

**TAMIZAJE DE BACTERIAS Y HONGOS ENDOBIONTES Y EPIBIONTES
SOLUBILIZADORES DE POTASIO (K) Y PRODUCTORES DE LA ACC
DEAMINASA ASOCIADOS A *Ulva lactuca* DEL CARIBE COLOMBIANO**

SANTIAGO ALEXANDER ROMERO RODRIGUEZ

**Trabajo de grado de formación para la investigación para optar al título de
Biólogo Ambiental**

**Directora
JOHANNA SANTAMARÍA VANEGAS
PhD Ciencias Ambientales
Profesora Titular del Departamento de Ciencias Biológicas y
Ambientales Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano
Sede Bogotá**

**UNIVERSIDAD DE BOGOTÁ JORGE TADEO LOZANO
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES E INGENIERIA
PROGRAMA DE BIOLOGÍA AMBIENTAL
BOGOTÁ
2023.**

DEDICATORIA

Todo mi esfuerzo de lo dedico a mi familia, mi motor más grande, a mi madre Diana Marcela Rodríguez y a mi padrastro Fabian Barrera, no olvido tampoco a mis abuelos Leonor Espitia y Hugo Alfonso, mi tía Camila Rodríguez y Diana Castrillón, también a mi tío Wilmar y David y sin olvidar a mi prima Juanita.

Todos ellos me enseñaron y aportaron a mi formación como persona. También dedico este trabajo a mis amigos y profesores, más allá de ser entes materiales, fueron noches y días de risas, sin ustedes no hubiera logrado este importante trabajo.

Por último, a mi Colombia, con este trabajo pretendo aportarle a la ciencia que aquí se produce, un país tan hermoso, como increíble, lleno de magia, siendo mi mayor deseo que en un futuro lo que se investigó aquí pueda ser aplicado por la mano de nuestros campesinos. A todos ustedes les dedico este trabajo, con el que les entrego un poco de mí y de lo que ayudaron a formar, más que un biólogo ambiental, un ser humano consiente.

AGRADECIMIENTOS

A mi madre, Diana Marcela, por hacerme un hombre fuerte y justo, quien me enseñó que con la biología se pueden alcanzar grandes metas y que siempre me apoyó en el camino que elegí. A mi padrastro, Fabián Barrera, quien me enseñó que un padre no es solo el que engendra, sino también el que cría. A mis abuelitos, Leito y Huguito, que cada mañana se levantan a trabajar para demostrarme que la verdadera fortaleza se forja con esfuerzo. A mis tíos, tías y prima: Camilita, David, Wilmaritas, Diana y Juanita, por sacarme sonrisas y ayudarme siempre.

Les agradezco a mis amigos, Ferney Orlando Martínez, quien me ayudó a mejorar cada día, sin importar lo difícil que fuera el camino; siempre tuvo tiempo para enseñarme más con sus charlas científicas y relatos de viajes. A María Vanessa Olivares, que estuvo desde la primera clase de la carrera hasta el último minuto de ella; no olvidaré cada risa y salida compartida. A Richard Duque, que me enseñó que los biólogos necesitan un poco de locura para brillar y que la fidelidad entre amigos vale más que el oro. A Daniel Figueroa, por enseñarme que un hermano no tiene que ser de sangre, sino de corazón; gracias por mostrarme que no solo se entrena la mente, sino también el cuerpo. Y, por último, pero no menos importante, a Sergio Pereira, por nunca faltar y demostrarme que una amistad se puede formar incluso en el último momento.

A mi profesora Johanna Santamaría, por tener la bondad y paciencia de enseñarme todo lo que sabe, por explicarme paso a paso, por inculcarme que un científico es más que una máquina, es un ser razonable. Gracias por confiar en mí, darme la libertad de opinar sobre qué pasos seguir y, sobre todo, por adoptarme como tesista. A todos mis docentes, les agradezco por mostrarme sus perspectivas y caminos.

A los técnicos de laboratorio que muchas veces me ayudaron y también me salvaron de muchos aprietos, les agradezco.

A mi universidad, que fue mi segundo hogar desde el momento en que la vi. No todo fue perfecto, pero a su manera, la universidad fue perfecta ante mis ojos. No olvidaré sus salones, laboratorios y cafeterías. Solo tengo aprecio y cariño por el lugar que ayudó a forjar al profesional que soy ahora.

Por último, mi bello país que me hizo enamorarme de esta carrera, todos los microorganismos que vi tienen mi agradecimiento eterno por hacerme enamorar de ellos y querer indagar más en ese mundo.

El profesional y persona que soy hoy en día es gracias a ustedes.

TABLA DE CONTENIDOS

ANEXOS	6
RESUMEN	7
ABSTRACT	8
1. INTRODUCCIÓN	9
2. JUSTIFICACIÓN	11
3. MARCO TEORICO Y ESTADO DEL ARTE.....	12
Generalidades	12
3.1 LAS COMUNIDADES MICROBIANAS ASOCIADAS A LAS MACROALGAS MARINAS SON PARTE DE LA GRAN DIVERSIDAD COLOMBIANA AUN DESCONOCIDA.....	12
3.2 GENERALIDADES DE EPIBIONTES Y ENDÓBIONTES.....	12
3.3 MICROORGANISMOS Y AGRICULTURA.....	13
3.4 <i>Ulva lactuca</i>	14
3.4.1 HABITAT Y DISTRIBUCIÓN GENERAL DE <i>Ulva lactuca</i>	15
3.4.2 CICLO DE VIDA DE <i>Ulva lactuca</i>	16
3.4.3 IMPORTANCIA DE <i>Ulva lactuca</i>	16
3.5 ESTADO DEL ARTE	17
4. DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA Y OBJETIVOS.....	18
Problema de investigación.....	18
Objetivos.....	19
5. HIPOTESIS.....	20
6. METODOLOGÍA.....	21
6.1 AREÁ DE ESTUDIO.....	21
6.2 ACTIVIDADES DESARROLLADAS.....	22
6.2.1 OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS DE <i>Ulva lactuca</i>	22
6.2.2 AISLAMIENTO DE MICROORGANISMOS EPIBIONTES Y ENDOBIONTES.....	22
6.2.3 IDENTIFICACIÓN TAXONOMICA DE LOS MICROORGANISMOS.....	24
6.2.4 PRUEBA CUALITATIVA DE ACC DESAMINASAS.....	24
6.2.5 PRUEBA CUALITATIVA DE SOLUBILIZACIÓN DE K.....	24
6.2.6 PRUEBA CUANTITATIVA DE SOLUBILIZACIÓN DE K.....	25
7. RESULTADOS	26
7.1 AISLAMIENTOS OBTENIDOS.....	26
7.2 PRODUCCIÓN DE ACC DEAMINASA.....	28
7.3 PRUEBAS CUALITATIVAS DE SOLUBILIZACIÓN DE K.....	29
7.4 PRUEBAS CUANTITATIVAS DE SOLUBILIZACIÓN DE K.....	31
8. DISCUSIÓN.....	32
9. CONCLUSIONES.....	34
10. RECOMENDACIONES.....	35
11. REFERENCIAS.....	36

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Producción de etileno.....	14
Figura 2. Distribución mundial de <i>Ulva lactuca</i>	15
Figura 3. Ciclo de vida de <i>Ulva lactuca</i> ,.....	16
Figura 4. Ubicación de Punta de la Loma.....	21
Figura 5. Crecimiento de <i>Pseudomonas cedrina</i> (EP_P 34) en medio suplementado con ACC (A) y en medio sin ACC (B).....	29
Figura 6. Solubilización de potasio de <i>Pseudomonas poae</i> (bacteria #31 epifita aislada en PDA), <i>Pseudomonas sp</i> (bacteria #33 epifita aislada en PDA) y <i>Pseudomonas cedrina</i> (bacteria #34 epifita aislada en PDA).....	30
Figura 7. Degradación enzimática del ACC por medio de la ACC desaminasa.....	32

LISTA DE TABLAS

TABLA 1. Microorganismos epibiontes y endobiontes aislados de la macroalga <i>Ulva lactuca</i> y su capacidad de solubilizar K y producir la enzima ACC desaminasa..	25
TABLA 2. Intensidad del Crecimiento de los microorganismos en el medio mínimo de sales DF suplementado con ACC. (+=poco crecimiento, +=crecimiento moderado y +++= bastante crecimiento).....	27
TABLA 3. Microorganismos solubilizadores de potasio.....	29
TABLA 4. Potasio solubilizado por los microorganismos seleccionados, el blanco a los 7 días de incubación fue de 530.4 mg/L.....	30

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1. PROTOCOLO PARA LA ELABORACIÓN DEL MEDIO DE SALES MÍNIMAS DF.....	48
ANEXO 2. PROTOCOLO PARA LA ELABORACIÓN DEL MEDIO ALEKSANDROV.....	50

RESUMEN

El cambio climático ha intensificado los periodos de sequía, poniendo en riesgo la seguridad alimentaria debido a la disminución de la producción agrícola. por ende, se llevó a cabo una búsqueda de microorganismos asociados a *Ulva lactuca*, ya que esta es una potencial fuente de bacterias y hongos con la capacidad de contrarrestar los efectos de la sequía. En este trabajo se lleva a cabo la bioprospección de las comunidades microbianas asociadas a *Ulva lactuca*, para encontrar microorganismos que tengan el potencial para ayudar a las plantas a tolerar las condiciones de sequía. Particularmente este estudio se enfoca en determinar la presencia de microorganismos epibiontes y/o endobiontes asociados a *Ulva lactuca* del caribe colombiano con capacidad para solubilizar potasio (K) y/o producir ACC desaminasa. La recolección de *Ulva lactuca* se llevó a cabo en el litoral rocoso en Punta de la Loma del Caribe de Colombia (Magdalena), y el aislamiento de los microorganismos se llevó a cabo con metodologías tradicionales de cultivo. Se aislaron 71 morfotipos de microorganismos, los cuales fueron evaluados en medio Aleksandrov para la solubilización de K y en medio de sales mínimas DF para la producción de ACC desaminasas. Para cuantificar la solubilización de potasio, se utilizó la espectroscopía de absorción atómica. 39 aislamientos resultaron positivos para la solubilización de K y 33 para la producción de ACC desaminasas. Se destacaron géneros como *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Pseudoalteromonas*, *Brochothrix*, *Glutamicibacter*, *Rahnella*, *Rhodotorula* y *Prieta*, por su capacidad para solubilizar potasio como producir ACC desaminasas. La actividad solubilizadora de K fue destacada en *Brochothrix thermosphacta*, quien solubilizó 110.25 mg/L de K y en *Pseudomonas* sp. quien registro 93.9 mg/L de K solubilizado. En conclusión, se encontraron microorganismos endobiontes y epibiontes asociados a *Ulva lactuca* que pueden ser evaluados en futuros bioensayos para determinar si ayudan algunas plantas de importancia comercial a mitigar los efectos de la sequía.

Palabras clave: *Ulva lactuca*, microorganismos endobiontes, microorganismos epibiontes, solubilización de potasio, ACC deaminasa.

ABSTRACT

Climate change has intensified periods of drought, putting food security at risk due to the decline in agricultural production, therefore, a search was carried out for microorganisms associated with *Ulva lactuca*, since this is a potential source of bacteria and fungi with the ability to counteract the effects of drought. In this work, the microbial communities associated with *Ulva lactuca* are searched for microorganisms that have the potential to make plants tolerate drought conditions. The collection of *Ulva lactuca* was carried out on the rocky coast in Punta de la Loma of the Caribbean of Colombia (Magdalena), and the isolation of microorganisms was carried out using traditional cultivation methodologies. 71 morphotypes of microorganisms were isolated, which were evaluated in Aleksandrov culture for the solubilization of potassium and in the culture of minimum salts DF for the production of ACC deaminases. Atomic absorption spectroscopy was used to quantify potassium solubilization. 39 isolates were positive for potassium solubilization and 33 for the production of ACC deaminases. Genera such as *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Pseudoalteromonas*, *Brochothrix*, *Glutamicibacter*, *Rahnella*, *Rhodotorula* and *Prieta* were noted for their ability to both solubilize potassium and also produce ACC deaminases. Potassium solubilizing activity was highlighted in *Brochothrix thermosphacta*, which solubilized 110.25 mg/L of potassium and in *Pseudomonas* sp who recorded 93.9 mg/L of soluble potassium. In conclusion, endobiont and epibiont microorganisms associated with *Ulva lactuca* may represent a viable solution to mitigate the effects of drought on various crops. It is also recommended to carry out bioassays on plants to verify their effectiveness.

Key words: *Ulva lactuca*, endobiont microorganisms, epibiont microorganisms, potassium solubilization, ACC deaminase.

1. INTRODUCCIÓN

Desde el siglo pasado varias regiones colombianas, especialmente en el norte del país, experimentan reducciones de la precipitación a lo largo del año (Cantor *et al.*, 2017; INCA, 2020; Marín, 2003). Particularmente en la región Caribe, se ha observado una reducción entre el 20 al 60% con respecto a la precipitación registrada hace 30 años (Ruíz *et al.*, 2023).

La reducción en la disponibilidad de agua durante el ciclo productivo de un cultivo, aumenta la salinidad del suelo y disminuye la absorción de nutrientes. Esto más el estrés hídrico en la planta se refleja en la disminución en su producción de biomasa (Piedra *et al.*, 2013). Por lo tanto, como consecuencia de estas sequías cada año más extremas, se observa una disminución en la producción agrícola (Cantor *et al.*, 2017). Esto pone en riesgo la seguridad alimentaria de las poblaciones humanas en la actualidad (Gil *et al.*, 2015) y también en el futuro, teniendo en cuenta el incremento poblacional esperado para el año 2050 (FAO, 2013; Huenchuan, 2018).

