

UNIVERSIDAD DE PANAMÁ
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y TECNOLOGÍA
ESCUELA DE BIOLOGÍA

CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL DE MICROORGANISMOS DE MONTAÑA
(BIOLES) Y SUS EFECTOS EN LOS RENDIMIENTOS DEL CULTIVO DE CULANTRO
(*Eryngium foetidum* L.)

ELABORADO POR:
LISBETH LOURDES RODRÍGUEZ

TESIS PRESENTADA COMO UNO DE LOS REQUISITOS PARA OPTAR AL GRADO
DE LICENCIADO EN BIOLOGÍA CON ORIENTACIÓN EN BIOLOGÍA AMBIENTAL

REPÚBLICA DE PANAMÁ
2022

HOJA DE APROBACIÓN

Caracterización Funcional de microorganismos de montaña (bioles) y sus efectos en los rendimientos del cultivo de culantro (*Eryngium foetidum L.*)

TESIS

Sometida para optar al título de Licenciado en Biología con Orientación en Biología Ambiental

Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y Tecnología

APROBADO POR:

Dr. Rito Herrera
Presidente

Dr. Enrique Medianero
Miembro

Mgtr. Martha de Von Chong
Miembro

REFRENDADO POR:

Fecha: _____

COMITÉ ASESOR

PROFESOR: Dr. RITO HERRERA

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y TECNOLOGÍA
ESCUELA DE BIOLOGÍA.

DEPARTAMENTO DE GENÉTICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR.

PROFESOR: Dr. ENRIQUE MEDIANERO

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y TECNOLOGÍA
ESCUELA DE BIOLOGÍA.

DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA AMBIENTAL.

PROFESORA: Mgrt. MARTA CHAVES de VON CHONG

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y TECNOLOGÍA
ESCUELA DE BIOLOGÍA.

DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA

DEDICATORIA

A mi abuelo Félix Rodríguez Sánchez, quien siempre me inspiró y motivó a seguir estudiando.
Gracias por su legado, te amo eternamente.

AGRADECIMIENTOS

A mi familia, especialmente a mis padres: Lisbeth E. Rodríguez M. y Everardo De León por todo los esfuerzos realizados y el apoyo brindado en cada etapa de mi vida; a mi mellizo Miguel Rodríguez por acompañarme siempre; a mis abuelos Félix Rodríguez y Jilma Medina por sus buenos consejos y enseñanzas; a mi tía Lourdes Rodríguez por su motivación y apoyo; a mi prima hermana Gabriela González y a mi sobrina Antonella Rodríguez por inspirarme a dar lo mejor de mí.

Al Instituto de Innovación Agropecuaria de Panamá por brindar sus instalaciones para el desarrollo de esta investigación.

A mi asesor de tesis, Dr. Rito Herrera por compartirme sus conocimientos y brindarme su tiempo y apoyo durante la realización de este trabajo; a la Mgtr. Betzaida Bernal por ser mi guía en cada uno de los procedimientos realizados en el laboratorio; a los Ingenieros José Causadías y Octavio De la Cruz por sus recomendaciones.

A mis coasesores de tesis, Dr. Enrique Medianero y Mgtr. Martha de Von Chong por su colaboración al desarrollo de esta investigación.

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTOS.....	ii
ÍNDICE GENERAL.....	iii
ÍNDICE DE CUADROS.....	v
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vi
ÍNDICE DE ANEXOS.....	viii
LISTA DE ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS.....	ix
RESUMEN.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I.....	5
REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
1.1. Antecedentes generales.....	6
1.2. Culantro coyote (<i>Eryngium foetidum</i> L.).....	7
1.2.1. Generalidades del culantro.....	7
1.2.2. Taxonomía.....	8
1.2.3. Requerimientos del cultivo.....	8
1.3. Bioinoculantes: Biol.....	9
1.4. Microorganismos benéficos.....	10
1.4.1. Sideróforos.....	11
1.4.2. Bacterias solubilizadoras de fosfato.....	13
1.4.3. Bacterias productoras de AIA.....	15
1.4.4. Bacterias fijadoras de nitrógeno.....	16
CAPÍTULO II.....	18
METODOLOGÍA.....	18
2.1. Sitio de estudio.....	19
2.2. Trabajo en Campo.....	20
2.2.1. Preparación del biol de MM.....	20
2.2.3. Diseño del ensayo.....	21
2.3. Trabajo de Laboratorio.....	23
2.3.1. Aislamiento microbiano.....	23

2.3.2. Caracterización de microorganismos	24
2.3.2.1. Producción de sideróforos:	24
2.3.2.1.1. Preparación del medio sólido cromoazurol S	24
2.3.2.1.2. Preparación de los medios de cultivo específicos.....	25
2.3.2.1.3. Medición de la reacción CAS	25
2.3.2.2. Solubilización de fosfatos:.....	26
2.3.2.2.1. Análisis cualitativo	26
2.3.2.3. Determinación de la concentración de AIA	27
2.3.2.3.1. Curva patrón de AIA.....	27
2.3.2.3.2. Estimación cuantitativa.....	27
2.3.2.3.4. Determinación de fijación no simbiótica de nitrógeno.....	28
2.3.2.3.4.1. Elaboración de Pre-Cultivo.....	28
2.3.2.3.4.2. Elaboración de curva de crecimiento.....	28
2.3.3. Análisis físico químico del suelo	29
2.4. Análisis estadístico	29
CAPÍTULO III	30
RESULTADOS	31
3.1. Aislamiento microbiano.....	31
3.1.2. Morfología celular.....	31
3.2. Caracterización de microorganismos.....	34
3.2.1. Producción de sideróforos.....	34
3.2.2. Solubilización de fosfatos	35
3.2.3. Producción de ácido indolacético.....	36
3.3.3.1. Fijación no simbiótica de nitrógeno.....	38
3.3. Análisis fisicoquímico del suelo	39
3.4. Análisis estadístico	40
CAPÍTULO IV	46
DISCUSIÓN.....	47
CONCLUSIÓN	52
RECOMENDACIONES	53
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54
ANEXOS	78

ÍNDICE DE CUADROS

Tabla 1. Clasificación taxonómica de la especie	8
Tabla 2. Componentes utilizados para la elaboración del biol de (MM).....	20
Tabla 3. Descripción de tratamientos	22
Tabla 4. Soluciones para la curva patrón.....	27
Tabla 5. Carga microbiana presente en el biol de MM.....	31
Tabla 6. Características morfológicas de las cepas aisladas.....	31
Tabla 7. Producción de sideróforos	34
Tabla 8. Índice de solubilización (PSI) de las cepas	36
Tabla 9. Producción de AIA	37
Tabla 10. Resultados de análisis	39
Tabla 11. Análisis de normalidad y homogeneidad de varianza-Rendimiento	40
Tabla 12. Análisis de normalidad y homogeneidad de varianza- Clorofila	40
Tabla 13. Resumen de ajuste-datos de rendimiento	43
Tabla 14. Resumen de ajuste-datos de clorofila	44
Tabla 15. Análisis de varianza para el total de pesos obtenidos.....	44
Tabla 16. Análisis de varianza para el total de clorofila	44
Tabla 17. Datos de la curva de calibración AIA.....	80
Tabla 18. Medición de la reacción CAS.....	85

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de ubicación del sitio de estudio. (Google Earth, 2022).....	19
Figura 2. Esquema de la preparación del biol de microorganismos de montaña.	21
Figura 3. Diseño del ensayo: bloques completos al azar.....	22
Figura 4. Esquema utilizado para la dilución seriada del biol. Fuente: Hernández <i>et al.</i> , 2016	23
Figura 5. Halos de solubilización de fosfato a los 7d. Medio PVK	36
Figura 6. Curva de crecimiento de las cepas 7,15, 30, 32 y 34.	38
Figura 7. Rendimiento de los tratamientos y control (T6)	41
Figura 8. Rendimiento del Tratamiento 5 vs Control T6	42
Figura 9. Concentración de clorofila de los tratamientos.....	42
Figura 10. Concentración de clorofila del Tratamiento 4 vs Control T6	43
Figura 11. Curva de calibración AIA	80
Figura 12. Tinción de Gram de las cepas 1-9.....	81
Figura 13. Tinción de Gram de las cepas 10-18.....	82
Figura 14. Tinción de Gram de las cepas 19-27.....	83
Figura 15. Tinción de Gram de las cepas 28-34.....	84
Figura 16. Reacción CAS de las cepas 1-3	86
Figura 17. Reacción CAS de las cepas 4-6	86
Figura 18. Reacción CAS de las cepas 7-9	87
Figura 19. Reacción CAS de las cepas 10-12	87
Figura 20. Reacción CAS de las cepas 13-15	88
Figura 21. Reacción CAS de las cepas 16-18	88

Figura 22. Reacción CAS de las cepas 19-21	89
Figura 23. Reacción CAS de las cepas 22-24	89
Figura 24. Reacción CAS de las cepas 25-2	90
Figura 25. Reacción CAS de las cepas 28-30	90
Figura 26. Reacción CAS de las cepas	91
Figura 27. Reacción CAS de la cepa 34	91
Figura 28. Producción de AIA en 6 días de crecimiento.....	92
Figura 29. Rendimiento total en 3 fechas de cosecha diferentes.....	93
Figura 30. Rendimiento de los tratamientos y control (T6) en 3 fechas de cosecha diferentes	93
Figura 31. Concentración de clorofila total en 3 fechas de cosecha diferentes.....	94
Figura 32. Concentración de clorofila de los tratamientos en 3 fechas de cosecha diferentes.	94
Figura 33. Sitio de estudio.....	95
Figura 34. Parcela de culantro (<i>Eryngium foetidum L.</i>)	95

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Medios de cultivo	79
Anexo 2. Reactivo de Salkowski.....	79
Anexo 3. Curva de calibración	80
Anexo 4. Morfología celular de las cepas	81
Anexo 5. Estimación cualitativa de la producción de Sideróforos.....	85
Anexo 6. Síntesis de AIA.....	92
Anexo 7. Análisis estadístico	93
Anexo 8. Cosecha de culantro.....	95

LISTA DE ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS

- AEDES: Asociación Especializada para el Desarrollo Sostenible
- AIA: Ácido Indolacético
- AlPO_4 : Fosfato de aluminio
- ANOVA: Análisis de la Varianza
- Ar: Absorbancia de referencia
- As: Absorbancia de la muestra
- BPCV: Bacterias promotoras del crecimiento vegetal
- BSF: Bacterias Solubilizadoras de Fosfato
- Ca: Calcio
- Ca_3PO_4 : Fosfato tricálcico
- CAS: Cromoazurol S
- CEDESAM: Centro de Desarrollo Sostenible Ambiental
- Cu: Cobre
- EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético
- FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
- FBN: Fijación biológica de nitrógeno
- Fe: Hierro
- $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$: Tricloruro de hierro hexahidratado
- FePO_4 : fosfato de hierro
- g: Gramos

- HClO₄: Ácido perclórico
- HCN: Cianuro de hidrógeno
- HDTMA: Bromuro de hexadeciltrimetilamonio
- ICA: Instituto Colombiano Agropecuario
- IDIAP: Instituto de Innovación Agropecuaria de Panamá
- K: Potasio
- kg: kilogramo
- L: Litro
- MAG: Ministerio de Agricultura y Ganadería
- meq/100g: milequivalentes por 100 gramos de suelo
- Mg: Magnesio
- mg: Miligramo
- MIDA: Ministerio de Desarrollo Agropecuario
- mL: Mililitro
- MM: Microorganismos de Montaña
- mm: Milímetro
- Mn: Manganeseo
- msnm: Metros sobre el nivel del mar
- N: Nitrógeno
- N₂: Nitrógeno atmosférico
- NaOH: Hidróxido de sodio
- NH₄: Amonio
- nm: nanómetro

- OMS: Organización Mundial de la Salud
- P: Fósforo
- ppm: Partes por millón
- PSI: Índice de solubilización de fosfato
- psu: Unidad porcentual de sideróforo
- PVK: Pikovskaya
- rpm: Revolución por minuto
- TSA: Agar Tripticasa Soja
- UFC: Unidad Formadora de Colonias

RESUMEN

Los objetivos de esta tesis fueron caracterizar funcionalmente los microorganismos presentes en un biol obtenido a partir de suelos de montaña, evaluar los rendimientos de este en el cultivo de culantro coyote (*Eryngium foetidum L.*) y determinar la dosis óptima de dicho biofertilizante. El trabajo de campo se realizó en la comunidad de Bajo Bonito, ubicada en Capira. El diseño experimental fue de bloques completos al azar, con 6 tratamientos (dosis de biol) y 4 bloques. Se evaluó: el nivel de clorofila y el rendimiento en kg/tratamiento. El análisis de varianza concluyó que el tratamiento 5 (100 mL biol/17.90 L agua) fue el más eficiente para la fertilización del culantro. En cuanto a los microorganismos estudiados se lograron aislar 34 cepas, resultando ser eficientes para la promoción del crecimiento vegetal, destacando entre todos los grupos las productoras de sideróforos. El suelo de estudio al no ser tratado con agroquímicos mantiene su estructura y función, por lo que resultó ser apto para la producción agrícola. La aplicación del biol se presenta como una nueva alternativa sostenible para el ambiente y los pequeños-medianos agricultores que buscan mejorar el rendimiento de sus cosechas y dar un producto de mayor calidad a los consumidores.

Palabras claves: biol, culantro, promotores de crecimiento vegetal.

ABSTRACT

The objectives of this thesis were to functionally characterize the microorganisms present in a biol obtained from mountain soils, evaluate the yields of this in the cultivation of culantro coyote (*Eryngium foetidum L.*) and determine the optimal dose of said biofertilizer. The fieldwork was conducted in the community of Bajo Bonito, located in Capira. The experimental design was randomized complete blocks, with six treatments (biol dose) and 4 blocks. The level of chlorophyll and the yield in kg/treatment were evaluated. The analysis of variance concluded that treatment 5 (100 mL biol/17.90 L water) was the most efficient for fertilization of culantro. As for the microorganisms studied, thirty-four strains were isolated, proving to be efficient for the promotion of plant growth, highlighting among all groups the producers of siderophores. The study soil, not being treated with agrochemicals, maintains its structure and function, so it turned out to be suitable for agricultural production. The application of biol is presented as a new sustainable alternative for the environment and small-medium farmers who seek to improve the yield of their crops and give a higher quality product to consumers.

Key words: biol, culantro, Plant growth promoters.

INTRODUCCIÓN

La caracterización microbiológica ha permitido la identificación y aplicación de microorganismos benéficos a cultivos de interés agrícola tanto a nivel experimental como comercial (Molina-Romero *et al.*, 2015; Morales-García *et al.*, 2010). El efecto positivo de los microorganismos depende de la capacidad de estos para fijar nitrógeno, solubilizar fósforo, producir sideróforos y fitohormonas (Rodríguez-Chávez, 2022).

Recientemente se ha hecho notorio el éxito de la bioinoculación de microorganismos para promover el crecimiento vegetal y el control biológico de patógenos (Vessey, 2003). Los abonos orgánicos tienen la capacidad de aportar nutrientes y microorganismos al suelo, lo que favorece la fertilidad de este recurso y la nutrición de las plantas (Eghball *et al.*, 2004). El biol es un fertilizante orgánico rico en microorganismos y nutrientes (Álvarez-Solís *et al.*, 2010; Siura y Davila, 2008).

El culantro coyote (*Eryngium foetidum L.*) es una planta aromática originaria de la región amazónica y Centroamérica, logra adaptarse a altas temperaturas, humedad relativa y precipitaciones, por lo que requiere suelos poco ácidos y con buena disponibilidad de agua (Villachica, 1996). En la comunidad de Bajo Bonito ubicada en Capira, Panamá Oeste, existen familias que se dedican al cultivo del culantro coyote (*Eryngium foetidum L.*) en condiciones orgánicas (libre de agroquímicos), ya que como fertilizante se utiliza un biol casero a base de microorganismos de montaña (MM), el cual es preparado por los agricultores del área. Estas buenas prácticas agrícolas han contribuido al desarrollo sostenible de la comunidad, pues al no utilizar fertilizantes sintéticos se reducen costos de producción y se evita el impacto ambiental negativo causado por estos.

La principal característica de este biol es que dentro de sus ingredientes destacan los microorganismos de montaña, los cuales están constituidos por colonias de hongos, bacterias y levaduras benéficas que se encuentran de manera natural en los bosques, en donde se genera la descomposición de materia orgánica, que posteriormente será transformada en nutrientes necesarios para el desarrollo de las plantas. Además, tienen la capacidad de suprimir o controlar microorganismos que causan enfermedades en los cultivos (Suchini-Ramírez, 2012).

En la actualidad los métodos utilizados para el control de plagas podrían afectar el rendimiento de la producción, un ejemplo de esto es el uso de los plaguicidas y fertilizantes químicos (Salazar y Aldana, 2011). Entre las principales consecuencias del uso indiscriminado de fertilizantes químicos y minerales se encuentra la eutrofización, esto se origina por el enriquecimiento de nutrientes, principalmente nitrógeno y fósforo, lo que ocasiona grandes impactos ecológicos, sanitarios y económicos (Girão *et al.*, 2007; Stefouli *et al.*, 2005). De igual manera se contamina el suelo, se reduce la biodiversidad, aumentan los riesgos de salinización, disminuyen considerablemente las reservas energéticas del suelo y se contaminan las aguas superficiales y subterráneas (Dierksmeier, 2007).

Se ha establecido que sólo un 0.1 por ciento de la cantidad de plaguicidas aplicados llega efectivamente a la plaga, mientras que el restante termina circulando en el ambiente, contaminando suelo, agua y biota (Carvalho *et al.*, 1998). El uso masivo de fertilizantes químicos como: nitrato amónico y urea producen modificaciones indeseables en los suelos agrícolas (Dorronsoroy García, 2004; Seoáñez, 1999). Adicional a esto, presentan precios bastante elevados, lo que no es sostenible para los pequeños y medianos agricultores, quienes en ocasiones se ven obligados a detener sus cosechas.

El efecto de estos contaminantes en el ambiente va desde pequeñas alteraciones hasta grandes daños ecológicos, con consecuencias en mamíferos, aves y peces, así como en la salud humana (Pimentel y Greiner, 1997). Se han presentado costos ambientales y sociales asociados al uso de plaguicidas (Pimentel y Lehman, 1993). De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), entre 500,000 y 1 millón de personas se intoxican con plaguicidas químicos anualmente y entre 5,000 y 20,000 pierden la vida. Siendo en su mayoría los trabajadores agrícolas, el resto son envenenamientos por consumir alimentos contaminados. La mortalidad alcanza 220 mil muertes al año (Eddleston *et al.*, 2002; OMS, 1990).

El ingreso de agroquímicos en el suelo afecta a los microorganismos presentes y su actividad, por consiguiente, ocasionan modificaciones en los procesos biológicos que son necesarios para la productividad y fertilidad de los cultivos (Alvear *et al.*, 2006; Cycon *et al.*, 2010). Los impactos generados en el ambiente acuático son complejos y variados, ya que abarcan diferentes tipos de ecosistemas, incluyendo: corrientes de aguas, ríos, lagos, aguas marinas del océano, costas marinas y estuarios (Rand, 1995). También se presenta el hecho de que algunos agricultores frecuentemente lavan los contenedores y otros envases que utilizan para la aplicación de los plaguicidas en los lagos, ríos y presas cercanas provocando así la alteración de la calidad del agua (Creswell, 2002). La problemática de la contaminación agropecuaria en Panamá data desde 1960, con el incremento marcado del uso de plaguicidas que resultó de la revolución verde en toda América Latina y el Caribe (Espinoza y Barba, 2014). Con esto surgió la interrogante: ¿Qué tipo de microorganismos de montaña se encuentran en este biol y cuál es su función en la fertilización del cultivo de culantro coyote (*Eryngium foetidum L.*)?

Para este trabajo se planteó la hipótesis de que los bioles a base de microorganismos de montaña mejoran significativamente la producción del cultivo de culantro coyote. (*Eryngium foetidum* L.)

El objetivo principal de esta investigación fue caracterizar funcionalmente los microorganismos presentes en un biol obtenido a partir de suelos de montaña. En cuanto los objetivos específicos están: Determinar la dosis óptima del biol de microorganismos de montaña y cuantificar los rendimientos del biol utilizado como fertilizante en el cultivo del culantro coyote. (*Eryngium foetidum* L.).

CAPÍTULO I
REVISIÓN DE LITERATURA

1.1. Antecedentes generales

La agricultura es una práctica condicionada por factores como: el clima, la demanda de alimentos, los suministros y la competencia. Actualmente se prioriza la ganancia por encima de la necesidad social (FAO, 2005), lo que en consecuencia genera grandes alteraciones ambientales al ecosistema, especialmente en zonas que carecen de asesoramiento técnico (Castillo *et al.*, 2020). Por esto es necesario evaluar alternativas de fertilización que sean sostenibles con el ambiente y los agricultores (Muñoz y Lucero, 2008).

Los fertilizantes orgánicos contribuyen a optimizar el crecimiento y desarrollo de los cultivos (Albuquerque *et al.*, 2010; Koller *et al.*, 2014; Myint, *et al.*, 2010). También están relacionados al mejoramiento de los suelos (Bertsch, 2003; Meléndez, 2003; Vandevivere y Ramírez, 1995).

Las comunidades microbianas en los suelos se consideran vitales para asegurar la sostenibilidad de los ecosistemas (Barrios, 2007; Chaparro *et al.*, 2012; Eisenhauer *et al.*, 2010; Mendes *et al.*, 2011; Van der Heijden *et al.*, 2008; Young y Crawford, 2004). Estos cumplen funciones tales como: el ciclaje de nutrientes, el mantenimiento de la estructura del suelo y la regulación de las poblaciones biológicas (Castro *et al.*, 2009; Singh *et al.*, 2011, Kibblewhite *et al.*, 2015).

El biol es un producto rico en humus y con una baja carga de patógenos. Otro de los beneficios que justifica el uso de estos bioles a base de microorganismos de montañas, es que el costo de los fertilizantes agrícolas ha aumentado su precio con el pasar de los años, situación que ha encarecido notablemente los costos de producción en la actividad agrícola. El uso de estos abonos orgánicos reduce considerablemente el uso de fertilizantes sintéticos (Suchini-Ramírez, 2012).

La sobrepoblación ha incrementado la demanda de alimentos, por lo que agricultores se han visto en la necesidad de buscar métodos de maximización (Salazar y Aldana, 2011). La

fertilización de cultivos es una herramienta que permite aumentar la productividad y sustentabilidad de los agroecosistemas (Cassman *et al.*, 2002). Sin embargo, la aplicación de fertilizantes minerales y pesticidas de manera indiscriminada e irresponsable ha acarreado consecuencias en diferentes organismos y sus poblaciones (Badii *et al.*, 2005; Garcés, 2000). Debido a esto se han implementado medidas para reducir el impacto ambiental causado por los agroquímicos, una de estas es el uso de bioles elaborados mediante la fermentación aeróbica de residuos animales, vegetales y minerales (Chávez *et al.*, 2011). Este tipo de biofertilizante foliar es líquido y se puede aplicar en suelos (Galindo *et al.*, 2007; Russoa, 2001; Ubalua, 2007).

En cuanto al uso de abonos orgánicos en Panamá (Ramos *et al.*, 2014), reporta que la aplicación de bokashi elaborado a partir de residuos agrícolas de la producción de plátano, resultó ser un abono adecuado con un buen contenido nutricional. Mientras que (Polo, 2021) indicó que un abono orgánico elaborado con gallinaza (75%), cerdaza (20%) y material vegetal (5%), (hojas secas y raíces) tuvo un efecto significativo sobre el contenido nutricional de la materia. En nuestro país el empleo de bioles se da de manera artesanal, por lo que no se presenta bibliografía asociada que indique el efecto de estos fertilizantes en los cultivos.

1.2. Culantro coyote (*Eryngium foetidum* L.)

1.2.1. Generalidades del culantro

Es una hierba tropical, perenne y anual. Su longitud es de 20 a 60 cm, presenta hojas caulinares y basales bajas, segmentos dentados, incisos dentados o lobados, las hojas superiores con segmentos estrechamente lineales. El tallo es más o menos erecto o simpodial, con una serie de brotes, su crecimiento apical termina en una inflorescencia, que es una umbela compuesta. Las flores contienen 5 pétalos de color rosa pálido o blanco. Los frutos son ovalados y globulares

(diaquenios) con un diámetro superior a los 6 mm. (Standley y Williams, 1969; Stevens *et al.*, 2001).

1.2.2. Taxonomía

Tabla 1. *Clasificación taxonómica de la especie*

Reino	<i>Plantae</i>
División	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	<i>Magnoliopsida</i>
Orden	<i>Apiales</i>
Familia	<i>Apiaceae</i>
Género	<i>Eryngium</i>
Especie	<i>E. foetidum L.</i>

Nota. Fuente: Stevens *et al.*, 2001.

1.2.3. Requerimientos del cultivo

Las semillas deben sembrarse en suelos húmedos con buen drenaje, pH de 6 a 7,8. Para el cultivo se necesita riego o lluvia constante para mantener las condiciones iniciales. La primera cosecha se obtiene alrededor de los 90 días de sembrado, mientras que el resto de los ciclos se dan cada 50 días posterior a la corta anterior, alcanzando en este tiempo un crecimiento y desarrollo adecuado (MAG, 2014; Ramcharan, 1999.)

Actualmente, es un cultivo de gran importancia internacional, cultivado en Puerto Rico, República Dominicana, Cuba, islas de las Antillas, América Central, México, Brasil, Tailandia, Vietnam, Bangladesh y la India (Morales *et al.*, 2013). En el mercado nacional el culantro mantiene precios que oscilan entre 4.30 balboas durante la temporada lluviosa, y 12.27 en la

época seca. Este precio es marcado en sacos que contienen 12 mazos de culantro. (Rodríguez, 2004). En los últimos años pequeños productores han visto como opción sostenible la incorporación de prácticas agrícolas alternativas, como lo es la agricultura orgánica (MIDA, 2015).

