



Universidad
Nacional
de Loja

Universidad Nacional de Loja

Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables.

Carrera de Agronomía

**Evaluación de la interacción del consorcio microbiano
Pseudomonas sp y *Chlorella* sp como estimuladores de crecimiento
vegetal bajo condiciones in vitro en semillas de tomate (*Solanum
lycopersicum* L.)**

**Trabajo de Integración Curricular,
previa a la obtención del título de
Ingeniera Agrónoma.**

AUTORA:

Nayeli Valeria Cumbicos Sarango

DIRECTOR:

Ing. Ángel Rolando Robles Carrión PhD

Loja-Ecuador

2024

Certificación



UNL

Universidad
Nacional
de Loja

Sistema de Información Académico
Administrativo y Financiero - SIAAF

CERTIFICADO DE CULMINACIÓN Y APROBACIÓN DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Yo, **Robles Carrion Angel Rolando**, director del Trabajo de Integración Curricular denominado **Evaluación de la Interacción del consorcio microbiano Pseudomonas sp y Chlorella sp como estimuladores de crecimiento vegetal bajo condiciones in vitro en semillas de tomate (Solanum lycopersicum L.)**, perteneciente al estudiante **NAYELI VALERIA CUMBICOS SARANGO**, con cédula de identidad N° **1900692474**. Certifico que luego de haber dirigido el **Trabajo de Integración Curricular** se encuentra concluido, aprobado y está en condiciones para ser presentado ante las instancias correspondientes.

Es lo que puedo certificar en honor a la verdad, a fin de que, de así considerarlo pertinente, el/la señor/a docente de la asignatura de **Integración Curricular**, proceda al registro del mismo en el Sistema de Gestión Académico como parte de los requisitos de acreditación de la Unidad de Integración Curricular del mencionado estudiante.

Loja, 24 de Agosto de 2023



F) _____
DIRECTOR DE TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR



Certificado TIC/TT.: UNL-2023-000657

1/1
Educamos para Transformar

Autoría

Yo, **Nayeli Valeria Cumbicos Sarango** declaro ser autora del presente Trabajo de Integración Curricular y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos, de posibles reclamos y acciones legales, por el contenido del mismo. Adicionalmente, acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja la publicación de mi Trabajo de Integración Curricular, en el Repositorio Digital Institucional – Biblioteca Virtual.

Firma: 

Cédula de identidad: 1900692474

Fecha: 25 de abril de 2024

Correo electrónico: nayeli.cumbicos@unl.edu.ec

Teléfono: 0994814797

Carta de autorización por parte de la autora, para consulta, reproducción parcial o total y/o publicación electrónica del texto completo, del Trabajo de Integración Curricular.

Yo, **Nayeli Valeria Cumbicos Sarango** declaro ser autora del Trabajo de Integración Curricular denominado: **Evaluación de la interacción del consorcio microbiano *Pseudomonas sp* y *Chlorella sp* como estimuladores de crecimiento vegetal bajo condiciones in vitro en semillas de tomate (*Solanum lycopersicum L.*)** como requisito para optar por el título de **Ingeniera Agrónoma**, autorizo al sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que, con fines académicos, muestre la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido en el Repositorio Institucional.

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el Repositorio Institucional, en las redes de información del país y del exterior con las cuales tenga convenio la Universidad.

La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia del Trabajo de Integración Curricular que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los veinticinco días del mes de abril de dos mil veinticuatro.

Firma:



Autora: Nayeli Valeria Cumbicos Sarango

Cédula: 1900692474

Dirección: Zamora Chinchipe- Centinela del Cóndor

Correo electrónico: nayeli.cumbicos@unl.edu.ec

Teléfono: 0994814797

DATOS COMPLEMENTARIOS:

Director del Trabajo de Integración Curricular:

Ing. Ángel Rolando Robles Carrión PhD.

Dedicatoria

Dedico el presente a mis padres Braulio Cumbicos y Mélida Sarango por haber formado la persona que soy, muchos de mis logros se los debo a ustedes, incluido este, su guía constante y su fe inquebrantable en mis habilidades me han motivado a alcanzar alturas que nunca imaginé. Agradezco todo su apoyo y comprensión en la elaboración de esta investigación, han sido un pilar fundamental durante todo este viaje.

Nayeli Valeria Cumbicos Sarango

Agradecimiento

Agradezco primeramente a Dios, a mi director de Trabajo de Integración Curricular, Ing. Ángel Robles y a la Ingeniera Yadira Collahuazo. Su experiencia, comprensión y paciencia contribuyeron a mi experiencia en el complejo y gratificante camino de la investigación. No tengo palabras para expresar mi gratitud por su inmenso apoyo. Así mismo agradezco a todos los investigadores por sus grandes aportes a tan apreciable rama de estudio.