Existen varias propuestas de construcción de infraestructura para hacer frente a la escasez de agua en la región norte de Colombia y satisfacer la necesidad de provisión de agua para la producción de alimentos. Estas incluyen el transporte y almacenamiento de agua (Chavarro & Rojas, 2015) y la construcción de microplantas potabilizadoras (Figueroa *et al.*, 2015) y aerodesalinizadoras (Barrero *et al.*, 2015). Sin embargo, estas propuestas requieren de una inversión económica alta, sin mencionar que se necesita de una continua revisión y mantenimiento de la maquinaria. En consecuencia, existe la necesidad de implementar estrategias de manejo agrícola al alcance de los productores que ayuden a aliviar el estrés producido por la falta de agua, la salinidad y la disponibilidad de nutrientes.

Desde hace décadas se ha explorado a las comunidades microbianas del suelo con el objetivo de desarrollar inóculos microbianos al alcance de los productores, que funcionen como promotores de crecimiento vegetal (Samaniego, 2018). Esta función la pueden llevar a cabo los microorganismos a través de su habilidad de fijar nitrógeno y de solubilizar fósforo (P) y potasio (K), lo cual les facilita a las plantas absorber nutrientes en condiciones de sequía y alta salinidad (Leal *et al.*, 2018). Los microorganismos también pueden promover el crecimiento vegetal a través de la producción de enzimas, sideróforos y fitohormonas que ayuden a aliviar las condiciones de estrés hídrico (Molina *et al.*, 2015).

A pesar del potencial biotecnológico que tienen los microorganismos presentes en todos los ambientes del planeta para ayudar a enfrentar los efectos que tiene la escasez de agua en la producción de alimentos, la mayoría de las investigaciones de bioprospección de microorganismos para su uso en la agricultura se enfocan en zonas terrestres (Guevara, 2010). Sin embargo, las macroalgas marinas coexisten con microorganismos endobiontes y/o epibiontes que también podrían ayudar

plantas de importancia agrícola a tolerar las condiciones ambientales adversas. Por ejemplo, *Ulva lactuca*, una macroalga distribuida alrededor de todo el mundo (López, 2015) está sometida a un ambiente que presenta variaciones en temperatura, humedad, radiación, salinidad y disponibilidad de nutrientes y por lo tanto se piensa que esta macroalga está asociada a microorganismos que posiblemente le están ayudando a tolerar estas condiciones ambientales adversas. Sin embargo, no existe literatura científica al respecto. Por ahora lo único que se ha reportado es que bacterias asociadas al género *Ulva* producen sideroforos que ayudan a suplir hierro al alga (Amin *et al.*, 2009).

Por esta razón, vale la pena explorar las comunidades microbianas asociadas a esta macroalga para evaluar si hay microorganismos que tengan el potencial de promover el crecimiento vegetal bajo condiciones de sequía.

En consecuencia, el objetivo de este proyecto es realizar un trabajo de búsqueda de microorganismos asociados a *Ulva lactuca* para buscar específicamente solubilizadores de K y productores de la enzima 1-aminociclopropano-1-carboxilato deaminasa (ACC deaminasa) la cual ayuda a aliviar el estrés hídrico en las plantas terrestres al prevenir la producción de etileno (Esquivel *et al.*, 2013). *Ulva lactuca* es un excelente objeto de estudio no solamente porque ya se sabe que su comunidad de bacterias epífitas es fuente de enzimas con potencial comercial (Comba *et al.*, 2018), sino también porque vive en un medio ambiente cambiante donde se puede presentar con frecuencia estrés hídrico y además es un recurso renovable abundante en la región del Caribe (Dreckmann & Senties, 2013).

2. JUSTIFICACIÓN

El uso de los microorganismos en la agricultura se ha enfocado en el control biológico de plagas que afectan especies vegetales de interés comercial (Cruz *et al.*, 2021). En menor proporción se encuentran trabajos de bioprospección con el objetivo de encontrar microorganismos que les ayuden a las plantas a tolerar las condiciones de sequía. Los trabajos que existen a este respecto se enfocan principalmente en microorganismos solubilizadores de fósforo (López *et al.*, 2008), pero son pocos los trabajos que buscan solubilizadores de otros minerales igualmente importantes para las plantas como el K o que busquen microorganismos inhibidores de la producción de etileno, el cual, bajo condiciones de estrés hídrico, puede llegar a sobre expresarse, aumentando los niveles de esta fitohormona y provocando envejecimiento prematuro. Por otro lado, la mayoría de trabajos de bioprospección se hace en comunidades microbianas del suelo, dejando de lado la gran diversidad de comunidades microbianas presentes en los nichos marinos. Por lo tanto, es pertinente investigar microorganismos provenientes de medios marinos que tengan potencial biotecnológico en la agricultura. Los resultados de estos trabajos de bioprospección podrían aportar soluciones al campo agrícola que no representen grandes costos para contrarrestar los efectos de la sequía, como el ejemplo de *Pseudoaltermonas tunicanta*, aislado de medios marinos y siendo usado como controlador biológico (Bhatnagar *et al.*, 2010; Santillana, 2021).

Hay grupos de investigación enfocados en la bioprospección de organismos marinos, pero la mayoría de ellos orientan su búsqueda en el reino animalia, específicamente en los invertebrados, como corales o esponjas marinas (Díaz, 2017). Sin embargo, la gran mayoría de estos estudios se dirigen a la búsqueda de sustancias con aplicación en la industria farmacológica (Londoño & Quintero, 2015). Apenas el 11% de los microorganismos usados en la agricultura vienen del océano, (Carranza, 2017). En Colombia y en el mundo, los estudios de bioprospección de microorganismos asociados a algas y otros organismos marinos son bastante limitados (Bernal, 2019). Se destaca el trabajo de (Betancur *et al.*, 2017), los cuales a partir de *Bryopsis* sp lograron aislar los microorganismos *Micromonospora* sp y *Gordonia* sp, usados como controladores biológicos. Asimismo, Bhatnagar *et al* (2010), lograron aislar a *Pseudoaltermonas tunicanta*, *Stenotrophomonas* sp y *Purpureocillium lilacinum* de pepinos y esponjas de mar, los cuales se implementaron como controladores biológicos. Comba (2017) y Ruiz-Toquica (2017) encontraron enzimas con potencial biotecnológico en microorganismos asociados a *Ulva lactuca* en Colombia.

En el presente trabajo se planteó por estudiar a la macroalga *Ulva lactuca* porque 1) ya se han hecho algunas investigaciones que demuestran que esta especie tiene microorganismos asociados con potencial biotecnológico (Comba *et al.*, 2018) y 2) con este estudio se aportará al conocimiento científico de los microorganismos con potencial biotecnológico provenientes de algas ya que a nivel nacional las investigaciones son pocas (Carranza, 2017).

3. MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE

GENERALIDADES

3.1 LAS COMUNIDADES MICROBIANAS ASOCIADAS A LAS MACROALGAS MARINAS SON PARTE DE LA GRAN DIVERSIDAD COLOMBIANA AUN DESCONOCIDA.

Los microorganismos asociados a las macroalgas marinas son parte fundamental de los ciclos biogeoquímicos y la cadena alimenticia (Peterson, 1972; Riquelme *et al.*, 2003). No obstante, pese a todos los metabolitos y rutas metabólicas asociados a estos procesos ecológicos, su potencial biotecnológico y su diversidad son poco explorados en Colombia (Carranza, 2017). En otras regiones del mundo se ha demostrado que estos microorganismos son productores de biopolímeros y enzimas útiles en la industria (Loja, 2020) y también se encuentran con mayor frecuencia estudios sobre su diversidad (Wichard, 2023).

3.2 GENERALIDADES DE EPIBIONTES Y ENDÓBIONTES

Microorganismos endobiontes. Los endobiontes son microorganismos que colonizan los tejidos internos de los macroorganismos (Martínez, 2010). Pueden ser benéficos para el huésped al promover el crecimiento o mejorar la tolerancia al estrés, pero en algunos casos también pueden ser patógenos (Crowder & Harwood., 2014).

Los hongos y bacterias endobiontes que favorecen al hospedero (Weller, 1997), pueden inducir resistencia contra patógenos, promover el crecimiento, ayudar a expresar genes específicos, influir en las rutas metabólicas y movilizar nutrientes a lo largo del organismo (Harman, 2004; Wani *et al.*, 2015).

El área del conocimiento en el cual se han realizado más investigaciones sobre microorganismos endobiontes es la agricultura, representando el 56.9% de los artículos. Seguido de la inmunología con un 35.8% del total de los estudios, enfocada en estudiar la relación de estos microorganismos con sus huéspedes. Ramas como la ingeniería de alimentos y la química también han estudiado a los microorganismos endobiontes, aunque en menor medida (Londoño & Quintero, 2015).

Microorganismos epibiontes. Los epibiontes son microorganismos que colonizan las estructuras superficiales de un macroorganismo (Becquer *et al.*, 2008). Estos a

comparación de los endobiontes, son capaces de tolerar mayores condiciones de estrés (Mailen *et al.*, 2020).

Es usual encontrar microorganismos epibiontes en macroalgas, pastos marinos y árboles de mangles ubicados en zonas marinas e intermareales (Janakidevi *et al.*, 2013). Muchos de estos microorganismos son vitales para el correcto desarrollo de sus hospederos (Janakidevi *et al.*, 2013). En algas pardas, rojas y verdes hay una mayor diversidad de epibiontes, debido a que las estructuras superficiales de las algas ofrecen protección y un entorno rico en nutrientes para estos microorganismos (Armstrong *et al.*, 2000).

Los epibiontes asociados a las macroalgas contribuyen al desarrollo morfológico de las algas y evitan la colonización de organismos patógenos (Borja, 2017). Las alphaproteobacteria, gammaproteobacteria y bacteroidetes son las divisiones más comunes en las clorofitas, grupo de macroalgas dentro del cual se encuentra la especie *Ulva lactuca* (Gallardo *et al.*, 2014). En las especies del género *Ulva*, predominan comunidades de gammaproteobacterias, mientras que en especies del género *Caulerpa* predominan comunidades de alphaproteobacterias (Strobel, 2003).

3.3 MICROORGANISMOS Y AGRICULTURA

Algunas estrategias que se usan en la agricultura para mantener la producción de alimentos en un ambiente cada vez más seco y con temperaturas altas es la implementación de sistemas eficientes de irrigación y fitomejoramiento (Giraldo, 2015). No obstante, dichas técnicas son costosas y no son asequibles para la mayoría de productores (Barrero *et al.*, 2015). Una alternativa viable es el uso de microorganismos que facilitan el crecimiento vegetal bajo condiciones de estrés, a través de la solubilización de nutrientes y/o la producción de sustancias que alivian el estrés causado por la sequía en las plantas (Compant *et al.*, 2010). Entre los procesos llevados a cabo por estos microorganismos, que ayudan a las plantas a adaptarse a la sequía, se incluyen la solubilización de potasio y la producción de la enzima 1-aminociclopropano-1-carboxilato deaminasa (ACC deaminasa) (Esquivel *et al.*, 2013).

El potasio en las plantas está implicado en la apertura estomática, la absorción de CO₂, el transporte de carbohidratos, el mantenimiento de la presión de turgencia de las células, la activación de enzimática y la producción de ATP (Vitra, 2020). Los microorganismos solubilizadores de K son especialmente importantes en períodos de sequía (Jabin *et al.*, 2017). Mediante la excreción de ácidos orgánicos, como el acético y el oxálico en donde los grupos carboxilo e hidroxilo presentes en los ácidos reaccionan con los iones de K contenidos en los minerales, solubilizando así el K en el medio. Además, los ácidos pueden quelar los iones de K presentes en los minerales a través de la formación de múltiples enlaces con el ion metálico, aumentando su solubilidad (Glick *et al.*, 2021; Samaniego, 2018).

La ACC deaminasa es importante porque ayuda a inhibir la producción de etileno. El etileno es una fitohormona implicada en la regulación, crecimiento y maduración de las estructuras vegetales (Adama *et al.*, 2008). En periodos de sequía hay un aumento en la concentración del etileno causando envejecimiento prematuro, estrés hídrico, crecimiento reducido y necrosis foliar (Esquivel *et al.*, 2013). La ruta de síntesis del etileno se inicia a partir de la metionina, la cual es convertida a S-adenosilmetionina (SAM). Este último compuesto es transformado a 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) por la enzima ACC sintasa, para finalmente convertirse en etileno por acción de la ACC oxidasa (**Figura 1**) (Seo *et al.*, 2009).

Los microorganismos que producen ACC desaminasas toman el ACC liberado por las plantas como fuente de nitrógeno y lo transforman en amonio y α -cetobutirato (**Figura 1**) (Kende, 1993). Con la disminución en la concentración de ACC, la planta continúa produciendo biomasa incluso bajo condiciones de estrés (Penrose *et al.*, 2001).

