



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE
BIOLOGÍA Y BIOTECNOLOGÍA



TESIS

**CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS PSICROTOLERANTES NATIVAS DE LA
RIZÓSFERA DE *Solanum tuberosum* – PAPA, CON CAPACIDAD DE PROMOVER
EL CRECIMIENTO VEGETAL DE CULTIVOS PROVENIENTES DE LA
ENCAÑADA, CAJAMARCA, PERÚ**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
BIÓLOGO BIOTECNÓLOGO**

PRESENTADO POR:

Bach.: ORIANA ALEXANDRA HILARIO CHÁVEZ

ASESOR:

Dr. MARCO ANTONIO RIVERA JACINTO

CAJAMARCA – PERÚ

2025

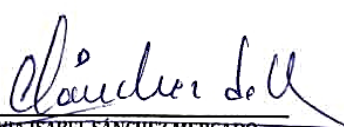
CONSTANCIA DE INFORME DE ORIGINALIDAD

1. Investigador: **Oriana Alexandra Hilario Chávez**
DNI: **74884332**
Escuela Profesional/Unidad UNC: **ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA Y BIOTECNOLOGÍA**
2. Asesor:
Dr. MARCO ANTONIO RIVERA JACINTO
Facultad/Unidad UNC: **FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**
3. Grado académico o título profesional al que accede:
☐ Bachiller ☒ Título profesional ☐ Segunda especialidad
☐ Maestro ☐ Doctor
4. Tipo de Investigación:
☒ Tesis ☐ Trabajo de investigación ☐ Trabajo de suficiencia profesional
☐ Trabajo académico
5. Título de Trabajo de Investigación:
CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS PSICROTOLERANTES NATIVAS DE LA RIZÓSFERA DE *Solanum tuberosum*- PAPA, CON CAPACIDAD DE PROMOVER EL CRECIMIENTO VEGETAL DE CULTIVOS PROVENIENTES DE LA ENCAÑADA, CAJAMARCA, PERÚ
6. Fecha de evaluación del antiplagio: **12/10/2025**
7. Software antiplagio: ☒ **TURNITIN** ☐ **URKUND (OURIGINAL) (*)**
8. Porcentaje de Informe de Similitud: **17 %**
9. Código Documento: **oid:3117:511921552**
10. Resultado de la Evaluación de Similitud:
☒ **APROBADO** ☐ **PARA LEVANTAMIENTO DE OBSERVACIONES O DESAPROBADO**

Cajamarca, 16 de octubre del 2025



Dra. SILVIA ISABEL SÁNCHEZ MERCADO
DIRECTORA UNIDAD DE INVESTIGACIÓN FCS-UNC
DNI 26613805



* En caso se realizó la evaluación hasta setiembre de 2023

Copyright©

Oriana Alexandra Hilario Chávez

Todos los derechos reservados

FICHA CATALOGRÁFICA

Hilario Chávez, O. 2025. **Caracterización de bacterias psicrotolerantes nativas de la rizósfera de *Solanum tuberosum* – papa, con capacidad de promover el crecimiento vegetal de cultivos provenientes de La Encañada, Cajamarca, Perú**

Oriana Alexandra Hilario Chávez

Escuela Académico Profesional de Biología y Biotecnología

Asesor: Dr. Marco Antonio Rivera Jacinto

Disertación Académica para optar el Título Profesional de Biólogo Biotecnólogo UNC – 2025.

**Caracterización de bacterias psicrotolerantes nativas de la rizósfera de *Solanum tuberosum*
– papa, con capacidad de promover el crecimiento vegetal de cultivos provenientes de La
Encañada, Cajamarca, Perú**

AUTORA: Oriana Alexandra Hilario Chávez

ASESOR: Dr. Marco Antonio Rivera Jacinto

Tesis Evaluada y aprobada para la obtención del Título Profesional de Biólogo Biotecnólogo de la
Universidad Nacional de Cajamarca, por los siguientes jurados.

JURADO EVALUADOR



Presidente

Dra. Consuelo Belania Plasencia Alvarado



Secretario

MCs. Arturo Ulises Díaz Aliaga



Vocal

MCs. William Edgardo Soriano Castillo



Universidad Nacional de Cajamarca

"Norte de la Universidad Peruana"

Fundada por Ley 14015 del 13 de Febrero de 1962

Facultad de Ciencias de la Salud

Av. Atahualpa 1050

Teléfono/ Fax 36-5845



MODALIDAD "A"

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO PROFESIONAL DE BIÓLOGO BIOTECNÓLOGO

En Cajamarca, siendo las 8:30 am del 09 de octubre del 2025, los integrantes del Jurado Evaluador para la revisión y sustentación de la tesis, designados en Consejo de Facultad a propuesta del Departamento Académico, reunidos en el ambiente 11-304 de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de Cajamarca, dan inicio a la sustentación de tesis denominada:

Caracterización de bacterias psicrotolerantes nativas de la rizósfera de Solanum tuberosum - papa, con capacidad de promover el crecimiento vegetal de cultivos provenientes de la Escavada, Cajamarca, Perú

del (a) Bachiller en Ciencias Biológicas:

Orlana Alexander Hilario Chiruz

Siendo las 9:20 am del mismo día, se da por finalizado el proceso de evaluación, el Jurado Evaluador da su veredicto en los siguientes términos: muy bueno, con el calificativo de: 18, con lo cual el (la) Bachiller en Ciencias Biológicas se encuentra apta para la obtención del Título Profesional de: **BIÓLOGO BIOTECNÓLOGO**.

Miembros Jurado Evaluador Nombres y Apellidos		Firma
Presidente:	<u>Dra. Consuelo Belania Plaseuela Alvarado de Uriol</u>	<u>[Firma]</u>
Secretario(a):	<u>MCs. Arturo Ulises Díaz Aliaga</u>	<u>[Firma]</u>
Vocal:	<u>MCs. William Edgardo Soriano Castillo</u>	<u>[Firma]</u>
Accesitaria:		
Asesor (a):	<u>Dr. Marco Antonio Rivera Jacinto</u>	<u>[Firma]</u>
Asesor (a):		

Términos de Calificación:

EXCELENTE (19-20)

REGULAR (12-13)

MUY BUENO (17-18)

REGULAR BAJO (11)

BUENO (14-16)

DESAPROBADO (10 a menos)

AGRADECIMIENTO

A Dios por guiarme y permitir no rendirme pese a las dificultades que se presentan a lo largo del camino y de poder disfrutar de cada logro alcanzado durante toda mi formación personal y profesional.

A mis padres por ser el motivo principal de mi vida y ser mi soporte durante todo este recorrido, de haberme dado la oportunidad de alcanzar cada una de mis metas, por apoyarme y siempre creer en mí.

A mis hermanos por ser mis compañeros, estar presentes en cada momento y poder compartir cada una de nuestras metas.

A mi asesor, el Dr. Marco Rivera Jacinto por haberme brindado el apoyo, orientación, los conocimientos y herramientas necesarias para hacer posible el desarrollo de esta investigación.

Al Instituto Nacional de Innovación Agraria - INIA, en el marco del Proyecto de inversión “Mejoramiento de los servicios de investigación y transferencia tecnológica en el manejo y recuperación de suelos agrícolas degradados y aguas para riego en la pequeña y mediana agricultura en los departamentos de Lima, Ancash, San Martín, Cajamarca, Lambayeque, Junín, Ayacucho, Arequipa, Puno y Ucayali”, identificado con Código Único de Inversiones N° 2487112, por el financiamiento de esta investigación. Asimismo, a los investigadores líder del Proyecto Suelos, Aguas y Foliare, en especial a la Dra. Lesly Velarde Apaza, Blga. Cledy Ureta y Dra. Azucena Chávez, por compartir sus conocimientos y orientarme en la ejecución de cada uno de los procesos de este estudio.

TABLA DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTO	vi
TABLA DE CONTENIDO	vii
LISTA DE ABREVIACIONES	x
GLOSARIO.....	xi
TÍTULO.....	xii
RESUMEN	xiii
ABSTRACT.....	xiv
CAPÍTULO I.....	1
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO II	3
MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes de la Investigación	3
2.2. Bases teóricas	6
2.2.1. Extremófilos	6
2.2.2. Bacterias psicrótrofas o psicrotolerantes.....	8
2.2.2.1. Mecanismos para adaptación a ambientes fríos.....	9
A. Modificación de la membrana celular	9
B. Modificaciones de proteínas.....	10
C. Otras moléculas reguladoras en psicrófilos.....	12
2.2.3. Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal	14

2.2.3.1. Mecanismos de promoción del crecimiento	15
A. Producción de Ácido Indol-acético	15
B. Solubilización de fosfatos	17
2.2.4. Microbioma asociado a la rizósfera de papa	18
2.2.5. Cajamarca	19
2.2.6. Importancia de la papa en Cajamarca	20
2.2.7. Métodos de identificación bacteriana	20
2.2.7.1. Caracterización fenotípica.....	20
2.2.7.2. Caracterización molecular mediante 16S ADNr	22
CAPÍTULO III.....	23
DISEÑO DE CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS	23
3.1. Nivel de Investigación.....	23
3.2. Tipo y Diseño de investigación	23
3.3. Diseño metodológico	23
3.3.1. Material Biológico.....	23
3.4. Procedimientos.....	24
3.4.1. Localización y descripción del sitio de muestreo	24
3.4.2. Colección de muestras	24
3.4.3. Aislamiento de bacterias psicrotolerantes de rizósfera de papa.....	25
3.4.4. Caracterización morfológica	26
3.4.5. Crecimiento a diferentes temperaturas	26
3.4.6. Evaluación de la capacidad promotora de crecimiento vegetal	27
3.4.7. Caracterización molecular	28

3.4.8. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	29
3.4.9. Técnicas de procesamiento y análisis de datos	29
CAPÍTULO IV	30
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30
4.1. RESULTADOS.....	30
4.1.1. Aislamiento de bacterias psicotolerantes de rizósfera de papa.....	30
4.1.2. Caracterización morfológica	30
4.1.3. Caracterización fisiológica.....	32
4.1.4. Evaluación de la capacidad promotora de crecimiento vegetal	34
4.1.5. Identificación molecular.....	37
4.2. DISCUSIÓN	40
CAPÍTULO V.....	48
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	48
5.1. CONCLUSIONES	48
5.2. RECOMENDACIONES	49
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50
APÉNDICES Y ANEXOS	63

LISTA DE ABREVIACIONES

IAA:	Ácido Indol-Acético
IS:	Índice de Solubilización
P:	Fósforo
pb:	Pares de bases
PCR:	Reacción en Cadena de la Polimerasa
PGPR:	Rizobacterias Promotoras de Crecimiento Vegetal
PSB:	Bacterias Solubilizadoras de Fosfato
rpm:	Revoluciones por minuto

GLOSARIO

Ácido Indol-Acético (IAA): Auxina que estimula el crecimiento y diversas funciones del metabolismo de las plantas (Zhang *et al.*, 2024).

Extremófilo: Microorganismos que han desarrollado ciertas adaptaciones o mecanismos que incluyen cambios estructurales o genéticos para crecer y sobrevivir en condiciones ambientales extremas que van desde regiones heladas, desiertos, regiones de aguas termales o incluso con alta salinidad (Basak, Biswas and Bhattacharyya, 2020).

Psicrotolerante: Microorganismos que crecen cerca de los 0°C con temperaturas óptimas de crecimiento alrededor de los 30°C, extendidos en diversos hábitats con temperaturas frías (Mishra, Joshi and Khati, 2020).

Rizobacterias Promotoras de Crecimiento Vegetal (PGPR): Microorganismos que colonizan activamente la rizósfera y que influyen positivamente en el crecimiento de las plantas a través de mecanismos directos o indirectos de resistencia sistémica, producción de hormonas vegetales o fijación de nutrientes (Posada *et al.*, 2021).

Rizósfera: Región del suelo donde existe interacción benéfica entre planta y microorganismo y que además, presenta mayor actividad microbiana favoreciendo el crecimiento de la planta (León and González, 2022).

**CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS PSICROTOLERANTES NATIVAS DE LA
RIZÓSFERA DE *Solanum tuberosum* – PAPA, CON CAPACIDAD DE PROMOVER
EL CRECIMIENTO VEGETAL DE CULTIVOS PROVENIENTES DE LA
ENCAÑADA, CAJAMARCA, PERÚ**

RESUMEN

La investigación se centró en caracterizar bacterias psicotolerantes nativas de la rizósfera de papa con capacidad promotora del crecimiento vegetal de cultivos provenientes del distrito La Encañada, Cajamarca. El aislamiento bacteriano se realizó a partir de una muestra compuesta de suelo (100 g) sometida a un choque por frío (1 °C por 3 h). La caracterización morfológica de los aislados se realizó mediante observación en placa y microscópicamente utilizando tinción Gram. La capacidad psicotolerante se evaluó con el crecimiento de las bacterias a 1 °C y 25 °C, registrándose el diámetro de las colonias como dato representativo. La capacidad de promoción de crecimiento vegetal se determinó a través de la producción cualitativa de ácido indol-acético (IAA) empleando el reactivo de Salkowski; y la solubilización de fosfatos, se evaluó con la formación de halo alrededor de las colonias empleando el medio National Botanical Research Institute's Phosphate (NBRIP). La identificación molecular se realizó mediante la secuenciación del gen 16S ARNr. Se obtuvo un total de 26 aislados bacterianos con forma bacilar, 16 Gram positivas y 10 Gram negativas. Todas las bacterias crecieron a 1 °C y a 25 °C. El aislamiento ORP26 presentó mayor diámetro de colonia (0,450 cm) a 25 °C, mientras que ORP22 mostró mayor diámetro (0,300 cm) a 1 °C. La prueba de solubilización de fosfatos mostró que 4 aislados formando el halo representativo a 1 °C y a 25 °C, mientras que 4 lo hicieron únicamente a 1 °C. En cuanto a la producción de ácido indol-acético, 16 aislamientos mostraron actividad a 25 °C. Los resultados de la identificación molecular indicaron similitud con *Pseudomonas mandelii*, *P. lini*, *P. baetica*, *Sphingobacterium kitahiroshimense*, *Paenarthrobacter nitroguajacolicus* y *Lelliottia amnigena*.

Palabras clave: Bacterias psicotolerantes, rizósfera, PGPR, IAA, solubilización de fosfatos.

ABSTRACT

The research focused on characterizing psychrotolerant bacteria native to the potato rhizosphere with plant growth-promoting capacity in crops from the La Encañada district, Cajamarca. Bacterial isolation was performed from a composite soil sample (100 g) subjected to cold shock (1 °C for 3 h). The morphological characterization of the isolates was performed by plate observation and microscopically using Gram staining. Psychrotolerant capacity was evaluated by bacterial growth at 1 °C and 25 °C, recording colony diameter as representative data. The ability to promote plant growth was determined through the qualitative production of indoleacetic acid (IAA) using Salkowski's reagent, and phosphate solubilization was evaluated by the formation of a halo around the colonies using the National Botanical Research Institute's Phosphate (NBRIP) medium. Molecular identification was performed by sequencing the 16S rRNA gene. A total of 26 bacillary-shaped bacterial isolates were obtained, 16 Gram-positive and 10 Gram-negative. All bacteria grew at 1 °C and 25 °C. Isolate ORP26 had the largest colony diameter (0.450 cm) at 25 °C, while ORP22 had the largest diameter (0.300 cm) at 1 °C. The phosphate solubilization test showed that 4 isolates formed a representative halo at 1 °C and 25 °C, while 4 did so only at 1 °C. Regarding indole-acetic acid production, 16 isolates showed activity at 25 °C. The results of molecular identification indicated similarity with *Pseudomonas mandelii*, *P. lini*, *P. baetica*, *Sphingobacterium kitahiroshimense*, *Paenarthrobacter nitroguajacolicus*, and *Lelliottia amnigena*.

Key words: Psychrotolerant bacteria, rhizosphere, PGPR, IAA, phosphate solubilization.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

En el Perú, la agricultura es una de las actividades más importantes en el eje socio-económico y cultural ya que contribuye con la alimentación, la seguridad alimentaria y generación de empleos (Ccama U., Ramírez S. and Mucho, 2019). Sin embargo, se ve afectada por aspectos climáticos que generan reducción en la productividad agrícola (Castillo, 2021). En regiones andinas como Cajamarca, las bajas temperaturas son un factor limitante, sobre todo en zonas que superan los 2 500 m.s.n.m. como el distrito de La Encañada, donde los cultivos están expuestos a un régimen térmico caracterizado por noches frías y con frecuencia de heladas (Huamán and Veneros, 2018; CENEPRED, 2021; SENAMHI, 2023). Y al ser una región productora de papa (*Solanum tuberosum*) que alberga diversidad genética de especies cultivadas y silvestres, evidencia daños en el 80 % del follaje, retraso en la germinación y tuberización, lo que se refleja en pérdidas de producción (Cabrera and Escobal, 2013; Arcos *et al.*, 2020).

En este contexto, la rizósfera, es considerada un nicho ecológico de crucial importancia debido a que alberga gran diversidad de microorganismos metabólicamente versátiles, que influyen positivamente en el desarrollo de las plantas (Moreno *et al.*, 2018; Basu *et al.*, 2021). A estas bacterias se las denomina como Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR), ya que desempeñan un papel fundamental en la optimización del crecimiento y desarrollo de las plantas, a través de mecanismos como la asimilación de minerales (fósforo y potasio), producción de reguladores del crecimiento (auxinas, giberelinas y citocininas), sideróforos o sustancias antimicrobianas que suprimen el crecimiento de patógenos vegetales (Alves *et al.*, 2023; Tripathi *et al.*, 2024).

Dentro de las rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR) existe un grupo que se caracteriza por tener la capacidad de habitar entornos fríos, a las que se las denomina como psicrotolerantes, es decir, aquellas capaces de crecer y mantener su actividad metabólica a temperaturas cerca de los 0 °C pero que pueden desarrollarse a temperaturas óptimas alrededor de los 30 °C. Esto se debe a que poseen adaptaciones fisiológicas y bioquímicas que protegen sus estructuras celulares del daño por congelación, lo que les ha permitido desarrollarse y sobrevivir en estos ambientes poco habitables para otros seres vivos, las mismas que pueden mejorar la estabilidad de los vegetales que se desarrollan bajo condiciones climáticas adversas como las bajas temperaturas. (Collins and Margesin, 2019; Mishra, Joshi and Khati, 2020).

Ante esta problemática, el objetivo principal de esta investigación fue caracterizar bacterias psicrotolerantes nativas aisladas de la rizósfera de papa, con capacidad promotora de crecimiento vegetal, provenientes de cultivos de La Encañada, Cajamarca. Para lo cual, se realizó una caracterización fisiológica (capacidad psicrotolerante), morfológica (tinción Gram) y molecular (16S ARNr), así como la evaluación de su potencial promotor mediante pruebas de producción de indol y solubilización de fosfato. Los resultados de este estudio aportarán un mayor conocimiento sobre la diversidad microbiana y la relevancia de estas bacterias en el mejoramiento de la protección y resistencia de los cultivos frente a las temperaturas bajas en nuestra región; además, de presentarse como una estrategia biotecnológica prometedora para prácticas agrícolas más sostenibles y productivas en Cajamarca.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la Investigación

Tapia, (2020), en un estudio realizado en la zona del volcán Xinantecátl (México), aisló 265 bacterias a partir de la rizósfera de tres plantas nativas (*Arenaria*, *Sisyrinchium* y *Draba*), con el objetivo de obtener microorganismos psicotolerantes con características promotoras del crecimiento vegetal. La tasa de crecimiento bacteriana a 28 °C y a 4 °C permitió identificar cuatro cepas (Ps1, Ps2, Ps3 y Ps4) con capacidad psicotolerante, las cuales fueron identificadas molecularmente como bacterias del género *Pseudomonas*. Lograron solubilizar fosfatos tanto a 4 °C como a 15 °C, a excepción de una que también pudo hacerlo a 30 °C y todas produjeron ácido indol-acético (IAA). Este estudio resaltó la importancia de estas bacterias como una herramienta biotecnológica para mitigar los efectos de las bajas temperaturas en cultivos agrícolas.

En el 2021, Vega *et al.*, con el objetivo de aislar y caracterizar bacterias de la flora silvestre de la Cordillera de los Andes y la Patagonia de Chile, realizaron el muestreo de la rizósfera de plantas nativas, logrando aislar un total de 130 bacterias, de las cuales 70 evidenciaron psicotolerancia a 4 °C. La identificación molecular mediante secuenciación del gen 16S rRNA, permitió clasificarlas en los géneros *Pseudomonas*, *Curtobacterium*, *Arthrobacter*, *Stenotrophomonas*, *Sporosarcina* y *Pseudarthrobacter*. Asimismo, 42 cepas mostraron capacidad de producir ácido indol-acético, evaluada mediante el método colorimétrico de Salkowski. En cuanto a la solubilización de fosfatos, 9 cepas formaron halos de solubilización a temperatura ambiente y a 4 °C, mientras que solo dos (BmP28 y BmR37) lo hicieron

únicamente a temperatura ambiente. La caracterización de estas bacterias permitió no solo identificar especies con potencial agrícola, sino también ampliar el conocimiento sobre la diversidad microbiana adaptada a ecosistemas fríos de Sudamérica.