1.3. Bioinoculantes: Biol

Los bioinoculantes o inoculantes biológicos son productos elaborados a base de microorganismos benéficos que se aplican al suelo con el fin de sustituir parcial o totalmente la fertilización química y mantener así la productividad agrícola (Adesemoye y Kloepper, 2009; Plenchette *et al.*, 2005; Sharma *et al.*, 2012). De igual manera pueden ser utilizados en semillas, ya que promueven el crecimiento vegetal o favorece el aprovechamiento de los nutrientes en asociación con la planta y/o su rizosfera (Bojórquez *et al.*, 2010; ICA, 2006). Estos contribuyen positivamente a la fertilidad del suelo, lo que resulta en un aumento en el rendimiento del cultivo sin causar ningún riesgo ambiental, de contaminación del agua o del suelo (Umesha *et al.*, 2014). Un inoculante debe cumplir con adecuada concentración bacteriana, es decir un inóculo no menor a 1×10^5 UFC/mL y especificidad para estimular el crecimiento vegetal (Bashan *et al.*, 1996; ICA, 2006).

El biol es un fertilizante orgánico líquido, formado por organismos vivos o en estado de latencia que liberan metabolitos que se componen de proteínas, enzimas, antibióticos, vitaminas, toxinas, fenoles, esteroides y ácidos, inclusive de acción fitohormona por lo que, puede prevenir y controlar enfermedades provocadas por patógenos del suelo (Barros, 2006; Fortis *et al.*, 2009). Actúa como estimulante orgánico, producto de la descomposición anaeróbica de los desechos orgánicos (Colque *et al.*, 2005). Se presentan diversas funciones según el tipo de biol, el foliar

en específico nutre directamente a la planta y tiene mayor ventaja, ya que acelera el crecimiento e incrementa los rendimientos de los cultivos (AEDES, 2006).

El desarrollo de nuevos métodos para la fertilización de cultivos y tratamiento de plagas estimula la modernización de la agricultura e implica la disminución en el uso de los agroquímicos convencionales, esto es ideal en campos agrícolas libres de contaminación (Leng *et al.*, 2011).

El biol es una alternativa para optimizar la producción y proteger las tierras, buscando así la eficiencia en cada recurso utilizado (Salcedo y Astudillo, 2018). Los microorganismos del suelo logran ser elementos fundamentales en producciones agrícolas sostenibles, ya sea introducido por inoculación o mejorado por prácticas de manejo, se ha demostrado que las rizobacterias promotoras del crecimiento de las plantas aumentan los rendimientos y la tolerancia al estrés sin comprometer la calidad ambiental (Prassana *et al.*, 2016; Roychowdhury, 2017; Schmidt y Gaudin, 2018).

1.4. Microorganismos benéficos

Los microorganismos benéficos cumplen funciones que favorecen el crecimiento, la nutrición o la salud de las plantas con quienes interaccionan o bien proporcionan un beneficio directo al ambiente (Morales-García *et al.*, 2013). En el suelo encontramos una gran cantidad de estos, los cuales son importantes en la solubilización de minerales y nutrientes. En la agricultura presentan una gran cantidad de beneficios como es la descomposición de residuos orgánicos, la detoxificación de plaguicidas, el control de enfermedades en las plantas, la producción de compuestos bioactivos como vitaminas y hormonas que estimulan el crecimiento de las plantas (Loredo *et al.*, 2004). Dentro de esto encontramos las bacterias promotoras de crecimiento vegetal (BPCV) las cuales se caracterizan por su capacidad de estimular el crecimiento de las plantas, ya sea directa o indirectamente, estas pueden ser de vida libre o asociativas, aerobias,

anaerobias o anaerobias facultativas (Aguado-Santacruz, *et al.*, 2012; Parray, *et al.*, 2016; Rodríguez, 1995). La estimulación directa incluye la fijación de nitrógeno (Sessitsch *et al.*, 2002), producción de fitohormonas (Perrine *et al.*, 2004; García de Salamone *et al.*, 2001), solubilización de fosfatos (Rodríguez y Fraga, 1999) y secreción de sideróforos (Carson *et al.*, 2000; Madigan y Martinko, 2005). La estimulación indirecta incluye una variedad de mecanismos de biocontrol que son ampliamente reconocidos como la competencia por nicho ecológico o sustratos y la producción de antibióticos (Hassan *et al.*, 1997; Essalmani y Lahlou, 2003). (Nava-Pérez *et al.*, 2012). Eliminan de forma natural a los fitopatógenos mediante la producción de metabolitos secundarios que son excretados localmente o cerca de la superficie de la planta (Bloemberg y Lugtenberg, 2001) (Velasco-Jiménez *et al.*, 2020)

1.4.1. Sideróforos

El hierro (Fe) es un elemento esencial para las plantas, participa en procesos tan importantes como la fotosíntesis, la respiración y la nutrición de nitrógeno (Marschner, 1995). Con relación a la nutrición férrica, se sabe que la aplicación de algunos microorganismos al suelo puede mejorar el contenido de (Fe) de las plantas (de Santiago *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2009) y que la homeostasis del hierro en las plantas está estrechamente relacionada con las respuestas defensivas frente al ataque de patógenos (Aznar *et al.*, 2015). Los microorganismos están en íntimo contacto con el medio ambiente, por lo tanto, se ven afectados por los cambios que ocurran en este. En condiciones normales, el hierro es escaso debido a su rápida oxidación y la consiguiente formación de hidróxidos insolubles. Por lo que las bacterias han tenido que desarrollar mecanismos eficientes de captación de hierro con el fin de garantizar un suministro suficiente. Estas pueden sintetizar, excretar y finalmente reabsorber quelantes de hierro denominados sideróforos (Crowel *et al.*, 1991)

Los sideróforos son moléculas de bajo peso molecular de 0.5 a 1.0 kDa, solubles en soluciones acuosas a pH neutro (Dybas *et al.*, 1995). Limitan el crecimiento de microorganismos fitopatógenos (Dowling *et al.*, 1996; O'Sullivan y O'Gara, 1992). Cuando microorganismos aerobios o anaerobios facultativos crecen en ambientes con baja disponibilidad de hierro sintetizan los sideróforos, quelantes específicos de (Fe^{3+}) (Saraf *et al.*, 2014). Son producidos por varios microorganismos y son clasificados en cuatro clases principales: carboxilatos, hidroxamatos, catecolatos y tipo mixto. Según sus características estructurales, grupos funcionales y tipos de ligandos (Ali y Vidhale, 2013; Aznar y Dellagi, 2015; Kumar *et al.*, 2017; Miethke y Marahiel, 2007).

Los complejos que forman los sideróforos con el hierro en el suelo son asimilados eficientemente por los microorganismos que lo producen (Aguado-Santacruz *et al.*, 2012; Winkelmann, 1991). Se ha demostrado que la concentración de este complejo es en ocasiones lo suficientemente alta para beneficiar la nutrición de las plantas (Crowley *et al.*, 1987). La capacidad de los sideróforos para actuar como supresores de patógenos depende de la planta, del fitopatógeno a controlar, la composición del suelo, la bacteria y la afinidad del sideróforo por el hierro (Dellagi *et al.*, 2009; Glick, 1995). Aunque su función principal es adquirir hierro de hidróxidos insolubles o de hierro adsorbido a las superficies sólidas, también pueden extraer (Fe) de compuestos como: citrato férrico, fosfato férrico, Fe-transferrina, ferritina o hierro unido a azúcares, pigmentos de flavonas vegetales y glucósidos o quelantes artificiales como el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) y nitrilotriacetato por reacciones de intercambio de Fe (III)/ligando. Por lo que son necesarios como portadores que median el intercambio entre reservas de hierro celular y los localizados en la membrana (Winkelmann, 2002).

Según (Ecker, 1988; Huschka *et al.*, 1986; Stintzi *et al.*, 2000) la eficiencia de los sideróforos se basa:

- (1) Los sideróforos contienen los más eficientes tipos de ligandos que se unen al hierro en la naturaleza.
- (2) La regulación de biosíntesis de sideróforos es un medio económico de utilizar energía metabólica, ya que permite la producción de altas concentraciones locales de sideróforos en las células microbianas durante limitaciones de hierro.
- (3) Mediante su capacidad para solubilizar el hierro y funcionar como portadores de hierro externo, los sideróforos exhiben especificidades estructurales y conformacionales para encajar en la membrana como receptores y/o transportadores.

1.4.2. Bacterias solubilizadoras de fosfato

El fósforo (P) es después del nitrógeno, el elemento más importante para el crecimiento de las plantas y la producción de cultivos. De igual manera es uno de los nutrientes que más limita las prácticas agrícolas en los trópicos, ya que juega un papel importante en el crecimiento y reparación de células y tejidos (Gordón *et al.*, 2015; Tanwar y Shaktawat, 2003; Rubio, 2002). A menudo en los suelos agrícolas se encuentran grandes reservas de fósforo insoluble, esto debido a la fijación de los fertilizantes fosforados aplicados, por lo que el nutriente no puede ser asimilado por las plantas. Generalmente la movilidad y concentración del fósforo en los suelos es muy baja si se compara con la de otros nutrientes; se presentan coeficientes de difusión del fosfato en el suelo de $0,3-3,3 \times 10^{-13} \text{ m}^2/\text{s}$ y su concentración en la solución del suelo es de 0,02 ppm, por lo que es indispensable la aplicación de fertilizantes fosforados a los suelos con el objetivo de suplir la alta demanda de este nutriente por parte de las plantas; sin embargo, el

exceso de fosfatos incrementa los riesgos de eutrofización en cuerpos de agua. Además, cerca de 90% de esos insumos se precipitan como formas insolubles: fosfato tricálcico ($\text{Ca}_3 \text{PO}_4$) en suelos alcalinos, y fosfato de hierro (FePO_4) o fosfato de aluminio (AlPO_4) en suelos ácidos (Achal *et al.*, 2007; Banerjee *et al.*, 2010), los cuales no son asimilable por las plantas, lo que favorece su acumulación. Ciertos microorganismos del suelo tienen la capacidad de convertir fosfatos insolubles en solubles, a través del proceso de acidificación, quelación y producción de ácidos orgánicos como el acético ácido glucónico, ácido glicólico, ácido malónico, isobutírico, isovalérico y ácido láctico, etc. (Chaiharn y Lumyong, 2011). Además de solubilizar los fosfatos del suelo presentan otras actividades de promoción de crecimiento vegetal como la producción de AIA, ácido giberélico, cianuro de hidrógeno (HCN), citoquininas, etileno, fijación asimbiótica de N y resistencia a organismos patógenos del suelo (Beltrán, 2014).

Los microorganismos solubilizadores de fosfato pueden desempeñar un papel fundamental y práctico en la mejora de la reserva de P del suelo sin perturbar negativamente la microflora del suelo y los procesos mediados por ellos (Satyaprakash *et al.*, 2017). La inoculación con Bacterias Solubilizadoras de Fosfato (BSF) aumenta la disponibilidad de P en la rizosfera y su absorción por la planta (Faria, *et al.*, 2013). La respuesta de los cultivos a la fertilización fosfatada depende del nivel de P disponible en el suelo, pero también es afectada por factores del suelo, del cultivo y del manejo del fertilizante. Entre los factores del suelo, se destacan la textura, la temperatura, el contenido de materia orgánica y el pH; mientras que entre los del cultivo deben mencionarse los requerimientos y el nivel de rendimiento (García, 2001). Al utilizar esas reservas de fosfato presentes en los suelos, se disminuye la aplicación de fertilizantes químicos (Satyaprakash *et al.*, 2017). El fósforo está estrechamente relacionado a

los procesos de acumulación y liberación de energía durante el metabolismo celular, es necesario para el desarrollo de microorganismos y plantas (Taurian *et al.*, 2010).

1.4.3. Bacterias productoras de AIA

El ácido indolacético (AIA) es una auxina producida por plantas, hongos y bacterias, se considera promotora del crecimiento vegetal, por lo que es utilizada en la agricultura (Ozidal *et al.*, 2017). En términos cuantitativos es la auxina de mayor importancia, ya que es una de las fitohormonas fisiológicamente más activas en el crecimiento de las plantas. Es responsable de incrementar tanto el sistema radicular como la absorción de elementos nutritivos (Chandra, *et al.*, 2018; Grageda-Cabrera *et al.*, 2012). De igual manera incrementa la biomasa, altura de los tallos, el crecimiento del vástago principal y reduce el crecimiento de ramas laterales (Koshiba, 1993). Es sintetizado por bacterias que están adheridas a la superficie de la semilla, o a la raíz de una planta en vías de desarrollo, es tomado por la planta y junto con el AIA endógeno de la misma puede estimular la división y alargamiento de la célula (Arshad y Frankenberger, 1998).

Algunos microorganismos del suelo tienen la capacidad de producir esta fitohormona, la interacción de estos con las plantas puede ser benéfica, donde el AIA se comporta como molécula señal recíproca en la interacción entre planta y microorganismo manteniendo la relación simbiótica desarrollada entre plantas hospederas y sus microorganismos aliados (Bal *et al.*, 2012; Malhotra y Srivastava 2009). La eficacia de esta fitohormona natural se ha comprobado en diversos estudios, en los que se ha demostrado que su aplicación produce un aumento en los rendimientos y la calidad de las cosechas (Frankenberger y Arshad, 1995).

1.4.4. Bacterias fijadoras de nitrógeno

El nitrógeno (N) es clave en la estructura de los ácidos nucleicos y proteínas, por lo que es un factor esencial para el crecimiento. A pesar de constituir el 78 % de la atmósfera, el gas dinitrógeno no es directamente accesible a las plantas y por lo tanto requiere ser convertido a una forma soluble para su absorción (Lam *et al.*, 1996; Santi *et al.*, 2013). Es de los elementos más importantes para el buen desarrollo de los cultivos. En el ambiente es aportado al suelo por fertilización química, fenómenos naturales y fijado biológicamente, siendo este último el mecanismo más importante (Estrada *et al.*, 2009). La fijación biológica de nitrógeno (FBN) es la conversión de nitrógeno atmosférico (N_2) a amonio (NH_4), compuesto químico asimilable por plantas que se limita a procariontes que presentan un complejo enzimático de nitrogenasa, el cual consta de dos proteínas: dinitrogenasa y dinitrogenasa reductasa (Acuña *et al.*, 2010; Annan *et al.*, 2012). Esta es una opción importante para la recuperación de la fertilidad del suelo, ya que la aplicación de fertilizantes químicos es un procedimiento costoso y contaminante (Zahran, 1999). La fijación de nitrógeno atmosférico es un proceso indispensable para el desarrollo de la planta, es considerado como uno de los fertilizantes más importantes en una plantación, ya que, es primordial en la formación de estructuras moleculares como aminoazúcares, aminoácidos, entre otros (Franco, 2008). El nitrógeno molecular, debido a su triple enlace, es una molécula que solo es aprovechada por un pequeño grupo de microorganismos altamente especializados, estos utilizan el N_2 como compuesto esencial para su crecimiento y desarrollo, otorgando adicionalmente a la planta el nitrógeno necesario y esta, a su vez, le proporciona una fuente de carbono disponible en los exudados de la raíz (Agüero, 2009).

Los microorganismos que llevan a cabo la FBN son un grupo limitado de bacterias simbióticas y de vida libre denominadas diazótrofes (Bano e Iqbal, 2016). La fijación simbiótica se lleva a

cabo en asociación de plantas leguminosas y bacterias fijadoras de nitrógeno, llamadas rizobios. estas colonizan y forman nódulos en las raíces de las plantas donde el nitrógeno gaseoso se reduce a amonio (Hernández, 1998; Perdomo y Barbazán., 1992; Zuberer, 1998). Mientras que la no simbiótica se encuentra asociada a las partículas del suelo, se da mediante la interacción de las raíces de las plantas al encontrarse los gránulos de suelo adheridos en la rizosfera, donde son capaces de ejercer un conjunto de interacciones producto de la competencia por nutrientes. Una de las principales razones para esa interacción es la liberación de compuestos orgánicos solubles por exudación de la raíz de la planta (Benizri *et al.*, 2001; Bacilio-Jiménez *et al.*, 2003). Las bacterias rizosféricas de vida libre fijan N a través del proceso conocido como "fijación asociativa de nitrógeno" (Kucho *et al.*, 2010). Pueden ser aerobias, anaerobias obligadas o facultativas y fotosintéticas (Mayz, 2004). Las bacterias diazotróficas asociativas contribuyen al crecimiento vegetal no solo por la fijación de nitrógeno sino también por la producción de fitohormonas, solubilización de fosfatos y antagonismo a fitopatógenos (Altamirano *et al.*, 2014).

CAPÍTULO II
METODOLOGÍA

La investigación se desarrolló con la necesidad de generar información sobre el uso de bioles como alternativa sostenible en la fertilización de cultivos de interés comercial. El estudio se limitó a la provincia de Panamá Oeste (República de Panamá), centrándose en el cultivo de culantro coyote (*Eryngium foetidum L.*) en la comunidad de Bajo Bonito, Distrito de Capira.

2.1. Sitio de estudio

El estudio de campo se realizó en la finca del productor colaborador Silvano en la comunidad de Bajo Bonito, ubicada en el corregimiento de El Cacao, Distrito de Capira, provincia de Panamá Oeste, a una altitud de 600 msnm en las coordenadas geográficas latitud $8^{\circ}43'30.0''\text{N}$ y longitud $80^{\circ}03'21.6''\text{W}$. (Figura 1) Se encuentra en la zona de vida bosque húmedo tropical (Holdridge, 1987), con una temperatura promedio de 24°C , precipitación media anual de 2,500 mm.

Ubicación del sitio de muestreo Provincia de Panamá Oeste

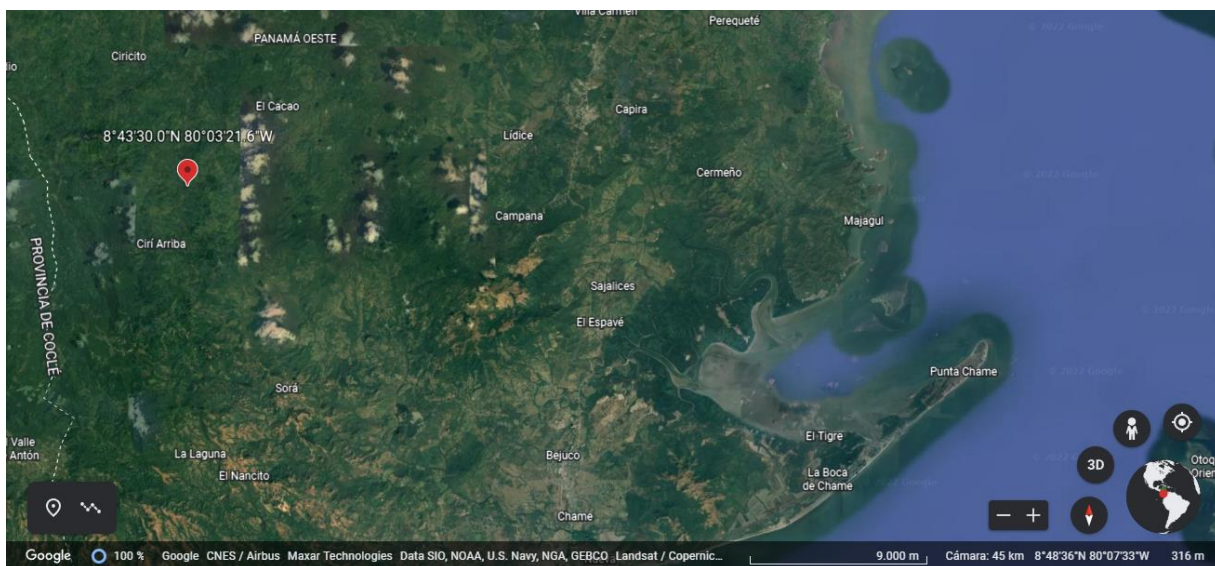


Figura 1. Mapa de ubicación del sitio de estudio. (Google Earth, 2022).

2.2. Trabajo en Campo

2.2.1. Preparación del biol de MM

Anterior a la siembra se preparó el biol de Microorganismos de Montaña utilizando los siguientes insumos (Tabla 2).

Tabla 2. *Componentes utilizados para la elaboración del biol de (MM)*

Materiales	Cantidad
MM sólido	12 kg
Melaza	4 L
Agua	180 L

Para el biol se agregaron los 12 kg de suelo de montaña a un saco y se amarraron, posteriormente se sumergió el mismo en 180 litros de agua junto con los 4 litros de melaza. Se introdujo este saco en un tanque con capacidad de 200 litros y se procedió a tapar con una tela para evitar el ingreso de insectos, luego de esto se colocó el recipiente en un lugar fresco a temperatura ambiente durante 15 días (Figura 2). Esta fue la “solución madre” de donde se obtuvieron los Microorganismos de Montaña (MM) líquidos en condición aeróbica. Esto fue realizado por los productores de la comunidad en conjunto con los técnicos del Ministerio de Ambiente

(CEDESAM). La siembra de la semilla fue realizada manualmente según cantidad utilizada regularmente por los productores.

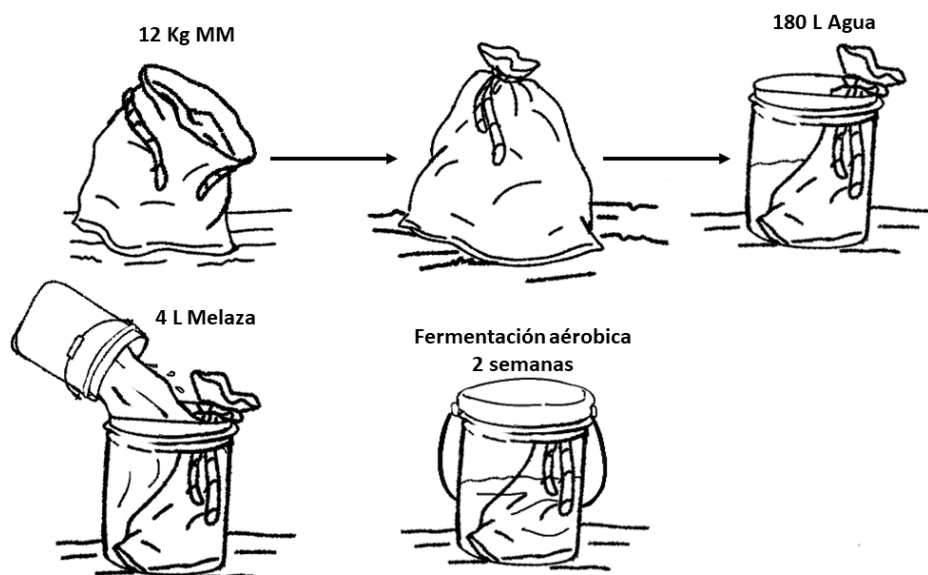


Figura 2. Esquema de la preparación del biol de microorganismos de montaña.

2.2.3. Diseño del ensayo

El área total del ensayo fue de 161 m². Se utilizó el diseño de Bloques Completos al Azar con 4 repeticiones y 6 tratamientos. Las unidades experimentales son de 3x1 metros separados por pasillos de 1 metro (Figura 3). En donde: suponemos que el número de unidades experimentales para cada bloque coincide con el número de tratamientos (Tabla 3), esto es, hay una observación para cada cruce de los niveles del factor y del bloque. La variable respuesta Y puede depender de un primer factor de interés A y de la variable bloque B.

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + B_j + \epsilon_{ijk}$$

Donde: Y_{ijk} = observación; μ = efecto medio; T_i = efecto del i -ésimo tratamiento; B_j = el efecto incremental sobre la media causado por el nivel j del bloque B ϵ_{ijk} = error experimental.



Figura 3. Diseño del ensayo: bloques completos al azar.

Tabla 3. Descripción de tratamientos

Tratamiento	Dosis del biol (mL)/ en agua (L)
1	1000 / 17
2	750 / 17.25
3	500 / 17.50
4	250/17.75
5	100 /17.90
6	18 litros de agua (Testigo absoluto)

2.3. Trabajo de Laboratorio

El análisis del biol de microorganismos de montaña fue realizado en el Laboratorio de Microbiología Agrícola del Instituto de Innovación Agropecuaria de Panamá (IDIAP) entre los meses de febrero y septiembre de 2022. La muestra utilizada fue tomada el 17 de febrero del presente año.

2.3.1. Aislamiento microbiano

Con la finalidad de medir la carga microbiana presente en el biol de microorganismos de montaña, se realizaron diluciones seriadas en agua destilada, siguiendo la metodología de (Hernández *et al.*, 2016) estas iban de 10^{-1} a 10^{-6} (Figura 4). Posteriormente se extendieron 100 μl de cada dilución en platos Petri de 20 mL, con sus correspondientes réplicas. Los medios de cultivo seleccionados para este ensayo fueron: el agar tripticasa soya (TSA) (Anexo 1) por ser un medio nutritivo general con variedad de usos y el medio Ashby (Anexo 1), este es libre de nitrógeno y se emplea para el aislamiento de microorganismos con capacidad de fijar nitrógeno atmosférico (Salazar y Ordóñez, 2013). La incubación se hizo a 28°C durante 48-72 horas y se procedió al conteo de las colonias presentes.

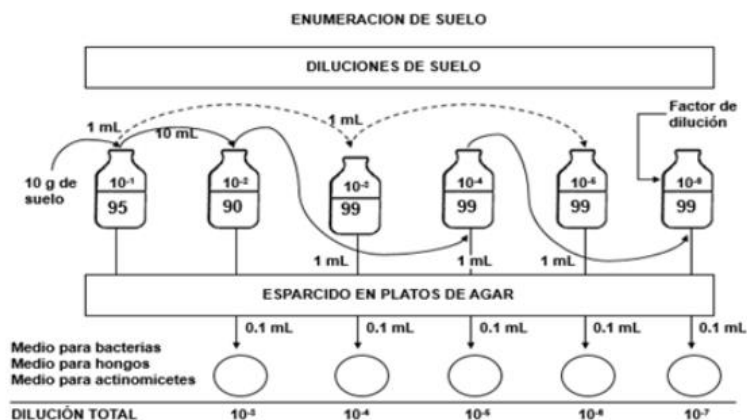


Figura 4. Esquema utilizado para la dilución seriada del biol. Fuente: Hernández *et al.*, 2016

Para el aislamiento de las colonias se realizaron resiembras sucesivas por el método de estría cruzada en platos Petri de 10 mL y se incubaron en las mismas condiciones iniciales. En la colección de cepas se emplearon tubos de ensayo (7.5 x 1.5 cm) con tapa rosca, a cada uno se le agregó 5 mL de los medios seleccionados en plano inclinado. Se realizó la siembra por el método de estría, se incubaron por 7 días a 28°C, posteriormente se almacenaron a 4°C. Para determinar la morfología celular se utilizó el método de Gram modificado por (Hucker y Conn, 1923). Los resultados fueron examinados en el (Microscopio: Zeiss®).