Nayeli Valeria Cumbicos Sarango

Índice de contenido

Portada	i
Certificación	ii
Autoría	iii
Carta de autorización	iv
Dedicatoria	v
Agradecimiento	vi
Índice de contenido	vii
Índice de figuras:	ix
Índice de tablas:	x
Índice de anexos:	xi
1. Título	1
2. Resumen	2
Abstract.....	3
3. Introducción	4
3.1. Objetivo General.....	6
3.2. Objetivos Específicos	6
4. Marco teórico	7
4.1. El Cultivo de Tomate.....	7
4.2. Interacción del Consorcio Bacterias y Microalgas	7
4.3. Importancia agronómica del fósforo.....	8
4.4. Disponibilidad del fósforo en los suelos	8
4.5. Bacterias Solubilizadores de Fósforo	9
4.5.1. Pseudomonas sp.....	9
4.6. Microalgas	9
4.6.1. Chlorella sp.....	10
4.7. Método colorimétrico para la cuantificación de fosfatos (Mo-Blue)	10
4.7.1. Medio NBRIP	11
4.7.2. Uso del fosfato tricálcico (Ca ₃ PO ₄) como factor universal para el aislamiento y evaluación de bacterias solubilizadoras de fósforo	11
5. Metodología	12
5.1. Localización del Estudio	12
5.2. Metodología General	12

5.3. Diseño Experimental	13
5.4. Metodología para el primer objetivo:	13
5.4.1. Curva de calibración y espectrofotometría	14
5.5. Metodología para el Segundo Objetivo:	16
5.5.1. Reactivación de cepas.....	16
5.5.2. Inoculación de Pseudomonas sp en semilla de tomate mediante Bio-priming.....	16
5.5.3. Evaluación del consorcio bacteria microalga en el vigor de plántula de tomate.....	17
5.6. Análisis Estadístico	17
6. Resultados	18
6.1. Resultados para el Primer Objetivo:	18
6.2. Resultados para el Segundo Objetivo:	19
7. Discusiones	22
7.1. Discusión para el Primer Objetivo.....	22
7.2. Discusión para el Segundo Objetivo	22
8. Conclusiones	25
9. Recomendaciones	26
10. Bibliografía	27
11. Anexos	32

Índice de figuras:

- Figura 1.** Ubicación del Laboratorio de Microbiología Vegetal, del Centro de Biotecnología y de la Quinta Experimental La Argelia, de la Universidad Nacional de Loja, cuyas ubicaciones están marcadas de rojo (Google Earth, 2023). 12
- Figura 2.** Tratamientos para el primer objetivo de Solubilización de Fosfatos, tomando como testigo caldo nutriente sin inocular 13
- Figura 3.** Diseño completamente al azar (DCA) cada planta es una unidad experimental con 10 repeticiones sometidas a 5 tratamientos dentro de la Quinta Experimental La Argelia 13
- Figura 4.** Curva de calibración estándar de fosfatos. Fuente: Nayeli Cumbicos (2023)..... 15
- Figura 5.** Prueba de luz UV (254 nm) a las 5 cepas de *Pseudomona* sp (A) identificando a la cepa 9B (SP9) como *Pseudomona fluorescens* (B) Fuente: Nayeli Cumbicos (2023) 18
- Figura 6.** Porcentaje de germinación a los cinco días en la cámara de germinación. Fuente: Nayeli Cumbicos (2023) Barras con letras desiguales difieren significativamente por la prueba de Tukey ($p < 0,05$). **Leyenda:** T0 (Agua Destilada); T1 (Ácido Indo acético); T2 (*Pseudomona* sp); T3 (*Chlorella* sp); T4 (*Pseudomona* sp + *Chlorella* sp)..... 19
- Figura 7.** Velocidad de germinación (T50) transformados a horas en 5 tratamientos. Fuente: Nayeli Cumbicos (2023). Barras con letras desiguales difieren significativamente por la prueba de Tukey ($p < 0,05$). **Leyenda:** T0 (Agua Destilada); T1 (Ácido Indo acético); T2 (*Pseudomona* sp); T3 (*Chlorella* sp); T4 (*Pseudomona* sp + *Chlorella* sp)..... 20
- Figura 8.** Longitud de raíces al finalizar el ensayo en cinco tratamientos. Fuente: Nayeli Cumbicos (2023). Barras con letras desiguales difieren significativamente por la prueba de Tukey ($p < 0,05$). **Leyenda:** T0 (Agua Destilada); T1 (Ácido Indo acético); T2 (*Pseudomona* sp); T3 (*Chlorella* sp); T4 (*Pseudomona* sp + *Chlorella* sp). 21

Índice de tablas:

Tabla 1. Cepas evaluadas de <i>Pseudomonas</i> sp	14
Tabla 2. Curva de calibración de fosfatos	14
Tabla 3. Absorbancias para la curva de calibración de fosfatos.....	15
Tabla 4. Solubilización y concentración de fosfato tricálcico en 3 cepas viables de <i>Pseudomonas</i> sp y una muestra de <i>Chlorella</i> sp tras las 168 horas de incubación mediante la curva patrón obtenida para la absorbancia de fosfatos.	18
Tabla 5. Hojas verdaderas en plantas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) a lo largo de la evaluación.	20
Tabla 6. Altura en plantas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) a lo largo de la evaluación.....	21

Índice de anexos:

Anexo 1. A. soluciones estándar para curva de calibración de fosfatos. B soluciones de las bacterias y microalgas evaluadas	32
Anexo 2. Método Bio-priming. (A) Ácido Indo acético, (B) <i>Pseudomonas</i> sp. (C) <i>Chlorella</i> sp. (D) Agua destilada y (E) consorcio microbiano	32
Anexo 3. Germinación de semillas luego de 5 días en la cámara de germinación. (A) Consorcio microbiano, (B) <i>Chlorella</i> sp, (C) <i>Pseudomona</i> sp, (D) Ac. Indo acético y (E) Agua destilada	33
Anexo 4. Evaluación de las semillas en estado de invernáculo	33
Anexo 5. Extracción de muestras para la evaluación.....	33
Anexo 6. Certificación de traducción del resumen.	34

1. Título

Evaluación de la interacción del consorcio microbiano *Pseudomonas* sp y *Chlorella* sp como estimuladores de crecimiento vegetal bajo condiciones in vitro en semillas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.)

