

3.6 Resultado del ensayo

Para determinar las nueve bacterias utilizadas en los diseños experimentales se realizó una tabla con todos los datos obtenidos y con la mayor cantidad de resultados positivos en los procesos se procedió a tomar dicha bacteria como fijadora o solubilizadoras. Así como se muestra en la tabla 6 se destaca la evaluación de los microorganismos en los tres medios NPK para determinar si cambió su metabolismo debido a la variabilidad de cepas entre generaciones o establecer su capacidad de poseer otros mecanismos.

Tabla 7.

Síntesis de las caracterizaciones de la BPCV identificadas. Se suman los resultados positivos y se toma dicha cepa para experimentación.

Cepa	Método cualitativo por color medio con azul de bromotimol			Método cualitativo sideróforos. Agar CAS	Fitohormona IAA	
	Medio Jensen (N)	Medio NBRIP (P)	Medio Aleksandrov (K)		Cualitativo color. Reactivo Salkowski	Cuantitativo espectrofotómetro UV-vis (concentración µg/mL)
<i>Enterobacter cloacae</i>	✓	x	✓	✓	✓	21,42
<i>Bacillus cereus</i>	✓	✓	x	x	x	7,83
<i>Klebsiella variicola</i>	✓	✓	✓	✓	✓	12,59
<i>Acinetobacter pittii</i>	✓	✓	x	✓	✓	9,68
<i>Leclercia adecarboxylata</i>	✓	✓	✓	✓	✓	16,41
<i>Pseudomonas sp.</i>	✓	✓	✓	✓	✓	11,23
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	✓	✓	x	✓	x	8,18
<i>Bordetella muralis</i>	✓	✓	✓	x	x	5,20
<i>Priestia sp.1</i>	✓	✓	✓	✓	x	3,76
<i>Klebsiella sp.1</i>	x	✓	✓	✓	✓	19,26
<i>Klebsiella sp.2</i>	✓	✓	✓	✓	✓	23,85
<i>Priestia sp.2</i>	✓	x	✓	x	x	3,56
<i>Bacillus licheniformis</i>	✓	x	✓	x	x	0,92

3.7 Análisis de Gráficos Descriptivos

Una vez recolectado los datos experimentales se realizó los análisis estadísticos respectivos, desde gráficos descriptivos hasta análisis de varianza. Para cada interpretación de los gráficos se debe destacar que las BFN no presentaron el mismo diseño experimental que BSP y BSK, sin embargo, se evaluó las mismas variables de respuesta de crecimiento por lo tanto se comparó con el resto de los diseños de BSP y BSK.

El análisis de los diagramas de cajas (Ilustración 7) para cada diseño NPK revela una mayor variabilidad en los niveles de clorofila de las plantas inoculadas con BFN. A diferencia de BSP y BSK, que muestran una distribución de sus cajas más homogéneas. Teóricamente, las bacterias fijadoras de nitrógeno deberían incrementar la proporción de clorofila debido a la relación directa entre el nitrógeno y este pigmento, lo que explicaría la diferencia de medias en las cajas de BFN (Singh et al., 2021). Sin embargo, existen otros factores que podrían explicar dicha diferencia, debido a que las mediciones son influenciadas por la edad y posición de la hoja en la planta, lo que introduce una fuente natural de variación de datos, por otra parte, se considera el número menor de unidades experimentales en el diseño BFN (de Souza et al., 2020).

Asimismo, se menciona que los niveles de longitud radicular y peso húmedo en plantas, presenta las mismas características, homogeneidad entre las cajas de BSP y BSK y diferenciación entre BFN (Anexo: Ilustración 13). Se podría explicar con los siguientes puntos; el diseño experimental de BFN no es igual, dado que esta no presenta la variable de concentración de solutos; segundo, los diseños BPK se realizaron al mismo tiempo; tercero el aumento de unidades experimentales. Se procede a mencionar que tanto la mediana de los niveles de longitud radicular como de los niveles de peso húmedo de las plantas sin inocular e inoculados presentan el mismo comportamiento con ligeros descensos en ciertas cepas, por lo que gráficamente no mostrarían factor promotor de las cepas. A su vez se debe tener en

cuenta que estos diseños también fueron influenciados por una diferencia de concentración de soluto (BSP = roca fosfórica; BSK = muriato de potasio) y no únicamente por la cepa inoculada.

Ilustración 7.

Diagramas de cajas sobre los niveles de clorofila en bacterias NP

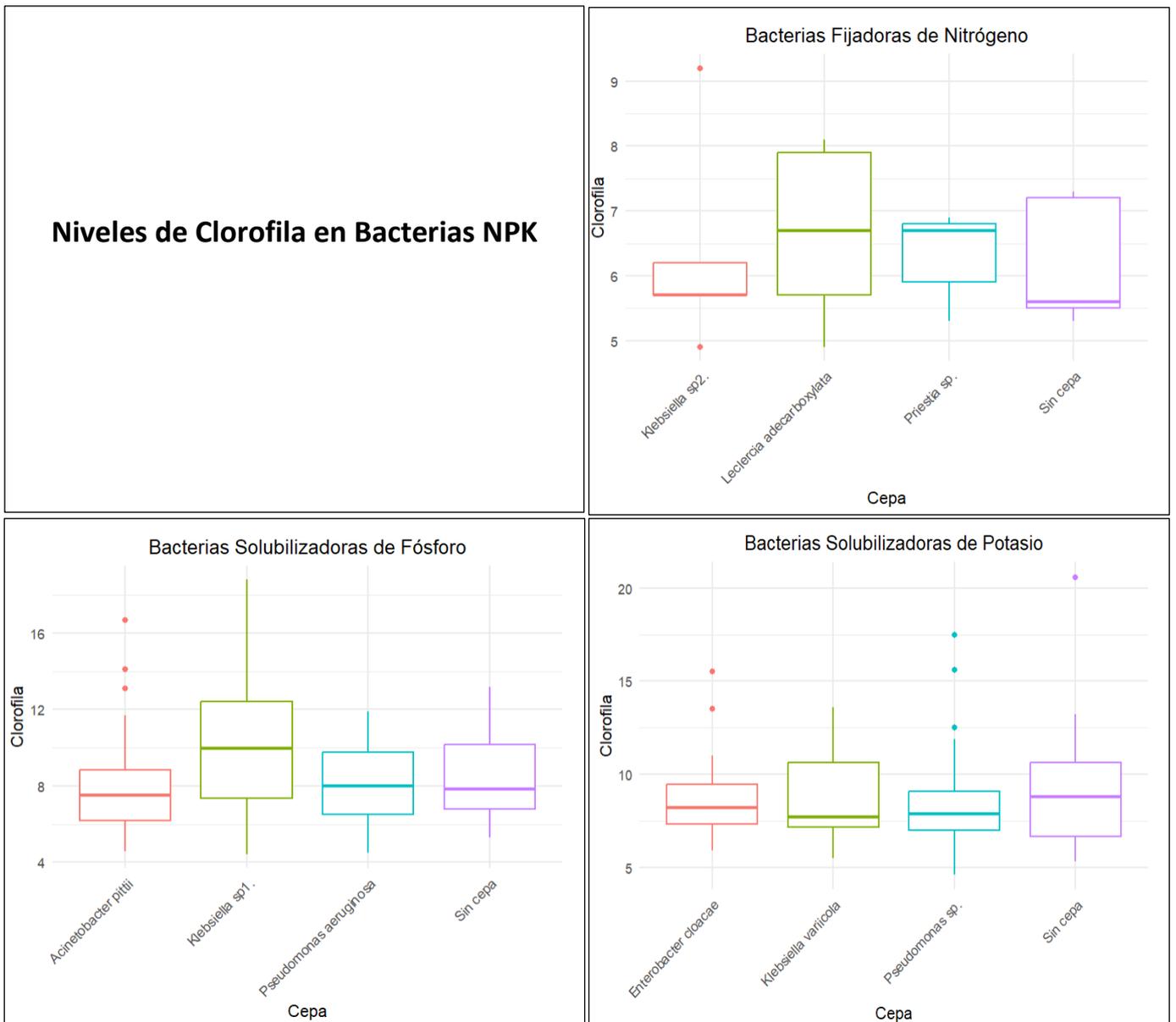
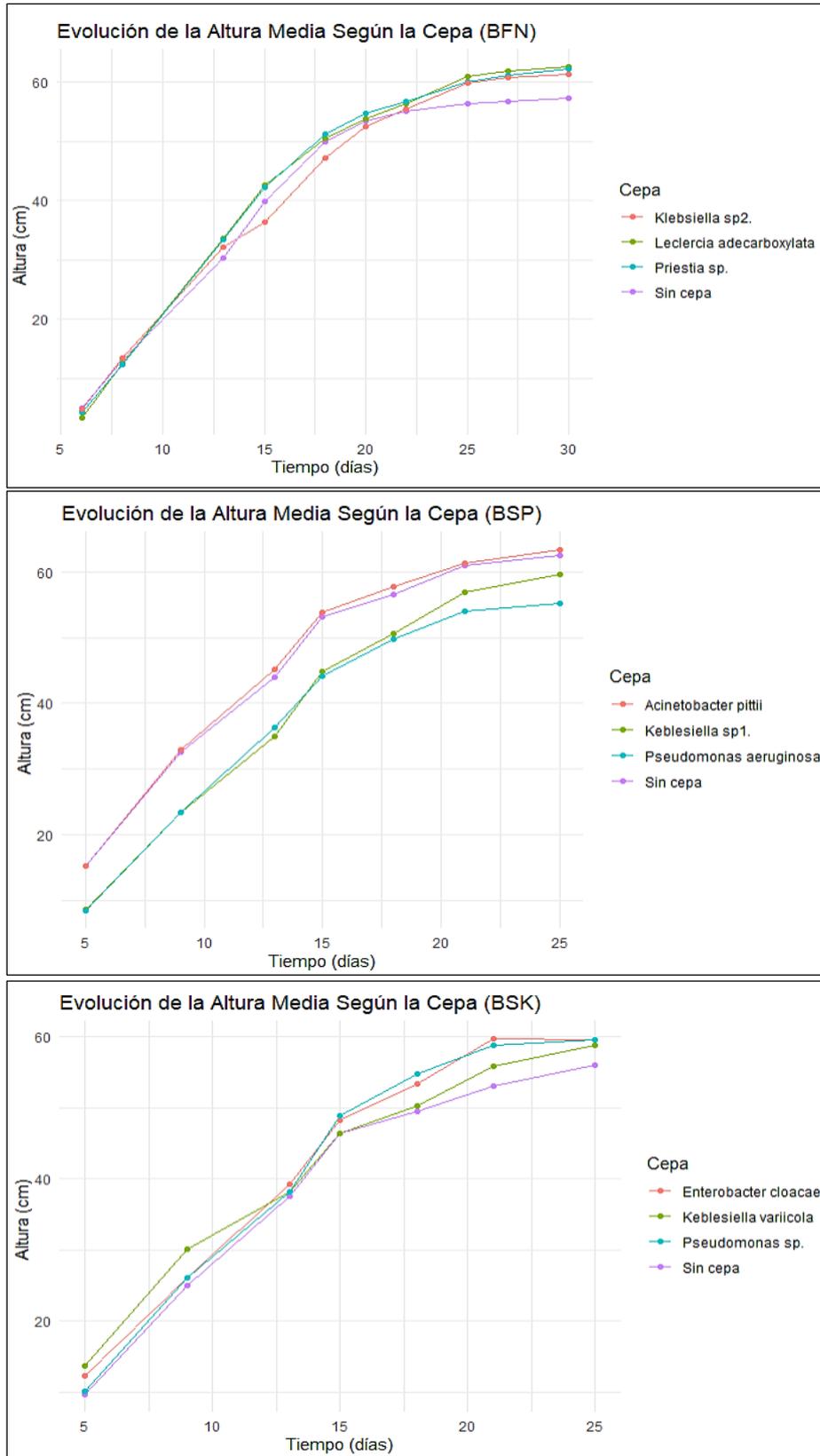