2.3.2. Caracterización de microorganismos

2.3.2.1. Producción de sideróforos:

Este ensayo se basa en una competencia por el hierro entre el complejo férrico de un colorante indicador, cromoazurol S (CAS), y un quelante o sideróforo producido por microorganismos (Milagres *et al.*, 1999).

2.3.2.1.1. Preparación del medio sólido cromoazurol S

Siguiendo la metodología de (Schwyn y Neilands, 1987) para la primera solución, se disolvieron 60.5 mg de CAS agar en 50 mL de agua destilada, a esta mezcla se le agregó 10 mL de una solución de Hierro formada por 1 mm de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 10 mm HCl y se procedió a agitar. En otro frasco, se diluyeron 72.9 mg de HDTMA en 40 mL de agua. Se mezclaron ambas soluciones y se pasó a la autoclave a 121°C por 20 minutos.

Para la segunda solución, en 900 mL de agua, se mezclaron 15 g de agar, 30.24 g de Pipes y 12 g de una solución al 50% (peso/peso) de NaOH hasta alcanzar un pH de 6.8. Esto se llevó a la autoclave a 121°C por 20 minutos. Luego se mezclaron ambas soluciones y se almacenaron a 4°C hasta el momento de su uso (Shin *et al.*, 2001)

2.3.2.1.2. Preparación de los medios de cultivo específicos

Se preparó medio TSA y fue servido en platos Petri de 10 mL, luego se procedió a cortar en dos mitades y se retiró una de ellas. El espacio vacío se reemplazó por el Agar Cromoazurol S preparado previamente. A la mitad con el medio de cultivo específico, se le inoculó las cepas teniendo en cuenta de no sobrepasar el borde que divide ambos medios. Se incubaron los platos a temperatura ambiente y se situaron en un lugar oscuro por 2 semanas.

2.3.2.1.3. Medición de la reacción CAS

Para el análisis cualitativo se observó el crecimiento de las cepas y se verificó la reacción CAS mediante el avance en el cambio de color del agar Cromoazurol S, iniciando a partir de la línea borde entre los dos medios. Se tomaron mediciones al 5^{to}, 10^{mo} y 15^{vo} día. La estimación cuantitativa del sideróforo se realizó tomando el sobrenadante de cultivos bacterianos cultivados en medio TSA (Hu y Xu, 2011). Se tomaron tres repeticiones por para cada cepa (Arora y Verma, 2017). Después de la incubación a 28°C durante 48 horas, los cultivos bacterianos se centrifugaron a 10.000 rpm durante 10 minutos, para ello se tomó 1 mL de caldo y se colocó en un tubo de centrífuga de 1.5 mL (uno para cada cultivo bacteriano) se desecharon los sedimentos celulares y el sobrenadante se utilizó para estimar el sideróforo. El flotante (0.5 mL) de cada cultivo bacteriano se mezcló con 0.5 mL reactivo CAS y después de 20 minutos se tomó la densidad óptica a 630 nm (Espectrofotómetro: Thermo Scientific, Evolution®). El sideróforo producido por las cepas se midió en unidad porcentual de sideróforo (psu) que se calculó de acuerdo con la siguiente fórmula (Payne, 1993):

Producción de sideróforos:

$$\frac{(A_r - A_s) \times 100}{A_s}$$

Ar

donde Ar = absorbancia de referencia (solución CAS y sin inocular caldo), y As = absorbancia de la muestra (CAS solución y sobrenadante libre de células de la muestra).

2.3.2.2. Solubilización de fosfatos:

Esta prueba se realiza con la finalidad de encontrar microorganismos solubilizadores de fosfato, los cuales son reconocidos por ser promotores del crecimiento vegetal (Eleonora y Pineda, 2014). Se utilizó el medio de cultivo agar Pikovskaya (PVK) (Cisneros y Sánchez de P., 2015).

2.3.2.2.1. Análisis cualitativo

Los aislados bacterianos se examinaron por su solubilización de fosfato tricálcico en placas PKV. Los aislamientos se inocularon puntualmente en el centro de la placa asépticamente. Todas las placas se incubaron $28^{\circ} \text{C} \pm 2 \text{C}$ durante 7 días (Edi-Premono *et al.*, 1996). Transcurrido este tiempo se midió el índice de solubilización de fosfato en aquellos que presentaron una zona clara alrededor de un collado en crecimiento. Con estos resultados se calculó el índice de solubilización de fosfato (PSI): relación del diámetro total (colonia + zona de halo) a la colonia diámetro.

$$\text{PSI} = \frac{\text{Diámetro de la colonia} + \text{Diámetro de la zona de halo}}{\text{Diámetro de la colonia}}$$

Diámetro de la colonia

2.3.2.3. Determinación de la concentración de AIA

Esta prueba se realiza con el objetivo de encontrar cepas eficientes en la producción de la fitohormona (Lara *et al.*, 2011).

2.3.2.3.1. Curva patrón de AIA

La curva patrón se realizó a partir de diferentes concentraciones de ácido indol acético (Sigma®). Para esto se seleccionaron patrones de: 0, 1, 5, 10, 15, 20, 30, 40, y 60 µg/mL (Tabla 4). A cada uno de estos se le adicionó 2 mL del reactivo de Salkowski (anexo 2) y se determinó la absorbancia a 530 nm (Anexo 3). Se utilizó agua destilada como blanco sin adición del reactivo, las lecturas se hicieron por triplicado. Se construyó una gráfica de Absorbancia (530 nm) vs. Concentración (Anexo 3).

Tabla 4. Soluciones para la curva patrón

Soluciones patrón (µg/mL)	AIA en metanol µL	Agua destilada µL
0	0	1000
1	10	990
5	50	950
10	100	900
15	150	850
20	200	800
30	300	700
40	400	600
60	600	400

2.3.2.3.2. Estimación cuantitativa

Siguiendo la metodología de (Ozidal *et al.*, 2017; Mantilla, 2007). Luego de haber seleccionado los aislados a estudiar, se preparó un pre-cultivo bacteriano en medio TSA, se colocó en un rotador a 150 rpm por 24 horas. Una vez transcurrido las 24 horas de crecimiento, se llevó cada cepa a una concentración conocida de 1×10^6 UFC/mL, en 20 mL de medio TSA (conteniendo

0.1 gramo/Litro de L-triptófano). Luego se incubaron los matraces en la oscuridad a 150 rpm, por 144 horas.

Después del periodo de incubación, se procedió a tomar 1,3 mL de cada solución bacteriana y se colocó en tubos marca (Eppendorf®) de 1,5 mL para su centrifugación a 12,000 rpm por 5 minutos. Se retiró 1 mL del sobrenadante y se mezcló con 2 mL del reactivo de Salkowski. Se agitó por inversión e incubó por 30 minutos a temperatura ambiente y en oscuridad. Transcurridos los 30 minutos, se tomó la lectura en el espectrofotómetro a 530 nm. La cantidad de AIA cuantificada se comparó con una curva estándar de AIA preparada previamente (Figura 11). Las lecturas se realizaron a las 24, 48, 72, 96, 120 y 144 horas. A partir de los datos de absorbancia y la ecuación de la recta de la curva de calibración, se determinó la concentración de AIA producida (Mantilla, 2007)

2.3.2.3.4. Determinación de fijación no simbiótica de nitrógeno

2.3.2.3.4.1. Elaboración de Pre-Cultivo

A partir de un cultivo bacteriano en medio sólido (TSA) se realizó un pre-cultivo de las bacterias seleccionadas en medio Ashby y TSA líquido. Con asa bacteriológica estéril, se tomó una pequeña porción y se inoculó en los matraces con 25 mL de medio líquido.

2.3.2.3.4.2. Elaboración de curva de crecimiento

A partir del pre-cultivo, se estableció el cultivo bacteriano con una concentración inicial de 0.1 células por millón. Seguidamente, se monitoreo el crecimiento bacteriano por un periodo de 9 horas, haciendo mediciones cada 30 minutos a 540 nm. Con los datos obtenidos, se realizó la curva de crecimiento.

2.3.3. Análisis físico químico del suelo

En campo se tomó la muestra de suelo correspondiente para el análisis fisicoquímico, este fue realizado en el Laboratorio de Nutrición y Suelos de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Panamá.

2.4. Análisis estadístico

Los datos fueron analizados por análisis de varianza (ANOVA), diferencias de medias, regresión.

Variables:

Respuesta: Peso de la cosecha

Ambientales: Nivel de clorofila

CAPÍTULO III

RESULTADOS

3.1. Aislamiento microbiano

Luego de realizar las diluciones seriadas y esperar las 48-72 horas de incubación, se procedió al conteo de unidades formadoras de colonia presente en los medios seleccionados (Tabla 5). Con esto se realizó el aislamiento de las bacterias, obteniendo así un total de 25 cepas aisladas en TSA y 9 en Ashby.

Tabla 5. *Carga microbiana presente en el biol de MM*

Factor de dilución	UFC	
	TSA	Ashby
10 ⁻²	Incontable	Incontable
10 ⁻³	24	Incontable
10 ⁻⁴	4	14
10 ⁻⁵	0	8
10 ⁻⁶	47	2
10 ⁻⁷	10	6

3.1.2. Morfología celular

Para determinar la morfología celular se hicieron placas de cada aislamiento y se aplicó la técnica de Gram modificado por (Hucker y Conn, 1923). En la (Tabla 6) se muestran los resultados obtenidos y en el (anexo 4) las imágenes de cada cepa.

Tabla 6. *Características morfológicas de las cepas aisladas*

Cepa	Medio de aislamiento	Tinción de Gram	Características
1	TSA	Bacilos Gram +	Colonias cremosas. amarillentas
2	TSA	Bacilos Gram +	Colonias cremosas. amarillas

3	TSA	Cocos Gram +	Colonias transparentes con tonos amarillos y consistencia cremosa.
4	TSA	Bacilos Gram +	Colonias blanquecinas cremosas.
5	TSA	Bacilos Gram -	Colonias amarillas cremosas.
6	TSA	Bacilos Gram -	Colonias transparentes con tonos amarillos y consistencia cremosa.
7	TSA	Bacilos Gram +	Colonias transparentes con tonos amarillos y consistencia cremosa.
8	TSA	Bacilos Gram +	Colonias chocolates cremosa.
9	TSA	Bacilos Gram -	Colonias transparentes con tonos amarillos y consistencia cremosa.
10	TSA	Bacilos Gram +	Colonias cremas con tonos amarillos y consistencia cremosa.
11	TSA	Cocos Gram -	Colonias transparentes con tonos amarillos y consistencia cremosa.
12	TSA	Bacilos Gram +	Colonias amarillas oscuras cremosas.
13	TSA	Cocos Gram -	Colonias chocolatosas cremosas.
14	TSA	Cocos Gram -	Colonias chocolate claro de consistencia cremosa.
15	TSA	Bacilos Gram -	Colonias chocolates de consistencia cremosa
16	TSA	Bacilos Gram +	Colonias amarillas cremosas.

17	TSA	Bacilos Gram +	Colonias blanquecinas de consistencia cremosa.
18	TSA	Bacilos Gram +	Colonias chocolates cremosas.
19	TSA	Bacilos Gram -	Colonias amarillo-oscuros de consistencia cremosa.
20	TSA	Bacilos Gram +	Colonias blancas de consistencia grumosa.
21	TSA	Bacilos Gram -	Colonias transparentes con tonos amarillos y consistencia cremosa.
22	TSA	Bacilos Gram +	Colonias blanquecinas de consistencia cremosa.
23	TSA	Bacilos Gram +	Colonias de color amarillo claro y consistencia cremosa.
24	TSA	Bacilos Gram -	Colonias amarillo-chocolatosas de consistencia cremosa.
25	TSA	Bacilos Gram -	Colonias amarillas cremosas.
26	Ashby	Cocos Gram +	Colonias blanquecinas cremosas.
27	Ashby	Bacilos Gram +	Colonias blanquecinas de consistencia cremosa.
28	Ashby	Bacilos Gram +	Colonias transparentes cremosas.
29	Ashby	Bacilos Gram +	Colonias blancas cremosas.
30	Ashby	Cocos Gram +	Colonias blancas transparentes cremosas.
31	Ashby	Cocos Gram -	Colonias transparentes de aspecto brillante y consistencia cremosa.

32	Ashby	Bacilos Gram +	Colonia transparente con tonos claros de consistencia cremosa
33	Ashby	Bacilos Gram +	Colonias blanco-transparente cremosas.
34	Ashby	Bacilos Gram +	Colonias naranja brillantes de consistencia cremosa.

3.2. Caracterización de microorganismos

3.2.1. Producción de sideróforos

Los 34 aislados bacterianos fueron sometidos a la reacción de CAS para evaluar la producción de sideróforos de manera cualitativa y cuantitativa. Los resultados obtenidos se presentan en la (Tabla 7) y en el (Anexo 5). La unidad porcentual de sideróforo más alta a las 24h está representada por la cepa 19 con un valor de 64.7 ± 21.4 mientras que la más baja que corresponde a la cepa 4 con un valor de 8.9 ± 2.8 . Pasadas las 48h se observó un aumento del psu en el 64 % de las cepas, obteniendo la unidad porcentual de sideróforo más alta en la cepa 7 con un valor de 57.8 ± 4.7 y la más baja de 12.9 ± 5.3 en el aislado 26.

Tabla 7. Producción de sideróforos

Cepa	Estimación cualitativa	Estimación cuantitativa (psu)	
		24h	48h
1	+	27.9 ± 6.4	33.0 ± 11.6
2	+	9.7 ± 7.0	41.4 ± 10.5
3	+++	13.1 ± 1.9	36.7 ± 24.4
4	++	26.6 ± 1.6	46.2 ± 18.2
5	++	8.9 ± 2.8	50.2 ± 12.8
6	+++	24.8 ± 9.9	43.5 ± 6.4
7	+++	25.4 ± 10.8	57.8 ± 4.7
8	+++	32.2 ± 11.3	56.1 ± 11.6

9	+++	13.8±0.5	55.0±5.1
10	+++	11.7±1.8	40.1±3.3
11	+++	41.0±4.5	28.5±15.6
12	+++	38.3±2.5	24.5±20.9
13	+++	33.9±11.1	36.5±21.0
14	+++	29.0±12.1	36.1±4.3
15	+++	31.0±28.9	33.9±8.6
16	+++	54.2±13.7	43.5±14.9
17	+++	61.5±9.9	38.7±22.3
18	+++	33.4±12.5	48.0±2.6
19	+++	64.7±21.4	45.8±9.0
20	+++	51.9±12.0	48.5±7.0
21	+++	37.5±3.5	46.7±12.3
22	+++	34.5±11.8	49.2±9.1
23	+++	45.7±0.2	49.3±10.2
24	++	36.6±8.0	45.1±5.9
25	+++	44.3±27.2	52.3±3.9
26	+	18.1±11.8	12.9±5.3
27	++	9.4±15.6	22.0±1.2
28	+++	37.3±16.7	36.8±24.1
29	+++	43.0±24.1	41.2±25.2
30	++	41.3±21.5	28.7±4.7
31	+++	42.0±10.2	31.6±20.8
32	+	27.4±12.3	22.3±12.3
33	++	32.2±8.6	41.1±15.3
34	++	31.9±6.5	43.8±4.9

Los datos están representados por la media de 3 repeticiones. ± desviación estándar

3.2.2. Solubilización de fosfatos

De las 34 cepas analizadas solo 2 presentaron la capacidad de solubilizar fosfato tricálcico en medio PVK. (Figura 5). Con los resultados obtenidos se midió el índice de solubilización de fosfato (PSI): relación del diámetro total (colonia + zona de halo) a la colonia diámetro. (Tabla 8)

Tabla 8. Índice de solubilización (PSI) de las cepas

Cepas	Diámetro halo (mm)	Diámetro colonia (mm)	Índice de solubilización (IS)
33	11.6±1.2	4.6±0.5	3.5±0.3
34	11.3±1.5	4.6±0.5	3.4±0.7

Los datos están representados por la media de 3 repeticiones. ± desviación estándar

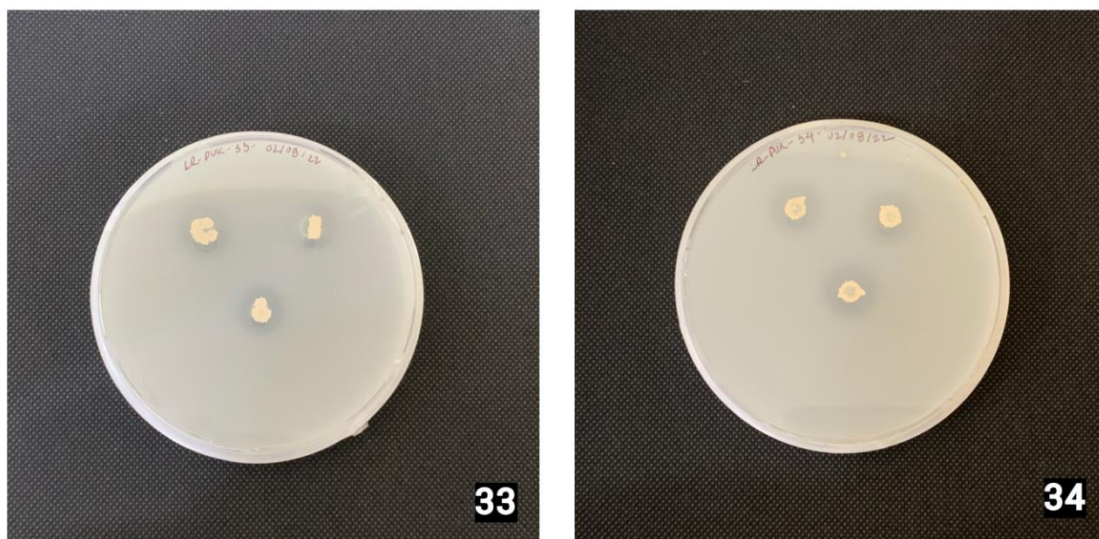


Figura 5. Halos de solubilización de fosfato a los 7d. Medio PVK

3.2.3. Producción de ácido indolacético

Para determinar la síntesis de AIA se utilizó la técnica colorimétrica de Salkowski, que consiste en la oxidación de compuestos indólicos por sales férricas (Mantilla, 2007). En la (Tabla 9) se aprecian los valores de producción de AIA de cada aislado bacteriano a las 24, 48, 72, 96, 120 y 144 h, esto fue obtenido a partir de la ecuación generada por la curva de calibración (Anexo 3). La producción más alta de ácido indolacético se dio a las 144 h y corresponde a la cepa 27 con un valor de 27.9 ± 10.8 mientras que la más baja fue de 5.6 ± 4.2 para la cepa 25 a las 96 h. Se observó un aumento en la producción de la fitohormona al 6to día en 70% de las cepas.

Tabla 9. Producción de AIA

Cepa	24h	48h	72h	96h	120h	144h
1	8.4±3.3	9.3±1.8	8.5±3.4	9.0±4.2	7.7±4.9	13.2±2.3
2	16.7±14.1	15.1±7.8	14.1±4.0	15.5±5.8	15.8±3.9	21.5±10.9
3	10.6±3.3	13.4±3.6	13.4±3.9	21.0±4.9	14.4±5.4	23.2±3.1
4	8.2±4.2	11.9±5.0	13.6±9.4	16.2±9.1	15.0±9.5	19.2±6.2
5	8.4±4.0	8.6±4.6	16.1±6.8	23.0±6.7	24.9±15.3	23.5±8.2
6	9.8±1.4	10.6±4.5	12.2±2.9	15.8±1.5	14.3±2.9	15.9±2.2
7	9.5±1.4	10.9±4.9	10.2±4.9	14.5±1.6	15.5±1.6	14.4±2.6
8	17.2±13.0	10.9±4.0	14.5±4.1	15.0±1.9	16.7±3.9	16.0±2.2
9	11.1±5.5	10.2±4.0	13.0±4.6	13.1±4.2	12.5±2.9	13.9±2.5
10	8.3±3.9	8.9±5.7	16.3±10.8	13.6±2.4	12.6±3.1	17.8±3.0
11	9.2±2.5	9.9±3.2	12.5±6.4	11.6±5.5	14.9±5.7	12.5±0.5
12	9.4±3.5	9.5±5.2	13.5±5.2	14.3±1.0	11.8±3.6	13.6±3.4
13	9.0±4.2	10.7±3.8	13.0±6.2	18.4±6.6	16.8±1.3	15.6±1.3
14	7.6±2.4	10.7±3.6	9.7±4.6	11.2±5.3	12.9±4.3	13.8±3.4
15	6.7±2.9	9.0±4.7	11.3±3.1	11.1±3.1	12.7±4.0	16.7±3.8
16	6.0±1.5	8.0±4.4	11.5±2.6	10.6±1.8	14.2±4.6	14.6±0.3
17	16.2±16.3	10.5±2.7	8.9±1.2	10.3±3.2	12.1±0.6	14.1±1.3
18	8.3±1.5	10.4±4.8	8.6±0.3	8.4±2.9	8.2±4.2	11.2±6.0
19	9.2±1.4	12.3±3.0	13.1±5.4	15.3±9.3	14.2±1.6	16.0±3.1
20	7.1±3.7	12.7±8.4	10.4±2.7	10.0±1.1	10.6±5.1	12.9±2.7
21	6.7±2.6	12.2±5.3	17.8±9.8	16.6±7.4	14.6±3.0	23.2±3.7
22	7.2±3.3	12.9±9.4	15.3±2.0	17.2±10.9	13.9±3.0	24.5±7.4
23	7.1±1.8	10.8±1.1	14.9±4.2	14.7±3.9	20.3±5.7	21.1±3.0
24	8.1±2.6	9.8±3.0	10.3±2.9	8.4±5.0	18.4±7.7	13.9±0.8
25	5.9±1.9	11.5±6.9	7.9±0.9	5.6±4.2	11.9±3.4	9.6±5.6
26	13.2±14.8	10.6±2.9	10.8±1.0	15.5±1.7	16.3±4.0	15.4±1.4
27	8.2±4.8	11.9±2.4	15.4±3.3	16.1±2.3	18.6±4.0	27.9±10.8
28	7.8±3.3	10.3±1.5	15.8±3.3	18.5±2.4	21.4±5.9	18.3±6.5
29	7.7±3.0	10.4±3.0	11.8±3.2	12.9±3.0	14.0±5.8	23.4±6.8
30	7.3±4.2	9.6±1.0	8.9±4.8	13.9±4.3	10.5±5.5	18.1±4.9
31	9.0±4.0	10.4±2.3	13.5±2.0	16.5±1.6	15.8±1.3	24.9±1.6
32	10.8±4.8	10.7±1.5	14.2±2.4	15.5±1.7	21.3±5.1	23.4±1.5
33	5.7±1.9	15.5±8.2	10.5±1.5	18.2±9.1	14.6±5.6	21.9±3.6
34	6.8±3.4	16.1±8.8	17.9±1.5	16.1±4.3	18.3±4.2	21.9±1.5

Los datos están representados por la media de 3 repeticiones. ± desviación estándar

3.3.3.1. Fijación no simbiótica de nitrógeno

Para esta prueba se seleccionaron 5 de los 34 aislados bacterianos. En la (Figura 6) se presenta el promedio de las densidades ópticas a 540 nm de las cepas 7, 15, 30, 32 y 34, en función del tiempo (h).

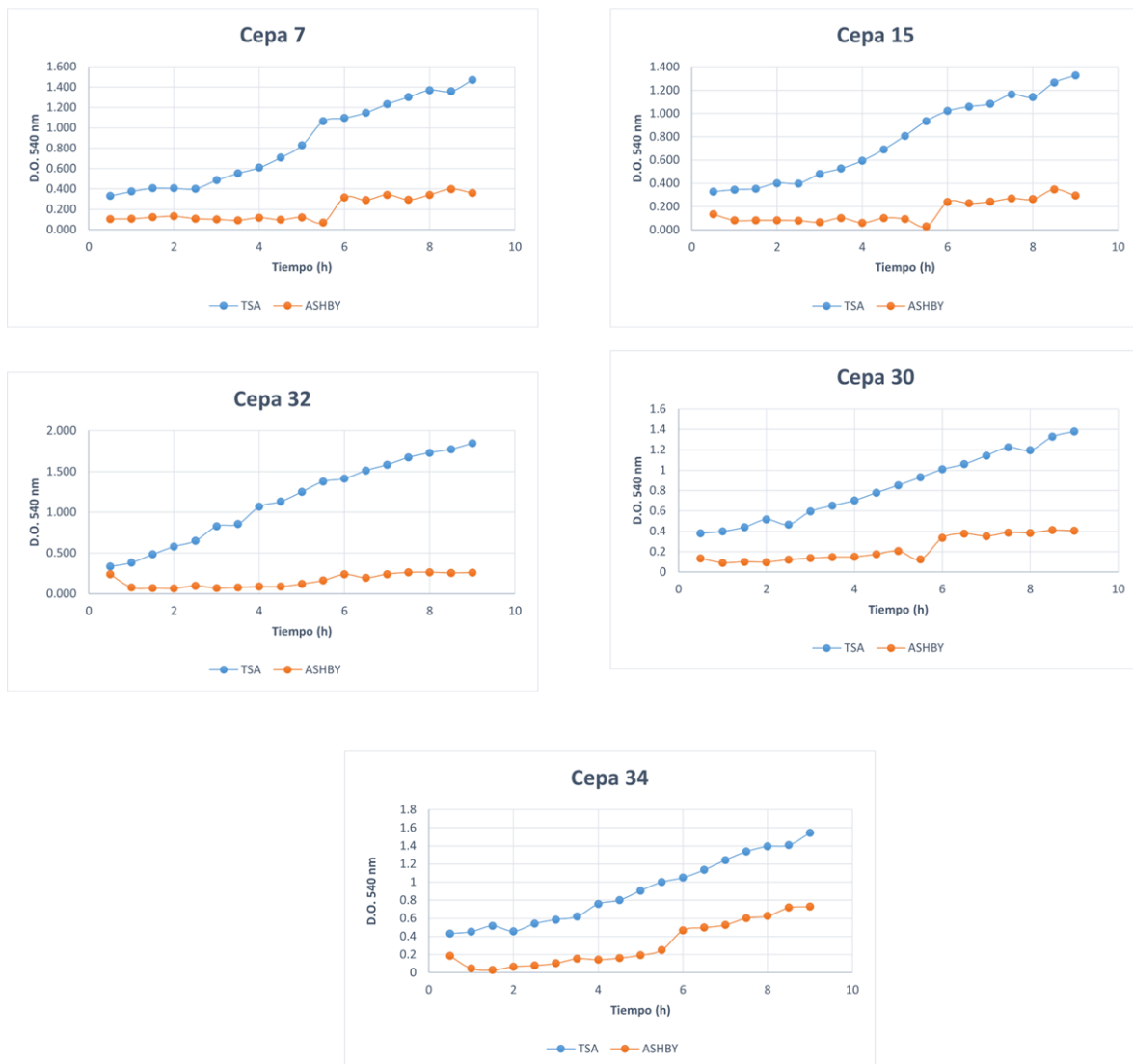


Figura 6. Curva de crecimiento de las cepas 7,15, 30, 32 y 34.