2. Resumen

El tomate es el cultivo con mayor importancia en la dieta ecuatoriana y economía nacional, sin embargo es susceptible a sufrir eficiencias de fósforo (P) en etapas tempranas por su forma insoluble, las bacterias solubilizadores de fosfatos (BSP) han sido una alternativa rentable y ecológica en los últimos años, el objetivo de la presente investigación es evaluar la interacción del consorcio bacteria y microalga (*Pseudomonas - Chlorella*) en la solubilización de fósforo en tomate bajo condiciones *in vitro*, debido a sus antecedentes como organismos benéficos. dicho estudio se lo realizó en dos fases, la primera en el laboratorio de microbiología vegetal y la segunda en el banco de germoplasma de la quinta experimental La Argelia a través de un DCA donde se calculó la absorbancia para la curva de calibración de fosfatos y se midió el nivel de estimulación en semillas de tomate, los resultados mostraron que la cepa 9B (SP9) correspondiente a *Pseudomonas fluorescens* tiene mejores niveles de solubilización pero dichos beneficios son limitados en su uso con *Chlorella* que demostró ser un excelente bioestimulante de germinación, finalmente se concluye que el uso de un consorcio microbiano como medio pre germinativo es favorable en comparación a estimulantes sintéticos a pesar de reducir la germinación total

Palabras clave: Hortaliza, microorganismos promotores del crecimiento vegetal (MPCV), Crecimiento, Desarrollo, Viabilidad.

Abstract

Tomato is the most important crop in the Ecuadorian diet and national economy; however, it is susceptible to phosphorus (P) efficiencies in early stages due to its insoluble form. Phosphate-solubilizing bacteria (PSB) have been a profitable alternative and ecological in recent years, the objective of the present research is to evaluate the interaction of the bacteria and microalgae consortium (Pseudomonas - Chlorella) in the solubilization of phosphorus in tomato under in vitro conditions, due to their antecedents as beneficial organisms. This study was carried out in two phases, the first in the plant microbiology laboratory and the second in the germplasm bank of the La Argelia experimental farm through a CRD where the absorbance for the phosphate calibration curve was calculated and measured the level of stimulation in tomato seeds, the results showed that the strain 9B (SP9) corresponding to Pseudomona fluorescens has better levels of solubilization but these benefits are limited in its use with Chlorella, which proved to be an excellent germination biostimulant, finally it is concluded that the use of a microbial consortium as a pre-germination medium is favorable compared to synthetic stimulants despite reducing total germination.

Keywords: Vegetable, plant growth promoting microorganisms (PGPM), Growth, Development, Viability.

3. Introducción

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) miembro de la familia *Solanaceae*, incluye más de 3000 variedades en todo el mundo (Knapp, 2002). Estudios realizados por Singh et al. (2022), a nivel mundial se produjeron 186 821 millones de toneladas de este fruto en 5 051 983 ha en 2020. El Ministerio de Agricultura y Ganadería (2023), presenta que la hortaliza tiene importancia en la dieta de la población ecuatoriana y por ende en la economía nacional, tanto así que aporta el 0,6 % del valor total de la producción agrícola y actualmente se cultiva en 1 886 ha, lo que equivale a una producción nacional de más de 52 000 t, que concentra su producción en las provincias de Chimborazo, Cotopaxi, Imbabura, Pichincha y Tungurahua. De acuerdo con estudios realizados por la Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua (2021) la producción Lojana en el año 2021 fue de 11 ha cultivadas, dando como resultado 49 toneladas.

El cultivo de tomate es susceptible de sufrir deficiencia nutricional de fósforo (P) durante todo el periodo de crecimiento, lo que supone una grave amenaza para su productividad. El P es uno de los nutrientes más necesarios para el cultivo de tomate, sin embargo, también es el más desprovisto debido a que el fosfato se deposita en forma de minerales poco solubles en altas cantidades, en el 98 % de los suelos no puede ser absorbido para la nutrición de los cultivos (Cerón Rincón y Ancízar Aristizábal Gutiérrez, 2012), lo que conduce a deficiencias con serias implicaciones para la productividad y el rendimiento (Awasthi et al., 2011).

La mayoría del P se requiere en fases tempranas del desarrollo de las plantas, por lo que necesita entre 0,2 a 0,4 kg P/t de fruto (López Marín, 2016). Con el incremento de la demanda en el mercado, los agricultores recurren a fertilizantes químicos perjudiciales para el medio ambiente para satisfacer las necesidades de sus cultivos que no proceden del suelo, y utilizan productos sin conocer las condiciones de su aplicación óptima (Corrales et al., 2014). ESPAC (2022) Identificó que en el año 2022 en el 79,3 % de la superficie con cultivos transitorios se aplicaron insumos de síntesis química, y se aplicaron 359 kg/ha de fertilizantes químicos en el tomate.