Ilustración 8.

Evolución de la altura de la planta versus el tiempo en días de las bacterias NPK



Adicionalmente se presenta la ilustración 8 que enseñan la evolución de la altura media de la planta durante un periodo de tiempo establecido. BFN evidencia un crecimiento homogéneo al inicio del experimento (0 cm de altura), pero al final las plantas que fueron inoculadas sobrepasaron los 60 cm a comparación del grupo control. Por otra parte, BSP posee un crecimiento diferencial desde el inicio del experimento (10 cm de altura) sin embargo el grupo control y la cepa *Acinetobacter pittii* poseen el mismo patrón a diferencia de las otras cepas y ambas superaron los 60 cm de crecimiento, caso contrario de *Klebsiella* y *Pseudomonas* que tuvieron 55 cm de crecimiento en el día 25. Se podría explicar al factor concentraciones existente dentro del experimento o bien debido a la rapidez en el desarrollo de los brotes, justo antes de comenzar la medición, lo que a lo largo haya provocado una variabilidad en los datos. Contrariamente BSK gráficamente presenta factor de promoción, dado que el grupo control presentó un menor crecimiento en altura de al menos 5 cm en comparación a los otros grupos. En conclusión, según las gráficas las cepas *Leclercia adecarboxylata*, *Acinetobacter pittii* y *Enterobacter cloacae* podrían mostrar efecto promotor a nivel de invernadero, pero no existen los suficientes datos estadísticos para ser concluyente.

3.8 ANOVAS

Con el fin de determinar influencia de los dos factores (concentración de soluto y cepa) se realizó un ANOVA Clásico y una prueba de Tukey para señalar si existen o no diferencias significativas entre las variables de respuesta y el factor estudiado.

3.9 ANOVA BFN

La siguiente tabla 8 presenta dos ANOVAS perteneciente a las variables de longitud radicular y clorofila, en ambos casos se observa que el *p-value* se encuentra por encima de 0.05 por lo que se concluye que no existe diferencias significativas. Es decir, las cepas no proporcionan una influencia considerable en el crecimiento de las raíces o en la cantidad de clorofila producida por las hojas. Probablemente esto se podría deber al diseño experimental

de BN, dado que es un diseño de un solo factor con 4 niveles, lo que a su vez conllevaría a un bajo número de replicas por unidad ocasionando que no existan datos suficientes para establecer significancia.

Tabla 8.

ANOVA de las variables longitud radicular y clorofila realizados en cepas

Variable: Longitud radicular

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr (>F)
Cepa	3	518	172.8	1.217	0.309
Residuals	76	10794	142.0		

Variable: Clorofila

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr (>F)
Cepa	3	4.1	1.379	0.163	0.921
Residuals	76	642.2	8.451		

3.10 ANOVA BSP

Mediante un ANOVA clásico se determinó que las cepas BSP son significativas en cuatro variables de respuesta con valores de 0.00137; 7e-06; 5.79e-08; 0.000182 por debajo del *p-value* 0.05 correspondientes a número de hojas, longitud radicular, clorofila y altura de la planta respectivamente. Es decir que influye durante el desarrollo de la planta indicando un factor promotor, mientras que la concentración solo mostró significancia en variables como la longitud radicular y la clorofila. Se infiere que el fertilizante inorgánico utilizado en base a fósforo participa en el desarrollo radicular y floración, lo que explicaría su relevancia en estas variables (Abdelaal et al., 2021; Li et al., 2021). Sin embargo, para llegar a dicha conclusión es necesario poseer más datos estadísticos por lo tanto se realizó un análisis Tukey a partir de la variable que poseía mejor *p-value* para cada factor para determinar qué nivel fue relevante durante el estudio.

Tabla 9.

ANOVAS de cuatro variables de respuesta para el diseño de BSP

Variable: Número de Hojas

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr (>F)
Cepa	3	40.9	13.638	5.267	0.00137**
Concentración	3	4.8	1.613	0.623	0.60045
Residuals	553	1431	2.589		

Variable: Longitud radicular

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr (>F)
Cepa	3	3630	1209.8	9.089	7e-06***
Concentración	3	1952	650.7	4.888	0.00231**
Residuals	553	73608	133.1		

Variable: Clorofila

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr (>F)
Cepa	3	302	100.83	12.575	5.79e-08***
Concentración	3	71	23.52	2.934	0.033*
Residuals	553	4434	8.02		

Variable: Altura

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr (>F)
Cepa	3	7885	2628.3	6.731	0.000182***
Concentración	3	1699	566.3	1.450	0.2277230
Residuals	553	215923	390.5		

Nota: Significado de los codes: 0 “****” 0.001 “**” 0.01 “*” 0.05 “.”