3.3. Análisis fisicoquímico del suelo

En la (Tabla 10) se presentan los resultados del análisis fisicoquímico del suelo. Se encontró que este es de tipo arcilloso con un pH poco ácido. Se presentó un alto contenido de P (115 ppm), Ca (24.55 meq/100g), Mg (1.99 meq/100g), Mn (103 ppm) y Zn (43 ppm). En un rango medio se ubica la materia orgánica (3.04%) y el Fe (40 ppm). Finalmente, en concentraciones bajas se encuentra el K (43 ppm), Na (38 ppm), Al (0 meq/100g) y Cu (2 ppm).

Tabla 10. *Resultados de análisis*

Parámetro	Contenido
Textura (Arena-Limo-Arcilla %)	26-31-43
pH en Agua (1:2:5)	6.31
Fósforo (ppm)	115
Potasio (ppm)	43
Sodio (ppm)	38
Calcio (meq/100g)	24.55
Magnesio (meq/100g)	1.99
Acidez (meq/100g)	0.2
Aluminio (meq/100g)	0
Materia Orgánica (%)	3.04
Hierro (ppm)	40
Cobre (ppm)	2
Manganeso (ppm)	103
Zinc (ppm)	43

3.4. Análisis estadístico

Los datos utilizados para el análisis estadístico fueron obtenidos después de 3 giras de campo, en donde se tomaron en cuenta el nivel de clorofila y peso (kg). Esto con la finalidad de determinar la dosis optima del biol y cuantificar los rendimientos de este como fertilizante en el cultivo del culantro (*Eryngium foetidum L.*). Los análisis de normalidad y homogeneidad de varianza para la variable peso se muestran en la (Tabla 11) y en la (Tabla 12) para nivel de clorofila.

Tabla 11. *Análisis de normalidad y homogeneidad de varianza-Rendimiento*

Cuantiles	Cuartiles	Peso (kg)
100.00%	Máximo	2.4257
75.00%	Q ₁	1.47078409
50.00%	Mediana Q ₂	1.048
25.00%	Q ₃	0.63636364
0.00%	Mínimo	0.2632

Tabla 12. *Análisis de normalidad y homogeneidad de varianza- Clorofila*

Cuantiles	Cuartiles	Clorofila
100.00%	Máximo	50.03

75.00%	Q ₁	42.9975
50.00%	Mediana Q ₂	40.81
25.00%	Q ₃	39.18
0.00%	Mínimo	33.36

Para evaluar el rendimiento del biol se tomó el peso acumulado de cada tratamiento en 3 cosechas. En el gráfico caja y bigotes (Figura 7) se muestra que el tratamiento 5 presenta la mediana Q₂ por arriba del valor promedio (1.048) kg. En la (Figura 8) se compara el T5 vs el control.

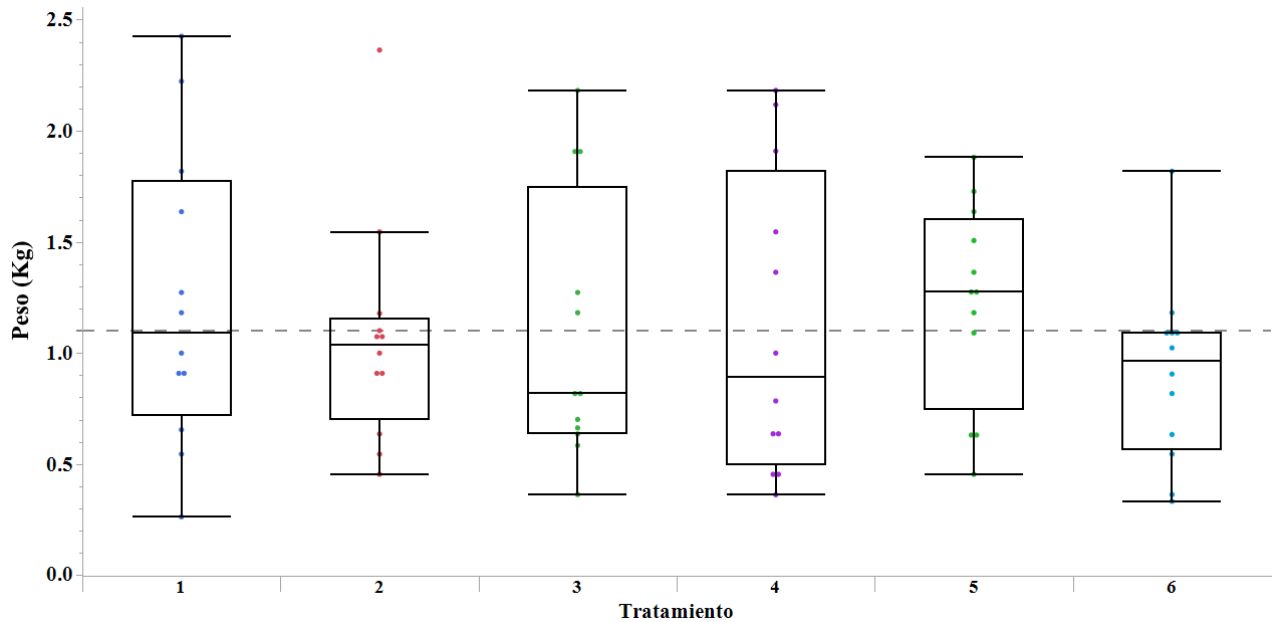


Figura 7. Rendimiento de los tratamientos y control (T6)

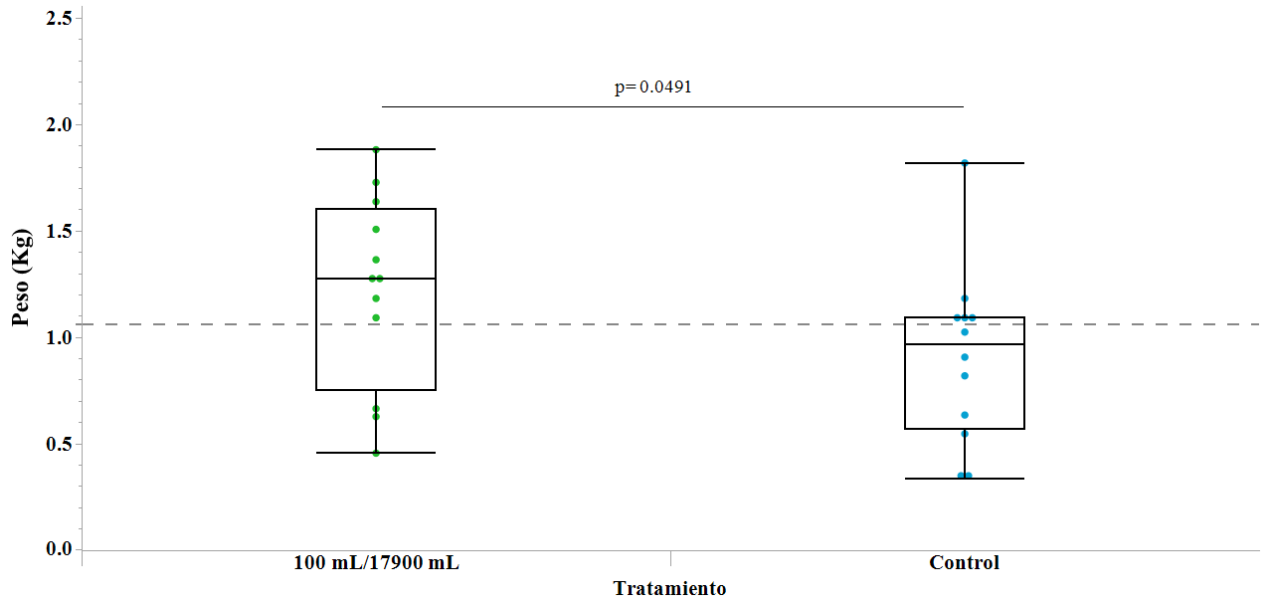


Figura 8. Rendimiento del Tratamiento 5 vs Control T6

El tratamiento 4 resultó ser el más eficiente para aumentar la concentración de clorofila en las hojas de culantro, ya que presentó la mediana por encima del valor promedio (40.81), tal y como la muestra el gráfico de caja y bigotes (Figura 9). En la (Figura 10) se compara el T4 vs el control.

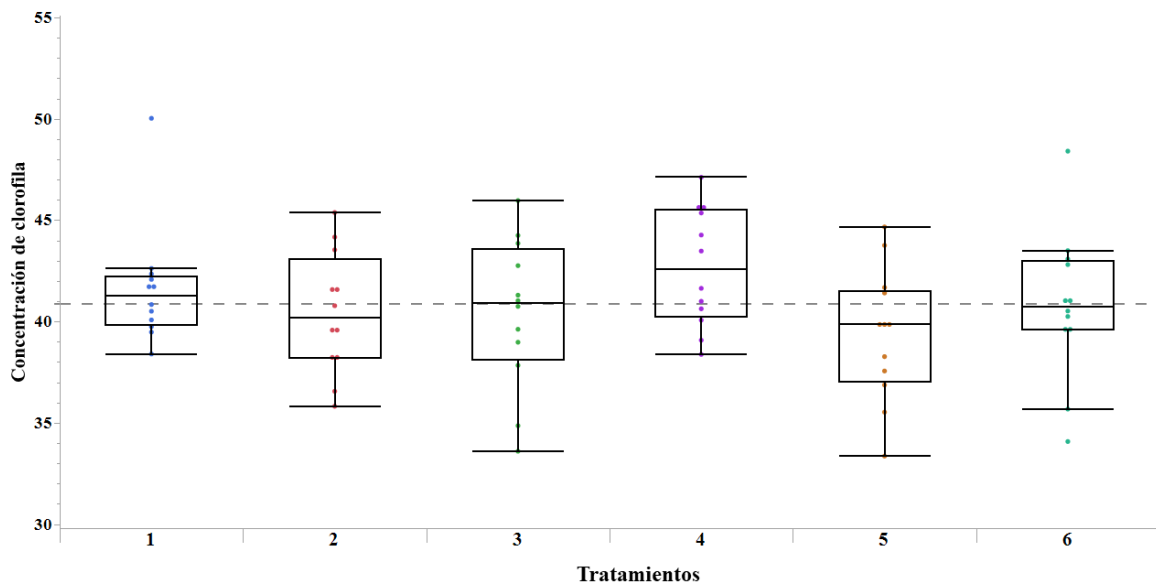


Figura 9. Concentración de clorofila de los tratamientos

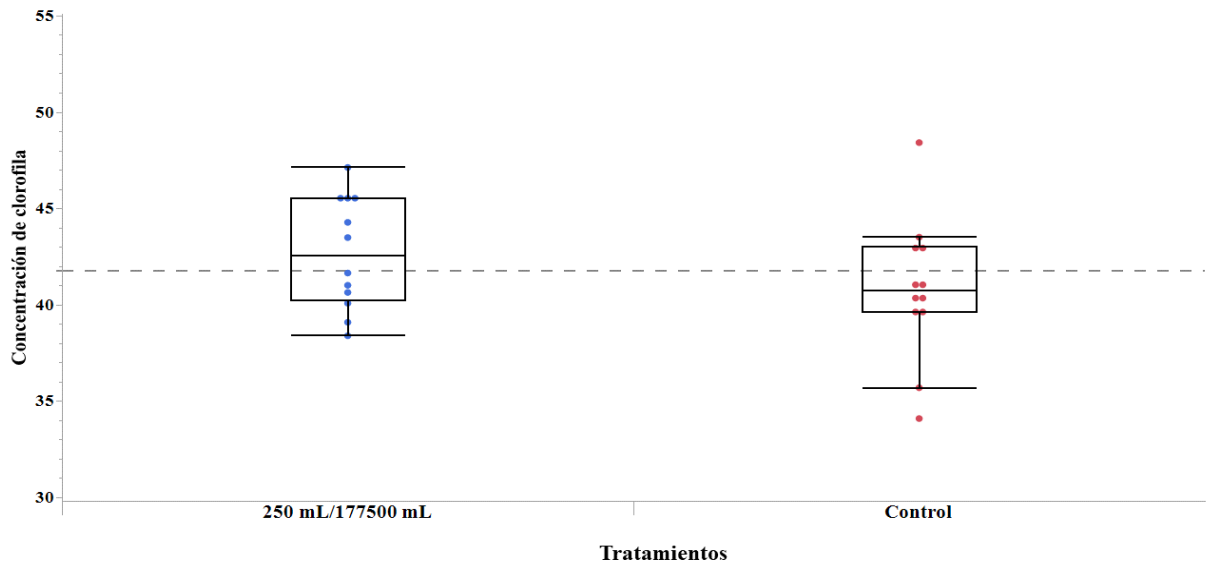


Figura 10. Concentración de clorofila del Tratamiento 4 vs Control T6

Los datos obtenidos se distribuyen con normalidad, por lo que se procedió a realizar el análisis de varianza de bloques. El resumen de ajuste para las variables de peso y concentración de clorofila se presentan en las tablas 13 y 14 respectivamente.

Tabla 13. Resumen de ajuste-datos de rendimiento

R cuadrado	0.108473
R cuadrado ajustado	-0.00474
Raíz del error cuadrático medio	0.555571
Media de respuesta	1.106234
Observaciones (o suma de pesos)	72

Tabla 14. *Resumen de ajuste-datos de clorofila*

R cuadrado	0.143106
R cuadrado ajustado	0.034294
Raíz del error cuadrático medio	3.264405
Media de respuesta	40.88146
Observaciones (o suma de pesos)	72

Se realizó un análisis de varianza para el total pesos obtenidos en cada tratamiento, observando que el tratamiento 5 (100 mL/17.90 L) resultó ser el más eficiente frente al tratamiento 6 (control). No se observaron diferencias entre el resto de los tratamientos y el control. (Tabla 15).

En la (Tabla 16) se muestra el análisis de varianza para la concentración de clorofila.

Tabla 15. *Análisis de varianza para el total de pesos obtenidos*

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de los cuadrados	Razón F	Prob > F
Tratamiento	5	0.86205	0.17241	0.5586	0.7312
Bloque	3	1.503895	0.501298	1.6241	0.1927
Error	63	19.4455	0.308659		
C. Total	71	21.811445			

Tabla 16. *Análisis de varianza para el total de clorofila*

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de los cuadrados	Razón F	Prob > F
--------	--------------------	-------------------	------------------------	---------	----------

Tratamiento	5	78.42305	15.6846	1.4719	0.2117
Bloque	3	33.69618	11.2321	1.054	0.375
Error	63	671.34944	10.6563		
C. Total	71	783.46867			

CAPÍTULO IV

DISCUSIÓN

En los últimos años los microorganismos del suelo se han reconocido como componentes cruciales para la producción agrícola sostenible, ya sea introduciéndolos por inoculación o mejorando las prácticas de manejo. Se ha demostrado que las bacterias promotoras del crecimiento vegetal aumentan los rendimientos de los cultivos sin comprometer la calidad ambiental (Prassana *et al.*, 2016; Roychowdhury, 2017; Schmidt y Gaudin, 2018). Estos microorganismos ocupan diferentes nichos en la rizosfera, lo que provoca competencia por espacio y nutrientes, limitando así el desarrollo de especies fitopatógenas. De igual manera presentan una actividad supresiva, la cual se ejerce mediante la producción de compuestos antimicrobianos, sideróforos y metabolitos secundarios (Schlatter *et al.*, 2017). También se da el mejoramiento en la nutrición de la planta mediante fijación biológica de nitrógeno y la solubilización de fosfatos (Barros, 2006).

Los sideróforos microbianos proveen Fe a las plantas cuando la biodisponibilidad del metal es baja, mejorando así su desarrollo (Ahmed y Holmström, 2014). Un estudio de rizobacterias productoras de sideróforos realizado por (Barrera, 2016) indica que la producción máxima de estos después de 24 h de cultivo fue de 22.8 ± 2.5 psu, el resto de los aislados se encontraron en un rango de 8.5-15.6. Mientras que (Arora y Verma, 2017) en una investigación para optimizar la metodología de detección de sideróforos producidos por bacterias, obtuvieron como mayor psu 69.16 ± 0.71 a las 48h, oscilando el resto de las cepas entre 07.97 y 45.99. En nuestro caso la mayor producción de sideróforos a las 24h fue de 64.7 ± 21.4 en el aislado 19. A las 48 h 28 de las 34 cepas presentaron valores mayores a 30.0 psu, lo que se considera una alta producción

de sideróforos (psu). Este tipo de bacterias implican un gran beneficio en los cultivos, ya que los sideróforos pueden secuestrar el hierro del ambiente rizosférico, impidiendo que sea disponible para los patógenos, siendo esto un mecanismo de control. (Kloepper *et al.*, 1980; Loper y Schroth, 1986).

En los suelos ácidos se forman fosfatos de aluminio y de hierro (Parfitt y Kimble 1989; Sanyal y De Datta, 1991), mientras que en suelos neutros-alcalinos predominan fosfatos de calcio (Lindsay *et al.*, 1989). Estas formas de fosfato son insolubles por lo que no son asimilables por las plantas. Las bacterias solubilizadoras de fosfato son un grupo de microorganismos del suelo implicados en la liberación de P desde fuentes inorgánicas por medio de la solubilización y desde fuentes orgánicas a través de la mineralización (Fankem *et al.*, 2006). La detección de cepas con capacidad de solubilizar fosforo insoluble se mide cualitativamente mediante el medio selectivo sólido de Pikovskaya, calculando así el índice de solubilización, en esa línea la de tesis de (Ibarra, 2016) indica para *Sinorhizobium spp.*, índices que van de 3.04 a 3.39. Por su parte (Tripti, *et al.*, 2012) reportaron para *Pseudomonas sp.* y *Bacillus sp.* índices de solubilización de 3.1 y 3.0 respectivamente. Mientras que en cepas aisladas por (Restrepo-Franco *et al.*, 2014) en el cultivo del arroz (*Oryza sativa L.*) los valores van de 2.14-2.61. En nuestro caso solo 2 de las 34 cepas estudiadas mostraron la capacidad de solubilizar fosfato obteniendo IS de 3.04 y 3.05. En este trabajo no se realizó la estimación cuantitativa de fosforo por lo que no podemos asegurar que el resto de las cepas no presenten la capacidad de solubilizar fosfato insoluble.

La biosíntesis bacteriana de AIA puede ser dependiente o independiente de triptófano. Existen 6 vías en bacterias para la biosíntesis de AIA, de las cuales 5 utilizan triptófano como precursor (Prinsen *et al.*, 1993). Las 2 vías principales son: la vía del indol-3-piruvato (IpyA) y la vía indol-3- acetamida (IAM), y las 3 secundarias: vía de la triptamina (TAM), vía del indol-3-

acetonitrilo (IAN) y la vía side chain oxidasa (TSO). La vía independiente del triptófano es una vía poco común tanto en bacterias como en plantas. Varios factores pueden influir en la biosíntesis de esta auxina, tales como el pH y la concentración de triptófano (Lebrazi *et al.*, 2020; Spaepen *et al.*, 2009). En base a esto (Lebrazi *et al.*, 2020) hizo un estudio donde determinó que el mejor pH para rizobacterias aisladas de *Acacia cyanophylla* es uno básico, ya que la máxima producción de AIA fue detectada a pH de 9 ($116.07 \mu\text{g ml}^{-1}$), para (Mohite, 2013) las mayores cantidades se produjeron en pH neutros-básicos de 7-9, en cambio un pH de 6 resultó ser desfavorable para la producción. (Chandra *et al.*, 2018) indica resultados similares a lo mencionado por el autor anterior, ya que la cantidad de AIA varió de ($74.3 \mu\text{g ml}^{-1}$) a pH 5 a ($91.7 \mu\text{g mL}^{-1}$) a pH 9. En nuestro trabajo de caracterización se utilizó un pH de 6.7 y el mayor valor fue de ($27.9 \mu\text{g mL}^{-1}$), bastante inferior a lo reportado por otros autores. Con respecto al efecto de las concentraciones L-Trp en la síntesis de ácido indolacético (Patten y Glick, 2002) utilizaron diferentes concentraciones, estas fueron: 0, 50, 100, 200 y 500 ($\mu\text{g/mL}$) de triptófano, reportando que conforme aumentaba la concentración era mayor la producción de AIA (Lebrazi *et al.*, 2020), en cambio, observó que a mayor concentración de L-Trp, menor la cantidad de AIA producido. En nuestro caso se utilizó 50 ($\mu\text{g/mL}$) de triptófano. De manera general (Escobar *et al.*, 2011) obtuvieron valores de 10.44, 11.99, 14.21 y 57.99 ($\mu\text{g ml}^{-1}$) para cepas nativas de *Azotobacter spp.* aisladas del tomate (*Lycopersicon esculentum Mill.*), Nuestros valores oscilaron entre 5.6 y 27.9 ($\mu\text{g ml}^{-1}$), manteniéndose principalmente por debajo de 20 ($\mu\text{g mL}^{-1}$). En base a lo obtenido por otros autores le podemos atribuir este hecho a la baja concentración de triptófano y al pH ácido presente en el medio de cultivo. Es importante recalcar que esta fitohormona induce el aumento de pelos radiculares, logrando con esto una mayor captación de nutrientes y en consecuencia mayor rendimiento en los cultivos (Okon y Vanderleyden, 1997).

La fijación biológica del nitrógeno es considerada como una de las alternativas más viables para recuperar el nitrógeno presente en el ambiente (Kimball, 1980). Las bacterias fijadoras de nitrógeno son componentes importantes del suelo y requieren una fuente de energía química en caso de no ser fotosintéticas (Mayz-Figueroa, 2004). Dependiendo de la cantidad de oxígeno disponible, se clasifican en: aeróbicas, que dependen fuertemente de las condiciones de humedad, oxígeno y materia orgánica, y las anaeróbicas que son predominantes en suelos anegados donde existen las condiciones de humedad y materia orgánica, pero el suministro de oxígeno está restringido (Dugan, 2004). Para determinar la capacidad de fijar nitrógeno de forma no simbiótica se observó la cinética de crecimiento de 5 cepas en 2 medios de cultivo diferentes a modo de comparación. Sin embargo, estas no presentaron mayor crecimiento en el medio selectivo Ashby. De igual manera no se realizó una estimación cuantitativa de esta prueba por lo que no se pueden aceptar o rechazar como fijadoras de nitrógeno.

El suelo es la base de cualquier producción agrícola, las bacterias benéficas de este recurso permiten que los nutrientes presentes en el estén disponibles para las plantas (Lizarro y Restrepo, 2014). El análisis fisicoquímico del suelo es una herramienta muy útil al momento de realizar recomendaciones de fertilización, para esto también es importante tener en cuenta el tipo de cultivo a sembrar. En el corregimiento de Río Hato se encuentran diferentes fincas dedicadas a la producción agrícola, estudios de estos suelos indican una baja materia orgánica, bajo contenido de nutrientes y un pH ácido. Reportando así suelos francos-arenosos, valores de M.O. de 0.66% y 0.48%; Fe: 16.90 y 14.70 (ppm); P: 3.0 y 7.0 (ppm) y pH de 5.80 y 5.80 para fincas en las comunidades de Santa Cruz Isidro y Los Aleo, respectivamente. Nuestro suelo de estudio, ubicado en la comunidad de Bajo Bonito, Distrito de Capira presentó un suelo arcilloso con un

pH de 6.31 por lo que se considera poco ácido, en cuanto a los nutrientes esenciales tenemos alto contenido de P (115 ppm) y medio de materia orgánica (3.04%) y el Fe (40 ppm).

Determinar la dosis óptima del biol para el cultivo del culantro permite una mayor optimización de los recursos para los productores (Cardenas y Hondoy, 2017) estudiaron para su trabajo de graduación el efecto del biol como fertilizante orgánico en tres cultivares de *Pennisetum purpureum*, concluyendo que el uso de biol en combinaciones de Urea 25% o Urea 50% resultan ser combinaciones más eficaces que el uso de biol 100%. Presentando así aproximaciones cercanas a nuestros resultados, ya que una mayor cantidad de biol no asegura un mejor rendimiento por cosecha. De igual manera es importante tener en consideración que para nuestro estudio se trabajó con un suelo libre de agroquímicos y las cepas encontradas en el biol son nativas del área, lo que explica porque con el tratamiento 6 correspondiente al control (18 L de agua) se obtuvieron buenos resultados de rendimiento.

.

CONCLUSIÓN

- Las 34 cepas aisladas mostraron la capacidad de ser promotoras de crecimiento vegetal en diferentes pruebas, resaltando en la producción de sideróforos.
- Se encontró similitud entre la estimación cualitativa y cuantitativa de sideróforos.
- Las cepas positivas para la solubilización de fósforo mostraron índices altos.
- En comparación a otras investigaciones las cepas no mostraron valores altos en cuanto a la producción de ácido indolacético.
- De las cepas aisladas, 11 lograron crecer en medio Ashby libre de nitrógeno, sin embargo, su capacidad de fijar nitrógeno no fue cuantificada.
- El suelo de estudio mostró tener un buen contenido de materia orgánica y nutrientes por lo que se considera apto para el cultivo del culantro coyote (*Eryngium foetidum L.*)
- Los tratamientos mostraron ser eficientes para aumentar el rendimiento del cultivo del culantro coyote (*Eryngium foetidum L.*), sin embargo, con menor cantidad de biol se obtuvieron los mejores resultados.
- El tratamiento 5 con (100 mL de biol en 17.90 L de agua) resultó ser la dosis óptima para la fertilización del culantro coyote (*Eryngium foetidum L.*).