En la búsqueda de alternativas a los fertilizantes químicos, en los últimos años se ha demostrado que existen microorganismos que mantienen el equilibrio del suelo y promueven el crecimiento de las plantas a través de varios mecanismos, como la disolución de fosfatos y la liberación de iones de fosfato disponibles para las plantas (Marques et al., 2015), las bacterias solubilizadoras de fosfato (BSP). Los microorganismos solubilizadores de fosfato se han estudiado ampliamente en distintos tipos de ecosistemas, tanto naturales como agrícolas, porque

utilizan diversos mecanismos de solubilización, como la producción de ácidos orgánicos, para disolver el fosfato insoluble en los rizoides (Beltrán, 2014). El uso de microorganismos como inoculantes para movilizar el fósforo menos disponible en el suelo es una opción para reducir la contaminación y aumentar la productividad de las plantas (Virgen y Molina, 2013).

Los biofertilizantes o bioabonos se basan en microorganismos que favorecen y apoyan la nutrición y el crecimiento de las plantas. Se trata de microorganismos del suelo, normalmente hongos o bacterias, que de forma natural están más o menos relacionados con el sistema radicular de las plantas. Otro origen que pueden poseer es el uso de extractos de algas, pues, contienen bioestimulantes como polisacáridos, fitohormonas y oligoelementos que estimulan el crecimiento de las plantas a través de su modificación en la microbiota del suelo alterando determinadas propiedades del mismo, como la actividad enzimática y favorecen la colonización de microorganismos como los hongos micorrícicos o las bacterias fijadoras de nitrógeno (Fariña, 2022).

Pseudomonas fluorescens es un grupo de bacterias que ha recibido especial atención debido a los posibles usos biotecnológicos de sus cepas promotoras del crecimiento vegetal, capaces de para degradar compuestos xenobióticos (Leopoldo et al., 1997). Da Silva et al. (2021), identificó una alta frecuencia de bacterias con actividad de solubilización de fosfato, lo que le permite sugerir que *Pseudomonas* sp. 11LB15 y *Pseudomonas* sp. 1.LB34 pueden tener una aplicación potencial como biofertilizantes para cultivos agrícolas. El consorcio de microalgas con *Pseudomonas* sp. Pueden aumentar 8 veces la tasa de crecimiento de la biomasa de las microalgas, los sistemas de interacción de algas y las BSP pueden liberar fosfato y este sea usado por las microalgas siendo objeto de estudio los últimos años (Haiwen et al., 2022).

Chlorella es un género de microalga verde acuática que forma parte de la familia *Chlorophyceae*, son organismos simples, no móviles. Se ha utilizado en estudios de fotosíntesis y respiración, además de que mucho del conocimiento generado sobre la síntesis de carbohidratos en microalgas ha sido obtenido por los estudios de estas variedades (Fariña, 2022). El uso de los consorcios microbianos a base de bacterias y algas a pesar de los grandes beneficios que presentan y pueden aportar aún no ha sido probado en semillas de tomate riñón, por lo que podría representar un aporte significativo en el área agrícola, específicamente a los productores de la ciudad de Loja y la provincia quienes basan su economía en la producción de hortalizas y cultivos de ciclo corto.

En consecuencia, el presente estudio tiene relación con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) número 2, que garantiza la seguridad alimentaria y la mejora de la nutrición y promover la agricultura sostenible y el ODS 12 “Garantiza modalidades de consumo y

producción sostenibles” (ONU, 2019). Esto se desarrolla en la línea de investigación de la Universidad Nacional de Loja denominada “Sistemas Agropecuarios sostenibles para la soberanía alimentaria”

Con lo anterior expuesto, se busca encontrar ¿Existe interacción en el consorcio bacteria y microalga para solubilización de fósforo en tomate bajo condiciones in vitro?

3.1. Objetivo General

Evaluar la interacción del consorcio bacteria y microalga en la solubilización de fósforo en tomate bajo condiciones in vitro.

3.2. Objetivos Específicos

- Calcular la solubilización de fosfatos y la concentración de fosforo por la interacción del consorcio microbiano bacteria-alga (*Pseudomonas* sp y *Chlorella* sp) como microorganismos estimuladores de crecimiento vegetal.
- Estimular de la germinación de semillas de tomate en condiciones controladas mediante la aplicación del consorcio microbiano bacteria-alga (*Pseudomonas* sp y *Chlorella* sp).

4. Marco teórico

4.1. El Cultivo de Tomate

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es originario de Sudamérica, de la región andina (Chile, Ecuador, Bolivia, Perú y Colombia), donde existe la mayor variabilidad genética y abundancia de tipos silvestres. Sin embargo, su domesticación comenzó en el sur de México y el norte de Guatemala y llegó a Europa en el siglo XVI y principios del XVII, donde se cultivó en los jardines de Italia, Inglaterra, España y Francia, donde se utilizó por primera vez como planta ornamental por la belleza y el color de su fruto. A finales del siglo XVIII, el tomate comenzó a cultivarse como planta comestible (Jaramillo, 2013).