Tomando como referencia la variable longitud radicular con el p-value de 7e-06, se realizó un análisis de Tukey para el factor cepas (Apéndices: Tabla 11). Existió diferencias significativas de medias entre el grupo control (sin cepa) y las plantas inoculadas con *Klebsiella* y *Pseudomonas*. Siendo el control poseedor de mayor media, lo que conlleva que las cepas de bacterias si influyeron en el desarrollo, pero de forma negativa. Se atribuye a la concentración de bacterias utilizadas, si bien se quería probar un efecto promotor probablemente la concentración utilizada de cepas hayan provocado el efecto contrario y en conjunto al clima cálido en el cual se encontraban las plantas, hayan promovido el crecimiento de estas cepas y logrado una competencia de nutrientes entre la cepa y la planta, sin embargo, son especulaciones del investigador.

Por otra parte, los resultados de las comparaciones múltiples, realizadas utilizando el análisis de Tukey para el factor concentración (Apéndices: Tabla 12), indican que la concentración de fertilizante C2 y C3 (100% y 200% de la dosis estándar respectivamente) promovió un crecimiento radicular significativamente mayor en comparación con el grupo C1. El grupo C1 a pesar de mostrar un incremento respecto al grupo control, no es estadísticamente significativa. Por otra parte, el grupo control no se mostró en diferencias significativas con ningún grupo anterior, por lo tanto en base a este análisis no se puede concluir que las concentraciones de roca fosfórica influyen significativamente en el crecimiento de las plantas, debido a que no se estableció dicho parámetro con el grupo control, a pesar de que si haya diferencias entre ellas.

3.11 ANOVA BSK

Para el caso del diseño experimental BSK, el análisis ANOVA arrojó que la cepa tuvo diferencias significativas en una de las variables de respuesta (longitud radicular) con *p-value* 5.64e-06, caso contrario, el factor de concentración presentó valores significativos en tres de las cuatro variables. Sin la necesidad de mencionar el análisis Tukey para determinar la cepa relevante o la concentración se puede suponer que este tipo de análisis se vio afectado por la biodisponibilidad del nutriente. Es decir, el muriato de potasio utilizado para la evaluación de diferencias de concentración, a lo largo de su estancia en el suelo se logra disolver en este y provocar un aumento en las características de la planta (Ginting et al., 2024). Sin embargo, esta solo es una suposición basada en el comportamiento de este fertilizante (Ginting et al., 2024).

Tabla 110.

Tablas de ANOVAS de cuatro variables de respuesta para el diseño de BSK

Variable: Número de Hojas

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr (>F)
Cepa	3	7.7	2.572	0.921	0.4305
Concentración	3	28.5	9.506	3.403	0.0175*
Residuals	550	1536.3	2.793		

Variable: Longitud radicular

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr (>F)
Cepa	3	3630	1209.8	9.247	5.64e-06***
Concentración	3	3205	1068.2	8.164	2.51e-05***
Residuals	553	723656	130.8		

Variable: Clorofila

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr (>F)
Cepa	3	29	9.656	1.208	0.3061
Concentración	3	75	24.987	3.126	0.0255*
Residuals	553	4421	7.994		

Variable: Altura

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr (>F)
Cepa	3	795	264.8	0.615	0.605
Concentración	3	2576	858.8	1.995	0.114
Residuals	553	238094	430.5		

Nota: Significado de los codes: 0 “****” 0.001 “***” 0.01 “**” 0.05 “.”

Siguiendo la línea de texto anterior, y evaluando a más profundidad el impacto de las cepas en el crecimiento radicular Tukey (Apéndices: Tabla 13) mostró que existe diferencias significativas con el grupo control debido a la mayor longitud radicular de este, seguida de *Klebsiella variicola* y *Enterobacter cloacae*. En conclusión, las cepas inoculadas presentaron una influencia negativa en el desarrollo de la raíz, lo cual explicaría por qué no fue significativamente en las demás variables de respuesta.

Caso contrario en los resultados del análisis de Tukey de la concentración con la variable longitud radicular (Apéndices: Tabla 14) presenta en términos generales que la concentración de C2 mostró una promoción mayor de crecimiento radicular, seguido de C3, C0 y C1. Se establece que C2 representa el 100% de la dosis de muriato de potasio que se agrega normalmente en plantaciones por lo que es entendible que el rendimiento de la raíz

sea mayor en este caso y parcialmente entendible por qué C3 sea el segundo mejor. Sin embargo, la relevancia de que el control tuviera mayor desarrollo que C1 indicaría que o bien existe algún error ambiental o biológico o que la baja dosis del fertilizante provoque de alguna manera la inhibición del crecimiento, pero para corroborar es necesario más ensayos al respecto (Zamudio-González et al., 2018).

En conclusiones, durante ensayo de BFN, las cepas no mostraron influencia en el desarrollo de las plantas; por otra parte, las cepas de BSP y BSK presentaron influencia negativa en el crecimiento radicular. Además de que las diversas concentraciones de roca fosfórica de BSP no proporcionaron atribución a diferencia de C2 que es la dosis estándar de nutriente y que las concentraciones de muriato de potasio en BSK exhibieron diferencias significativas en el desarrollo radicular, pero es necesario de más estudios al respecto. Se destaca, la variable longitud radicular como la más influenciada, se infiere que esto sucede por ser uno de los principales componentes de la planta en desarrollarse y a la cual se dirige todo el proceso de crecimiento en caso de estrés ambiental (Agarwal et al., 2024).

CAPÍTULO 4

3.12 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

3.13 Conclusiones

Se aisló 34 cepas pertenecientes a las BPCV de cultivos de suelos agrícolas comerciales de maíz, cacao y banano, de las cuales se identificaron 13 cepas que pertenecen a los géneros *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Leclercia*, *Bacillus*, *Acinetobacter* y *Pseudomonas*.

Las 13 cepas identificadas poseen capacidad *in_vitro* de fijar nitrógeno, solubilizar fósforo y solubilizar potasio. Además de que son capaces de producir fitohormonas como AIA y Sideróforos.

Las tres cepas evaluadas para Nitrógeno *Klebsiella sp 2*, *Leclercia adecarboxylata* y *Priestia sp.* no poseen capacidad para promover el desarrollo de la unidad experimental, que las tres cepas evaluadas para fósforo (*Acinetobacter pittii*, *Klebsiella sp1.*, *Pseudomona aeruginosa*) y potasio (*Enterobacter cloacae*, *Klebsiella variicola*, *Pseudomona sp.*) no fueron lo suficientemente concluyentes para establecer un factor de promoción entre ellas; además de que la concentración del fertilizante utilizado en el diseño BSK posiblemente pudo influir en el crecimiento radicular de la planta.

3.14 Recomendaciones

- Se recomienda la utilización de placas Petri de vidrio para la visualización de los mecanismos de acción NPK, además de utilizar y ajustar el colorante azul de bromotimol.
- Se recomienda realizar pequeños ensayos en invernadero controlando las mayores variables ambientales para reducir el error, humano, biológico y ambiental.

- Se recomienda trabajar con el menor número de especies identificadas para mayor facilidad en el proceso de ensayo y estudio.