RECOMENDACIONES

- Se recomienda a los agricultores participar en proyectos relacionados a la aplicación de bacterias promotoras de crecimiento vegetal en sus cultivos a través de parcelas experimentales, esto con el fin de promover la implementación de estas prácticas sostenibles en más cosechas.
- Evaluar los niveles de ácido indolacético a aplicar según el cultivo de trabajo, ya que valores muy altos pueden tener un efecto positivo o tóxico, al punto de inhibir el crecimiento de la planta.
- Utilizar cepas nativas para la fabricación de bioles para garantizar la sobrevivencia de estas.
- Implementar el uso de bioles como biofertilizantes y conservarlos en frascos herméticos y bajo la sombra.
- En el caso de futuras investigaciones, realizar las estimaciones cuantitativas en las pruebas de solubilización de fosforo y fijación biológica de nitrógeno.
- Secuenciar molecularmente las cepas con mejores resultados con la finalidad de conocer a que especie pertenecen.
- Utilizar solo 100 mL de biol/ 17.90 L de agua al momento de fertilizar las parcelas de culantro, ya que esto garantiza un mayor rendimiento de cosecha y un mejor uso de los recursos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Achal, V., Savant, V., Reddy, M. (2007). Phosphate solubilization by a wild type of strain and UV-induced mutants of *Aspergillus tubugensis*, *Soil. Biol. Biochem.* 39:695-699.
- Acuña, A. J., Pucci, G. N., Pucci, O. H. (2010). Caracterización de tres cepas bacterianas capaces de fijar nitrógeno y biodegradar hidrocarburos aisladas de un suelo de la Patagonia. *Ecosistemas*, 19(2), 125-136
- Adesemoye, A. O., Kloepper, J. W. (2009). Plant-microbes interactions in enhanced fertilizer-use efficiency. *Applied microbiology and biotechnology*, 85(1), 1–12.
<https://doi.org/10.1007/s00253-009-2196-0>
- AEDES (Asociación Especializada para el Desarrollo Sostenible, PE). (2006). Manual de Elaboración de Abono Foliar Biol. 10-11.
- Aguado-Santacruz, G. A., Moreno-Gómez, B., Jiménez-Francisco, B., García-Moya, E., Preciado-Ortiz, R. E. (2012). Impacto de los sideróforos microbianos y fitosideróforos en la asimilación de hierro por las plantas: Una síntesis. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 35(1), 9-21.
- Agüero, A. (2009). Producción de bacterias fijadoras de nitrógeno (*Azotobacter*, *Bacillus* y *Pseudomonas*); en medio líquido a base de melaza, para su aplicación en el cultivo de caña de azúcar (*Saccharum spp.*) azucarera, el viejo, guanacaste. Tesis Bachiller en Ingeniería en Biotecnología. Escuela de Biología. Instituto Tecnológico de Costa Rica.
- Ahmad, F., Ahmad, I., Khan, M.S. (2005). Indole acetic acid production by the indigenous isolates of *azotobacter* and fluorescent *pseudomonas* in the presence and absence of tryptophan. *Turkish J Biol* 29(1):29–34.

- Ahmed, E., Holmström, S.J.M. (2014). Siderophores in environmental research: roles and applications. *Microbial Biotechnology*, 7, 196–208
- Albuquerque, W. A., Rocha, S. E., Costa, P. V. C., Farias, P. A., Bastos, L. A. (2010). Producción de heliconias Golden Torch influenciada por fertilización mineral y orgánica. *Revista Brasileira de Ingeniería Agrícola y Ambiental*, 14(10), 1052- 1058.
- Ali, S.S., Vidhale, N.N. (2013). Sideróforo bacteriano y su aplicación: una revisión. *Int J Curr Microbiol Appl Sci* 2:303–312.
- Álvarez-Solís, J. D., Gómez-Velasco, D. A., León-Martínez, N. S., Gutiérrez-Miceli, F. A. (2010). Manejo integrado de fertilizantes y abonos orgánicos en el cultivo de maíz. *Agrociencia* 44: 575-586.
- Alvear, M., López, R., Rosas, A., Espinoza, N. (2006). Efecto de la aplicación de herbicidas en condiciones de campo sobre *algunas* actividades biológicas. *Rev.Cien. Suelo y nutr.* 64-76.
- Annan, H., Golding, A., Zhao, Y., Dong, Z. (2012). Choice of hydrogen uptake (Hup) status in legume-rhizobia symbioses. *Ecol. Evol.* 2: 2285-90
- Aparcana, S. (2008). Estudio sobre el valor fertilizante de los productos del proceso "Fermentación anaeróbica" para producción de Biogás. *German ProfECGmbH.* 2-4pp
- Armenta-Bojórquez, A. D., García-Gutiérrez, C., Camacho-Báez, J. R., Apodaca-Sánchez, M. Á., Gerardo-Montoya, L., Nava-Pérez, E. (2010). Biofertilizantes en el desarrollo agrícola de México. *Ra Ximhai*, 6(1), 51-56.
- Arora, N. K., Verma, M. (2017). Método de microplaca modificado para la estimación rápida y eficiente del sideróforo producido por bacterias. *Biotech*, 7(6), 381.

- Arshad, M. and Frankenberger, W.T. Jr. (1998) Plant growthregulating substances in the rhizosphere: microbial production andfunctions. *Advances in Agronomy*62, 146–151.
- Aung, K., Jiang, Y., HE, S. Y. (2018). The roleof water in plant in plant microbe Interaction. *The Plant Journal*, 93: 771-780.
- Aznar, A., Dellagi, A. (2015). Nuevos conocimientos sobre el papel de los sideróforos como desencadenantes de la inmunidad de las plantas: ¿qué podemos aprender de los animales? *Journal of experimental botany*, 66(11), 3001–3010. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv155>
- Aznar, A., Chen, N.W.G., Thomine, S., Dellagi, A. (2015) Immunity to plant pathogens and iron homeostasis. *Plant Sci.* 240: 90–97.
- Bacilio-Jiménez, M., Aguilar-Flores, S., Ventura-Zapata, E., Pérez-Campos, E., Bouquelet, S., Zenteno, E. (2003) Chemical characterization of root exudates from rice (*Oryza sativa*) and their effects on the chemotactic response of endophytic bacteria. *Plant Soil* 249: 271–277.
- Badii, M.H., Cuevas, R., Almanza, V.G., Flores, J.L. (2005). Los indicadores biológicos en la evaluación de la contaminación por agroquímicos en ecosistemas acuáticos y asociados. *CULCyT*, 2(6): 4-17.
- Bal, H.B., Das, S., Dangar, T.K., Adhya, T.K. (2012). ACC deaminase and IAA producing growth promoting bacteria from the rhizosphere soil of tropical rice plants.*J. Basic. Microbiol.* 53: 972-84.
- Banerjee, S., Palit R, Sengupta C, Standing, D. 2010. Stress induced phosphate solubilization by *Arthrobacter* sp. and *Bacillus* sp. Isolated from tomato rhizosphere. *Australian Journal of crop science* 4(6):378-383.

- Bano, S. A., Iqbal, S. M. (2016). Biological nitrogen fixation to improve plant growth and productivity. *Int. J. Agric. Innovat. Res.* 4: 596-599.
- Barrera, G. (2016). Análisis y caracterización de sideróforos producidos por rizobacterias para el control de la antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* en frutos de aguacate. *Tesis de Maestría en Ciencias*. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional.
- Barrios, E. (2007). Biota del suelo, servicios ecosistémicos y productividad de la tierra. *Ecological Economics*. 64:269-285.
- Barros, M., Da Silva, J. (2006). Biofertilizantes líquidos y sustentabilidad agrícola. *Bahía agrícola*. 56-61.
- Bashan, Y., Holguin, G., Ferrera-Cerrato, R. (1996). Interacciones entre plantas y microorganismos benéficos. *Terra*, 14(2), 159-192.
- Beltrán, P. E. M. (2014). La solubilización de fosfatos como estrategia microbiana para promover el crecimiento vegetal. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 15(1), 101-113
- Benizri, E., Baudoin, E., Guckert, A. (2001) Root colonization by inoculated plant growth-promoting rhizobacteria. *Biocont. Sci. Technol.* 11: 557-574.
- Bertsch, F. (2003). Abonos orgánicos: manejo de la fracción orgánica y de los aspectos biológicos del suelo. *Curso: Fertilizantes, características y manejo*. Centro de Investigaciones Agronómicas. Universidad de Costa Rica. p. 112-130.
- Bloemberg, G.V., Lugtenberg, B.J. (2001) Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. *Curr. Opin. Plant Biol.* 4: 343-50.

- Bojórquez, A. D. A., Gutiérrez, C. G., Báez, J. R. C., Sánchez, M. Á. A., Montoya, L. G., Pérez, E. N. (2010). Biofertilizantes en el desarrollo agrícola de México. *Ra Ximhai*, 6(1), 51-56.
- Cárdenas, M., Hondoy, D. (2017). Efecto del biol como fertilizante orgánico en tres cultivares de *Pennisetum purpureum*, El Coral - Chontales, Nicaragua, 2016 – 2017. Tesis de Ingeniero Zootecnista. Universidad Nacional Agraria.
- Carson, K. C., Meyer, J. M., Dilworth, M. J. (2000). Sideróforos de hidroxamato en bacterias de nódulos radiculares. *Soil Biol. Biochem.* 32:11-21
- Carvalho, F., Zhong, N., Tavares, Klaine S. (1998). Rastreo de plaguicidas en los trópicos. *Boletín del OEIA* No 40.
- Cassman, K. G., Dobermann, A., Walters D. (2002). *Agroecosistemas, eficiencia en el uso del N y manejo del N.* *Ambio.* 31:132-140.
- Castillo, B., Ruiz, J., Manrique, M., Pozo, C. (2020). Contaminación por plaguicidas agrícolas en los campos de cultivos en Cañete. *ISSN* 41(10).
- Castro, R., Cornejo, H., Rodríguez, L., Bucio, J. (2009). El papel de las señales microbianas en el crecimiento y desarrollo de las plantas. *Plant Signal Behav.* 4(8):701-712.
- Chaiharn, M., Lumyong, S. (2011) Screening and optimization of indole-3-acetic acid production and phosphate solubilization from rhizobacteria aimed at improving plant growth. *Curr Microbiol.* 62(1):173–181. <https://doi.org/10.1007/s00284-010-9674-6>
- Chandra, S., Askari, K., Kumari, M. (2018). Optimization of indole acetic acid production by isolated bacteria from *Stevia rebaudiana* rhizosphere and its effects on plant growth. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 16(2), 581–586.

- Chaparro J., Sheflin A., Manter D., Vivanco J. (2012). Manipulación del microbioma del suelo para aumentar la salud del suelo y la fertilidad de las plantas. *Biol Fertil Soils* 48:489-499.
- Chávez, E., León R., Ruíz O., Averos, C., Peralta, E. (2011). Aplicación de Biofertilizantes líquidos de producción local y su efecto en la rehabilitación de plantaciones de cacao fino y de aroma. *CIBE, ESPOL*. p. 6.
- Cisneros, C., Sánchez de P., M. (2015). Solubilización de fosfatos por hongos asociados a un Andisol de tres agroecosistemas cafeteros de la región andina colombiana. *Ingenium*, 9(25), 37-4
- Colque, T., Rodríguez D., Mujica, A. (2005). Producción de abono líquido natural y Ecológico. *Estación experimental Illpa, Perú*. 4pp.
- Criswell, J. (2002). Manual de calidad del agua para viveros. *División de Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales, Universidad Estatal de Oklahoma*.
- Crowel, D., Wang, Y., Reid, C., Szaniszlo, P. (1991). Mechanisms of iron acquisition from siderophores by microorganisms and Plants. *Plants Soil*. Vol. 130, pp. 179-198.
- Crowley, D. E., Reid, C., Szaniszlo, P. J. (1987). Microbial siderophores as iron sources for plants. In: *Iron Transport in Microbes, Plants and Animals*:375-386.
- Cycon, M., Piotrowska-Seget, Z., Kozdrój, J. (2010). Respuestas de microorganismos autóctonos a una mezcla fungicida de mancozeb y dimetomorf añadida a suelo arenoso. *Intern. Biodeter. Biodegrad*. 316 - 323.
- De Santiago, A., Quintero, J.M., Avilés, M., Delgado, A. (2009). Effect of *Trichoderma asperellum* strain T34 on iron nutrition in white lupin. *Soil Biol. Biochem*. 41: 2453-2459.

- Dellagi, A., Segond, D., Rigault, M., Fagard, M., Simon, C., Saindrenan, P., Expert, D. (2009). Los sideróforos microbianos ejercen un papel sutil en *Arabidopsis* durante la infección al manipular la respuesta inmune y el estado del hierro. *Plant Physiol.* 150:1687-1696.
- Dierksmeier, G. (2007). Origen y desarrollo del análisis de residuos de plaguicidas en Cuba. *Fitosanidad*, 11(3): 87-90.
- Dorronsoro, C., García, I. (2004). Contaminación del suelo, Tema 14, Contaminación por fertilizantes nitrogenados (en línea), Fecha de acceso: 8 de febrero de 2022 URL disponible en: <http://www.edafologia.net/conta/tema14/nitrog.htm>
- Dowling, D. N., Sexton, R., Fenton, A., Delany, I., Fedi, S., McHugh, B., Callanan, M., Moenne-Loccoz, Y., O'Gara, F. (1996). Regulación del hierro en plantas asociadas a *Pseudomonas fluorescens M114*: implicación para el control biológico. *Molecular Biology of Pseudomonads*. pp:502-511.
- Duca, D., Lory, J., Patten, C. L., Rose, D., & Glick, B. R. (2014). Indole-3-acetic acid in plant-microbe interactions. *Antonie van Leeuwenhoek*, 106(1), 85–125.
- Dugan, M. (2004). Field Training Manual for Laboratory Analysts.
- Dybas, M., Tatara, G., Criddle, C. S. (1995). Localización de la actividad de transformación de tetracloruro de carbono de la cepa KC de *Pseudomonas sp.* *Appl. Env. Microbiol.* 61:758-762.
- Ecker, D. J., Loomis, L. D., Cass, M. E., & Raymond, K. N. (1988). Substituted complexes of enterobactin and synthetic analogs as probes of the ferric-enterobactin receptor in *Escherichia coli*. *Journal of the American Chemical Society*, 110(8), 2457-2464.

- Eddleston, M., Karalliedde, L., Buckley, N., Fernando R., Hutchinson, G., Isbister G., Konradsen, F., Murray D., Piola, J.C., Senanayake, N., Sheriff, R., Singh, S., Siwach, S. B., Smit, L. (2002). Envenenamiento por pesticidas en el mundo en desarrollo: una lista mínima de pesticidas. *The Lancet* 360. 1163–1167.
- Edi-Premono, M., Moawad, L., Vleck. (1996). Efecto de la solubilización de fosfatos de *Pseudomonas putida* sobre el crecimiento del maíz y su supervivencia en la rizósfera. *Crop Sci.* 11 (1996) 13–23.
- Eghball, B., Ginting, D., Gilley, J. E. (2004). Efectos residuales de las aplicaciones de estiércol y compost sobre la producción de maíz y las propiedades del suelo. *Agron. J.* 96:442–447.
- Eisenhauer, N., Bebler, H., Engels, C., Gleixner, G., Habekost, M., Milcu, A., Partsch, S., Sabais, A., Scherber, C., Steinbeiss, S., Weigelt, A., Weisser, W., Scheu, S. (2010). Los efectos de la diversidad de plantas en los microorganismos del suelo apoyan la hipótesis singular. *Ecology* 91(2):485-496.
- Eleonora, M., y Pineda, B. (2014). Microbiología del suelo. *Corpoica Cienc. Tecnol. Agropecu* (Vol. 15, Issue 1).
- Escobar, C., Horna, Y., Carreño, C., Mendoza, G. (2011). Caracterización de cepas nativas de *Azotobacter* spp. y su efecto en el desarrollo de *Lycopersicon esculentum* Mill. “tomate” en Lambayeque. *Scientia Agropecuaria*, 2(1), 39-49.
- Espinosa-Tasón, J., Barba, A. (2018). Reseña histórica de la problemática de contaminación por agroquímicos y mecanismos de regulación en Panamá. *Visión Antataura*, 2(1). Recuperado a partir de <https://www.revistas.up.ac.pa/index.php/antataura/article/view/154>

- Essalmani, H., Lahlou, H., (2003). Mecanismos de bioprotección de plantas de lenteja por *Rhizobium leguminosarum* contra *Fusarium oxysporum* sp. Lentis. *Comp. Rend Biol.* 326:1163-1173.
- Estrada-Bonilla, G. A., Bonilla-Buitrago, R. R., Divan Baldani, V. L. (2009). *Corpoica Cienc. Tecnol. Agropecu.* 10(2), 205-213.
- Fankem, H., Nwaga, D., Deubel, A., Dieng, W., Merbach, W. (2006). Occurrence and functioning of phosphate solubilizing microorganisms from oil palm tree (*Elaeis guineensis*) rhizosphere in Cameroon. *African Journal of Biotechnology* 5 (24): 2450- 2460.
- Food and Agriculture Organization. (2005). El estado de la inseguridad alimentaria en el mundo. Erradicar el hambre en el mundo: clave para alcanzar los Objetivos de Desarrollo del Milenio. Roma: FAO.
- Fortis, H. M., Leos, R. J. A., Preciado, R. P., Orona, C. I., García, S. J. A., García, H. J. L., y Orozco, V. J. A. (2009). Aplicación de abonos orgánicos en la producción de maíz forrajero con riego por goteo. *Terra Latinoamericana*, 27(4), 329-336.
- Franco, M. (2008). Evaluación de caracteres PGPR en Actinomicetos e interacciones de estas rizobacterias con hongos formadores de micorrizas. Tesis para optar el Grado de Doctor. Universidad de Granada. Facultad de Ciencias. Granada, España.
- Frankenberger, W.T., Arshad, M. (1995) Phytohormones in soils. *Microbial production and function.*
- Galindo, A., Jerónimo, C., Spaans, E., Weil, M. (2007). Los abonos líquidos fermentados y su efectividad en plántulas de papaya (*Carica papaya* L.). *Tierra Tropical*, 3(1), 1-6.

- Garcés, N. (2000). Obtención de sustancias Bioactivas de las plantas a partir de sustancias compostadas. Curso post evento. Facultad de Agronomía. UNAH. 1-8(11): 13- 22.
- García de Salamone, I. E., Hynes, R. K., Nelson, L.M. (2001). Producción de citoquininas por rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal y mutantes seleccionados. *Can. J. Microbiol.* 47:404-411.
- Girão, E., De Andrade, E., De Freitas, R., Morsyleide, Pereira de Araújo, L., Maia Meireles, A.C. (2007). Selección de indicadores de calidad de agua en el río Jaibaras mediante análisis de componentes principales. *Revista Ciencia Agronómica*, 38(1),17-24.
- Glick, B.R. (1995). The Enhancement of Plant Growth by Free Living Bacteria. *Canadian Journal of Microbiology*, 41, 109-117
- Gordon, R., Franco-Barrera, J., Villarreal, J., Smyth, T. (2015). Manejo de la fertilización fosforada en el cultivo de maíz, El Ejido, Panamá 2004-2013. *Agronomía Mesoamericana*, 27(1),95-108.
- Gordon, S. A., Weber, R. P. (1951). Colorimetric estimation of indoleacetic acid. *Plant physiology*, 26(1), 192.
- Google Earth. (2022). Capira, Panamá. Google Earth. <https://earth.google.com/web/@8.72500002,-80.05600001,455.51180484a,1000.40187406d,30y,0h,0t,0r/data=MikKJwolCiExcDRCZEViNWxzLTJVLXIEY2p0RkdCVXU2d0o4VF9aN1cgAToDCgEw?authuser=0>
- Grageda-Cabrera, O. A., Díaz-Franco, A., Peña-Cabriales, J. J., Vera-Nuñez, J. A. (2012). Impacto de los biofertilizantes en la agricultura. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 3(6), 1261-1274.

- Hassan, D. G., Zargar, M., Beigh, G. M. (1997). Biocontrol de la pudrición de la raíz por *Fusarium* en el frijol común (*Phaseolus vulgaris L.*) usando simbióticos *Glomus mosseae* y *Rhizobium leguminosarum*. *Mol. Ecol.* 34:74- 80.
- Hernández, B.; Cornejo, H.; F. Mejía. (2016). Manual de laboratorio del Curso de Microbiología Ambiental de suelos.
- Hernández, Y. (1998). Bacterias fijadoras asimbióticas de nitrógeno. *Revista Cubana de Ciencias Agrícolas*, 32.
- Holdridge, L.R. (1987). Ecología: basada en zonas de vida. San José, Costa Rica, *IICA*.216p.
- Hu, Q.P., Xu, J.G. (2011). Un simple ensayo en placa de agar cromo azurol S de doble capa (SDCASA) para optimizar la producción de sideróforos por un posible agente de biocontrol *Bacillus*. *Afr J Microbiol Res.* 2011; 5:4321–4327.
- Hucker, G., Conn, H. J., (1923). Methods of Gram Staining. *Tech. Bull. N.Y. Agric. Exp. Sta*93.
- Huschka, H. G., Jalal, M. A., Van der Helm, D., & Winkelmann, G. (1986). Molecular recognition of siderophores in fungi: role of iron-surrounding N-acyl residues and the peptide backbone during membrane transport in *Neurospora crassa*. *Journal of bacteriology*, 167(3), 1020-1024.
- Ibarra, J. (2016). Caracterización de bacterias solubilizadoras de fósforo nativas de los suelos de Sinaloa con potencial para incrementar el crecimiento y mejorar la nutrición fosforada del maíz (*Zea mays L.*). Tesis de maestría en recursos naturales y medio ambiente. Instituto Politécnico Nacional.

- Instituto colombiano agropecuario (ICA). 2006. Manual de buenas prácticas de distribución y manejo para insumos agropecuarios. *Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural*. Bogotá. pp. 12-17.
- Kibblewhite, M., Ritz, K., Swift, M. (2015). Salud del suelo en los sistemas agrícolas. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 363(1492):685-701.
- Kloepper, J., Leong, W.J., Teintze, M., Schroth, M. N. (1980). Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria. *Nature* 286: 885-886.
- Koller, M., Koch, R., Degen, B. (2014). Estrategias de fertilización en plantas ornamentales orgánicas. *Acta Horticulturae*, 1041, 47-52.
- Koshiba, T., Matsuyama, H. (1993). An in vitro system of indole-3-acetic acid formation from tryptophan in maize (*Zea mays*) coleoptile extracts. *Plant Physiol.* 102: 1319-1324.
- Kucho, K., Hay, A.E., Normand, P. (2010). The determinants of the actinorhizal symbiosis. *Microbes Environ* 25:231-240.
- Kumar, V., Menon, S., Agarwal, H., Gopalakrishnan, D. (2017). Caracterización y optimización de bacterias aisladas de muestras de suelo para la producción de sideróforos. *Resour Eff Technol.*
- Lam, H. M., Coschigano, K. T., Oliveira, I.C., Melo-Oliveira, R., Coruzii, G. M. (1996). The molecular genetics of nitrogen assimilation into amino acids in higher plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 47:569-593
- Lara, C., Oviedo, L., y Betancur, C. (2011). Bacterias nativas con potencial en la producción de ácido indolacético para mejorar los pastos. *Zootecnia Tropical*, 29(2), 187-194.

- Lebrazi, S., Fadil, M., Chraibi, M., Fikri-Benbrahim, K. (2020) Screening and optimization of indole-3-acetic acid production by *Rhizobium sp.* Strain using response surface methodology. *J Genet Eng Biotechnol* 18(1):1–10.
- Leng, P., Zhang, Z., Pan G., Zhao, M. (2011). Applications and development trends in biopesticides. *African Journal of Biotechnology*. 10(86): 19864-19873.
- Lindsay, W. L., Vlek, P. L., Chien, S. H. (1989). Phosphate minerals. *Minerals in soil environments, 1*, 1089-1130.
- Lizarro, C., y Restrepo, J. (2014). Biología de Suelos-Universidad de Antioquia. Obtenido de <https://biologiadesuelos2014.wordpress.com/organismos-del-suelo-2/microbiologiadel-suelo/hongos-del-suelo/>
- Loper, J. E., Schroth, M. N. (1986). Importance of siderophores in microbial interactions in the rhizosphere. pp. 77-84. In: T. R. Swinburne (ed.). Iron, siderophores and plant diseases. *Plenum Press*.
- Loreto, O. C., López, R. L., Espinoza, V. D. (2004). Bacterias promotoras del crecimiento vegetal asociadas con gramíneas: Una revisión. *Terra Latinoamericana*, 22(2), 225-239.
- Madigan, M., Martinko, J. (2005). Brock Biología de los Microorganismos. *Prentice Hall*. 1152 p.
- Malhotra, M., Srivastava, S. (2009). Stress-responsive indole-3-acetic acid biosynthesis by *Azospirillum brasilense* SM and its ability to modulate plant growth. *European journal of soil biology*, 45(1), 73-80.
- Mantilla, M. (2007). Evaluación de la acción de un bioinoculante sobre un cultivo de crisantemo (*Chrysanthemum morifolium* var. yoko ono) en periodo de enraizamiento. Tesis Microbiólogo Agrícola. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.

