



UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE CUENCA

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo

**UNIDAD ACADÉMICA DE INGENIERIA,
INDUSTRIA Y CONSTRUCCIÓN**

CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL

**IDENTIFICACIÓN DE CEPAS BACTERIANAS FIJADORAS DE
NITRÓGENO DENTRO DEL CEPARIO DEL CITT PARA SU
POSTERIOR EXPERIMENTACIÓN EN FABRICACIÓN DE
BIOFERTILIZANTES**

**PROYECTO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN
DEL TÍTULO DE INGENIERO AMBIENTAL**

AUTOR: MARTÍN ALEJANDRO ULLOA WILCHES

DIRECTOR: PAULA MILENA CORDERO CUEVA

CUENCA - ECUADOR

2024

DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO



**UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA
UNIDAD ACADÉMICA DE INGENIERÍA, INDUSTRIA Y
CONSTRUCCIÓN**

CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL

**IDENTIFICACIÓN DE CEPAS BACTERIANAS FIJADORAS
DE NITRÓGENO DENTRO DEL CEPARIO DEL CITT PARA SU
POSTERIOR EXPERIMENTACIÓN EN FABRICACIÓN DE
BIOFERTILIZANTES**

**PROYECTO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN
DEL TÍTULO DE INGENIERO AMBIENTAL**

AUTOR: MARTIN ALEJANDRO ULLOA WILCHES

DIRECTOR: PAULA MILENA CORDERO CUEVA

CUENCA- ECUADOR

2024

DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESAROLLO

DECLARATORIA DE AUTORÍA Y RESPONSABILIDAD

Martín Alejandro Ulloa Wilches portador de la cédula de ciudadanía N° 0107341422. Declaro ser el autor de la obra: "IDENTIFICACIÓN DE CEPAS BACTERIANAS FIJADORAS DE NITRÓGENO DENTRO DEL CEPARIO DEL CITT PARA SU POSTERIOR EXPERIMENTACIÓN EN FABRICACIÓN DE BIOFERTILIZANTES", sobre la cual me hago responsable sobre las opiniones, versiones e ideas expresadas. Declaro que la misma ha sido elaborada respetando los derechos de propiedad intelectual de terceros y eximo a la Universidad Católica de Cuenca sobre cualquier reclamación que pudiera existir al respecto. Declaro finalmente que mi obra ha sido realizada cumpliendo con todos los requisitos legales, éticos y bioéticos de investigación, que la misma no incumple con la normativa nacional e internacional en el área específica de investigación, sobre la que también me responsabilizo y eximo a la Universidad Católica de Cuenca de toda reclamación al respecto.

Cuenca, 28 de febrero del 2024

MARTIN
ALEJANDRO
ULLOA
WILCHES



Digitally signed by MARTIN
ALEJANDRO ULLOA
WILCHES Date: 2024.02.29
12:34:56
-05'00'

F:
Martín Alejandro Ulloa Wilches
0107341422

CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por Martín Alejandro Ulloa Wilches, bajo mi supervisión.

PAULA
MILENA



Firmado digitalmente por
PAULA MILENA CORDERO
CUEVA

CORDERO CUEVA

Fecha: 2024.02.29 12:26:35

Blga. Paula Milena Cordero Cueva
DIRECTORA

DEDICATORIA

A mis padres y hermanos, quienes me han apoyado incondicionalmente en cada etapa de mi vida y me han enseñado el valor del esfuerzo y la dedicación. A todos mis amigos y seres queridos, por su constante apoyo emocional y palabras de aliento cuando más lo necesitaba.

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a todas las personas que me han apoyado durante la realización de mi trabajo final de tesis. En primer lugar, a mi directora de tesis, Blga. Paula Milena Cordero Cueva, por su guía, y constante motivación. Gracias a su experiencia y conocimientos, he podido desarrollar un trabajo de calidad y alcanzar los objetivos propuestos. Especial atención merece el laboratorio de microbiología de la Universidad Católica de Cuenca, quienes me facilitaron el acceso a su centro. Quiero también hacer presente mi gratitud a la Q.F.B. María del Carmen Calle por brindarme generosamente sus excelentes conocimientos, Por último, quiero reconocer la labor de la Universidad Católica de Cuenca que me facilito el acceso a la información y recursos necesarios para llevar a cabo mi trabajo. Este proyecto no habría sido posible sin la ayuda y respaldo de todas estas personas y entidad, y por ello les estoy profundamente agradecido. Su contribución ha sido invaluable y ha dejado una huella imborrable en mi vida académica.

RESUMEN

Se han utilizado diversas estrategias agrícolas, como fertilizantes y pesticidas químicos, para maximizar los rendimientos. Una alternativa sostenible implica tecnologías ecológicas, como los biofertilizantes basados en microorganismos del suelo. El objetivo fue identificar cepas bacterianas con capacidad de fijación de nitrógeno para un posible biofertilizante, mediante técnicas bioquímicas. Se reactivaron y analizaron 67 cepas para evaluar su potencial. El estudio microbiológico mostró predominancia de colonias planas (81%), diversidad en formas, y bacilos (59%) en bacterias Gram positivas, también se observa que predomina la forma irregular (30%), el color de las bacterias que predomina en este estudio es el color blanco (43%), el tamaño mediano es el más relevante con el (42%) de las cepas. Tamaños de halo entre 20 y 10 mm evidencian eficacia en la fijación de nitrógeno, destacando *Acinetobacter iwoffii* y *Providencia alcalifaciens*. Estos resultados respaldan la importancia de estas cepas en la agricultura sostenible y recuperación de suelos.

Palabras clave: Biofertilizantes, fijación de Nitrógeno, sostenibilidad agrícola, microbiota del suelo, optimización del rendimiento de cultivos.

ABSTRACT

Several agricultural strategies, such as chemical fertilizers and pesticides, have been used to maximize yields. A sustainable alternative involves green technologies, such as biofertilizers based on soil microorganisms. The objective was to identify bacterial strains with nitrogen fixation capacity for a potential biofertilizer using biochemical techniques. A group of 67 strains was reactivated and analyzed to evaluate their potential. The microbiological study showed a predominance of flat colonies (81%), diversity in shapes, and bacilli (59%) among Gram-positive bacteria. It was also observed that irregular shapes predominated (30%), with white as the predominant bacterial color (43%), and medium-size strains as the most prevalent with 42%. Halo sizes between 20 and 10 mm show effectiveness in nitrogen fixation, with *Acinetobacter lwoffii* and *Providencia alcalifaciens* highlighting. These results support the importance of these strains in sustainable agriculture and soil restoration.

Keywords: Biofertilizers, nitrogen fixation, agricultural sustainability, soil microbiota, crop yield optimization.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

CERTIFICACIÓN	II
DEDICATORIA	III
AGRADECIMIENTOS	IV
RESUMEN	V
ABSTRACT	VI
ÍNDICE DE CONTENIDOS	VII
LISTA DE FIGURAS	IX
LISTA DE TABLAS	X
LISTA DE ANEXOS	X
CAPÍTULO I	- 1 -
1. INTRODUCCIÓN	- 1 -
2. OBJETIVOS	- 3 -
2.1 GENERAL	- 3 -
2.2 ESPECÍFICOS	- 3 -
CAPÍTULO III	- 4 -
3. REVISIÓN DE LITERATURA	- 4 -
3.1 ESTADO DEL ARTE	- 4 -
3.2 MARCO TEÓRICO	- 5 -
3.2.1 Suelo	- 5 -
3.2.2 Contaminación del suelo	- 5 -
3.2.3 Contaminación por nitrógeno	- 6 -
3.2.4 Recursos microbianos del suelo	- 6 -
3.2.5 Nitrógeno	- 7 -
3.2.6 Ciclo del nitrógeno	- 7 -
3.2.7 Nitritos y nitratos	- 10 -
3.2.8 Bacterias fijadoras de nitrógeno	- 10 -
3.2.9 Alternativas para aprovechar el nitrógeno	- 12 -
3.2.10 Biofertilizantes	- 12 -
3.2.11 Identificación de Cepas	- 13 -
3.2.12 Características e importancia de las bacterias fijadoras de nitrógeno	- 13 -
CAPÍTULO IV	- 16 -
4. MATERIALES Y MÉTODOS	- 16 -

4.1	REACTIVACIÓN DE LAS CEPAS BACTERIANAS _____	- 16 -
4.2	DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA DE LAS BACTERIAS _____	- 17 -
4.3	SIEMBRA DE CEPAS BACTERIANAS EN UN CULTIVO SELECTIVO PARA LA FIJACIÓN DEL NITRÓGENO _____	- 17 -
4.3.1	<i>Inoculación de bacterias en el medio Jensen</i> _____	- 18 -
4.3.2	<i>Medición del halo</i> _____	- 18 -
4.3.3	<i>Tratamiento de datos</i> _____	- 18 -
	CAPÍTULO V _____	- 19 -
5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN _____	- 19 -
5.1	DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA DE LAS CEPAS BACTERIANAS _____	- 19 -
5.2	BACTERIAS FIJADORAS DE NITRÓGENO _____	- 24 -
5.3	REQUISITOS PARA LA ELABORACIÓN DE UN BIOINSUMO _____	- 27 -
5.4	DISCUSIÓN DE RESULTADOS _____	- 34 -
	CAPÍTULO VI _____	- 36 -
6.	CONCLUSIONES _____	- 36 -
	CAPÍTULO VII _____	- 37 -
7.	RECOMENDACIONES _____	- 37 -
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS _____	- 38 -
	ANEXOS _____	- 49 -
	ANEXO 1: BACTERIAS REACTIVADAS DEL CEPARIO DEL CITT _____	- 49 -
	ANEXO 2: CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE LAS BACTERIAS DEL CEPARIO DEL CITT - 51 -	
	ANEXO 3: BACTERIAS GRAM POSITIVAS DEL CEPARIO DEL CITT _____	- 54 -
	ANEXO 4: BACTERIAS GRAM NEGATIVAS DEL CEPARIO DEL CITT _____	- 55 -
	ANEXO 5: BACTERIAS FIJADORAS DE NITRÓGENO DEL CEPARIO DEL CITT _____	- 56 -
	AUTORIZACION DE PUBLICACION EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL _____	- 57 -

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	- 9 -
<i>Fuentes de contaminación atmosférica</i>	- 9 -
Figura 2	- 16 -
<i>Reactivación de cepas bacterianas del cepario del CITT</i>	- 16 -
Figura 3	- 19 -
<i>Resultados del tipo de superficie de las cepas bacterianas</i>	- 19 -
Figura 4:	- 20 -
<i>Resultado del tipo de forma de las cepas bacterianas</i>	- 20 -
Figura 5	- 21 -
<i>Resultado del tipo de borde de las cepas bacterianas</i>	- 21 -
Figura 6	- 21 -
<i>Resultado del color de las cepas bacterianas</i>	- 21 -
Figura 7	- 22 -
<i>Resultado del tipo de tonalidad de las cepas bacterianas</i>	- 22 -
Figura 8	- 22 -
<i>Resultado del tamaño de las cepas bacterianas</i>	- 22 -
Figura 9	- 23 -
<i>Resultado del tipo de bacterias Gram positivas</i>	- 23 -
Figura 10	- 24 -
<i>Resultado del tipo de bacterias Gram negativas</i>	- 24 -
Figura 11	- 24 -
<i>Promedio del tamaño del halo (mm)</i>	- 24 -
Figura 12	- 25 -
<i>A) Bacteria fijadora de nitrógeno, existe viraje de color, B) Bacteria no fijadora de nitrógeno, no existe viraje de color</i>	- 25 -
Figura 13	- 26 -
<i>Resultados del tamaño de halo en (mm).</i>	- 26 -
Figura 14	- 26 -
<i>Rangos del tamaño del halo</i>	- 26 -

LISTA DE TABLAS

Tabla 1: Colorantes para la tinción de Gram- 17 -

Tabla 2: Reactivos para la preparación del medio de cultivo Jensen- 18 -

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1: BACTERIAS REACTIVADAS DEL CEPARIO DEL CITT----- 49 -

ANEXO 2: CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE LAS BACTERIAS DEL CEPARIO DEL
CITT - 51 -

ANEXO 3: BACTERIAS GRAM POSITIVAS DEL CEPARIO DEL CITT----- 54 -

ANEXO 4: BACTERIAS GRAM NEGATIVAS DEL CEPARIO DEL CITT ----- 55 -

ANEXO 5: BACTERIAS FIJADORAS DE NITRÓGENO DEL CEPARIO DEL CITT ----- 56 -

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN

El crecimiento poblacional inminente, proyectado en un aumento cercano a 10 mil millones en los próximos 50 años, genera una creciente demanda de alimentos, especialmente en la producción agrícola. Abastecer a la actual y futura población se ha vuelto una tarea de gran relevancia, y para ello, se han implementado estrategias agrícolas que emplean fertilizantes, pesticidas e insecticidas químicos con el objetivo de obtener cultivos de alto rendimiento y protegerlos de plagas e insectos (Daniel et al., 2022).

El uso extensivo de fertilizantes químicos ha traído una seria degradación de la fertilidad del suelo, contaminación ambiental, resistencia a plagas, pérdida de biodiversidad y pérdidas económicas. La pérdida de nitrógeno, un nutriente esencial, es especialmente preocupante, ya que más del 50% se pierde a través de la escorrentía y la lixiviación en el suelo agrícola, provocando contaminación no puntual del agua y los recursos hídricos (B. Sun et al., 2020).

En este contexto, se promueve la adopción de prácticas agrícolas respetuosas con el medio ambiente, impulsando la búsqueda de soluciones sostenibles. La aplicación de tecnologías ecológicas y biodegradables, como los biofertilizantes basados en microorganismos del suelo, emerge como una alternativa para mantener la sostenibilidad agrícola, evitando la dependencia exclusiva de fertilizantes químicos (Chakraborty & Akhtar, 2021).

La creciente conciencia ambiental y la necesidad de mitigar los impactos negativos de las prácticas agrícolas convencionales subrayan la importancia de un enfoque más profundo en el ámbito ambiental. La degradación de la fertilidad del suelo y la contaminación resultante son amenazas directas a la biodiversidad y la seguridad hídrica, destacando la urgencia de soluciones que no solo aborden las demandas alimentarias, sino que también preserven los ecosistemas.

Los biofertilizantes, compuestos principalmente por microorganismos como bacterias, hongos y algas, se presentan como una opción clave para enriquecer el suelo con nutrientes, estimular el crecimiento de las plantas y reducir enfermedades transmitidas por el suelo (Thomas & Singh, 2019). Aunque el mercado de biofertilizantes experimenta un crecimiento significativo, la falta de conocimiento sobre su rendimiento, especialmente en comparación con los fertilizantes químicos, sigue siendo un desafío importante (Joshi & Gauraha, 2022).

La presencia de bacterias fijadoras de nitrógeno en el suelo contribuye a la fertilización natural. Al convertir el nitrógeno atmosférico en formas asimilables, estas bacterias ayudan a mejorar la calidad del suelo y proporcionan nutrientes esenciales para el crecimiento de las plantas.

Dichas bacterias actúan en la reducción a la dependencia de fertilizantes nitrogenados sintéticos. Esto es beneficioso desde el punto de vista ambiental, ya que la producción de fertilizantes sintéticos a menudo implica el uso intensivo de energía y contribuye a la contaminación del agua y del suelo.

Esta investigación busca identificar cepas bacterianas con capacidad de fijación de nitrógeno, con el propósito de desarrollar potenciales insumos

para biofertilizantes. En el contexto de Ecuador, donde la información sobre el uso conjunto de biochar y biofertilizantes es escasa, se busca contribuir a mejorar la calidad del suelo y los cultivos. Los objetivos específicos incluyen la reactivación de cepas bacterianas, su identificación como fijadoras de nitrógeno, la caracterización morfológica y la confirmación de su capacidad de fijación mediante técnicas bioquímicas, con el fin de evaluar su potencial como biofertilizantes. Esta investigación no solo busca optimizar la producción agrícola, sino también promover la resiliencia ambiental y la sostenibilidad a largo plazo en el contexto ecuatoriano, la capacidad de estas cepas para fijar nitrógeno y contribuir a la salud del suelo refuerza su potencial impacto positivo en el entorno, resaltando así su importancia en el ámbito ambiental.

2. OBJETIVOS

2.1 GENERAL

Identificar que cepas bacterianas tienen capacidad para fijar nitrógeno, mediante técnicas bioquímicas, como probable insumo para un biofertilizante.

2.2 ESPECÍFICOS

- Reactivar las cepas bacterianas, mediante un medio de cultivo generalista, para posteriormente identificarlas como fijadoras de nitrógeno, mediante un medio de cultivo específico.
- Caracterizar morfológicamente y microscópicamente mediante técnicas bioquímicas las especies bacterianas, para su correcta descripción.
- Comprobar las cepas que tienen la capacidad de fijar nitrógeno mediante el cultivo de Jensen a través de la medición del halo que se forma en el medio de cultivo, para luego ser catalogadas como probables biofertilizantes.

CAPÍTULO III

3. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1 Estado del arte

A nivel mundial se estudia el acoplamiento de bacterias al desarrollo de biofertilizantes, en especial aquellas fijadoras de nitrógeno. Por ejemplo, en la investigación de Gopalakrishnan et al. (2018) se hace énfasis en tres tipos de bacterias aisladas de nódulos de garbanzo, denominadas IC-59, IC-76A e IC-2002, mostraron la capacidad de nodular, fijar nitrógeno y promover el crecimiento vegetal en varios cultivares de garbanzo. Estas bacterias mejoraron significativamente el número de nódulos, el peso de brotes, el peso de raíces y otros rasgos en condiciones de invernadero y en la etapa de madurez del cultivo. En conjunto, estas bacterias tienen un potencial prometedor para mejorar la producción de garbanzos a través de la nodulación y la fijación de nitrógeno, así como la promoción del crecimiento de las plantas.

Otro estudio desarrollado por Xu et al. (2018) se centraron en aislar y caracterizar bacterias fijadoras de nitrógeno de caña gigante y pasto varilla con el propósito de evaluar su capacidad como biofertilizantes para el crecimiento de las plantas. Se identificaron bacterias con actividad nitrogenasa, producción de auxinas y sideróforos, y se seleccionaron seis cepas principales. Estas cepas se probaron en maíz y trigo en condiciones de invernadero, y se encontró que todas promovieron el crecimiento de las plantas y la absorción de nutrientes, con destacadas mejoras en ciertos parámetros. La cepa NNA-14 fue especialmente efectiva en el maíz, mientras que NNA-19 y NXU-38 destacaron en el trigo, evidenciando su potencial.

En América Latina, en un artículo realizado por Chibeba et al. (2020) se aislaron y caracterizaron 29 bacterias de los nódulos de raíces de frijol lima (*Phaseolus lunatus*) en la región semiárida del noreste de Brasil. Estas bacterias mostraron una alta diversidad fenotípica y genética, dividiéndose en cuatro grupos morfológicos y 19 grupos genéticos diferentes. Se confirmaron nueve géneros a través del análisis del gen 16S rRNA, incluyendo *Bradyrhizobium* y *Agrobacterium/Rhizobium* como los simbiosiontes principales. Además, se encontraron bacterias endófitas de otros géneros, como *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Franconibacter*, *Pseudomonas* y *Williamsia*, que exhibieron propiedades bioquímicas importantes.

Así también, el centro sur de México, Tapia et al. (2020) aislaron bacterias asociadas a nódulos (NAB) de leguminosas silvestres y de plantas de *Phaseolus vulgaris*. Estas bacterias se identificaron y se encontraron varios géneros con actividad de promoción del crecimiento de las plantas, incluyendo *Pseudomonas* y *Burkholderia*. Además, se identificaron cepas de *Burkholderia* y *Firmicutes* como posibles bacterias noduladoras novedosas. La síntesis de auxinas fue una actividad de promoción del crecimiento de las plantas común, con algunas cepas superando niveles reportados previamente. Aunque la fijación de nitrógeno y la producción de compuestos antimicrobianos no fueron comunes, la producción de sideróforos fue frecuente.

Por otro lado, en Ecuador, un estudio de caso realizado por Torres et al. (2021) investigó la eficiencia de la simbiosis entre genotipos locales de frijol y cepas de *Rhizobium* nativas en función de su diversidad genética. Considerando que las plantas adquieren nitrógeno de diversas formas, incluyendo la fijación simbiótica de nitrógeno mediante la

asociación con bacterias rizobias. Aunque el frijol común (*Phaseolus vulgaris*) es un cultivo fundamental en muchas partes del mundo, fija menos nitrógeno en comparación con otras leguminosas debido a la diversidad ineficiente de rizobios en el suelo.

3.2 Marco teórico

3.2.1 Suelo

El suelo representa un recurso no renovable de gran valor en escalas de tiempo humanas, dado que desempeña un papel esencial en los sistemas naturales y socio ecológicos. Su función principal consiste en proporcionar apoyo, regulación y servicios ecosistémicos. La formación del suelo puede requerir escalas temporales comparables a los procesos geológicos (Alcañiz et al., 2018).

Se estiman alrededor de seis funciones del suelo como: producción de biomasa, almacenamiento y filtrado de agua, almacenamiento y reciclaje de nutrientes, almacenamiento de carbono, hábitat para la vida biológica y estabilidad física y de apoyo. En conjunto estas funciones permiten un correcto funcionamiento de todos los ecosistemas que parten desde este recurso, por ejemplo, las raíces de las plantas se anclan en el suelo, permitiéndoles crecer y prosperar. Además, el suelo actúa como un almacén de agua y nutrientes esenciales que las plantas necesitan para su crecimiento y desarrollo. Esta función de apoyo del suelo es crítica para la producción de alimentos, la conservación de la biodiversidad y la protección contra la erosión y las inundaciones (Rabot et al., 2018).

El suelo también desempeña un papel crucial en la regulación de los ciclos biogeoquímicos, como los ciclos del carbono, nitrógeno y agua. Actúa como un filtro natural que elimina contaminantes y purifica el agua que fluye a través de él. También es un importante almacén de carbono, lo que contribuye a regular el cambio climático al evitar la liberación excesiva de carbono a la atmósfera. Esta función reguladora del suelo es esencial para mantener la salud de los ecosistemas y la calidad del agua y del aire que sustentan la vida en la Tierra (Basu et al., 2021).