Referencias

- Abadi, V. A. J. M., Sepehri, M., Rahmani, H. A., Dolatabad, H. K., Shamshiripour, M., & Khatabi, B. (2021). Diversity and abundance of culturable nitrogen-fixing bacteria in the phyllosphere of maize. *Journal of Applied Microbiology*, *131*(2), 898–912.
<https://doi.org/10.1111/JAM.14975>
- Abdelaal, K., Alkahtani, M., Attia, K., Hafez, Y., Király, L., & Künstler, A. (2021). The Role of Plant Growth-Promoting Bacteria in Alleviating the Adverse Effects of Drought on Plants. *Biology 2021*, Vol. 10, Page 520, *10*(6), 520. <https://doi.org/10.3390/BIOLOGY10060520>
- Agrocalidad. (2018). Instructivo INT/SFA/10. Muestreo para análisis de suelos.
<https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2020/05/agua8.pdf>
- Agarwal, K., Mehta, S. K., & Mondal, P. K. (2024). Unveiling nutrient flow mediated stress in the plant roots using on-chip phytofluidic device. <https://doi.org/10.1039/x0xx00000x>
- Al-Tammar, F. K., & Khalifa, A. Y. Z. (2022). Plant growth promoting bacteria drive food security. *Brazilian Journal of Biology*, *82*, e267257. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.267257>
- Alves de Andrade, L., Barbosa Santos, C. H., Teciano Frezarin, E., Ramos Sales, L., & Cid Rigobelo, E. (2023). Plant Growth-Promoting Rhizobacteria for Sustainable Agricultural Production. *Microorganisms*, *11*(4). <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS11041088>
- Arora, S., Murmu, G., Mukherjee, K., Saha, S., & Maity, D. (2022). A comprehensive overview of nanotechnology in sustainable agriculture. *Journal of Biotechnology*, *355*, 21–41.
<https://doi.org/10.1016/J.JBIOTEC.2022.06.007>
- Arsita, R., Karim, H., Hala, Y., Iriany, N., & Jumadi, O. (2020). Isolation and identification of nitrogen-fixing bacteria in the corn rhizosphere (*Zea mays* L.) originating from Jenepono

Regency, South Sulawesi. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 484(1), 012051. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/484/1/012051>

Backer, R., Rokem, J. S., Ilangumaran, G., Lamont, J., Praslickova, D., Ricci, E., Subramanian, S., & Smith, D. L. (2018). Plant Growth-Promoting Rhizobacteria: Context, Mechanisms of Action, and Roadmap to Commercialization of Biostimulants for Sustainable Agriculture. *Frontiers in Plant Science*, 9. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2018.01473>

Bhattacharyya, P. N., & Jha, D. K. (2011). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 2011 28:4, 28(4), 1327–1350. <https://doi.org/10.1007/S11274-011-0979-9>

Cao, M., Narayanan, M., Shi, X., Chen, X., Li, Z., & Ma, Y. (2023). Optimistic contributions of plant growth-promoting bacteria for sustainable agriculture and climate stress alleviation. *Environmental Research*, 217, 114924. <https://doi.org/10.1016/J.ENVRES.2022.114924>

Capera-Rivas, co A., del Técnico Profesional en Procesos, estudiante, Melendez, J. P., García-Galindo, L. A., Capera-Rivas, A., & Mayorquín, N. (2020). Alternativas microbiológicas para la remediación de suelos y aguas contaminados con fertilizantes nitrogenados
Microbiological alternatives for the remediation of soils and water contaminated with nitrogen fertilizers. *Scientia et Technica Año XXV*, 25(01).

Chakraborty, P., Sarker, R. K., Roy, R., Ghosh, A., Maiti, D., & Tribedi, P. (2019). Bioaugmentation of soil with *Enterobacter cloacae* AKS7 enhances soil nitrogen content and boosts soil microbial functional-diversity. *3 Biotech*, 9(7), 1–10. <https://doi.org/10.1007/S13205-019-1791-8/METRICS>

Chen, W., Wang, Z., Xu, W., & Hu, Y. (2024). Genome sequence of *Leclercia adecarboxylata* QDSM01 with multiple plant growth promoting properties. *Plant Growth Regulation*, 102(2), 445–459. <https://doi.org/10.1007/S10725-023-01071-4/METRICS>

- Deepa, C. K., Dastager, S. G., & Pandey, A. (2010). Isolation and characterization of plant growth promoting bacteria from non-rhizospheric soil and their effect on cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) seedling growth. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *26*(7), 1233–1240. <https://doi.org/10.1007/S11274-009-0293-Y/FIGURES/2>
- de Souza, R., Grasso, R., Peña-Fleitas, M. T., Gallardo, M., Thompson, R. B., & Padilla, F. M. (2020). Effect of Cultivar on Chlorophyll Meter and Canopy Reflectance Measurements in Cucumber. *Sensors (Basel, Switzerland)*, *20*(2). <https://doi.org/10.3390/S20020509>
- FAO. (2015). *Agricultura mundial: hacia los años 2015/2030*. <https://www.fao.org/3/y3557s/y3557s11.htm>
- FAO. (2025). Manejo Integral de plagas y plaguicidas. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. <https://www.fao.org/pest-and-pesticide-management/about/es/>
- Flores Clavo, R., Valladolid-Suyón, E., Reinoza-Farroñan, K., Asmat Ortega, C., Riboldi Monteiro, P. H., Apaza-Castillo, G. A., Zuñiga-Valdera, G., Fantinatti Garboggini, F., Iglesias-Osores, S., & Carreño-Farfán, C. R. (2023). Rhizobacterial Isolates from *Prosopis limensis* Promote the Growth of *Raphanus sativus* L. Under Salt Stress. *Current Microbiology*, *80*(8), 269. <https://doi.org/10.1007/S00284-023-03379-W>
- Ginting, E. N., Anwar, S., Nugroho, B., & Rahutomo, S. (2024). Dataset from an investigation of the effect of natural zeolite particle size reduction as a material for the manufacture of slow-release potassium fertilizer in oil palm seedlings growth with peat soil planting media. *Data in Brief*, *55*. <https://doi.org/10.1016/J.DIB.2024.110556>
- Glickmann, E., & Dessaux, Y. (1995). A critical examination of the specificity of the Salkowski reagent for indolic compounds produced by phytopathogenic bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, *61*(2), 793–796. <https://doi.org/10.1128/AEM.61.2.793-796.1995>

- Gohil, R. B., Raval, V. H., Panchal, R. R., & Rajput, K. N. (2023). Plant growth promoting activities and effect of fermented panchagavya isolate *Klebsiella* sp. PG-64 on *Vigna radiata*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *39*(2), 1–15. <https://doi.org/10.1007/S11274-022-03482-3/METRICS>
- Gordon, S. A., & Weber, R. P. (1951). Colorimetric Estimation of indoleacetic Acid. *Plant Physiology*, *26*(1), 192–195. <https://doi.org/10.1104/PP.26.1.192>
- Gou, Z., Zheng, H., He, Z., Su, Y., Chen, S., Chen, H., Chen, G., Ma, N. L., & Sun, Y. (2023). The combined action of biochar and nitrogen-fixing bacteria on microbial and enzymatic activities of soil N cycling. *Environmental Pollution*, *317*, 120790. <https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2022.120790>
- Gouda, S., Kerry, R. G., Das, G., Paramithiotis, S., Shin, H. S., & Patra, J. K. (2018). Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. *Microbiological Research*, *206*, 131–140. <https://doi.org/10.1016/J.MICRES.2017.08.016>
- Guo, J. K., Muhammad, H., Lv, X., Wei, T., Ren, X. H., Jia, H. L., Atif, S., & Hua, L. (2020). Prospects and applications of plant growth promoting rhizobacteria to mitigate soil metal contamination: A review. *Chemosphere*, *246*, 125823. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2020.125823>
- He, D., & Wan, W. (2021). Phosphate-Solubilizing Bacterium *Acinetobacter pittii* gp-1 Affects Rhizosphere Bacterial Community to Alleviate Soil Phosphorus Limitation for Growth of Soybean (*Glycine max*). *Frontiers in Microbiology*, *12*. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2021.737116/FULL>
- Hernández, I., Taulé, C., Pérez-Pérez, R., Battistoni, F., Fabiano, E., Villanueva-Guerrero, A., Nápoles, M. C., & Herrera, H. (2023). Endophytic Seed-Associated Bacteria as Plant Growth

Promoters of Cuban Rice (*Oryza sativa* L.). *Microorganisms*, *11*(9).

<https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS11092317/S1>

Hoffman, B. M., Lukoyanov, D., Yang, Z. Y., Dean, D. R., & Seefeldt, L. C. (2014). Mechanism of Nitrogen Fixation by Nitrogenase: The Next Stage. *Chemical Reviews*, *114*(8), 4041.

<https://doi.org/10.1021/CR400641X>

Islam, S., Akanda, A. M., Prova, A., Islam, M. T., & Hossain, M. M. (2015). Isolation and Identification of Plant Growth Promoting Rhizobacteria from Cucumber Rhizosphere and Their Effect on Plant Growth Promotion and Disease Suppression. *Frontiers in Microbiology*, *6*. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2015.01360>

<https://doi.org/10.3389/FMICB.2015.01360>

Ji, C., Liu, Z., Hao, L., Song, X., Wang, C., Liu, Y., Li, H., Li, C., Gao, Q., & Liu, X. (2020). Effects of *Enterobacter cloacae* HG-1 on the Nitrogen-Fixing Community Structure of Wheat Rhizosphere Soil and on Salt Tolerance. *Frontiers in Plant Science*, *11*, 510947.