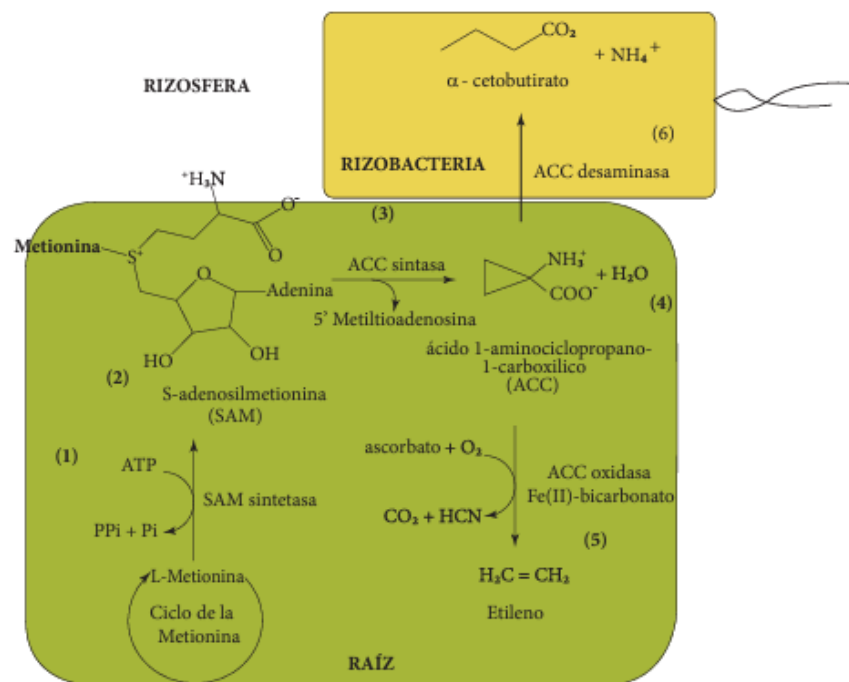


Figura 1. Producción de etileno: (1) La metionina es activada por el ATP para formar S-adenosilmetionina (SAM). (2) A través de la reacción catalizada por la enzima SAM sintetasa (3), la SAM es convertida en ACC mediante la enzima ACC sintasa que utiliza piridoxal-5-fosfato como cofactor (5). Finalmente, a partir del ACC el etileno es sintetizado por la enzima dependiente de hierro, ACC oxidasa. (6) La ACC deminasa usa como sustrato el 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) y produce amonio y α -cetobutirato. Tomado de (Penrose y Glick, 2001).

3.4 *Ulva lactuca*

Ulva lactuca o lechuga de mar es una macroalga polimórfica del orden Ulvales (Conabio, 2017). Perteneciente al clado de las Chlorophytas macroscópicas (Vallejos, 2014). En sus estadios inmaduros, se caracteriza por presentar talos membranosos con márgenes ondulados, cuyo grosor promedio es de 46 μm en el borde de la lámina (Norris, 2010). En estadios adultos, las células rizoidales muestran una diferenciación de tamaño con respecto a otros tipos de células circundantes (Boraso de Zaixso, 2004).

Ulva lactuca presenta células cuadrangulares con una disposición irregular y cloroplastos en forma de copa (Hayden *et al.*, 2013). Los talos esporangiales y gametangiales son similares y presentan gametos biflagelados (Abbott & Hollenberg, 1976).

Son organismos autótrofos que carecen de xilema y floema (Hayden *et al.*, 2013). Tienen una matriz de hemicelulosa con clorofila a, clorofila b, beta-caroteno y luteína (Werlinger *et al.*, 2004).

3.4.1 HABITAT Y DISTRIBUCIÓN GENERAL DE *Ulva lactuca*

Ulva lactuca es una especie cosmopolita al estar presente en algunas aguas continentales y en la zona fótica de la mayoría de mares, desde la franja intermareal hasta la submareal (**Figura 2**) (Pedroche *et al.*, 2005). *Ulva lactuca* puede sobrevivir largos períodos fuera del agua y es tolerante a bajas y altas salinidades (5 a 100 ppt) (Crémades *et al.*, 2006). En Colombia, se encuentra en Santa Marta y otras zonas del Caribe, como República Dominicana y Puerto Rico, siendo abundante en la época lluviosa comprendida entre agosto y noviembre (Comba, 2017).

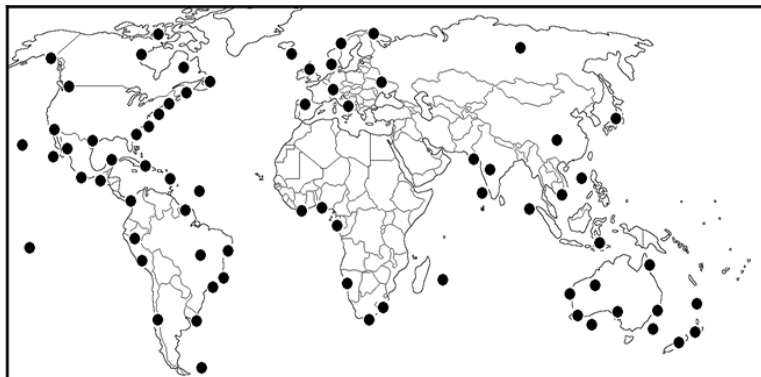


Figura 2. Distribución mundial de *Ulva lactuca*. Tomado de (López, 2015)

3.4.2 CICLO DE VIDA DE *Ulva lactuca*

Ulva lactuca presenta una alternancia de generaciones, donde el esporófito diploide consiste principalmente en solo dos hileras de células, las cuales se dividen por meiosis produciendo zoosporas haploides móviles (**Figura 3**) (Hayden *et al.*, 2013).

Las zoosporas se movilizan mediante cuatro flagelos hasta encontrar un sustrato para fijarse (Purves, 2009). Una vez allí, pierden sus flagelos y comienzan a dividirse por mitosis, obteniendo un gametofito que tiene un aspecto similar al esporófito, lo que resulta en un ciclo de vida isomórfico (López, 2015).



Figura 3. Ciclo de vida de *Ulva lactuca*: (A) El esporofito y el cuerpo algal crean una estructura de adhesión uniéndola a la piedra. (B) El tejido reproductivo maduro genera esporangios. (C) Dentro de cada esporangio por meiosis se generan las zoosporas cuadriflageladas. (D) Esta nueva fase es la gametofítica dando origen a los gametofitos masculinos y femeninos. (E) Se producen los gametangios que por medio de mitosis dan origen a los isogametos. (F). Los isogametos se fusionan dando lugar a la singamia donde los núcleos se fusionan dando origen a un cigoto diploide. (G) El cigoto al germinar da origen a un individuo adulto. Tomado de (Alveal *et al.*, 1990).

3.4.3 IMPORTANCIA DE *Ulva lactuca*

Ulva lactuca es la base de múltiples cadenas tróficas, es productora de oxígeno y también es una fuente de alimento para los humanos (Museo de Historia Natural de Concepción, 2022). También proporciona un refugio para algunos microorganismos (Hayden *et al.*, 2013). A su vez, estos microorganismos optimizan sus tasas de desarrollo y crecimiento (Malik *et al.*, 2020).

Los microorganismos endobiontes y epibiontes que residen en *Ulva lactuca* son de gran valor biotecnológico, ya que pueden ser capaces de producir una gran diversidad de metabolitos provechosos, como sideróforos, amilasas, celulasas y lipasas provenientes de los géneros *Pseudomonas* y *Bacillus* (Comba, 2017; Ruiz-Toquica, 2017; Hernández *et al.*, 2022). Sin embargo, aún se desconocen muchas de las capacidades y las posibles aplicaciones de los microorganismos endobiontes y epibiontes asociados *Ulva lactuca* (Wichard, 2023), pero Navés (2017) aclara que se tienen que seguir investigando dichos microbios para conocer más sobre sus futuras aplicaciones.

3.5 ESTADO DEL ARTE

La gran mayoría de microorganismos implementados en la agricultura provienen de medios terrestres (Corrales et al., 2014). Por ejemplo, bacterias acondicionadoras del suelo del género *Bacillus* aisladas de sustratos forestales (Corrales et al., 2014), bacterias bioestimulantes, como *Pseudomonas fluorescens* y *Burkholderia* sp. provenientes de suelos cercanos a raíces (Fuertes et al., 2020) y microorganismos biofertilizantes, pertenecientes a los géneros *Azospirillum*, *Gluconacetobacter*, *Glomus*, *Gigaspora*, *Trichoderma* y *Rhizobium* nativos de suelos con abundante materia orgánica y de la rizosfera de las leguminosas (Cruz et al., 2021).

Las rizobacterias son los microorganismos más estudiados en la agricultura con la capacidad de producir ACC desaminasas (Esquivel et al., 2013). De la misma manera, *Achromobacter piechaudii* a partir de las ACC desaminasas disminuye la concentración de ACC en periodos de sequía en *Lycium shawii*, aumentando su biomasa sin necesidad de riego constante (Glick, 2018). Otros microorganismos como *Pseudomonas putida*, *Enterobacter cloacae*, *Alcaligenes xylosoxidans*, *Alcaligenes* sp., *Bacillus pumilus*, *Pseudomonas brassicacearum*, *Pseudomonas marginalis*, *Pseudomonas oryzihabitans*, *Rhodococcus* sp y *Variovorax paradoxus* redujeron las concentraciones de ACC en plantas de mostaza durante periodos de sequía (Esquivel et al., 2013; Nascimento et al., 2014).

Por otro lado, se ha identificado a varias bacterias solubilizadoras de K, destacando a *Bacillus mucilaginosus*, la cual mostró la capacidad de solubilizar 23.85 mg/L de K, siendo este valor uno de los más altos reportados (Vivanco, 2018; Samaniego, 2018). No obstante, bacterias como *Pseudomonas* sp, *Burkholderia* sp, *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Bacillus edaphicus* y *Bacillus circulans* también han sido consideradas como potentes solubilizadoras de K (López et al., 2020).

Con respecto a los microorganismos epibiontes y endobiontes asociados a *Ulva lactuca*, se destacan tres investigaciones. Comba (2017), caracterizó molecularmente bacterias epífitas productoras de amilasas, celulasas, lipasas, agarasas y sideróforos. Ruiz (2017) se centró en la búsqueda de enzimas lipolíticas sintetizadas por bacterias epibiontes asociadas a *Ulva lactuca*. Finalmente, Millán (2021), aisló bacterias endobiontes y epibiontes de *Ulva lactuca*, identificándolas a nivel de especie.

Internacionalmente, destaca el trabajo de Wichard (2023), quien logró aislar bacterias asociadas a *Ulva lactuca* con la capacidad de producir auxinas y citoquininas. Además, Naik et al (2019) identificaron bacterias pertenecientes a los géneros *Bacillus* y *Pseudomonas* asociadas a *Ulva lactuca*, las cuales demostraron la capacidad de producir agarasas, λ -carragenasas, amilasas, celulasas y proteasas. Por otro lado, Singh et al (2011) llevaron a cabo el aislamiento y caracterización molecular de bacterias asociadas a *Ulva lactuca* y *Ulva fasciata* en la India.

4. DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA Y OBJETIVOS

PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

Actualmente, no existen estudios que evalúen la presencia de microorganismos asociados a macroalgas marinas con la capacidad de solubilizar potasio y producir la ACC deaminasa. Si estas características metabólicas están presentes en estas comunidades, valdrá la pena en el futuro cercano, diseñar bioensayos en las que se evalúen las ventajas de usar microorganismo marinos como inóculos en plantas terrestres de importancia comercial para ayudarles a tolerar las condiciones de sequía. Por esta razón, este es un estudio exploratorio que plantea las siguientes preguntas:

- ¿Existen microorganismos endobiontes y epibiontes asociados a *Ulva lactuca* con la capacidad de solubilizar potasio?
- ¿Existen microorganismos endobiontes y epibiontes asociados a *Ulva lactuca* con la capacidad de producir la ACC deaminasa?
- ¿Los microorganismos que tengan la capacidad de solubilizar potasio y/o de producir la ACC deaminasa, serán exclusivamente endobiontes o exclusivamente epibiontes? O, por el contrario, ¿estas características metabólicas están presentes en microorganismos que habitan tanto los tejidos como en la superficie de *Ulva lactuca*?
- ¿La capacidad de solubilizar el potasio y de producir la ACC deaminasa está presente en varios de los géneros de microorganismos asociados a *Ulva lactuca* o por el contrario estas funcionalidades estarán presentes en un rango muy limitado de géneros?

OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar la presencia de microorganismos epibiontes y endófitos asociados a *Ulva lactuca* con la capacidad de solubilizar potasio y/o producir la ACC deaminasa.

Objetivos específicos

- Evaluar cualitativamente la presencia de microorganismos endófitos y epibiontes solubilizadores de potasio y/o productores de la ACC deaminasa.
- Evaluar cuantitativamente la solubilización de potasio en los microorganismos identificados como positivos para la solubilización de potasio en la prueba cualitativa.

5. HIPOTESIS

- Se espera encontrar microorganismos con la capacidad de solubilizar potasio y/o producir la ACC deaminasa, ya que *U lactuca* vive bajo ambientes constantemente cambiantes y quizá estos microorganismos están asociados a ella y le están ayudando tolerar esas condiciones de estrés
- Existen diferencias entre géneros de microorganismos endobiontes y epibiontes que sean capaces de solubilizar potasio y producir la ACC deaminasa en la pruebas cualitativas.
- Se hipotetiza que habrá una mayor cantidad de microorganismos solubilizadores de K y productores de ACC deaminasa en los aislados epibiontes que en los endobiontes. Esta hipótesis se plantea, teniendo en cuenta que, primero, los microorganismos epibiontes son más numerosos y segundo, al estar la superficie vegetal expuesta a los constantes cambios del medio ambiente, es más probable encontrar en la comunidad de epibiontes microorganismos capaces de producir una mayor diversidad de metabolitos.

6. METODOLOGÍA

6.1 ÁREA DE ESTUDIO

Las muestras fueron obtenidas el 26 de enero del 2023 (época seca) en Punta de la Loma (**Figura 4**), localizada en el aeropuerto Simón Bolívar de la ciudad costera de Santa Marta, en el departamento del Magdalena, Colombia ($11^{\circ} 07' 00.9''$ N, $74^{\circ} 14' 01.3''$ W). Este sitio es principalmente un arrecife de coral fósil con una cobertura de arena y rocas de batolito dispersas, provenientes de la Sierra Nevada de Santa Marta. La plataforma rocosa presente en este lugar ofrece condiciones ideales para albergar una rica diversidad de macroalgas, destacando entre ellas la especie *Ulva lactuca* (Díaz & Díaz, 2003; García & Pulido, 2016). El clima de la zona es cálido y seco, con temperaturas que rondan los 28°C (Ruiz, 2017).