En última instancia, el suelo proporciona servicios ecosistémicos fundamentales para la vida humana, como la producción de alimentos, la regulación del clima, la purificación del agua y la conservación de la biodiversidad. La formación del suelo, un proceso que puede abarcar escalas temporales comparables a los procesos geológicos. Reconocer y valorar el suelo como un recurso no renovable es fundamental para preservar su función esencial en el mantenimiento de la vida en nuestro planeta y en la sostenibilidad de los sistemas naturales y socio ecológicos (Bedoya et al., 2021).

3.2.2 Contaminación del suelo

La contaminación del suelo es un desafío global que proviene tanto de actividades humanas como de factores naturales. La expansión de áreas urbanas, el crecimiento industrial y el incremento en la necesidad de producción de alimentos han impulsado el empleo de compuestos y agentes químicos, que, al paso del tiempo, ha resultado en la dispersión y acumulación de contaminantes en el entorno ambiental (Raffa & Chiampo, 2021).

La contaminación del suelo hace referencia a la introducción de ciertas sustancias en la tierra como resultado de las acciones humanas, lo que puede alterar tanto la calidad como el funcionamiento del suelo. Este fenómeno puede desencadenar la degradación del

suelo y afectar negativamente sus propiedades fundamentales, y también conlleva el riesgo de provocar daños tanto para el bienestar de las personas como para el medio ambiente (Sun et al., 2019).

Cualquier forma de deterioro del suelo, implica la disminución de sus características físicas, químicas o biológicas, lo que resulta en una merma de su calidad, cantidad o en la pérdida de su funcionalidad, es susceptible de causar efectos permanentes. En los ecosistemas forestales, se han identificado como procesos de degradación del suelo más relevantes la erosión, los incendios, la deforestación y la contaminación (Alcañiz et al., 2018).

El suelo tiene la capacidad de retener diversos contaminantes, como metales pesados, pesticidas e Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos, desempeñando un papel crucial como absorbente de la contaminación. Estos contaminantes pueden contribuir a la contaminación de la cadena alimentaria, lo que, a su vez, puede representar una amenaza para la salud humana. Entre todos los xenobióticos presentes en el suelo, los pesticidas son los contaminantes más comunes, su presencia se encuentra influenciada por el crecimiento acelerado de la población en las últimas cinco décadas y la creciente demanda de alimentos de alta calidad (Wolejko et al., 2020).

3.2.3 Contaminación por nitrógeno

Aunque el nitrógeno reactivo es un componente necesario para la vida, su exceso puede causar graves problemas ambientales. El exceso de nitrógeno reactivo, proveniente principalmente de la producción de fertilizantes nitrogenados y actividades humanas como la quema de biomasa y la generación de desechos industriales, se libera al medio ambiente, alcanzando niveles críticos de 210Tg por año. Esto ha llevado a problemas como la acidificación del suelo, la formación de ozono y smog, que afectan la salud humana y la biodiversidad. La deposición atmosférica de nitrógeno reactivo contribuye a la acidificación de cursos de agua afectando las poblaciones acuáticas. Además, en el agua potable, altas concentraciones de nitrato representan riesgos para la salud, especialmente en infantes, causando metahemoglobinemia y posiblemente contribuyendo a la formación de compuestos carcinógenos (Holmes et al., 2019).

3.2.4 Recursos microbianos del suelo

Los microorganismos benéficos que residen en la rizosfera pueden estimular el crecimiento de las plantas a través de diversos mecanismos, tanto directos como indirectos. Los mecanismos directos implican la facilitación de la adquisición de nutrientes esenciales, la modulación de la biosíntesis de hormonas vegetales y la mitigación del estrés osmótico en las plantas. Además, los microorganismos también ejercen mecanismos indirectos para participar en el control biológico contra fitopatógenos, a través de la producción de metabolitos antimicrobianos, la competencia por nutrientes y la inducción de resistencia sistémica en las plantas. Estos procesos son fundamentales para promover el crecimiento de las plantas y garantizar su salud en los sistemas agrícolas y ecológicos (Bargaz et al., 2018).

La diversidad microbiana en el suelo es asombrosa y varía en función de diversos factores, como la composición química y física del suelo, la disponibilidad de nutrientes y el tipo de vegetación presente en el entorno. Estos microbios desempeñan un papel de gran importancia en la descomposición de materia orgánica, liberando nutrientes

esenciales como el nitrógeno y el fósforo, que son fundamentales para el crecimiento de las plantas. Además, algunos de estos microorganismos tienen la capacidad de reducir la contaminación del suelo al degradar compuestos orgánicos contaminantes, lo que conduce a la restauración de suelos previamente afectados. La reproducción de estos microbios se ve favorecida cuando la materia orgánica fresca y los nutrientes se utilizan para su crecimiento en lugar de ser liberados a través de procesos catabólicos, como la respiración o la mineralización (Hemkemeyer et al., 2021).

3.2.5 Nitrógeno

El nitrógeno es un elemento químico crucial en el ambiente y en el suelo, desempeñando un papel fundamental en los ecosistemas naturales y en la agricultura. Este elemento es esencial para la vida, ya que es un componente clave de las proteínas y el ADN, dos elementos fundamentales en la estructura y función de los seres vivos (Chen et al., 2018). En el ambiente, el nitrógeno se presenta en diversas formas, principalmente en forma de gas molecular (N_2) en la atmósfera. Sin embargo, esta forma de nitrógeno no es directamente utilizable por la mayoría de los organismos, ya que requiere transformaciones para convertirse en formas asimilables, como nitrato (NO_3^-) o amonio (NH_4^+) (Zhang et al., 2020).

En nitrógeno también se encuentra en formas oxidadas, esta oxidación natural de N_2 a NO y NO_2 , así como la generación de NO_x durante la combustión de combustibles en el aire, son procesos comunes. Estos óxidos de nitrógeno también son producidos por bacterias en la nitrificación y desnitrificación, lo que tiene implicaciones en el tratamiento de aguas residuales y la pérdida de fertilizantes en la agricultura. Además, los óxidos de nitrógeno son contaminantes ambientales significativos, lo que ha llevado al desarrollo de catalizadores para reducirlos a N_2 , como los convertidores catalíticos de tres vías en vehículos. Sin embargo, el control de las emisiones de combustión sigue siendo un desafío debido a regulaciones más estrictas y motores de alta eficiencia (Chen et al., 2018).

La importancia del nitrógeno radica en su papel fundamental en la salud y la fertilidad del suelo, como un factor esencial para el crecimiento saludable de las plantas. Su presencia en el suelo influye directamente en la síntesis de proteínas y en otros procesos metabólicos cruciales para el desarrollo vegetal. Las plantas no pueden absorber nitrógeno directamente del aire, por lo que dependen de la disponibilidad de este elemento en el suelo. Además, el nitrógeno facilita la formación de clorofila, el pigmento responsable de la fotosíntesis, lo que contribuye al vigor y color verde de las plantas. Sin embargo, es imperativo mantener un equilibrio adecuado de nitrógeno en el suelo, ya que un exceso puede tener consecuencias negativas, como la contaminación del agua por lixiviación de nitratos (Michael et al., 2016).

3.2.6 Ciclo del nitrógeno

El ciclo del nitrógeno es uno de los ciclos biogeoquímicos más cruciales en la Tierra debido a que el nitrógeno es un nutriente clave para todas las formas de vida, desde bacterias hasta plantas y humanos. El nitrógeno desempeña un papel esencial en compuestos como ácidos nucleicos, aminoácidos, vitaminas y hormonas. Aunque el ciclo del carbono recibe más atención mediática, el ciclo del nitrógeno ha sido más alterado por las actividades humanas, especialmente en la agricultura, donde el nitrógeno es un componente importante de los fertilizantes. La atmósfera contiene principalmente

dinitrógeno (N_2), que debe ser convertido en otras formas como el amoníaco (NH_3) para que las plantas y microorganismos lo utilicen (Lehnert et al., 2018).

Este ciclo conlleva varias fases, las cuales son: fijación, nitrificación, desnitrificación, amonificación, asimilación y anammox. En la fijación, bacterias fijadoras convierten el nitrógeno atmosférico (N_2) en amonio. La nitrificación implica la conversión de amonio a nitritos y luego a nitratos mediante bacterias nitrificantes. Posteriormente, en la desnitrificación, ciertas bacterias transforman nitratos en gas nitrógeno, cerrando el ciclo. La amonificación es la descomposición de materia orgánica nitrogenada en amonio. Estos compuestos nitrogenados son asimilados por plantas y microorganismos en la etapa de asimilación. Finalmente, la anammox es la conversión anaerobia de amonio y nitritos en gas nitrógeno, contribuyendo a la pérdida de nitrógeno en sistemas acuáticos (Stein & Klotz, 2016).

La fijación del nitrógeno en el suelo es un proceso fundamental en el ciclo biogeoquímico, donde el nitrógeno atmosférico (N_2) se transforma en formas asimilables para los organismos (Mus et al., 2018). La fijación puede ocurrir mediante procesos bióticos y abióticos. En la fijación biótica, ciertos microorganismos como las bacterias fijadoras de nitrógeno (rizobios, azotobacterias) establecen simbiosis con plantas o realizan la fijación libre en el suelo, convirtiendo el N_2 en amonio (NH_4^+) (Mus et al., 2018). Los rizobios, por ejemplo, forman nódulos en las raíces de leguminosas y fijan nitrógeno atmosférico en amonio utilizable por la planta (Lindström & Mousavi, 2020). En la fijación abiótica, factores como la radiación ultravioleta y los eventos climáticos inducen la combinación de N_2 con oxígeno y agua, formando compuestos nitrogenados solubles. Estos compuestos son esenciales para el crecimiento vegetal, contribuyendo al ciclo global del nitrógeno y sustentando la productividad del suelo (Doane, 2017).

La nitrificación es un proceso biogeoquímico crucial en el ciclo del nitrógeno que involucra la transformación secuencial del amonio (NH_4^+) en nitritos (NO_2^-) y luego en nitratos (NO_3^-) mediante la acción de bacterias nitrificantes. En la primera fase, *Nitrosomonas* y *Nitrosococcus* oxidan el amonio a nitritos en un proceso conocido como amonificación. Posteriormente, bacterias del género *Nitrobacter* convierten los nitritos en nitratos en la etapa de nitrificación. Estas reacciones son esenciales para la conversión del nitrógeno amoniacal, derivado principalmente de la descomposición de materia orgánica y la actividad de bacterias fijadoras, en formas más oxidadas y asimilables para plantas y otros organismos. La nitrificación ocurre preferentemente en ambientes aeróbicos y es un componente vital para la disponibilidad de nitrógeno en los ecosistemas (Lehnert et al., 2018).

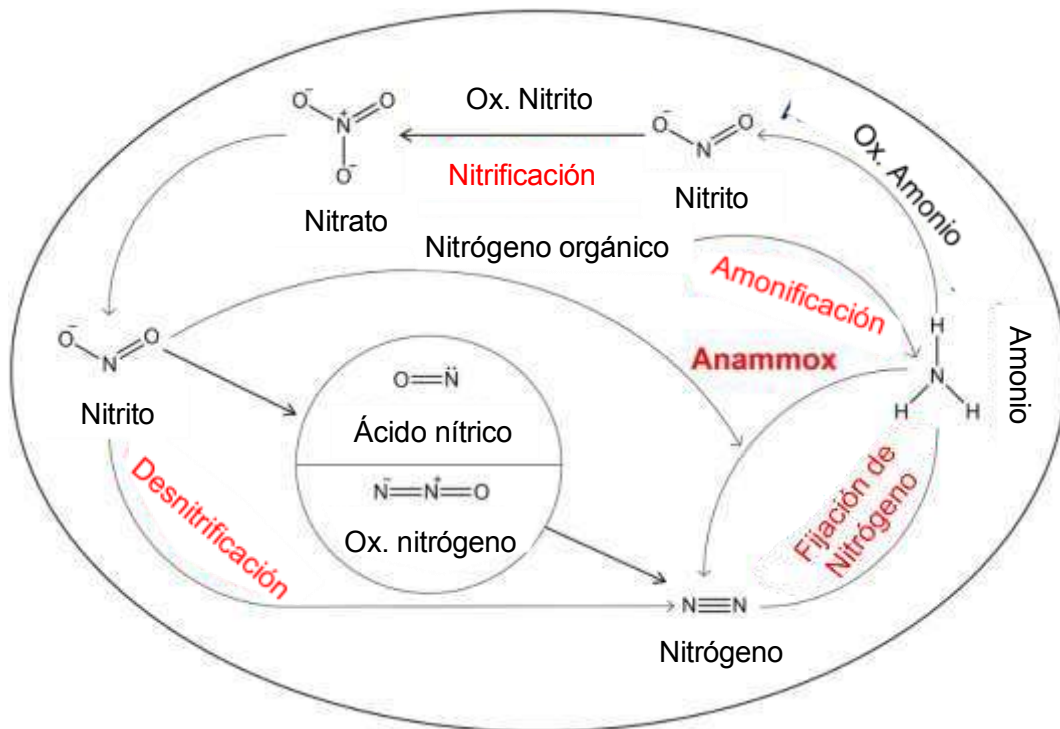
La desnitrificación, una etapa crítica en el ciclo del nitrógeno, es un proceso microbiano en el cual bacterias anaeróbicas facultativas reducen compuestos nitrogenados oxidados, como nitratos (NO_3^-) y nitritos (NO_2^-), a nitrógeno gaseoso (N_2) o óxido nitroso (N_2O). Este fenómeno ocurre en condiciones de baja disponibilidad de oxígeno en el suelo o sedimentos. Las bacterias desnitrificantes, como *Pseudomonas* y *Paracoccus*, utilizan los compuestos nitrogenados como aceptores de electrones en lugar de oxígeno durante la respiración, liberando así nitrógeno gaseoso al ambiente. La desnitrificación desempeña un papel esencial en la pérdida de nitrógeno del ecosistema, afectando la disponibilidad de este nutriente para las plantas y contribuyendo a la emisión de gases de efecto invernadero, como el N_2O , a la atmósfera (Holmes et al., 2019).

En la amonificación, las sustancias orgánicas nitrogenadas, representando el 99% de las reservas totales de nitrógeno en suelos, comprenden reservas húmicas y otros compuestos generados por la fijación biológica de N_2 y la descomposición de residuos orgánicos. Si estas sustancias no experimentaran cambios, las reservas de nitrógeno disponibles para las plantas disminuirían anualmente. Sin embargo, se someten a un proceso de mineralización, que incluye la amonificación. Este proceso, precedido por la descomposición de proteínas, involucra la liberación de NH_3 a partir de aminoácidos. La microflora del suelo, compuesta por diversos microorganismos, desempeña un papel crucial en este proceso. Las bacterias aeróbicas inician la amonificación, seguidas por especies anaeróbicas y actinomicetos. La actividad amonificante de las urobacterias, que hidrolizan urea, también es significativa, ya que la urea contiene un 47% de N_2 utilizable por las plantas (Pashaei et al., 2022).

La fase anammox del ciclo del nitrógeno, abreviatura de la oxidación anaerobia de amonio, es un proceso microbiano clave en la conversión de compuestos nitrogenados en sistemas acuáticos. Durante la anammox, las bacterias oxidan el amonio (NH_4^+) utilizando nitrato (NO_2^-) como aceptor de electrones en ausencia de oxígeno. Este proceso resulta en la producción de nitrógeno molecular (N_2) y agua. La anammox es esencial para el mantenimiento del equilibrio del nitrógeno en ambientes acuáticos, contribuyendo a la eliminación de compuestos nitrogenados y afectando la calidad del agua. Su comprensión es crucial para optimizar procesos de tratamiento de aguas residuales y mitigar impactos ambientales.

Figura 1

Fuentes de contaminación atmosférica



Fuente: Pashaei et al. (2022).

3.2.7 Nitritos y nitratos

Los nitritos son compuestos químicos que contienen un ion nitrito (NO_2^-). Son una parte importante del ciclo del nitrógeno en el suelo y en el ambiente acuático. Los nitritos se forman a partir de la oxidación de amoníaco (NH_3) por bacterias nitrificantes en el proceso de nitrificación. Son una etapa intermedia en la conversión del amoníaco en nitrato (NO_3^-). Los nitritos también se utilizan en diversas aplicaciones industriales y alimentarias. Sin embargo, la presencia excesiva de nitritos en el agua potable puede ser perjudicial para la salud humana, ya que pueden reaccionar con compuestos orgánicos para formar nitrosaminas, que son compuestos potencialmente carcinogénicos (De Martino et al., 2019).

Los nitratos, por otro lado, son compuestos químicos que contienen un ion nitrato (NO_3^-). Son una forma importante de nitrógeno inorgánico en la naturaleza y se encuentran en suelos, aguas superficiales y subterráneas. Los nitratos son esenciales para las plantas, ya que son una fuente de nitrógeno que pueden absorber y utilizar para su crecimiento. Sin embargo, la contaminación de las fuentes de agua con altas concentraciones de nitratos, a menudo causada por la escorrentía de fertilizantes agrícolas y desechos animales, puede tener efectos adversos en la calidad del agua y representar un riesgo para la salud humana. La ingestión excesiva de nitratos a través del agua potable puede dar lugar a problemas de salud, como la metahemoglobinemia, comúnmente conocida como "síndrome del bebé azul". Por lo tanto, el monitoreo y la gestión de los niveles de nitratos en el agua son cruciales para garantizar la seguridad y la calidad del agua potable y el mantenimiento de ecosistemas saludables (Singh et al., 2019).

3.2.8 Bacterias fijadoras de nitrógeno

La fijación de nitrógeno es un proceso biológico esencial en el cual ciertas bacterias, conocidas como bacterias fijadoras de nitrógeno, tienen la capacidad de reducir molecularmente el nitrógeno atmosférico (N_2) en formas más accesibles, como amonio (NH_4^+) o nitrato (NO_3^-), que las plantas pueden asimilar. Este fenómeno reviste una importancia crucial para el crecimiento vegetal, ya que el nitrógeno constituye un componente fundamental de moléculas biológicas esenciales, incluyendo proteínas y ácidos nucleicos (Stein & Klotz, 2016). Dado que la mayoría de las plantas no pueden utilizar directamente el N_2 atmosférico, la fijación de nitrógeno, especialmente en asociación simbiótica con bacterias, proporciona una fuente biológica vital de este nutriente, influyendo directamente en la productividad y el desarrollo de las plantas (Mus et al., 2016).

La fijación biológica de nitrógeno es un proceso mediante el cual el nitrógeno atmosférico se activa en organismos a condiciones de temperatura y presión ambiente, gracias a enzimas llamadas nitrogenasas que catalizan la reducción de N_2 a NH_3 . Aunque se requiere una considerable cantidad de energía (aproximadamente 500 kJ) para fijar 1 mol de N_2 , esta energía es suministrada por una fuente inagotable, la energía solar, a través de la fotosíntesis (Zhang et al., 2020).

La fijación biológica de nitrógeno mayoritariamente se atribuye a la actividad de la nitrogenasa de molibdeno (Mo-nitrogenasa, Nif), un complejo metaloenzimático sensible al oxígeno presente en todos los diazótrofos conocidos. Aunque se han identificado formas alternativas de nitrogenasa, como la de vanadio (V-nitrogenasa, Vnf) y la solo de hierro (nitrogenasa solo Fe, Anf) en algunos organismos, la teoría previa sobre su papel

dominante en la fijación de N_2 en la Tierra primitiva se cuestiona, y se argumenta que la Mo-nitrogenasa surgió primero en arqueas metanogénicas y luego dio lugar a formas alternativas en respuesta a la disponibilidad de N_2 fijo y a factores ambientales locales que influyeron en la presencia de metales (Mus et al., 2018).

Las bacterias diazotróficas, a pesar de su capacidad para fijar nitrógeno, no liberan amoníaco de manera altruista, ya que los procesos de fijación y asimilación de nitrógeno están intrínsecamente acoplados y controlados por circuitos reguladores complejos. Estos circuitos involucran proteínas de transducción de señales PII, enzimas como GlnD y GlnE que realizan modificaciones postraduccionales reversibles, y un sistema regulador de dos componentes (NtrB o NRII y NtrC o NRI) que controla la expresión de genes relacionados con el metabolismo del nitrógeno (Bueno- Batista & Dixon, 2019).

Por otro lado, existe la fijación de nitrógeno abiótica, que implica procesos químicos que transforman compuestos nitrogenados sin la intervención de organismos vivos. La fijación abiótica abarca reacciones físico-químicas como la fijación atmosférica, donde la energía de eventos climáticos como relámpagos o radiación ultravioleta induce la combinación de nitrógeno molecular (N_2) con oxígeno y agua para formar óxidos de nitrógeno (NOx). Además, la actividad bacteriana en suelos y aguas puede contribuir a la fijación abiótica mediante procesos de oxidación-reducción. Estos compuestos nitrogenados generados abióticamente pueden incorporarse a ciclos biogeoquímicos, influyendo en la disponibilidad de nitrógeno para los organismos vivos y afectando la calidad del suelo y del agua en diversos entornos. La comprensión de la fijación abiótica es esencial para evaluar la dinámica global del nitrógeno y sus efectos en los ecosistemas (Doane, 2017).

Los microorganismos fijadores de nitrógeno han desarrollado estrategias para mitigar el efecto inhibidor del oxígeno, como las bacterias diazotróficas, estas fijan nitrógeno solo en condiciones anaeróbicas o microaerófilas, equilibrando eficientemente el uso de O_2 como aceptor de electrones y la inactivación de la nitrogenasa en quimiótrofos y fotótrofos aeróbicos. Las cianobacterias fotosintéticas separan el O_2 producido de su sistema nitrogenasa, con heterocistos en géneros como *Nostoc* y *Anabaena* que protegen el complejo enzimático dinitrogenasa contra el oxígeno. En otras cianobacterias, la fijación de nitrógeno se realiza en la oscuridad, evitando la producción de O_2 , para mantener bajos niveles de oxígeno, de lo contrario, pueden cambiar la conformación de la nitrogenasa a un estado inactivo protegido (Soumare et al., 2020).