En Polonia, Styczynski *et al.*, (2022), caracterizaron tres especies bacterianas *Pseudomonas* sp. ANT_H12B, *Psychrobacter* sp. ANT_H59 y *Bacillus* sp. ANT_WA51, previamente aisladas de suelos de la Isla Rey Jorge (Antártida). Estas cepas fueron evaluadas por su capacidad psicrotolerante, observándose que ANT_H12B y ANT_H59 crecieron en un amplio rango de temperaturas, 4 – 30 °C y 4 – 37 °C, respectivamente, mientras que ANT_WA51 lo hizo entre 10 – 37 °C. Tanto *Pseudomonas* sp. ANT_H12B como *Bacillus* sp. ANT_WA51, fueron capaces de solubilizar fosfato y de producir ácido indol-acético a 20 °C. En conjunto, la evaluación de estas bacterias psicrotolerantes, demostró su capacidad como agentes promotores del crecimiento vegetal al aumentar la disponibilidad de fósforo y producir hormonas vegetales como el ácido indol-acético (IAA).

Abdullah *et al.*, (2023), con el objetivo de identificar rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal desarrollaron una investigación a partir de la rizósfera de trigo cultivado en un campo agrícola de Rawalakot, Pakistán. Aislaron diez bacterias psicrotolerantes (WR15 – WR24), capaces de crecer en un rango de temperatura de 4 °C - 32 °C. Todas las cepas mostraron capacidad de solubilizar fosfato tanto a 4 °C como a 28 °C, excepto WR23, que solo lo hizo a 28 °C. Además, todas produjeron ácido indol-acético a 28 °C. El análisis de la secuencia del ARNr 16S reveló que WR22 presentó un 99,78 % de similitud con *Cupriavidus campinensis*, mientras que WR24 mostró una similitud del 99,9 % con *Enterobacter ludwigii*. Los autores destacaron estas bacterias como candidatas con potencial biotecnológico para promover el crecimiento del trigo en condiciones de bajas temperaturas.

En el Perú, Ortiz *et al.*, (2017), caracterizaron bacterias PGPR psicrótrofas asociadas al cultivo de maca (*Lepidium meyenii* Walp.), aislando 44 cepas a partir de muestras rizosféricas obtenidas en tres áreas de la planicie de Bombón, Junín. Estas bacterias crecieron a temperaturas de 12 °C y 6 °C, y fueron evaluadas por su capacidad de producir ácido indol-acético (IAA) y solubilizar fosfatos. Doce bacterias produjeron ácido indol-acético a 22 °C; 8 a 12 °C y 16 a 6 °C. La actividad de solubilización de fosfatos fue mayor a 12 °C y 6 °C que a los 22 °C. Dentro de los géneros bacterianos identificados molecularmente se encontraron a *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Paenarthrobacter*, *Paenibacillus* y *Cupriavidus*. Este estudio demostró el potencial promotor de crecimiento vegetal de las cepas, constituyendo evidencia de su capacidad como biofertilizantes, dado que pueden estimular el desarrollo de las plantas a bajas temperaturas.

En un estudio realizado por Florián, (2019), se evaluó la capacidad promotora de crecimiento vegetal de bacterias de la rizósfera de quinua (*Chenopodium quinoa*) de la Estación Experimental INIA-Salcedo (Puno). Los aislados mostraron crecimiento a temperaturas de 6 °C y 15 °C, indicando su capacidad psicrotolerante, con crecimiento óptimo a 28 °C. La identificación molecular determinó que pertenecían a los géneros *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Pantoea*, *Kluyvera* y *Serratia*. Todas las bacterias evaluadas produjeron ácido indol-acético (IAA) a 28 °C. En cuanto a la solubilización de fosfatos, 13 cepas mostraron actividad a 6 °C, mientras que 14 lo hicieron a 28 °C. Este estudio evidenció una alta diversidad de bacterias psicrotolerantes capaces de resistir condiciones de shock por frío asociadas al cultivo de quinua, de las cuales más del 50 % mostraron características promotoras, como producción de ácido indol- acético y solubilización de fosfatos.

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Extremófilos

Son organismos que prosperan en condiciones no fisiológicas, es decir, en entornos extremos como glaciares, desiertos, ambientes con alta radiación o metales pesados; que llegan a ser hostiles e inhóspitos para otras formas de vida. Esta capacidad se debe a que han adoptado mecanismos de regulación interna (homeostasis) que permiten su desarrollo y funcionamiento, así como a desempeñar roles cruciales en el ciclo de nutrientes disponibles o en la producción de biomasa a pesar de verse limitados por factores ambientales (Salwan and Sharma). Los avances en metagenómica y secuenciación han permitido conocer diversos mecanismos de adaptación; además, de genes o proteínas involucradas, siendo de gran importancia biotecnológica ya que representan una fuente ideal de enzimas, biomoléculas y otros metabolitos de interés (Somayaji *et al.*, 2022; Son *et al.*, 2023).

Los mecanismos de adaptación que estos organismos han desarrollado giran en torno a las condiciones en las que se encuentren, es así que se ha evidenciado modificaciones a nivel de membrana celular que se refleja en el cambio de la composición lipídica para mantener la flexibilidad o rigidez de la misma o variación en las cargas superficiales; a nivel de proteínas se observa disminución o aumento de bases purinas o pirimidinas, disminución de la longitud de bucles de superficie, variación en las interacciones de pares iónicos, presencia de proteínas reparadoras y chaperonas; y también se observan modificaciones a nivel metabólico como la formación de biopelículas, sustancias extracelulares o ciertas variaciones a nivel enzimático para permitir la supervivencia en estos entornos (Kochhar *et al.*, 2022; Somayaji *et al.*, 2022).

Los extremófilos se han clasificado en función de la tolerancia al ambiente en el que se encuentren como temperaturas extremadamente altas (termófilos) o bajas (psicrófilos), pH altamente ácido (acidófilos) o básico (alcalifilos), elevada salinidad (halófilos), presiones extremas, en presencia de residuos tóxicos y otros hábitats adversos (**Figura 1**) (Basak, Biswas and Bhattacharyya, 2020). Dentro de este grupo se encuentran algunos organismos eucariotas como ciertos hongos que toleran pH ácidos o alcalinos; microalgas que soportan altas temperaturas, concentraciones de CO₂ y metales o líquenes que toleran temperaturas extremadamente bajas. Además de organismos procariotas como bacterias o arqueas que prosperan en manantiales calientes, lagos salinos o alcalinos, regiones árticas; microorganismos que toleran altas concentraciones de metales, exposición a radiaciones o en ambientes con nutrientes limitados (Salwan and Sharma, 2020; Kochhar *et al.*, 2022) (Dasauni and Nailwal, 2020).

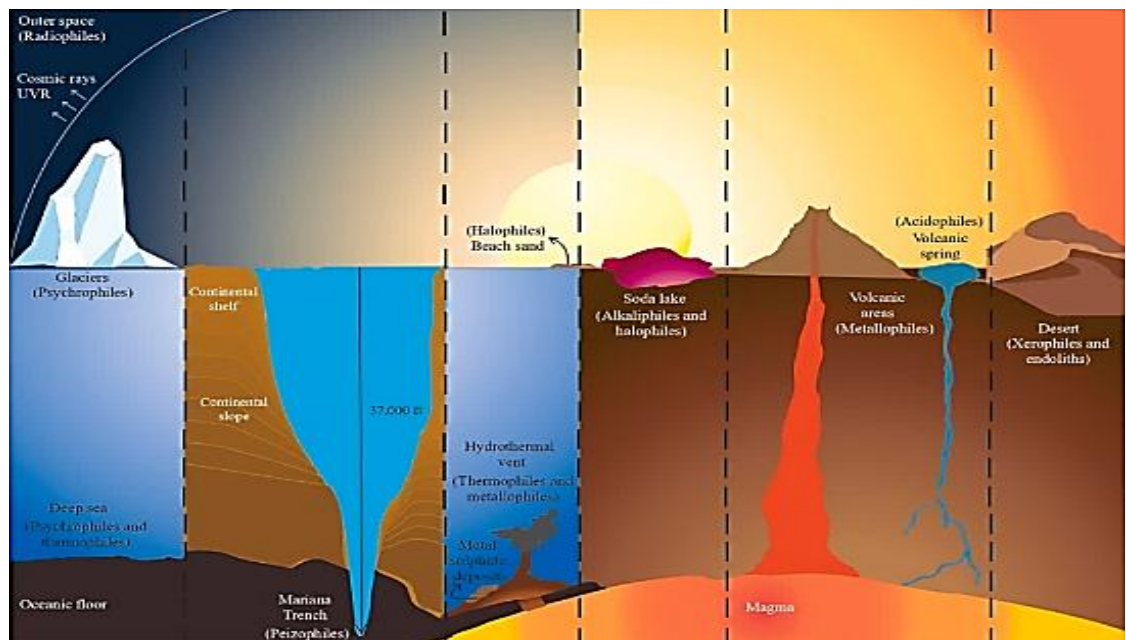


Figura 1. Hábitats de los diferentes tipos de extremófilos (Kochhar *et al.*, 2022).

2.2.2. Bacterias psicrotomas o psicrotolerantes

Las bacterias tolerantes al froo suelen clasificarse de acuerdo al rango de temperatura en el que crezcan, las psicrofílas, tienen una temperatura máxima de crecimiento menor o igual a 20°C, mientras que las psicrotomas o psicrotolerantes, tienen una temperatura máxima de crecimiento por encima de 30 °C y una temperatura mínima que oscila entre 0 y 5 °C, por lo que también se les conoce como mesófilos tolerantes al frío (Bakermans *et al.*, 2014; Mishra, Joshi and Khati, 2020). Las bacterias psicrotolerantes muestran períodos de latencia muy prolongados cuando se cultivan en condiciones *in vitro* y están muy extendidas en comparación con los psicrofílos encontrándolos en diversos hábitats, como lagos antárticos, nieve, glaciares, núcleos de casquetes polares y gotas de nubes (Wong, Ramli and Son, 2023).

Estas bacterias deben evitar que el estrés térmico altere su actividad enzimática y la estabilidad proteica, es por ello, que han desarrollado estrategias para atenuar esta situación como por ejemplo, el incremento en la regulación de enzimas activas en frío que aumentan la composición de lípidos insaturados y como resultado mejoran la fluidez de la membrana; la expresión de helicasas, conocidas como proteínas de choque frío para estabilizar el ADN/ARN y el uso de pigmentos carotenoides que permiten la protección frente a la radiación solar (Gupta *et al.*, 2020). Además de la filamentación bacteriana, considerada como su principal rasgo adaptativo que se produce inhibiendo la división celular mediante la pérdida de la formación de tabiques en condiciones no óptimas (Son *et al.*, 2023).

Es así que estos microorganismos son de gran interés, por sus diversas aplicaciones biotecnológicas en los sectores agrícola, medicinal e industrial porque son capaces de

producir una variedad de enzimas, antibióticos, péptidos o compuestos anticongelantes y de presentar múltiples características que promueven el crecimiento de las plantas (producción de sideróforos, ácido indol acético, amoníaco y cianuro de hidrógeno; solubilización de zinc, potasio y fósforo; actividad de biocontrol contra fitopatógenos). Dentro de las secuencias genómicas de bacterias tolerantes al frío que se han caracterizado se encuentran los filos *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Cyanobacteria*, *Proteobacteria*, *Spirochaetes*, *Firmicutes*, *Chlamydiae*, *Mucoromycota*, *Chloroflexi*, *Nitrospirae*, *Gemmatimonadetes*, *Planctomycetes* y *Verrucomicrobia* (Mishra, Joshi and Khati, 2020).

2.2.2.1. Mecanismos para adaptación a ambientes fríos

A. Modificación de la membrana celular

El descenso de temperatura genera reducción en las tasas de difusión, fluidez y permeabilidad de la membrana, así como la disminución de la función y movilidad de proteínas incrustadas. La fluidez depende de la temperatura de transición de fase de la membrana (T_m), necesaria para que la membrana pase de fase líquida a fase gel, ya que las temperaturas bajas generan procesos de congelación de la bicapa lipídica (Gupta *et al.*, 2020). Por ello, los psicrotolerantes han adoptado modificaciones específicas como la producción a mayor velocidad de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (LC-PUFAs), tales como el eicosapentaenoico, araquidónico y el docosahexaenoico (Hassan *et al.*, 2020; Tendulkar *et al.*, 2021); además, de la producción de ácidos grasos de cadena ramificada (AGCR) y ácidos grasos insaturados (AGI), glicolípidos, lípidos polares no comunes y carotenoides (**Figura 3**) (Basak, Biswas and Bhattacharyya, 2020).

Es así que el cambio en la composición lipídica de la membrana y la temperatura, inducen a "adaptaciones homeoviscosas", donde se forman dominios de fase gel que evitan la pérdida de fluidez en la membrana celular (Tendulkar *et al.*, 2021). Además, el aumento de la cantidad de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (LC-PUFA) mantienen la fluidez de la membrana y contrarrestan el estrés causado por especies reactivas de oxígeno (ROS), generando protección frente al estrés oxidativo a bajas temperaturas (Pecl, Blier, and Dufresne, 2025). Algunos pigmentos de membrana también han demostrado aumentar la rigidez de la membrana y contribuir con la protección frente a la radiación UV (especialmente en glaciares) y la captación de luz, como en el caso de *Synechococcus lividus* y *Pseudoalteromonas* spp. (Kochhar *et al.*, 2022; Somayaji *et al.*, 2022).

B. Modificaciones de proteínas.

Las bacterias psicrotolerantes poseen pequeñas proteínas monocatenarias conocidas como proteínas de choque frío (CSP) las mismas que se unen al ácido nucleico contribuyendo a la regulación de procesos celulares como el plegamiento de proteínas, transcripción, traducción y la fluidez de las membranas (Zhou *et al.*, 2021). Otro tipo de proteínas que se sobreexpresan en respuesta a bajas temperaturas, son las proteínas de aclimatación al frío (CAPs), sintetizadas para mantener el ciclo celular y el crecimiento (Furhan, 2020). Además, poseen pequeñas proteínas anticongelantes o fijadoras de hielo (AFP) que se encargan de frenar el crecimiento de cristales de hielo y la recristalización, reducen el punto de

congelación adsorbiendo al hielo y detienen la congelación (Białkowska *et al.*, 2020). Por otro lado, las proteínas nucleantes de hielo (INPs) pueden impedir el enfriamiento rápido del agua induciendo la cristalización del hielo a temperaturas cercanas al punto de fusión (**Figura 2**) (Somayaji *et al.*, 2022).

Algunas de las estructuras proteicas también sufren modificaciones evidenciando mayor contenido de bucles, aumento de alanina (Ala) y glicina (Gly), disminución de Ile, arginina (Arg), prolina (Pro) y (Leu) permitiendo mayor flexibilidad de la membrana y un coste energético bajo (Kochhar *et al.*, 2022). Asimismo, existe una flexibilidad conformacional de las enzimas debido a la menor rigidez del núcleo proteico y a la reducción de las interacciones entre los interdominios, donde la alanina (Ala) se sustituye por ácido glutámico, lisina por arginina (Arg) y valina por alanina (Ala), proporcionando de esa manera mayor estabilidad y especificidad a bajas temperaturas (Basak, Biswas and Bhattacharyya, 2020). El aumento de la citocromo C oxidasa y la ATP sintasa han evidenciado en bacterias provenientes del permafrost ártico mantener su metabolismo energético celular y sus niveles de ATP a bajas temperaturas (Son *et al.*, 2023).

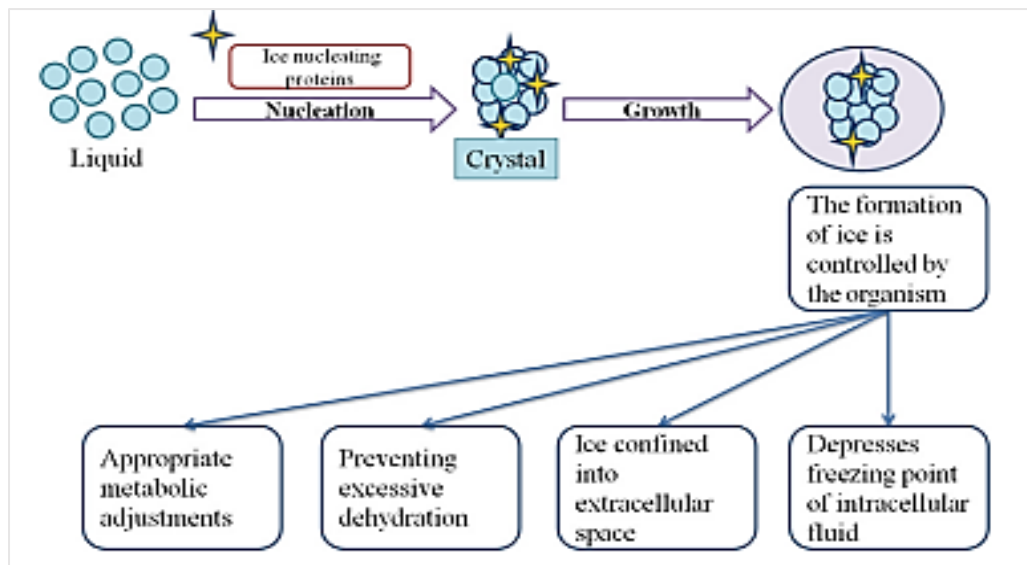


Figura 2. Proceso de nucleación para la supervivencia de bacterias psicrotolerantes mediante proteínas nucleadoras de hielo (INPs) (Gupta *et al.*, 2020).

C. Otras moléculas reguladoras en psicrófilos.

Las bacterias psicrotolerantes responden a su entorno, a través de la síntesis de algunos solutos compatibles como manitol, betaína, sorbitol, trehalosa, glicina y glicerol y de biosurfactantes que contribuyen a restablecer el equilibrio osmótico, reduciendo el punto de congelación, estabilizando proteínas y membranas, mejorando el plegamiento proteico (Jin *et al.*, 2022). Por otro lado, las sustancias poliméricas extracelulares forman películas de gel alrededor de bacterias, reduciendo el estrés osmótico y la desecación actuando como barreras de difusión de solutos, mientras que las chaperonas promueven una replicación, transcripción y traducción eficientes (**Figura 3**) (Somayaji *et al.*, 2022).

Algunas de estas bacterias acumulan osmolitos orgánicos o solutos compatibles para prevenir la pérdida de agua y la contracción celular, permitiendo restablecer el equilibrio osmótico durante la congelación; asimismo, pueden reducir el punto de congelación y la temperatura de transición vítrea coloidal (T_g) (De Maayer *et al.*, 2014). Se ha evidenciado, que muchas de ellas producen sustancias poliméricas extracelulares multifuncionales, que desempeñan un papel crucial al inhibir el crecimiento y la recristalización del hielo, protegiendo además frente al estrés osmótico y a los daños por desecación (Jahed *et al.*, 2023). Del mismo modo, los chaperones presentes en algunos microorganismos adaptados al frío facilitan el plegamiento y la estabilidad de las proteínas, así como la protección del material genético contra el deterioro (Furhan, 2020).

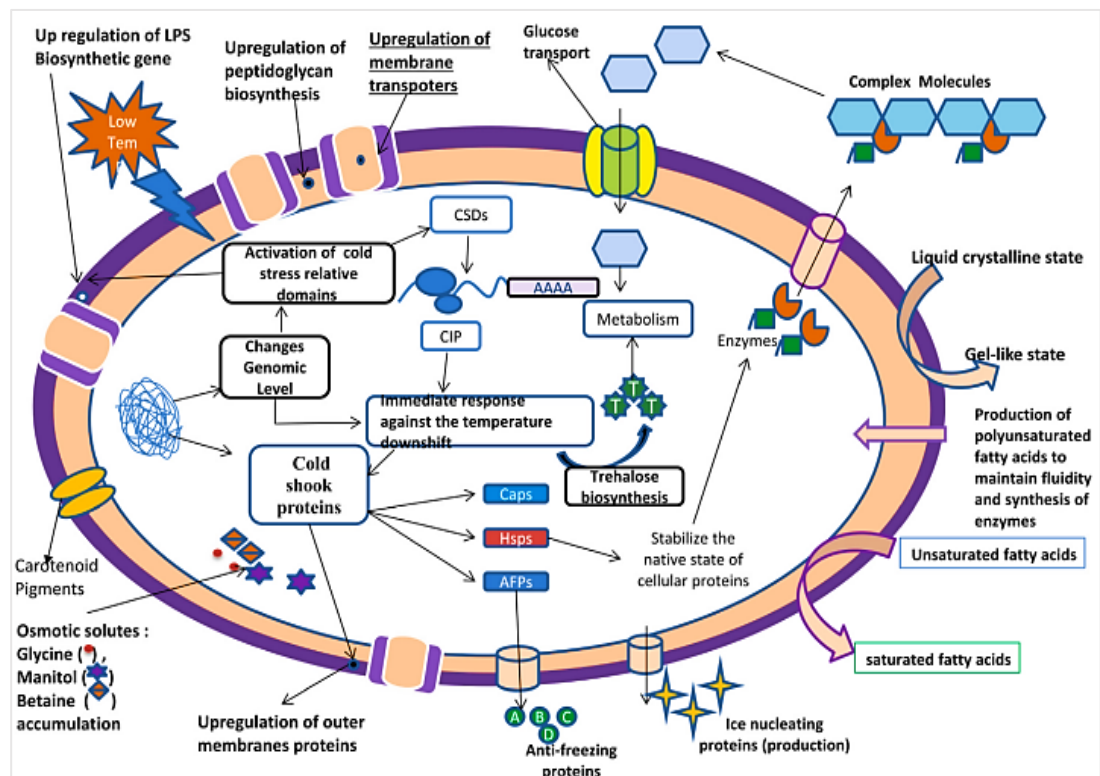


Figura 3. Mecanismos de protección de bacterias psicrotolerantes (Gupta *et al.*, 2020).