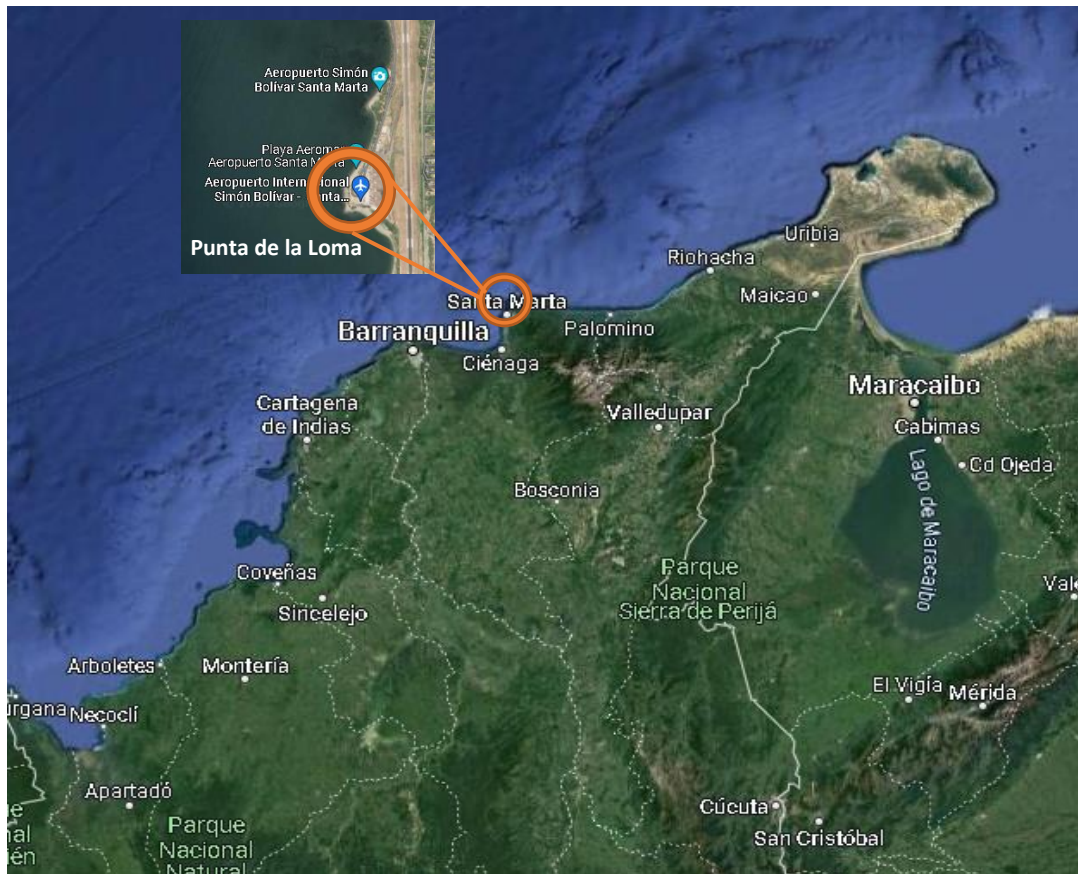


Figura 4. Ubicación de Punta de la Loma (Autoría propia).

6.2 RECOLECTA, AISLAMIENTO Y TAMIZAJE

6.2.1 OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS DE *Ulva lactuca*

Esta recolecta y el análisis de las muestras se llevaron a cabo bajo el Contrato de Acceso a Recursos Genéticos y sus Productos Derivados No. 320 de 2021, Expediente RGE 384, emitido por la Dirección de Bosques, Biodiversidad y Servicios Ecosistémicos.

Se emplearon pinzas previamente autoclavadas para desprender los talos macroalgales del sustrato rocoso y arenoso. Una vez recolectadas, las algas fueron sumergidas en agua de mar de la zona para remover material particulado y algunos organismos adheridos al talo. Posteriormente fueron almacenadas en frascos de plástico previamente esterilizados, los cuales se colocaron en una nevera de icopor a 4° C que fue transportada al laboratorio de Microbiología Ambiental de la universidad Jorge Tadeo Lozano en Bogotá. Las muestras comenzaron a ser procesadas en el laboratorio seis horas después de haber sido recolectadas.

En el laboratorio se lavaron nuevamente los especímenes macroalgales con solución salina estéril al 0.85% para limpiar residuos de arena o microorganismos adheridos, los cuales deben ser eliminados antes de iniciar los protocolos de aislamiento de bacterias epíobiontes y endóobiontes (Samaniego, 2018).

6.2.2 AISLAMIENTO DE MICROORGANISMOS EPIBIONTES Y ENDOBIONTES

Aislamiento de microorganismos epibiontes. Se obtuvieron tres fragmentos de 1 g de peso húmedo de cada una de las tres muestras de macroalgas previamente lavadas con una solución salina estéril al 0.85%. A continuación, cada uno de estos fragmentos se colocaron en 50 mL de una solución de NaCl estéril (0,85 %) y se agitaron a 130 rpm durante 25 min. Luego, 100 µL de la solución resultante se colocó por triplicado en tres placas de Petri con agar Zobell Marino (Himedia-Colombia) para el aislamiento de bacterias y en agar papa dextrosa (PDA) (Himedia-Colombia) con NaCl (0.85 % p/v) para el aislamiento de hongos.

Tras la inoculación, todos los cultivos se incubaron a 29 °C, temperatura similar a la registrada en el lugar de recolecta. Los aislamientos microbianos obtenidos se volvieron a inocular en medio fresco a temperatura ambiente hasta obtener aislados puros. Los aislados puros se obtuvieron sembrando las colonias crecidas en el primer aislamiento, con la técnica de estriado en placa durante mínimo seis siembras sucesivas. Las colonias puras fueron confirmadas examinando tinciones Gram de las muestras bajo microscopio.

Aislamiento de microorganismos endobiontes. Una muestra de 5 g de peso húmedo de talo de macroalga se sumergió en etanol al 70 % durante 50 s. A continuación, la muestra se sumergió en una solución estéril de NaCl al 0,85 % para eliminar el etanol residual. Seguido, cada talo se homogeneizó en 20 mL de una solución de NaCl durante 10 minutos utilizando una licuadora estéril. El homogeneizado resultante se inoculó en agar marino Zobell Marino (Himedia-Colombia) y en papa dextrosa (PDA) (Himedia- Colombia) más NaCl (0.85 % p/v) por triplicado, utilizando 100 µL de cada muestra. Este procedimiento se realizó con 3 muestras de macroalgas.

Los aislamientos microbianos de endobiontes se cultivaron en los medios anteriores y se incubaron a 29 °C, después se reinocularon en medio fresco hasta obtener aislamientos puros. Los aislados puros se obtuvieron sembrando las colonias crecidas en el primer aislamiento con la técnica de estriado en placa durante mínimo seis siembras sucesivas. Las colonias puras fueron confirmadas examinando tinciones Gram de las muestras bajo microscopio.

6.2.3 IDENTIFICACIÓN TAXONOMICA DE LOS MICROORGANISMOS

Se utilizó la secuencia 16S rARN para determinar la identidad de los microorganismos aislados (Amann *et al.*, 1995). La amplificación de esta región por PCR se realizó utilizando los cebadores universales 8F 5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3'- y 1541R 5'-AAG GAG GTG ATC CAG CCG CA-3'. El inóculo de una colonia de todas las bacterias aisladas se utilizó como fuente de ADN molde para la reacción (Amann *et al.*, 1995). Cada inóculo se suspendió en 10 µL de agua de grado molecular. Las reacciones de amplificación se realizaron en un termociclador (Labnet TC96-CM-10 Multigene Gradient) con un volumen de reacción final de 25 µL. Las mezclas de reacción contenían tampón de reacción PCR 1X, 2 mM de MgCl₂, 0,2 mM de cada dNTP, 250 nM de cebadores directo e inverso, 1U de Taq polimerasa (Promega, Madison, WI, EE.UU.) y 1 µL de la resuspensión bacteriana. Se utilizó el siguiente programa de termociclado: desnaturalización inicial a 94 °C durante 4 min; seguida de 30 ciclos a 94 °C durante 50 s, 55 °C durante 45 s y 72 °C durante 50 s; con un paso final de extensión a 72 °C durante 5 min.

Los amplicones fueron secuenciados en el Centro de Secuenciación Genecore de la Universidad de Los Andes utilizando el método Sanger dideoxy. Los archivos de secuencia resultantes se evaluaron y editaron utilizando el software BioEdit Sequence Alignment Editor (Bos & Posada, 2005). Tras la edición de los archivos de secuencia y los procedimientos de curación, las secuencias resultantes se compararon con las disponibles en el National Center for Biotechnology Information (NCBI) utilizando el programa Blast (Hall, 1999) y el EzBiocloud para la identificación taxonómica de las cepas microbianas aisladas.

6.2.4 PRUEBA CUALITATIVA DE DETECCIÓN DE PRODUCCIÓN DE ACC DEAMINASA

Los microorganismos epibiontes y endobiontes aislados a partir del medio Zobell y PDA fueron inoculados en el medio DF (Dworkin-Foster) de sales mínimas suplementado con ACC como única fuente de nitrógeno (Dworkin y Foster, 1958; Penrose y Glick, 2003) (Anexo 1). Simultáneamente, los aislamientos también fueron inoculados en el medio DF de sales mínimas sin ACC como medio control.

Se espera que los microorganismos capaces de sintetizar la ACC deaminasa sean aquellos capaces de crecer en el medio DF de sales mínimas suplementado con ACC. No se espera crecimiento en los casos en los que el microorganismo no es capaz de sintetizar la enzima. En el medio control no se debe observar crecimiento debido a la falta de nitrógeno (Gupta *et al.*, 2013).

Las cajas Petri inoculadas se incubaron a 28°C durante 7 días y el crecimiento se registró al final del periodo de incubación.

6.2.5 PRUEBA CUALITATIVA DE SOLUBILIZACIÓN DE POTASIO (K)

Para determinar la capacidad de los microorganismos aislados para solubilizar potasio se utilizó el medio Aleksandrov, el cual contiene el indicador azul de bromotimol y feldespato potásico, un mineral que contiene potasio no soluble (Anexo 2) (López *et al.*, 2020). Los microorganismos capaces de solubilizar potasio en el medio Aleksandrov usaran la glucosa en sus rutas metabólicas para producir y liberar ácidos orgánicos y/o agentes quelantes que permitan liberar el potasio del feldespato potásico. Con la liberación de ácidos el medio cambiara de color verde a amarillo (Samaniego, 2018).

En este ensayo, las placas inoculadas se incubaron a 28°C durante 7 días. Pasada una semana, los microorganismos que demostraran un halo de solubilización, con cambio en la coloración amarilla en el medio se registraron como posibles solubilizadores de potasio. La capacidad de estos microorganismos de solubilizar potasio se confirmó mediante espectroscopia de absorción atómica (Samaniego, 2018) (ver la siguiente sección).

6.2.6 PRUEBA CUANTITATIVA DE SOLUBILIZACIÓN DE POTASIO (K)

Se evaluó la capacidad de liberación de K de los cuatro microorganismos con mayor intensidad de la coloración amarilla en la prueba cualitativa.

Alícuotas de 20 ml de medio líquido Aleksandrov se colocaron en matraces de 50 ml y posteriormente fueron esterilizados en autoclave. Paralelamente los cuatro microorganismos seleccionados fueron incubados en caldo nutritivo a 30 °C en agitación (150 rpm) para elevar su densidad.

A continuación, los matraces previamente esterilizados se inocularon con 1 ml del cultivo en medio nutritivo descrito anteriormente y se incubaron por siete días en agitación (150 rpm) a 28°C. En esta prueba se incluyeron cuatro replicas por cada uno de los microorganismos evaluados y se utilizó medio líquido Aleksandrov sin inocular como blanco.

Al final del periodo de 7 de días de incubación, los 20 ml de medio líquido Aleksandrov se centrifugaron a 5000 rpm durante 10 min. La concentración de potasio en el sobrenadante se determinó mediante espectroscopia de absorción atómica (Biobase BK-AA320N) para medir los iones de potasio liberados de los tetraedros de silicato presentes en el feldespato potásico presente en el medio Aleksandrov". Este análisis se llevó a cabo en el centro de Biosistemas de la Universidad Jorge Tadeo Lozano (López *et al.*, 2017).

7. RESULTADOS

7.1 AISLAMIENTOS OBTENIDOS

En total se aislaron setenta y un microorganismos, en su mayoría bacterias (**Tabla 1**), de los cuales 45 microorganismos fueron epíbios (40 bacterias y 5 hongos) y veinte y seis fueron endobios (22 bacterias y 4 hongos). Treinta y nueve fueron positivos para la solubilización de potasio (**Figura 4**) y treinta y tres positivos para la producción de ACC deaminasa (**Figura 5**). Ninguno de los hongos aislados fue positivo para alguna de estas dos características.

Tabla 1. Microorganismos epibios y endobios aislados de la macroalga *Ulva lactuca* y su capacidad de solubilizar potasio y producir la enzima ACC deaminasa.