La simbiosis entre plantas y bacterias fijadoras de nitrógeno asociativas, un tipo de rizobacterias promotoras del crecimiento, constituye una forma básica de colaboración beneficiosa. Estas bacterias responden a los exudados radiculares, colonizan la rizosfera, y afectan la adquisición de recursos y el crecimiento de las plantas (Mus et al., 2016). La fijación biológica de nitrógeno en los rizobios se lleva a cabo principalmente en los nódulos de las raíces o del tallo, siendo inducida por bacterias presentes en las leguminosas. Este proceso simbiótico ha intrigado a los investigadores por más de un siglo, y se ha reconocido durante milenios los efectos positivos de las leguminosas en los suelos, así como su valor alimentario y forrajero. La fijación simbiótica de nitrógeno utiliza la energía solar para convertir el gas inerte N_2 en amoníaco a condiciones normales de temperatura y presión, lo cual es crucial en la producción sostenible de alimentos en la actualidad (Lindström & Mousavi, 2020).

La fijación de nitrógeno es realizada por microorganismos asociados a plantas leguminosas y ha sido objeto de investigación durante décadas. Algunas, como *Azospirillum*, benefician cultivos como trigo, maíz y arroz. Por otro lado, ciertas bacterias diazotróficas, como *Azoarcus* y *Gluconacetobacter*, evolucionan para multiplicarse en los tejidos vegetales sin causar daño, siendo clasificadas como endófitos. Estos endófitos, presentes en numerosas plantas, ingresan a través de aberturas naturales o grietas en las raíces (Mus et al., 2016). La fijación industrial de nitrógeno, realizada mediante el proceso Haber-Bosch, ha equiparado la fijación natural en la biosfera. Sin embargo, estas contribuciones antropogénicas de nitrógeno reactivo superan las fuentes biogénicas, lo que ejerce una gran presión sobre los ecosistemas y la disponibilidad de nitrógeno (Mus et al., 2018).

3.2.9 Alternativas para aprovechar el nitrógeno

La biorremediación del nitrógeno abarca diversas estrategias para mitigar la contaminación ambiental derivada de compuestos nitrogenados. Uno de los enfoques clave implica la actividad de bacterias desnitrificantes, que participan en el proceso de desnitrificación. Estas bacterias transforman nitratos presentes en suelos y aguas en nitrógeno gaseoso, evitando la acumulación de compuestos nitrogenados dañinos. Este proceso es particularmente crucial en ambientes acuáticos, donde la desnitrificación puede prevenir la eutrofización, una condición que resulta de un exceso de nutrientes, como los nitratos, y que puede tener consecuencias adversas para la salud de los ecosistemas acuáticos (Gao et al., 2021).

Otra estrategia de biorremediación involucra la fitorremediación, donde ciertas plantas, conocidas como acumuladoras de nitrógeno, se utilizan para extraer y acumular compuestos nitrogenados del suelo. Estas plantas, a menudo denominadas hiperacumuladoras, absorben nitratos y amoníaco, contribuyendo así a la recuperación de suelos contaminados. Además, la aplicación de bacterias promotoras del crecimiento (PGPR) puede mejorar la asimilación de nitrógeno por parte de las plantas, optimizando la eficacia del proceso de fitorremediación (Wang et al., 2023).

La biorremediación utilizando algas, conocida como fitorremediación algal, emerge como una estrategia prometedora para abordar la contaminación por nitrógeno. Las algas, mediante el proceso de fitodepuración, pueden absorber nitratos y amoníaco del agua, contribuyendo a la mejora de la calidad del agua en ecosistemas acuáticos contaminados. Además, algunas especies de algas pueden favorecer la desnitrificación al proporcionar un ambiente propicio para bacterias desnitrificantes. La simbiosis entre algas y bacterias en biopelículas algal-bacterianas puede potenciar la capacidad de eliminación de nitrógeno. Esta sinergia biológica ofrece una solución eco-amigable y eficaz para mitigar los impactos ambientales negativos asociados con la contaminación por nitrógeno en sistemas acuáticos (Chen & Wang, 2020).

3.2.10 Biofertilizantes

Los biofertilizantes son microorganismos utilizados para mejorar el suministro de nutrientes a las plantas, ya sea al aplicarse a las semillas, las plantas o el suelo. Estos microorganismos colonizan la rizosfera o el interior de las plantas y desempeñan un papel importante en la promoción del crecimiento vegetal al participar en diversas actividades bióticas en el ecosistema del suelo. Su uso tiene como objetivo dinamizar y hacer sostenible el desarrollo de cultivos, acelerando las actividades microbianas que aumentan

la disponibilidad de nutrientes absorbibles por las plantas. Los biofertilizantes contribuyen a aumentar la fertilidad del suelo al fijar nitrógeno atmosférico y solubilizar fosfatos que, de otro modo, serían insolubles en el suelo, generando compuestos que estimulan el crecimiento de las plantas (Daniel et al., 2022).

3.2.11 Identificación de Cepas

La identificación de cepas es un proceso crucial en microbiología que implica la caracterización y clasificación de diferentes cepas de microorganismos, como bacterias, virus, hongos y levaduras. Este procedimiento es esencial para comprender la diversidad biológica, la epidemiología de enfermedades infecciosas y el desarrollo de tratamientos médicos y biotecnológicos.

Fernández et al. (2010) manifiestan que, en términos de métodos tradicionales, se emplean tinciones microbianas como la tinción de Gram, que divide bacterias en Gram-positivas y Gram-negativas según la estructura de su pared celular. Además, el cultivo en medios selectivos y el perfil bioquímico basado en el metabolismo y las enzimas proporcionan información valiosa para la identificación.

Por otro lado, En palabras de Bou et al. (2011) los métodos moleculares han revolucionado la identificación de cepas. La Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) permite la amplificación de secuencias específicas de ADN, mientras que la secuenciación de ADN proporciona información genética completa. La electroforesis de ácidos nucleicos separa fragmentos de ADN o ARN para analizar patrones genéticos. Los métodos inmunológicos, como la inmunofluorescencia y ELISA, utilizan anticuerpos para detectar antígenos específicos, ofreciendo otra perspectiva en la identificación de cepas.

También manifiesta el autor que, en el ámbito de técnicas avanzadas, la espectrometría de masas posibilita la identificación rápida mediante la medición de la masa de moléculas, y la microscopía de fuerza atómica permite la visualización tridimensional de microorganismos a nivel nanométrico.

Tordera (2018) al respecto indica que, la metagenómica explora el material genético directamente de muestras ambientales, revelando la diversidad microbiana en entornos específicos. La biología sintética implica la creación de cepas modificadas genéticamente para funciones específicas, ampliando las capacidades de identificación y aplicación. Además, la aplicación de inteligencia artificial en el análisis de datos, como algoritmos y aprendizaje automático, mejora la precisión en la identificación mediante el procesamiento de grandes conjuntos de datos genómicos.

La identificación de cepas, al fusionar métodos clásicos con tecnologías emergentes, aborda desafíos en constante evolución en el campo microbiológico. Este enfoque interdisciplinario y creativo es esencial para avanzar en la comprensión de la diversidad microbiana y aprovechar su potencial en diversas aplicaciones científicas e industriales.

3.2.12 Características e importancia de las bacterias fijadoras de nitrógeno

En el criterio de Calvo (2011) las bacterias fijadoras de nitrógeno desempeñan un papel crucial en el ciclo del nitrógeno al convertir el nitrógeno atmosférico (N_2) en formas más accesibles para las plantas, como el amonio (NH_4^+). Entre los géneros más

destacados se encuentran *Rhizobium*, *Azotobacter*, y *Clostridium*. Estas bacterias emplean diferentes mecanismos para la fijación de nitrógeno, siendo los más comunes la simbiosis mutualista con plantas leguminosas en el caso de *Rhizobium* y la fijación libre de nitrógeno por bacterias como *Azotobacter*.

Las bacterias fijadoras de nitrógeno pueden clasificarse según sus preferencias de oxígeno, siendo algunas aerobias y otras anaerobias. Este aspecto es crucial, ya que las condiciones de oxígeno afectan la actividad de la nitrogenasa, la enzima responsable de la fijación de nitrógeno, siguiendo la línea de Lara et al. (2007):

a) Cepario:

Un cepario es un conjunto organizado de cepas microbianas mantenidas para su estudio y conservación a largo plazo. En este contexto, un cepario bacteriano implica la colección y gestión de diversas cepas bacterianas. Las características clave de un cepario incluyen condiciones de almacenamiento óptimas, trazabilidad de las cepas, y registros detallados sobre su origen y propiedades.

La importancia de un cepario radica en su papel como recurso esencial para la investigación microbiológica y biotecnológica. Proporciona un banco de cepas que sirve como referencia para la identificación, estudio de propiedades fisiológicas y genéticas, y desarrollo de aplicaciones prácticas en campos como la medicina, la agricultura y la industria.

b) Biofertilizantes:

Los biofertilizantes son productos biológicos que contienen microorganismos beneficiosos para las plantas y mejoran la disponibilidad de nutrientes en el suelo. Estos pueden incluir bacterias fijadoras de nitrógeno, hongos micorrícicos y bacterias solubilizadoras de fosfato. La aplicación de biofertilizantes tiene varias ventajas, como la mejora de la salud del suelo, el aumento de la absorción de nutrientes por las plantas y la reducción de la dependencia de fertilizantes químicos.

La implementación de biofertilizantes contribuye a prácticas agrícolas sostenibles al promover una agricultura más respetuosa con el medio ambiente. Además, estos productos pueden desempeñar un papel crucial en la gestión de la fertilidad del suelo y en la reducción de la contaminación ambiental asociada con el uso excesivo de fertilizantes químicos.

Ortiz et al (2014) manifiesta que, las bacterias fijadoras de nitrógeno desempeñan un papel esencial no solo en la agricultura, sino también en la mitigación de los efectos del cambio climático. Un estudio revela su capacidad para contrarrestar la desoxigenación del agua, una consecuencia directa del cambio climático. Este hallazgo resalta la importancia de estas bacterias no solo en términos de nutrición de las plantas, sino también en la preservación de la salud de los ecosistemas acuáticos, contribuyendo así a la resiliencia frente a los cambios ambientales.

Adicionalmente, su capacidad para fijar el nitrógeno atmosférico y convertirlo en formas utilizable por las plantas no solo reduce la necesidad de fertilizantes químicos, sino que también tiene un impacto significativo en la reducción de las emisiones de gases de efecto invernadero. Este aspecto destaca la relevancia de las bacterias fijadoras de

nitrógeno en la sostenibilidad ambiental y su contribución a la mitigación del cambio climático.

En el contexto de la calidad del suelo expresa el autor, se ha evidenciado que estas bacterias no solo mejoran la fertilidad del suelo, sino que también aumentan su capacidad de retención de agua. Este efecto beneficioso contribuye a una gestión más eficiente de los recursos hídricos y a la resistencia de las plantas frente a condiciones adversas. Además, la promoción de la resistencia de las plantas a enfermedades refuerza su papel en la salud general del ecosistema y en la agricultura sostenible.

En este sentido, las bacterias fijadoras de nitrógeno emergen como actores clave no solo en la agricultura sino también en la restauración de ecosistemas, aportando a la mitigación de los efectos del cambio climático y favoreciendo la sostenibilidad ambiental. Su capacidad para abordar múltiples problemáticas, desde la desoxigenación del agua hasta la reducción de emisiones y la mejora de la salud del suelo, subraya la importancia integral de estas bacterias en la promoción de prácticas agrícolas y ambientales más equilibradas y resilientes.

CAPÍTULO IV

4. MATERIALES Y MÉTODOS

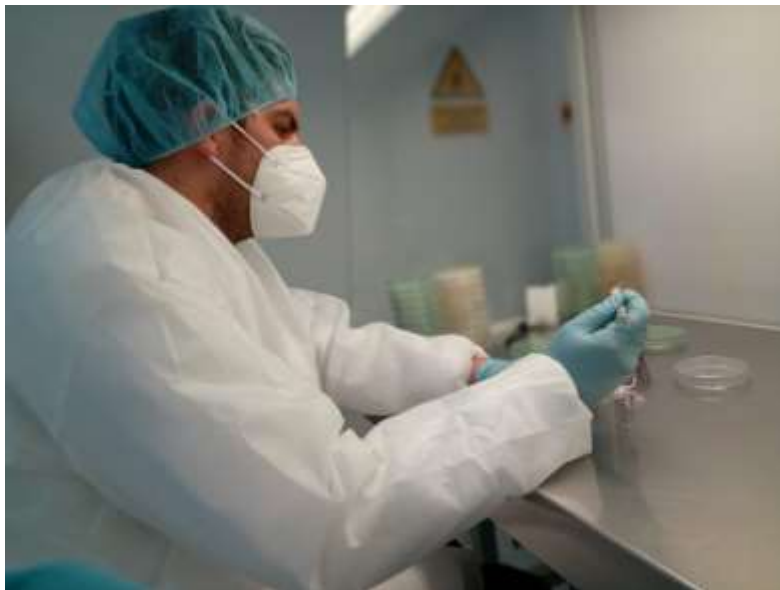
4.1 Reactivación de las cepas bacterianas

Se realizó la reactivación de 67 cepas bacterianas enlistadas en el Anexo 1, las cuales constituyen parte de la micoteca destinada a la preservación de la biodiversidad Ruth Moore en el CIITT. En el proceso de reactivación, se utilizó agar nutritivo, para lo cual se realizó la suspensión de 28 gr del reactivo en un litro de agua destilada, seguida de la homogeneización de la muestra hasta obtener una completa disolución. Posteriormente, se procedió a calentar la mezcla para reducir la viscosidad del agar y luego el medio de cultivo fue transferido a un recipiente apto para autoclave, donde se llevó a cabo el proceso de esterilización durante 15 minutos a una temperatura de 121 °C (Martinez, 2016).

Tras la activación bacteriana mediante estriado de agotamiento en la caja de Petri, se procedió a incubar las muestras durante un período de 16 a 24 horas a una temperatura de 37°C.

Figura 2

Reactivación de cepas bacterianas del cepario del CITT



4.1.1 Tinción de Gram

Se realizó la tinción de Gram en las 67 cepas bacterianas con el fin de diferenciar y categorizar las bacterias según su clasificación como Grampositivas o Gramnegativas. El proceso se llevó a cabo en las siguientes fases: en una primera instancia, se depositó una gota de suero fisiológico en un portaobjetos. Utilizando un asa de siembra, se recogió una colonia bacteriana y se distribuyó de manera uniforme sobre el portaobjetos. A

continuación, se permitió que la muestra se secase a temperatura ambiente, posibilitando que los colorantes se adhirieran a las bacterias, revelando así su distintiva coloración.

En la tabla 1, se detallan la secuencia específica y los intervalos de tiempo asignados para ejecutar cada fase de la tinción de Gram.

Tabla 1

Colorantes para la tinción de Gram:

Colorantes	Tiempo
Cristal de violeta	1 min
Yodo lugol	1 min
Alcohol cetona	15 segundos
Safranina	1 min

Fuente: Ramírez et al. (2018)

Después de realizar la tinción de Gram en las 67 cepas bacterianas, se procedió a analizar minuciosamente cada muestra mediante un microscopio óptico para validar sus características de forma y color. Los resultados obtenidos se registraron de manera meticulosa en una base de datos, asignando a cada cepa su respectivo código de identificación.

4.2 Descripción morfológica de las bacterias

Como parte del análisis del morfotipo de cada cepa bacteriana, se llevó a cabo una descripción morfológica que abarcó diversas características de acuerdo con autores como Chumpitaz (2015) y Reza y Mendoza (2021):

- Superficie: Se determinó si la superficie era plana, convexa, acuminada, umbilicada o papilada.
- Forma: Se clasificó la forma en puntiforme, circular, irregular, rizoides, fusiforme o filamentosas.
- Borde: Se evaluaron los bordes para identificar si eran redondeados, ondulados, filamentosos, lobulados o rizoides.
- Color: Se consideraron opciones de color como blanco, rosado, rojo, amarillo, verde, crema y naranja.
- Tonalidad: Se analizó la tonalidad de las bacterias, considerando si eran semi-transparentes, opacas o brillantes.
- Tamaño: Se clasificaron las bacterias en grandes, medianas o pequeñas.

Esta detallada descripción morfológica permitió establecer el morfotipo de cada cepa bacteriana mediante una tabla específica desarrollada en el laboratorio de microbiología del CITT.

Posteriormente, todas las cepas reactivadas fueron colocadas en un nuevo medio de cultivo (Jensen) para establecer su capacidad de fijación nitrógeno

4.3 Siembra de cepas bacterianas en un cultivo selectivo para la fijación del nitrógeno

Se elaboró el medio de cultivo Jensen diseñado para estimular el desarrollo de cepas bacterianas con capacidad de fijación de nitrógeno. Los componentes necesarios para preparar este medio se especifican en la Tabla 2.

Tabla 2

Reactivos para la preparación del medio de cultivo Jensen

Medio Jensen	Medida	Unidad
Glucosa	20	g
Fosfato dipotásico (K ₂ HPO ₄)	1	g
Sulfato de magnesio (MgSO ₄ ·7H ₂ O)	0,5	g
Cloruro de sodio (NaCl)	0,5	g
Sulfato de hierro (FeSO ₄ ·7H ₂ O)	0,1	g
Molibdato de sodio Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0,005	g
Carbonato de calcio	2	g
Agar	15	g
Bromothymol blue indicator	0	g

Fuente: Ramírez et al. (2018).

4.3.1 Inoculación de bacterias en el medio Jensen

Se seleccionó una colonia bacteriana previamente activada, para que sea esterilizada mediante la incandescencia del asa bacteriana en un mechero Bunsen. Utilizando la técnica de punción, la colonia se trasladó al centro de la placa de Petri, la cual contenía el medio de cultivo Jensen. Se incubó la muestra durante un periodo de 15 días a 28 °C para facilitar el desarrollo, tras lo cual se procedió a evaluar el crecimiento del halo resultante (Chiriboga et al., 2022).

4.3.2 Medición del halo

En el procedimiento de medición del halo, se llevó a cabo la preparación de placas en medio Jensen. Este método, económico y eficiente, permitió evaluar la producción de compuestos solubles en el agua por parte de las bacterias, definiendo una bacteria como fijadora de nitrógeno cuando su halo superaba los 3 mm. La medición se realizó considerando como criterios un resultado positivo para halos desde 3 mm y negativo para halos menores a 3 mm. Para efectuar las mediciones, se utilizó una regla colocada sobre la placa, registrando con precisión las dimensiones de los halos positivos obtenidos durante el estudio (Chiriboga et al., 2022).

4.3.3 Tratamiento de datos

El tratamiento de datos se realizó utilizando Excel, abarcando información detallada sobre la morfología bacteriana. Se recopilaron datos concernientes a la superficie, forma, borde, color, tonalidad y tamaño de las bacterias. La aplicación de medidas de tendencia central y análisis estadísticos permitió una caracterización exhaustiva de estas características, proporcionando una comprensión completa de la variabilidad morfológica presente en el conjunto de datos. La presentación visual a través de gráficos y tablas facilitó la interpretación y comunicación efectiva de los resultados obtenidos.

CAPÍTULO V

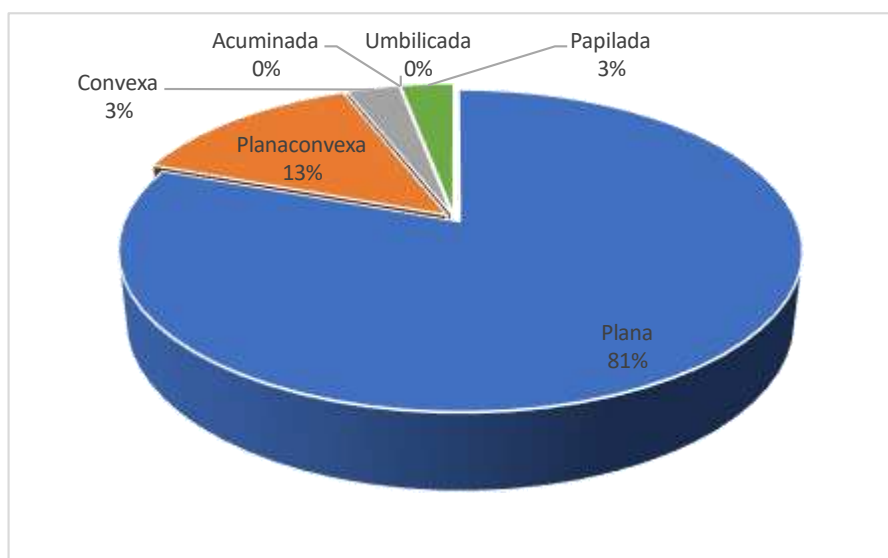
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Descripción morfológica de las cepas bacterianas

La morfología de las cepas bacterianas constituye un aspecto crucial en la identificación y comprensión de estos microorganismos. La variedad de formas y estructuras que pueden adoptar en su crecimiento sobre medios de cultivo proporciona valiosa información sobre su biología. Desde colonias redondeadas y filamentosas hasta aquellas con características espiculadas o lobuladas, la morfología refleja la adaptabilidad y diversidad intrínseca de las bacterias. Además, la tonalidad y brillo de las colonias añaden una dimensión visual a su estudio, que, no solo es esencial para fines taxonómicos, sino que también arroja luz sobre las interacciones microbianas y su papel en distintos entornos. La figura 3 presenta los resultados relacionados con el tipo de superficie de las cepas bacterianas en estudio.