Los tomates son ricos en vitaminas A, B1, B2, B6, C y E y en minerales como fósforo, potasio, magnesio, manganeso, zinc, cobre, sodio, hierro y calcio. También son nutritivos, ya que contienen proteínas, hidratos de carbono, fibra, ácido fólico, ácido tartárico, ácido succínico y ácido salicílico (Jaramillo, 2013).

4.2. Interacción del Consorcio Bacterias y Microalgas

Diversas investigaciones han encontrado un nuevo enfoque de biorremediación, el utilizar los consorcios de microalgas y bacterias adheridas, que son ubicuas en plantas, sedimentos y piedras en agua. Las microalgas tienen la capacidad de asimilar nitrógeno y fósforo inorgánicos en concentraciones muy bajas (por ejemplo, menos de 0,5 y 0,03 mg L⁻¹), mientras que las bacterias pueden eliminar nutrientes a través de la asimilación, la oxidación anaeróbica de amoníaco, la nitrificación y la desnitrificación de nitrógeno y la absorción regular de fósforo. La comprensión de las complejas interacciones entre las microalgas y bacterias adheridas señalan cómo las interacciones cooperativas permiten un consorcio funcionalmente estable (Liu et al., 2017).

La alta biodiversidad en el consorcio bacteria y microalga soporta interacciones complejas entre y dentro de los grupos de microalgas y bacterias adjuntas, tales como las interacciones cooperativas para promover el crecimiento tanto de microalgas como de bacterias, y las interacciones competitivas o antagonistas por nutrientes y espacio. En consecuencia, las complejas interacciones dentro del consorcio facilitarían la formación de una estructura comunitaria estable y el mantenimiento de funciones ecológicas sostenibles como grupo (Liu et al., 2017).

Básicamente, las microalgas pueden sostener el crecimiento bacteriano proporcionando carbono orgánico (incluyendo carbohidratos y proteínas), mientras que el consumo de O₂ y la

liberación de CO₂ por las bacterias reducirán la tensión fotosintética de oxígeno y aumentarán la concentración de CO₂ respectivamente, lo que da como resultado un mayor crecimiento de las algas. A su vez, las bacterias descomponen la materia orgánica en forma mineral y secretan metabolitos extracelulares como auxinas y vitamina B₁₂, que son esenciales (Liu et al., 2017).

4.3. Importancia agronómica del fósforo

El fósforo (P) es un macronutriente esencial que participa directamente en los ácidos nucleicos, la división celular y el crecimiento de nuevos tejidos, que regulan la síntesis de proteínas y la transferencia de energía. Además, es necesario para diversos procesos celulares como la fotosíntesis, el metabolismo de los carbohidratos, la producción de energía y la homeostasis redox. El P juega un papel clave en el desarrollo de las raíces: modifica la anatomía y las características de las raíces, así como densidad del pelo radicular, con una contribución significativa en el aumento del rendimiento de los cultivos. Los niveles adecuados de disponibilidad de P en los suelos, entre otros factores, contribuyen significativamente a la productividad de los cultivos. El P puede limitar el crecimiento normal de las plantas si el suelo no lo proporciona o las cantidades adecuadas de fertilizantes no se suministran. En consecuencia, la deficiencia de P puede causar reducciones significativas (hasta un 15 %) en el rendimiento de los cultivos (Elhaissofi et al., 2022).

4.4. Disponibilidad del fósforo en los suelos

El fósforo en el suelo existe en diferentes formas químicas, ya sea orgánica o inorgánica. Además de la fracción de fósforo fácilmente disponible que los fertilizantes fosfatados pueden proporcionar significativamente, las actividades de las raíces y los microorganismos asociados también contribuyen a mejorar la disponibilidad de fósforo en el suelo de la rizosfera. Las formas inorgánicas de P incluyen minerales que lo contienen como elemento estructural, tales como apatitas, strengita y variscita, que son muy estables, y su solubilidad depende del pH del suelo. Las formas orgánicas de P consisten en compuestos que varían en términos de biodisponibilidad y solubilidad. Por ejemplo, la mayoría de las formas orgánicas de P suelen existir como anhídridos de ácido fosfórico y formas de fosfonatos originadas a partir de residuos vegetales y estiércol animal. Mientras tanto, una proporción importante de P orgánico, entre el 3 y el 14 %, está ligada a la biomasa microbiana, que compete con las plantas por el P disponible. A largo plazo, esta biomasa microbiana podría representar una reserva temporal inmovilizada de P, que puede mineralizarse y liberarse en la solución del suelo como P disponible (Jaramillo, 2013).

Para suplir las necesidades de P en el suelo se estudia el uso de material fosfatado como lo es la Roca Fosfórica (RF). La aplicación de RF a los suelos como fuente de fósforo fertilizante (P) es una práctica que se ha estudiado en los últimos años. Los resultados experimentales han demostrado que la RF es más efectiva cuando se usa en suelos ácidos que son extremadamente deficientes en P. Sin embargo, esta depende principalmente de su solubilidad. Para aumentar la eficiencia agronómica de RF, el uso de microorganismos agrícolamente beneficiosos involucrados en el ciclo P es una estrategia biotecnológica prometedora que ha ganado interés mundial en las últimas décadas (Jaramillo, 2013).