2.2.3. Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal

Las rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal o por sus siglas en inglés PGPR, son consideradas bacterias de vida libre que colonizan la rizósfera y que tienen la capacidad de ejercer un efecto beneficioso en el desarrollo de las plantas, mediante diversos mecanismos como la protección contra fitopatógenos (hongos, bacterias, nematodos, etc.), mejora de la disponibilidad de nutrientes para la planta hospedera, disminución de la producción de etileno o mejora de compuestos estimulantes, como las fitohormonas (Figura 4) (Palacio-Rodríguez *et al.*, 2022). Algunos géneros reportados son *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Agrobacterium*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, entre otros (Basu *et al.*, 2021).

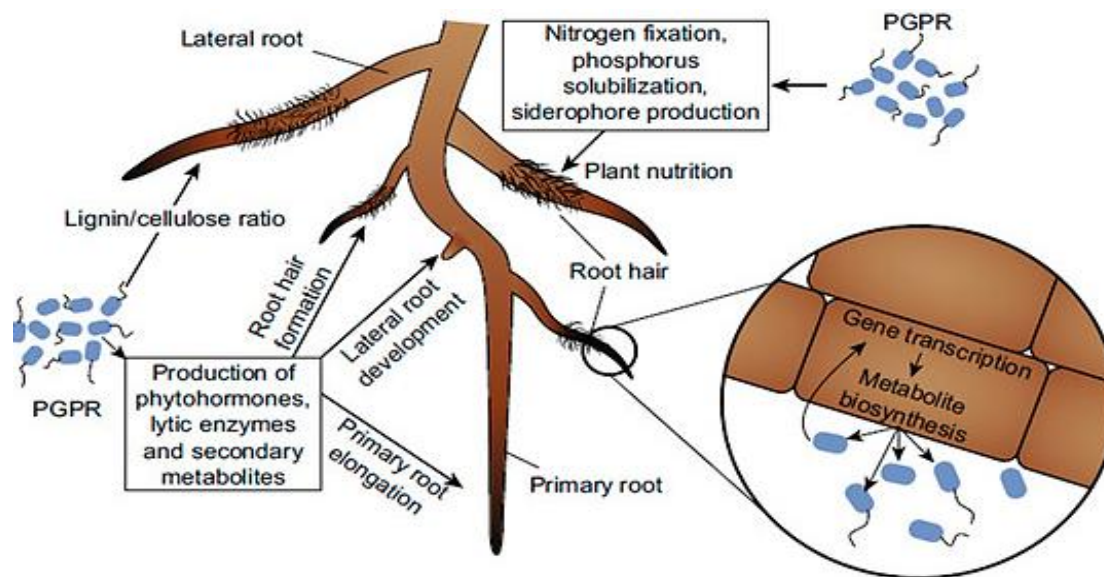


Figura 4. Mecanismos de acción de las rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR) en las plantas (Hasan *et al.*, 2024).

2.2.3.1. Mecanismos de promoción del crecimiento

A. Producción de Ácido Indol-acético

El ácido indol-acético (IAA) es una auxina de origen natural y funcional presente en las plantas, que influye en procesos como la división celular, elongación, diferenciación y desarrollo del fruto, lo que evidencia su importancia en la fisiología vegetal (Tang *et al.*, 2023). Además, desempeña una función crucial en la expansión de las paredes celulares de las raíces, mejorando la exudación radicular; que a su vez influye en la composición y actividad de bacterias rizosféricas capaces de utilizar estos exudados radiculares (Feng *et al.*, 2024). Su producción no se limita solo a las plantas, sino que también es sintetizada por microorganismos como las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) (Etesami and Glick, 2024).

Se calcula que aproximadamente el 80 % de las bacterias rizosféricas tienen la capacidad de sintetizarla mediante rutas metabólicas dependientes o independientes del triptófano, siendo el L-triptófano el precursor más eficaz (Lata, Abdie and Rezene, 2024). Entre estas rutas, la vía que involucra el ácido indol-3-pirúvico (IPyA) destaca como una de las principales en la síntesis de IAA por parte de bacterias, en la que el gen *IpdC* juega un papel fundamental al codificar la enzima responsable de transformar el IPyA en IAA (**Figura 5**) (Bunsangiam *et al.*, 2019). La síntesis de IAA por bacterias asociadas a la rizosfera impacta positivamente en distintas fases del crecimiento vegetal, incluyendo la germinación de semillas, desarrollo de raíces y brotes, así como en el aumento de la biomasa total (Lata, Abdie and Rezene, 2024).

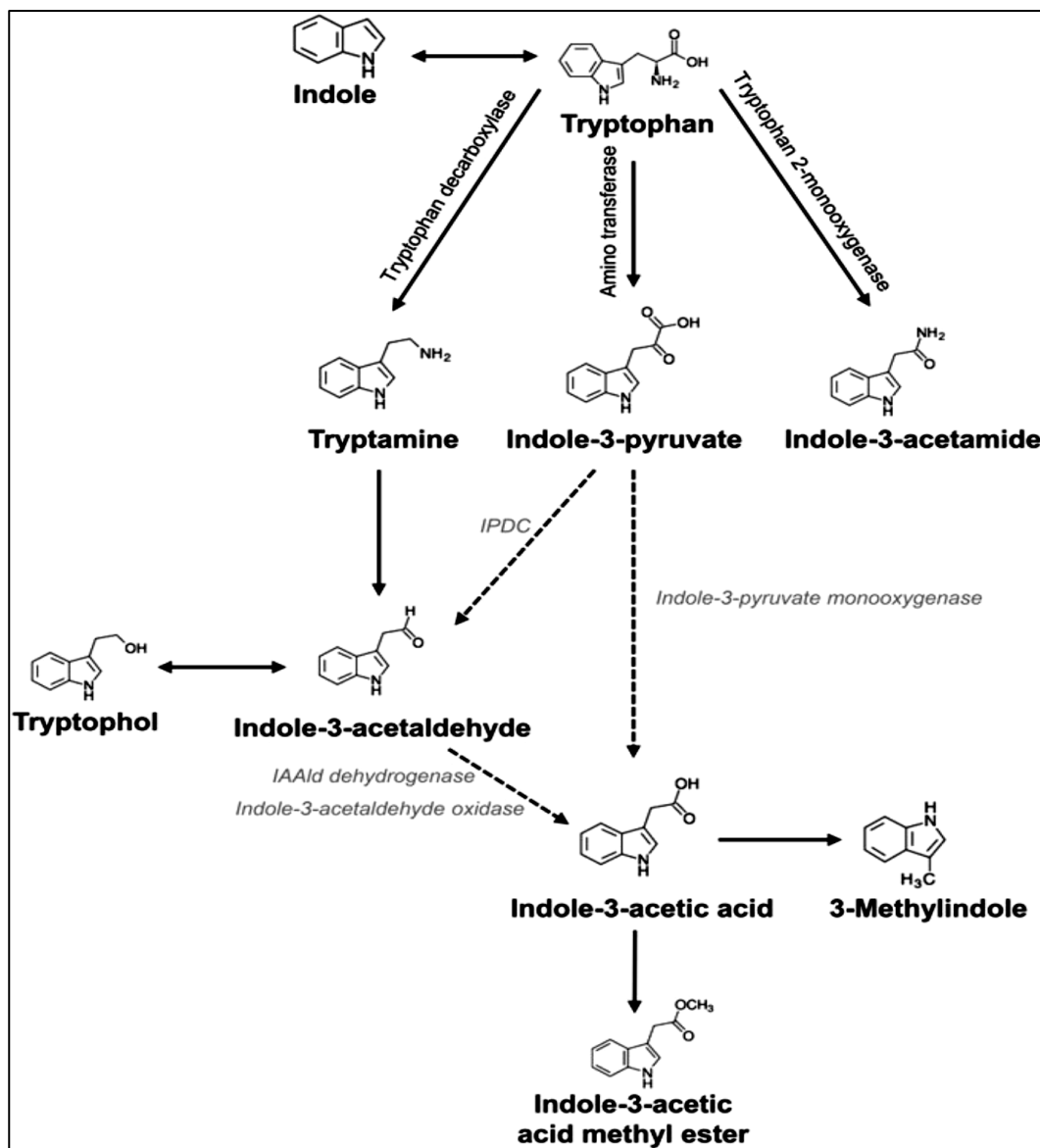


Figura 5. Ruta metabólica para la producción de ácido indol-acético (IAA), dependiente del L-triptófano (Bunsangiam *et al.*, 2019).

La producción del IAA como metabolito secundario derivado del L-triptófano, es utilizado para interactuar con las plantas como parte de su estrategia de colonización, que va desde la fitoestimulación a la patogénesis (Giang *et al.*, 2024). Puede aumentar el número de pelos radicales y raíces laterales de la planta, aumentando la absorción

de nutrientes en el suelo, acelerando el crecimiento de las plantas (Linda *et al.*, 2024). Se ha identificado que diversas cepas de PGPR presentes en la rizosfera son capaces de producir IAA, entre ellas se encuentran géneros como *Azospirillum*, *Enterobacter*, *Azotobacter*, *Klebsiella*, *Alcaligenes faecalis*, *Azoarcus*, *Serratia*, *Enterobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas* y *Rhizobium* (Suliasih and Widawati, 2020).

B. Solubilización de fosfatos

El fósforo (P) es considerado como el segundo macronutriente más importante en las plantas, ya que desempeña numerosas funciones relacionadas con el crecimiento, desarrollo y metabolismo vegetal (Kayoumu *et al.*, 2023). Forma parte de la composición estructural de diversas coenzimas, fosfoproteínas, fosfolípidos y ácidos nucleicos que intervienen en procesos como la fotosíntesis, metabolismo del carbono y la formación de membranas (Bandita Pati and Sanhita Padhi, 2021). Sin embargo, el 95-99% del fósforo del suelo se encuentra de forma insoluble, lo que lo convierte en un importante factor limitante del crecimiento de las plantas, debido a ello, existen bacterias que desempeñan un papel crucial en la disponibilidad de iones de fosfato para las plantas; a través, de mecanismos como la quelación o la producción de enzimas extracelulares (Pan and Cai, 2023; Mengesha and Legesse, 2024).

La adquisición de fósforo en las plantas con la ayuda de bacterias solubilizadoras de fosfato (PSB) es crucial para incrementar su rendimiento (Bargaz *et al.*, 2021). La producción de ácidos orgánicos es el principal mecanismo de solubilización del fosfato mineral, donde los microorganismos liberan ácidos orgánicos que actúan

como buenos quelantes de cationes divalentes del calcio (Ca^{2+}) disminuyendo el pH del suelo y liberan fosfatos solubles a partir de compuestos insolubles de fósforo (**Figura 6**) (Paulraj *et al.*, 2020). Además, enzimas como fitasas, liasas y fosfatasa producidas por estas bacterias, también pueden solubilizar fósforo orgánico (Prasad *et al.*, 2022). Géneros como *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Arthrobacter*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Microbacterium*, *Mesorhizobium*, *Flavobacterium* y *Serratia* se han reportado como solubilizadores de fósforo (Gupta *et al.*, 2022; Wang *et al.*, 2023).

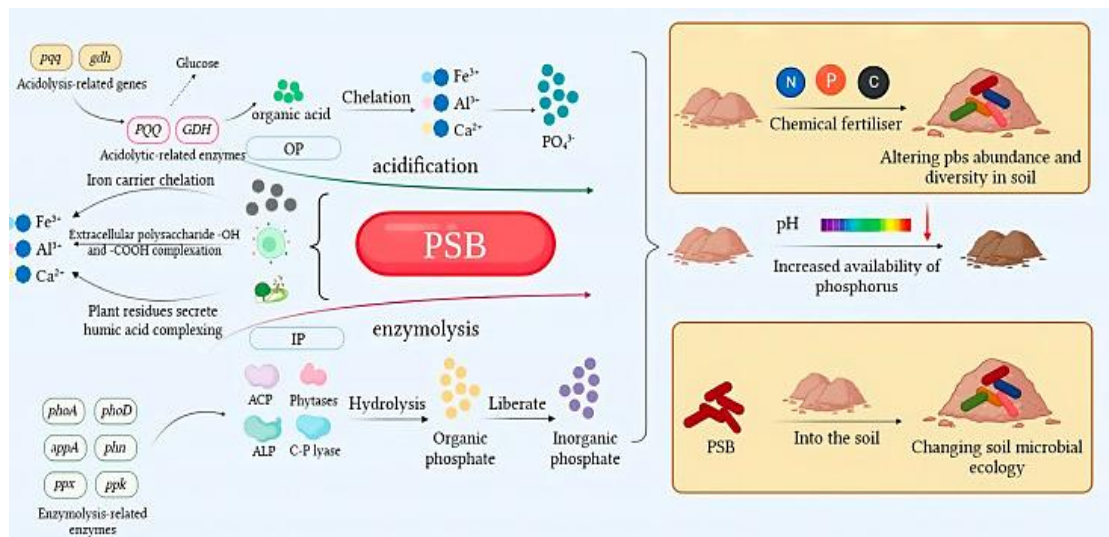


Figura 6. Mecanismo de solubilización de fosfato por PSB (Pan and Cai, 2023).

2.2.4. Microbioma asociado a la rizósfera de papa

La importancia de los microbiomas asociados a plantas es determinante para el crecimiento y la salud vegetal, ya que mejora su tolerancia frente al estrés abiótico y las protege contra patógenos transmitidos por el suelo (Martínez and Galván, 2023). La rizósfera al ser una zona rica en nutrientes del suelo, alberga gran actividad microbiana, considerándose uno de

los ecosistemas más complejos, que media la relación entre plantas y microorganismos (Yang *et al.*, 2024). La colonización de la rizósfera es una de las características más importantes de las rizobacterias que determina la supervivencia y propagación, este proceso es determinado por la cantidad y composición de los exudados radiculares como azúcares, aminoácidos, ácidos grasos, reguladores de crecimiento, entre otros, los mismos que establecen el tipo de microorganismos que predominarán y colonizarán esta zona (Liu *et al.*, 2024).

Por ello, el microbioma de la papa (*Solanum tuberosum*); cuarto cultivo esencial a nivel mundial, realiza funciones importantes para contribuir con su crecimiento y desarrollo, donde la composición y la variabilidad de microorganismos depende de aspectos como el compartimento de la planta, siendo más diverso en el suelo y la rizósfera (Petrushin, Filinova and Gutnik, 2024). Así mismo, la etapa de desarrollo y el genotipo de la planta, las condiciones ambientales y el tipo de suelo también son determinantes. Los filos más abundantes en la rizosfera de papa son *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Acidobacteria*, *Bacteroidetes*, *Ascomycota*, *Mortierellomycota*, *Fimicutes*, *Planctomycetes* y *Basidiomycota* y a nivel de género, *Sphingomonas*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Streptomyces*, *Pseudeurotium*, *Bacillus*, *Microdochium*, entre otros (Gu *et al.*, 2022; Faist *et al.*, 2023).

2.2.5. Cajamarca

El Departamento de Cajamarca se localiza en la zona norte del país, cubre una superficie de 33 318 Km², que representa el 2,6 por ciento del territorio nacional. La altura de la región

oscila entre los 400 m.s.n.m. (Provincia de Cutervo) y los 3 550 m.s.n.m. (Provincia de Chota) (MINSA, 2024). Tiene un clima seco, templado y soleado durante el día y frío en la noche. La temperatura media anual máxima es de 21 °C, mientras que la mínima media es de 6°C, con temporada de lluvias intensas de diciembre a marzo. El enfriamiento es fuerte durante las noches claras, lo que ocurre sobre todo en los meses secos, en los cuales aumenta la incidencia de heladas (Hijmans, 1999; Alcántara *et al.*, 2022).

2.2.6. Importancia de la papa en Cajamarca

En Cajamarca, la papa (*Solanum tuberosum*) es uno de los cultivos más representativos ya que forma parte de la alimentación básica y el sustento económico para los agricultores de la región, siendo de gran valor cultural y parte de las tradiciones culinarias locales (Rimarachin *et al.*, 2024). Actualmente, tiene una influencia del 21.2 % en el Valor Bruto de Producción (VBP) agrícola provincial, con una superficie sembrada de 3 6449 ha, con una producción de 16 264, 50 toneladas y un rendimiento promedio de 8.371 t/ha (MINAGRI, 2025).

2.2.7. Métodos de identificación bacteriana

2.2.7.1. Caracterización fenotípica

Los métodos fenotípicos se basan en las características observables de las bacterias, permitiendo su identificación en función de las observaciones macro y microscópicas como la morfología o apariencia de las colonias, características fisiológicas,

bioquímicas y metabólicas, tinción Gram, entre otras (Angulo, 2021; Martínez and Galván, 2023). En el caso de las PGPR se evalúa la capacidad de producción de ácido indolacético (IAA); empleando la técnica colorimétrica con el reactivo de Salkowski (Gordon and Weber, 1951), donde se observa el viraje del medio a un color rosa-rojo; así como la capacidad de solubilizar fosfatos, mediante la formación de un halo en el medio de cultivo alrededor de la colonia (Nautiyal, 1999; Bakki *et al.*, 2024).

Tinción Gram

La tinción de Gram es una herramienta fundamental para diferenciar distintos tipos de bacterias según su coloración, morfología y asociación (Ogodo, Agwaranze, Daji and Aso, 2022). Distingue entre bacterias Gram-positivas y Gram-negativas al colorear estas células de rojo (Gram-negativas) o violeta (Gram-positivas), de acuerdo con la composición de su pared (Sahni and Prasad, 2021). Este método emplea cristal violeta, un colorante con afinidad por el peptidoglicano de la pared bacteriana, seguido de la aplicación de lugol, que actúa como mordiente y favorece la retención del complejo cristal violeta-yodo dentro de la pared celular. Posteriormente, la mezcla de alcohol-acetona genera deshidratación de la pared y el cierre de los poros en bacterias Gram positivas, mientras que en Gram negativas produce la disolución de su membrana externa, lo que impide la retención del colorante primario, por último, se coloca fucsina, que tiñe las bacterias que no logran retener el complejo cristal violeta-yodo (Corrales and Caycedo, 2020; Paray *et al.*, 2023).

2.2.7.2. Caracterización molecular mediante 16S ADN

El ARN ribosomal 16S es la macromolécula más utilizada para estudios de filogenia y taxonomía bacteriana, con 1 500 pb, que genera polimorfismo necesario para establecer diferencias (Suárez-Contreras and Yañez-Meneces, 2020). Como toda secuencia de nucleótidos de cadena sencilla, se pliega en una estructura secundaria compuesta por regiones altamente conservadas intercaladas con nueve regiones variables (V1–V9) (Fida *et al.*, 2021), siendo las regiones conservadas apropiadas para la unión de cebadores lo que conlleva a una mayor cantidad de taxones bacterianos diferentes, mientras que las regiones variables permiten la exclusión de estos taxones dentro de diferentes entornos microbianos (Abellan-Schneyder *et al.*, 2021).

La identificación mediante secuenciamiento del gen 16S consiste en la extracción del ADN genómico mediante lisis alcalina, seguida de una PCR en conjunto con los cebadores específicos al gen para delimitar la región a comparar, el producto se secuencia para proseguir con un alineamiento e identificar homologías en comparación con alguna base de datos (Hong *et al.*, 2024). Algunas bases de datos utilizadas para la identificación de bacterias son: *European Molecular Biology Laboratory* (EMBL-nucleotide), *GenBank* y *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) (Martínez and Galván, 2023).

CAPÍTULO III

DISEÑO DE CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS

3.1. Nivel de Investigación

Descriptivo.

3.2. Tipo y Diseño de investigación

El presente estudio es de tipo básico con diseño experimental.

3.3. Diseño metodológico

3.3.1. Material Biológico

26 aislamientos de PGPR psicotolerantes de la rizósfera de papa.

Marco muestral

Todas las bacterias provenientes de suelo rizosférico de cultivos de papa en el distrito de La Encañada y que potencialmente son psicotolerantes y a la vez promotoras del crecimiento vegetal.

Unidad de estudio

Cada uno de los aislamientos bacterianos psicotolerantes con características PGPR.

3.4. Procedimientos

3.4.1. Localización y descripción del sitio de muestreo

La recolección de muestras se realizó en el distrito de La Encañada, provincia de Cajamarca, ubicada a 3098 m.s.n.m. que se caracteriza por la marcada incidencia de temperaturas bajas, donde la media anual varía de 1 °C a 15 °C y rara vez es menor a -1°C. En la temporada fresca, entre los meses de junio y agosto, la temperatura mínima promedio es de 1 °C y la máxima es 13 °C. Los principales cultivos de la zona son la papa, el trigo oca y maíz (COEN, 2018; Vélchez *et al.*, 2013).

3.4.2. Colección de muestras

Las muestras fueron colectadas en un terreno de cultivo de papa en el distrito de La Encañada (7°07'36.44"S 78°20'49.91"W), provincia de Cajamarca (**Figura 7**). Se recolectaron 5 plantas de la variedad amarillis, en etapa de prefloración, junto con la porción de suelo circundante a sus raíces, a una profundidad aproximada de 20 cm. Las muestras se colocaron en bolsas de plástico de primer uso dentro de un cooler con gel packs, manteniendo una temperatura cercana a 5 °C, hasta su procesamiento en el laboratorio de Sanidad Animal del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), Baños del Inca, Cajamarca (**Apéndice 2**).



Figura 7. Ubicación geográfica del sitio de muestreo en el distrito de La Encañada, Cajamarca. Fuente Google Earth.