Figura 3

Resultados del tipo de superficie de las cepas bacterianas



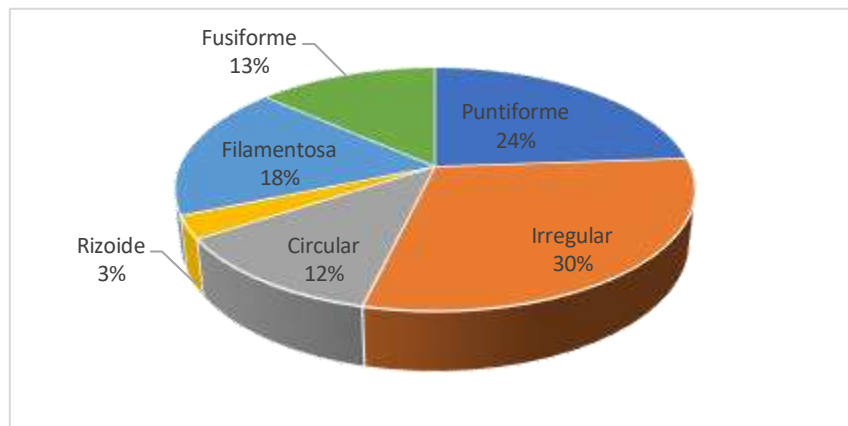
El 81% de las cepas exhiben una superficie plana, lo que sugiere que estas colonias se extienden en una única capa sobre el medio. Las colonias planas convexas representan el 13%, las colonias con superficie convexa constituyen el 3%, indicando que son más elevadas y redondeadas. Otro 3% corresponde a las papiladas indicando que tienen ciertas protuberancias. Por último, no se registran cepas con superficies acuminadas y umbilicadas. Estos datos reflejan características morfológicas de las colonias en términos de su distribución en el medio de cultivo.

Aunque no se proporciona información específica sobre la hidrofobicidad o capacidad de adhesión en este fragmento, se menciona la estructura general de las colonias y cómo se distribuyen en el medio. Es importante señalar que la hidrofobicidad y la capacidad de adhesión son propiedades específicas de la superficie bacteriana que se evalúan de manera distinta, y la información anterior se centra más en la morfología de las colonias que en estas propiedades particulares como lo mencionan Sandhu et al. (2021)

en su estudio, la Figura 4 presenta los resultados referentes al tipo de forma de las cepas bacterianas analizadas.

Figura 4:

Resultado del tipo de forma de las cepas bacterianas

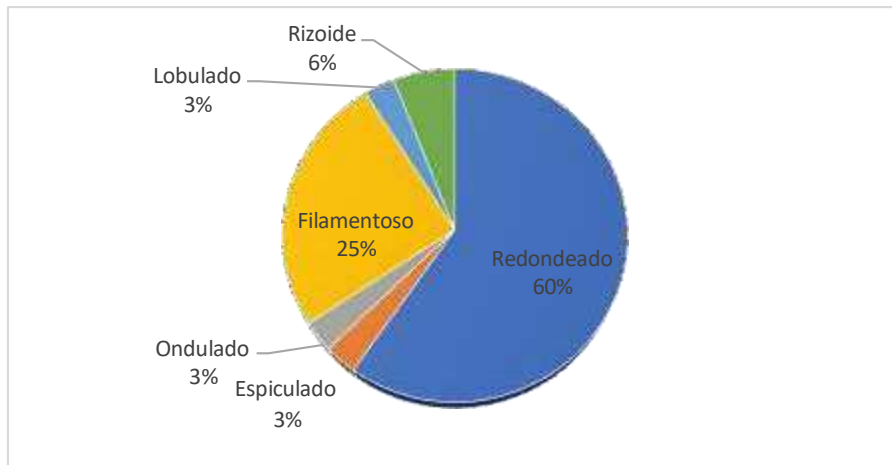


El 30% de las cepas presenta una forma irregular, seguido por el 24% con una forma puntiforme, que indica colonias pequeñas y redondeadas. Las colonias filamentosas constituyen el 18%, con una extensión lineal y alargada similar a filamentos. Aquellas con forma fusiforme representan el 13%, estas son colonias alargadas y estrechas en forma de huso. El 12% son colonias circulares, es decir, bien definidas y redondas; por último, el 3% de las cepas presenta colonias rizoides, las cuales presentan extensiones lineales o ramificadas desde el centro de la colonia.

A pesar de que en este estudio únicamente el 12% de las cepas son circulares, se muestra que es una forma muy utilizada en el trabajo de Bautista y Martínez (2020) en cepas como *Burkholderia cepacia*, *Flavobacterium sp.* y *Paenibacillus amylolyticus*; bacterias Gram negativas y positivas. Sin embargo, en el estudio de Martínez y Torregroza (2018) se encontró que el 60% de las colonias presentaron formas irregulares, circulares y bordes filamentosos. La Figura 5 exhibe los resultados referentes al tipo de borde de las cepas bacterianas investigadas.

Figura 5

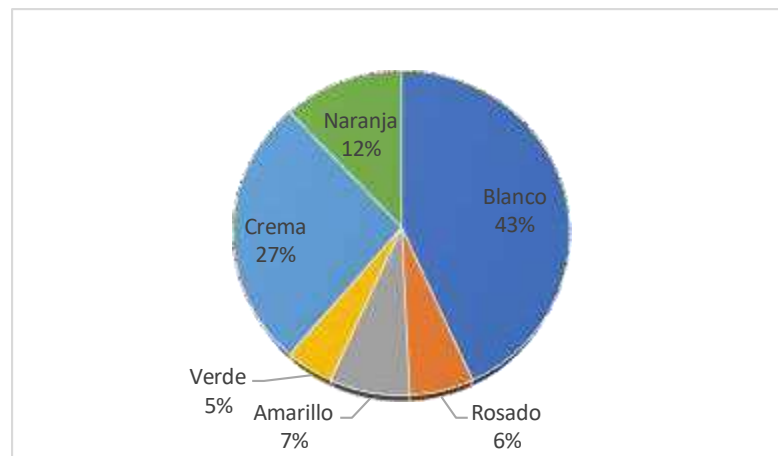
Resultado del tipo de borde de las cepas bacterianas



El 60% de las cepas exhiben un borde generalmente esférico o circular, denominado redondeado. Las colonias con borde filamentosos constituyen el 25%, mientras que un 6% de las cepas exponen un borde con forma rizoide. Un 3% de las cepas muestra una forma espiculada, ondulada y lobulada cada una, lo que indica cierta diversidad en la morfología de sus bordes. Por su parte, el estudio de Chumpitaz (2015) mostró varios tipos de cepa con bordes regulares e irregulares dentro del borde redondeado dada la forma circular o esférica al igual que en la mayoría de cepas de este estudio. La Figura 6 presenta los resultados relacionados con el color de las cepas bacterianas.

Figura 6

Resultado del color de las cepas bacterianas

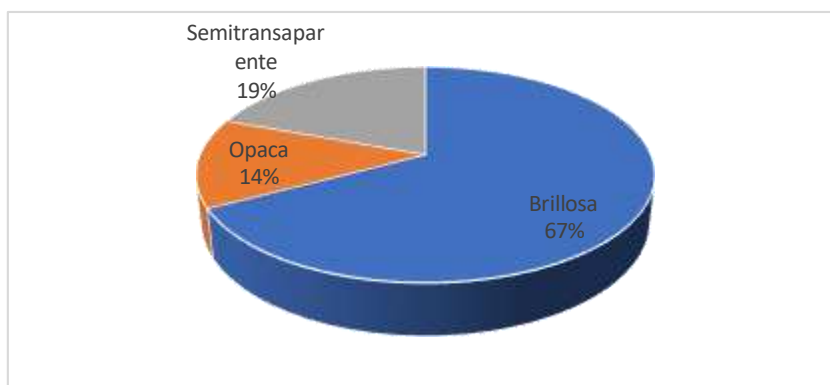


La mayoría de las cepas, un 43%, son de color blanco, seguidas por el color crema con un 27%. El color naranja se presenta en el 12% de las cepas, mientras que el amarillo y el rosado representan el 7% y el 6%, respectivamente. La tonalidad verde es la menos común, observada en el 5% de las cepas. En otro estudio, se muestran coloraciones similares que se vinculan con la tonalidad, un 24% con colores crema translúcidos, un 24% de tonos blancos opacos, un 12% de tonos blancos translúcidos, un 14% de tonos amarillos translúcidos, un 18% de tonos amarillos opacos, un 6% de tonos crema opacos y un 2% de tonos rojos opacos (García, 2020). También en la tesis desarrollada por Silva (2017),

se encontraron cepas cremas, blancas y amarillas similares al estudio actual. La Figura 7 presenta los resultados relacionados con el tipo de tonalidad de las cepas bacterianas.

Figura 7

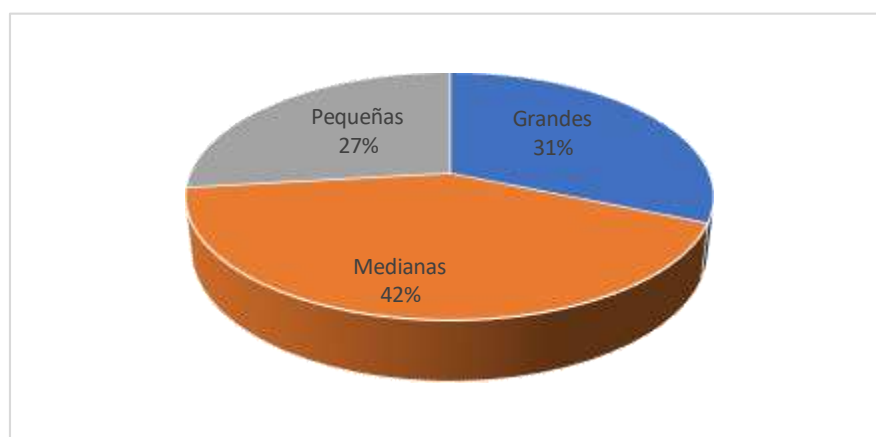
Resultado del tipo de tonalidad de las cepas bacterianas



El 67% de las cepas presentan una tonalidad brillante, es decir, que las colonias tienen una apariencia lustrosa o reluciente en el medio de cultivo. Un 19% de las cepas exhiben una tonalidad semitransparente, lo que permite cierta penetración de la luz, pero no son completamente transparentes. Por último, un 13% de las cepas muestran una tonalidad opaca, lo que implica que estas colonias no reflejan brillo ni permiten la transmisión de la luz. Un resultado similar se encontró en el estudio de Chumpitaz (2015) donde la mayoría de las colonias se mostraron en tono brillante y en el caso de García (2020) se presentaron tonalidades como traslúcido o semitransparente. La Figura 8 presenta los resultados relacionados con el tamaño de las cepas bacterianas.

Figura 8

Resultado del tamaño de las cepas bacterianas



El tamaño mediano es el más prevalente con el 42% de las cepas, mientras que las colonias grandes constituyen el 31% e indican la presencia de colonias de mayor tamaño en una proporción significativa. Por otro lado, el 27% de las cepas exhiben un tamaño pequeño, lo que sugiere la existencia de colonias más compactas. No obstante, en el trabajo desarrollado por García (2020) se identificaron mayormente colonias pequeñas con

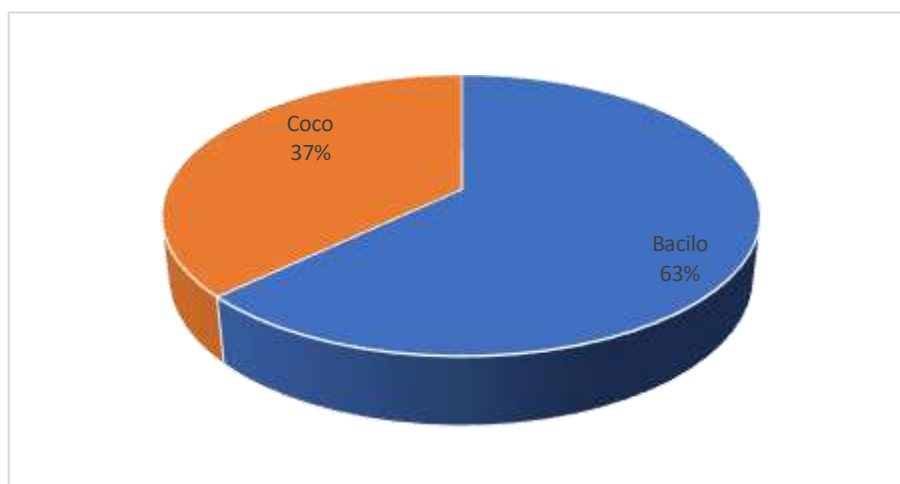
un 36% mientras que las medianas o moderadas se encontraron en un 26% y grandes únicamente el 2%.

5.1.1 Descripción micro morfológica de las cepas bacterianas

El estudio micro morfológico reveló detalles sobre las cepas bacterianas, clasificándolas en Gram positivas y Gram negativas. El análisis realizado identificó un total de 37 bacterias Gram positivas, entre las cuales se identifica cierto porcentaje de bacilos y cocos. Así mismo, se registraron 22 bacterias Gram negativas entre las cuales solo se identificaron bacilos. A diferencia de este caso en la investigación de Chumpitaz (2015) la mayoría de las cepas fue de tipo gran negativas, al igual que en el estudio de García (2020) en donde se reportó el 78%. La Figura 9 presenta los resultados obtenidos del tipo de bacterias Gram positivas. El estudio micro morfológico permitió clasificar las cepas bacterianas en Gram positivas y Gram negativas

Figura 9

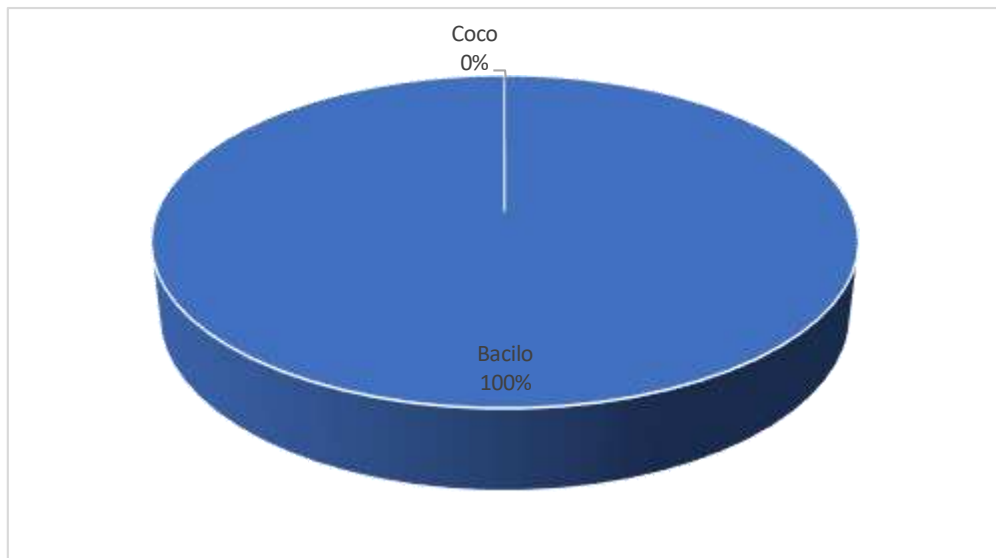
Resultado del tipo de bacterias Gram positivas



Los resultados de las bacterias Gram positivas muestran una predominancia significativa de la forma de bacilo, que representa el 59%. Este hallazgo indica que la mayoría de las cepas Gram positivas adoptan una morfología alargada y cilíndrica. Por otro lado, el 41% de las bacterias Gram positivas exhiben una forma de coco, lo que sugiere que adopta una morfología esférica o redonda.

Figura 10

Resultado del tipo de bacterias Gram negativas

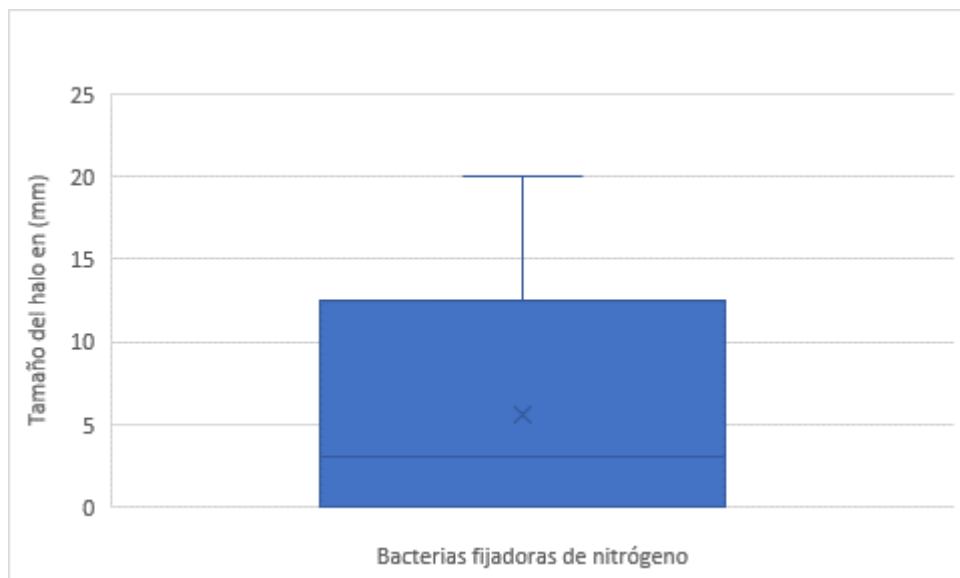


Los resultados de las cepas bacterianas Gram negativas revelan una homogeneidad significativa en la morfología, con el 100% de las cepas en forma de bacilo, se señala que todas las bacterias Gram negativas estudiadas presentan una morfología alargada y cilíndrica.

5.2 Bacterias fijadoras de nitrógeno

Figura 11

Promedio del tamaño del halo (mm)

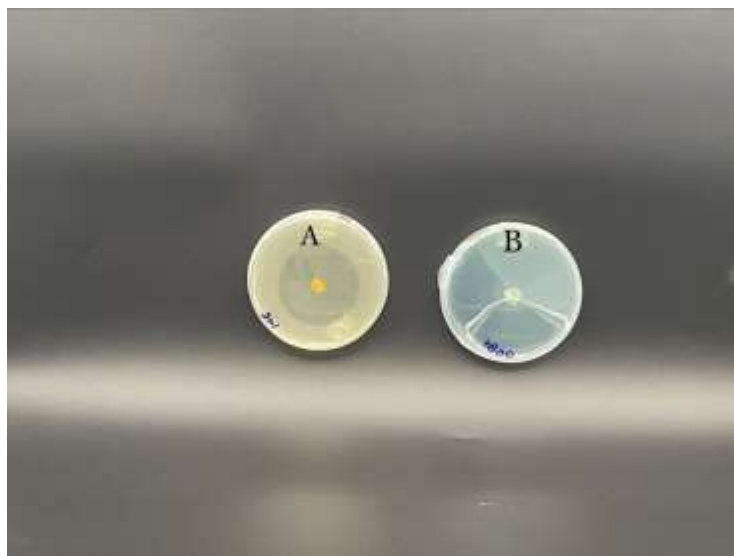


El tamaño de halo observado en las 41 cepas de bacterias indica su capacidad para fijar nitrógeno de manera efectiva. Este fenómeno se refleja en la zona circundante a las

colonias bacterianas, donde se evidencian cambios en la apariencia del medio de cultivo debido a la liberación de compuestos o enzimas asociadas con la fijación de nitrógeno. Además, con el color de los cultivos se puede apreciar las que bacterias que son fijadoras de nitrógeno, ya que presentan una coloración amarilla, en relación a la azul de aquellas que no lo son ([Figura 12](#)).

Figura 12

A) Bacteria fijadora de nitrógeno, existe viraje de color, B) Bacteria no fijadora de nitrógeno, no existe viraje de color



Es notable que *Acinetobacter iwoffii* exhibe un tamaño de halo excepcionalmente amplio, alcanzando los 20 mm, lo que sugiere una capacidad robusta para fijar nitrógeno y potencialmente promover el crecimiento de las plantas. De manera similar, *Providencia alcalifaciens* presenta un tamaño de halo significativo, llegando a 10 mm, lo que subraya su eficacia en la fijación de nitrógeno. Estos hallazgos respaldan la importancia de estas cepas en la mejora de la disponibilidad de nitrógeno en el medio, un factor crucial para el desarrollo vegetal y la salud del suelo. En otros estudios como el de Chiriboga et al. (2022) el halo con mayor medida fue el de 12 mm lo cual es similar a una de las medidas obtenidas en el estudio actual que fue de 10 mm, y bastante menor que el halo más grande de este estudio. La Figura 13 presenta los resultados del tamaño de halo, donde se destaca la notable amplitud del halo de *Acinetobacter iwoffii*, alcanzando los 20 mm.

Figura 13

Resultados del tamaño de halo en (mm).