Etiqueta	# DE IDENTIFICACIÓN	Medio de aislamiento	Nicho	GÉNERO	POSIBLE ESPECIE	% Cobertura	Tamaño pb	% ID	PRODUCTOR DE ACC DEAMINASA	SOLUBILIZADO DE K	
1	46Epi1S1R1	15	PDA	Epíbio	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas fragi</i>	32.9%	480	100	NO	NO
2	46Epi1S1R1	16	PDA	Epíbio	<i>Brochothrix</i>	<i>Brochothrix thermosphacta</i>	19.4%	272	100	NO	SI
3	46Epi1S1R1	17	PDA	Epíbio	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas putida</i>	18.6%	271	100	SI	SI
4	48Epi1S1R3	19	PDA	Epíbio	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas weihenstephanensis</i>	29.7%	437	100	SI	NO
5	48Epi1S1R3	18	PDA	Epíbio	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas putida</i>	19%	280	100	SI	SI
6	49Epi1S2R1	21	PDA	Epíbio	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas gessardii</i>	30.8%	449	100	SI	SI
7	49Epi1S2R1	20	PDA	Epíbio	<i>Brochothrix</i>	<i>Brochothrix thermosphacta</i>	20.1%	297	94,95	NO	SI
8	51Epi1S2R3	22	PDA	Epíbio	<i>Artrobacter</i>	<i>Artrobacter</i> sp.	24.7%	365	100	NO	NO
9	52Epi1S3R1	23	PDA	Epíbio	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas</i> sp..	31.4%	459	100	SI	SI
10	53Epi1S3R2	24	PDA	Epíbio	<i>Brochothrix</i>	<i>Brochothrix thermosphacta</i>	27.9%	410	100	NO	SI
11	53Epi1S3R2	25	PDA	Epíbio	<i>Brochothrix</i>	<i>Brochothrix</i> sp.	28.3%	419	99,28	SI	NO
12	54Epi1S3R3	27	PDA	Epíbio	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas cedrina</i>	22.7%	331	100	SI	SI
13	54Epi1S3R3	26	PDA	Epíbio	<i>Brochothrix</i>	<i>Brochothrix thermosphacta</i>	21.9%	322	100	NO	SI
14	55Epi2S1R1	30	PDA	Epíbio	<i>Acinetobacter</i>	<i>Acinetobacter albensis</i>	26.1	383	100	SI	SI
15	55Epi2S1R1	28	PDA	Epíbio	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas deceptionensis</i>	23.2%	338	100	NO	SI
16	55Epi2S1R1	66	PDA	Epíbio	<i>Acinetobacter</i>	<i>Acinetobacter albensis</i>	32.9%	481	100	SI	SI
17	55Epi2S1R1	65	PDA	Epíbio	<i>Cutaneotrichosporon</i>	<i>Cutaneotrichosporon dermatis</i>	//	446	100	NO	NO
18	55Epi2S1R1	29	PDA	Epíbio	<i>Brochothrix</i>	<i>Brochothrix thermosphacta</i>	21.1%	310	100	NO	SI
19	55Epi2S1R1	32	PDA	Epíbio	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas poae</i>	13%	189	100	SI	SI
20	55Epi2S1R1	34	PDA	Epíbio	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas cedrina</i>	13%	189	100	SI	SI
21	55Epi2S1R1	33	PDA	Epíbio	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas</i> sp.	18.8%	275	100	SI	SI
22	55Epi2S1R1	31	PDA	Epíbio	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas poae</i>	19.2%	273	100	SI	SI
23	58Epi2S2R1	35	PDA	Epíbio	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas</i> sp.	19.1%	279	100	SI	SI
24	59 Epi2S2R2	37	PDA	Epíbio	<i>Staphylococcus</i>	<i>Staphylococcus pasturi</i>	28.9%	426	99,77	NO	NO
25	59 Epi2S2R2	38	PDA	Epíbio	<i>Acinetobacter</i>	<i>Acinetobacter albensis</i>	26.7%	390	95,64	SI	SI
26	59 Epi2S2R2	67	PDA	Epíbio	<i>Filobasidium</i>	<i>Filobasidium magnum</i>	//	551	100	NO	NO

27*	59 Epi2S2R2	68	PDA	Epibionte	No identificada	No identificada	//	//	//	NO	NO
28	59 Epi2S2R2	36	PDA	Epibionte	<i>Rahnella</i>	<i>Rahnella inusitata</i>	23.4%	343	100	SI	SI
29	60 Epi 2S2R3	39	PDA	Epibionte	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas gessardii</i>	30.8%	449	100	SI	SI
30	63Epi2S2R3	42	PDA	Epibionte	<i>Brochothrix</i>	<i>Brochothrix thermosphacta</i>	23.2%	342	100	NO	SI
31	63Epi2S2R3	41	PDA	Epibionte	<i>Lactococcus</i>	<i>Lactococcus piscium</i>	28.8%	422	93,16	NO	NO
32	63Epi2S2R3	40	PDA	Epibionte	<i>Brochothrix</i>	<i>Brochothrix thermosphacta</i>	32.4%	476	100	NO	SI
33	64Epi2S2R3	43	PDA	Epibionte	<i>Brochothrix</i>	<i>Brochothrix thermosphacta</i>	29%	432	100	NO	SI
34*	64Epi2S2R3	69	PDA	Epibionte	No identificada	No identificada	//	//	//	NO	NO
35	66Epi2S2R3	44	PDA	Epibionte	<i>Rhodotorula</i>	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	452%	525	100	SI	SI
36	67Epi3S2R1	45	PDA	Epibionte	<i>Brochothrix</i>	<i>Brochothrix thermosphacta</i>	21.1%	313	100	NO	SI
37	68Epi3S2R2	46	PDA	Epibionte	<i>Brochothrix</i>	<i>Brochothrix thermosphacta</i>	30.5%	453	93,81	NO	SI
38*	78EpiS2R3	47	PDA	Epibionte	No identificada	No identificada	//	//	//	//	//
39	1Epi1S1R1	55	Zobell	Epibionte	<i>Glutamicibacter</i>	<i>Glutamicibacter</i> sp.	38.7%	561	100	SI	NO
40	5Epi1S2R2	56	Zobell	Epibionte	<i>Shewanella</i>	<i>Shewanella báltica</i>	36%	528	100	NO	NO
41*	8Epi1S3R2	57	Zobell	Epibionte	No identificada	No identificada	//	//	//	//	//
42	12Epi2S1R3	58	Zobell	Epibionte	<i>Shewanella</i>	<i>Shewanella báltica</i>	23.8%	348	100	NO	NO
43	23Epi2S2R1	60	Zobell	Epibionte	<i>Psychrobacter</i>	<i>Psychrobacter cryohalolentis</i>	20.3%	297	100	NO	SI
44	25 Epi2S2R1	59	Zobell	Epibionte	<i>Arthrobacter</i>	<i>Arthrobacter alpinus</i>	35.4%	517	100	NO	SI
45	27Epi2S2R3	61	Zobell	Epibionte	<i>Pseudoalteromonas</i>	<i>Pseudoalteromonas</i> sp.	32.6%	475	100	SI	SI
46	16Endo1 R1	3	PDA	Endobionte	<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus siamensis</i>	19%	289	100	SI	NO
47	16Endo1 R1	14	PDA	Endobionte	<i>Rummeliibacillus</i>	<i>Rummeliibacillus stabekisii</i>	16.5%	241	100	NO	NO
48	16Endo1 R1	2	PDA	Endobionte	<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus velezensis</i>	28%	412	100	SI	SI
49	16Endo1 R1	1	PDA	Endobionte	<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus velezensis</i>	28%	480	100	SI	SI
50	17Endo1R2	62	PDA	Endobionte	<i>Rhodotorula</i>	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	//	583	100	NO	NO
51	18Endo1 R3	5	PDA	Endobionte	<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	13.1%	193	100	SI	NO
52	18Endo1 R3	70	PDA	Endobionte	<i>Priestia</i>	<i>Priestia megaterium</i>	26.9%	397	100	NO	NO
53	18Endo1 R3	4	PDA	Endobionte	<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	29.8%	438	100	SI	NO
54	18Endo1 R3	63	PDA	Endobionte	<i>Priestia</i>	<i>Priestia aryabhattai</i>	35.6%	525	100	SI	NO
55	19Endo2 R1	64	PDA	Endobionte	<i>Paenibacillus</i>	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	34.1%	504	100	NO	NO
56	20Endo2 R2	8	PDA	Endobionte	<i>Brochothrix</i>	<i>Brochothrix thermosphacta</i>	25.8%	379	100	NO	SI
57	20Endo2 R2	7	PDA	Endobionte	<i>Brochothrix</i>	<i>Brochothrix thermosphacta</i>	23.8%	353	100	NO	NO
58	20Endo2 R2	6	PDA	Endobionte	<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus velezensis</i>	16.7%	246	100	SI	SI
59	20Endo2 R2	9	PDA	Endobionte	<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus velezensis</i>	27.4%	403	100	SI	SI
60	21Endo2 R3	10	PDA	Endobionte	<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus velezensis</i>	27.4%	404	100	SI	SI
61	25Endo4 R1	11	PDA	Endobionte	<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus rugosus</i>	29.4%	433	100	SI	NO
62	26Endo4 R2	12	PDA	Endobionte	<i>Paraburkholderia</i>	<i>Paraburkholderia fungorum</i>	15.3%	222	100	NO	NO
63*	27Endo4 R3	13	PDA	Endobionte	No identificada	No identificada	//	//	//		
64	2Endo1R2	48	Zobell	Endobionte	<i>Macroccoccus</i>	<i>Macroccoccus caseolyticus</i>	36.5%	539	100	NO	SI
65	2Endo1R2	49	Zobell	Endobionte	<i>Arthrobacter</i>	<i>Arthrobacter alpinus</i>	39.2%	572	100	NO	NO
66	4Endo2 R1	50	Zobell	Endobionte	<i>Pseudoalter</i>	<i>Pseudoalteromonas</i> sp.	//	226	91,63	NO	SI
67	4Endo2 R1	51	Zobell	Endobionte	<i>Priestia</i>	<i>Priestia aryabhattai</i>	39.2%	572	100	SI	SI
68*	6Endo2 R3	52	Zobell	Endobionte	No identificada	No identificada	//	//	//	NO	NO
69	6Endo2 R3	53	Zobell	Endobionte	<i>Psychrobacter</i>	<i>Psychrobacter maritimus</i>	38.8%	567	100	SI	NO
70	6Endo2 R3	54	Zobell	Endobionte	No identificada	No identificada	//	//	//	NO	NO
71*	12Endo4 R3	55	Zobell	Endobionte	No identificada	No identificada	//	//	//	NO	NO

Los microorganismos con un asterisco no pudieron ser identificados mediante la secuenciación de la región 16S ARNr.

7.2 PRODUCCIÓN DE ACC DEAMINASA

A partir de la inoculación de las setenta y un muestras microbianas en el medio de sales mínima DF, se evidencio que en las cajas que no contenían ACC no hubo crecimientos de ningún microorganismo, mientras que en las que tenían ACC 33 aislamientos crecieron con diferente magnitud (**Tabla 2**).

Tabla 2. Posibles especies microbianas que crecieron en el medio mínimo de sales DF suplementado con ACC.

Posible especie	# ID	Nicho	Magnitud de crecimiento
<i>Bacillus velezensis</i>	1, 2, 6, 9, 10	Endobionte	+
<i>Bacillus siamensis</i>	3	Endobionte	++
<i>Bacillus subtilis</i>	4, 5	Endobionte	++
<i>Bacillus rugosus</i>	11	Endobionte	+
<i>Rummeliibacillus stabekisii</i>	14	Endobionte	+
<i>Priestia aryabhatai</i>	51, 63	Endobionte	++
<i>Psychrobacter maritimus</i>	53	Endobionte	+
<i>Pseudoalteromonas</i> sp.	61	Epibionte	++
<i>Pseudomonas putida</i>	17, 18	Epibionte	++
<i>Pseudomonas</i> sp.	19, 23	Epibionte	+
<i>Pseudomonas gessardii</i>	21, 39	Epibionte	+
<i>Brochothrix</i> sp.	25	Epibionte	+++
<i>Pseudomonas cedrina</i>	27, 34	Epibionte	+++
<i>Pseudomonas poae</i>	31, 32	Epibionte	+++
<i>Pseudomonas</i> sp.	23, 33	Epibionte	+++
<i>Rahnella inusitata</i>	36	Epibionte	+++
<i>Acinetobacter albensis</i>	30, 38, 66	Epibionte	+++
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	44	Epibionte	++
<i>Glutamicibacter</i> sp.	55	Epibionte	+++

+ = poco crecimiento, ++ = crecimiento moderado y +++ = crecimiento abundante

De los 33 microorganismos positivos para ACC deaminasa, 60.6% fueron epibiontes y 34.4% fueron endobiontes (Tabla 2). Los resultados también muestran que las bacterias del género *Pseudomonas* son las más frecuentes con un 60% dentro de los microorganismos epibiontes productores de ACC deaminasa, mientras que las bacterias del género *Bacillus* son las más frecuentes con una frecuencia de 69.5% dentro de la comunidad de endobiontes positivos para ACC deaminasa. En la

Figura 4 se puede observar el crecimiento del epibionte *Pseudomonas cedrina* (ID-34) en medio suplementado con ACC y en medio sin ACC.

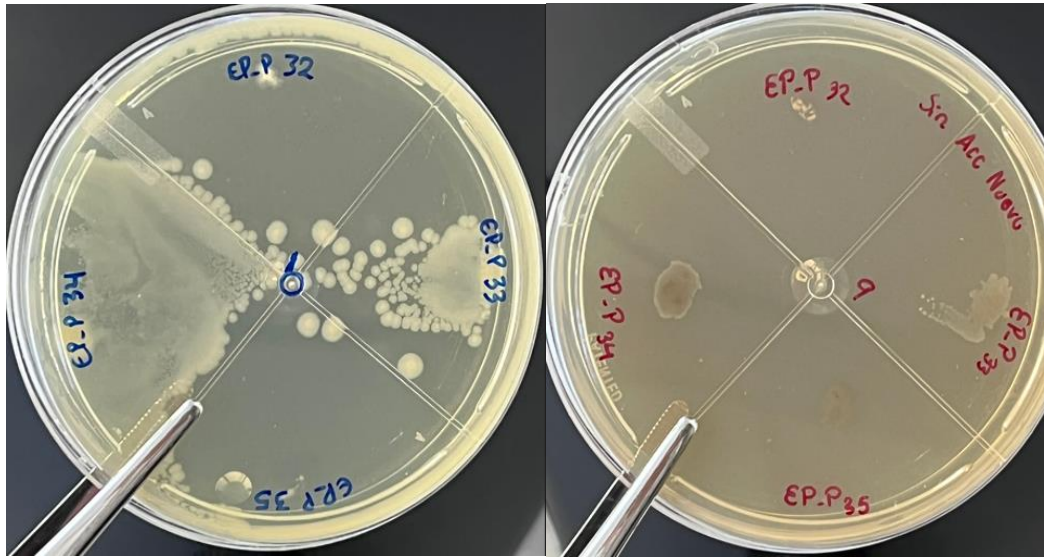


Figura 4. Crecimiento de *Pseudomonas cedrina* (EP-P 34) en medio suplementado con ACC (A) y en medio sin ACC (B).