3.4.3. Aislamiento de bacterias psicrotolerantes de rizósfera de papa

Se preparó una muestra compuesta de rizósfera de aproximadamente 100 g y se la sometió a shock de frío por 3 horas a 1 °C en una refrigeradora, siguiendo la metodología de Florián, (2019). Posteriormente, se preparó la muestra madre en un frasco estéril con 10 g de rizósfera y suero fisiológico en una proporción 1:10. A partir de ello, se realizaron diluciones sucesivas con solución salina al 0,85 % (desde 10^{-1} a 10^{-6}) en tubos de ensayo correctamente rotulados, por duplicado (**Apéndice 3 – figura 9 y 10**). De cada dilución, se tomaron alícuotas de 100 uL y se sembraron en placas Petri con medio Plate Count Agar (PCA), por duplicado. Las placas se incubaron a 1 °C en una refrigeradora por un período de 8 días (192 horas).

Después del periodo de incubación, se seleccionaron y aislaron las colonias bacterianas que mostraron características morfológicas predominantes en placa como la elevación, color, forma y consistencia. Posteriormente, se purificaron en placas Petri con agar nutritivo (AN), realizándose de 2 a 3 repiques e incubándolas a 25 °C.

3.4.4. Caracterización morfológica

Las bacterias previamente aisladas y purificadas se sembraron en Agar Nutritivo (AN) e incubaron por 48 h a 28 °C. Posteriormente, se realizó la tinción Gram como se describe en el **Anexo 1**.

3.4.5. Crecimiento a diferentes temperaturas

Para evaluar la capacidad psicrotolerante de las bacterias, se reactivaron las colonias en caldo nutritivo por 24 h a 25 °C, hasta obtener una población aproximada de 10^8 UFC·mL⁻¹. Se sembró por triplicado en placas con agar nutritivo, mediante estriado y se incubó a 1 °C y a 25 °C por 9 y 3 días, respectivamente. Posterior al tiempo de incubación se hizo la medición del diámetro de las colonias con ayuda de un vernier, para evaluar la influencia de la temperatura en el crecimiento bacteriano (Florián, 2019).

3.4.6. Evaluación de la capacidad promotora de crecimiento vegetal

A. Producción de ácido indol-acético (IAA)

Se empleó el protocolo colorimétrico de Gordon & Weber (1951). Las bacterias se reactivaron en caldo nutritivo (CN) y se sembraron en tubos con caldo levadura manitol (LMC) suplementado con L-triptófano $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ (Huasasquiche, Moreno and Jiménez, 2020). El pH del medio se ajustó a 7,0. La incubación se realizó a 25°C por 7 días. El control positivo fue la cepa BacL y el control negativo la cepa P10 proporcionados por el Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA). Posteriormente, cada muestra se colocó en un tubo Falcon de 50 mL y se centrifugó a 1200 rpm por 5 min. En tubos de ensayo se adicionó una alícuota de 250 μL de sobrenadante y 1 ml de reactivo de Salkowski (Florián, 2019; Alcarraz *et al.*, 2019) (**Anexo 2**). Se incubaron en oscuridad por 30 min a temperatura ambiente para evaluar el viraje de color de la solución, de amarillo a tonalidades rojizas, lo que indicó un resultado positivo. Según la intensidad de color en la prueba se consideró tres niveles cualitativos de producción: nivel bajo (+), nivel medio (++) y nivel alto (+++).

B. Solubilización de fosfatos

Las bacterias se reactivaron en caldo nutritivo por 24 h a 25°C . A partir de la suspensión se tomó 4 μL de cada aislado bacteriano y se inoculó por triplicado en placas Petri con el medio basal National Botanical Research Institute's Phosphate (NBRIP), a un pH de 7 (**Anexo 3**). La evaluación se realizó a las temperaturas de

1 °C y 25 °C, por 8 días. Se tomó como positivos los aislamientos que evidenciaron la formación de un halo transparente alrededor de la colonia (Nautiyal, 1999) y como parámetro para seleccionar las bacterias con mayor capacidad solubilizadora, el Índice de Solubilización (IS), mediante la **Fórmula 1**.

$$IS = \frac{\text{Diámetro de la colonia} + \text{Diámetro del halo}}{\text{Diámetro de la colonia}}$$

Fórmula 1. Índice de Solubilización (Becerra *et al.*, 2012).

3.4.7. Caracterización molecular

Aquellas bacterias que presentaron la capacidad de ser psicotolerantes al crecer a 1 °C y a 25 °C, además de producir IAA y/o solubilizar fosfatos fueron seleccionadas para ser caracterizadas molecularmente mediante la secuenciación del gen 16S rRNA.

Para ello, las bacterias fueron reactivadas en caldo nutritivo (CN) y sembradas en placas con agar nutritivo (AN) e incubadas a 25 °C por 24 horas. Cada placa se rotuló con el código del aislamiento bacteriano correspondiente, se sellaron con Parafilm y se enviaron a identificar a través de la técnica de Sanger en MacroGen (Chile) por servicios externos con la empresa MASED (Perú).

3. 4. 8. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Se empleó una ficha de recolección de datos, en la que se detalló las características morfológicas de las bacterias observadas en placa y los resultados de la tinción Gram; además, de los diámetros de las colonias a 2 temperaturas de crecimiento para evaluar la capacidad psicrotolerante de las bacterias. Se agregaron los datos obtenidos en la evaluación de la producción de IAA y la solubilización de P, como parte de la evaluación de la capacidad PGPR (**Apéndice 1**).

3. 4. 9. Técnicas de procesamiento y análisis de datos

Cada evaluación se realizó por triplicado para garantizar la fiabilidad de los resultados. Se elaboró una base de datos en Microsoft Excel, detallando cada uno de los parámetros evaluados. Posteriormente, se utilizó el software IBM SPSS Statistics versión 25, para el análisis de los datos obtenidos, con un nivel de confianza del 95% y un $p < 0.05$; para establecer diferencias estadísticas significativas. Se elaboraron tablas y gráficos descriptivos.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. RESULTADOS

4.1.1. Aislamiento de bacterias psicrotolerantes de rizósfera de papa

Tras el período de incubación de las placas a 1 °C, se observó crecimiento bacteriano a las 192 horas (8 días) (**Apéndice 3 – Figura 11**). Se logró aislar un total de 26 colonias bacterianas que evidenciaron crecimiento en la placa y se purificaron para la caracterización morfológica, fisiológica y las pruebas de caracterización de la capacidad promotora de crecimiento vegetal.

4.1.2. Caracterización morfológica

Se aislaron un total de 26 colonias bacterianas, las mismas que se caracterizaron macro y microscópicamente en base a su morfología como se describe en la **Tabla 1**. El color más frecuente fue el crema con 76,9 %, seguido de las tonalidades blanco y amarillo, ambas con un 11,5 %. Se observó que solo el 46,2 % fueron colonias bacterianas traslúcidas y el 73,1 % fueron de tamaño mediano. Así también, se observó que las características con mayor presencia en las bacterias fueron: forma circular (96,2 %), elevación convexa y elevada (50,0 % en ambas), borde entero (96,2 %), en cuanto a textura, predominó la mucoide (80,8 %) seguido del liso (3,8 %). Al someterlas a tinción Gram, 16 bacterias (61.5 %) fueron grampositivas, mientras que 10 bacterias (38.5%) fueron gramnegativas y todas evidenciaron una morfología bacilar como se observa en el **Apéndice 4**.

Tabla 1. Caracterización morfológica macroscópica y microscópica de las bacterias aisladas.

Código del aislamiento	Características macroscópicas de las colonias bacterianas							Características microscópicas	
	Forma	Margen	Elevación	Translúcido	Color	Tamaño	Textura	Tinción Gram	Forma
ORP1	Circular	Entero	Convexa	No	Amarillo	Mediana	Mucoide	+	Bacilos
ORP2	Circular	Entero	Elevada	Si	Crema	Mediana	Mucoide	+	Bacilos
ORP3	Circular	Ondulado	Convexa	Si	Crema	Mediana	Mucoide	+	Bacilos
ORP4	Circular	Entero	Convexa	No	Crema	Mediana	Mucoide	-	Bacilos
ORP5	Circular	Entero	Elevada	Si	Crema	Mediana	Mucoide	+	Bacilos
ORP6	Circular	Entero	Elevada	Si	Crema	Mediana	Mucoide	+	Bacilos
ORP7	Puntiforme	Entero	Elevada	Si	Blanco	Pequeña	Mucoide	+	Bacilos
ORP8	Circular	Entero	Elevada	Si	Crema	Mediana	Mucoide	+	Bacilos
ORP9	Circular	Entero	Elevada	Si	Crema	Mediana	Mucoide	+	Bacilos
ORP10	Circular	Entero	Convexa	Si	Crema	Mediana	Mucoide	+	Bacilos
ORP11	Circular	Entero	Elevada	No	Crema	Pequeña	Mucoide	+	Bacilos
ORP12	Circular	Entero	Convexa	No	Blanco	Pequeña	Mucoide	+	Bacilos
ORP13	Circular	Entero	Elevada	Si	Crema	Mediana	Mucoide	-	Bacilos
ORP14	Circular	Entero	Convexa	No	Crema	Mediana	Mucoide	+	Bacilos
ORP15	Circular	Entero	Convexa	No	Amarillo	Grande	Mucoide	-	Bacilos
ORP16	Circular	Entero	Convexa	No	Blanco	Pequeña	Mucoide	-	Bacilos
ORP17	Circular	Entero	Convexa	No	Crema	Pequeña	Mucoide	-	Bacilos
ORP18	Circular	Entero	Elevada	Si	Crema	Mediana	Mucoide	-	Bacilos
ORP19	Circular	Entero	Elevada	No	Amarillo	Mediana	Mucoide	+	Bacilos
ORP20	Circular	Entero	Elevada	No	Crema	Mediana	Mucoide	-	Bacilos
ORP21	Circular	Entero	Convexa	No	Crema	Mediana	Mucoide	+	Bacilos
ORP22	Circular	Entero	Convexa	No	Crema	Pequeña	Mucoide	-	Bacilos
ORP23	Circular	Entero	Convexa	No	Crema	Mediana	Mucoide	-	Bacilos
ORP24	Circular	Entero	Elevada	Si	Crema	Mediana	Mucoide	+	Bacilos
ORP25	Circular	Entero	Elevada	Si	Crema	Mediana	Lisa	+	Bacilos
ORP26	Circular	Entero	Convexa	No	Crema	Mediana	Mucoide	-	Bacilos

4.1.3. Caracterización fisiológica

La evaluación del crecimiento de las bacterias a dos temperaturas diferentes, permitieron mostrar que todas crecieron a 1 °C y a 25 °C, durante los 9 y 3 días de incubación, respectivamente (**Apéndice 5**), siendo respaldada con las mediciones del diámetro de las colonias bacterianas. A la temperatura de 25 °C, las bacterias manifestaron diámetros de crecimiento comprendidos entre 0,450 y 0,067 cm, donde los aislados ORP26, ORP4, ORP3, ORP22, ORP25, ORP23 mostraron mayor crecimiento con valores promedios de 0,450 cm, 0,317 cm, 0,283 cm, 0,233 cm, 0,242 cm y 0,225 cm, respectivamente. Mientras que, a 1 °C, los diámetros variaron de 0,3 a 0,001 cm, siendo ORP22, ORP25, ORP23, ORP26 y ORP14 las colonias bacterianas que presentaron mayor diámetro de crecimiento con valores promedio entre 0,300 cm, 0,200 cm, 0,175 cm, 0,167 cm y 0,133 cm, respectivamente como se puede observar a continuación en la **Tabla 2 – Gráfico 1**.

Código del aislamiento	Diámetro (cm) de colonias bacterianas a 2 temperaturas					
	25 °C			1°C		
	Medición	Medición	Medición	Medición	Medición	Medición
	1	2	3	1	2	3
ORP1	0.375	0.125	0.150	0.001	0.001	0.030
ORP2	0.100	0.300	0.250	0.001	0.001	0.001
ORP3	0.150	0.300	0.400	0.001	0.003	0.100
ORP4	0.100	0.400	0.450	0.001	0.002	0.030
ORP5	0.050	0.050	0.100	0.002	0.002	0.002
ORP6	0.100	0.190	0.150	0.050	0.080	0.100
ORP7	0.080	0.110	0.160	0.050	0.100	0.100
ORP8	0.050	0.150	0.150	0.001	0.002	0.020
ORP9	0.040	0.120	0.130	0.050	0.050	0.050
ORP10	0.090	0.220	0.300	0.050	0.080	0.090
ORP11	0.080	0.250	0.270	0.050	0.050	0.050
ORP12	0.100	0.250	0.270	0.050	0.100	0.100
ORP13	0.050	0.150	0.150	0.004	0.050	0.050
ORP14	0.100	0.180	0.200	0.100	0.150	0.150

ORP15	0.050	0.200	0.270	0.040	0.050	0.050
ORP16	0.100	0.200	0.200	0.005	0.050	0.050
ORP17	0.050	0.100	0.100	0.005	0.005	0.005
ORP18	0.050	0.125	0.200	0.050	0.050	0.100
ORP19	0.050	0.100	0.100	0.005	0.005	0.005
ORP20	0.050	0.100	0.200	0.050	0.050	0.050
ORP21	0.175	0.225	0.250	0.002	0.005	0.009
ORP22	0.200	0.225	0.275	0.325	0.325	0.250
ORP23	0.200	0.225	0.250	0.150	0.150	0.225
ORP24	0.100	0.125	0.125	0.050	0.050	0.050
ORP25	0.100	0.350	0.275	0.100	0.150	0.350
ORP26	0.200	0.550	0.600	0.100	0.200	0.200

Tabla 2. Diámetro de las colonias bacterianas creciendo a las temperaturas de 25 °C y 1 °C

El **Gráfico 1** compara los diámetros promedios de crecimiento de las colonias bacterianas a 25 °C (barras azules) y 1 °C (barras naranjas). A 25 °C, se observa que la mayoría de las bacterias presentan un crecimiento notoriamente mayor, mientras que a 1 °C es significativamente más reducido, con diámetros que en su mayoría no superan los 0,1 cm.

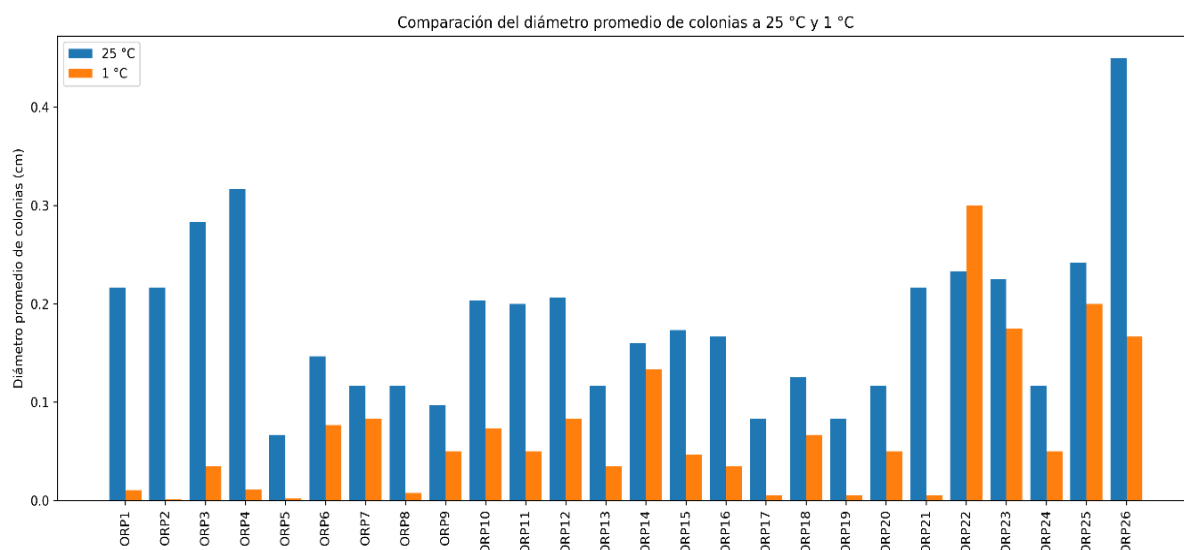


Gráfico 1. Comparación del diámetro promedio de colonias bacterianas a 25 °C y 1 °C.

4.1.4. Evaluación de la capacidad promotora de crecimiento vegetal

Producción de ácido indol-acético (IAA)

La evaluación de la capacidad de producción de IAA de las bacterias psicotolerantes mediante la prueba colorimétrica, evidenció que solo 16 aislados resultaron ser positivos para esta capacidad al mostrar viraje de color del medio de amarillo a tonalidades rojizas, después de adicionar el reactivo de Salkowski (**Apéndice 6**). La **Tabla 3** describe los resultados obtenidos respecto a la capacidad y nivel de producción de IAA a 25 °C, donde los aislamientos ORP3, ORP10, ORP13, ORP17, ORP22 y ORP23 mostraron un alto nivel de producción (+++) de IAA. Por otro lado, los aislamientos ORP2, ORP8, ORP11, ORP14, ORP18, ORP20, ORP21, ORP25 y ORP26 mostraron un nivel de producción medio (++) y solo el aislado ORP19 evidenció bajo nivel de producción (+). En el **Gráfico 2** se resume la distribución de los niveles de producción de ácido indol-acético (IAA) entre los aislamientos bacterianos.

Código del aislamiento	Producción de IAA a temperatura de 25 °C	
	Producción	Nivel de Producción
ORP1	No	-
ORP2	Si	++
ORP3	Si	+++
ORP4	No	-
ORP5	No	-
ORP6	No	-
ORP7	No	-
ORP8	Si	++
ORP9	No	-
ORP10	Si	+++
ORP11	Si	++
ORP12	No	-
ORP13	Si	+++
ORP14	Si	++

ORP15	No	-
ORP16	No	-
ORP17	Si	+++
ORP18	Si	++
ORP19	Si	+
ORP20	Si	++
ORP21	Si	++
ORP22	Si	+++
ORP23	Si	+++
ORP24	No	-
ORP25	Si	++
ORP26	Si	++

Tabla 3. Producción de ácido indol-acético de los aislamientos psicotolerantes a 25 °C.

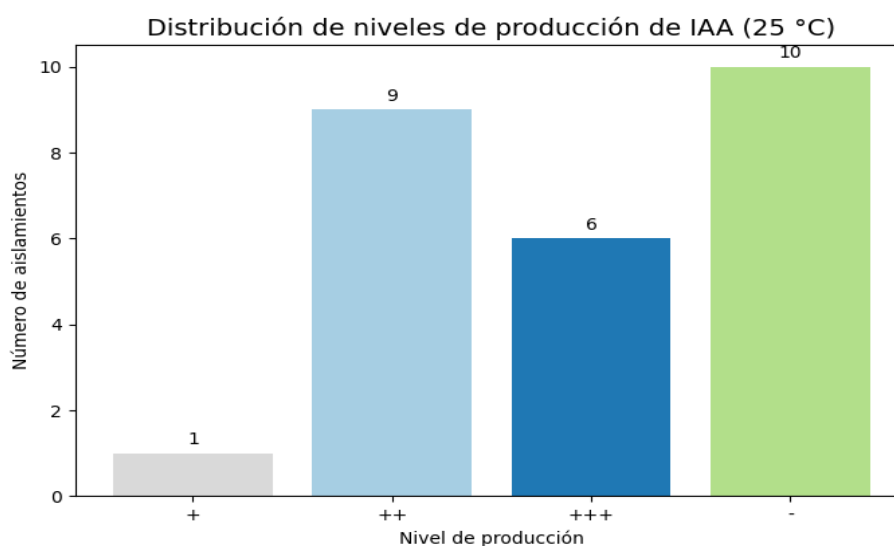


Gráfico 2. Distribución de los niveles de producción de ácido indol-acético de los aislados bacterianos a 25 °C.

Solubilización de fosfatos

De los 26 aislamientos bacterianos, solo 8 evidenciaron la capacidad de solubilizar fosfato mediante la formación de un halo alrededor de la colonia bacteriana, después de ser sembradas en medio NBRIP e incubadas a 1 °C y a 25 °C (**Apéndice 7**). La **Tabla 4**

describe los índices de solubilización de cada bacteria, donde ORP5, ORP6, ORP22 y ORP23 formaron el halo representativo tanto a 1 °C como a 25 °C, con índices de solubilización (IS) promedio de 1,15 cm, 1,20 cm, 1,20 cm y 1,20 cm, respectivamente a 1 °C, mientras que a 25 °C fueron de 1,40 cm, 1,40 cm, 2,43 cm y 2,11cm. Por otro lado, los aislados ORP7, ORP13, ORP15 y ORP16, solo evidenciaron formación de halo a 1 °C, con índices de solubilización promedio de 1,10 cm, 1,20 cm, 1,20 cm y 1,50 cm, respectivamente.