- Marschner, H. (1995) Functions of Mineral Nutrients: Micronutrients. *Mineral Nutrition of Higher Plants*, 2nd Edition, Academic Press
- Mayz-Figueroa, J. (2004). Fijación biológica de nitrógeno. *Revista Científica UDO Agrícola*, 4(1), 1-20.
- Mendes, R., Kruijt, M., De Bruijn, I., Dekkers, E., Van Der Voort, M., Schneider, J., Piceno, Y., Desantis, T., Andersen, G., Bakker, P., Raaijmakers, J. (2011). Descifrando el microbioma de la rizosfera para bacterias supresoras de enfermedades. *Science* 332:1097-1100.
- MIDA (Ministerio de Desarrollo Agropecuario). (2015). Estadísticas agropecuarias. Departamento de Planificación Sectorial. Región 1 Chiriquí. MIDA Panamá.
- Miethke, M., Marahiel, M.A., 2007. Adquisición de hierro basada en sideróforos y control de patógenos. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 71, 413–451.
- Milagres, A., Machuca, A., Napoleão, D. (1999). Detección de la producción de sideróforos de varios hongos y bacterias mediante una modificación del ensayo en placa de agar cromo azurol S (CAS). *Revista de métodos microbiológicos*. 37,1–6.
- Ministerio de Agricultura y Ganadería. Manual Buenas Prácticas Agrícolas en la Producción de Culantro Coyote.
- Mohite, B. (2013). Isolation and characterization of indole acetic acid (IAA) producing bacteria from rhizospheric soil and its effect on plant growth. *Journal of soil science and plant nutrition*, 13(3), 638-649.
- Molina-Romero, D., Bustillos-Cristales, M. R., Rodríguez-Andrade, O., Morales-García, Y. E., Santiago-Saenz, Y., Castañeda-Lucio, M., Muñoz-Rojas, J. (2015). Mecanismos de

- fitoestimulación por rizobacterias, aislamientos en América y potencial biotecnológico. *Biológicas*. 17. 24-34.
- Morales, J., Brunner, B., Flores, L., Martínez, S. (2013). Hoja Informativa: culantro orgánico. Proyecto de agricultura orgánica. Departamento de cultivos y ciencias agroambientales. Estación Experimental Agrícola de Lajas, Lajas, Puerto Rico. 11 p.
- Morales-García, Y., De la Torre, J., Duque, E., Pérez, R., Martínez, L., Martínez, R. (2013). Aspectos críticos para considerar para el aislamiento de bacterias benéficas, Saberes Compartidos, *Rev. Invest. Cient. Tecnol. Hum.*, vol. 11(7), pp. 54–62.
- Morales-García, Y., Duque, E., Rodríguez-Andrade, O., De la Torre, J., Contreras, R., Pérez, R., Muñoz-Rojas, J. (2010). Bacterias Preservadas, una Fuente Importante de Recursos Biotecnológicos. *BioTecnología*, vol. 14 (2), pp. 11–29.2010.
- Muñoz, L.A., Lucero, A.M. (2008). Efecto de la fertilización orgánica en el cultivo de papa criolla (*Solanum phureja*). *Agronomía Colombiana* 26(2): 340-346.
- Myint, A. K., Yamakawa, T., Kajihara, Y., Zenmyo, T. (2010). Aplicación de diferentes fertilizantes orgánicos y minerales sobre el crecimiento, rendimiento y acumulación de nutrientes del arroz en un arrozal común japonés. *Science World Journal*, 5(2), 47-54.
- Nava-Pérez, E., García-Gutiérrez, C., Camacho-Báez, J. R., Vázquez-Montoya, E. L. (2012). Bioplaguicidas: una opción para el control biológico de plagas. *Ra Ximhai*, 8(3b),17-29. [fecha de Consulta 26 de octubre de 2022]. ISSN: 1665-0441. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=46125177003>
- O’Sullivan D. J., O’Gara, F. (1992). Rasgos de *Pseudomonas spp fluorescentes*. involucrados en la supresión de patógenos de las raíces de las plantas. *Microbiol. Rev.* 56:662-676.

- Okon, Vanderleyden, J. (1997). Root-associated *Azospirillum* species can stimulate plants. In *ASM News* (Vol. 63, Issue 7). American Society for Microbiology
- Organización Mundial de la Salud. (1990). Plaguicidas. Informe Técnico No. 12. Organización Mundial de la Salud. Ginebra
- Ozidal, M., Gur, O., Sezen, A., Faruk, O. (2017). Producción continua de ácido indol-3-acético por células inmovilizadas de *Arthrobacter agilis*. *Revista Biotech*.
- Parfitt, R. L., Kimble, J. M. (1989). Conditions for formation of allophane in soils. *Soil Science Society of America Journal*, 53(3), 971-977.
- Parray, J. A., Jan, S., Kamili, A. N., Qadri, R. A., Egamberdieva, D., Ahmad, P. (2016). Current Perspectives on Plant Growth-Promoting Rhizobacteria. *J Plant Growth Regul* 35, 877–902 <https://doi.org/10.1007/s00344-016-9583-4>
- Patten, C.L., Glick, B.R. (1996) Bacterial biosynthesis on indole-3-acetic acid. *Can J Microbiol* 42(3):207–220
- Payne SM. (1993). Adquisición de hierro en la patogénesis microbiana. *Tendencias Microbiol.* 1:66–69.
- Perdomo, C., Barbazán, M. D. M. (1992). Área de suelos y aguas cátedra de fertilidad. *Area de suelos y aguas*. (p. 74).
- Perrine, F., Rolfe, B. G., Hynes, M., Hocart, C. H. (2004). Análisis de espectrometría de masas por cromatografía de gases de ácido indolacético y triptófano después de la derivatización acuosa con cloroformiato de exudados de *Rhizobium*. *Plant Physiol. Biochem.* 42:723-729.
- Pimentel, D., Lehman, H. (1993). La cuestión de los pesticidas. *Chapman and Hall*.

- Pimentel, D., Greiner, A. (1997). Costo ambiental y socioeconómico del uso de plaguicidas. Técnicas para Reducir el Uso: *Beneficios Ambientales y Económicos*, 51-78.
- Plenchette, C., Dauphin, C.C., Maynard, J.M., Fortin, J.A. (2005). Managing arbuscular mycorrhizal fungi in cropping systems. *Can. J. Plant Sci.* 85:31-40
- Polo L., E. A. (2021). Efecto de la aplicación de abono orgánico en la producción de biomasa y calidad nutritiva de pasto Guatemala (*Tripsacum laxum*), bajo dos frecuencias de corte. *Revista Saberes APUDEP*, 4(2), 18-27.
- Prassana, R., Kanchan, A., Ramakrishnan, B., Ranjan, K., Venkatachalam, S., Hossain, F., Shivay, Y.S., Krishnan, P., Nain, L. (2016). Cyanobacteria-based bioinoculants influence growth and yields by modulating the microbial communities favourably in the rhizospheres of maize hybrids. *European Journal of Soil Biology*. In: Tebee, C.C. (Ed). Pages 15-23. V 75
- Prinsen, E., Costacurta, A., Michiels, K., Vanderleyden, J., Van Onckelen, H. (1993). *Azospirillum brasilense* indole-3-acetic acid biosynthesis: evidence for a non-tryptophan dependent pathway. *Molecular Plant Microbe Interactions*, 6, 609-609.
- Ramcharan, C. 1999. Culantro: A much utilized, little understood herb. *Perspectives on new crops and new uses*.
- Ramos-Agüero, D., Terry, A., Elein, S., Carreño, F., Cabrera-Rodríguez, J.A. (2014). Bocashi: organic manure elaborated starting from residuals of bananas production in Bocas del Toro, Panama. *Cultivos Tropicales*, 35(2), 90-97.
- Rand, M. C. (1995). *Fundamentals of Aquatic Toxicology*, Cap.1, Second Edition.
- Restrepo-Franco, G. M., Marulanda-Moreno, S., de la Fe-Pérez, Y., Díaz-de la Osa, A., Lucia-Baldani, V., Hernández-Rodríguez, A. (2015). Bacterias solubilizadoras de fosfato y sus

- potencialidades de uso en la promoción del crecimiento de cultivos de importancia económica. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 46(1), 63-76.
- Rodríguez, H., Fraga, R (1999). Bacterias solubilizadoras de fosfato y su papel en la promoción del crecimiento vegetal. *Biotechnol. Adv.* 17:319-339
- Rodríguez, M., (1995). Microorganismos libres fijadores de nitrógeno. *Agromicrobiología: Elemento útil en la agricultura sustentable*. Colegio de Postgraduados. Montecillo, estado de México.
- Rodríguez, Y. (2004). Está bueno el culantro... *Panamá América*. Retrieved 23 July 2022, from <https://www.panamaamerica.com.pa/economia/esta-bueno-el-culantro-142456>
- Rodríguez-Chávez, J. (2022). *Microorganismos benéficos en la agricultura* - Centro Universitario CEICKOR. Retrieved 31 May 2022, from <https://www.centrouniversitarioceickor.edu.mx/home/2020/01/10/microorganismos-beneficos-en-la-agricultura/>
- Roychowdhury, D., Mondal, S., Banerjee, S.K. (2017) The Effect of Biofertilizers and the Effect of Vermicompost on the Cultivation and Productivity of Maize - A Review. *Adv Crop Sci Tech* 5: 261.
- Rubio, G. (2002). Conectando el fósforo del suelo con la planta. *Informaciones agronómicas del cono sur* 16: 19:23.
- Russoa, O. R. (2001). Abono orgánico foliar preparado a partir de frutos fermentados sobre el crecimiento de *Vochysia guatemalensis* en el trópico húmedo costarricense. *Revista de Agricultura Sostenible*, 18(2-3), 161-166.

- Salazar, A. M., Ordoñez, C. A. Aislamiento e identificación de actinomicetos fijadores de nitrógeno en el suelo del Jardín Botánico de la Universidad Tecnológica de Pereira. UTP. Trabajo de Grado, Química Industrial. 2013. 115p.
- Salazar, J., Aldana, M. (2011). Herbicida glifosato: usos, toxicidad y regulación. *BIOtecnia*, 8 (2), 23-28.
- Salcedo E., Astudillo, A. (2018): "Marketing estratégico para impulsar la comercialización del Biól a los agricultores del Cantón Salitre", *Revista Observatorio de la Economía Latinoamericana*.
- Santi, C., Bogusz, D., Franche, C. (2013) Biological nitrogen fixation in non-legume plants. *Ann Bot* 111:743-767
- Sanyal, S. K., De Datta, S. K. (1991). Chemistry of phosphorus transformations in soil. *Advances in soil science* (pp. 1-120). Springer, New York, NY.
- Saraf, M., Pandya, U., Thakkar, A., (2014). Papel de los aleloquímicos en las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal para el biocontrol de fitopatógenos. *Microbiological Research*, 169, 18–29.
- Satyaprakash, M., Nikita, T., Reddi, E. U. B., et al. (2017). Phosphorous and phosphate solubilising bacteria and their role in plant nutrition. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 6 (4): 2133-2144.
- Schlatter, D., Kinkel, L., Thomashow, L., Weller, D., Paulitz, T. (2017). Disease Suppressive Soils: New Insights from the Soil Microbiome. *Phytopathology*, 107(11), 1284–1297. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-03-17-0111-RVW>
- Schmidt, J. E., Gaudin, A. C. M., (2018). What is the agronomic potential of biofertilizers for maize? A meta-analysis, *FEMS Microbiology Ecology*. 94 (7).

- Schwyn, B. y Neilands, J.B., (1987). Ensayo químico universal para la detección y determinación de sideróforos. *Bioquímica analítica*, 160, 47–56.
- Seoáñez, M. (1999). Contaminación del suelo; tratamiento y gestión. *Ediciones MundiPrensa* pp. 547-577.
- Sessitsch J., Howieson, X., Perret, H., Antoun, H., Martínez-Romero, E. (2002). Avances en la investigación de Rhizobium. *Crit. Rev. Plant Sci.* 21:323-378.
- Sharma, S., Gupta, R., Dugar, G., Srivastava, A. (2012). Impact of application of biofertilizers on soil structure and resident microbial community structure and function. *Bacteria in Agrobiolology: Plant Probiotics*. pp. 65-79.
- Shin, S. H., Lim, Y., Lee, S. E., Yang, N. W., & Rhee, J. H. (2001). Ensayo de difusión en agar CAS para la medición de sideróforos en fluidos biológicos. *Revista de métodos microbiológicos.*, 44(1), 89–95.
- Singh, J., Pandey, V. (2011). Microorganismos eficientes del suelo: una nueva dimensión para la agricultura sostenible y el desarrollo ambiental. *Singh Agriculture, Ecosystems and Environment* 140:339-353.
- Siura, S., Davila, S. (2008). Efecto de la rotación cultivo, uso de abono verde y biol en la producción de espinaca orgánica (*Spinacea oleracea*). *16º Congreso Mundial Orgánico de IFOAM*, Modena, Italia, June 16-20.
- Spaepen, S., Vanderleyden, J., Okon, Y. (2009) Plant growth-promoting actions of rhizobacteria. *Adv Bot Res* 51:283–320.
- Standley, P. C., Williams, L. O. (1969). Flora of Guatemala. *Fieldiana Botany* 24(8,4).

- Stefouli, M., Dimitrakopoulos, D., Papadimitrakis, J., Charou, E. (2005). Monitoreo y evaluación de aguas internas (lagos) utilizando datos operativos nacidos en el espacio y mediciones de campo. *Agua europea* (Vol. 9).
- Stevens, W. D., Ulloa, C., Pool, A., Montiel, O. M. (2001). Flora de Nicaragua. Vol. 85, tomos I, II y III. *Missouri Botanical Garden Press*.
- Stintzi, A., Barnes, C., Xu, J., & Raymond, K. N. (2000). Microbial iron transport via a siderophore shuttle: a membrane ion transport paradigm. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(20), 10691-10696.
- Subba, N. (1982). Solubilización de fosfato por microorganismos del suelo. *Avances en Microbiología Agrícola*, Oxford y IBH., pp. 1–149.
- Suchini-Ramírez, J.G. (2012) Innovaciones agroecológicas para una producción agropecuaria sostenible en la región del Trifinio. *Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE)*.
- Tanwar, S., Shaktawat, M. (2003). Influence of phosphorus sources, levels and solubilizers on yield, quality, and nutrient uptake of soybean (*Glycine max*)-wheat (*Triticum aestivum*) cropping system in southern Rajasthan. *Indian J Agric Sci* 73(1):3–7.
- Taurian, T., Anzuay, M., Angelini, G., Tonelli, M., Ludueña, L., Pena, D., Ibáñez, F., Fabra, A. 2010. Phosphate-solubilizing penaut associated bacteria: screening for plant growth-promoting activities. *Plant and Soil*. Vol. 329, pp. 421-431.
- Tripti, Kumar, V., Anshumali. (2012). Phosphate Solubilizing Activity of Some Bacterial Strains Isolated from Chemical Pesticide Exposed Agriculture Soil. *International Journal of Engineering Research and Development*.

- Ubalua, A. O. (2007). Desechos de yuca: opciones de tratamiento y alternativas de valor agregado. *Revista Africana de Biotecnología*, 6(18), 2065-2073.
- Umesha, S., Srikantaiah, M., Prasanna, K. S., Sreeramulu, K. R., Divya, M., & Lakshmipathi, R. N. (2014). Comparative effect of organics and biofertilizers on growth and yield of maize (*Zea mays. L*). *Curr. Agri. Res. Jour*, 2(1), 55-62.
- Vandevivere, P., C. Ramírez. (1995). Microorganismos y nutrientes en abonos orgánicos: Bioensayo microbiano para determinar los nutrientes disponibles en abonos orgánicos. *Boletín Técnico de la Estación Experimental Fabio Baudrit M.* 28(2). P90-96.
- Velasco-Jiménez, A., Castellanos-Hernández, O., Acevedo-Hernández, G., Aarland, R. C., Rodríguez-Sahagún, A. C. (2020). Bacterias rizosféricas con beneficios potenciales en la agricultura. *Terra Latinoamericana*, 38(2),333-345. [fecha de Consulta 26 de octubre de 2022]. ISSN: Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57363391010>
- Vessey J. (2003). Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal como biofertilizantes. *Plant Soil* (255):571–586.
- Villachica, H. (1996). Frutales y hortalizas promisorios de la Amazônia. *Lima: Tratado de Cooperacion Amazônica*, 1996, 385p.
- Winkelmann, G. (1991). Specificity of iron transport in bacteria and fungi. In: *Handbook of Microbial Iron Chelates*. pp:14-60.
- Winkelmann, G. (2002). Microbial siderophore-mediated transport. *Biochemical Society transactions*.
- Young, I., Crawford, J. (2004). Interacciones y Autoorganización en el Complejo Suelo-Microbio. *Science* 304:1634-1637.

- Zahran, H.H. (1999). Rhizobium–legume symbiosis and nitrogen fixation under severe conditions and in an arid climate. *Microbiol. Molecular Biol. Reviews* 63(4): 968–989
- Zhang, H., Sun, Y., Xie, X., Kim, M.S., Dowd. S.E., Paré, P.W. (2009) A soil bacterium regulates plant acquisition of iron via deficiency inducible mechanisms. *Plant J.* 58: 568-577.
- Zuberer, D. (1998). Biological Dinitrogen Fixation: Introduction and Nonsymbiotic. Applications of soil microbiology. In *Biological Dinitrogen Fixation: Introduction and Nonsymbiotic*. New Jersey: Prentice Hall.

ANEXOS

Anexo 1. Medios de cultivo

Medio agar tripticasa soya (Himedia®)

Ingredientes	Gramos / Litro
Triptona	17.000
Peptona de soja	3.000
Cloruro de sodio	5.000
Dextrosa (Glucosa)	2.500
Fosfato de hidrógeno dipotásico	2.500
Agar	15.000
pH final	7.3±0.2

Medio Ashby Manitol Agar (Himedia®)

Ingredientes	Gramos / Litro
Manitol	20.000
Fosfato de hidrógeno dipotásico	0.200
Sulfato de magnesio	0.200
Cloruro de sodio	0.200
Sulfato de potasio	0.100
Carbonato de calcio	15.000
Agar	15.000
pH final	7.4±0.2

Medio Pikovskaya Agar (Himedia®)

Ingredientes	Gramos / Litro
Extracto de levadura	0.500
Dextrosa	10.000
Fosfato de calcio	5.000
Sulfato de amonio	0.500
sulfato de manganeso	0.0001
Sulfato de hierro	0.0001
Agar	15.000
pH final	7.0 ± 0.2

Anexo 2. Reactivo de Salkowski

HClO ₄ al 35%	49 mL
FeCl ₃ al 0.5 M	2 mL
Agua destilada	49 mL

Anexo 3. Curva de calibración

Tabla 17. Datos de la curva de calibración AIA

Concentración AIA	Absorbancia 530 nm
1	0.029
5	0.088
10	0.202
15	0.339
20	0.497
30	0.773
40	1.198
50	1.369
60	1.753