<https://doi.org/10.3389/FPLS.2020.01094/BIBTEX>

Karthika, S., Midhun, S. J., & Jisha, M. S. (2020). A potential antifungal and growth-promoting bacterium *Bacillus* sp. KTMA4 from tomato rhizosphere. *Microbial Pathogenesis*, *142*,

104049. <https://doi.org/10.1016/J.MICPATH.2020.104049>

Ke, J., Wang, B., & Yoshikuni, Y. (2021). Microbiome Engineering: Synthetic Biology of Plant-Associated Microbiomes in Sustainable Agriculture. *Trends in Biotechnology*, *39*(3), 244–

261. <https://doi.org/10.1016/J.TIBTECH.2020.07.008>

Kour, D., Rana, K. L., Kaur, T., Yadav, N., Halder, S. K., Yadav, A. N., Sachan, S. G., & Saxena, A. K. (2020). Potassium solubilizing and mobilizing microbes: Biodiversity, mechanisms of solubilization, and biotechnological implication for alleviations of abiotic stress. *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering: Trends of Microbial*

Biotechnology for Sustainable Agriculture and Biomedicine Systems: Diversity and Functional Perspectives, 177–202. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820526-6.00012-9>

Kozaki, A., & Aoyanagi, T. (2022). Molecular Aspects of Seed Development Controlled by Gibberellins and Abscisic Acids. *International Journal of Molecular Sciences* 2022, Vol. 23, Page 1876, 23(3), 1876. <https://doi.org/10.3390/IJMS23031876>

Kumawat, K. C., Sharma, P., Sirari, A., Singh, I., Gill, B. S., Singh, U., & Saharan, K. (2019). Synergism of *Pseudomonas aeruginosa* (LSE-2) nodule endophyte with *Bradyrhizobium* sp. (LSBR-3) for improving plant growth, nutrient acquisition and soil health in soybean. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 35(3), 1–17. <https://doi.org/10.1007/S11274-019-2622-0/METRICS>

Li, K. S., Zeghbroeck J, V., Liu, Q., & Zhang, S. (2021). Isolating and Characterizing Phosphorus Solubilizing Bacteria From Rhizospheres of Native Plants Grown in Calcareous Soils. *Frontiers in Environmental Science*, 9, 618. <https://doi.org/10.3389/FENVS.2021.802563/BIBTEX>

Liu, W., Wang, Q., Hou, J., Tu, C., Luo, Y., & Christie, P. (2016). Whole genome analysis of halotolerant and alkalotolerant plant growth-promoting rhizobacterium *Klebsiella* sp. D5A. *Scientific Reports*, 6. <https://doi.org/10.1038/SREP26710>

López-De Ávila, L. M., Castaño-Peláez, H. I., & Mejía-Gómez, C. E. (2019). EFECTO ANTIMICROBIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Salvia officinalis* L. SOBRE MICROORGANISMOS PÁTOGENOS TRANSMITIDOS POR ALIMENTOS. *Actualidades Biológicas*, 35(98), 77–83. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0304-35842013000100007&lng=en&nrm=iso&tlng=es

Lykogianni, M., Bempelou, E., Karamaouna, F., & Aliferis, K. A. (2021). Do pesticides promote or hinder sustainability in agriculture? The challenge of sustainable use of pesticides in modern agriculture. *Science of The Total Environment*, 795, 148625.

<https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2021.148625>

Mahanty, T., Bhattacharjee, S., Goswami, M., Bhattacharyya, P., Das, B., Ghosh, A., & Tribedi, P. (2016). Biofertilizers: a potential approach for sustainable agriculture development.

Environmental Science and Pollution Research 2016 24:4, 24(4), 3315–3335.

<https://doi.org/10.1007/S11356-016-8104-0>

Medison, R. G., Jiang, J., Medison, M. B., Tan, L. T., Kayange, C. D. M., Sun, Z., & Zhou, Y.

(2023). Evaluating the potential of *Bacillus licheniformis* YZCUO202005 isolated from lichens in maize growth promotion and biocontrol. *Heliyon*, 9(10), e20204.

<https://doi.org/10.1016/J.HELIYON.2023.E20204>

Ministerio de Agricultura y Ganadería. (2023). *Indice de Precios de Agroquimicos*.

http://sinagap.mag.gob.ec/sina/PaginasCGSIN/Rep_Precios_Insumos_Agropecuarios.aspx

Mordor Intelligence. (2025). Fertilizantes Análisis De Tamaño Y Participación Del Mercado: Tendencias De Crecimiento Y Previsiones Hasta 2030.

<https://www.mordorintelligence.ar/industry-reports/fertilizers-market>

Narayanan, Z., & Glick, B. R. (2022). Secondary Metabolites Produced by Plant Growth-Promoting Bacterial Endophytes. *Microorganisms*, 10(10).

<https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS10102008>

Ngalimat, M. S., Hata, E. M., Zulperi, D., Ismail, S. I., Ismail, M. R., Zainudin, N. A. I. M., Saidi, N. B., & Yusof, M. T. (2021). Plant Growth-Promoting Bacteria as an Emerging Tool to

Manage Bacterial Rice Pathogens. *Microorganisms*, 9(4).

<https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS9040682>

- Numan, M., Bashir, S., Khan, Y., Mumtaz, R., Shinwari, Z. K., Khan, A. L., Khan, A., & AL-Harrasi, A. (2018). Plant growth promoting bacteria as an alternative strategy for salt tolerance in plants: A review. *Microbiological Research*, 209, 21–32.
<https://doi.org/10.1016/J.MICRES.2018.02.003>
- Olaniyan, F. T., Alori, E. T., Adekiya, A. O., Ayorinde, B. B., Daramola, F. Y., Osemwegie, O. O., & Babalola, O. O. (2022). The use of soil microbial potassium solubilizers in potassium nutrient availability in soil and its dynamics. *Annals of Microbiology*, 72(1), 1–12.
<https://doi.org/10.1186/S13213-022-01701-8/FIGURES/3>
- Pang, F., Tao, A., Ayra-Pardo, C., Wang, T., Yu, Z., & Huang, S. (2022). Plant organ- and growth stage-diversity of endophytic bacteria with potential as biofertilisers isolated from wheat (*Triticum aestivum* L.). *BMC Plant Biology*, 22(1). <https://doi.org/10.1186/S12870-022-03615-8>
- Panichikkal, J., Puthiyattil, N., Raveendran, A., Nair, R. A., & Krishnankutty, R. E. (2021). Application of Encapsulated *Bacillus licheniformis* Supplemented with Chitosan Nanoparticles and Rice Starch for the Control of *Sclerotium rolfsii* in *Capsicum annuum* (L.) Seedlings. *Current Microbiology*, 78(3), 911–919. <https://doi.org/10.1007/S00284-021-02361-8/METRICS>
- Parmar, P., & Sindhu, S. S. (2013). Potassium Solubilization by Rhizosphere Bacteria: Influence of Nutritional and Environmental Conditions. *Journal of Microbiology Research*, 2013(1), 25–31. <https://doi.org/10.5923/j.microbiology.20130301.04>
- Pattnaik, S., Dash, D., Mohapatra, S., Pattnaik, M., Marandi, A. K., Das, S., & Samantaray, D. P. (2020). Improvement of rice plant productivity by native Cr(VI) reducing and plant growth promoting soil bacteria *Enterobacter cloacae*. *Chemosphere*, 240.
<https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2019.124895>

Pérez-Pérez, R., Oudot, M., Serrano, L., Hernández, I., Nápoles, M., Sosa, D., Pérez-Martínez, S., Pérez-Pérez, R., Oudot, M., Serrano, L., Hernández, I., Nápoles, M., Sosa, D., & Pérez-Martínez, S. (2019). Rhizospheric rhizobia identification in maize (*Zea mays* L.) plants. *Agronomía Colombiana*, *37*(3), 255–262.
<https://doi.org/10.15446/AGRON.COLOMB.V37N3.80189>

Pham, L. Van, & Smith, C. (2014). Drivers of agricultural sustainability in developing countries: A review. *Environment Systems and Decisions*, *34*(2), 326–341.
<https://doi.org/10.1007/S10669-014-9494-5/FIGURES/4>