Código del aislamiento	Índice de solubilización (cm) a 2 temperaturas					
	1 °C			25 °C		
	Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3
ORP1	0	0	0	0	0	0
ORP2	0	0	0	0	0	0
ORP3	0	0	0	0	0	0
ORP4	0	0	0	0	0	0
ORP5	1,15	1,14	1,15	1,40	1,40	1,40
ORP6	1,20	1,20	1,15	1,40	1,40	1,40
ORP7	1,10	1,10	1,10	0	0	0
ORP8	0	0	0	0	0	0
ORP9	0	0	0	0	0	0
ORP10	0	0	0	0	0	0
ORP11	0	0	0	0	0	0
ORP12	0	0	0	0	0	0
ORP13	1,20	1,20	1,19	0	0	0
ORP14	0	0	0	0	0	0
ORP15	1,20	1,20	1,19	0	0	0
ORP16	1,50	1,49	1,50	0	0	0
ORP17	0	0	0	0	0	0
ORP18	0	0	0	0	0	0
ORP19	0	0	0	0	0	0
ORP20	0	0	0	0	0	0
ORP21	0	0	0	0	0	0
ORP22	1,20	1,20	1,20	2,43	2,42	2,43
ORP23	1,20	1,20	1,19	2,11	2,11	2,10
ORP24	0	0	0	0	0	0
ORP25	0	0	0	0	0	0
ORP26	0	0	0	0	0	0

Tabla 4. Índice de solubilización de fosfatos de los aislamientos psicrotolerantes.

En el **gráfico 3**, se muestra una comparación del índice promedio de solubilización de fosfatos de cada aislamiento a 1 °C y 25 °C. A 1 °C, se registró actividad, con valores entre 1,10 y 1,50 cm, destacando los aislamientos ORP5, ORP6, ORP7, ORP13, ORP15, ORP16, ORP22 y ORP23. En contraste, a 25 °C el número de aislados bacterianos solubilizadores fue menor, pero los índices alcanzaron valores superiores, sobresaliendo ORP22 (2,43 cm) y ORP23 (2,11 cm).

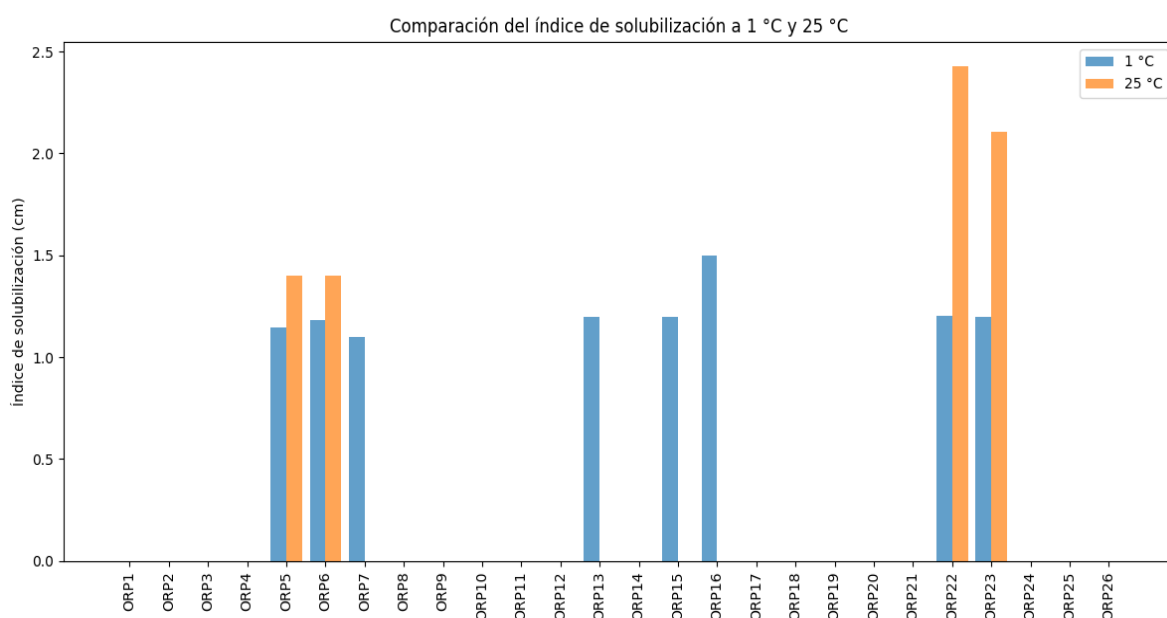


Gráfico 3. Comparación del índice promedio de solubilización de fosfatos de los aislados bacterianos a 1 °C y 25 °C.

4.1.5. Identificación molecular

Las bacterias enviadas a secuenciar a través de la identificación del gen 16S rRNA, en Macrogen (Chile) por servicios externos con la empresa MASED (Perú) fueron los aislados con código ORP26, ORP15 (se enviaron por duplicado), ORP22, ORP23,

ORP20, ORP13, ORP16, ORP5, ORP6 y ORP7 debido a que, evidenciaron la capacidad de ser psicrotolerantes al crecer a 1 °C y a 25 °C; además, de producir IAA o solubilizar fosfato como capacidades de promoción de crecimiento vegetal.

La identificación a nivel de especie se realizó a través del análisis de las secuencias de ADN obtenidas y se compararon con la base de datos de referencia del National Center for Biotechnology Information (NCBI), empleando BLASTn (Basic Local Alignment Search Tool). Considerándose las coincidencias con una identidad $\geq 99\%$ y valores de E-value estadísticamente significativos.

El análisis mediante BLASTn, comparó las secuencias de cada aislamiento con las secuencias presentes en la base de datos del NCBI. Los resultados evidenciaron que los aislados ORP13 y ORP20 mostraron una similitud del 99,72 % con *Pseudomonas baetica* (NR_116899.1). Las bacterias ORP22 y ORP23 una similitud del 99,66 % y 99,59 %, respectivamente con *Pseudomonas lini* (NR_029042.2). Así mismo, los aislados ORP15 y ORP26, mostraron similitud del 99,25 % y 99,72 % con *Sphingobacterium kitahiroshimense* (NR041636.1) y *Pseudomonas mandelii* (LT629796.1), respectivamente. Por otro lado, ORP6, ORP7, ORP16 mostraron similitud del 99,71 %, 99,85 % y 99,42 %, respectivamente con *Lelliottia amnigena* (MZ713064.1), mientras que ORP5 mostró una similitud del 99,56% con *Paenarthrobacter nitroguajacolicus* (OQ918310.1), como se describe en la **Tabla 5**.

Identificación molecular mediante gen 16S ARNr					
Código del aislamiento	Especie relacionada	Longitud (pb)	E-value	% Identidad	N° de accesoión
ORP5	<i>Paenarthrobacter nitroguajacolicus</i>	1479	0.0	99,56	OQ918310.1
ORP6	<i>Lelliottia amnigena</i>	1410	0.0	99,71	MZ713064.1
ORP7	<i>Lelliottia amnigena</i>	1410	0.0	99,85	MZ713064.1
ORP13	<i>Pseudomonas baetica</i>	1496	0.0	99,72	NR_116899.1
ORP15	<i>Sphingobacterium kitahiroshimense</i>	1490	0.0	99,25	NR_041636.1
ORP16	<i>Lelliottia amnigena</i>	1410	0.0	99,42	MZ713064.1
ORP20	<i>Pseudomonas baetica</i>	1496	0.0	99,72	NR_116899.1
ORP22	<i>Pseudomonas lini</i>	1517	0.0	99,66	NR_029042.2
ORP23	<i>Pseudomonas lini</i>	1517	0.0	99,59	NR_029042.2
ORP26	<i>Pseudomonas mandelii</i>	7041758	0.0	99,72	LT629796.1

Tabla 5. Identificación de bacterias psicrotolerantes nativas de rizósfera de papa con capacidad promotora de crecimiento vegetal a partir de análisis por BLASTn del gen 16S ARNr.

4.2. DISCUSIÓN

La agricultura, al ser estrechamente dependiente de las condiciones ambientales, se ve particularmente amenazada por los factores climáticos adversos (Castillo, 2021). En regiones andinas, el descenso de las temperaturas representa un problema recurrente, pues limita el rendimiento de los cultivos y compromete la productividad agrícola (García, 2022). Ante este panorama, los microorganismos benéficos asociados a plantas, como las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR), han emergido como una alternativa biotecnológica relevante. En particular, las cepas psicotolerantes destacan por su capacidad para inducir respuestas fisiológicas y bioquímicas que mejoran la tolerancia de las plantas al estrés abiótico (Vasseur-Coronado *et al.*, 2021). Esto también subraya la necesidad de conservar y manejar adecuadamente la dinámica microbiana del suelo para la sostenibilidad de los sistemas agrícolas (Posada *et al.*, 2021; Hasan *et al.*, 2024).

El aislamiento de bacterias a partir de suelo rizosférico constituyó uno de los primeros pasos de este estudio, debido a la alta diversidad de bacterias asociadas a las plantas (Ortiz-Galeana *et al.*, 2018). Las rizobacterias, ofrecen una colonización más extensiva del sistema radicular y promueven el crecimiento vegetal mediante mecanismos como la fijación de nitrógeno, solubilización de fosfatos, producción de fitohormonas como ácido indol acético (IAA) y gibelerinas (GA) o la inducción de resistencia sistémica (ISR) (Ehinmitan *et al.*, 2024). Estos procesos resultan determinantes en la movilización y disponibilidad de nutrientes en el suelo, favoreciendo su absorción y el desarrollo de

las plantas (Fasusi, Babalola and Adejumo, 2023), lo que respalda la importancia de los aislamientos obtenidos.

Además, la aplicación de un choque de frío favoreció la selección de bacterias psicrotolerantes, capaces de mantener su metabolismo y protegerse frente al congelamiento mediante modificaciones estructurales y síntesis de proteínas anticongelantes (Baraúna *et al.*, 2017). Este comportamiento concuerda con lo reportado en investigaciones previas, donde se establece que la composición y la actividad microbiana son sensibles a cambios de temperatura y humedad; sin embargo, estas mismas condiciones permiten el desarrollo de microorganismos tolerantes al frío (Kang *et al.*, 2022). La tolerancia térmica varía considerablemente entre especies bacterianas. Kaira, Dhakar and Pandey, (2015) demostraron en su estudio que ciertas bacterias pueden crecer en un rango amplio, desde 4 °C hasta 45 °C, con un óptimo cercano a 25 °C. De manera similar, Mykytczuk *et al.*, (2013) reportaron que otras bacterias pueden dividirse incluso a -15 °C y mantener actividad metabólica a -25 °C gracias a modificaciones en la membrana y a la producción de proteínas asociadas al estrés por frío.

En este estudio, todas las bacterias aisladas lograron crecer tanto a 1 °C como a 25 °C, evidenciando su capacidad psicrotolerante. No obstante, se observaron diferencias en los diámetros de las colonias a 1 °C oscilaron entre 0,001 y 0,3 cm, mientras que a 25 °C alcanzaron valores mayores, entre 0,067 y 0,450 cm, lo que confirma que, aunque estas bacterias pueden adaptarse al frío, su metabolismo es más activo en condiciones mesófilas, resultados que se contrastan con lo realizado por Florián, (2019), quien

determinó en bacterias aisladas de la rizósfera de quinua diámetros de crecimiento entre 0,594 y 1,734 cm a 6 °C, 0,641 y 2,317 cm a 15 °C, y de 0,513 a 2 cm a 28 °C, confirmando su carácter psicrotolerante. Resultados similares fueron descritos por Vega *et al.*, (2021) al aislar bacterias psicrótrofas de rizósferas de cultivos silvestres con crecimiento a 4 °C, y por Araya *et al.*, (2020), quienes identificaron 77 cepas psicrotolerantes procedentes de la rizósfera de plantas antárticas capaces de crecer también a 4 °C.

En cuanto a la producción de ácido indol acético (IAA), se determinó mediante un ensayo colorimétrico con el reactivo de Salkowski, tras el cultivo de los aislamientos en medio caldo levadura manitol (CLM) suplementado con L-triptófano. Los resultados de esta prueba demostraron que 16 aislamientos resultaron positivos cuando crecieron a 25 °C indicando su potencial capacidad promotora de crecimiento vegetal. Estos datos coinciden con lo reportado por Ratnaningsih *et al.*, (2023), donde se demuestra la formación de indol por la coloración rosada del medio tras la adición del reactivo de Salkowski en bacterias rizosféricas, siendo la cepa NCTB5I la de mayor producción. De manera similar, Parvin *et al.* (2020), reportaron la producción de IAA a 28 °C en bacterias aisladas de la rizósfera de palma aceitera, mientras que Santos y Rigobelo (2021) identificaron tres cepas de *Enterobacter* sp. (IP11, IP14, IP24) con elevada capacidad de sintetizar IAA aisladas de suelos rizosféricos de caña de azúcar.

La producción de fitohormonas como el ácido indol-acético, constituye uno de los principales mecanismos en plantas para la formación de raíces laterales, elongación de pelos radiculares y de raíces adventicias (Ratnaningsih *et al.*, 2023). En bacterias, puede

ser sintetizada por diferentes vías de producción siendo la vía del indol-3-acetamida (IAM) la más estudiada, teniendo como precursor al L-triptófano, donde las enzimas triptófano-2-monooxigenasa y la IAM-hidrolasa catalizan su conversión a IAA (Zhang *et al.*, 2019).

La capacidad de solubilización de fosfatos también es un mecanismo clave para determinar la promoción de crecimiento vegetal en las bacterias de la rizósfera, debido a que les permite transformar compuestos insolubles de fosfatos en formas más disponibles para la absorción que realizan las plantas durante su desarrollo (De Zutter *et al.*, 2022; Pang *et al.*, 2024). En este estudio, la evaluación de esta capacidad, mediante la formación de un halo alrededor de la colonia bacteriana en medio NBRIP, reveló que los aislados presentaron mayores índices de solubilización a 25 °C (1,40 – 2,43). No obstante, el aislado ORP16 destacó al mantener dicha capacidad a bajas temperaturas, alcanzando un índice de 1,50 cm a 1 °C. Este hallazgo sugiere que ciertos aislados pueden conservar su potencial solubilizador incluso en condiciones de frío. Resultados similares fueron reportados por Abdullah *et al.*, (2023), quienes observaron la solubilización de fosfatos en bacterias psicrófilas cultivadas a 4 °C (IS: 1,11–1,91) y a 28 °C (IS: 1,06–2,6). De manera concordante, Bakki *et al.*, (2024) informaron que 16 aislados fueron capaces de solubilizar fosfatos después de 24–72 h de incubación a 28 °C.

Asimismo, el uso del medio NBRIP en esta evaluación permitió evidenciar con claridad la capacidad solubilizadora de los aislados, con halos claros y definidos en la placa, datos que se respaldan con resultados semejantes reportados por Li *et al.*, (2025) quienes observaron que este medio facilitó una detección clara de los halos de solubilización por parte de bacterias rizosféricas aisladas. La principal ventaja de NBRIP frente a otros medios es su mayor sensibilidad y precisión, ya que carece de fuentes de carbono complejas que pueden interferir en la solubilización real de fosfatos, permitiendo cuantificar hasta tres veces más fósforo soluble (Nautiyal, 1999).

La identificación molecular mediante el gen 16S ARNr permitió establecer que los aislamientos bacterianos presentaron un alto grado de similitud con especies como *Pseudomonas mandelii*, *P. lini* y *P. baetica*, así como con *Lelliottia amnigena*, *Sphingobacterium kitahiroshimense* y *Paenarthrobacter nitroguajacolicus*. Entre ellas, el género *Pseudomonas* ha sido ampliamente reportado como uno de los principales PGPR, debido a su capacidad para sintetizar IAA, fijar nitrógeno, solubilizar fosfatos (Parvin *et al.*, 2020; Pérez-García *et al.*, 2023) y actuar como agente de biocontrol frente a fitopatógenos (Wang *et al.*, 2024), contribuyendo de manera significativa al crecimiento y rendimiento de las plantas. Su corto tiempo de regeneración y rápida multiplicación favorecen su amplia distribución en la rizósfera, así como su supervivencia en condiciones ambientales desfavorables (Motta, Salazar and Sánchez, 2022). Además, se ha descrito que algunas especies de este género presentan tolerancia al frío, atribuida a mecanismos fisiológicos y moleculares como la expresión diferencial de proteínas de membrana, modificación en la fluidez del dominio hidrofóbico de los

LPS, la hidroxilación de los mismos a 4 °C y la presencia de una ARN polimerasa capaz de mantener la transcripción a 0 °C (Pavankumar, Mittal and Hallsworth, 2021).

De manera complementaria, diversos estudios refuerzan el papel de *Pseudomonas* como un género prometedor en la promoción del crecimiento vegetal a bajas temperaturas, como la investigación de Knežević *et al.*, (2021), donde reportan su capacidad para producir IAA, sideróforos, solubilización de fosfato y presentar notable actividad antifúngica. Algo similar describe Negi *et al.* (2011), demostrando la capacidad de tres especies de *Pseudomonas* sp., de crecer a 8°C después de 12 h de incubación, permitiendo confirmar su tolerancia al frío, además de solubilizar fosfatos. Asimismo, Chumpitaz-Segovia *et al.*, (2020) caracterizaron *Pseudomonas* que crecieron a 4, 6 y 15 °C, con dos cepas ILQ215 (*P. silesiensis*) y JUQ307 (*P. plecoglossicida*) que mostraron efectos significativamente positivos en el crecimiento vegetal al producir IAA, solubilizar fosfato, crecimiento en un medio libre de nitrógeno y producción de ACC deaminasa a 6 y 15 °C. Estos antecedentes coinciden con los resultados de este estudio donde los aislados ORP13, ORP20 (*Pseudomonas baetica*), ORP22, ORP23 (*Pseudomonas lini*) y ORP26 (*Pseudomonas mandelii*), mostraron capacidad psicrotolerante al crecer tanto a 1 °C como a 25 °C, además de solubilizar fosfatos a 1 °C y producir ácido indol-acético a 25 °C, confirmando su potencial como promotora de crecimiento vegetal.

Por otro lado, *Sphingobacterium*, ha sido reportado como un grupo de bacterias Gram negativas, que incluye especies con capacidades de promoción del crecimiento vegetal (PGP), tales como la producción de IAA, la solubilización de fosfatos y la fijación de nitrógeno (Vaishnav *et al.*, 2020). Diversos estudios indican que presentan un rango de crecimiento que puede abarcar de 4 °C a 37 °C, sin tolerar temperaturas de 42 °C o superiores, dependiendo de la cepa (Matsuyama *et al.*, 2008). Por ejemplo, Sharma y Chatterjee (2018), reportaron que la cepa *S. kitahiroshimense* LT-2, es psicrotolerante, ya que crece a temperaturas tan bajas como 4 °C. Asimismo, Ahmed *et al.*, (2014), describen que la cepa NCCP-246^T crece entre 16 °C y 37 °C (óptimo a 32 °C), mostrando gran similitud con *S. canadense*, además de evidenciar la producción de IAA y la capacidad de solubilizar fosfatos. Los resultados de este estudio coinciden con dichas evidencias, ya que el aislado identificado como *Sphingobacterium kitahiroshimense* exhibió crecimiento tanto a 1 °C como a 25 °C, con mayor desarrollo a la temperatura más alta. Sin embargo, mostró capacidad de solubilizar fosfato únicamente a 1 °C, lo que sugiere una regulación diferencial de este rasgo en función de la temperatura.

Así también, la capacidad de *P. nitroguajacolicus* para solubilizar fosfatos a 1 °C, observada en esta investigación, concuerda con reportes previos que destacan su potencial como bacteria promotora del crecimiento vegetal. Tal es el caso, del estudio realizado por Salimi *et al.* (2023), donde identificaron una cepa aislada de la rizósfera de pistacho con alta eficiencia en la solubilización de fosfato, así como tolerancia a estrés salino, lo que se tradujo en mejoras fisiológicas en las plántulas. Por su parte, *Lelliottia*

amnigena también ha sido reportada como una bacteria solubilizadora de fosfatos. Bódalo *et al.*, (2023) demostraron que la cepa J29 de *L. amnigena* aislada de rizomas de jengibre, fue capaz de solubilizar fosfato, además de producir ácido indol-acético (IAA), formar biofilm y presentar actividad antifúngica, lo que se tradujo en mejoras en el crecimiento y vigor de plantas bajo condiciones controladas. Estos datos se contrastan con los obtenidos en esta investigación, donde se reporta la capacidad de solubilizar fosfatos de esta especie bacteriana a 1 °C. y a 25 °C. Asimismo, otros trabajos han señalado que ciertas cepas de *L. amnigena* integradas en consorcios de bacterias solubilizadoras de fosfato contribuyen significativamente a la movilización de fosfatos en ensayos en placas como en suelo, lo que refuerza su aplicación en sistemas agrícolas reales (Li *et al.*, 2024).

En conjunto, los resultados de esta investigación contrastaron la hipótesis demostrando que las bacterias aisladas de la rizósfera de *Solanum tuberosum* – papa, poseen capacidad psicrotolerante al crecer a bajas temperaturas y que, además, presentan potencial para promover el crecimiento vegetal, combinando mecanismos como la producción de ácido indol-acético (IAA) y la solubilización de fosfatos. Estos hallazgos amplían el conocimiento sobre la diversidad funcional de microorganismos nativos de zonas frías. El presente trabajo, no solo aporta datos relevantes sobre bacterias PGPR psicrotolerantes, sino que también sirve como una base para futuras investigaciones orientadas al mejoramiento vegetal y la optimización de prácticas agrícolas en regiones de bajas temperaturas.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- Se logró aislar 26 bacterias psicotolerantes nativas de la rizósfera de papa de un campo de cultivo en el distrito La Encañada, Cajamarca. Los aislados mostraron crecimiento tanto a 1 °C como a 25 °C.
- Se determinó que 16 bacterias produjeron ácido indol-acético (IAA) a 25 °C al virar el color del medio de amarillo a tonos rojizos. Asimismo, los aislados ORP5, ORP6, ORP22 y ORP23 mostraron la capacidad de solubilizar fosfato mediante la formación del halo de solubilización tanto a 1 °C como a 25 °C, mientras que los aislados ORP7, ORP13, ORP15 y ORP16, solo formaron el halo solubilización a 1 °C. Estos datos indicaron la capacidad promotora de crecimiento vegetal de los aislamientos.
- La identificación molecular mediante la secuenciación del gen 16S ARNr determinó gran porcentaje de similitud de los aislados bacterianos con las especies *Pseudomonas lini*, *P. mandelii* y *P. baetica*, así como con las especies *Sphingobacterium kitahiroshimense*, *Paenarthrobacter nitroguajacolicus* y *Lelliottia amnigena*.