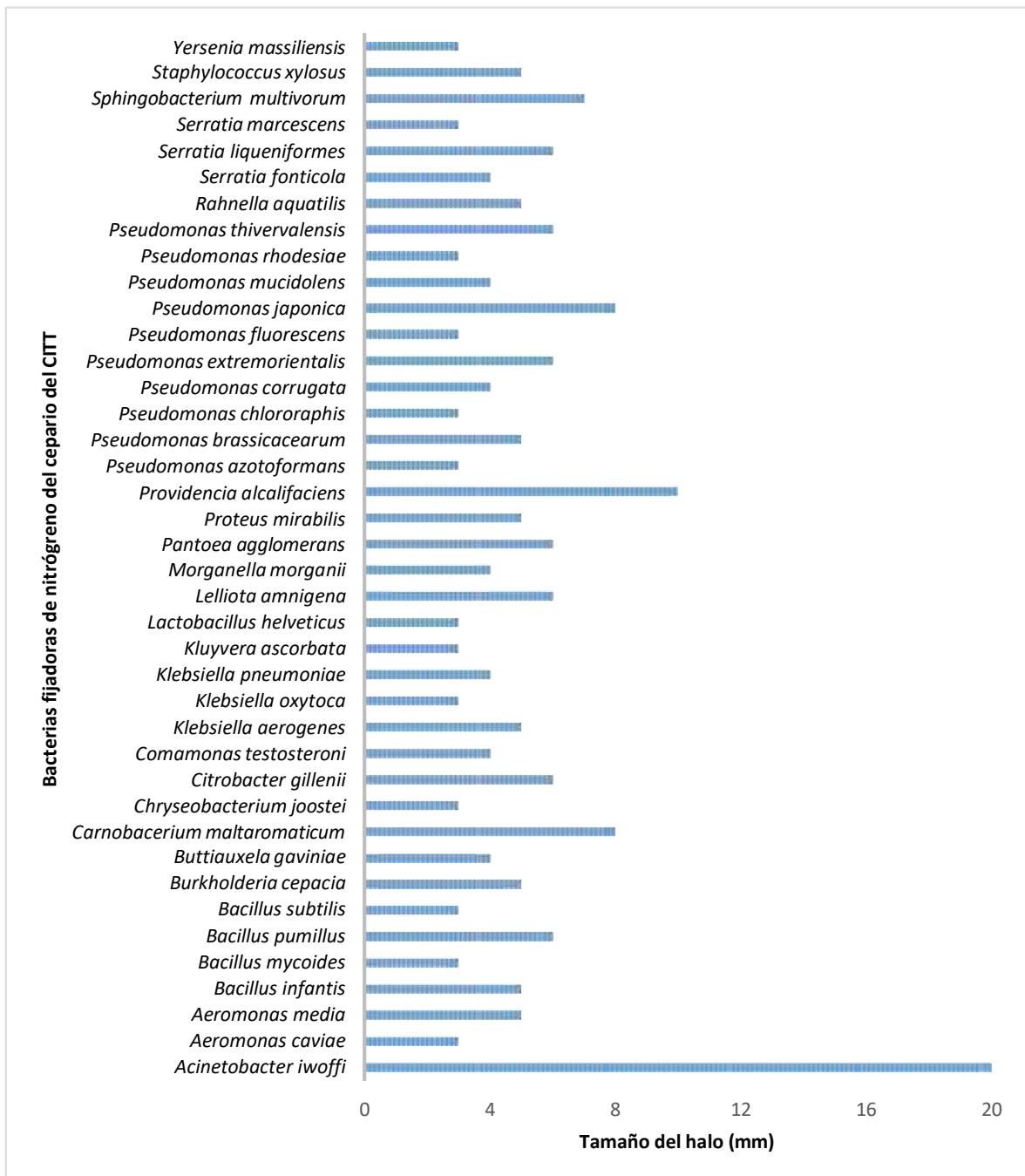
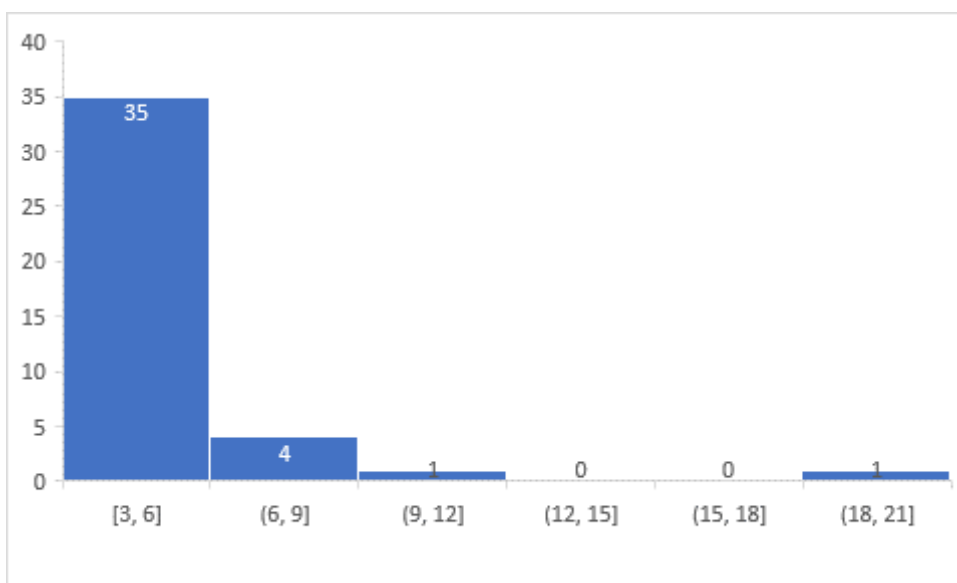


Figura 14

Rangos del tamaño del halo



Los resultados del tamaño del halo podemos observar que presenta una mayor preponderancia entre 3-6 mm se tiene un total de las 35 bacterias, después se observa menor presencia entre 6-9 mm tenemos un total de 4 bacterias, y finalmente se tiene entre un rango de 9-12 mm y 18-21 mm tenemos una bacteria en cada rango.

5.3 Requisitos para la elaboración de un bioinsumo

A continuación, se presenta los resultados de un estudio sobre bacterias fijadoras de nitrógeno, resaltando su importancia en la promoción del crecimiento vegetal y su potencial para ser utilizadas en la producción de bioinsumos. La *Chryseobacterium joostei*, aislada de la rizosfera de cebolla galesa, se destaca por su capacidad de fijación de nitrógeno, utilizando un medio altamente efectivo. Por otro lado, *Pseudomonas corrugata* muestra beneficios en la fijación de nitrógeno y mejora de la nutrición de las plantas, especialmente bajo estrés por sequía, mientras que *Pseudomonas fluorescens* y *Serratia marcescens* desempeñan roles cruciales en la fijación de nitrógeno y la mejora de la disponibilidad de nutrientes en la rizosfera de arroz y maíz, respectivamente.

La *Providencia alcalifaciens* y *Aeromonas media* también se identifican como promotoras del crecimiento vegetal, con capacidades para fijar nitrógeno y mejorar la estructura del suelo. Además, se mencionan otras bacterias como *Bacillus infantis* y *Serratia liquefaciens*, que exhiben propiedades promotoras del crecimiento y fijación de nitrógeno, mostrando su potencial en condiciones desafiantes del suelo.

Se aborda la diversidad de géneros bacterianos, como *Carnobacterium*, *Lactobacillus*, y *Kluyvera*, que, aunque no son típicamente conocidos por ser fijadores de nitrógeno, pueden influir indirectamente en la disponibilidad de nitrógeno en el entorno. Además, se destaca la importancia de la bacteria *Pseudomonas chlororaphis* subsp. aurantiaca en la promoción del crecimiento vegetal y su capacidad para combatir patógenos. También existe información sobre bacterias menos conocidas, como *Buttiauxella gaviniae*, *Pseudomonas mucidolens*, y *Rahnella aquatilis*, resaltando su potencial en la fijación de nitrógeno y la mejora de la productividad del suelo. Cabe destacar que algunas bacterias, como *Yersinia massiliensis*, están asociadas comúnmente con

patógenos, pero su función específica en la fijación de nitrógeno aún no se ha explorado por completo.

Entre las principales bacterias fijadoras de nitrógeno tenemos:

- a) ***Chryseobacterium joostei***: Según Nishioka et al. (2016), la bacteria *Chryseobacterium joostei* juega un papel significativo en la fijación de nitrógeno en la rizosfera de cebolla galesa. Se utilizó el medio PSR2A-C/T para su aislamiento efectivo, demostrando ser altamente efectivo en comparación con otros ocho medios evaluados.
- b) ***Pseudomonas corrugata***: De acuerdo con Duan et al. (2021), *Pseudomonas corrugata* desempeña un papel importante en la fijación de nitrógeno y la mejora de la nutrición de las plantas, especialmente bajo estrés por sequía. La inoculación con cepas aisladas del suelo rizosférico de vides de vino ha demostrado ser eficaz para aliviar daños causados por el estrés por sequía y promover el crecimiento de las vides.
- c) ***Pseudomonas fluorescens***: Zhang et al. (2018) resalta el papel crucial de *Pseudomonas fluorescens* en la fijación de nitrógeno y la mejora de la capacidad de suministro de nitrógeno en la rizosfera del arroz. La inoculación de la rizosfera con *A. brasilense* y *P. fluorescens* acelera las transformaciones del nitrógeno en el suelo, aumentando significativamente las actividades de amonificación y nitrificación.
- d) ***Serratia marcescens***: Matteoli et al. (2018) encuentran que *Serratia marcescens* UENF-22GI tiene un rol positivo en la fijación de nitrógeno y en la promoción del crecimiento vegetal. La bacteria muestra propiedades beneficiosas, como la solubilización de fósforo y zinc inorgánicos, producción de compuestos de indol y capacidad para contrarrestar el crecimiento de especies fitopatógenas.
- e) ***Serratia fonticola***: Çetinkaya et al. (2022) destacan que la cepa AGBY19 de *Serratia fonticola* desempeña un papel beneficioso en la fijación de nitrógeno y muestra propiedades antifúngicas y degradativas de hidrocarburos aromáticos policíclicos. En ensayos in vitro e in vivo, la cepa AGBY19 demostró potencial para su aplicación en la producción agrícola, actuando como agente de biocontrol y promotor del crecimiento de las plantas.
- f) ***Aeromonas caviae***: Babalola et al. (2022) sugieren que *Aeromonas caviae*, específicamente la cepa A1-2, ha mostrado resultados positivos en pruebas in vitro para diversos rasgos relacionados con la promoción del crecimiento vegetal.
- g) ***Providencia alcalifaciens***: Salinas et al. (2021) evalúan a *Providencia alcalifaciens* como parte de las cepas bacterianas en la rizosfera de *Solanum tuberosum*, demostrando su función como promotora del crecimiento vegetal.
- h) ***Aeromonas media***: *Aeromonas media*, aislada de muestras de suelo de la reserva natural de humedales del Río Amarillo por Sun et al. (2023), se identifica como una de las cepas productoras de exopolisacáridos con potencial para mejorar la estructura y fertilidad del suelo.
- i) ***Pseudomonas chlororaphis***: Zhang et al. (2020) informan que *Pseudomonas chlororaphis subsp. aurantiaca* cepa JD37 exhibe diversas características beneficiosas como rizobacteria promotora del crecimiento vegetal (PGPR) y agente de biocontrol.

- j) ***Carnobacterium maltaromaticum***: Es una bacteria grampositiva conocida por su capacidad de crecer a bajas temperaturas, aunque no es típicamente reconocida como fijadora de nitrógeno.
- k) ***Lactobacillus helveticus***: Es una bacteria láctica esencial en la producción de quesos, sin embargo, su papel en la fijación de nitrógeno no es convencional.
- l) ***Pseudomonas japonica***: Sui et al. (2022) destaca a *Pseudomonas japonica* como una cepa bacteriana de interés en la investigación agrícola debido a sus propiedades beneficiosas para el crecimiento de las plantas, incluida la producción de sideróforos y la solubilización de fosfato.

Cada cepa bacteriana se presenta con información relevante, destacando aspectos como su clasificación, características distintivas y su importancia en diversos contextos. Desde *Pseudomonas protegens*, reconocida por su papel en el control biológico de plantas, hasta *Burkholderia cenocepacia*, asociada con patogenicidad en individuos con fibrosis quística, proporcionando una visión integral de estas bacterias y sus implicaciones. Entre las bacterias patógenas encontramos:

- a) ***Pseudomonas protegens***: *Pseudomonas protegens* es una bacteria Gram-negativa conocida por su capacidad para colonizar y proteger las plantas contra patógenos fitopatógenos. Destaca como organismo de control biológico al producir compuestos antimicrobianos y enzimas que inhiben el crecimiento de patógenos perjudiciales. Además de su actividad antagónica, *P. protegens* puede inducir resistencia sistémica en las plantas, promoviendo así su crecimiento (Macías et al., 2023).
- b) ***Chryseobacterium oncorhynchi***: *Chryseobacterium oncorhynchi*, una bacteria Gram-negativa, se encuentra asociada a la salud de los peces, especialmente en salmones. Forma parte de la microbiota intestinal de los peces y ha sido estudiada en relación con la salud y enfermedad en poblaciones acuícolas. Aunque algunos miembros de este género pueden asociarse con infecciones en peces, ciertas cepas han mostrado potencial probiótico al competir con patógenos o modular el sistema inmunológico del hospedero (Jeong et al., 2018).
- c) ***Providencia rettgeri***: *Providencia rettgeri*, una bacteria Gram-negativa de la familia Enterobacteriaceae, se encuentra comúnmente en el medio ambiente y el tracto gastrointestinal de animales, incluyendo humanos. Algunas cepas de *P. rettgeri* se asocian con infecciones, principalmente del tracto urinario y respiratorio, especialmente en individuos inmunocomprometidos. La resistencia a antibióticos en algunas cepas destaca la importancia de la vigilancia y el manejo adecuado de las infecciones (Nara et al., 2020).
- d) ***Carnobacterium maltaromaticum***: *Carnobacterium maltaromaticum*, una bacteria Gram-positiva, facultativa anaerobia, no esporulada, pertenece al género *Carnobacterium* y es común en entornos de procesamiento de alimentos. Su capacidad para crecer a bajas temperaturas la hace crucial en la conservación de alimentos refrigerados, inhibiendo patógenos y contribuyendo a la seguridad alimentaria. Algunas cepas se investigan por su potencial probiótico y capacidad para producir compuestos antimicrobianos, ofreciendo aplicaciones en la industria alimentaria (Danielski et al., 2020).

- e) ***Delftia acidovorans***: *Delftia acidovorans*, una bacteria Gram-negativa y oxidasa positiva, ha sido aislada en diversos ambientes, desde suelos hasta aguas residuales. Mostrando resistencia a metales pesados y capacidad para degradar compuestos orgánicos, se destaca en biorremediación. También se estudia su potencial en la promoción del crecimiento vegetal y su capacidad como biofiltro en sistemas acuáticos (Højgaard et al., 2022).
- f) ***Acinetobacter guillouiae***: *Acinetobacter guillouiae*, bacteria Gram-negativa del género *Acinetobacter*, tiene limitada presencia en ambientes clínicos, pero se identifica en suelos y aguas. Su resistencia a desinfectantes y capacidad para sobrevivir en condiciones adversas la hacen relevante en entornos hospitalarios. Aunque generalmente de baja virulencia, la resistencia a antibióticos genera preocupaciones en la salud pública (Fernandez et al., 2023).
- g) ***Aeromonas molloscorum***: *Aeromonas molloscorum*, bacteria Gram-negativa del género *Aeromonas*, común en ambientes acuáticos, se encuentra en moluscos y otras fuentes marinas. Aunque la mayoría de las *Aeromonas* son saprófitas, algunas cepas pueden causar infecciones en humanos. Su presencia en productos marinos destaca su importancia en la seguridad alimentaria (Pinos, 2023).
- h) ***Enterobacter cloacae***: *Enterobacter cloacae*, bacteria Gram-negativa fermentadora de glucosa, se encuentra en diversas fuentes ambientales. Algunas cepas son parte del microbiota normal en el intestino humano, pero puede causar infecciones oportunistas, especialmente en individuos inmunocomprometidos. La resistencia a múltiples antibióticos representa un desafío clínico (Annavaajhala et al., 2019).
- i) ***Pseudomonas kilonensis***: *Pseudomonas kilonensis*, bacteria Gram-negativa del género *Pseudomonas*, se ha aislado en entornos acuáticos y en asociación con plantas. Aunque menos estudiada, las *Pseudomonas* son conocidas por su diversidad metabólica y capacidad para degradar compuestos orgánicos. El papel específico de *P. kilonensis* y su potencial biotecnológico requieren más investigación (Ambreen & Yasmin, 2020).
- j) ***Bacillus***: El género *Bacillus*, que comprende varias especies de bacterias Gram-positivas, aerobias o facultativas anaerobias, es versátil y útil en la industria y agricultura. Algunas cepas, como *Bacillus subtilis*, se utilizan como probióticos, promotores del crecimiento vegetal y productores de enzimas industriales (Villarreal et al., 2018).
- k) ***Bacillus siralis***: *Bacillus siralis*, bacteria Gram-positiva perteneciente al género *Bacillus*, se ha aislado en diversos entornos, incluyendo suelos y ambientes acuáticos. La versatilidad de *Bacillus* sugiere su potencial en aplicaciones agrícolas, biotecnológicas o ambientales, aunque su función específica y características biológicas necesitan más investigación (Pettersson et al., 2000).
- l) ***Aeromonas hydrophila***: *Aeromonas hydrophila*, bacteria Gram-negativa del género *Aeromonas*, común en ambientes acuáticos, puede causar infecciones en peces y mamíferos, incluyendo humanos. Con capacidad para producir toxinas, es un patógeno oportunista de importancia clínica y veterinaria, con algunas cepas resistentes a antibióticos (Anjur et al., 2021).
- m) ***Hafnia alvei***: *Hafnia alvei*, bacteria Gram-negativa de la familia Enterobacteriaceae, se encuentra en diversas fuentes, incluyendo el tracto gastrointestinal de animales y humanos. Aunque en su mayoría es parte de la

microbiota normal, ciertas cepas pueden ser patógenas y se asocian con infecciones en humanos, especialmente en individuos inmunocomprometidos. La resistencia a antibióticos en algunas cepas destaca la importancia de comprender su epidemiología (Ramos, 2020).

- n) ***Comamonas kerstersii***: *Comamonas kerstersii*, bacteria Gram-negativa del género *Comamonas*, aislada en ambientes acuáticos y suelos. Aunque menos estudiada, algunas *Comamonas* tienen capacidad para degradar compuestos orgánicos, sugiriendo posibles aplicaciones en biorremediación. Su diversidad funcional y papel ecológico requieren más investigación para entender completamente su potencial biotecnológico (X. Liu et al., 2020).
- o) ***Bacillus muralis***: *Bacillus muralis*, bacteria Gram-positiva del género *Bacillus*, se ha aislado en suelos y entornos murales. Dada la naturaleza de *Bacillus*, podría tener características metabólicas versátiles y potencial en aplicaciones biotecnológicas o ambientales, aunque se necesita más investigación sobre sus funciones específicas y características biológicas (Erguven & Kanat, 2020).
- p) ***Paenibacillus odorifer***: *Paenibacillus odorifer*, bacteria Gram-positiva y esporulada del género *Paenibacillus*, se encuentra en diferentes contextos, desde el medio ambiente hasta productos lácteos. Con capacidad de solubilización de fosfatos, destaca en la promoción del crecimiento vegetal. Algunos *Paenibacillus* se estudian por su capacidad para producir compuestos antimicrobianos y en aplicaciones agrícolas sostenibles (Rush et al., 2022).
- q) ***Lactobacillus curvatus***: *Lactobacillus curvatus*, bacteria Gram-positiva y ácido láctico, común en productos fermentados como embutidos. Con un papel clave en la fermentación de alimentos, contribuye a la preservación de productos cárnicos mediante la producción de ácido láctico y compuestos antimicrobianos. Además de su importancia en la industria alimentaria, algunas cepas se estudian por sus posibles beneficios para la salud humana (Janßen et al., 2020).
- r) ***Pseudarthrobacter oxydans***: *Pseudarthrobacter oxydans*, bacteria Gram-positiva del género *Pseudarthrobacter*, se ha identificado en diversos entornos, desde suelos hasta ambientes acuáticos. Aunque menos estudiada, algunos miembros del género han demostrado capacidades en la degradación de compuestos orgánicos y resistencia a condiciones adversas, sugiriendo aplicaciones potenciales en biorremediación y biotecnología ambiental (Bushra et al., 2023).
- s) ***Pseudomonas taetrolens***: *Pseudomonas taetrolens*, bacteria Gram-negativa del género *Pseudomonas*, ha sido identificada en diversos ambientes y muestra adaptabilidad a condiciones variables. Como miembro de las *Pseudomonas*, podría exhibir características metabólicas versátiles y tener potencial en aplicaciones biotecnológicas, aunque se necesita más investigación sobre su función específica y características biológicas (Sarenkova et al., 2022).
- t) ***Alicyclobacillus acidoterrestris***: *Alicyclobacillus acidoterrestris*, bacteria ácido termofílica Gram-positiva, se encuentra en ambientes ácidos y de alta temperatura, especialmente en productos de frutas y jugos. Con capacidad para sobrevivir a condiciones extremas y resistencia a la pasteurización, es una preocupación en la industria alimentaria debido a su impacto en el sabor y olor de los productos (Sarenkova et al., 2022).
- u) ***Citrobacter braakii***: *Citrobacter braakii*, bacteria Gram-negativa de la familia Enterobacteriaceae, se encuentra en el suelo y ambientes acuáticos, así como

en el tracto gastrointestinal de animales. Aunque en su mayoría es parte de la microbiota normal, algunas cepas pueden asociarse con infecciones en humanos, especialmente en individuos inmunocomprometidos. Su presencia en entornos clínicos y ambientales destaca la importancia de comprender su epidemiología y papel en la salud humana (Alawi et al., 2022).

- v) ***Bacillus cereus***: *Bacillus cereus* abarca varias especies de bacterias Gram-positivas, aerobias o facultativas anaerobias. Comunes en el suelo y asociadas con alimentos, algunas cepas pueden causar intoxicación alimentaria, mientras que otras se utilizan en la producción de alimentos fermentados (Jovanovic et al., 2021).
- w) ***Burkholderia pyrocinia***: *Burkholderia pyrocinia*, bacteria Gram-negativa del género *Burkholderia*, ha sido estudiada por su capacidad para producir compuestos antifúngicos, como la pirrolnitrina. Esto la convierte en un agente potencial de control biológico en la agricultura, asociándose beneficiosamente con plantas y mostrando aplicaciones prometedoras en la protección de cultivos (Liu et al., 2020).
- x) ***Burkholderia cenocepacia***: *Burkholderia cenocepacia*, bacteria Gram-negativa del género *Burkholderia*, se encuentra en diversos ambientes, incluyendo suelo y ambientes acuáticos. Aunque algunas cepas son inofensivas, variantes específicas pueden ser patógenas, especialmente en individuos con fibrosis quística. La resistencia a antibióticos en algunas cepas destaca la importancia de comprender su epidemiología y manejo clínico, especialmente en entornos de atención médica (Scoffone et al., 2020).