4.5. Bacterias Solubilizadores de Fósforo

Los microorganismos comúnmente conocidos como solubilizadores de P (SP) pertenecen al grupo de microorganismos promotores del crecimiento vegetal (MPCV) debido a sus capacidades de fitoestimulación. Entre los MPCV, las rizobacterias promotoras del crecimiento de las plantas exhiben una mayor capacidad de solubilización de P y se han categorizado como bacterias solubilizadoras de fosfato (BSF) porque presentan beneficios sustanciales para el crecimiento y el rendimiento de las plantas (Jaramillo, 2013).

Las bacterias solubilizadoras de fosfato (BSF) son capaces de solubilizar la forma de P no disponible en formas solubles, mejorando así la disponibilidad posterior de P para las plantas. Especies bacterianas pertenecientes a varios géneros tales como *Pseudomonas* spp. *Agrobacterium* spp. Y *Bacillus* spp, se utilizan como inoculantes del suelo para aumentar la disponibilidad de fósforo (Jaramillo, 2013).

4.5.1. *Pseudomonas* sp

Son bacterias que pueden ejercer un efecto benéfico directo, a través de la síntesis de fitohormonas y de vitaminas, estimulación de la germinación de semillas y emergencia de plántulas, inhibición de la síntesis de etileno y solubilización de fósforo (P) inorgánico. De manera indirecta, favorecen a la planta por medio de síntesis de antibióticos y fungicidas, competencia por nutrientes, producción de sideróforos o por la inducción de la resistencia sistémica a patógenos. Pueden también actuar como agentes de control biológico, capaces de proteger a las plantas de la infección, causadas por agentes fitopatógenos (Cano, 2011).

4.6. Microalgas

Las microalgas son organismos microscópicos que se encuentran tanto en el mar como en el agua dulce. Pueden clasificarse como microorganismos eucariotas o cianobacterias

procariotas (algas verdeazuladas), con más de 25 000 especies ya aisladas e identificadas. Se caracterizan por el corto tiempo de generación, lo que les permite multiplicarse exponencialmente en condiciones ambientales favorables. En la práctica, a diferencia de los cultivos comestibles, las microalgas no presentan un problema ético, ya que no son necesarios terrenos cultivables para su uso. Además, la proliferación de microalgas tiene lugar durante todo el año, por lo que podrían producirse durante todas las estaciones. La alta tasa de productividad de las microalgas garantiza una rápida generación de los productos deseados y, lo que es más importante, causa una mayor capacidad y tasa de fijación de CO₂ (Gómez Luna, 2007).

4.6.1. *Chlorella sp*

Muchas microalgas del suelo pueden fijar el nitrógeno de la atmósfera y convertir el fósforo insoluble en una forma soluble. En comparación con otras microalgas, *Chlorella sp.* Tiene una gran capacidad para producir oxígeno y presenta ventajas evidentes en cuanto a tolerancia al estrés y eficiencia de eliminación de contaminantes. *Chlorella sp.* Puede promover la biodegradación de la materia orgánica del suelo y aumentar el contenido de carbono orgánico del suelo y nitrógeno nítrico (Jaramillo et al., 2013).

Chlorella sp. Es un alga verde de forma elipsoidal, la cual crece en forma de células simples. Pertenece a la división *Chlorophyta* y a la clase de las *Chlorophyceae*. Se ha cultivado de forma intensiva con fines de alimentación y obtención de metabolitos. El sistema por lote es el más utilizado a gran escala por su bajo riesgo de contaminación y fácil implementación (Infante et al., 2012).

El género ha sido aplicado al tratamiento biológico de aguas residuales, probando su efectividad en la remoción de nitrógeno, fósforo, demanda química de oxígeno y metales. Su uso en aplicaciones de biorremediación ha sido bastante amplio, en forma suspendida o inmovilizada, como cepa pura o en asociación con otros microorganismos no fotosintéticos (Infante et al., 2012).

4.7. Método colorimétrico para la cuantificación de fosfatos (Mo-Blue)

Los métodos colorimétricos para identificar el fosfato permiten cuantificar los iones de orto fosfato como producto de la solubilización de los compuestos fosfatados, el método de azul de molibdeno es un método descrito por Murphy and Riley (1962) en el que determina los orto-fosfatos que hay disueltos en una muestra acuosa. Determinando el color azul formado por la reacción de los orto-fosfatos, el ion molibdato y el ion antimonio, reducidos con ácido ascórbico

en medio ácido $\text{pH} < 1$. El complejo azul de fosfo-molibdeno, donde el resultante es detectado en el interior de un espectrofotómetro a 880 nm (Rodríguez-Gámez et al., 2013).

4.7.1. Medio NBRIP

Nautiyal (1999) demostró que el medio NBRIP (National Botanical Research Institute Phosphate growth medium) resultó ser más eficiente que el medio Pikovskaya (PVK), para detectar microorganismos solubilizadores de fosfato, siendo mayor en el ensayo en caldo que demostró consistentemente una eficiencia aproximadamente 3 veces mayor en comparación con PVK a diferencia del ensayo en placas de agar, sugiriendo que los microbios del suelo deben examinarse en el ensayo de caldo NBRIP para identificar los solubilizantes de fosfato más eficientes.