5.2. RECOMENDACIONES

- Desarrollar estudios a nivel genómico de las bacterias psicrotolerantes aisladas, con el propósito de identificar los genes específicos asociados con la capacidad de promover el crecimiento vegetal y los mecanismos que poseen de tolerancia a bajas temperaturas.
- Es necesario desarrollar ensayos en condiciones de invernadero y de campo, que permitan validar la eficacia de estas bacterias como inoculantes microbianos y, a su vez, comprender mejor sus interacciones ecológicas con el suelo, la rizósfera y las plantas hospederas.
- Realizar evaluaciones de co-inoculación y conformación de consorcios microbianos con bacterias psicrotolerantes, a fin de determinar posibles efectos sinérgicos que potencien su capacidad de promover el crecimiento vegetal y su resiliencia en ambientes fríos.
- Explorar la aplicación biotecnológica de estos aislados para el diseño de biofertilizantes microbianos adaptados a regiones de bajas temperaturas, lo que podría contribuir a mejorar la productividad agrícola de cultivos sensibles al frío.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdullah, M. *et al.* (2023) 'Potential of psychrotolerant rhizobacteria for the growth promotion of wheat (*Triticum aestivum* L.)', *PeerJ*, 11, p. e16399. doi: 10.7717/peerj.16399.
- Abellan-Schneyder, I. *et al.* (2021) 'Primer, pipelines, parameters: Issues in 16S rRNA gene sequencing', *mSphere*, 6(1). doi: 10.1128/msphere.01202-20.
- Ahmed, I. *et al.* (2014) '*Sphingobacterium pakistanensis* sp. nov, a novel plant growth promoting rhizobacteria isolated from rhizosphere of *Vigna mungo*', *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 105(2), pp. 325–333. doi: 10.1007/s10482-013-0077-0.
- Alcántara, H. *et al.* (2022) 'Plan de operaciones de emergencia de la Provincia de Cajamarca 2022-2023'.
- Alcarraz, M., Heredia, V. and Julian, J. P. (2019) 'Cepas bacterianas nativas con actividades promotoras del crecimiento vegetal aisladas de la rizosfera de *Coffea* spp. en Pichanaqui, Perú', *Biotecnología Vegetal*, 19(4), pp. 285–295. Available at: <http://scielo.sld.cu/pdf/bvg/v19n4/2074-8647-bvg-19-04-285.pdf>.
- Alves, L. *et al.* (2023) 'Plant growth-promoting rhizobacteria for sustainable agricultural production', *Microorganisms*, 11(4). doi: 10.3390/microorganisms11041088.
- Angulo, C. (2021) 'Importancia clínica de los métodos fenotípicos utilizados en la identificación bacteriana'. doi: 10.1016/0003-2697(76)90514-5.
- Araya, M. A. *et al.* (2020) 'Isolation and characterization of cold-tolerant hyper-ACC-degrading bacteria from the rhizosphere, endosphere, and phyllosphere of antarctic vascular plants', *Microorganisms*, 8(11), pp. 1–15. doi: 10.3390/microorganisms8111788.
- Arcos, J. *et al.* (2020) 'Manual técnico: Manejo integrado del cultivo de papa', p. 4 p., Il. Available at: <http://hdl.handle.net/20.500.12324/20505>.
- Bakermans, C. *et al.* (2014) 'Genomic and Expression Analyses of Cold-Adapted

- Microorganisms’, *Polar Microbiology*. doi: 10.1128/9781555817183.ch6.
- Bakki, M. *et al.* (2024) ‘Phosphate solubilizing *Pseudomonas* and *Bacillus* combined with rock phosphates promoting tomato growth and reducing bacterial canker disease’, *Frontiers in Microbiology*, 15(May). doi: 10.3389/fmicb.2024.1289466.
- Bandita Pati and Sanhita Padhi (2021) ‘Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria in saline soil from Costal Region of Odisha’, *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 16(3), pp. 109–119. doi: 10.30574/gscbps.2021.16.3.0273.
- Baraúna, R. A. *et al.* (2017) ‘A proteomic perspective on the bacterial adaptation to cold: Integrating omics data of the psychrotrophic bacterium *Exiguobacterium antarcticum* B7’, *Proteomes*, 5(1). doi: 10.3390/proteomes5010009.
- Bargaz, A., Elhaisoufi, W., Khourchi, S., Benmrid, B., Borden, K. A., & Rchiad, Z. (2021). Benefits of phosphate solubilizing bacteria on belowground crop performance for improved crop acquisition of phosphorus. *Microbiological Research*, 252(July), 126842. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126842>
- Basak, P., Biswas, A. and Bhattacharyya, M. (2020) ‘Exploration of extremophiles genomes through gene study for hidden biotechnological and future potential, Physiological and Biotechnological Aspects of Extremophiles’. *INC*. doi: 10.1016/B978-0-12-818322-9.00024-1.
- Basu, A. *et al.* (2021) ‘Plant growth promoting rhizobacteria (Pgpr) as green bioinoculants: Recent developments, constraints, and prospects’, *Sustainability (Switzerland)*, 13(3), pp. 1–20. doi: 10.3390/su13031140.
- Becerra, J. *et al.* (2012) ‘Caracterización de microorganismos solubilizadores de fosfato aislados de suelos destinados al cultivo de uchuva (*Physalis peruviana* L.)’, *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 5(2), pp. 186–194. doi: 10.17584/rcch.2011v5i2.1265.
- Białkowska, A., Majewska, E., Olczak, A., & Twarda-Clapa, A. (2020). Ice binding proteins: diverse biological roles and applications in different types of industry. *Biomolecules*, 10(2), 274. <https://doi.org/10.3390/biom10020274>.
- Bódalo, A. *et al.* (2023) ‘In vitro studies of endophytic bacteria isolated from ginger (*Zingiber*

- officinale*) as potential plant-growth-promoting and biocontrol agents against *Botrytis cinerea* and *Colletotrichum acutatum*', *Plants*, 12(23). doi: 10.3390/plants12234032.
- Bunsangiam, S. *et al.* (2019) 'Biosynthetic pathway of indole-3-acetic acid in Basidiomycetous yeast *Rhodospiridiobolus fluvialis*', *Mycobiology*, 47(3), pp. 292–300. doi: 10.1080/12298093.2019.1638672.
- Cabrera, H. and Escobal, F. (2013) 'Buenas prácticas agrícolas en el cultivo de papa', p. 16.
- Castillo, M. (2021) 'La Agricultura Peruana', *Friedrich-Ebert-Stiftung*, pp. 1–10. Available at: <https://library.fes.de/pdf-files/bueros/peru/18971.pdf>.
- Ccama U., F., Ramírez S., W. and Mucho, R. (2019) 'Importancia de la minería y la agricultura en la economía peruana', *Cátedra Villarreal*, 7(1), pp. 27–39. doi: 10.24039/cv201971329.
- CENEPRED (2021) 'Escenarios de Riesgo por Heladas y Frijoles', *Cenepred*, p. 49. Available at: https://sigrid.cenepred.gob.pe/sigridv3/storage/biblioteca//11045_escenarios-de-riesgo-por-heladas-y-frijoles-2021.pdf.
- Centro de Operaciones de Emergencia Nacional - COEN. (2018). Boletín informativo de emergencias.
- Chumpitaz-Segovia, C., Alvarado, D., Ogata-Gutiérrez, K. and Zúñiga-Dávila, D. (2020) 'Bioprospección de rizobacterias nativas psicotolerantes promotoras del crecimiento vegetal de suelos del altiplano andino peruano asociados con *Chenopodium quinoa*'. *Revista Canadiense de Microbiología*. 66 (11): 641-652. <https://doi.org/10.1139/cjm-2020-0036>.
- Collins, T. and Margesin, R. (2019) 'Psychrophilic lifestyles: mechanisms of adaptation and biotechnological tools', *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(7), pp. 2857–2871. doi: 10.1007/s00253-019-09659-5.
- Corrales, L. and Caycedo, L. (2020) 'Principios fisicoquímicos de los colorantes utilizados en microbiología Principios fisicoquímicos de los colorantes', *Nova*, 18(33). doi: 10.22490/24629448.3701.

- Dasauni, K. and Nailwal, T. K. (2020) 'Biodiversity of microbial life: Indian Himalayan region, recent advancements in microbial diversity'. Elsevier Inc. doi: 10.1016/B978-0-12-821265-3.00001-3.
- De Maayer, P., Anderson, D., & Cowan, D. (2014). Some like it cold: Understanding the survival strategies of psychrophilic microorganisms. *EMBO Reports*, 15(5), 508–517. <https://doi.org/10.1002/embr.201338170>
- De Zutter, N. *et al.* (2022) 'Uncovering new insights and misconceptions on the effectiveness of phosphate solubilizing rhizobacteria in plants: A Meta-Analysis', *Frontiers in Plant Science*, 13(March), pp. 1–14. doi: 10.3389/fpls.2022.858804.
- Ehinmitan, E. *et al.* (2024) 'Biosolutions for green agriculture: Unveiling the diverse roles of plant growth-promoting rhizobacteria', *International Journal of Microbiology*, 2024. doi: 10.1155/2024/6181491.
- Etesami, H. and Glick, B. R. (2024) 'Bacterial indole-3-acetic acid: A key regulator for plant growth, plant-microbe interactions, and agricultural adaptive resilience', *Microbiological Research*, 281(November 2023), p. 127602. doi: 10.1016/j.micres.2024.127602.
- Faist, H. *et al.* (2023) 'Potato root-associated microbiomes adapt to combined water and nutrient limitation and have a plant genotype-specific role for plant stress mitigation', *Environmental Microbiome*, 18(1), pp. 1–19. doi: 10.1186/s40793-023-00469-x.
- Fasusi, O. A., Babalola, O. and Adejumo, T. O. (2023) 'Harnessing of plant growth-promoting rhizobacteria and arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystem sustainability', *CABI Agriculture and Bioscience*, 4(1), pp. 1–15. doi: 10.1186/s43170-023-00168-0.
- Feng, Y. *et al.* (2024). Exploring IAA biosynthesis and plant growth promotion mechanism for tomato root endophytes with incomplete IAA synthesis pathways. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 11(1). <https://doi.org/10.1186/s40538-024-00712-8>
- Fida, M. *et al.* (2021) 'Diagnostic value of 16S Ribosomal RNA gene Polymerase Chain Reaction/Sanger sequencing in clinical Practice', *Clinical Infectious Diseases*, 73(6), pp. 961–968. doi: 10.1093/cid/ciab167.

- Florián, A. (2019) ‘Estudio del efecto de la inoculación de PGPR psicotolerantes en plantas quinua bajo condiciones de estrés por frío’. Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Furhan, J. (2020) ‘Adaptation, production, and biotechnological potential of cold-adapted proteases from psychrophiles and psychrotrophs: recent overview’, *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 18(1). doi: 10.1186/s43141-020-00053-7.
- García, P. (2022) ‘El cambio climático: posibles impactos en la agricultura en el contexto de América Latina y Venezuela’, *Agroalimentaria*, 28, pp. 167–189.
- Giang, N. Van *et al.* (2024) ‘Isolation and characterization of indole acetic acid-producing bacteria isolated from rhizospheric soil of paddy rice’, *E3S Web of Conferences*, 494. doi: 10.1051/e3sconf/202449404030.
- Gordon, S. A. and Weber, R. P. (1951) ‘Colorimetric estimation of indole-3-acetic acid’, *Analytical Biochemistry*, 26(1), pp. 192–195. doi: 10.1016/0003-2697(76)90514-5.
- Gu, S. *et al.* (2022) ‘Soil microbial community assembly and stability are associated with potato (*Solanum tuberosum* L.) fitness under continuous cropping regime’, *Frontiers in Plant Science*, 13(October), pp. 1–15. doi: 10.3389/fpls.2022.1000045.
- Gupta, R. *et al.* (2022) ‘Identification, characterization and optimization of phosphate solubilizing rhizobacteria (PSRB) from rice rhizosphere’, *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(1), pp. 35–42. doi: 10.1016/j.sjbs.2021.09.075.
- Gupta, S. K. *et al.* (2020) ‘Cold adaptation in bacteria with special focus on cellulase production and its potential application’, *Journal of Cleaner Production*, 258, p. 120351. doi: 10.1016/j.jclepro.2020.120351.
- Hasan, A. *et al.* (2024) ‘Role of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) as a plant growth enhancer for sustainable agriculture: A review’, *Bacteria*, 3(2), pp. 59–75. doi: 10.3390/bacteria3020005.
- Hassan, N. *et al.* (2020) ‘Temperature driven membrane lipid adaptation in glacial psychrophilic bacteria’, *Frontiers in Microbiology*, 11(May), pp. 1–10. doi: 10.3389/fmicb.2020.00824.

- Hijmans, R. (1999) 'Atlas digital de los recursos naturales de Cajamarca', (2), p. 49.
- Hong, B. Y., Driscoll, M., Gratalo, D., Jarvie, T., & Weinstock, G. M. (2024). Improved DNA extraction and amplification strategy for 16S rRNA gene amplicon-based microbiome studies. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(5).
- Huamán, F. and Veneros, W. (2018) 'Efectos De Las Heladas En La Region De Cajamarca'. Available at: <https://core.ac.uk/download/pdf/250077319.pdf>.
- Huallasquiche, L., Moreno, P. and Jiménez, J. (2020) 'Characterization and evaluation of pgpr potential of the microflora associated with tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet)', *Ecología Aplicada*, 19(2), pp. 65–76. Available at: https://www.redalyc.org/journal/341/34165034003/html/#redalyc_34165034003_ref7.
- Jahed, K. R., Saini, A. K., & Sherif, S. M. (2023). Coping with the cold: unveiling cryoprotectants, molecular signaling pathways, and strategies for cold stress resilience. *Frontiers in Plant Science*, 14(August), 1–18. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1246093>
- Jin, S., Wang, Y., & Zhao, X. (2022). Cold-adaptive mechanism of psychrophilic bacteria in food and its application. *Microbial Pathogenesis*, 169, 105652. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2022.105652>
- Kaira, G. S., Dhakar, K. and Pandey, A. (2015) 'A psychrotolerant strain of *Serratia marcescens* (MTCC 4822) produces laccase at wide temperature and pH range', *AMB Express*, 5(1), pp. 1–8. doi: 10.1186/s13568-014-0092-1.
- Kang, M. *et al.* (2022) 'Arctic psychrotolerant *Pseudomonas* sp. B14-6 exhibits temperature-dependent susceptibility to aminoglycosides', *Antibiotics*, 11(8). doi: 10.3390/antibiotics11081019.
- Knežević, M., Berić, T., Buntić, A., Delić, D., Nikolić, I., Stanković, S., Stajković-Srbinić, O. (2021) 'Potencial de las bacterias endófitas no rizóbicas de los nódulos radiculares para la promoción del crecimiento de *Lotus corniculatus* L. y *Dactylis glomerata* L.', *Journal of Applied Microbiology*, Volumen 131, Número 6. Páginas 2929–2940, <https://doi.org/10.1111/jam.15152>
- Kochhar, N. *et al.* (2022) 'Perspectives on the microorganism of extreme environments and

- their applications’, *Current Research in Microbial Sciences*, 3(March), p. 100134. doi: 10.1016/j.crmicr.2022.100134.
- Lata, D. L., Abdie, O. and Rezene, Y. (2024) ‘IAA-producing bacteria from the rhizosphere of chickpea (*Cicer arietinum* L.): Isolation, characterization, and their effects on plant growth performance’, *Heliyon*, 10(21), p. e39702. doi: 10.1016/j.heliyon.2024.e39702.
- León, L. and González, J. (2022) ‘Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal para el desarrollo de la agricultura en marte plant growth promoting rhizobacteria for the develop of the agriculture on Mars’, 29(2), pp. 277–290.
- Li, M. *et al.* (2024) ‘*Paenarthrobacter nitroguajacolicus* can promote cucumber growth and control cucumber corynespora leaf spot’, *Frontiers of Agricultural Science and Engineering*, 11(3), pp. 485–498. doi: 10.15302/J-FASE-2024537.
- Li, Z. *et al.* (2025) ‘Isolation, characterization and growth-promoting properties of phosphate-solubilizing bacteria (PSBs) derived from peach tree rhizosphere’, *Microorganisms*, 13(4), pp. 1–17. doi: 10.3390/microorganisms13040718.
- Linda, T. M. *et al.* (2024) ‘Production of exopolysaccharides and indole acetic acid (IAA) by rhizobacteria and their potential against drought stress in upland rice’, *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 34(6), pp. 1239–1248. doi: 10.4014/jmb.2401.01035.
- Liu, Y. *et al.* (2024) ‘Root colonization by beneficial rhizobacteria’, *FEMS Microbiology Reviews*, 48(1), pp. 1–20. doi: 10.1093/femsre/fuad066.
- Martínez, I. and Galván, D. (2023) ‘Bacterias asociadas a la rizósfera: mecanismos de interacción y métodos de identificación’, 27, pp. 37–43.
- Matsuyama, H. *et al.* (2008) ‘*Sphingobacterium kitahiroshimense* sp. nov., isolated from soil’, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58(7), pp. 1576–1579. doi: 10.1099/ijls.0.65791-0.
- Mengesha, A. S. and Legesse, N. H. (2024) ‘Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria from the rhizosphere of lentil (*Lens culinaris* M.) collected from Hagera Mariam district, Central Ethiopia’, *PLoS ONE*, 19(11 November), pp. 1–17. doi: 10.1371/journal.pone.0308915.

- Ministerio de Agricultura y Riego - MINAGRI (2025). 'Sistema Integrado de Estadísticas Agrarias'. Lima, Perú.
- Ministerio de Salud - MINSA. (2024). 'Perfil de Salud : Departamento de Cajamarca'. Cajamarca, Perú.
- Mishra, P., Joshi, S. and Khati, P. (2020) 'Psychrotolerant microbes: Characterization, conservation, strain, improvements, mass production, and commercialization', (March). doi: 10.1007/978-981-15-1902-4.
- Moreno, A. *et al.* (2018) 'Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal: una alternativa de biofertilización para la agricultura sustentable', *Revista Colombiana de Biotecnología*, 20(1), pp. 68–83. doi: 10.15446/rev.colomb.biote.v20n1.73707.
- Motta, S., Salazar, L. D. and Sánchez, L. C. (2022) 'Perspectiva del uso de *Pseudomonas* spp. como biocontrol de fitopatógenos en cultivos de hortalizas en Colombia: una revisión sistemática', *Revista Mutis*, 12(2). doi: 10.21789/22561498.1862.
- Mykytczuk, N. C. S. *et al.* (2013) 'Bacterial growth at -15 °C; molecular insights from the permafrost bacterium *Planococcus halocryophilus* Or1', *ISME Journal*, 7(6), pp. 1211–1226. doi: 10.1038/ismej.2013.8.
- Nautiyal, C. S. (1999) 'An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms', *FEMS Microbiology Letters*, 170(1), pp. 265–270. doi: 10.1111/J.1574-6968.1999.TB13383.X.
- Negi, YK., Prabha, D., Garg, SK. *et al.* (2011) 'Diversidad genética entre aislados de *Pseudomonas fluorescens* tolerantes al frío del Himalaya indio y su caracterización para actividades de biocontrol y promoción del crecimiento vegetal'. *J Plant Growth Regul* 30, 128–143. <https://doi.org/10.1007/s00344-010-9175-7>
- Ogodo, A. C., Agwaranze, D. I., Daji, M., & Aso, R. E. (2022). Microbial techniques and methods: Basic techniques and microscopy. *Analytical Techniques in Biosciences* (pp. 201–220). doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822654-4.00003-8>
- Ortiz, P., Ogata, K. and Zúñiga, D. (2017) 'Evaluation of plant growth promoting activity and heavy metal tolerance of psychrotrophic bacteria associated with maca (*Lepidium*

- meyenii* Walp.) rhizosphere’, *AIMS Microbiology*, 3(2), pp. 279–292. doi: 10.3934/microbiol.2017.2.279.
- Ortiz-Galeana, M. A., Hernández-Salmerón, J. E., Valenzuela-Aragón, B., de los Santos-Villalobos, S., Rocha-Granados, M. del C., & Santoyo, G. (2018). Diversidad de bacterias endófitas cultivables asociadas a plantas de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) cv. Biloxi con actividades promotoras del crecimiento vegetal. *Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences, ahead*, 0–0. <https://doi.org/10.4067/s0719-38902018005000403>
- Palacio-Rodríguez, R. *et al.* (2022) ‘Effect of plant growth-promoting rhizobacteria inoculation on tomato under commercial shade-house conditions’, (28), pp. 231–242.
- Pan, L. and Cai, B. (2023) ‘Phosphate-solubilizing bacteria: Advances in their physiology, molecular mechanisms and microbial community effects’, *Microorganisms*, 11(12). doi: 10.3390/microorganisms11122904.
- Pang, F. *et al.* (2024) ‘Soil phosphorus transformation and plant uptake driven by phosphate-solubilizing microorganisms’, *Frontiers in Microbiology*, 15(March), pp. 1–13. doi: 10.3389/fmicb.2024.1383813.
- Paray, A. *et al.* (2023) ‘Gram Staining: A Brief Review’, *International Journal of Research and Review*, 10(9), pp. 336–341. doi: 10.52403/ijrr.20230934.
- Parvin, W. *et al.* (2020) ‘Identification , determination and quantification of indole-3-acetic acid produced by *Pseudomonas aeruginosa* UPMP3 and its effect on the growth of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq)’ , 8(3), pp. 75–83. doi: 10.12691/wjar-8-3-2.
- Paulraj, P. *et al.* (2020) ‘Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria from agricultural soils for a potential use in cultivating *Capsicum frutescens*’, *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 10(2), pp. 5161–5173.
- Pavankumar, T. L., Mittal, P. and Hallsworth, J. E. (2021) ‘Molecular insights into the ecology of a psychrotolerant *Pseudomonas syringae*’, *Environmental Microbiology*, 23(7), pp. 3665–3681. doi: 10.1111/1462-2920.15304.
- Pecl, I., Blier, P. U., & Dufresne, F. (2025). Fatty acid profiles and tolerance to temperature extremes in *Daphnia pulex*. *Journal of Experimental Biology*, 228(3), JEB249589.