Rady, M. S., Feleafel, M. N., Ghoneim, I. M., & Hassan, S. M. (2022). Response of Greenhouse Perennial Sweet Pepper Plants to Spraying with Silicate Levels Under Varying Nitrogen and Potassium Fertilizers Levels. *ALEXANDRIA SCIENCE EXCHANGE JOURNAL*, *43*(2), 251–259. <https://doi.org/10.21608/asejaiqjsae.2022.239466>

Raji, M., & Thangavelu, M. (2021). Isolation and screening of potassium solubilizing bacteria from saxicolous habitat and their impact on tomato growth in different soil types. *Archives of Microbiology*, *203*(6), 3147–3161. <https://doi.org/10.1007/S00203-021-02284-9>

Ramírez-Cariño, H. F., Morales, I., Guadarrama-Mendoza, P. C., González-Terreros, E., Martínez-Gutiérrez, G. A., Dunlap, C. A., & Valadez-Blanco, R. (2023). Biofertilizing effect of putative plant growth promoting rhizobacteria in vitro and in tomatillo seedlings (*Physalis ixocarpa* Brot.). *Scientia Horticulturae*, *308*, 111567.
<https://doi.org/10.1016/J.SCIENTA.2022.111567>

Rashid, S., Charles, T. C., & Glick, B. R. (2012). Isolation and characterization of new plant growth-promoting bacterial endophytes. *Applied Soil Ecology*, *61*, 217–224.
<https://doi.org/10.1016/J.APSOIL.2011.09.011>

- Rawat, P., Das, S., Shankhdhar, D., & Shankhdhar, S. C. (2020). Phosphate-Solubilizing Microorganisms: Mechanism and Their Role in Phosphate Solubilization and Uptake. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 2020 21:1, 21(1), 49–68.
<https://doi.org/10.1007/S42729-020-00342-7>
- Restrepo-Correa, S. P., Pineda-Meneses, E. C., & Ríos-Osorio, L. A. (2017). Mecanismos de acción de hongos y bacterias empleados como biofertilizantes en suelos agrícolas: Una revisión sistemática. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 18(2), 335–351.
https://doi.org/10.21930/rcta.vol18_num2_art:635
- Rios-Galicia, B., Villagómez-Garfias, C., De la Vega-Camarillo, E., Guerra-Camacho, J. E., Medina-Jaritz, N., Arteaga-Garibay, R. I., Villa-Tanaca, L., & Hernández-Rodríguez, C. (2021). The Mexican giant maize of Jala landrace harbour plant-growth-promoting rhizospheric and endophytic bacteria. *3 Biotech*, 11(10), 447. <https://doi.org/10.1007/S13205-021-02983-6>
- Santos, D. S., Pontes, P. V. M., Leite, A. M. D. O., Ferreira, A. L., Souza, M. De, Araujo, T. D. S. S., Santos, H. F. Dos, Oliveira, G. C. De, Bitencourt, J. A., Cavalcanti, A. B., Martins, R. L., & Esteves, F. D. A. (2023). Bioprospecting for *Isoetes cangae* Endophytes with Potential to Promote Plant Growth. *International Journal of Microbiology*, 2023.
<https://doi.org/10.1155/2023/5992113>
- Sarwar, M., Arshad, M., Martens, D. A., & Frankenberger, W. T. (1992). Tryptophan-dependent biosynthesis of auxins in soil. *Plant and Soil*, 147(2), 207–215.
<https://doi.org/10.1007/BF00029072/METRICS>
- Schwarz, K., Vilela-Resende, J. T., Pierozan-Junior, C., Paula, J. T., Baier, J. E., de Souza-Silva, M. L., Brendler-Oliveira, F., Schwarz, K., Vilela-Resende, J. T., Pierozan-Junior, C., Paula, J. T., Baier, J. E., de Souza-Silva, M. L., & Brendler-Oliveira, F. (2018). Yield and nutrition of greenhouse-grown strawberries (*Fragaria × ananassa* (Duchesne ex Weston) Duchesne ex

Rozier. cv. Camarosa) as affected by potassium fertilization. *Acta Agronómica*, 67(1), 114–119. <https://doi.org/10.15446/ACAG.V67N1.59553>

Shaikh, Y., & Jagtap, M. R. (2023). *Organic Acid and Solvent Production from Microbial Fermentation*. 267–296. https://doi.org/10.1007/978-981-99-1737-2_14

Singh, R. P., Pandey, D. M., Jha, P. N., & Ma, Y. (2022). ACC deaminase producing rhizobacterium *Enterobacter cloacae* ZNP-4 enhance abiotic stress tolerance in wheat plant. *PLoS ONE*, 17(5). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0267127>

Singh, P., Singh, R. K., Li, H. B., Guo, D. J., Sharma, A., Lakshmanan, P., Malviya, M. K., Song, X. P., Solanki, M. K., Verma, K. K., Yang, L. T., & Li, Y. R. (2021). Diazotrophic Bacteria *Pantoea dispersa* and *Enterobacter asburiae* Promote Sugarcane Growth by Inducing Nitrogen Uptake and Defense-Related Gene Expression. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2020.600417>

Snak, A., Vendruscolo, E. C. G., Dos Santos, M. F., Fiorini, A., & Mesa, D. (2021). Genome sequencing and analysis of plant growth-promoting attributes from *Leclercia adecarboxylata*. *Genetics and Molecular Biology*, 44(1), 1–10. <https://doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2020-0130>

Sukweenadhi, J., Theda, J. A., Artadana, I. B. M., & Kang, S. C. (2022). Isolation and in vitro Screening of Plant Growth Promoting Rhizospheric Bacteria from Corn (*Zea mays* var. *indentata*). *Applied Biochemistry and Microbiology*, 58(6), 806–812. <https://doi.org/10.1134/S000368382206014X/METRICS>

Swamy, C. T., Gayathri, D., Devaraja, T. N., Bandekar, M., D'Souza, S. E., Meena, R. M., & Ramaiah, N. (2016). Plant growth promoting potential and phylogenetic characteristics of a

lichenized nitrogen fixing bacterium, *Enterobacter cloacae*. *Journal of Basic Microbiology*, 56(12), 1369–1379. <https://doi.org/10.1002/JOBM.201600197>

Thudi, M., Palakurthi, R., Schnable, J. C., Chitikineni, A., Dreisigacker, S., Mace, E., Srivastava, R. K., Satyavathi, C. T., Odeny, D., Tiwari, V. K., Lam, H. M., Hong, Y. Bin, Singh, V. K., Li, G., Xu, Y., Chen, X., Kaila, S., Nguyen, H., Sivasankar, S., ... Varshney, R. K. (2021). Genomic resources in plant breeding for sustainable agriculture. *Journal of Plant Physiology*, 257, 153351. <https://doi.org/10.1016/J.JPLPH.2020.153351>

Tripathi, S., Yadav, S., Sharma, P., Purchase, D., Syed, A., & Chandra, R. (2022). Plant growth promoting strain *Bacillus cereus* (RCS-4 MZ520573.1) enhances phytoremediation potential of *Cynodon dactylon* L. in distillery sludge. *Environmental Research*, 208, 112709. <https://doi.org/10.1016/J.ENVRES.2022.112709>

United Nations. (2019). *Department of Economic and Social Affairs, Population Division World Population Prospects 2019: Highlights*, ed. by (ST/ESA/SER.A/423). https://population.un.org/wpp/Publications/Files/WPP2019_Highlights.pdf

Vejan, P., Abdullah, R., Khadiran, T., Ismail, S., & Nasrulhaq Boyce, A. (2016). Role of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Agricultural Sustainability—A Review. *Molecules*, 21(5). <https://doi.org/10.3390/MOLECULES21050573>

Verma, P., Yadav, A. N., Khannam, K. S., Panjiar, N., Kumar, S., Saxena, A. K., & Suman, A. (2015). Assessment of genetic diversity and plant growth promoting attributes of psychrotolerant bacteria allied with wheat (*Triticum aestivum*) from the northern hills zone of India. *Annals of Microbiology*, 65(4), 1885–1899. <https://doi.org/10.1007/S13213-014-1027-4/FIGURES/5>