7.3 PRUEBAS CUALITATIVAS DE SOLUBILIZACIÓN DE POTASIO (K)

De los 39 microorganismos positivos para la solubilización de potasio, 76.9% fueron epibiontes y 23.1% fueron endobiontes (Tabla 3). Los resultados también muestran que las bacterias del género *Pseudomonas* son las más frecuentes con un 40% dentro de los microorganismos epibiontes solubilizadores de potasio, mientras que las bacterias del género *Bacillus* son las más frecuentes con una frecuencia de 66.7% dentro de la comunidad de endobiontes positivos para la solubilización de potasio. Los aislamientos que tuvieron una mayor intensidad en la coloración amarilla producida en la prueba cualitativa corresponden a *Pseudomonas poae*, *Pseudomonas sp*, *Pseudomonas cedrina* y *Brochothrix thermosphacta*. En la **Figura 5** se puede observar el rasgo distintivo producido por las bacterias del género *Pseudomonas* al crecer en el medio Aleksandrov (**Figura 5**).

Tabla 3. Microorganismos solubilizadores de potasio.

Posible especie	# ID	Nicho
<i>Pseudalteromonas sp.</i>	50, 61	Endobionte
<i>Bacillus velezensis</i>	1, 2, 6, 9, 10	Endobionte
<i>Macrocooccus caseolyticus</i>	48	Endobionte

<i>Priestia aryabhatai</i>	51	Endobionte
<i>Pseudomonas gessardii</i>	21, 39	Epibionte
<i>Pseudomonas sp.</i>	23, 35	Epibionte
<i>Pseudomonas cedrina</i>	27, 34	Epibionte
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	44	Epibionte
<i>Glutamicibacter sp.</i>	55	Epibionte
<i>Psychrobacter cryohalolentis</i>	60	Epibionte
<i>Arthrobacter alpinus</i>	59	Epibionte
<i>Pseudomonas putida</i>	17, 18	Epibionte
<i>Pseudomonas deceptionensis</i>	28	Epibionte
<i>Pseudomonas poae</i>	31, 32	Epibionte
<i>Pseudomonas sp.</i>	33	Epibionte
<i>Rahnella inusitata</i>	36	Epibionte
<i>Brochothrix thermosphacta</i>	8, 16, 20, 24, 26, 29, 40, 41, 42, 46	Epibionte
<i>Acinetobacter albensis</i>	30, 38, 66	Epibionte

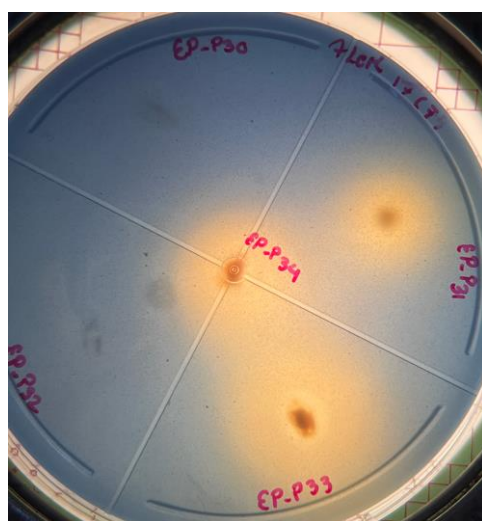


Figura 5. Crecimiento de *Pseudomonas poae* (bacteria ID-31 epibionte), *Pseudomonas sp.* (EP-P 33 epibionte) y *Pseudomonas cedrina* (EP-P 34 epibionte) en medio Aleksandrov con azul de bromotimol como indicador de cambio en el valor de pH del medio y con feldespato como fuente de potasio.

7.4 PRUEBAS CUANTITATIVAS DE LA SOLUBILIZACIÓN DE POTASIO (K)

Las bacterias seleccionadas para evaluar cuantitativamente la solubilización de K (*Pseudomonas sp.*, *Brochothrix thermosphacta* y *Pseudomonas poae*) demostraron la capacidad de solubilizar de 49 a 110 mg/L de potasio en 7 días (**Tabla 4**).

Tabla 4. Potasio solubilizado por los microorganismos seleccionados a los 7 días de incubación.

Posible especie	K (mg/L)		Desviación estándar	K (mg/L) Promedio
	a los 7 días de incubación	K solubilizado (mg/L)*		
<i>Pseudomonas sp.</i>	601.2	70,8	18.1	49.8
	560.1	29,7		
	588.4	58		
	571.2	40,8		
	581	50,6		
<i>Brochothrix thermosphacta</i>	702.3	171,9	56.3	94.9
	633.6	103,2		
	584.3	53,9		
<i>Pseudomonas poae</i>	622.05	91,6	11.02	78.1
	617.9	87,5		
	585.8	55,4		
	664.1	133,7		
<i>Pseudomonas sp.</i>	701	170,6	52.3	110.25
	582.7	52,3		
	614.8	84,4		

* K solubilizado = K medido a los 7 días de incubación menos el K medido en el blanco a los 7 días de incubación. El blanco presentó 530.4 mg/L de K a los 7 días de incubación.

8. DISCUSIÓN

A partir de lo encontrado en el presente trabajo, se puede afirmar que existen microorganismos endobiontes y epibiontes asociados a *Ulva lactuca* con la capacidad de solubilizar K y producir ACC desaminasas. Esto concuerda con lo reportado por Barnawal *et al.*, (2017), quienes encontraron que la mayoría de los organismos vegetales pueden establecer simbiosis con un gran número de microorganismos capaces de solubilizar minerales, además de producir ACC desaminasas en pro del beneficio del hospedero. Asimismo, Shahid *et al* (2022) reportan que la gran mayoría de organismos vegetales macroscópicos cuentan con bacterias y hongos productores de ACC desaminasas. No obstante, la capacidad de producción de ACC desaminasas en hongos puede ser limitada, lo cual concuerda con lo encontrado en el presente trabajo. Hidri *et al* (2023) comentan que la probabilidad de encontrar microorganismos solubilizadores de K asociados a vegetales terrestres es bastante alta, ya que estos son indispensables para el óptimo desarrollo de las plantas. Sin embargo, la gran mayoría de artículos se enfocan en bacterias epibiontes y endobiontes solubilizadoras de K y productoras de ACC desaminasas nativas de medios terrestres.

En el estudio realizado por Navés en 2017 sobre poblaciones europeas de *Ulva* sp., se aislaron microorganismos epibiontes y endobiontes, entre los que se encontraron varias bacterias que también fueron identificadas en el presente trabajo, destacando especies como *Pseudomonas* sp., *Acinetobacter* sp., *Pseudoalteromonas* sp. y *Bacillus* sp, inclusive creciendo en medio de PDA por su contenido nutricional

Las bacterias epibiontes y endobiontes encontradas en el presente trabajo tienen la capacidad de producir la ACC desaminasas y de solubilizar K. Sin embargo, el número de microorganismos epibiontes que cumplen ambas funciones fue mayor. Esto concuerda con los hallazgos de Bastos (2010), quien menciona que hay una mayor diversidad microbiana coexistiendo en los tejidos externos de las plantas, ya que estos ofrecen una mayor superficie de colonización y son de fácil acceso. Además, Glick *et al* (2021) mencionan que entre los microbios epibiontes es común la transferencia horizontal del gen *acdS*, responsable de la codificación de la ACC desaminasa. Por su parte, Sepúlveda *et al* (2020) reportan que la transferencia del gen *acdS* es frecuente en bacterias del género *Pseudomonas*. Asimismo, Jaiswal *et al* (2016) relatan que los microorganismos epibiontes son más numerosos y tienen un mayor potencial como solubilizadores de K, destacando especialmente al género *Pseudomonas*.

La capacidad de solubilización de K y producción de ACC desaminasas estuvo presente en un amplio rango de géneros bacterianos durante el presente trabajo, destacándose *Pseudomonas*, *Rahnella*, *Bacillus*, *Prieta*, *Pseudoalteromonas*, *Glutamicibacter*, *Acinetobacter*, *Rhodotorula* y *Brochothrix*. Esto es explicado por Belimov *et al* (2019), quienes mencionan que existen muchos géneros microbianos

capaces de producir ACC desaminasas y solubilizar potasio. Muchas de las bacterias aquí encontradas también han sido registradas por otros autores. Por ejemplo, Blaha *et al* (2006) y López *et al* (2020) destacaron a *P. putida*, *Pseudomonas poae*, *P. gessardii* y *P. cedrina* como productoras de ACC desaminasas y solubilizadoras de potasio mediante la excreción de ácido glucónico, acético y oxálico. Bautista *et al* (2022) y Yuechen *et al* (2020) aclaran que las bacterias del género *Bacillus*, como *B. velezensis*, a pesar de producir ACC desaminasas y solubilizar potasio, tienen una acción limitada en estos procesos. Los estudios de Ji *et al* (2020), Xun *et al* (2015), Hidri *et al* (2023) y Welch *et al* (2002), respaldan que las bacterias *Glutamicibacter* sp, *Acinetobacter* sp y *Priestia aryabhatai* producen ACC desaminasas y solubilizan potasio conjuntamente. Grau (1983) menciona que la bacteria *Brochothrix thermosphacta* produce ácido láctico y acético para solubilizar potasio, pero aún se desconoce su producción de ACC desaminasas. Es importante recalcar, según Esquivel *et al* (2013) y Samaniego (2018), que, aunque algunos géneros como *Pseudomonas* y *Bacillus* se caracterizan por producir ACC desaminasas y solubilizar potasio, hay especies que no poseen el gen *acdS* el cual codifica la ACC desaminasa, y/o no excretan sustancias quelantes capaces de solubilizar el potasio. Esto se evidenció con la bacteria *Pseudomonas deceptionensis*, que no produjo ACC desaminasas, y con *Bacillus subtilis* y *Bacillus rugosus*, que no solubilizaron potasio.

En los endobiontes no se encontró ninguna *Pseudomonas* y en los epibiontes no se halló ningún *Bacillus* capaz de solubilizar potasio y/o producir ACC desaminasas. Según Larran *et al* (2008), la predominancia de los endobiontes en plantas de trigo y tomate pertenece al género *Bacillus*, lo cual también concuerda con los resultados de Millán (2021), donde el 72% de los endobiontes presentes en *Ulva lactuca* pertenecían al género *Bacillus*. Por otro lado, según Millas *et al* (2020), las *Pseudomonas* predominan en los tejidos externos de macroalgas, ya que pueden prosperar en sustratos externos, tienen una mayor capacidad de dispersión bacteriana y pueden obtener nutrientes de manera directa. Asimismo, Nongkhlaw *et al* (2014) encontraron que las *Pseudomonas*, al colonizar tejidos externos, evitan en gran medida el sistema inmunológico del hospedero, ya que este sistema suele enfocarse en proteger los tejidos internos de las plantas.

9. CONCLUSIONES

En el presente trabajo se demuestra que hay microorganismos epibiontes y endobiontes asociados a *Ulva lactuca* capaces de solubilizar K y producir ACC desaminasas, siendo géneros, como el de *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Pseudoalteromonas*, *Brochothrix*, *Glutamicibacter*, *Rahnella*, *Rhodotorula* y *Prieta* capaces de cumplir ambos procesos, pero cabe destacar el alto potencial de la producción de ACC desaminasas y de solubilización de potasio de los géneros *Pseudomonas*, *Bacillus* y *Brochothrix*, siendo estos capaces de superar el tope de solubilización de potasio impuesto por *Bacillus mucillaginosus* con 23.84 mg/L. Por lo tanto, con estos resultados, ya es posible diseñar bioensayos con estos microorganismos para evaluar su desempeño con plantas terrestres de importancia comercial. Por último, los resultados de este estudio muestran una mayor diversidad de géneros de microorganismos epibiontes capaces de producción de ACC desaminasas y solubilización de potasio.

10.RECOMENDACIONES

Se recomienda 1) confirmar la identidad de las especies productoras de ACC deaminasa y solubilizadores de potasio a través de la secuenciación del genoma de estos aislamientos debido a las limitaciones de identificación a nivel de especie al usar la región 16S rARN, 2) Implementar la prueba cuantitativa de la ACC deaminasa y 3) realizar los respectivos bioensayos utilizando plantas de importancia comercial para evaluar la efectividad de los inóculos microbianos.

11. REFERENCIAS

- Abbott, I., & Hollenberg, J. (1976). *Marine Algae of California*. Stanford University Press.
- Alveal, K., Candia, A., Collantes, G., Edding, M., Fonck, E., Melo, C., Poblete, A., Rivera, P., Romo, H., & Westermeier, R. (1990). *Guía de Algas Marinas Chilenas de Importancia Económica*. Red de Algas Marinas, Chile.
- Amann, R., Ludwig, W., & Schleifer, K. (1995). Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiological Reviews*, 59, 143-169.
- Amin, A., Green, D., Hart, M., Kupper, C., Sunda, W., Carrano, C. (2009). Photolysis of iron-siderophore chelates promotes bacterial algal mutualism. *Proceedings of the national academy of sciences*, 106(40):17071-17076.
- Armstrong, E., Rogerson, A., & Leftley, J. (2000). The abundance of heterotrophic protists associated with intertidal seaweeds. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 50(3), 415-424.
- Barnawal, D., Pandey, S., Bharti, N., Pandey, A., Ray, T., & Singh, S. (2017). Las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal que contienen ACC desaminasa protegen al *Papaver somniferum* del mildiú vellosa. *J. Aplica. Microbiol.* 122, 1286-1298.
- Bashan, E., Bashan, Y. (2003). Bionota: Bacterias promotoras de crecimiento de microalgas: una nueva aproximación en el tratamiento de aguas residuales. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 5(2):85-90.
- Bastos, A. (2010). Aislamiento e identificación de endófitos y epífitos en hojas de café colectadas en dos zonas de Costa Rica y su posible empleo como biocontroladores de *Mycena citricolor*. (Tesis de grado). Facultad de Biología, Instituto Técnico de Cartago, Costa Rica.
- Bautista M, Cristobal J, Bautista, M., Cristóbal, J., Pacheco, J., & Reyes, A. (2022). *Bacillus* spp. en el crecimiento y rendimiento de *Capsicum chinense* Jacq. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 13(1), 115-126.