4.7.2. Uso del fosfato tricálcico (Ca_3PO_4) como factor universal para el aislamiento y evaluación de bacterias solubilizadoras de fósforo

Se conoce que cerca de 90 % de esos insumos se precipitan como formas insolubles de fosfato tricálcico (Ca_3PO_4) en suelos alcalinos, y fosfato de hierro (FePO_4) o fosfato de aluminio (AlPO_4) en suelos ácidos, que no son utilizables por las plantas lo cual favorece su acumulación (Beltrán, 2014). A su vez Corrales (2014) expone que por reacciones químicas las bacterias son capaces de convertir el fosfato tricalcico $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ en fosfato di y monobásicos asimilables para las plantas.

5. Metodología

5.1. Localización del Estudio

El presente estudio se realizó en el cantón Loja de la provincia de Loja, la primera fase del ensayo se realizó en el Laboratorio de Microbiología Vegetal del Centro de Biotecnología de la Universidad Nacional de Loja, cuyas coordenadas son Latitud: 04° 03' 74" Sur, longitud 79° 20' 46" Oeste, y altitud de 2 134 msnm (figura 1), mientras que la segunda fase se realizó en el Banco de Germoplasma ubicado en la Quinta Experimental La Argelia, cuyas coordenadas son en 4° 02' 15" de Latitud Sur, 79° 11' 59" de Longitud Oeste y a una altitud de 2 133 m.s.n.m (Google Earth, 2023).



Figura 1. Ubicación del Laboratorio de Microbiología Vegetal, del Centro de Biotecnología y de la Quinta Experimental La Argelia, de la Universidad Nacional de Loja, cuyas ubicaciones están marcadas de rojo (Google Earth, 2023).

5.2. Metodología General

El siguiente estudio tiene un enfoque experimental, con un alcance descriptivo, desarrollado en dos etapas, la primera se evalúa en cantidad la solubilización de fósforo que puede existir en la interacción del consorcio bacteria-alga bajo condiciones controladas y la segunda etapa se evalúa a través de la estimulación de crecimiento en las semillas, el número de semillas y las características que estas presentan bajo los distintos tratamientos,

Las semillas fueron adquiridas de origen comercial, se usó el tomate Pomodoro de variedad FLORADADE, mientras que las cepas de bacterias *Pseudomonas* y la microalga *Chlorella* sp fueron proporcionadas por el Centro de Biotecnología

5.3. Diseño Experimental

Para la primera fase de la investigación se tomaron las 5 cepas y la microalga (figura 2) junto a un control con 5 repeticiones cada una, siendo cada cepa una unidad experimental, al ser un ensayo de espectrofotometría no requiere de un diseño en específico, a diferencia de la segunda etapa al ser en condiciones controladas se realiza un diseño completamente al azar (DCA), se toma como unidad experimental una planta con 10 repeticiones por cada tratamiento (figura 3) durante el lapso de 30 días como se muestra en la siguientes figuras. El agua destilada se emplea como testigo negativo y el ácido Indo acético como testigo positivo

Testigo	T:0
<i>Pseudomona</i> sp. 2F (MA2)	T:1
<i>Pseudomona</i> sp. 6F (LC6)	T:2
<i>Pseudomona</i> sp. 9B (SP9)	T:3
<i>Pseudomona</i> sp. 10F (SP10)	T:4
<i>Pseudomona</i> sp. 13F (SP13)	T:5
<i>Chlorella</i> sp.	T:6

Figura 2. Tratamientos para el primer objetivo de Solubilización de Fosfatos, tomando como testigo caldo nutriente sin inocular

T:1 R1	T:0 R1	T:1 R2	T:2 R1	T:0 R8	T:4 R2	T:3 R1	T:4 R8	T:1 R5	T:2 R6
T:4 R1	T:2 R2	T:4 R6	T:0 R10	T:3 R8	T:1 R6	T:0 R3	T:2 R4	T:0 R5	T:2 R9
T:1 R8	T:3 R3	T:0 R2	T:4 R5	T:1 R4	T:2 R3	T:3 R2	T:0 R9	T:1 R10	T:3 R4
T:2 R7	T:4 R7	T:3 R9	T:2 R10	T:3 R6	T:4 R9	T:1 R3	T:4 R4	T:2 R8	T:4 R10
T:0 R7	T:3 R5	T:1 R7	T:0 R6	T:4 R3	T:3 R10	T:2 R5	T:3 R7	T:0 R4	T:1 R9

Agua Destilada	T:0
Acido Indo acético (AIA)	T:1
<i>Pseudomona</i> sp.	T:2
<i>Chlorella</i> sp.	T:3
<i>Pseudomona</i> sp. y <i>Chlorella</i> sp.	T:4

Figura 3. Diseño completamente al azar (DCA) cada planta es una unidad experimental con 10 repeticiones sometidas a 5 tratamientos dentro de la Quinta Experimental La Argelia

5.4. Metodología para el primer objetivo:

Calcular la solubilización de fosfatos y la concentración de fósforo por la interacción del consorcio microbiano bacteria-alga (*Pseudomonas* sp y *Chlorella* sp) como microorganismos estimuladores de crecimiento vegetal.