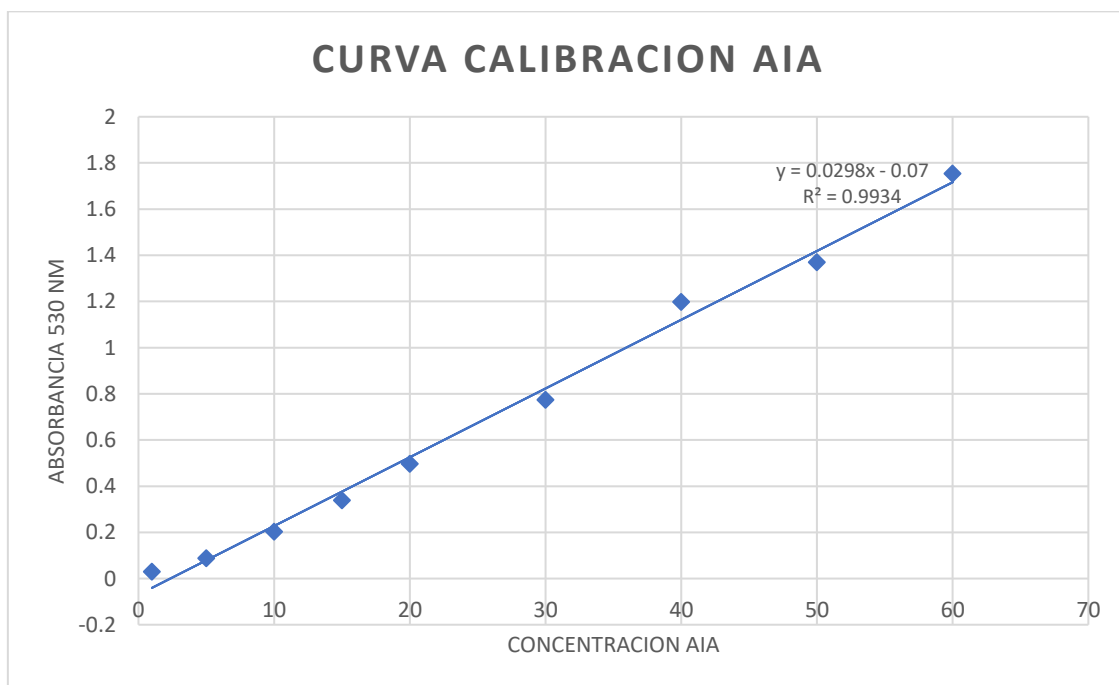


Figura 11. Curva de calibración AIA

Anexo 4. Morfología celular de las cepas

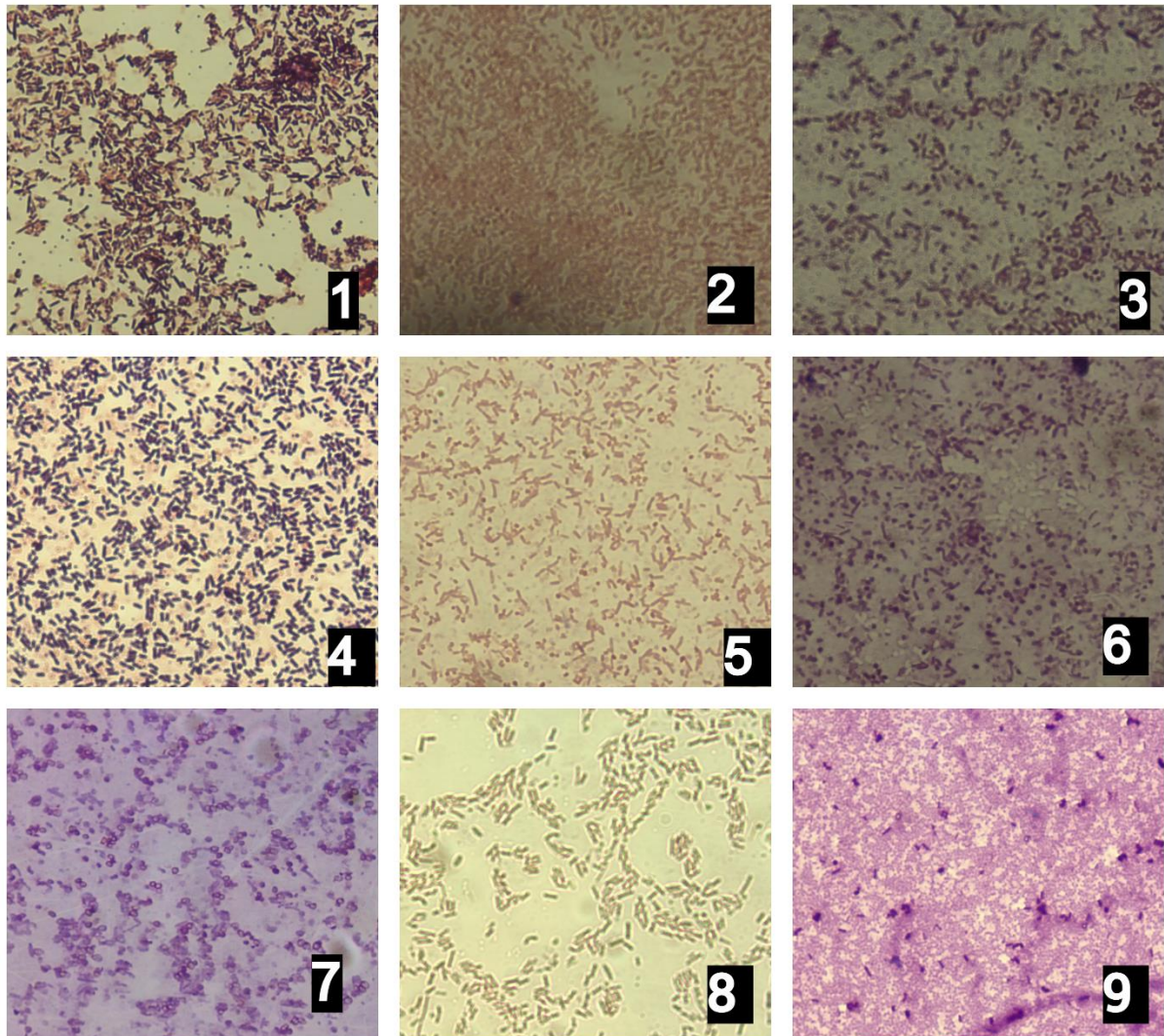


Figura 12. Tinción de Gram de las cepas 1-9

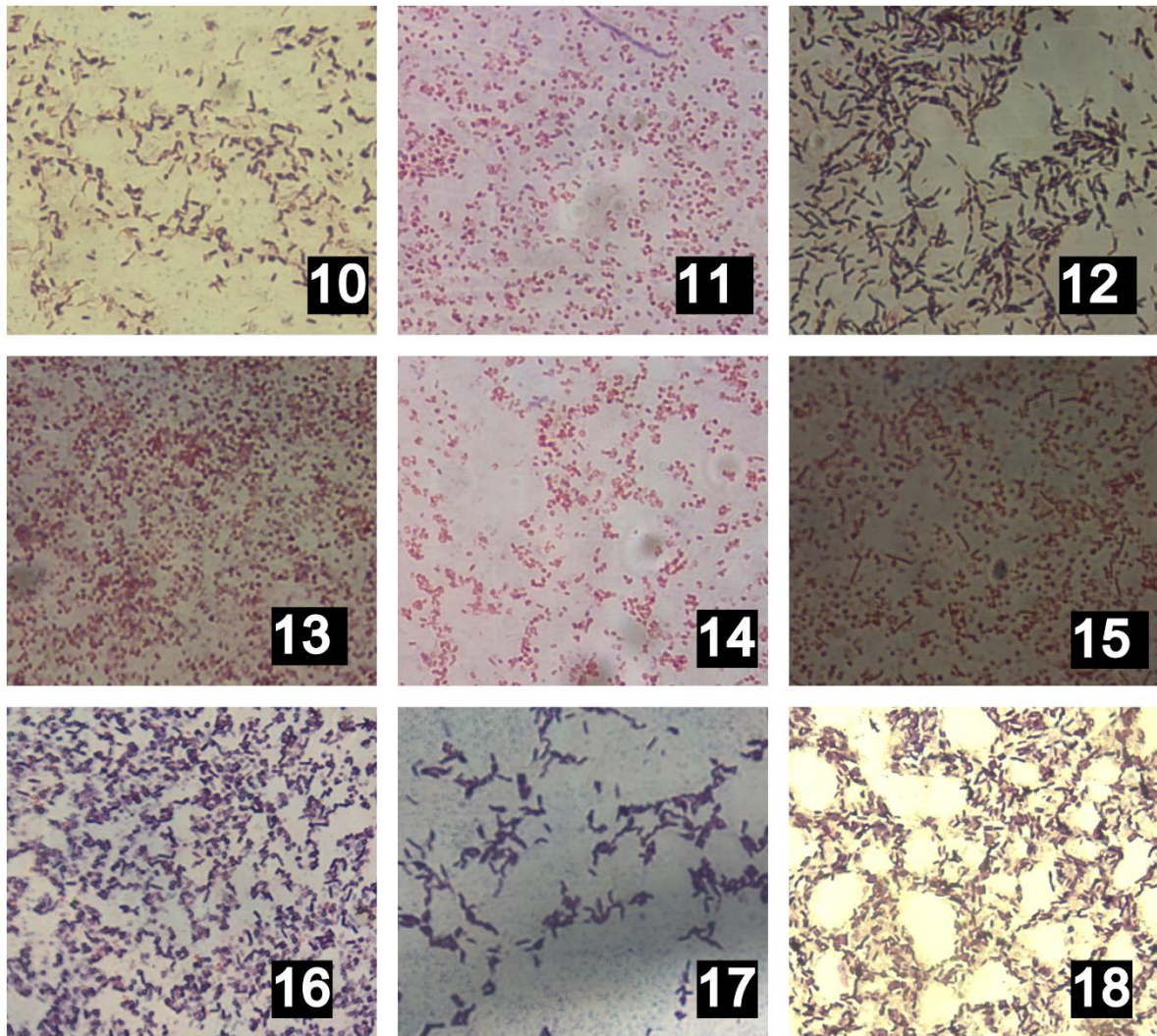


Figura 13. Tinción de Gram de las cepas 10-18

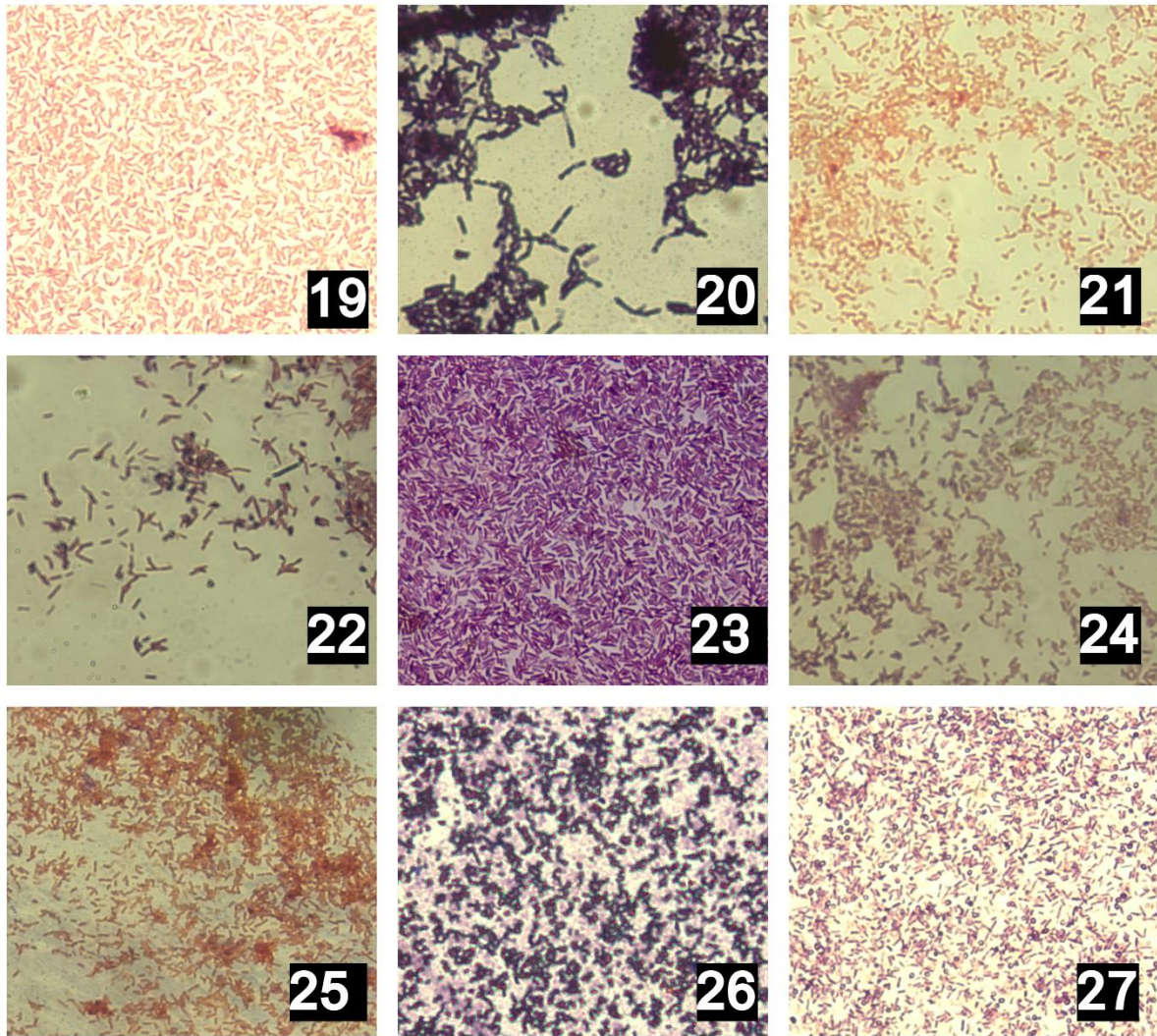


Figura 14. Tinción de Gram de las cepas 19-27

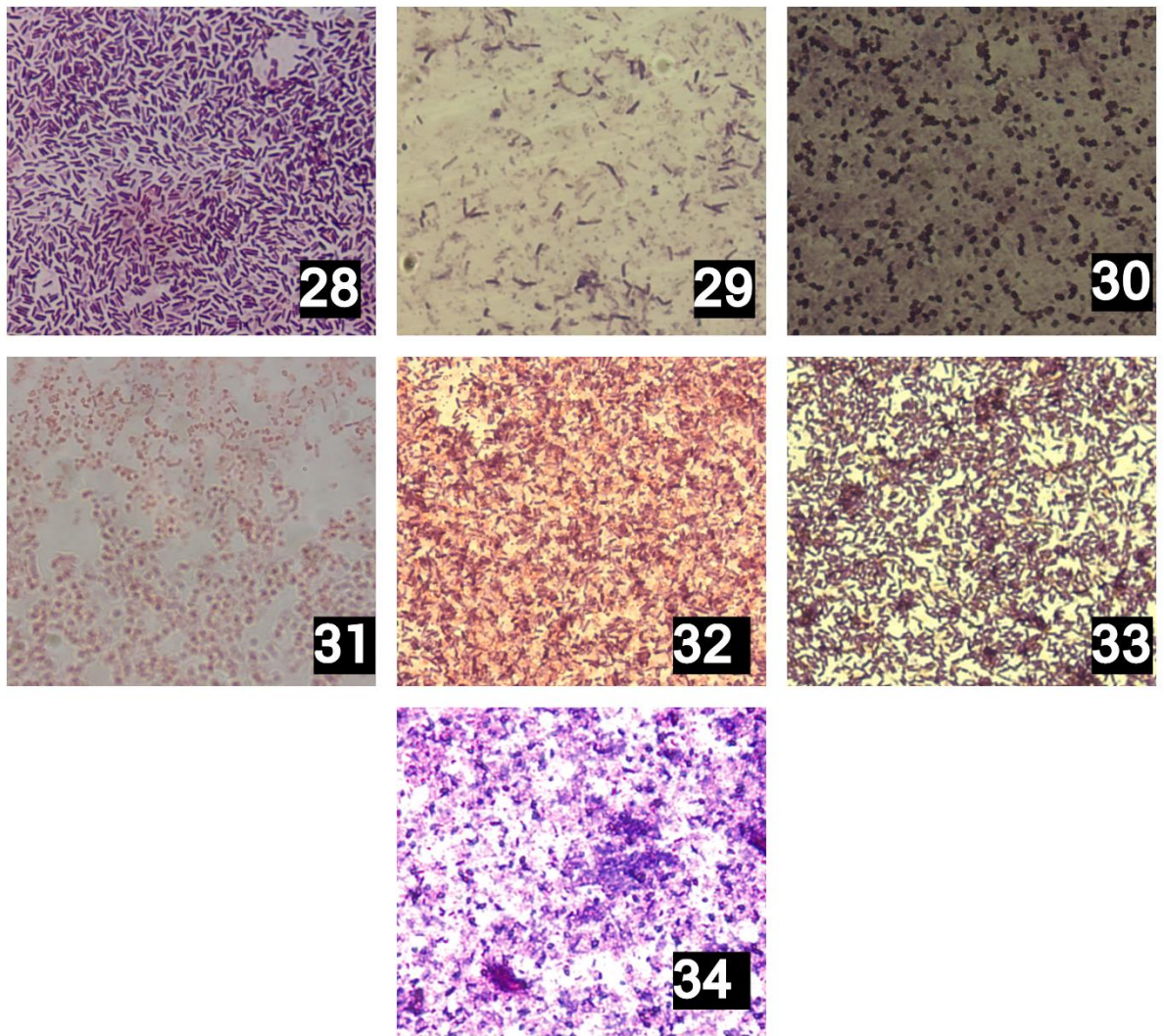


Figura 15. Tinción de Gram de las cepas 28-34

Anexo 5. Estimación cualitativa de la producción de Sideróforos

Tabla 18. *Medición de la reacción CAS*

Cepa	5^{to} día	10^{mo} día	15^{vo} día
1	1.3±0.1	1.2±0.2	2.3±1.6
2	0.8±0.3	5.7±6.4	6.5±6.5
3	3.3±1.5	7.0±4.4	23.0±0.0
4	1.6±0.2	4.3±3.2	11.0±10.8
5	0.6±0.5	11.3±6.1	9.5±6.1
6	2.7±0.6	23.0±0.0	23.0±0.0
7	2.7±0.6	23.0±0.0	23.0±0.0
8	3.3±1.5	23.0±0.0	23.0±0.0
9	3.7±1.2	23.0±0.0	23.0±0.0
10	2.7±0.6	23.0±0.0	23.0±0.0
11	3.7±1.2	23.0±0.0	23.0±0.0
12	11±10.4	23.0±0.0	23.0±0.0
13	13±8.7	16.7±5.7	21.0±3.5
14	7.0±1.5	23.0±0.0	23.0±0.0
15	15.0±9.3	18.0±8.7	23.0±0.0
16	22.0±1.2	22.7±0.6	23.0±0.0
17	6.0±4.4	9.0±5.3	23.0±0.0
18	8.0±5.0	23.0±0.0	23.0±0.0
19	8.0±7.8	23.0±0.0	23.0±0.0
20	10.7±8.1	23.0±0.0	23.0±0.0
21	7.0±6.9	19.0±5.3	19.0±5.3
22	5.0±4.4	19.7±2.9	19.7±2.7
23	10.0±6.8	19.0±7.5	19.0±7.5
24	1.7±1.2	3.3±1.5	8.3±2.5
25	7.0±3.0	9.3±2.5	23.0±0.0
26	0.8±0.3	1.0±0.0	2.2±1.0
27	0.9±0.4	7.3±4.6	8.0±4.4
28	1.0±0.2	5.3±4.0	17.3±8.1
29	1.4±0.8	17.3±8.1	17.3±8.1
30	0.7±0.3	3.4±3.1	12.0±9.6
31	1.8±0.4	16.0±9.6	16.0±9.6
32	0.3±0.2	1.3±0.6	1.4±0.5
33	1.5±0.9	14.3±9.0	14.3±9.0
34	1.0±0.9	4.7±4.7	12.0±9.6

Los datos están representados por la media de 3 repeticiones. ± desviación estándar