A continuación, se muestran las bacterias que de acuerdo a la literatura se consideran con un mayor potencial dentro de la biorremediación:

- a) ***Serratia fonticola***: La cepa AGBY19 de *Serratia fonticola* ha demostrado la capacidad de estimular la síntesis de la hormona IAA y la producción de enzimas relacionadas con la descomposición de la pared celular. Esta bacteria presenta un potencial significativo para su aplicación en la agricultura, desempeñando un papel dual como agente de biocontrol y promotor del crecimiento de las plantas (Çetinkaya et al., 2022).
- b) ***Bacillus infantis***: *Bacillus infantis* ha exhibido su capacidad como fijador de nitrógeno, lo que indica su función beneficiosa al aumentar la disponibilidad de nutrientes para las plantas anfitrionas. Este descubrimiento respalda la importancia de esta bacteria en el estímulo del crecimiento de las leguminosas, especialmente en entornos desafiantes (Dang et al., 2021).
- c) ***Lelliottia amnigena***: Las cepas de *Lelliottia amnigena* han demostrado un notable potencial de promoción del crecimiento vegetal (PGP). En ensayos in vitro y ex vitro, mejoraron tanto la germinación de semillas como los perfiles morfométricos y fisiológicos de trigo y tomate. Además, en experimentos de campo, estas cepas presentaron rendimientos productivos destacados en las cosechas de trigo y tomate, subrayando su valioso potencial en aplicaciones agrobiotecnológicas para optimizar el desarrollo vegetal y los resultados de los cultivos (Parashar et al., 2023).
- d) ***Kluyvera ascorbata***: *Kluyvera ascorbata* tiene un impacto significativo en el metabolismo de la planta, especialmente bajo estrés por lesiones provocadas por plagas. Estudios químicos y genéticos evidenciaron alteraciones notables

en las plantas inoculadas con *K. ascorbata*, resaltando su habilidad para desencadenar respuestas defensivas específicas contra *P. xylostella*. Esto sugiere posibilidades prometedoras para implementar estrategias integradas de control de plagas en la agricultura (Pratiwi et al., 2020).

- e) ***Pseudomonas extremorientalis***: Las cepas bacterianas de *Pseudomonas extremorientalis* muestran la capacidad de solubilizar minerales como fósforo, potasio, zinc y selenio, además de realizar la fijación de nitrógeno. Su aplicación en plantas de pimiento conduce a un notable aumento en el crecimiento, tanto en biomasa como en longitud de raíces y brotes. Además, mejora aspectos fisiológicos como el contenido de clorofila, azúcares solubles, fenoles y flavonoides, convirtiéndolas en potenciales biofertilizantes (Devi et al., 2022).
- f) ***Burkholderia cepacia***: El análisis del genoma de *Burkholderia cepacia* revela la presencia de genes asociados a la fijación de nitrógeno y la síntesis de fitohormonas en BRDJ, indicando la posibilidad de utilizar esta cepa como biofertilizante para mejorar tanto la eficiencia en la utilización del nitrógeno como el desarrollo global de las plantas de arroz (Li et al., 2022).

Estas bacterias no solo desempeñan funciones cruciales en la promoción del crecimiento de las plantas, sino que también ofrecen contribuciones valiosas a la biorremediación de suelos contaminados. *Serratia fonticola*, al participar en la descomposición de la pared celular, puede ayudar en la degradación de compuestos orgánicos, siendo potencialmente útil en la recuperación de suelos contaminados con residuos vegetales (Çetinkaya et al., 2022). *Bacillus infantis*, al actuar como fijador de nitrógeno, no solo mejora la fertilidad del suelo, sino que también puede participar en la biodegradación de contaminantes nitrogenados (Dang et al., 2021). *Lelliottia amnigena*, con su destacado potencial de promoción del crecimiento vegetal, puede mejorar la fitoextracción de contaminantes del suelo, facilitando la remediación de áreas afectadas (Parashar et al., 2023).

Kluyvera ascorbata, al desencadenar respuestas defensivas en las plantas, podría contribuir a la resistencia del suelo contra contaminantes y patógenos (Pratiwi et al., 2020). *Pseudomonas extremorientalis*, con su capacidad para solubilizar minerales y fijar nitrógeno, no solo favorece la salud del suelo, sino que también puede contribuir a la inmovilización de metales pesados y otros elementos tóxicos (Devi et al., 2022). *Burkholderia cepacia*, al presentar genes asociados a la síntesis de fitohormonas, sugiere un papel potencial en la fitoestabilización de suelos contaminados (Li et al., 2022). En conjunto, estas bacterias no solo son aliadas fundamentales en la agricultura sostenible, sino que también ofrecen prometedores horizontes en la restauración y recuperación de suelos degradados mediante estrategias de biorremediación.

En síntesis, la descripción morfológica y micro morfológica de las cepas bacterianas analizadas proporciona una visión detallada de la diversidad y adaptabilidad de estos microorganismos. La variedad en la forma, superficie, borde, color y tonalidad de las colonias destaca la complejidad morfológica presente en su desarrollo sobre medios de cultivo. Estos resultados no solo son cruciales para fines taxonómicos, sino que también ofrecen información valiosa sobre las interacciones microbianas y su papel en distintos entornos.

Desde un punto de vista ambiental, la morfología de las cepas bacterianas puede estar vinculada a su capacidad de adaptarse a diferentes condiciones ecológicas. La

presencia de cepas con características específicas, como superficies planas o colores brillantes, podría indicar adaptaciones particulares a ciertos ambientes. Además, la diversidad morfológica observada sugiere la riqueza biológica y la capacidad de estas bacterias para ocupar nichos ecológicos variados. Este conocimiento podría tener implicaciones en la comprensión de la ecología microbiana y su contribución a procesos ambientales, como la ciclización de nutrientes y la formación de biofilms.

En relación con la capacidad de fijación de nitrógeno, los resultados revelan la presencia de cepas con tamaños de halo significativos, indicando su eficacia en la liberación de compuestos o enzimas asociadas con la fijación de nitrógeno. Este proceso es esencial para mejorar la disponibilidad de nitrógeno en el suelo, beneficiando así el crecimiento de las plantas. Cepas como *Acinetobacter iwoffii* y *Providencia alcalifaciens* muestran un potencial destacado en este aspecto, lo que subraya su importancia en la mejora de la salud del suelo y el desarrollo vegetal sostenible.

En cuanto a la elaboración de bioinsumos, los resultados resaltan la diversidad de cepas bacterianas con capacidades beneficiosas para el crecimiento vegetal. La identificación de bacterias fijadoras de nitrógeno, como *Chryseobacterium joostei*, *Pseudomonas corrugata*, y *Pseudomonas fluorescens*, señala su potencial aplicación en la producción de bioinsumos agrícolas. Asimismo, la inclusión de bacterias como *Providencia alcalifaciens* y *Aeromonas* media destaca su papel como promotoras del crecimiento vegetal y sugiere su utilidad en prácticas agrícolas sostenibles.

En este sentido, este estudio proporciona una base sólida para comprender la morfología, la capacidad de fijación de nitrógeno y el potencial de aplicación de diversas cepas bacterianas en contextos agrícolas y ambientales. Estos hallazgos contribuyen al conocimiento de la microbiota del suelo y pueden ser fundamentales para el desarrollo de estrategias de manejo sostenible en la agricultura.

5.4 Discusión de resultados

Los resultados morfológicos obtenidos concuerdan con los hallazgos de estudios previos que destacan la diversidad en la forma, superficie, borde, color y tonalidad de las colonias bacterianas como reflejo de su adaptabilidad a diferentes condiciones ambientales (Chumpitaz, 2015; García, 2020). La predominancia de colonias planas, irregulares y de borde redondeado se asemeja a lo reportado por Martínez y Torregroza (2018), quienes encontraron estas características morfológicas en la mayoría de cepas estudiadas.

Según Sandhu et al. (2021), la morfología no proporciona información directa sobre propiedades de superficie como hidrofobicidad o capacidad de adhesión, pero sí evidencia estructuras generales de crecimiento y distribución de colonias. En este sentido, la superficie plana en el 81% de cepas podría estar relacionada con una extensión uniforme sobre el medio de cultivo.

Respecto a la micro-morfología, la clasificación mayoritaria como bacilos Gram positivos (59%) y Gram negativos (100%) concuerda con los trabajos de Chumpitaz (2015) y García (2020), donde predominaron las bacterias Gram negativas. No obstante, Bautista y Martínez (2020) encontraron diversidad de formas coco y bacilo tanto en Gram positivas como negativas, evidenciando la versatilidad morfológica de estas bacterias.

Sobre la capacidad de fijación de nitrógeno, los amplios halos observados en **Acinetobacter iwoffii** y **Providencia alcalifaciens** son indicadores de una activa liberación de compuestos nitrogenados, coincidiendo con Chiriboga et al. (2022), quienes utilizaron esta metodología para evaluar fijadores de nitrógeno. Ello corrobora la importancia de estas bacterias en la mejora de la fertilidad del suelo destacada por Calvo (2011).

Otros autores también han reportado efectos positivos de ciertos géneros bacterianos en la disponibilidad de nitrógeno y crecimiento vegetal, como **Chryseobacterium** (Nishioka et al., 2016), **Pseudomonas** (Zhang et al., 2018), **Serratia** (Matteoli et al., 2018) y **Aeromonas** (Babalola et al., 2022). Ello respalda su potencial aplicación como biofertilizantes, en línea con Daniel et al. (2022).

La presencia de diversos géneros bacterianos no típicamente reconocidos como fijadores de nitrógeno, como *Carnobacterium* y *Lactobacillus*, resalta la necesidad de más investigación para elucidar completamente su papel y contribución en los ciclos biogeoquímicos del nitrógeno (Calvo, 2011).

Varios estudios recientes han identificado nuevas especies bacterianas con capacidad de fijación de nitrógeno a partir de muestras ambientales mediante técnicas independientes de cultivo, como *Pseudomonas kilonensis* (Ambreen & Yasmin, 2020). Ello destaca el potencial de la metagenómica para revelar diversidad funcional no observable por métodos tradicionales.

La emergencia de cepas multirresistentes a antibióticos en bacterias ambientales y clínicas, como *Citrobacter braakii*, resalta la urgencia de implementar un enfoque integral de vigilancia epidemiológica y estrategias de biocontrol para mitigar la diseminación de resistencia (Fernandez et al., 2023).

Varios géneros estudiados, como *Bacillus*, *Burkholderia* y *Pseudomonas*, comprenden especies con aplicaciones ambientales, industriales y agrícolas (Villarreal et al., 2018). Su versatilidad metabólica podría aprovecharse en procesos sostenibles de biorremediación y producción de bioinsumos.

El potencial de bacterias endofíticas y rizobacterias, como *Kluyvera* y *Lelliottia*, para establecer interacciones beneficiosas con plantas es prometedor para el desarrollo de inoculantes y biofertilizantes de próxima generación (Pratiwi et al., 2020; Parashar et al., 2023).

En este sentido, estos resultados evidencian consistencia entre las características morfológicas y funcionales encontradas con los hallazgos previos sobre taxonomía, ecología y capacidad de fijación de nitrógeno en bacterias ambientales. Se reafirma así su diversidad estructural y metabólica, su adaptación a nichos variados y su contribución a la disponibilidad de nutrientes para las plantas, constituyendo un aporte al conocimiento de estos microorganismos y sus interacciones biogeoquímicas. Estos resultados orientan futuras investigaciones sobre el aislamiento y aplicación de cepas nativas en estrategias sostenibles para la agricultura y la biorremediación ambiental.

CAPÍTULO VI

6. CONCLUSIONES

Este análisis morfológico y funcional de cepas bacterianas revela hallazgos significativos con relevancia ambiental. La distribución uniforme de colonias de superficie plana (81%) sugiere una capacidad extendida para la rehabilitación de áreas contaminadas, aportando a la uniformidad y estabilidad del medio ambiente. La variabilidad morfológica, especialmente la presencia de colonias convexas y papiladas, contribuye a la biodiversidad microbiana, esencial para la salud del suelo.

La diversidad en formas, bordes y colores de las colonias destaca la adaptabilidad de estas bacterias a entornos cambiantes, presentando oportunidades para aplicaciones específicas en biorremediación y promoción del crecimiento vegetal. La predominancia de bacilos (59%) y cocos (41%) en bacterias Gram positivas, junto con la homogeneidad en las bacterias Gram negativas, resalta la riqueza morfológica y funcional de estos microorganismos.

La eficacia en la fijación de nitrógeno, evidenciada por halos notables en *Acinetobacter iwoffii* y *Providencia alcalifaciens*, subraya su potencial para mejorar la salud del suelo y favorecer el desarrollo vegetal. Estos resultados refuerzan la importancia de diversas bacterias fijadoras de nitrógeno, como *Chryseobacterium joostei* y *Serratia fonticola*, en la promoción de prácticas agrícolas sostenibles y la revitalización de suelos degradados.

El halo positivo se forma debido a que esto indica que es una bacteria positiva es decir que es fijadora de nitrógeno, el halo positivo se interpreta cuando es mayor a los 3 mm y nos indica una coloración diferente suele ser amarillento.

CAPÍTULO VII

7. RECOMENDACIONES

En la búsqueda de aplicaciones ambientales positivas, se proponen las siguientes recomendaciones:

Evaluación sistemática del tamaño del halo: Futuras investigaciones deben realizar evaluaciones rigurosas del tamaño del halo en estudios de fijación de nitrógeno. Estos resultados no solo indican eficacia en la fijación, sino que también proporcionan información valiosa sobre el potencial impacto ambiental y la disponibilidad de nutrientes en el suelo.

Selección cuidadosa de bacterias para bioinsumos: La elección de bacterias para bioinsumos debe basarse en una consideración minuciosa del tipo de cultivo, las condiciones del suelo y otros factores ambientales específicos. Esto asegurará la aplicación efectiva y específica para cada entorno agrícola, promoviendo prácticas agrícolas sostenibles.

Consideración de condiciones ambientales: Dado que las bacterias fijadoras de nitrógeno son más eficientes a bajas concentraciones de oxígeno, se recomienda tener en cuenta las condiciones ambientales del suelo al aplicar estos microorganismos. Esto asegurará una utilización óptima y sostenible de estas cepas en la mejora de la fertilidad del suelo.

Preservación de la capacidad de fijación: Es esencial garantizar condiciones óptimas de almacenamiento y transporte de los inoculantes para leguminosas, preservando así la capacidad de las bacterias para fijar nitrógeno. Este cuidado contribuirá a mantener la eficacia de estas cepas en la promoción del crecimiento vegetal y la biorremediación.

Promoción de asociaciones planta-bacteria: Dada la asociación simbiótica entre algunas bacterias y plantas, se destaca la importancia de considerar las interacciones planta-bacteria para maximizar los beneficios en la fijación de nitrógeno. Esto sugiere la necesidad de fomentar prácticas agrícolas que promuevan estas asociaciones, especialmente en cultivos de leguminosas.

Dado que en el cepario existen 41 bacterias con el poder de fijar nitrógeno se recomienda que se pueda utilizar, debido a que proporciona nitrógeno de forma biológica a los cultivos. Alarga la vida fotosintética de las plantas al ralentizarse el envejecimiento de sus células. Cada una de estas ventajas mejora las cosechas y mejora la eficiencia del uso del nitrógeno sin dañar el medio ambiente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alawi, A., Kiyoshi, K., Matsumoto, M., Yamaguchi, T., Narita, T., Morita, T., Suzuki, T., & Nakajima-Kambe, T. (2022). Metabolic engineering of a newly isolated *Citrobacter braakii* strain to produce 1,3-propanediol from glycerol. *Bioresource Technology Reports*, 20, 101271. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2022.101271>
- Alcañiz, M., Outeiro, L., Francos, M., & Úbeda, X. (2018). Effects of prescribed fires on soil properties: A review. *Science of The Total Environment*, 613–614, 944–957. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.09.144>
- Ambreen, S., & Yasmin, A. (2020). Novel metabolites of triazophos formed during degradation by bacterial strains *Pseudomonas kilonensis* MB490, *Pseudomonas kilonensis* MB498 and *pseudomonas* sp. MB504 isolated from cotton fields. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 55(12), 1106–1113. <https://doi.org/10.1080/03601234.2020.1823171>
- Anjur, N., Sabran, S. F., Daud, H. M., & Othman, N. Z. (2021). An update on the ornamental fish industry in Malaysia: *Aeromonas hydrophila*-associated disease and its treatment control. *Veterinary World*, 1143–1152. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2021.1143-1152>
- Annavajhala, M. K., Gomez-Simmonds, A., & Uhlemann, A.-C. (2019). Multidrug-Resistant *Enterobacter cloacae* Complex Emerging as a Global, Diversifying Threat. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00044>
- Arashida, H., Kugenuma, T., Watanabe, M., & Maeda, I. (2019). Nitrogen fixation in *Rhodospseudomonas palustris* co-cultured with *Bacillus subtilis* in the presence of air. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 127(5), 589–593. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2018.10.010>
- Babalola, O. O., Agunbiade, V. F., & Fadiji, A. E. (2022). Draft Genome Sequence of *Aeromonas caviae* Strain A1-2, a Potential Plant Growth-Promoting Rhizospheric Bacterium. *Microbiology Resource Announcements*, 11(12). <https://doi.org/10.1128/mra.00983-22>
- Bargaz, A., Lyamlouli, K., Chtouki, M., Zeroual, Y., & Dhiba, D. (2018). Soil Microbial Resources for Improving Fertilizers Efficiency in an Integrated Plant Nutrient Management System. *Frontiers in Microbiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01606>
- Basu, S., Kumar, G., Chhabra, S., & Prasad, R. (2021). Role of soil microbes in biogeochemical cycle for enhancing soil fertility. In *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering* (pp. 149–157). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64325-4.00013-4>
- Bautista, M. A., & Martínez, V. (2020). Promoción del crecimiento de *Agave potatorum* Zucc. por bacterias fijadoras de nitrógeno de vida libre. *Revista Terra Latinoamericana*, 38(3), 555–567. <https://doi.org/10.28940/terra.v38i3.647>
- Bedoya, B. D., Dossman, M. A., & Marín, J. (2021). Valoración ecológica de los servicios ecosistémicos prestados por el suelo en fincas cafeteras en Belén de Umbría, Colombia. *Revista de Ciencias Ambientales*, 55(1), 160–185. <https://doi.org/10.15359/rca.55-1.8>

- Bou, G., Fernández-Olmos, A., García, C., Sáez-Nieto, J. A., & Valdezate, S. (2011). Identificación bacteriana: métodos fenotípicos y moleculares. *Revista de Investigación Microbiológica*, 16(4), 225-236.
- Bueno Batista, M., & Dixon, R. (2019). Manipulating nitrogen regulation in diazotrophic bacteria for agronomic benefit. *Biochemical Society Transactions*, 47(2), 603–614. <https://doi.org/10.1042/BST20180342>
- Bushra, R., Uzair, B., Ali, A., Manzoor, S., Abbas, S., & Ahmed, I. (2023). Draft genome sequence of a halotolerant plant growth-promoting bacterium *Pseudarthrobacter oxydans* NCCP-2145 isolated from rhizospheric soil of mangrove plant *Avicennia marina*. *Electronic Journal of Biotechnology*, 66, 52–59. <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2023.08.003>
- Calvo García, S. (2011). Bacterias simbióticas fijadoras de nitrógeno. CT, 3, 173-186. Universidad de Salamanca.
- Çetinkaya, A., Baysal, Ö., Silme, R., Azim, K., & Saleem, F. (2022). Genomic characterization and phytostimulative effect of a novel *Serratia* species. *Genetika*, 54(1), 341–367. <https://doi.org/10.2298/GENSR2201341C>
- Chakraborty, T., & Akhtar, N. (2021). Biofertilizers: Prospects and Challenges for Future. In *Biofertilizers* (pp. 575–590). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781119724995.ch20>
- Chen, H., & Wang, Q. (2020). Microalgae-based nitrogen bioremediation. *Algal Research*, 46, 101775. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101775>
- Chen, J. G., Crooks, R. M., Seefeldt, L. C., Bren, K. L., Bullock, R. M., Darensbourg, M. Y., Holland, P. L., Hoffman, B., Janik, M. J., Jones, A. K., Kanatzidis, M. G., King, P., Lancaster, K. M., Lyman, S. V., Pfromm, P., Schneider, W. F., & Schrock, R. R. (2018). Beyond fossil fuel-driven nitrogen transformations. *Science*, 360(6391). <https://doi.org/10.1126/science.aar6611>
- Cherchi, C., & Gu, A. Z. (2010). Impact of Titanium Dioxide Nanomaterials on Nitrogen Fixation Rate and Intracellular Nitrogen Storage in *Anabaena variabilis*. *Environmental Science & Technology*, 44(21), 8302–8307. <https://doi.org/10.1021/es101658p>
- Chibeba, A. M., Pereira, C. S., Antunes, J. E. L., Ribeiro, R. A., de Almeida Lopes, A. C., Gomes, R. L. F., Hungria, M., & Araujo, A. S. F. (2020). Polyphasic characterization of nitrogen-fixing and co-resident bacteria in nodules of *Phaseolus lunatus* inoculated with soils from Piauí State, Northeast Brazil. *Symbiosis*, 80(3), 279–292. <https://doi.org/10.1007/s13199-020-00672-1>
- Chiriboga, H. A., Armijos, J. K., & Barcos, M. S. (2022). *Caracterización de bacterias fijadoras de nitrógeno (N₂) de vida libre, provenientes de cultivos comerciales de cacao y maíz* [Tesis]. ESPOL.
- Chumpitaz, C. (2015). *Caracterización de la diversidad de bacterias fijadoras de nitrógeno con capacidad promotora de crecimiento vegetal asociada a una Brassicaceae altoandina, Lepidium meyenii Walp* [Tesis]. Universidad Nacional Agraria.
- Dang, T. N. T., Pham, T. T. L., Pham, T. N., & Pham, V. N. (2021). Isolation and characterization of plant growth-promoting endophytic bacteria of wild legumes growing on sandy soils of Binh Thuan province, Vietnam. *World Journal of Advanced*

- Daniel, A. I., Fadaka, A. O., Gokul, A., Bakare, O. O., Aina, O., Fisher, S., Burt, A. F., Mavumengwana, V., Keyster, M., & Klein, A. (2022). Biofertilizer: The Future of Food Security and Food Safety. *Microorganisms*, 10(6), 1220. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10061220>
- Danielski, G. M., Imazaki, P. H., Andrade Cavallari, C. M. de, Daube, G., Clinquart, A., & Macedo, R. E. F. de. (2020). Carnobacterium maltaromaticum as bioprotective culture in vitro and in cooked ham. *Meat Science*, 162, 108035. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.108035>
- DeMartino, A. W., Kim-Shapiro, D. B., Patel, R. P., & Gladwin, M. T. (2019). Nitrite and nitrate chemical biology and signalling. *British Journal of Pharmacology*, 176(2), 228–245. <https://doi.org/10.1111/bph.14484>
- Devi, R., Kaur, T., Kour, D., Yadav, A. N., & Suman, A. (2022). Potential applications of mineral solubilizing rhizospheric and nitrogen fixing endophytic bacteria as microbial consortium for the growth promotion of chilli (Capsicum annum L.). *Biologia*, 77(10), 2933–2943. <https://doi.org/10.1007/s11756-022-01127-2>
- Doane, T. A. (2017). The Abiotic Nitrogen Cycle. *ACS Earth and Space Chemistry*, 1(7), 411–421. <https://doi.org/10.1021/acsearthspacechem.7b00059>
- Duan, B., Li, L., Chen, G., Su-Zhou, C., Li, Y., Merkeryan, H., Liu, W., & Liu, X. (2021). 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylate Deaminase-Producing Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Improve Drought Stress Tolerance in Grapevine (Vitis vinifera L.). *Frontiers in Plant Science*, 12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.706990>
- Erguven, G., & Kanat, G. (2020). Sphingomonas melonis ve Bacillus muralis'in İndaziflam Herbisiti Üzerinde Biyoparçalanma Performansı. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 5(3), 318–324. <https://doi.org/10.35229/jaes.749925>
- Fernández, A., García, C., Saéz, J., & Valdezate, S. (2010). Procedimientos en Microbiología Clínica: Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (G. Bou Arévalo, Coord.). Madrid, España: ISBN-978-84-614-7932-0.
- Fernandez, M., Callegari, E. A., Paez, M. D., González, P. S., & Agostini, E. (2023). Functional response of Acinetobacter guillouiae SFC 500-1A to tannery wastewater as revealed by a complementary proteomic approach. *Journal of Environmental Management*, 342, 118333. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.118333>
- Gao, Y., Du, J., Bahar, M. M., Wang, H., Subashchandrabose, S., Duan, L., Yang, X., Megharaj, M., Zhao, Q., Zhang, W., Liu, Y., Wang, J., & Naidu, R. (2021). Metagenomics analysis identifies nitrogen metabolic pathway in bioremediation of diesel contaminated soil. *Chemosphere*, 271, 129566. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129566>
- García, M. (2020). *Identificación molecular de bacterias con potencial fijador de nitrógeno, asociadas a la rizósfera de Prosopis pallida "algarrobo"* [Tesis]. Universidad Nacional de Tumbes.