- Belimov, A., Zinovkina, N., Vera, I., Litvinski, A., Nosikov, V., Zavalin, A., & Tikhonovich, I. (2019). La ACC desaminasa rizobiana contribuye a una simbiosis eficiente con guisantes de *P sativum* bajo estrés por déficit de agua y cadmio. *Elsevier*, 17, 14-25.
- Bernal, W. (2019). Estudio de la biodiversidad bacteriana de ecosistemas del departamento del Atlántico como fuente de posibles compuestos antituberculosis y antibacterianos (Tesis de maestría). Facultad de Química y Biología, Universidad del Norte, Colombia.
- Betancur, L., Naranjo, S., Vinchira, D., Moreno, N., Castellanos, L., & Ramos, F. (2017). Marine Actinobacteria as a source of compounds for phytopathogen control: An integrative metabolic-profiling/bioactivity and taxonomical approach. *PLoS One*, 12(3), 1-25.
- Bhatnagar, I., & Kim, S. (2010). Immense Essence of Excellence: Marine Microbial Bioactive Compounds. *Marine Drugs*, 8 (10), 2673-2701.
- Blaha, D., Combaret, C., Mirza, M., & Moëne-Loccoz, Y. (2006). Phylogeny of the 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase-encoding gene *acdS* in phytobeneficial and pathogenic Proteobacteria and relation with strain biogeography. *FEMS Microbiol Ecol*, 56, 455-470.
- Boraso de Zaixso, A. (2004). Chlorophyta marinas de la Argentina. *Historia Natural, Buenos Aires, Series*, 2(3):95-119.
- Bos, D., Posada, D. (2005). Using models of nucleotide evolution to build phylogenetic trees. *Developmental and Comparative Immunology*, 29: 211–227.
- Cantor, G., Muñoz, J., Vargas, M. (2017). Cambio climático: impactos y perspectivas de investigación desde una visión multidisciplinar. *Tendencia*, 18(2):122-138.
- Carranza, X. (2017). La bioprospección de microorganismos en Colombia como uso sostenible de la biodiversidad (Tesis de posgrado). Facultad de Ingenierías, Universidad Militar Nueva Granada, Colombia.
- Chavarro, I., & Rojas, D. (2015). Transporte y almacenamiento de agua para las comunidades Wayúu de Jujulekat, Sirmana y Panterramana en el

municipio de Manaure, Guajira media (Tesis de grado). Facultad de Ingeniería, Universidad Icesi, Cali.

- Comba, N. (2017). Caracterización molecular de bacterias epífitas de *Ulva lactuca* y búsqueda de enzimas con potencial biotecnológico. Tesis de doctorado. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. 163 pp.
- Comba, N., Ramírez, M., López, L., Castaño, D. (2018). Production of enzymes and siderophores by epiphytic bacteria isolated from the marine macroalga *Ulva lactuca*. *Aquatic Biology*, 27, 107–118.
- Compant, S., Heijden, M., Sessitsch, A. (2010). Climate change effects on beneficial plant microorganism interactions. *FEMS Microbiol Ecol.* 73:197-214.
- Corrales, C., Arévalo, Z., Moreno, V. (2014). Solubilización de fosfatos: una función microbiana importante en el desarrollo vegetal. *Nova*, 12(21): 67-79.
- Crowder, D., Harwood, D. (2014). Promoting biological control in a rapidly changing world. *Biological Control*, 75:1-7.
- Cruz, I., Sandoval, G., Zelaya, L., Villalobos, S., Rojas, E., Chávez, I., Ruíz, S. (2021). Utilización de microorganismos para una agricultura sostenible en México: consideraciones y retos. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 12 (5): 899-913.
- Díaz, M. (2017). Ensayos de actividad biológica y ecología química de extractos orgánicos crudos de algunas macroalgas del Caribe colombiano. Tesis de grado. Facultad de Ciencias Naturales e Ingenierías. Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano. 94 pp.
- Díaz, G., Díaz, M. (2003). Diversity of benthic marine algae of the Colombian Atlantic. *Biota Colombiana*, 4(2), 203-246.
- Dreckmann, K., Senties, A. (2013). Las arribazones de algas marinas en el Caribe mexicano. Evento biológico natural ó basura en las playas. Tomado el 11 de enero del 2024 de: https://www.researchgate.net/publication/235909924_Las_arribazones_de_algas_marinas_en_el_Caribe_mexicano_Evento_biologico_natural_o_basura_en_las_playas/citations.

- DICYT. (2021). El mar Caribe contiene microorganismos con potencial para combatir plagas en la agricultura. Tomado el 7/03/2023 de: <https://www.dicyt.com/noticias/el-mar-caribe-contiene-microorganismos-con-potencial-para-combatir-plagas-en-la-agricultura>.
- Egan, S., Harder, T., Burke, C., Steinberg, P., Kjelleberg, S., Thomas, T. (2013). The seaweed holobiont: understanding seaweed–bacteria interactions. *FEMS Microbiology Reviews*, 37(3): 462-476.
- Esquivel, R., Gavilanes, M., Ortega, R., Huante, P. (2013). Importancia agrobiotecnológica de la enzima ACC desaminasa en rizobacterias. *Rev Fitotec.* 36(3):12-27.
- FAO. (2013). Afrontar la escasez de agua: Un marco de acción para la agricultura y la seguridad alimentaria. Informe anual. 97 pp.
- Figueroa, A., Pedrozo, L., Tromp, L. (2015). Microplanta potabilizadora de agua, empleando energías renovables SENA, Regional Guajira. Tomado el 12/03/2023 de: http://www.uniguajira.edu.co/descargas/pdf/noticias/memoria_congreso_global_investigacion_2015.pdf#page=409.
- Finet, C., Timme, E., Delwiche, F., Marlétaz, F. (2010). Multigene phylogeny of de green lineage reveals the origin and diversification of land plants. *Curr Biol*, 20:1-6.
- Gamboa, A. (2006). Hongos endófitos tropicales: Conocimiento actual perspectivas. *Acta Biológica Colombiana.* 11:3-20.
- García, B., Pulido, D. (2016). Dynamics of a macroalgal rocky intertidal community in the Colombian Caribbean. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras*, 35. <https://doi.org/10.25268/bimc.invemar.2006.35.0.213>.
- Gil, f., Castaño, R., Pacheco, C. (2015). Escases del agua en el departamento de la Guajira, Colombia. *Rev Fun UAA*, 2:21-28.
- Giraldo, A. (2015). La ingeniería genética de plantas un camino de construcción en Colombia. *Acta biológica colombiana*, 20(2):13-22.
- Glick, B. (2013). Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiological Research*, 169:30-39.

- Glick, B., Nascimiento, F. (2021). *Pseudomonas* 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) desaminasa y su papel en las interacciones beneficiosas entre plantas y microbios. *MDPI*, 9(12):24-67.
- Grau, F. (1983). End Products of Glucose Fermentation by *Brochothrix thermosphacta*. *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*, 45(1): 84-90.
- Guevara, M. (2010). Aislamientos e identificación de microorganismos solubilizadores de potasio a partir de muestras de suelo y raíces de cultivos de alcachofa de la localidad de Remonta, Cantón Cayambe. Tesis de grado. Facultad de Ciencias de la Vida. Escuela Politécnica del Ejercito. Sangolquí. 100 pp.
- Güiza, L., Bernal, D. (2013). Bioprospecting in Colombia. *Universitas Scientiarum*, 18(2): 153-164.
- Gupta, V., Trivedi, N., Kumar, M., Reddy, C., Jha, B. (2013). Purification and characterization of exo- β -agarase from an endophytic marine bacterium and its catalytic potential in bioconversion of red algal cell wall polysaccharides into galactans. *Biomass and bioenergy*, 49: 290-29.
- Gupta, S., Pandey, S. (2019). ACC Deaminase Producing Bacteria With Multifarious Plant Growth Promoting Traits Alleviates Salinity Stress in French Bean (*Phaseolus vulgaris*) Plants. *Front. Microbiol*, 10:1-16.
- Hall, T. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41:95-98.
- Hardoim, P., Van Overbeek, L., Berg, G., Pirttilä, M., Compant, S., Campisano, A., Sessitsch, A. (2015). The hidden world within plants: ecological and evolutionary considerations for defining functioning of microbial endophytes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 79(3): 293-320.
- Harman, G. (2004). *M Trichoderma* species opportunistic, a virulent plant symbiont. *Nature Reviews Microbiology*, 2, 43-56.
- Hernández, A., Madera, C., Peña, M. (2015). Uso de lagunas algales de alta tasa para tratamiento de aguas residuales. *Ing Desarrollo*, 33(1).

- Hernández, D., Uribe, M., Cid, L., Mendoza, D. (2022). Potencial biotecnológico de las macroalgas en la agricultura. *Idesia*, 40(3):81-88.
- Hernández, J., Barbazan, M., Perdomo, C. (2010). Potasio. Tomado el 24 de enero del 2023 de: fagro.edu.uy/~fertilidad/curso/docs/Potasio.pdf.
- Hidri, R., Metoui, O., Zorrig, W., Azcon, R., Abdelly, C., Debez, A. (2023). The halotolerant rhizobacterium *Glutamicibacter* sp. alleviates salt impact on *Phragmites australis* by producing exopolysaccharides and limiting plant sodium uptake. *Plant Direct*, 26;7(10).
- Hontzeas, N., Zoidakis, J., Glick, J., Abu-Omar, M. (2004). Expression and characterization of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase from rhizobacterium *Pseudomonas putida* UW4: a key enzyme in bacterial plant growth promotion. *Bioch. Biophys. Acta* 1703:11-19.
- Huenchuan, S. (2018). Envejecimiento, personas mayores y Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible: perspectiva regional y de derechos humanos. CEPAL. Santiago de Chile. 259 pp.
- ICA. (2020). Informe Nacional de Calidad del Agua para Consumo Humano. Tomado el 20/03/2023 de: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/PP/SA/inca-consumo-calidad-agua-2020.pdf>.
- Jabin, N., Syed, M. (2017). Solubilization of Insoluble Potassium by Different Microbial Isolates in vitro Condition. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*, 6(10):3600-3607.
- Jaiswal, D., Verma, J., Prakash, S., Meena, V., Meena, R. (2016). Potassium as an Important Plant Nutrient in Sustainable Agriculture: A State of the Art. In: Potassium Solubilizing Microorganisms for Sustainable Agriculture. *New Delhi: Springer India*. 5:21-29.
- Janakidevi, V., Yokeshbabu, M., Umarani, R., Kumaraguru, A. (2013). Original research article: Antagonistic activity of seaweed associated bacteria against human pathogens, 2(12):140-147.
- Ji, J., Yuan, D., Jin, C., Wang, G., Li, X., Guan, C. (2020). Mejora del crecimiento y la tolerancia a la sal de las plántulas de arroz (*Oryza sativa* L.) mediante la regulación de la producción de etileno con una nueva cepa

PGPR halotolerante, *Glutamicibacter* sp. "YD01 que contiene actividad ACC desaminasa ". *Acta Physiol. Planta.* 42:42

- Kende, H. (1993). Ethylene biosynthesis. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 44:283-307.
- Larran, S., Perello, A., Simon, R., Moreno, V. (2002). Isolation and analysis of endophytic microorganisms in wheat (*Triticum aestivum* L.) leaves. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 18(7), 683-686.
- Leal, J., Gutiérrez, M., Castro, L., Lares, F., Cortes, J., Villalobos, S. (2018). MICROORGANISMOS PROMOTORES DE CRECIMIENTO VEGETAL CON YESO AGRÍCOLA EN PAPA (*Solanum tuberosum* L.) BAJO CASA SOMBRA. *Agrociencia*, 52:1149-1159.
- Li, J., Ovakim, H., Charles, T., Glick, B. (2000). Un mutante ACC desaminasa menos de *Enterobacter cloacae* UW4 ya no promueve el alargamiento de la raíz. *Canalla. Microbiol.* 41:101-105.
- Londoño, D., Quintero, L. (2015). MICROORGANISMOS ENDOFÍTICOS PRESENTES EN LA ESPECIE *Witheringia coccoloboides* (SOLANACEAE) DEL JARDÍN BOTÁNICO DE LA UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA. Tesis de grado. Facultad de Tecnología. Universidad Tecnológica de Pereira. Colombia. 92pp.
- López, M., Martínez, R., Brossard, M., Bolívar, A., Alfonso, N., Alba, A., Pereira, H. (2008). Efecto de biofertilizantes bacterianos sobre el crecimiento de un cultivar de maíz en dos suelos contrastantes venezolanos. *Agronomía Tropical*, 58(4):391-401
- López, G. (2015). Evaluación de la actividad antimicrobiana de *Ulva lactuca*. Tesis de grado. Facultad de Biología Marina. Universidad Autónoma de Baja California Sur. México. 50 pp.
- López, E., Esquivel, R. (2017). Adecuación de metodologías para análisis de sodio y potasio por espectroscopía de absorción atómica, en sales de rehidratación oral. *Tecnología en Marcha*, 31(2):40-57.
- López, V., León, A., Arias, D. (2020). Análisis bioinformático de D-glicerato deshidrogenasa de *Paenibacillus mucilaginosus* K02 implicada en la solubilización de potasio. *Microciencia*, 9:10-22.