<https://doi.org/10.1242/jeb.249589>

- Pérez-García, L. A. *et al.* (2023) 'Plant-growth-promoting rhizobacteria improve germination and bioactive compounds in Cucumber seedlings', *Agronomy*, 13(2), pp. 1–10. doi: 10.3390/agronomy13020315.
- Petrushin, I. S., Filinova, N. V. and Gutnik, D. I. (2024) 'Potato microbiome: relationship with environmental factors and approaches for microbiome modulation', *International Journal of Molecular Sciences*, 25(2). doi: 10.3390/ijms25020750.
- Posada, A. *et al.* (2021) 'Rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR): una revisión sistemática 1990-2019', *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 12(2), pp. 161–178. doi: 10.22490/21456453.4040.
- Prasad, P. *et al.* (2022) 'Phosphate solubilization and plant growth promotion by two *Pantoea* strains isolated from the flowers of *Hedychium coronarium* L.', *Frontiers in Agronomy*, 4(September), pp. 1–10. doi: 10.3389/fagro.2022.990869.
- Ratnaningsih, H. R. *et al.* (2023) 'IAA and ACC deaminase producing-bacteria isolated from the rhizosphere of pineapple plants grown under different abiotic and biotic stresses', *Heliyon*, 9(6), p. e16306. doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e16306.
- Rimarachin, I., Santa Cruz, A., & Pando, R. (2024). Tolerancia a la salinidad en cuatro variedades mejoradas de papa (*Solanum tuberosum* L.) bajo condiciones de invernadero en Cajamarca.
- Sahni, S. and Prasad, B. D. (2021) 'Rapid methods for identification of Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria', *International Journal of Plant & Soil Science*, (May), pp. 12–17. doi: 10.9734/ijpss/2021/v33i1530506.
- Salimi, F., Khorshidi, M., Amirahmadi, F., & Amirahmadi, A. (2023). 'Effectiveness of phosphate and zinc solubilizing *Paenarthrobacter nitroguajacolicus* P1 as halotolerant rhizobacterium with Growth-Promoting Activity on *Pistacia vera* L'. *Current microbiology*, 80(10), 336. <https://doi.org/10.1007/s00284-023-03448-0>
- Salwan, R. and Sharma, V. (2020) 'Overview of extremophiles, physiological and biotechnological aspects of extremophiles'. *INC*. doi: 10.1016/B978-0-12-818322-

9.00001-0.

Santos, R. M. and Rigobelo, E. C. (2021). Growth-promoting potential of rhizobacteria isolated from sugarcane. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5(April), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.596269>

SENAMHI (2023) *Boletín agroclimático mensual*.

Sharma, S. and Chatterjee, S. (2018) ‘*Sphingobacterium kitahiroshimense* LT-2 psicrotolerante aislado del glaciar Dhundi, Himachal Pradesh: Predicción del origen y aplicación futura’. *Indian J Microbiol* 58, 234-238. <https://doi.org/10.1007/s12088-018-0712-6>

Somayaji, A. *et al.* (2022) ‘An insight into the mechanisms of homeostasis in extremophiles’, *Microbiological Research*, 263(July), p. 127115. doi: 10.1016/j.micres.2022.127115.

Son, Y. *et al.* (2023) ‘Morphological and physiological adaptations of psychrophilic *Pseudarthrobacter psychrotolerans* YJ56 under temperature stress’, *Scientific Reports*, 13(1), pp. 1–12. doi: 10.1038/s41598-023-42179-x.

Styczynski, M. *et al.* (2022) ‘Application of psychrotolerant antarctic bacteria and their metabolites as efficient plant Growth promoting agents’, *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10(February), pp. 1–19. doi: 10.3389/fbioe.2022.772891.

Suárez-Contreras, L. and Yañez-Meneces, L. (2020) ‘16S rRNA as an applied tool in the molecular characterization of genera and species of bacteria’, 25(April), pp. 127–136.

Suliasih and Widawati, S. (2020) ‘Isolation of indole acetic acid (IAA) producing *Bacillus siamensis* from peat and optimization of the culture conditions for maximum IAA production’, *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 572(1). doi: 10.1088/1755-1315/572/1/012025.

Tang, J., Li, Y., Zhang, L., Mu, J., Jiang, Y., Fu, H., Zhang, Y., Cui, H., Yu, X., & Ye, Z. (2023). Biosynthetic pathways and functions of indole-3-acetic acid in microorganisms. *Microorganisms*, 11(8), 2077. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11082077>

Tapia, I. (2020) ‘Prospección y caracterización de microorganismos psicrófilos y

- psrotolerantes promotores del crecimiento vegetal aislados del volcán Xinantécal'. Universidad Autónoma del Estado de Morelos.
- Tendulkar, S. *et al.* (2021) 'Psychrophiles: A journey of hope', *Journal of Biosciences*, 46(3). doi: 10.1007/s12038-021-00180-4.
- Tripathi, A. *et al.* (2024) 'An updated review on significance of PGPR-induced plant signalling and stress management in advancing sustainable agriculture', *Journal of Agriculture and Food Research*, 16(May), p. 101169. doi: 10.1016/j.jafr.2024.101169.
- Universidad Latina de Panamá (2022) 'Capítulo 5. Nutrición microbiana', in *Microbiología*, pp. 99–117.
- Vaishnav, A., Singh, J., Singh, P., Rajput, R. S., Singh, H. B., & Sarma, B. K. (2020). *Sphingobacterium* sp. BHU-AV3 Induces Salt Tolerance in Tomato by Enhancing Antioxidant Activities and Energy Metabolism. *Frontiers in microbiology*, 11, 443. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00443>.
- Vasseur-Coronado, M. *et al.* (2021) 'Selection of plant growth promoting rhizobacteria sharing suitable features to be commercially developed as biostimulant products', *Microbiological Research*, 245. doi: 10.1016/j.micres.2020.126672.
- Vega, P. *et al.* (2021) 'Microbial diversity of psychrotolerant bacteria isolated from wild flora of andes mountains and patagonia of chile towards the selection of plant growth-promoting bacterial consortia to alleviate cold stress in plants', *Microorganisms*, 9(3), pp. 1–28. doi: 10.3390/microorganisms9030538.
- Vílchez, R. *et al.* (2013) 'Asistencia Técnica para la implementación del sistema de gestión del plan de desarrollo concertado del distrito La Encañada'.
- Wang, C. *et al.* (2023) 'Phosphorus solubilizing microorganisms: potential promoters of agricultural and environmental engineering', *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 11(May), pp. 1–5. doi: 10.3389/fbioe.2023.1181078.
- Wang, Y. *et al.* (2024) 'Antimicrobial metabolites produced by the plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): *Bacillus* and *Pseudomonas*', *Advanced Agrochem*, 3(3), pp. 206–221. doi: 10.1016/j.aac.2024.07.007.

- Wong, J. X., Ramli, S. and Son, R. (2023) ‘A review: characteristics and prevalence of psychrotolerant food spoilage bacteria in chill-stored meat, milk and fish’, *Food Research*, 7(1), pp. 23–32. doi: 10.26656/fr.2017.7(1).694.
- Yang, L. *et al.* (2024) ‘Mechanisms of rhizosphere plant-microbe interactions: molecular insights into microbial colonization’, *Frontiers in Plant Science*, 15(November), pp. 1–12. doi: 10.3389/fpls.2024.1491495.
- Zhang, M. *et al.* (2024) ‘Impact of exogenous indoleacetic acid on nitrogen cycling-associated bacteria in the rhizosphere and eutrophic water surrounding *Hydrocotyle vulgaris* Lam’, *Water (Switzerland)*, 16(7). doi: 10.3390/w16070924.
- Zhang, P. *et al.* (2019) ‘The distribution of tryptophan-dependent indole-3-acetic acid synthesis pathways in bacteria unraveled by large-scale genomic analysis’, *Molecules*, 24(7), pp. 1–14. doi: 10.3390/molecules24071411.
- Zhou, Z. *et al.* (2021). A cold shock protein promotes high-temperature microbial growth through binding to diverse RNA species. *Cell Discovery*, 7(1), 15. <https://doi.org/10.1038/s41421-021-00246-5>

APÉNDICES Y ANEXOS

APÉNDICES

Apéndice 1 – Ficha de recolección de datos para caracterización de bacterias

N° Aislamiento	Caracterización morfológica								Caracterización fisiológica						Producción IAA (Si/No)	Solubilización de P					
									1°C			25°C				1°C			25°C		
	Forma	Margen	Elevación	Translúcido	Color	Tamaño	Textura	Tinción Gram (+/-)	1	2	3	1	2	3		1	2	3	1	2	3
1																					
2																					
3																					
4																					
5																					
6																					
7																					
8																					
9																					
10																					
11																					
12																					
13																					
14																					
15																					
16																					
17																					
18																					
19																					
20																					
21																					
22																					
23																					
24																					
25																					
26																					

Apéndice 2 – Muestreo de la rizósfera de plantas de papa



Figura 8. Muestreo de la rizósfera de papa en un terreno de cultivo en el distrito La Encañada, Cajamarca. **A.** Recolección de plantas de papa y suelo rizosférico **B.** Muestra compuesta de la rizósfera de papa.

Apéndice 3 – Proceso de aislamiento de bacterias mediante diluciones sucesivas en solución salina al 0,85 %.

En la **figura 9 y 10** se observa el proceso de la preparación de la muestra madre, donde se pesaron 10 g de suelo y se colocaron en un frasco tapa rosca con solución salina al 0,85 %, realizándose una mezcla homogénea. La **figura 11** muestra el crecimiento de las bacterias en placas Petri después de la incubación a 1 °C para el aislamiento.



Figura 9. Proceso de preparación de muestra madre para diluciones sucesivas.



Figura 10. Muestra madre compuesta por suelo de la rizósfera y solución salina al 0,85 %.

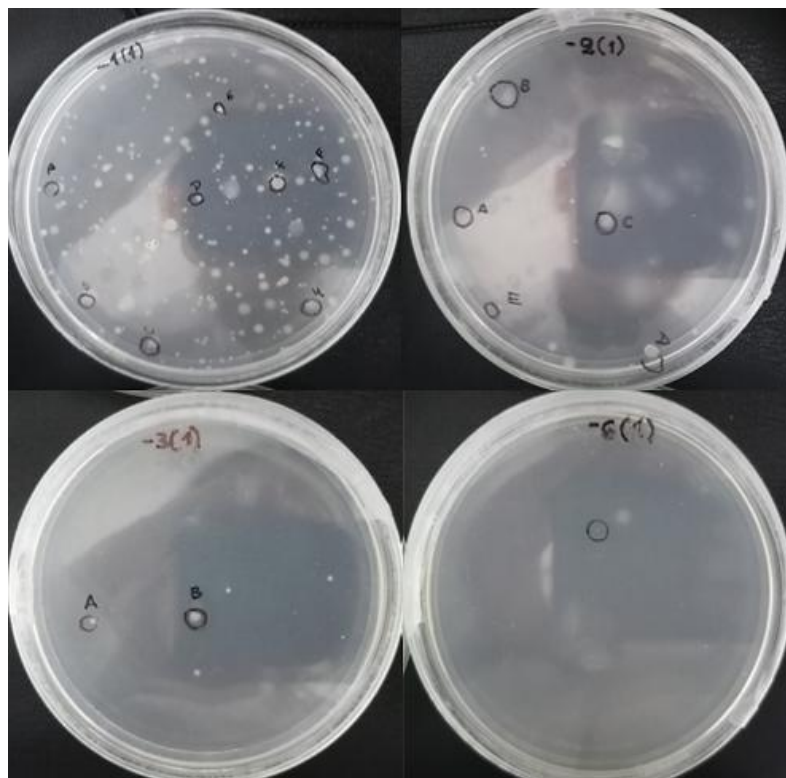
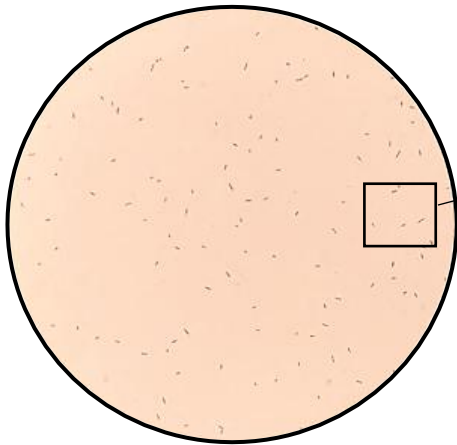
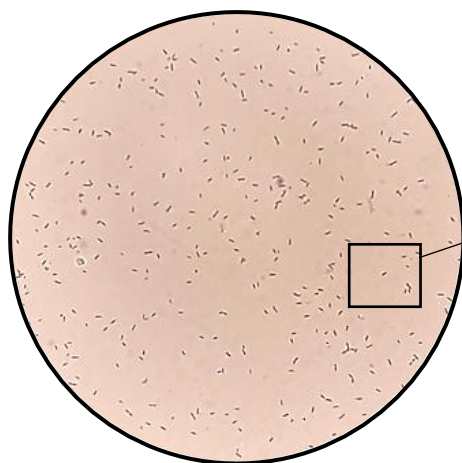


Figura 11. Crecimiento de las bacterias en placas después de la incubación a 1 °C.

Apéndice 4 – Resultados de la observación microscópica de las bacterias aisladas.

Aislamiento bacteriano	Observación con microscopio óptico (1000x)	Tinción Gram y forma del aislado bacteriano
ORP5	 1000x	 Gram positivo - bacilos