- Gopalakrishnan, S., Srinivas, V., Vemula, A., Samineni, S., & Rathore, A. (2018). Influence of diazotrophic bacteria on nodulation, nitrogen fixation, growth promotion and yield traits in five cultivars of chickpea. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 15, 35–42. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.05.006>
- Gupta, P., Trivedi, M., & Soni, H. (2021). Aislamiento, Identificación y Evaluación de la Bacteria Promotora del Crecimiento de Plantas Autóctonas *Klebsiella pneumoniae* PNE1. *International Journal for Research in Applied Sciences and Biotechnology*, 8(6), 47–56.
- He, Y., Zhao, Y., Zhang, W., Zhang, Y., & Zou, Y. (2022). Optimization of Urease Production Capacity of a Novel Salt-Tolerant *Staphylococcus xylosum* Strain through Response Surface Modeling. *Sustainability*, 14(20), 13623. <https://doi.org/10.3390/su142013623>
- Hemkemeyer, M., Schwalb, S. A., Heinze, S., Joergensen, R. G., & Wichern, F. (2021). Functions of elements in soil microorganisms. *Microbiological Research*, 252, 126832. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126832>
- Højgaard, S. M. M., Rezahosseini, O., Knudsen, J. D., Fuglebjerg, N. J. U., Skov, M., Nielsen, S. D., & Harboe, Z. B. (2022). Characteristics and Outcomes of Patients with *Delftia acidovorans* Infections: a Retrospective Cohort Study. *Microbiology Spectrum*, 10(4). <https://doi.org/10.1128/spectrum.00326-22>
- Holmes, D. E., Dang, Y., & Smith, J. A. (2019). *Nitrogen cycling during wastewater treatment* (pp. 113–192). <https://doi.org/10.1016/bs.aams.2018.10.003>
- Infanzón, B., Herrmann, K. R., Hofmann, I., Willbold, S., Ruff, A. J., & Schwaneberg, U. (2022). Phytase blends for enhanced phosphorous mobilization of deoiled seeds. *Enzyme and Microbial Technology*, 153, 109953. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2021.109953>
- Janßen, D., Dworschak, L., Ludwig, C., Ehrmann, M. A., & Vogel, R. F. (2020). Interspecies assertiveness of *Lactobacillus curvatus* and *Lactobacillus sakei* in sausage fermentations. *International Journal of Food Microbiology*, 331, 108689. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108689>
- Jeong, J.-J., Lee, Y. J., Pathiraja, D., Park, B., Choi, I.-G., & Kim, K. D. (2018). Draft Genome Sequences of *Chryseobacterium lactis* NCTC11390^T Isolated from Milk, *Chryseobacterium oncorhynchi* 701B-08^T from Rainbow Trout, and *Chryseobacterium viscerum* 687B-08^T from Diseased Fish. *Genome Announcements*, 6(26). <https://doi.org/10.1128/genomeA.00628-18>
- Jha, V., Purohit, H., & Dafale, N. A. (2022). Designing an Efficient Consortium for Improved Crop Productivity using Phosphate Stress Adapted Bacteria with Multiple Growth-Promoting Attributes. *Geomicrobiology Journal*, 39(10), 925–938. <https://doi.org/10.1080/01490451.2022.2097340>
- Joshi, S. K., & Gauraha, A. K. (2022). Global biofertilizer market: Emerging trends and opportunities. In *Trends of Applied Microbiology for Sustainable Economy* (pp. 689–697). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91595-3.00024-0>
- Jovanovic, J., Ornelis, V. F. M., Madder, A., & Rajkovic, A. (2021). *Bacillus cereus* food intoxication and toxicoinfection. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(4), 3719–3761. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12785>

- Karagözlü, N., & Karagözlü, C. (2016). Importance and usage of *Carnobacterium maltaromaticum* in dairy products. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi / Harran Journal of Agricultural and Food Science*, 20(1), 62–70.
- Kong, Z., Deng, Z., Glick, B. R., Wei, G., & Chou, M. (2017). A nodule endophytic plant growth-promoting *Pseudomonas* and its effects on growth, nodulation and metal uptake in *Medicago lupulina* under copper stress. *Annals of Microbiology*, 67(1), 49–58. <https://doi.org/10.1007/s13213-016-1235-1>
- Kumari, R., & Singh, D. P. (2020). Nano-biofertilizer: An Emerging Eco-friendly Approach for Sustainable Agriculture. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 90(4), 733–741. <https://doi.org/10.1007/s40011-019-01133-6>
- Lara Mantilla, C., Villalba Anaya, M., & Oviedo Zumaqué, L. E. (2007). Bacterias fijadoras asimbióticas de nitrógeno de la zona agrícola de San Carlos. Córdoba, Colombia. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 9(2), 6-14. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia. ISSN: 0123-3475. Recuperado de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=77690202>
- Lehnert, N., Dong, H. T., Harland, J. B., Hunt, A. P., & White, C. J. (2018). Reversing nitrogen fixation. *Nature Reviews Chemistry*, 2(10), 278–289. <https://doi.org/10.1038/s41570-018-0041-7>
- Li, Z., Henawy, A. R., Halema, A. A., Fan, Q., Duanmu, D., & Huang, R. (2022). A Wild Rice Rhizobacterium *Burkholderia cepacia* BRDJ Enhances Nitrogen Use Efficiency in Rice. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(18), 10769. <https://doi.org/10.3390/ijms231810769>
- Lin, X., Kang, Z., Pan, Q., & Liu, T. (2015). Evaluation of five antibiotics on larval gut bacterial diversity of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Insect Science*, 22(5), 619–628. <https://doi.org/10.1111/1744-7917.12168>
- Lindström, K., & Mousavi, S. A. (2020). Effectiveness of nitrogen fixation in rhizobia. *Microbial Biotechnology*, 13(5), 1314–1335. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13517>
- Liu, A., Zhang, P., Bai, B., Bai, F., Jin, T., & Ren, J. (2020). Volatile Organic Compounds of Endophytic *Burkholderia pyrrocinia* Strain JK-SH007 Promote Disease Resistance in Poplar. *Plant Disease*, 104(6), 1610–1620. <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-19-2366-RE>
- Liu, X., Qiao, X., Huang, T., Li, L., & Jiang, S. (2020). *Comamonas kerstersii* bacteremia. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 50(3), 288–290. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2019.12.005>
- Ma, Y., Rajkumar, M., Moreno, A., Zhang, C., & Freitas, H. (2017). Serpentine endophytic bacterium *Pseudomonas azotoformans* ASS1 accelerates phytoremediation of soil metals under drought stress. *Chemosphere*, 185, 75–85. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.06.135>
- Macías, C. J., Canchignia, H. F., Delgado, V. D., Paucar, F. P., Arellano, K. V., & Cedeño, A. V. (2023). Efectos de la co-inoculación de Bioformulados (PGPR's) sobre el porcentaje de germinación y promover el crecimiento en plántula de papaya (*Carica papaya* L.). *Manglar*, 20(2), 149–155. <https://doi.org/10.57188/manglar.2023.017>

- Martinez, E. A. (2016). *Efecto del tipo y la composición del flujo de nutrientes en la remoción del sulfuro de hidrógeno usando bacterias inmovilizadas en carbón activado* [Tesis]. Universidad de los Andes.
- Martínez, E. A., & Torregroza, C. (2018). *Caracterización de bacterias fijadoras de nitrógeno y su relación con suelos agrícolas en el distrito de riego de repelón, Departamento del Atlántico* [Tesis]. Universidad de la Costa.
- Masood, S., Zhao, X. Q., & Shen, R. F. (2020). Bacillus pumilus promotes the growth and nitrogen uptake of tomato plants under nitrogen fertilization. *Scientia Horticulturae*, 272, 109581. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109581>
- Matteoli, F. P., Passarelli-Araujo, H., Reis, R. J. A., da Rocha, L. O., de Souza, E. M., Aravind, L., Olivares, F. L., & Venancio, T. M. (2018). Genome sequencing and assessment of plant growth-promoting properties of a Serratia marcescens strain isolated from vermicompost. *BMC Genomics*, 19(1), 750. <https://doi.org/10.1186/s12864-018-5130-y>
- Michael, P. S., Fitzpatrick, R. W., & Reid, R. J. (2016). The importance of soil carbon and nitrogen for amelioration of acid sulphate soils. *Soil Use and Management*, 32(1), 97–105. <https://doi.org/10.1111/sum.12239>
- Mohamed, M., Aliyat, F. Z., Ben Messaoud, B., Simone, C., Marina, M., Filippo, G., Laila, N., & Jamal, I. (2021). Effects of Pesticides Use (Glyphosate & Paraquat) on Biological Nitrogen Fixation. *Water, Air, & Soil Pollution*, 232(10), 419. <https://doi.org/10.1007/s11270-021-05367-x>
- Munson, E., & Carroll, K. C. (2017). What's in a Name? New Bacterial Species and Changes to Taxonomic Status from 2012 through 2015. *Journal of Clinical Microbiology*, 55(1), 24–42. <https://doi.org/10.1128/JCM.01379-16>
- Mus, F., Alleman, A. B., Pence, N., Seefeldt, L. C., & Peters, J. W. (2018). Exploring the alternatives of biological nitrogen fixation. *Metallomics*, 10(4), 523–538. <https://doi.org/10.1039/C8MT00038G>
- Mus, F., Crook, M. B., Garcia, K., Garcia Costas, A., Geddes, B. A., Kouri, E. D., Paramasivan, P., Ryu, M.-H., Oldroyd, G. E. D., Poole, P. S., Udvardi, M. K., Voigt, C. A., Ané, J.-M., & Peters, J. W. (2016). Symbiotic Nitrogen Fixation and the Challenges to Its Extension to Nonlegumes. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(13), 3698–3710. <https://doi.org/10.1128/AEM.01055-16>
- Nara, S., Kandpal, R., Jaiswal, V., Augustine, S., Wahie, S., Sharma, J. G., Takeuchi, R., Takenaka, S., & Malhotra, B. D. (2020). Exploring Providencia rettgeri for application to eco-friendly paper based microbial fuel cell. *Biosensors and Bioelectronics*, 165, 112323. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112323>
- Nishioka, T., Elsharkawy, M. M., Suga, H., Kageyama, K., Hyakumachi, M., & Shimizu, M. (2016). Development of Culture Medium for the Isolation of *Flavobacterium* and *Chryseobacterium* from Rhizosphere Soil. *Microbes and Environments*, 31(2), 104–110. <https://doi.org/10.1264/j sme2.ME15144>
- Ortiz Marquez, J. C. F., Arruebarrena Di Palma, A., Ambrosio, R., Inchaurredo, J., & Curatti, L. (2014). Fijación biológica del nitrógeno como estrategia alternativa a la

producción industrial de fertilizantes nitrogenados. Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Biotecnología – Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (INBIOTEC-CONICET), Fundación para Investigaciones Biológicas Aplicadas (FIBA), Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina.

- Parashar, M., Dhar, S. K., Kaur, J., Chauhan, A., Tamang, J., Singh, G. B., Lyudmila, A., Perveen, K., Khan, F., Bukhari, N. A., Mudgal, G., & Gururani, M. A. (2023). Two Novel Plant-Growth-Promoting *Lelliottia amnigena* Isolates from *Euphorbia prostrata* Aiton Enhance the Overall Productivity of Wheat and Tomato. *Plants*, 12(17), 3081. <https://doi.org/10.3390/plants12173081>
- Pashaei, R., Zahedipour-Sheshglani, P., Dzingelevičienė, R., Abbasi, S., & Rees, R. M. (2022). Effects of pharmaceuticals on the nitrogen cycle in water and soil: a review. *Environmental Monitoring and Assessment*, 194(2), 105. <https://doi.org/10.1007/s10661-022-09754-7>
- Pettersson, B., de Silva, S., UhleIn, M., & Priest, F. (2000). *Bacillus siralis* sp. nov., a novel species from silage with a higher order structural attribute in the 16S rRNA genes. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 50(6), 2181–2187.
- Pinos, M. C. (2023). *Identificación de cepas bacterianas que intervienen en la solubilización del fósforo como base para procesos de Biorremediación* [Tesis]. Universidad Católica de Cuencia.
- Pratiwi, E. R., Ardyati, T., & Suharjono, S. (2020). Plant Growth Promoting Endophytic Bacteria of *Coffea canephora* and *Coffea arabica* L. in UB Forest. *The Journal of Experimental Life Sciences*, 10(2), 119–126. <https://doi.org/10.21776/ub.jels.2020.010.02.07>
- Rabot, E., Wiesmeier, M., Schlüter, S., & Vogel, H.-J. (2018). Soil structure as an indicator of soil functions: A review. *Geoderma*, 314, 122–137. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2017.11.009>
- Raffa, C. M., & Chiampo, F. (2021). Bioremediation of Agricultural Soils Polluted with Pesticides: A Review. *Bioengineering*, 8(7), 92. <https://doi.org/10.3390/bioengineering8070092>
- Raimi, A., Roopnarain, A., & Adeleke, R. (2021). Biofertilizer production in Africa: Current status, factors impeding adoption and strategies for success. *Scientific African*, 11, e00694. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2021.e00694>
- Ramírez, J., Medina, Y., & Uscanga, I. (2018). *Manual de Laboratorio de Microbiología*.
- Ramos, J. (2020). Microbiología de *Hafnia alvei*. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 38, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2020.02.001>
- Reza, A. I., & Mendoza, R. (2021). *Manual de prácticas: Biología de Procariontes y Virus*.
- Rolón, G. A., Arvizu, J. L., Pacheco, J. R., Vázquez, J., & Hernández, A. (2021). Cadmium-tolerant endophytic *Pseudomonas rhodesiae* strains isolated from *Typha latifolia* modify the root architecture of *Arabidopsis thaliana* Col-0 in presence and absence of Cd. *Brazilian Journal of Microbiology*, 52(1), 349–361. <https://doi.org/10.1007/s42770-020-00408-9>

- Rudlong, A. M., Koga, Y. T., & Goddard, J. M. (2022). Advances in Nonfouling and Antimicrobial Coatings: Perspectives for the Food Industry. *ACS Food Science & Technology*, 2(9), 1401–1416. <https://doi.org/10.1021/acsfoodscitech.2c00148>
- Rush, C. E., Johnson, J., Burroughs, S., Riesgaard, B., Torres, A., Meunier-Goddik, L., & Waite-Cusic, J. (2022). Evaluating *Paenibacillus odorifer* for its potential to reduce shelf life in reworked high-temperature, short-time fluid milk products. *JDS Communications*, 3(2), 91–96. <https://doi.org/10.3168/jdsc.2021-0168>
- Salinas, A., San Martín Romero, E., Nava-Díaz, C., Rivera-Fernández, A., Suárez-Medellín, J., Melgar-Lalanne, G., & Trigos Landa, Á. (2021). PLANT GROWTH PROMOTING RHIZOBACTERIA ISOLATED FROM *Solanum tuberosum* L. IN VERACRUZ-MÉXICO RIZOBACTERIAS. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 24(3). <https://doi.org/10.56369/tsaes.3543>
- Sandhu, A. K., Subramanian, S., & Brözel, V. S. (2021). Surface Properties and Adherence of *Bradyrhizobium diazoefficiens* to Glycine max Roots Are Altered When Grown in Soil Extracted Nutrients. *Nitrogen*, 2(4), 461–473. <https://doi.org/10.3390/nitrogen2040031>
- Sarenkova, I., Sáez-Orviz, S., Ciprovica, I., Rendueles, M., & Díaz, M. (2022). Lactobionic acid production by *Pseudomonas taetrolens* in a fed-batch bioreactor using acid whey as substrate. *International Journal of Dairy Technology*, 75(2), 361–371. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12841>
- Scoffone, V. C., Barbieri, G., Buroni, S., Scarselli, M., Pizza, M., Rappuoli, R., & Riccardi, G. (2020). Vaccines to Overcome Antibiotic Resistance: The Challenge of *Burkholderia cenocepacia*. *Trends in Microbiology*, 28(4), 315–326. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2019.12.005>
- Shakirov, Z. S., Mamanazarova, K. S., Yakubov, I. T., Zakiryaeva, S. I., & Khamidova, K. M. (2022). Nitrogen-fixing, phosphate-potassium-mobilizing ability of *Rahnella* bacteria isolated from wheat roots. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 13(4), 379–384. <https://doi.org/10.15421/022250>
- Shivani, J., Rashmi, S., Sangani, S. R., Shahshi, T., & Agrawal, M. K. (2012). Actividad antibacteriana de cinco cepas de hongos aisladas de un campo de suelo de leguminosas contra bacterias fijadoras de nitrógeno. *Annals of Biological Research*, 3(6), 2829–2837.
- Silva, J. C. da, Santos, L. D. S., Faria, P. S. A., Silva, F. G., Rubio Neto, A., Martins, P. F., & Selari, P. J. R. G. (2021). Multifunctional characteristics of *Acinetobacter lwoffii* Bac109 for growth promotion and colonization in micropropagated sugarcane. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 51. <https://doi.org/10.1590/1983-40632021v5169373>
- Silva, V. E. (2017). *Aislamiento e identificación de bacterias fijadoras de nitrógeno de vida libre, y evaluación de la capacidad de crecimiento en medios de cultivo a gran escala como alternativa de biofertilizante en cultivos de Rosa sp* [Tesis]. Universidad de las Américas.
- Singh, P., Singh, M. K., Beg, Y. R., & Nishad, G. R. (2019). A review on spectroscopic methods for determination of nitrite and nitrate in environmental samples. *Talanta*, 191, 364–381. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.08.028>