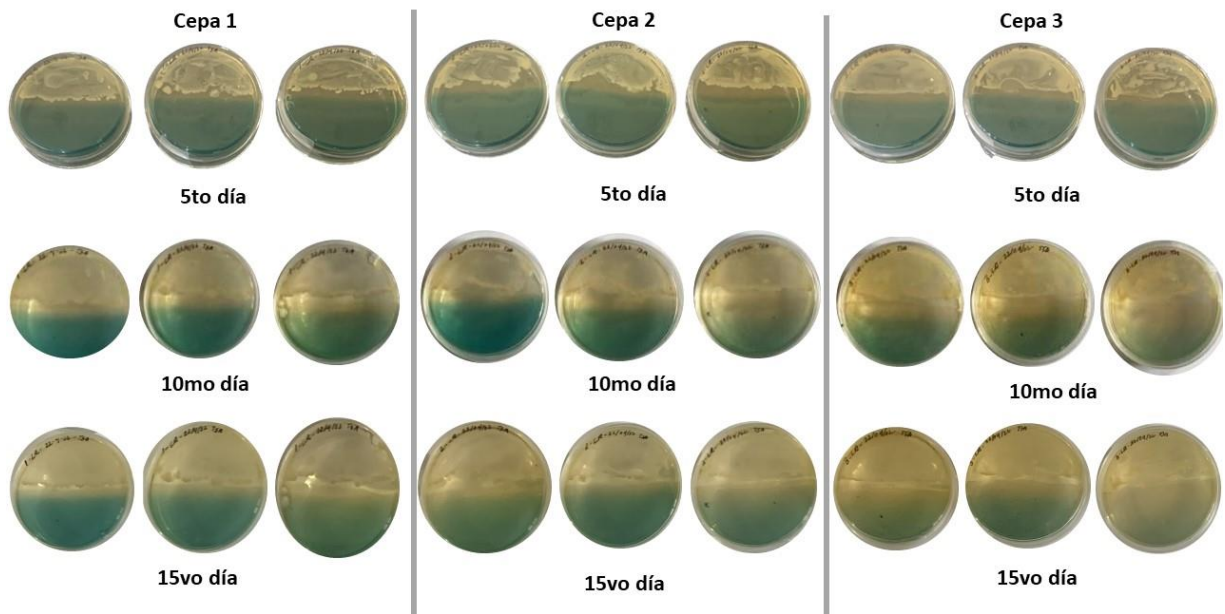


Figura 16. Reacción CAS de las cepas 1-3

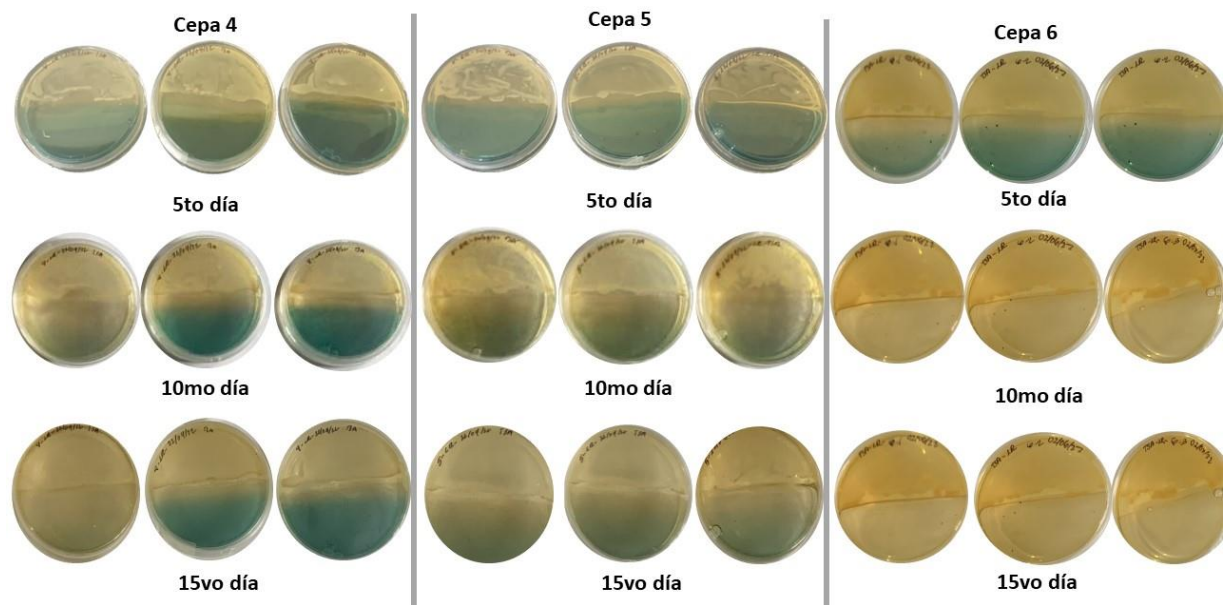


Figura 17. Reacción CAS de las cepas 4-6

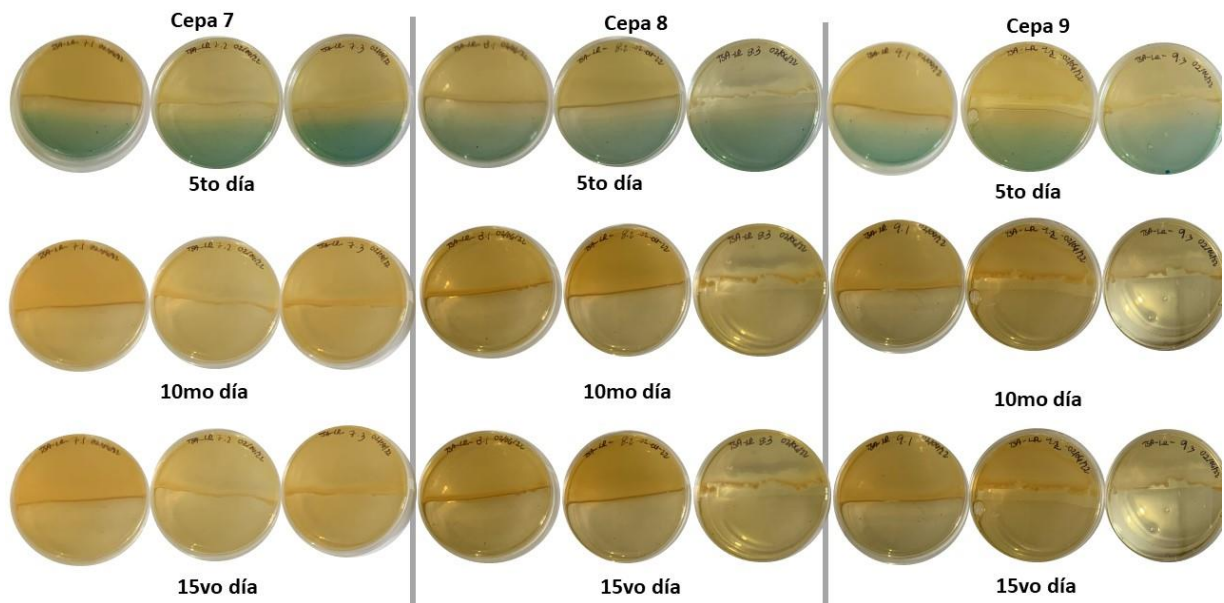


Figura 18. Reacción CAS de las cepas 7-9

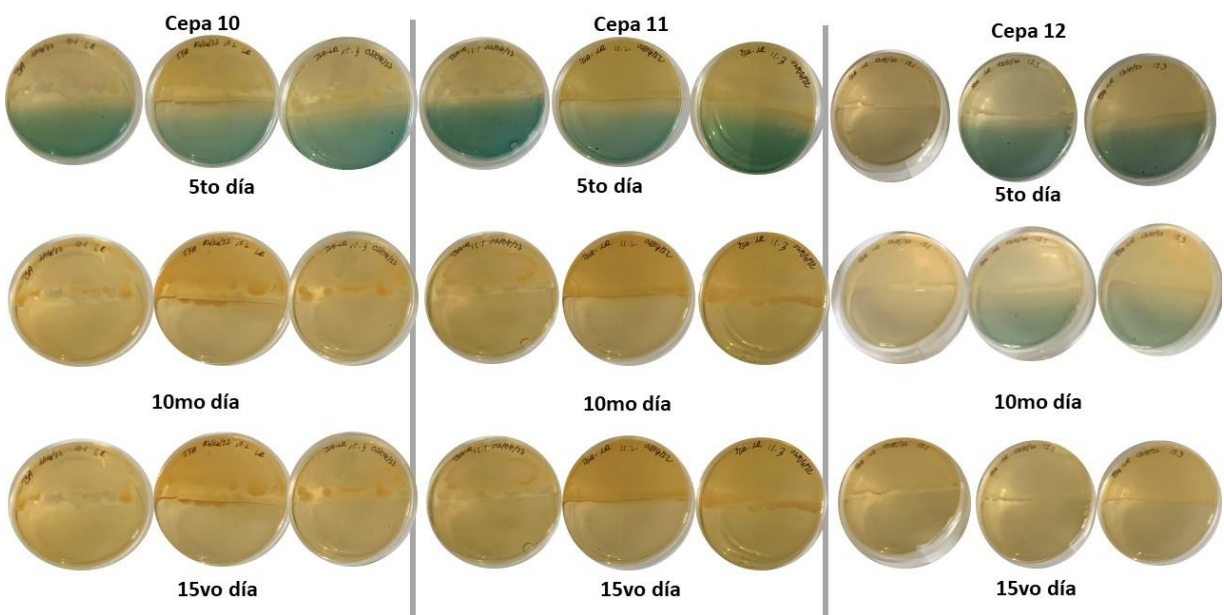


Figura 19. Reacción CAS de las cepas 10-12

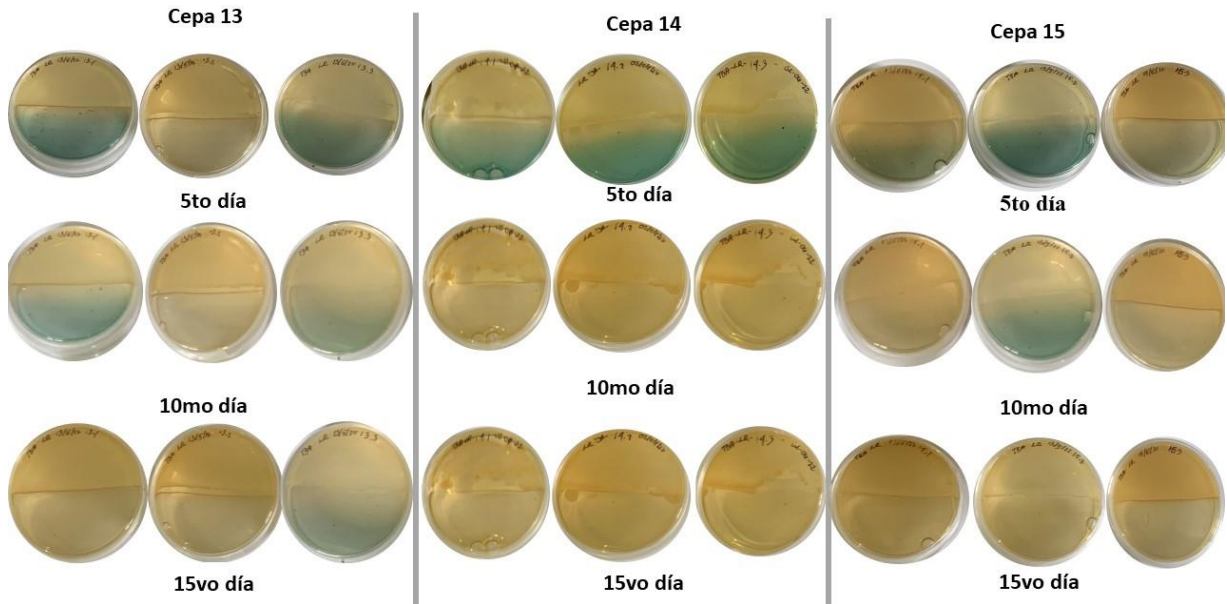


Figura 20. Reacción CAS de las cepas 13-15

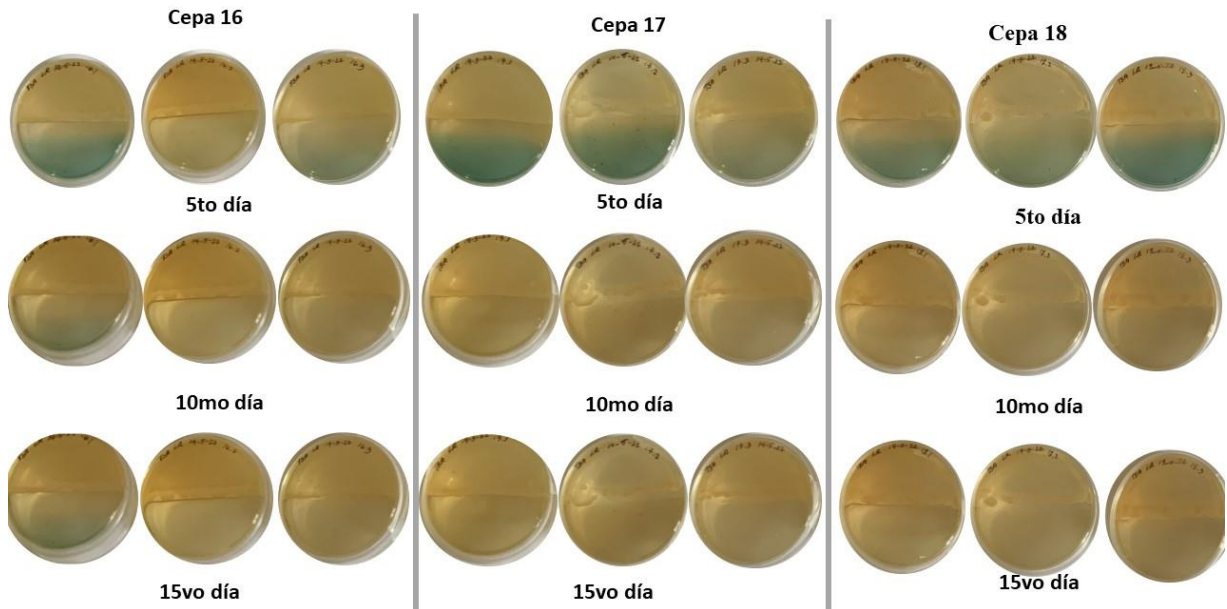


Figura 21. Reacción CAS de las cepas 16-18

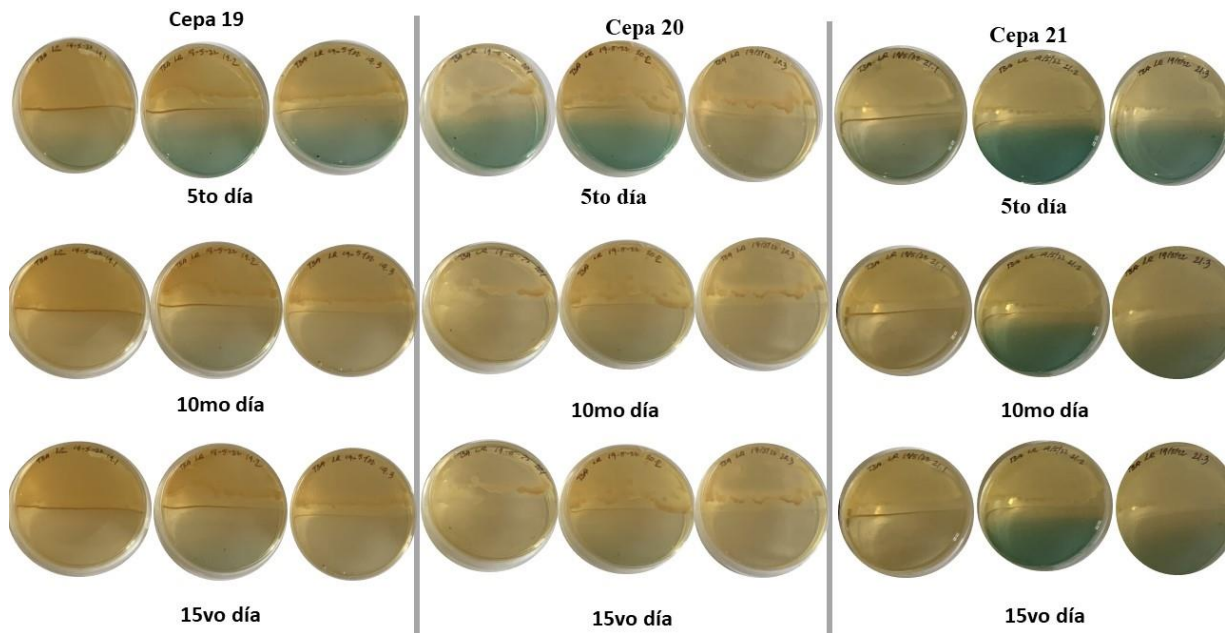


Figura 22. Reacción CAS de las cepas 19-21

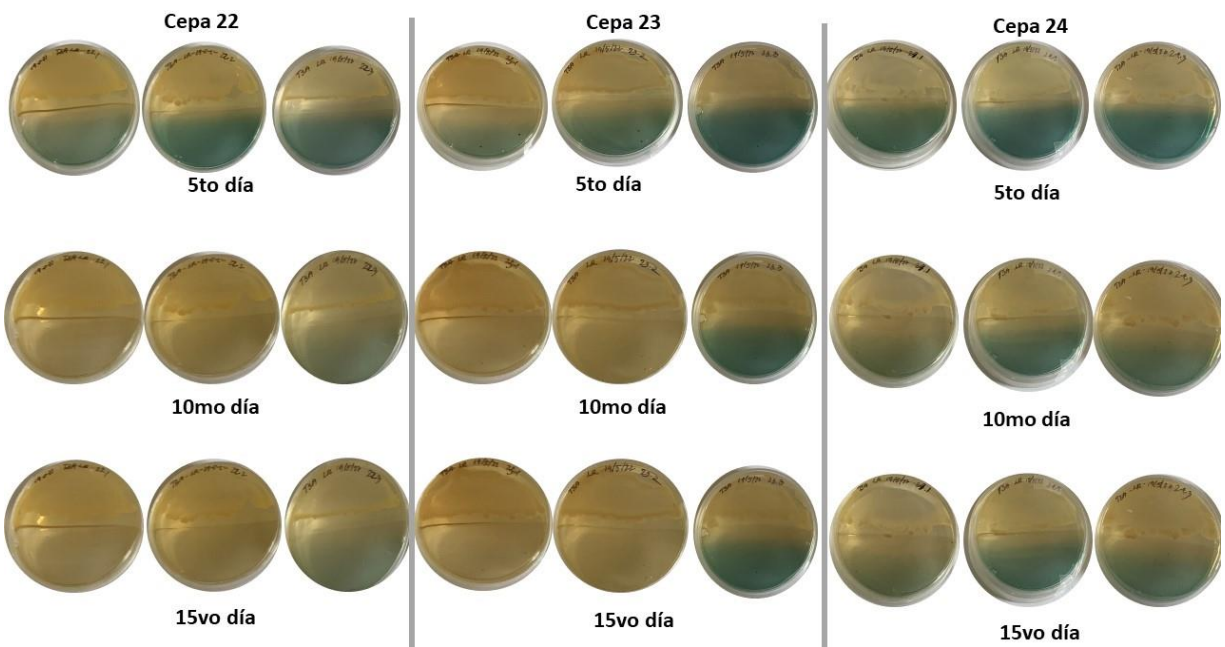


Figura 23. Reacción CAS de las cepas 22-24

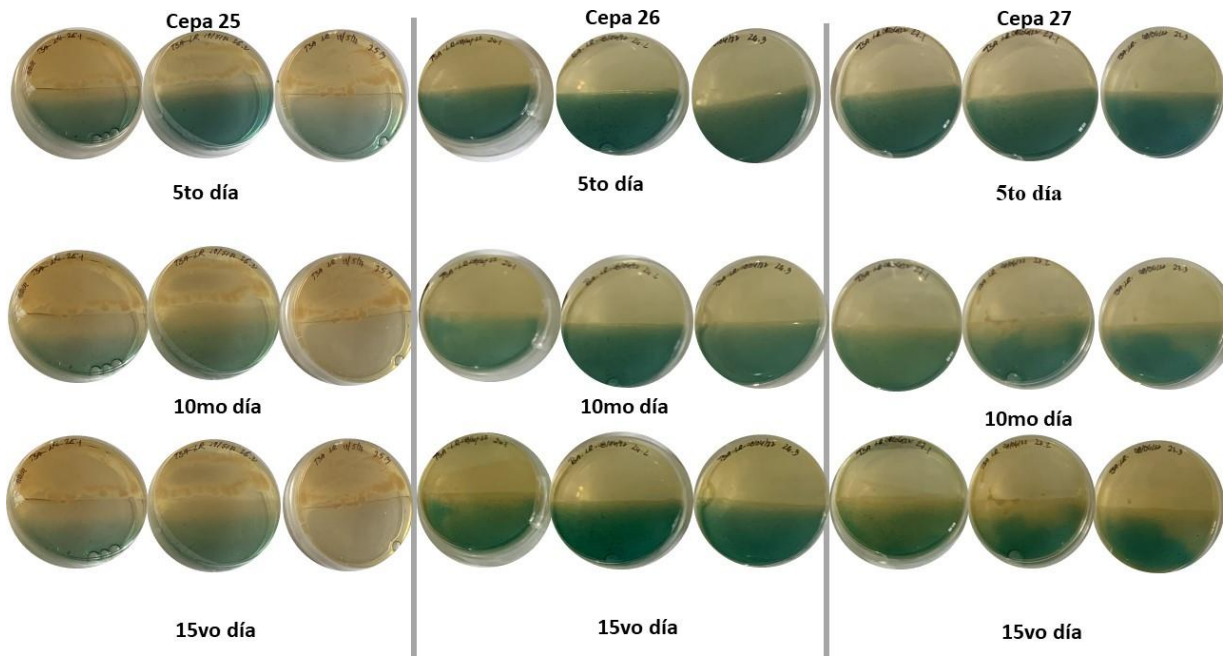


Figura 24. Reacción CAS de las cepas 25-27

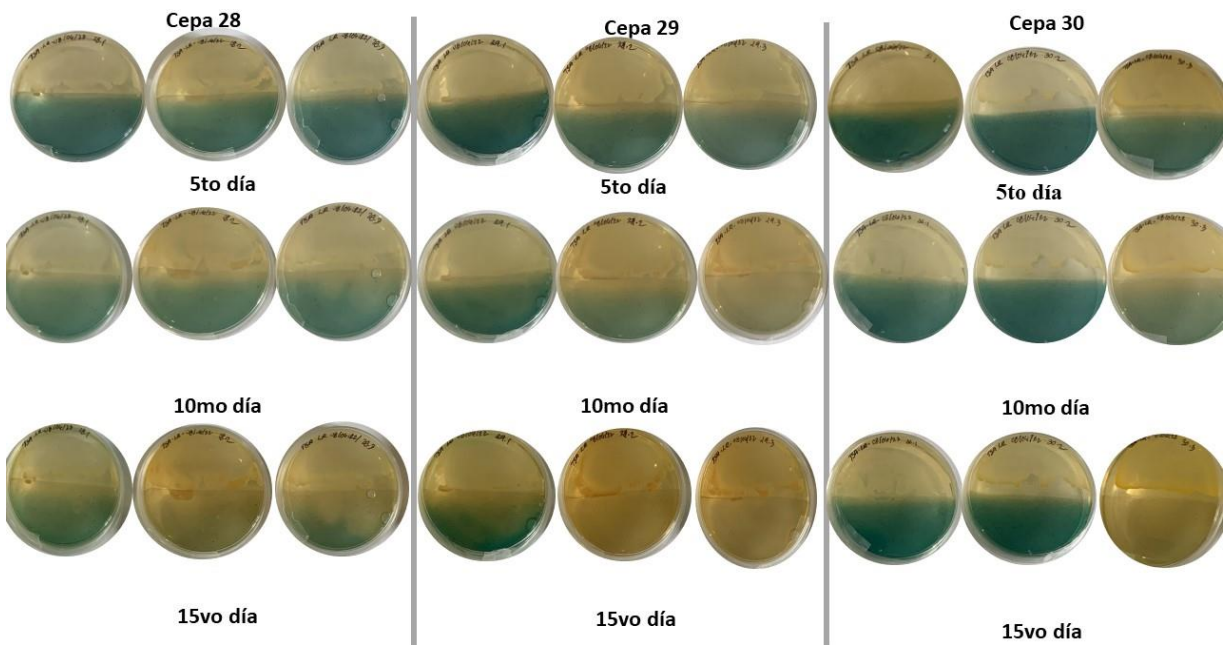


Figura 25. Reacción CAS de las cepas 28-30

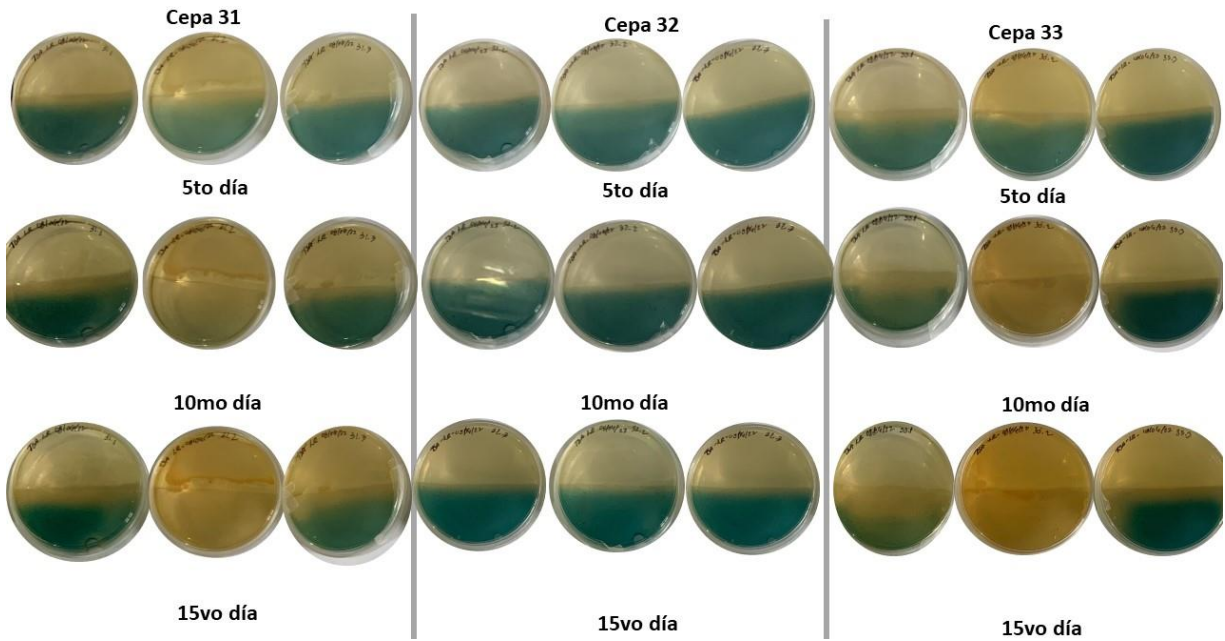


Figura 26. Reacción CAS de las cepas 31-33

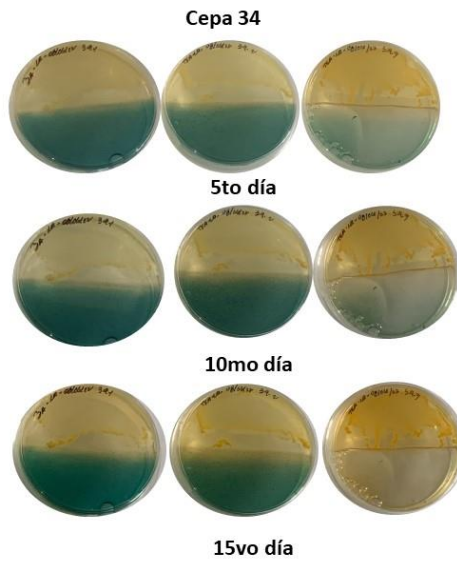


Figura 27. Reacción CAS de la cepa 34

Anexo 6. Síntesis de AIA

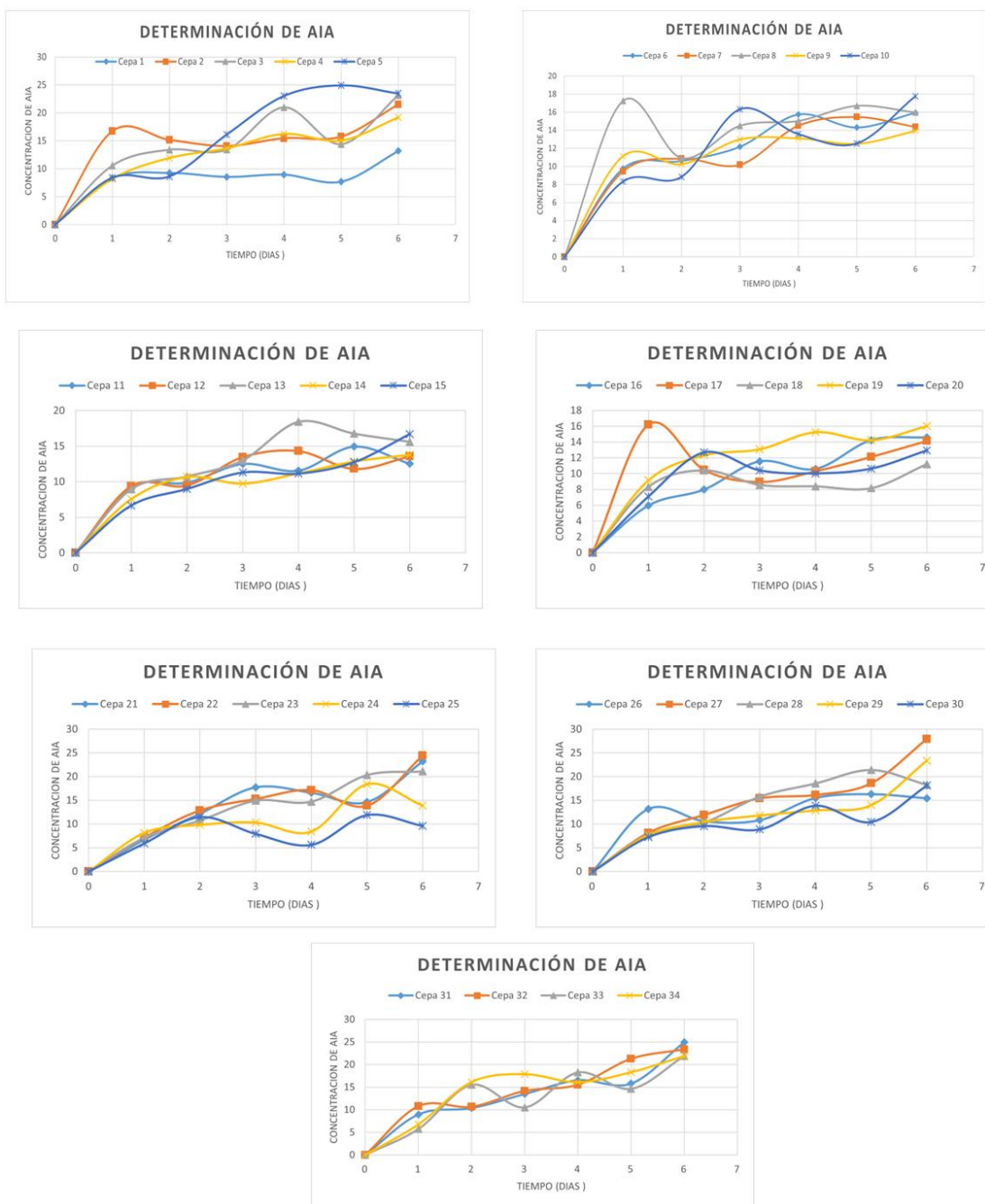


Figura 28. Producción de AIA en 6 días de crecimiento

Anexo 7. Análisis estadístico

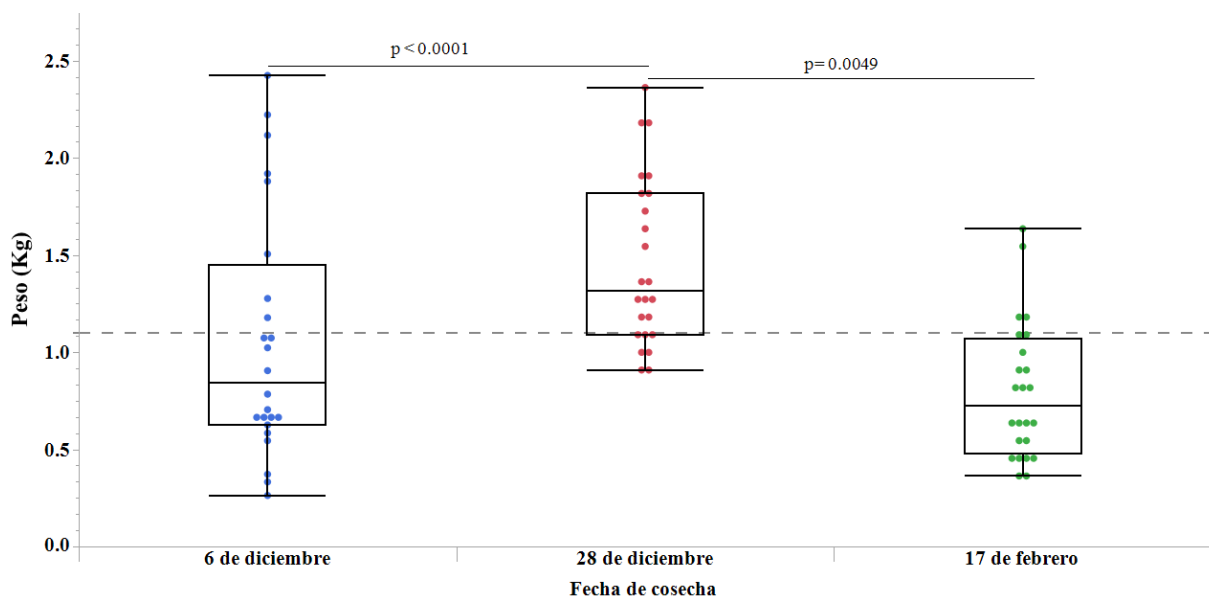


Figura 29. Rendimiento total en 3 fechas de cosecha diferentes.

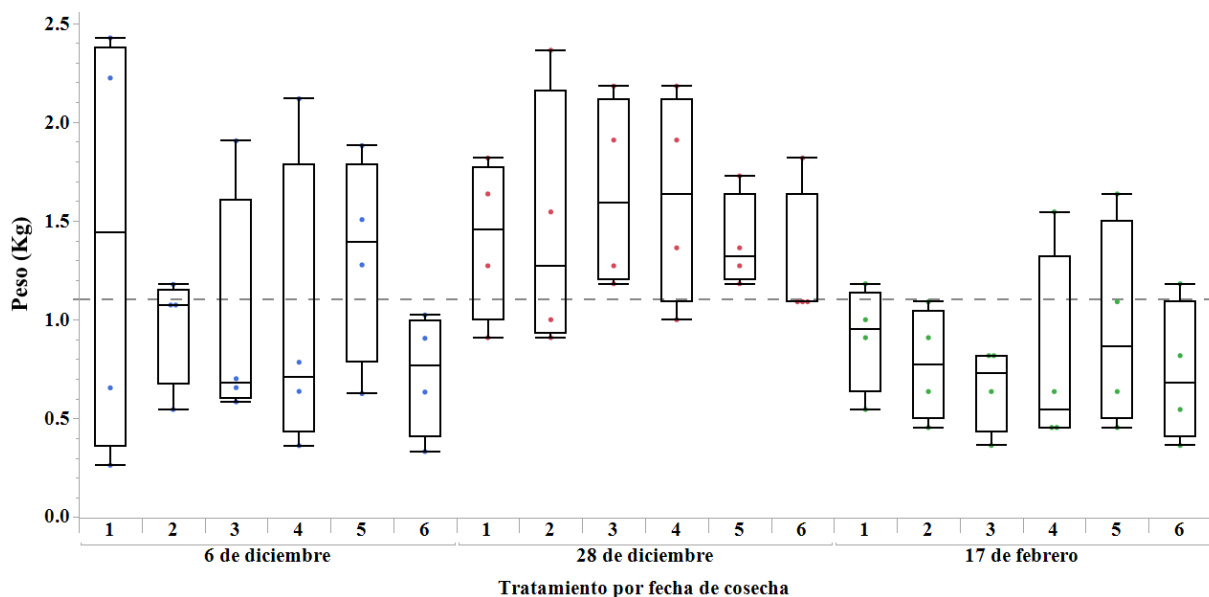


Figura 30. Rendimiento de los tratamientos y control (T6) en 3 fechas de cosecha diferentes

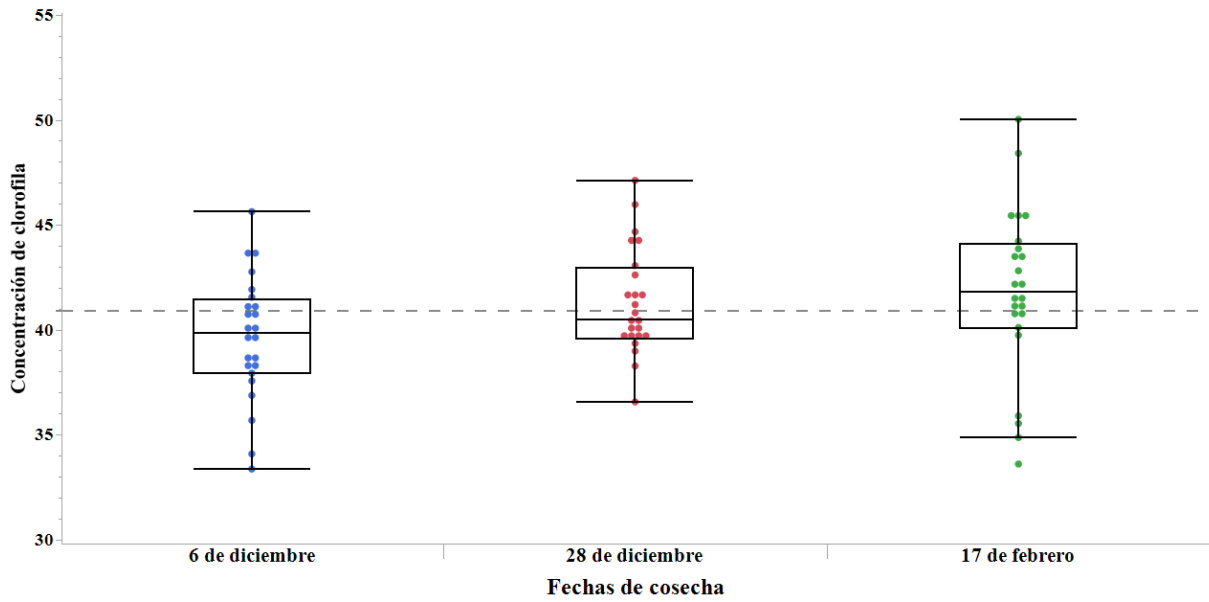


Figura 31. Concentración de clorofila total en 3 fechas de cosecha diferentes.

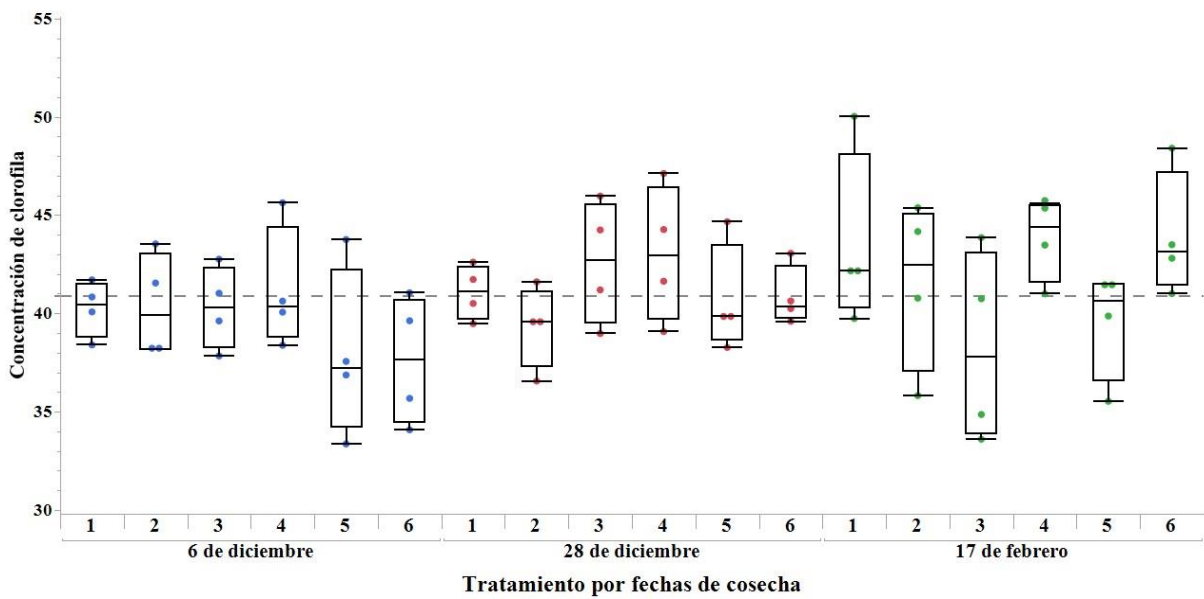


Figura 32. Concentración de clorofila de los tratamientos en 3 fechas de cosecha diferentes.

Anexo 8. Cosecha de culantro



Figura 33. Sitio de estudio



Figura 34. Parcela de culantro (*Eryngium foetidum* L.)