- Vurukonda, S. S. K. P., Giovanardi, D., & Stefani, E. (2018). Plant Growth Promoting and Biocontrol Activity of *Streptomyces* spp. as Endophytes. *International Journal of Molecular Sciences* 2018, Vol. 19, Page 952, 19(4), 952. <https://doi.org/10.3390/IJMS19040952>
- Vurukonda, S. S. K. P., Mandrioli, M., D'apice, G., Stefani, E., Vurukonda, S. S. K. P., Mandrioli, M., D'apice, G., & Stefani, E. (2020). Draft Genome Sequence of Plant Growth-Promoting *Streptomyces* sp. Strain SA51, Isolated from Olive Trees. *Microbiology Resource Announcements* 2020, Vol. 9, Page: , 9(1). <https://doi.org/10.1128/MRA.00768-19>
- Wang, J., Li, R., Zhang, H., Wei, G., & Li, Z. (2020). Beneficial bacteria activate nutrients and promote wheat growth under conditions of reduced fertilizer application. *BMC Microbiology*, 20(1). <https://doi.org/10.1186/S12866-020-1708-Z>
- Yaghoubi Khanghahi, M., Pirdashti, H., Rahimian, H., Nematzadeh, G., & Ghajar Sepanlou, M. (2018). Potassium solubilising bacteria (KSB) isolated from rice paddy soil: from isolation, identification to K use efficiency. *Symbiosis*, 76(1), 13–23. <https://doi.org/10.1007/S13199-017-0533-0/TABLES/6>
- Yaghoubi Khanghahi, M., Strafella, S., Allegretta, I., & Crecchio, C. (2021). Isolation of Bacteria with Potential Plant-Promoting Traits and Optimization of Their Growth Conditions. *Current Microbiology*, 78(2), 464–478. <https://doi.org/10.1007/S00284-020-02303-W>
- Yousuf, J., Thajudeen, J., Rahiman, M., Krishnankutty, S., P. Alikunj, A., & Mohamed, M. H. (2017). Nitrogen fixing potential of various heterotrophic *Bacillus* strains from a tropical estuary and adjacent coastal regions. *Journal of Basic Microbiology*, 57(11), 922–932. <https://doi.org/10.1002/JOBM.201700072>
- Zandi, P., & Basu, S. K. (2016). *Role of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) as BioFertilizers in Stabilizing Agricultural Ecosystems*. 71–87. https://doi.org/10.1007/978-3-319-26803-3_3

Zheng, X., Aborisode, M. A., Wang, H., He, P., Lu, S., Cui, N., Wang, S., Zhang, H., Ding, H., & Liu, K. (2020). Effect of lignin and plant growth-promoting bacteria (*Staphylococcus pasteurii*) on microbe-plant Co-remediation: A PAHs-DDTs Co-contaminated agricultural greenhouse study. *Chemosphere*, 256.

<https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2020.127079>

Zhou, H., Ren, Z. H., Zu, X., Yu, X. Y., Zhu, H. J., Li, X. J., Zhong, J., & Liu, E. M. (2021).

Efficacy of Plant Growth-Promoting Bacteria *Bacillus cereus* YN917 for Biocontrol of Rice Blast. *Frontiers in Microbiology*, 12, 684888. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2021.68488>

Zamudio-González, B., Tadeo-Robledo, M., Espinoza-Calderón, A., Martínez-Rodríguez, J., Celis-Euan, D., & Valdivia-Bernal, R. (2018). Agronomic efficiency of soil fertilization of macro nutrients in corn hybrids. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 6(7), 1557–1569.

<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=263142146011>

Apéndices

Ilustración 9.

Curva de calibración del estándar de AIA

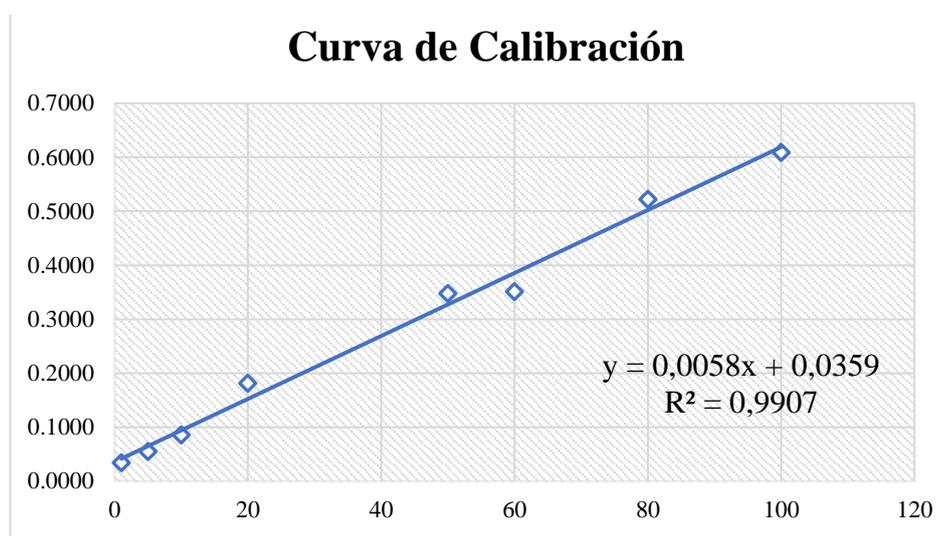


Ilustración 10.

Diseño experimental de maíz inoculado con bacterias NPK y sustrato inorgánico



Ilustración 116.

Levantamiento de datos, una vez terminado el tiempo del experimento



Ilustración 12.

Medición de la variable longitud radicular



Ilustración 13

Diagramas de cajas NPK realizo a partir de las mediciones de las raíces al finalizar el experimento

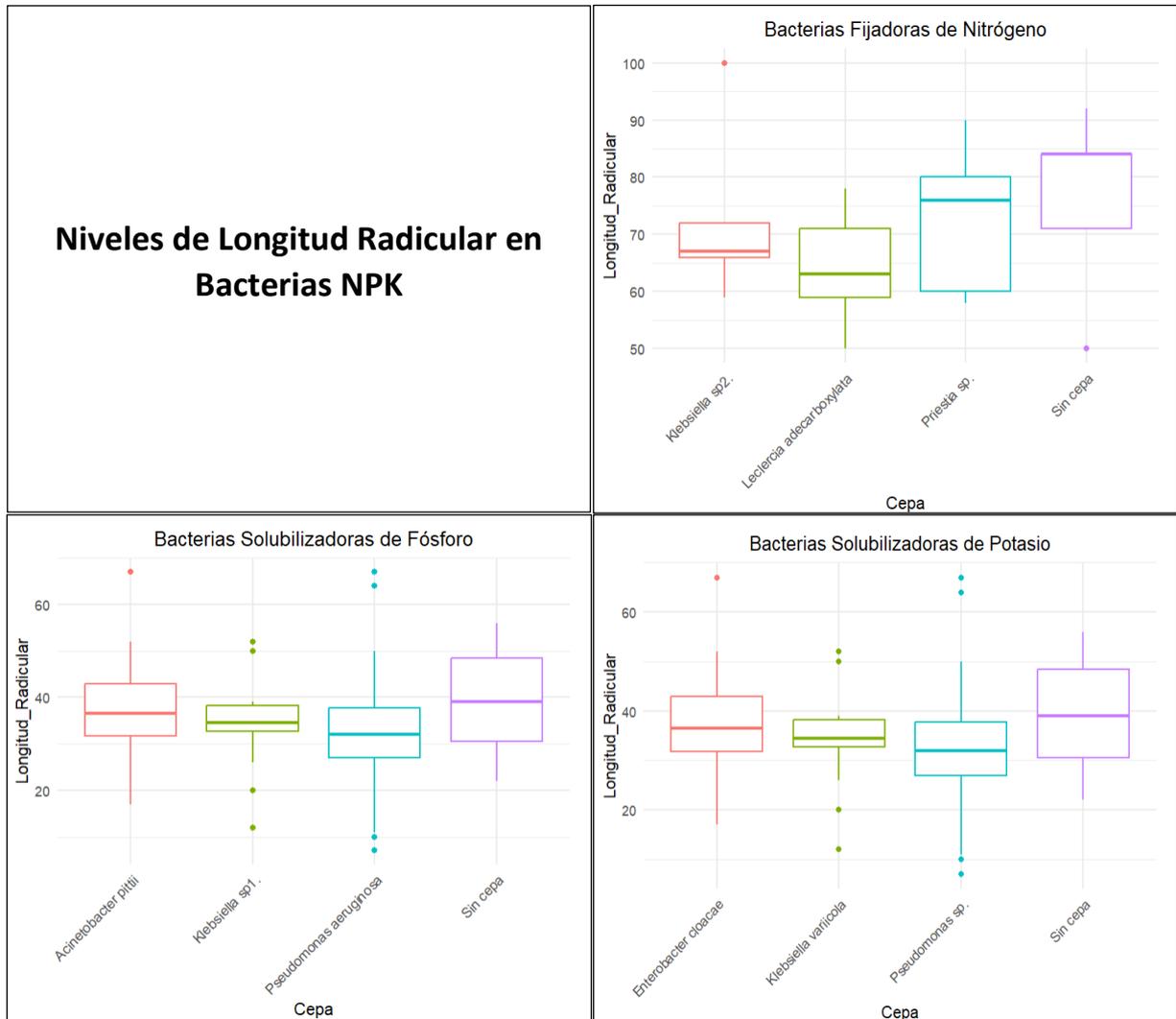


Ilustración 14

Diagrama de cajas sobre mediciones de peso húmedo de bacterias NPK en condiciones de invernadero