- Singh, R. K., Singh, P., Li, H.-B., Song, Q.-Q., Guo, D.-J., Solanki, M. K., Verma, K. K., Malviya, M. K., Song, X.-P., Lakshmanan, P., Yang, L.-T., & Li, Y.-R. (2020). Diversity of nitrogen-fixing rhizobacteria associated with sugarcane: a comprehensive study of plant-microbe interactions for growth enhancement in *Saccharum* spp. *BMC Plant Biology*, 20(1), 220. <https://doi.org/10.1186/s12870-020-02400-9>
- Soumare, A., Diedhiou, A. G., Thuita, M., Hafidi, M., Ouhdouch, Y., Gopalakrishnan, S., & Kouisni, L. (2020). Exploiting Biological Nitrogen Fixation: A Route Towards a Sustainable Agriculture. *Plants*, 9(8), 1011. <https://doi.org/10.3390/plants9081011>
- Stein, L., & Klotz, M. (2016). The Nitrogen Cycle. *Current Biology Magazine*, 26, R94–R98. [https://www.cell.com/current-biology/pdf/S0960-9822\(15\)01518-3.pdf](https://www.cell.com/current-biology/pdf/S0960-9822(15)01518-3.pdf)
- Sui, X., Wang, X., Yu, L., & Ji, H. (2022). Genomics for the characterization of the mechanisms of microbial strains in degrading petroleum pollutants. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(8), 21608–21618. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-23685-3>
- Sun, B., Gu, L., Bao, L., Zhang, S., Wei, Y., Bai, Z., Zhuang, G., & Zhuang, X. (2020). Application of biofertilizer containing *Bacillus subtilis* reduced the nitrogen loss in agricultural soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 148, 107911. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2020.107911>
- Sun, X., Niu, Y., Du, Y., Geng, C., Guo, C., & Zhao, L. (2023). Isolation and Identification of New Soil Strains with Phosphate-Solubilizing and Exopolysaccharide-Producing Abilities in the Yellow River Wetland Nature Reserve of Luoyang City, China. *Sustainability*, 15(4), 3607. <https://doi.org/10.3390/su15043607>
- Sun, Y., Li, H., Guo, G., Semple, K. T., & Jones, K. C. (2019). Soil contamination in China: Current priorities, defining background levels and standards for heavy metals. *Journal of Environmental Management*, 251, 109512. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109512>
- Tapia-García, E. Y., Hernández-Trejo, V., Guevara-Luna, J., Rojas-Rojas, F. U., Arroyo-Herrera, I., Meza-Radilla, G., Vásquez-Murrieta, M. S., & Estrada-de los Santos, P. (2020). Plant growth-promoting bacteria isolated from wild legume nodules and nodules of *Phaseolus vulgaris* L. trap plants in central and southern Mexico. *Microbiological Research*, 239, 126522. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126522>
- Thomas, L., & Singh, I. (2019). *Microbial Biofertilizers: Types and Applications* (pp. 1–19). https://doi.org/10.1007/978-3-030-18933-4_1
- Tordera Castro, A. (2018). Identificación y caracterización de cepas probióticas de utilidad en una industria láctea (Trabajo Fin de Máster). Máster en Calidad, Desarrollo e Innovación de Alimentos, E.T.S. Ingenierías Agrarias, Campus de la Yutera (Palencia), Universidad de Valladolid.
- Torres-Gutiérrez, R., Granda-Mora, K. I., Bazantes Saltos, K. del R., & Robles-Carrión, Á. R. (2021). *Rhizobium Diversity Is the Key to Efficient Interplay with Phaseolus vulgaris. Case of Study of Southern Ecuador* (pp. 521–548). https://doi.org/10.1007/978-981-15-8999-7_19
- Toukabri, W., Ferchichi, N., Barbouchi, M., Hlel, D., Jadlaoui, M., Bahri, H., Mhamdi, R., Cheikh M'hamed, H., Annabi, M., & Trabelsi, D. (2022). Enhancement of Clover

- (*Trifolium alexandrinum* L.) Shade Tolerance and Nitrogen Fixation under Dense Stands-Based Cropping Systems. *Agronomy*, 12(10), 2332. <https://doi.org/10.3390/agronomy12102332>
- Türe, M., Cebeci, A., & Özcelep, T. (2022). The first outbreak of citrobacteriosis caused by *Citrobacter gillenii* in reared Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*) in Türkiye. *Veterinary Research Forum : An International Quarterly Journal*, 13(3), 323–329. <https://doi.org/10.30466/vrf.2021.137808.3076>
- Villarreal, M. F., Villa, E. D., Cira, L. A., Estrada, M. I., Parra, F. I., & De los Santos, S. (2018). El género *Bacillus* como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*, 36(1). <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1706-5>
- Waite, C. J., Lindström Battle, A., Bennett, M. H., Carey, M. R., Hong, C. K., Kotta-Loizou, I., Buck, M., & Schumacher, J. (2021). Resource Allocation During the Transition to Diazotrophy in *Klebsiella oxytoca*. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.718487>
- Wang, W., Gao, Y., Du, J., Zheng, L., Kong, X., Wang, H., Yang, X., Duan, L., Zhao, Q., Liu, Y., & Naidu, R. (2023). Dose–effect of nitrogen regulation on the bioremediation of diesel contaminated soil. *Environmental Technology & Innovation*, 32, 103245. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2023.103245>
- Wolejko, E., Jabłońska-Trypuć, A., Wydro, U., Butarewicz, A., & Łozowicka, B. (2020). Soil biological activity as an indicator of soil pollution with pesticides – A review. *Applied Soil Ecology*, 147, 103356. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.09.006>
- Xu, J., Kloepper, J. W., Huang, P., McInroy, J. A., & Hu, C. H. (2018). Isolation and characterization of N₂-fixing bacteria from giant reed and switchgrass for plant growth promotion and nutrient uptake. *Journal of Basic Microbiology*, 58(5), 459–471. <https://doi.org/10.1002/jobm.201700535>
- Yaghoubi, M., Strafella, S., Allegretta, I., & Crecchio, C. (2021). Isolation of Bacteria with Potential Plant-Promoting Traits and Optimization of Their Growth Conditions. *Current Microbiology*, 78(2), 464–478. <https://doi.org/10.1007/s00284-020-02303-w>
- Yang, M., Wen, Z., Hao, C., Fazal, A., Liao, Y., Luo, F., Yao, W., Yin, T., Yang, R., Qi, J., Hong, Z., Lu, G., & Yang, Y. (2021). Differential Assembly and Shifts of the Rhizosphere Bacterial Community by a Dual Transgenic Glyphosate-Tolerant Soybean Line with and without Glyphosate Application. *Horticulturae*, 7(10), 374. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7100374>
- Zhang, G., Sewell, C. D., Zhang, P., Mi, H., & Lin, Z. (2020). Nanostructured photocatalysts for nitrogen fixation. *Nano Energy*, 71, 104645. <https://doi.org/10.1016/j.nanoen.2020.104645>
- Zhang, J., Hussain, S., Zhao, F., Zhu, L., Cao, X., Yu, S., & Jin, Q. (2018). Effects of *Azospirillum brasilense* and *Pseudomonas fluorescens* on nitrogen transformation and enzyme activity in the rice rhizosphere. *Journal of Soils and Sediments*, 18(4), 1453–1465. <https://doi.org/10.1007/s11368-017-1861-7>
- Zhang, L., Chen, W., Jiang, Q., Fei, Z., & Xiao, M. (2020). Genome analysis of plant growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* JD37 and

insights from comparasion of genomics with three Pseudomonas strains.
Microbiological Research, 237, 126483. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126483>

ANEXOS

Anexo 1: Bacterias reactivadas del cepario del CITT

#	Bacteria	Código	#	Bacteria	Código
1	<i>Acinetobacter guillouiae</i>	MICON MB 0014	35	<i>Kluyvera ascorbata</i>	MICON MB 0097
2	<i>Acinetobacter iwoffii</i>	MICON MB 0048	36	<i>Lactobacillus curvatus</i>	MICON MB 0092
3	<i>Aeromonas caviae</i>	MICON MB 0017	37	<i>Lactobacillus helveticus</i>	MICON MB 0025
4	<i>Aeromonas hydrophila</i>	MICON MB 0064	38	<i>Lelliota amnigena</i>	MICON MB 0063
5	<i>Aeromonas media</i>	MICON MB 0020	39	<i>Morganella morganii</i>	MICON MB 0074
6	<i>Aeromonas molloscorum</i>	MICON MB 0016	40	<i>Paenibacillus odorifer</i>	MICON MB 0083
7	<i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i>	MICON MB 0125	41	<i>Pantoea agglomerans</i>	MICON MB 0086
8	<i>Bacillus</i>	MICON MB 0042	42	<i>Proteus mirabilis</i>	MICON MB 0150
9	<i>Bacillus cereus</i> group	MICON MB 0132	43	<i>Providencia alcalifaciens</i>	MICON MB 0018
10	<i>Bacillus infantis</i>	MICON MB 0037	44	<i>Providencia alcalifaciens</i>	MICON MB 0076
11	<i>Bacillus muralis</i>	MICON MB 0081	45	<i>Providencia rettgeri</i>	MICON MB 008
12	<i>Bacillus mycoides</i>	MICON MB 0082	46	<i>Pseudarthrobacter oxydans</i>	MICON MB 0104
13	<i>Bacillus pumillus</i>	MICON MB 0084	47	<i>Pseudomona protegens</i>	MICON MB 004
14	<i>Bacillus soralis</i>	MICON MB 0043	48	<i>Pseudomonas azotoformans</i>	MICON MB 0116
15	<i>Bacillus subtilis</i>	MICON MB 0085	49	<i>Pseudomonas brassicacearum</i>	MICON MB 0117
16	<i>Burkholderia cenocepacia</i>	MICON MB 0146	50	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	MICON MB 0021
17	<i>Burkholderia cepacia</i>	MICON MB 0147	51	<i>Pseudomonas corrugata</i>	MICON MB 002
18	<i>Burkholderia pyrocinia</i>	MICON MB 0140	52	<i>Pseudomonas extremorientalis</i>	MICON MB 0119
19	<i>Buttiauxella gaviniae</i>	MICON MB 0090	53	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	MICON MB 003
20	<i>Carnobacterium maltaromaticum</i>	MICON MB 0010	54	<i>Pseudomonas japonica</i>	MICON MB 0032
21	<i>Carnobacterium maltaromaticum</i>	MICON MB 0022	55	<i>Pseudomonas kilonensis</i>	MICON MB 0026
22	<i>Chryseobacterium joostei</i>	MICON MB 001	56	<i>Pseudomonas kilonensis</i>	MICON MB 0033
23	<i>Chryseobacterium oncorhynchi</i>	MICON MB 007	57	<i>Pseudomonas mucidolens</i>	MICON MB 0091
24	<i>Citrobacter braakii</i>	MICON MB 0128	58	<i>Pseudomonas rhodesiae</i>	MICON MB 0118
25	<i>Citrobacter gillenii</i>	MICON MB 0072	59	<i>Pseudomonas taetrolens</i>	MICON MB 0105
26	<i>Comamonas kerstersii</i>	MICON MB 0069	60	<i>Pseudomonas thivervalensis</i>	MICON MB 0035
27	<i>Comamonas testosteroni</i>	MICON MB 0103	61	<i>Rahnella aquatilis</i>	MICON MB 0109

28	<i>Delftia acidovorans</i>	MICON MB 0011	62	<i>Serratia fonticola</i>	MICON MB 009
29	<i>Enterobacter cloacae</i>	MICON MB 0024	63	<i>Serratia liqueniformes</i>	MICON MB 0040
30	<i>Enterobacter cloacae</i>	MICON MB 0028	64	<i>Serratia marcescens</i>	MICON MB 005
31	<i>Hafnia alvei</i>	MICON MB 0067	65	<i>Sphingobacterium multivorum</i>	MICON MB 0145
32	<i>Klebsiella aerogenes</i>	MICON MB 0148	66	<i>Staphylococcus xylosus</i>	MICON MB 0065
33	<i>Klebsiella oxytoca</i>	MICON MB 0124	67	<i>Yersenia massiliensis</i>	MICON MB 0080
34	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	MICON MB 0149			

Anexo 2: Características morfológicas de las bacterias del cepario del CITT

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
	Codigo	MICON MB 001	MICON MB 002	MICON MB 003	MICON MB 004	MICON MB 005	MICON MB 007	MICON MB 008	MICON MB 009	MICON MB 0010	MICON MB 0011	MICON MB 0014	MICON MB 0016	MICON MB 0017	MICON MB 0018	MICON MB 0020	MICON MB 0021	MICON MB 0022	MICON MB 0024	MICON MB 0025	MICON MB 0026	MICON MB 0028	MICON MB 0032
Superficie.	Plana	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x		x	x	x	x		x	x	x	X
	Planaconvexa																		X				
	Convexa													X									
	Acuminada																						
	Umbilicada																						
	Papilada																						
Forma	Puntiforme										x		x										
	Irregular					x		x	x						x	x	x	x		x	x		X
	Circular						x			x		x		X									
	Rizoide	x																					
	Filamentosa		x	x	x															X			
	Fusiforme																						x
Borde	Redondeado		x	x	x			x	x	x	x	x	x		x	x	x	x	X	x		x	
	Espiculado																						
	Ondulado													X									
	Filamentoso	x						x															X
	Lobulado																					x	
	Rizoide						x																
Color	Blanco	x	x	x	x	x				x			x			x	x		X		x		X
	Rosado																						x
	Amarillo																						
	Verde																						
	Crema								x		x	x		X	x								
	Naranja						x	x										x		x			
Tonalidad	Brillosa		x	x		x	x	x	x	x		x	x	X		x	x		X	x		x	
	Opaca	x																					X
Tamaño	Semitransparente				x						x				x			x				x	
	Grandes		x	x	x			x						X					x		x		X
	Medianas	x				x	x		x						x	x	x	x		x			
	Pequeñas									x	x	x	x									x	

REGISTRO DE CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS DE COLONIAS DE BACTERIAS

23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	
MICON MB 0033	MICON MB 0033	MICON MB 0033	MICON MB 0040	MICON MB 0040	MICON MB 0040	MICON MB 0040	MICON MB 0063	MICON MB 0064	MICON MB 0065	MICON MB 0067	MICON MB 0069	MICON MB 0072	MICON MB 0074	MICON MB 0076	MICON MB 0080	MICON MB 0083	MICON MB 0083	MICON MB 0083	MICON MB 0083	MICON MB 0084	MICON MB 0085	MICON MB 0086	MICON MB 0090
x	x			x			X	x	x	x		x	x	x	x	x	x	x	X	x			X
		x	x																				
																						x	
						x		x															
				x	x	x						x										x	X
	x									x			x	x					x	X			X
		x					X	x															
x			x												x		x						
x		x		x	x	x		x	x			x	x			x						x	X
			x																		x		
	x						X																
	x																						

Anexo 3: Bacterias Gram positivas del cepario del CITT

Nombre	Gram +
<i>Pseudomonas corrugata</i>	Bacilo
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Coco
<i>Serratia marcescens</i>	Bacilo
<i>Chryseobacterium oncorhynchi</i>	Bacilo
<i>Aeromonas caviae</i>	Bacilo
<i>Providencia alcalifaciens</i>	Coco
<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	Bacilo
<i>Carnobacterium maltaromaticu</i>	Bacilo
<i>Lactobacillus helveticus</i>	Bacilo
<i>Enterobacter cloacae</i>	Coco
<i>Pseudomonas thivervalensis</i>	Bacilo
<i>Bacillus infantis</i>	Bacilo
<i>Bacillus</i>	Coco
<i>Bacillus siralis</i>	Bacilo
<i>Acinetobacter iwoffi</i>	Coco
<i>Lelliota amnigena</i>	Coco
<i>Staphylococcus xylosus</i>	Bacilo
<i>Hafnia alvei</i>	Coco
<i>Comamonas kerstersii</i>	Coco
<i>Providencia alcalifaciens</i>	Bacilo
<i>Yersenia massiliensis</i>	Coco
<i>Bacillus mycoides</i>	Coco
<i>Pantoea agglomerans</i>	Bacilo
<i>Pseudomonas mucidolens</i>	Bacilo
<i>Lactobacillus curvatus</i>	Coco
<i>Comamonas testosteroni</i>	Bacilo
<i>Pseudarthrobacter oxydans</i>	Bacilo
<i>Rahnella aquatilis</i>	Bacilo
<i>Pseudomonas azotoformans</i>	Bacilo
<i>Pseudomonas brassicacearum</i>	Bacilo
<i>Pseudomonas rhodesiae</i>	Bacilo
<i>Pseudomonas extremorientalis</i>	Bacilo
<i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i>	Coco
<i>Bacillus cereus group</i>	Coco
<i>Burkholderia pyrocinia</i>	Coco
<i>Burkholderia cenocepacia</i>	Coco
<i>Proteus mirabilis</i>	Bacilo

Anexo 4: Bacterias Gram negativas del cepario del CITT

Nombre	Gram -
<i>Chryseobacterium joostei</i>	Bacilo
<i>Pseudomona protegens</i>	Bacilo
<i>Providencia rettgeri</i>	Bacilo
<i>Serratia fonticola</i>	Bacilo
<i>Carnobacterium maltaromaticu</i>	Bacilo
<i>Delftia acidovorans</i>	Bacilo
<i>Acinetobacter guillouiae</i>	Bacilo
<i>Aeromonas molloscorum</i>	Bacilo
<i>Aeromonas media</i>	Bacilo
<i>Enterobacter cloacae</i>	Bacilo
<i>Pseudomonas kilonensis</i>	Bacilo
<i>Pseudomonas kilonensis</i>	Bacilo
<i>Serratia liqueniformes</i>	Bacilo
<i>Citrobacter gilleni</i>	Bacilo
<i>Morganella morganii</i>	Bacilo
<i>Bacillus muralis</i>	Bacilo
<i>Bacillus subtilis</i>	Bacilo
<i>Buttiauxela gaviniae</i>	Bacilo
<i>Kluyvera ascorbata</i>	Bacilo
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Bacilo
<i>Citrobacter braakii</i>	Bacilo
<i>Sphingobacterium multivorum</i>	Bacilo

Anexo 5: Bacterias fijadoras de nitrógeno del cepario del CITT

Código		Tamaño de halo (mm)
MICON 001	<i>Chryseobacterium joostei</i>	3
MICON 002	<i>Pseudomonas corrugata</i>	4
MICON 003	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	3
MICON 004	<i>Pseudomona protegens</i>	x
MICON 005	<i>Serratia marcescens</i>	3
MICON 007	<i>Chryseobacterium oncorhy</i>	x
MICON 008	<i>Providencia rettgeri</i>	x
MICON 009	<i>Serratia fonticola</i>	4
MICON 010	<i>Carnobacterium maltaroma</i>	x
MICON 011	<i>Delftia acidovorans</i>	x
MICON 014	<i>Acinetobacter guillouiae</i>	x
MICON 016	<i>Aeromonas molloscorum</i>	x
MICON 017	<i>Aeromonas caviae</i>	3
MICON 018	<i>Providencia alcalifaciens</i>	10
MICON 020	<i>Aeromonas media</i>	5
MICON 021	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	3
MICON 022	<i>Carnobacterium maltaroma</i>	8
MICON 024	<i>Enterobacter cloacae</i>	x
MICON 025	<i>Lactobacillus helveticus</i>	3
MICON 026	<i>Pseudomonas kilonensis</i>	x
MICON 028	<i>Enterobacter cloacae</i>	x
MICON 033	<i>Pseudomonas japonica</i>	8
MICON 034	<i>Pseudomonas kilonensis</i>	x
MICON 035	<i>Pseudomonas thivervalensis</i>	6
MICON 037	<i>Bacillus infantis</i>	5
MICON 040	<i>Serratia liqueniformes</i>	6
MICON 042	<i>Bacillus</i>	x
MICON 043	<i>Bacillus sivalis</i>	x
MICON 048	<i>Acinetobacter iwoffii</i>	20
MICON 063	<i>Lelliota amnigena</i>	6
MICON 064	<i>Aeromonas hydrophila</i>	x
MICON 065	<i>Staphylococcus xylosus</i>	5
MICON 067	<i>Hafnia alvei</i>	x
MICON 069	<i>Comamonas kerstersii</i>	x
MICON 072	<i>Citrobacter gillenbergii</i>	6
MICON 074	<i>Morganella morganii</i>	4
MICON 076	<i>Providencia alcalifaciens</i>	8
MICON 080	<i>Yersenia massiliensis</i>	3
MICON 081	<i>Bacillus muralis</i>	x
MICON 082	<i>Bacillus mycoides</i>	3
MICON 083	<i>Paenibacillus odorifer</i>	x
MICON 084	<i>Bacillus pumillus</i>	6
MICON 085	<i>Bacillus subtilis</i>	3
MICON 086	<i>Pantoea agglomerans</i>	6
MICON 090	<i>Buttiauxella gaviniae</i>	4
MICON 091	<i>Pseudomonas mucidolens</i>	4
MICON 092	<i>Lactobacillus curvatus</i>	x
MICON 097	<i>Kluyvera ascorbata</i>	3
MICON 103	<i>Comamonas testosteroni</i>	4
MICON 104	<i>Pseudarthrobacter oxydans</i>	x
MICON 105	<i>Pseudomonas taetrolens</i>	x
MICON 109	<i>Rahnella aquatilis</i>	5
MICON 116	<i>Pseudomonas azotoforma</i>	3
MICON 117	<i>Pseudomonas brassicacear</i>	5
MICON 118	<i>Pseudomonas rhodesiae</i>	3
MICON 119	<i>Pseudomonas extremorien</i>	6
MICON 124	<i>Klebsiella oxytoca</i>	3
MICON 125	<i>Alicyclobacillus acidoterrest</i>	x
MICON 128	<i>Citrobacter braakii</i>	x
MICON 132	<i>Bacillus cereus group</i>	x
MICON 140	<i>Burkholderia pyrocinia</i>	x
MICON 145	<i>Sphingobacterium multivor</i>	7
MICON 146	<i>Burkholderia cenocepacia</i>	x
MICON 147	<i>Burkholderia cepacia</i>	5
MICON 148	<i>Klebsiella aerogenes</i>	5
MICON 149	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4
MICON 150	<i>Proteus mirabilis</i>	5

AUTORIZACION DE PUBLICACION EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL

Yo, Martín Alejandro Ulloa Wilches portador de la cédula de ciudadanía N.º 0107341422. En calidad de autor/a y titular de los derechos patrimoniales del trabajo de titulación “IDENTIFICACIÓN DE CEPAS BACTERIANAS FIJADORAS DE NITRÓGENO DENTRO DEL CEPARIO DEL CITT PARA SU POSTERIOR EXPERIMENTACIÓN EN FABRICACIÓN DE BIOFERTILIZANTES” de conformidad a lo establecido en el artículo 114 Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, reconozco a favor de la Universidad Católica de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos, Así mismo; autorizo a la Universidad para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el Repositorio Institucional de conformidad a lo dispuesto en el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 28 de febrero del 2024

MARTIN
ALEJANDR
O

Digitally signed by
MARTIN ALEJANDRO
ULLOA WILCHES

ULLOA WILCHES Date: 2024.02.29 12:35:26
F:
Martín Alejandro Ulloa Wilches
0107341422