- Mailen, H., Villareal, N., Marina, M. (2020). Aislamiento de endófitos y epifitos de plantas de frutilla (*Fragaria x ananassa*), evaluación de su efecto protector contra *Botrytis cinérea*. Tomado el 12 de septiembre del 2023 de: https://www.conicet.gov.ar/new_scp/detalle.php?keywords=&id=23299&congresos=yes&detalles=yes&congr_id=9035524#:~:text=Aquellos%20microorganismos%20que%20tienen%20la,se%20los%20conoce%20como%20epifitos.
- Malik, S., Bedoux, G., Maldonado, G., Freile, Y., Robledo, D., Bourgougnon, N. (2020). Defence on surface: macroalgae and their surface-associated microbiome. *In Advances in Botanical Research*, 95:327-368.
- Marín, R. (2003). Colombia: Potencia hídrica. *Sogeocol*, 9(3):1-15.
- Millán, N. (2021). Aislamiento de bacterias epifitas y endófitas de macroalgas de la especie *Ulva lactuca*, situadas en la localidad de la Punta de la Loma (Santa Marta). Tesis de grado. Facultad de Ciencias Naturales e Ingenierías. Universidad Jorge Tadeo Lozano. Bogotá. 83 pp.
- Millas, P., France, A. (2020). Poblaciones epifitas de *Pseudomonas syringae* en cerezo. Boletín INIA-Instituto de Investigaciones Agropecuarias.
- Molina, D., Cristales, M., García, Y., Saenz, Y., Castañeda, M., Muñoz, R. (2015). Mecanismos de fitoestimulación por rizobacterias, aislamientos en América y potencial biotecnológico. *Biológicas*, 17: 24-34.
- Museo de Historia Natural de Concepción. (2022). Las algas y su importancia social, ecológica y económica. Rescatado el 5 de marzo del 2023 de: [https://www.mhnconcepcion.gob.cl/noticias/las-algas-y-su-importancia-social-ecologica-y-economica.](https://www.mhnconcepcion.gob.cl/noticias/las-algas-y-su-importancia-social-ecologica-y-economica)
- Nadeem, M., Ahmad, M., Tufail, M., Asghar, H., Nazli, F., Zahir, Z. (2021). "Evaluación del potencial de las rizobacterias productoras de EPS con actividad ACC-desaminasa para mejorar el crecimiento y la fisiología del maíz bajo estrés por sequía ". *Fisiol. Planta*. 172: 463–476.
- Naik, M., Naik, D., Charya, L. (2019). Aplicación de Bacterias Marinas Asociadas al alga *Ulva lactuca*, para la degradación de residuos de Algas. *Proc. Nacional. Acad. Sci., India, sec. B Biol. Ciencia*, 89:1153-1160

- Nascimiento, F., Rossi, M., Soares, C., McConkey, B., Glick, B. (2014). New Insights into 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylate (ACC) Deaminase Phylogeny, Evolution and Ecological Significance. *PloS One*, 9(6):1-17.
- Navés, B. (2017). Control microbiano de la alga *Ulva* sp. Tesis de grado. Facultad de Agricultura. Universidad Politécnica de Cataluña. España. 70 pp.
- Nongkhlaw, F., Joshi, R. (2014). Epiphytic and endophytic bacteria that promote growth of ethnomedicinal plants in the subtropical forests of Meghalaya, India. *Rev Bio Trop*, 62(4):1295-1308.
- Norris, J. (2010). Marine algae of the Northern Gulf of California: Chlorophyta and Phaeophyceae. *Smithsonian Contributions to Botany*. 94(1):1-276.
- Pardo, A. (2013). Bioprospección de productos naturales marinos de organismos bentónicos del litoral brasileño y caribe colombiano. Tesis de maestría. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. 145 pp.
- Pawar, R., Mohandass, C., Sivaperumal, E., Sabu, E., Rajasabapathy, R., Japtap, T. (2015). Epiphytic marine pigmented bacteria: A prospective source of natural antioxidants. *Brazilian Journal of Microbiology*. 46(1):29–39.
- Pedroche, F., Silva, E., Aguilar, M., Dreckmann, R. (2005). Catálogo de Algas Marinas Bentónicas del Pacífico de México, Cholorophycota. Editorial: UABC, México. 146 pp.
- Penrose, D., Glick, G. (2001). Levels of ACC and related compounds in exudates and extracts of canola seeds treated with ACC deaminase-containing plant growth-promoting bacteria. *Can. J. Microbiol.* 47:368-372.
- Piedra, L., Cepero, M. (2013). La salinidad como problema en la agricultura: La mejora vegetal, una solución inmediata. *Cultivos tropicales*, 34(4):31-42.
- Purves, S. (2009). Vida. La ciencia de la biología. Editorial Médica Panamericana. Octava Edición. Argentina .1251 pp.
- Rao, N., Xiao, M., Li, W. (2017). Fungal and Bacterial Pigments: Secondary Metabolites with Wide Applications. *Frontiers in Microbiology*. 8:1113.
- Riquelme, C., Avendaño, R. (2003). Interacción bacteria alga en el ambiente marino y uso potencial en la acuicultura. *Rev Chill His Nat*. 76(4):725-736.

- Romero, L. (2017). Algas verdes macroscópicas de la Península Ibérica. Trabajo de grado. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. España. 39 pp.
- Rozo, G. (2019). Algas del Caribe Colombiano: Fuente alternativa de alimentos, nutraceuticos y biomateriales. Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias Naturales e Ingeniería. Colombia. 113pp.
- Ruiz, J. (2017). BÚSQUEDA Y EXPRESIÓN DE ENZIMAS LIPOLÍTICAS SINTETIZADAS POR BACTERIAS EPÍFITAS DE *Ulva lactuca* PRESENTES EN EL LITORAL ROCOSO "LA PUNTA DE LA LOMA" (SANTA MARTA - COLOMBIA). Tesis de maestría. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia. Colombia. 102 pp.
- Ruiz, J., Melo, J. (2023). Informe de predicción climático a corto, mediano y largo plazo. IDEAM. 12 pp.
- Samaniego, T. (2018). DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD DE SOLUBILIZACIÓN DE POTASIO POR *Bacillus mucilaginosus*. Tesis de grado. Facultad de Agronomía. Universidad Agraria. Perú. 71pp.
- Santillana, V. (2021). Mecanismos de inducción de rizobios para reducir el estrés por sequía en las leguminosas. *Journal of High Andean Research* 23(4), 258-265.
- Sepúlveda, I., Rodríguez, A., Gaviria, A. (2020). Análisis bioinformático de la enzima ACC desaminasa dentro del género *Pseudomonas*. *Microciencia*, 9:23-36.
- Shahid, M., Tarique, M., Syed, A., Singh, U., Bahkali, A., Elgorban, A., Pitchel. J. (2022). El aislado endofítico tolerante al estrés *Priestia aryabhatai* BPR-9 modula los mecanismos fisio bioquímicos en el trigo (*Triticum aestivum* L.) para mejorar la tolerancia a la sal. *J. Medio Ambiente. Res. Salud Pública*, 19(12):21-38.
- Singh, R., Mantri, V., Jha, B. (2011). Isolation of seaweed-associated bacteria and their morphogenesis-inducing capability in axenic cultures of the green alga *Ulva fasciata*. *Aquat biol*, 12:13-21.
- Strobel, G. (2003). Endophytes as sources of bioactive products. *Microbes and Infection*, 5(6):535-544.

- Vainberg, S., Vlasov, A., Skripnik, V. (1980). Enrichment of clay raw material using silicate bacteria. *USSR TrMosk. Khim. Tekhnol. Inst. im. D.I. Mendeleeva*. 116:34- 37.
- Vallejos, S. (2014). Algas: Diversidad vegetal. Tomado el 26 de enero del 2024 de: [efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://exa.unne.edu.ar/carreras/docs/estudio%20ALGAS.pdf](https://exa.unne.edu.ar/carreras/docs/estudio%20ALGAS.pdf).
- Vitra, A. (2020). La gran importancia del potasio en las plantas. Tomado el 25 de diciembre del 2023 de: [chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.agrovitra.com/media/2022/12/Potasio-Fernanda-Habit.pdf](https://www.agrovitra.com/media/2022/12/Potasio-Fernanda-Habit.pdf).
- Vivanco, S. (2018). Determinación de la capacidad de solubilización de potasio por *Bacillus mucilaginosus*. Tesis de grado. Facultad de Agronomía. Universidad Nacional Agraria La Molina. Peru. 67 pp.
- Wani, Z., Ashraf, N., Mohiuddin, T., Riyaz, S. (2015). Plant-endophyte symbiosis, an ecological perspective. *Applied microbiology and biotechnology*, 99(7): 2955- 2965.
- Weller, D. (1997). Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, 26: 379-407.
- Werlinger, C., Alveal, K., Romo, H. (2004). Biología marina y oceanografía: Conceptos y procesos. Consejo Nacional del Libro y la Lectura. Chile. 694 pp.
- Wichard, T. (2023). Del organismos modelo a la aplicación: Crecimiento y desarrollo inducido por bacterias del alga verde *Ulva* y el potencial del aprovechamiento microbiano en acuicultura de algas. *Elsevier*, 134(30):69-78.
- Xiao, L., Zhao, X., Dong, X., Ma, J., Shen, R. (2021). Secretion of Gluconic Acid From *Nguyenibacter* sp. L1 Is Responsible for Solubilization of Aluminum Phosphate. *Front. Microbiol.* 12:1-9.
- Xun, F., Xie, B., Liu, S. (2015). "Efecto de la inoculación de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) y hongos micorrízicos

arbusculares (HMA) en avena en suelo salino-álcali contaminado por petróleo para mejorar la fitorremediación". *Reinar. Ciencia. Contaminación. Res.* 22:598–608.

- Yang, H., Lu, L., Chen, Y., Ye, J. (2023). Transcriptomic Analysis Reveals the Response of the Bacterium *Priestia Aryabhatai* SK1-7 to Interactions and Dissolution with Potassium Feldspar. *Appl Environ Microbiol*, 31;89(5).
- Yuechen, Y., Weihui, X., Yunlong, H., Renmao, T., Zhigang, W. (2022). *Bacillus velezensis* YYC promotes tomato growth and induces resistance against bacterial wilt, *Biological Control. Elsevier*, 172:22-34.

12. ANEXOS

Anexo 1. PROTOCOLO PARA LA ELABORACIÓN DE 400 mL DEL MEDIO DE SALES MÍNIMAS DF

MATERIALES

- Autoclave
- Balanza analítica
- Espátula metálica
- Papel aluminio
- Frasco lavador
- Micropipeta de 100 a 1000 microlitros
- Puntas de micropipeta de 100 a 1000 microlitros
- Medidor de pH synlab
- Frascos de vidrio
- Cajas de Petri
- Cabina de flujo
- Asa de Drigalsky
- Asa de punta redonda

SUSTANCIAS Y REACTIVOS

- KH_2PO_4 1,6 g
- Na_2HPO_4 2,4 g
- $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ 0,008 g
- Glucosa 0,8 g
- Ácido cítrico 0,8 g
- NaCl 3,4 g
- $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1 mg
- H_3BO_3 10 μg
- $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 11,19 μg
- $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ 124,6 μg
- $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ 78,2 μg
- MoO_3 10 μg
- Agua de grado molecular
- ACC

METODOLOGÍA

Una vez se tenían los elementos pesados, se les agrego 400 ml de agua desionizada y se ajustó el pH hasta 7.2 con NaOH, una vez el pH fue ajustado se le

agrego 8 g de agar bacteriológico N°1, para posteriormente, esterilizar el medio en la autoclave J.P SELECTA 223 V. Después, el medio fue servido en las cajas de Petri en la cabina de flujo.

Una vez el medio se solidificó, se procedió a separar 18 cajas que iban a contener el medio de sales mínimas DF con el ACC y sin 18 cajas sin el ACC que funcionarían como el control. Para las cajas que contienen el ACC se preparó una solución en donde por caja se rosearon 50 µl de una solución 0.5 M de ACC y se pudo esparcir con ayuda de la asa de Drigalsky previamente esterilizada. Para las cajas control no hubo necesidad de aplicar ACC.

Finalmente, se inocularon los 71 microorganismos y se mandaron a incubar a 26°C, el tiempo en el que se notaba la actividad microbiana variaba, por ende, no se estableció un tiempo específico de espera.

Anexo 2. PROTOCOLO PARA LA ELABORACIÓN DE 400 mL DEL MEDIO ALEKSANDROV

MATERIALES

- Autoclave
- Balanza analítica
- Espátula metálica
- Papel aluminio
- Frasco lavador
- Micropipeta de 100 a 1000 microlitros
- Puntas de micropipeta de 100 a 1000 microlitros
- Medidor de pH synlab
- Frascos de vidrio
- Cajas de Petri
- Cabina de flujo
- Asa de punta redonda

SUSTANCIAS Y REACTIVOS

- $\text{Ca}(\text{PO}_4)_2$ 0,8 g
- FeCl_3 0,002 g
- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,2 g
- CaCO_3 0,4 g
- Glucosa 2 g
- Feldespato potásico 0,8 g
- NaCl 3,4 g
- Agua de grado molecular
- Azul de bromotimol

METODOLOGÍA

Una vez se tenían los elementos pesados, se les agrego 400 ml de agua desionizada y se ajustó el pH hasta 7 con NaOH, una vez el pH fue ajustado se le agrego 8 g de agar, adicionalmente, en un set de 18 cajas se agregaron 3.2 ml de azul de bromotimol como indicador. Finalmente, los medios se esterilizaron en la autoclave J.P SELECTA 223 V. Después, el medio fue servido en las cajas de Petri en la cabina de flujo.

Al igual que el medio ACC, en este se mandó a incubar a 26°C y a lo largo de una semana se iban anotando los resultados del medio con indicador y sin indicador.