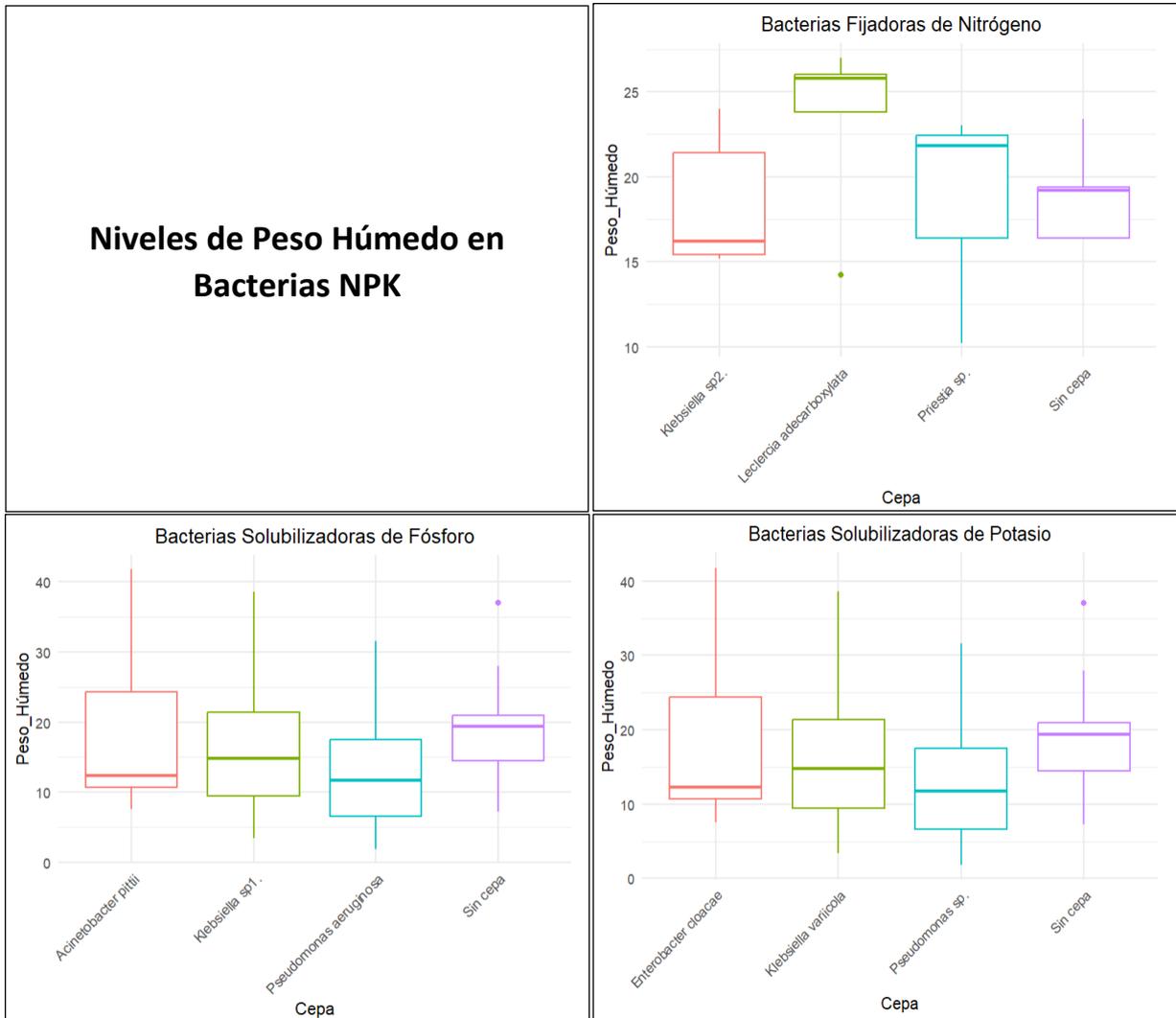


Tabla 121.

Tukey múltiple de comparación de medias de la variable longitud radicular con el factor cepas para el diseño experimental de BSP.

```
Tukey multiple comparisons of means
 95% family-wise confidence level

Fit: aov(formula = Long.Radicular ~ Cepa, data = df_Fos)

$Cepa
              diff          lwr          upr      p adj
Klebsiella sp1.-Acinetobacter pittii -2.30 -5.8904051  1.2904051 0.3511029
Pseudomonas aeruginosa-Acinetobacter pittii -4.95 -8.5404051 -1.3595949 0.0023330
Sin cepa-Acinetobacter pittii          1.85 -1.7404051  5.4404051 0.5455993
Pseudomonas aeruginosa-Klebsiella sp1.    -2.65 -6.2404051  0.9404051 0.2283851
Sin cepa-Klebsiella sp1.                  4.15  0.5595949  7.7404051 0.0159510
Sin cepa-Pseudomonas aeruginosa           6.80  3.2095949 10.3904051 0.0000082
```

Tabla 12.

Tukey múltiple de comparación de medias de la variable longitud radicular con el factor concentración para el diseño experimental del BSP.

```
Tukey multiple comparisons of means
 95% family-wise confidence level

Fit: aov(formula = Long.Radicular ~ Concentración, data = df_Fos)

$Concentración
              diff          lwr          upr      p adj
C1-C0 -3.4352941 -7.0374650  0.1668768 0.0679030
C2-C0  2.3500000 -1.0876004  5.7876004 0.2931263
C3-C0  0.6333333 -2.9087771  4.1754438 0.9675064
C2-C1  5.7852941  2.0052616  9.5653266 0.0005233
C3-C1  4.0686275  0.1933086  7.9439463 0.0353430
C3-C2 -1.7166667 -5.4395093  2.0061760 0.6345623
```

Tabla 143.

Tukey múltiple de comparación de medias de la variable longitud radicular con el factor cepas para el diseño experimental de BSK

```
Tukey multiple comparisons of means
95% family-wise confidence level

Fit: aov(formula = Long.Radicular ~ Cepa, data = df_Pot)

$Cepa
      diff      lwr      upr    p adj
Klebsiella variicola-Enterobacter cloacae -2.30 -5.8904051  1.2904051 0.3511029
Pseudomonas sp.-Enterobacter cloacae     -4.95 -8.5404051 -1.3595949 0.0023330
Sin cepa-Enterobacter cloacae              1.85 -1.7404051  5.4404051 0.5455993
Pseudomonas sp.-Klebsiella variicola     -2.65 -6.2404051  0.9404051 0.2283851
Sin cepa-Klebsiella variicola             4.15  0.5595949  7.7404051 0.0159510
Sin cepa-Pseudomonas sp.                  6.80  3.2095949 10.3904051 0.0000082
```

Tabla 14.

Tukey múltiple de comparación de medias de la variable longitud radicular con el factor concentración para el diseño experimental de BSK.

```
Tukey multiple comparisons of means
95% family-wise confidence level

Fit: aov(formula = Long.Radicular ~ Concentración, data = df_Pot)

$Concentración
      diff      lwr      upr    p adj
C1-C0 -3.850000 -7.6414063 -0.05859369 0.0449906
C2-C0  3.941667  0.5192744  7.36405894 0.0164774
C3-C0  1.750000 -1.8245722  5.32457215 0.5878795
C2-C1  7.791667  4.1433842 11.43994909 0.0000003
C3-C1  5.600000  1.8085937  9.39140631 0.0009007
C3-C2 -2.191667 -5.6140589  1.23072561 0.3513939
```