ORP6

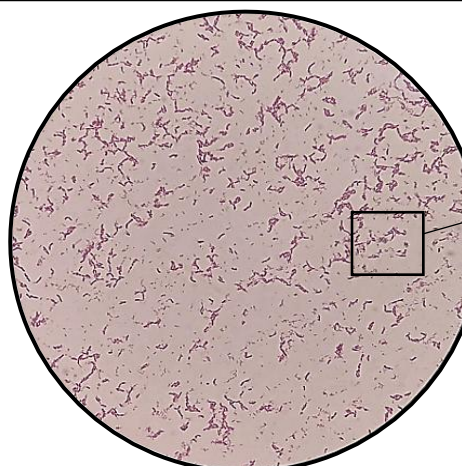


1000x

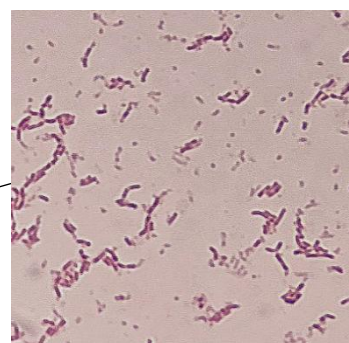


Gram positivo - bacilos

ORP7

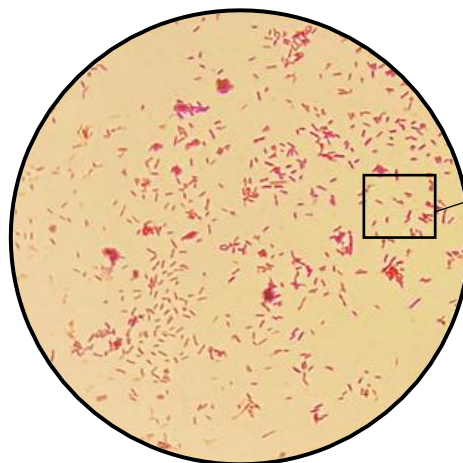


1000x

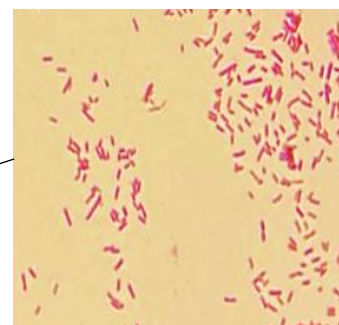


Gram positivo - bacilos

ORP13

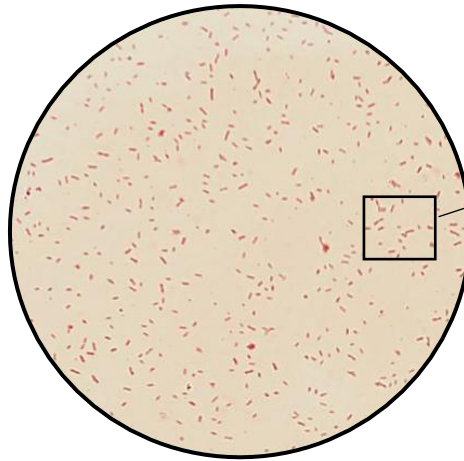


1000x

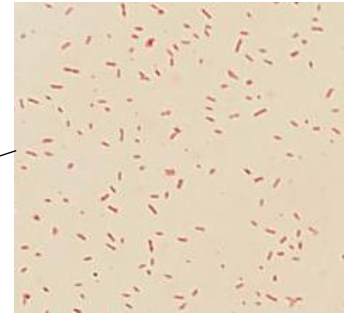


Gram negativo - bacilos

ORP15

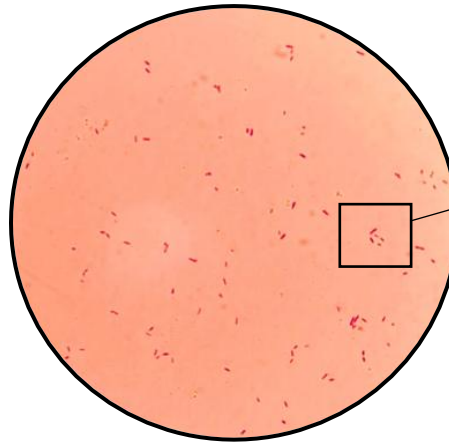


1000x

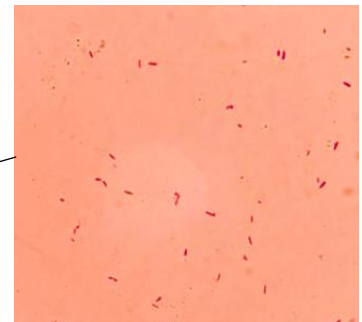


Gram negativo - bacilos

ORP20

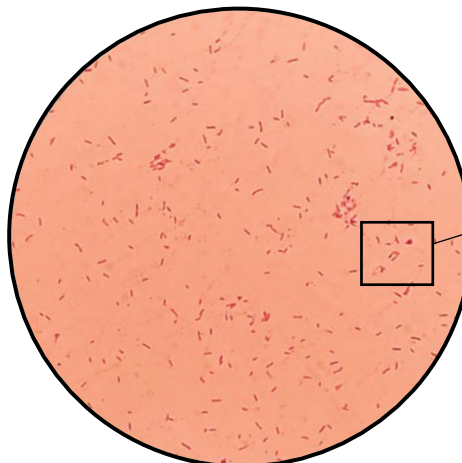


1000x

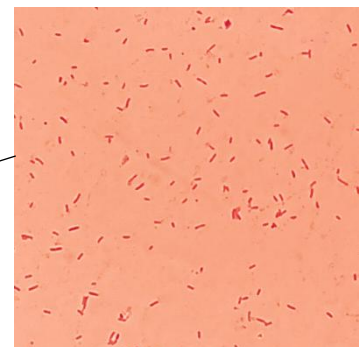


Gram negativo - bacilos

ORP22

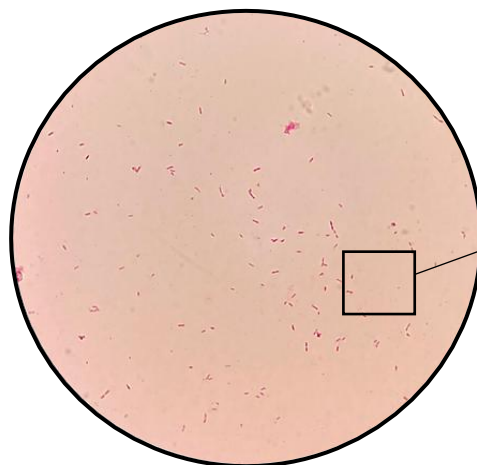


1000x

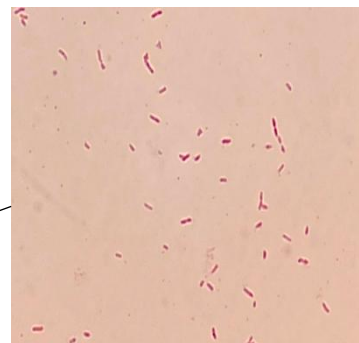


Gram negativo - bacilos

ORP23

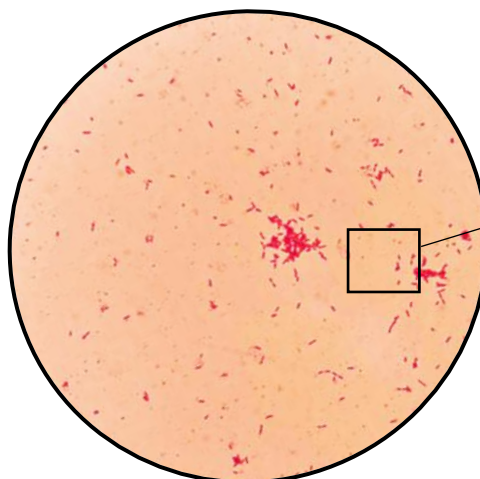


1000x

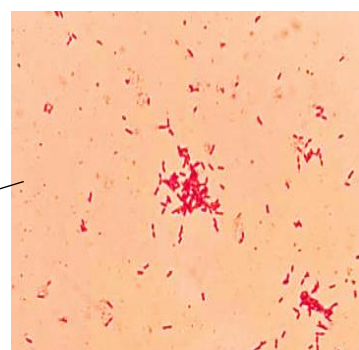


Gram negativo - bacilos

ORP26

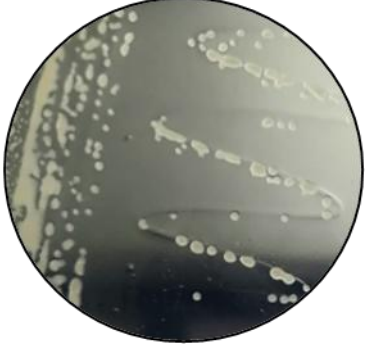
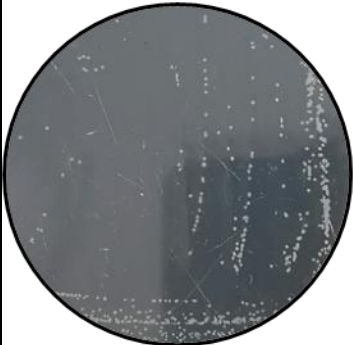
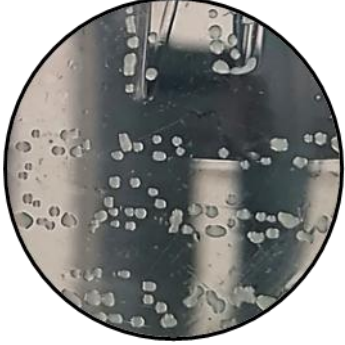
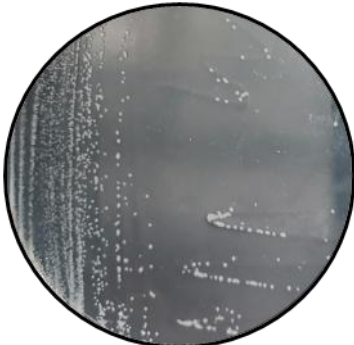
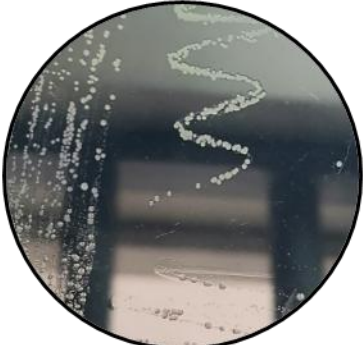


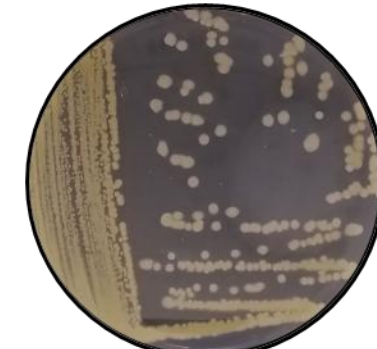
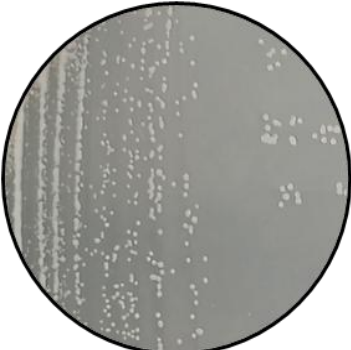
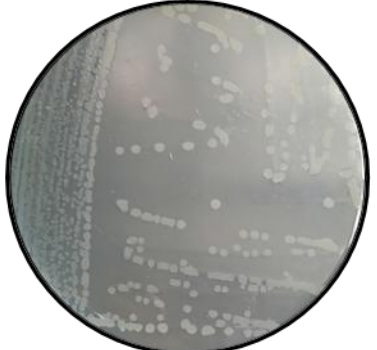
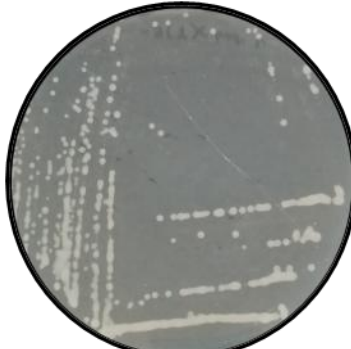
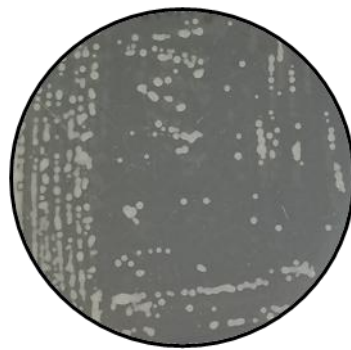
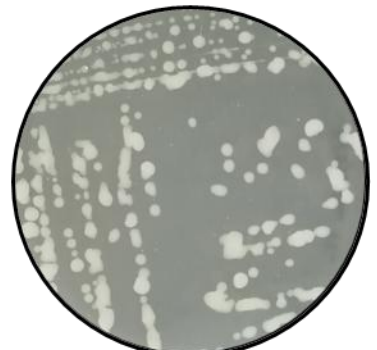
1000x

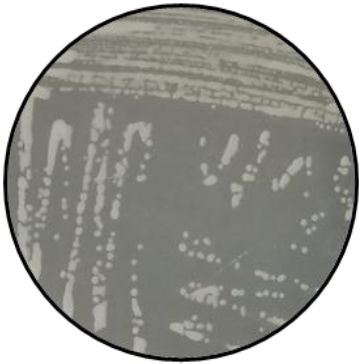
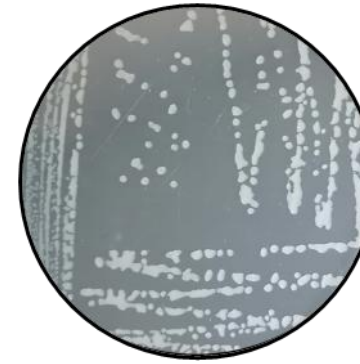
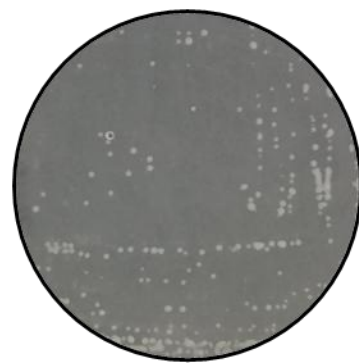
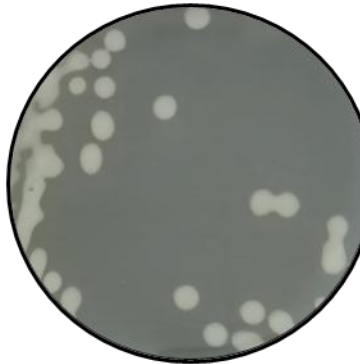


Gram negativo - bacilos

**Apéndice 5 – Resultados de la capacidad psicrotolerante de bacterias aisladas
incubadas a 1 °C y a 25 °C.**

AISLAMIENTO BACTERIANO	CRECIMIENTO A 2 TEMPERATURAS	
	1°C	25°C
ORP3		
ORP4		
ORP13		
ORP14		

ORP15		
ORP20		
ORP22		
ORP23		

ORP25		
ORP26		

Apéndice 6 – Evaluación de la capacidad de producción de Ácido indol-acético (IAA) mediante la prueba colorimétrica a 25 °C.

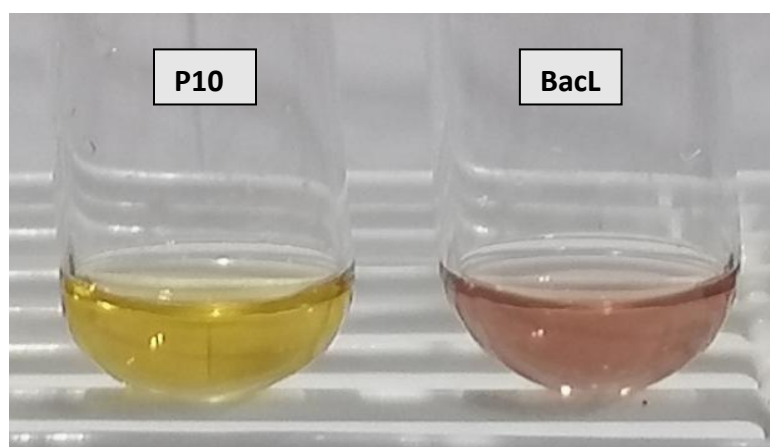


Figura 12. Control negativo (P10) y control positivo (BacL) para prueba de producción de Ácido indol-acético.

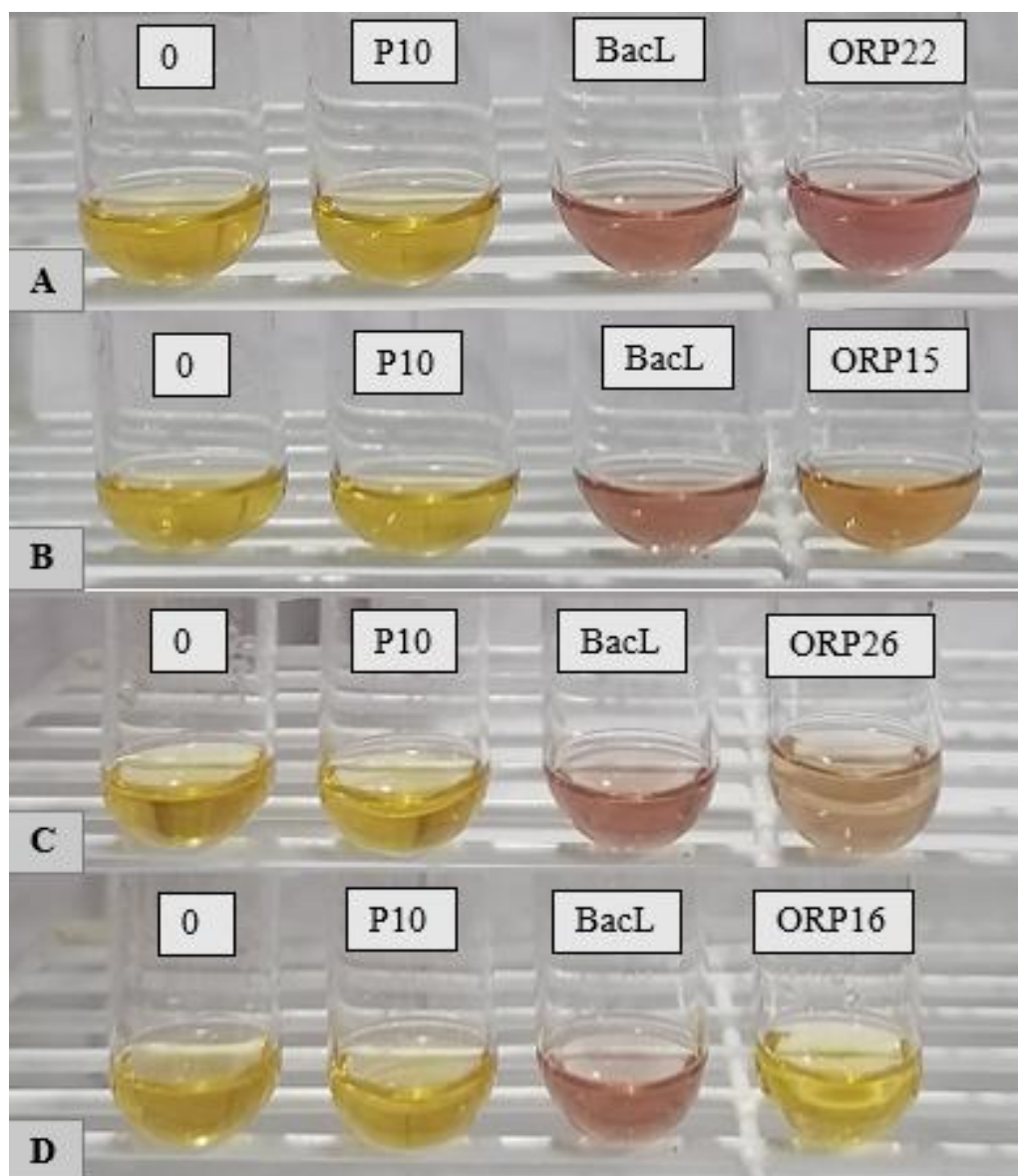
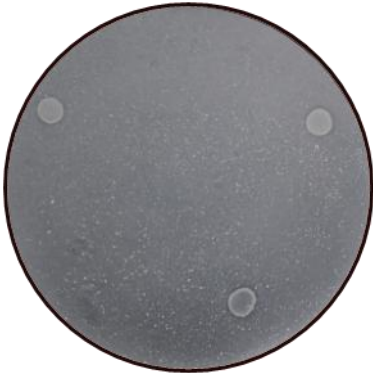
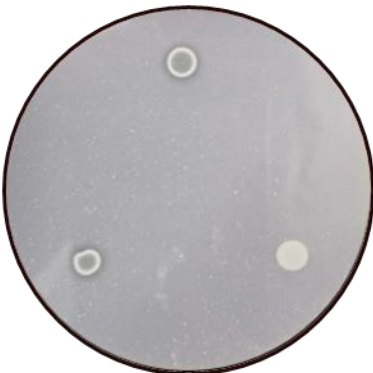
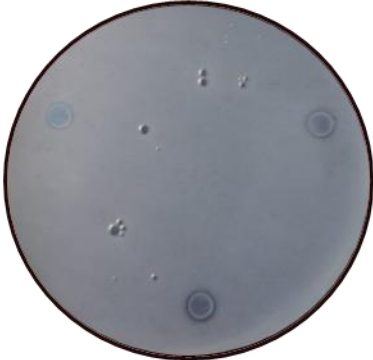
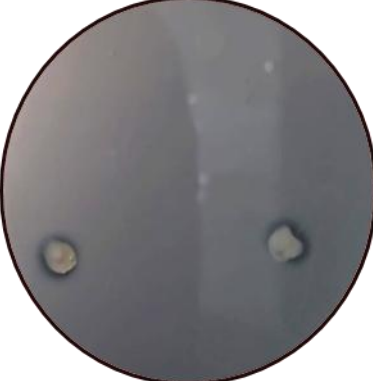
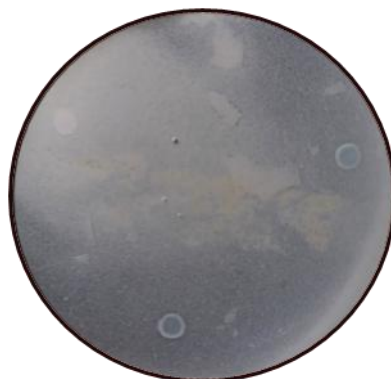


Figura 13. Resultados de la producción de ácido indol-acético (IAA) de los aislados bacterianos a 25 °C. A) Producción de IAA, por la cepa ORP22 con nivel alto (+++) de producción. **B)** Producción de IAA, por la cepa ORP15 con nivel medio (++) de producción. **C)** Producción de IAA, por la cepa ORP26 con nivel bajo de producción (+). **D)** No hay producción de IAA, cepa ORP16.

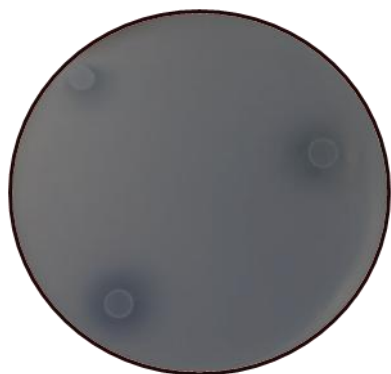
Apéndice 7 – Resultados de la capacidad de solubilización de fosfatos de las bacterias aisladas a 1 °C y a 25 °C.

SOLUBILIZACIÓN DE FOSFATO		
COLONIA BACTERIANA	TEMPERATURA	
	1°C	25°C
ORP5		
ORP6		
ORP7		

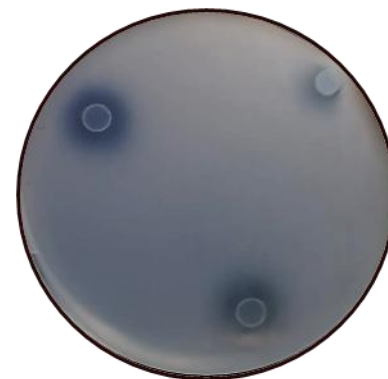
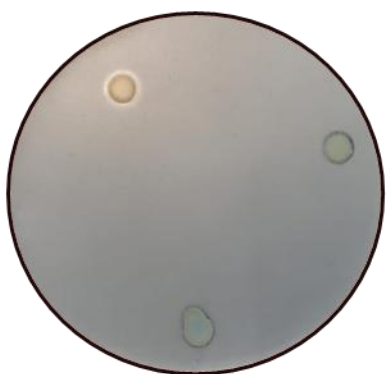
ORP15



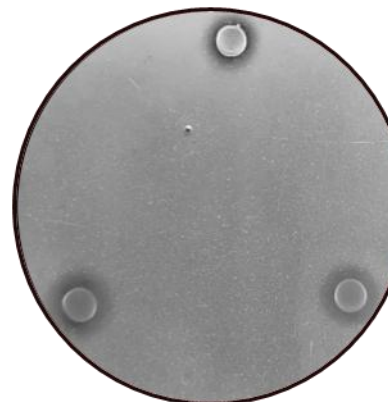
ORP16



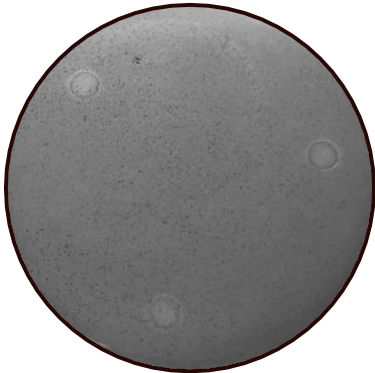
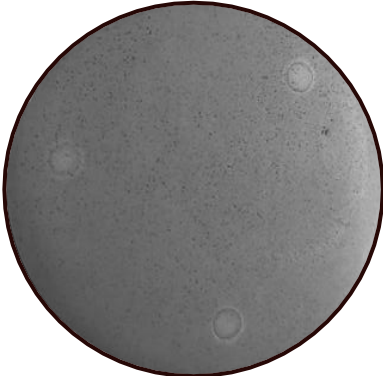
ORP22



ORP23



Apéndice 8 – Resultados de la capacidad de solubilización de fosfatos de las bacterias aisladas a 1 °C.

SOLUBILIZACIÓN DE FOSFATO	
COLONIA BACTERIANA	TEMPERATURA
	1°C
ORP13	
ORP20	
ORP26	

ANEXOS

Anexo 1 – Características morfológicas de las colonias bacterianas



Figura 14. Características morfológicas de bacterias sembradas en placa (Universidad Latina de Panamá, 2022).

Anexo 2 – Procedimiento para la tinción Gram

- Colocar sobre una lámina portaobjetos un pequeño inóculo de agua destilada o solución salina.
- Tomar una asada de la colonia bacteriana y transferirla al portaobjetos. Fijar la muestra con calor de 3 a 4 veces con el frotis hacia arriba.
- Añadir sobre las bacterias fijadas cristal violeta por 1 minuto.
- Enjuagar con agua destilada o agua de grifo.
- Añadir Lugol, dejando actuar 1 minuto. Enjuagar.
- Añadir el decolorante, alcohol acetona durante 10 segundos. Enjuagar.
- Añadir el colorante de contraste safranina, por menos de 1 minuto.

- Enjuagar con agua y dejar secar.
- Observar al microscopio con una gota de aceite de inmersión (100x).

Fuente: (Paray *et al.*, 2023)

Anexo 3 - Composición del Reactivo de Salkowski

Compuesto químico	Cantidad
FeCl ₃	4,5 g·L ⁻¹
H ₂ SO ₄	10,8 M

Fuente: (Alcarraz, Heredia and Julian, 2019)

Anexo 4 - Composición del Medio National Botanical Research Institute's phosphate growth medium (NBRIP)

Compuesto químico	Cantidad
Glucosa	10 g·L ⁻¹
Ca ₃ (PO ₄)	2,5 g·L ⁻¹
MgCl ₂ ·6H ₂ O	5 g·L ⁻¹
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,25 g·L ⁻¹
KCl	0,2 g·L ⁻¹
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,1 g·L ⁻¹

Fuente: (Nautiyal, 1999)