Se usó una metodología propuesta por Acurio Vásquez et al. (2020). Se evaluaron 5 cepas de *Pseudomonas* sp, bajo luz UV (254 nm) y una muestra de *Chlorella* sp, (Tabla 1), las bacterias se reactivaron en tubos de ensayo con caldo nutritivo y se incubaron a 37 °C durante

48 horas. Se preparó un medio de cultivo NBRIP con la formulación usada por Tejera et al. (2013) (Glucosa, 10g; Ca₃PO₄, 5 g; MgC₁₂ 6H₂O, 0,25 g; KCl, 0,2 g; (NH₄)² SO₄, 0,1g; H₂O destilada, 1 L), el medio se esterilizó a 121 °C por 15 minutos y 1 atm de presión, el fosfato tricálcico se esterilizó en seco por separado y se agregó al medio estéril NBRP. Se sembró 200 µL de las bacterias activas en matraces de 100 mL con 50 mL de medio NBRIP y se incubaron con agitación a 30 °C y 100 rpm, durante 7 días, se usó Mo-Blue con agua destilada para el blanco (Rodríguez et al., 2013).

Tabla 1. Cepas evaluadas de *Pseudomonas* sp

Número de aislado	Localidad	Cultivo	Códigos de laboratorio	Códigos reportado en el TIC
2 F	Macará	Arroz	PM2R2	MA2
6 F	Loja	Coliflor	PM6R1	LC6
9 B	Saraguro	Papa	PM8R1	SP9
10 F	Saraguro	Papa	PM8R1.2	SP10
13 F	Saraguro	Papa	PM9R2	SP13

Elaborado por: Nayeli Cumbicos (2023)

Así mismo, se preparó el reactivo Mo-Blue con soluciones de ácido sulfúrico (H₂SO₄, 5N), tartrato de antimonio y potasio (C₈H₄K₂O₁₂Sb₂·3H₂O), molibdato de amonio ((NH₄)₆Mo₇O₂₄) y ácido ascórbico (C₆H₈O₆, 0,1 M) mediante la metodología de Bobadilla y Rincón (2008).

5.4.1. Curva de calibración y espectrofotometría

Para la curva de calibración, se partió de la metodología propuesta por Murphy & Riley (1962), se realizaron soluciones madre en partes por millón (ppm) de KH₂PO₄ en diferentes concentraciones de agua destilada, se realizaron los estándares detallados en la tabla 2, para el blanco se usó agua con reactivo Mo Blue.

Tabla 2. Curva de calibración de fosfatos

Soluciones estándar ppm (µg/mL)	mg de fosfato (KH ₂ PO ₄) (uL)	Disolución agua destilada (uL)
0	0	3200
1	100	3100
2	200	3000
4	400	2800
6	600	2600
8	800	2400
10	1000	2200

Elaborado por: Nayeli Cumbicos (2023)

De las soluciones madre, se extrajeron 2 ml en frascos ámbar por triplicado, agregando

800 μL del reactivo Mo-Blue, se agitó y se dejó reposar en temperatura ambiente. A los 15 minutos se midió la absorbancia a 880 nm en el espectrofotómetro UV-visible JENWAY, y se obtiene una media de los datos como se muestra en la tabla 3, obteniendo así una curva estándar $y = 0.0545x + 0.0298$ con un $R^2 = 0.9847$ como se muestra en la figura 4.

Tabla 3. Absorbancias para la curva de calibración de fosfatos.

PPM	ABS 880 nm
0	0,000
1	0,080
2	0,154
4	0,259
6	0,383
8	0,486
10	0,536

Elaborado por: Nayeli Cumbicos (2023)

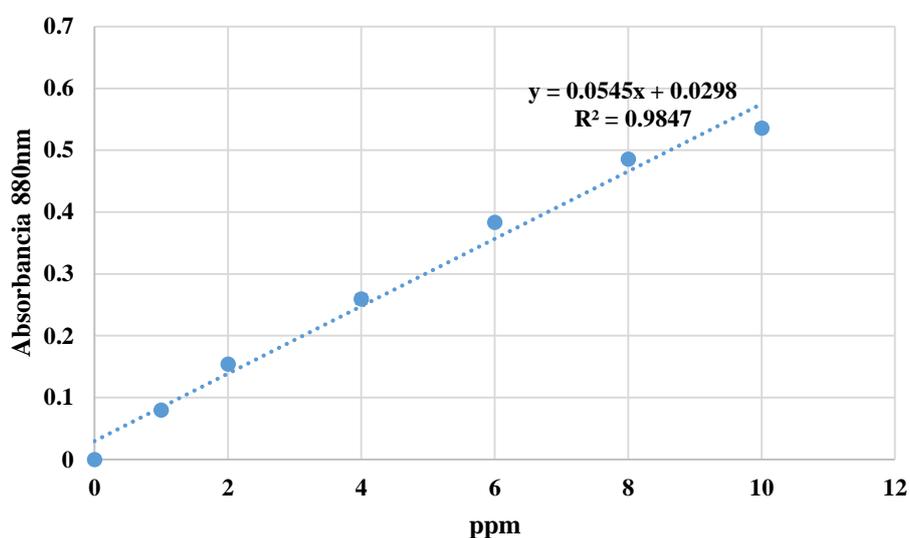


Figura 4. Curva de calibración estándar de fosfatos. Fuente: Nayeli Cumbicos (2023)

Transcurrido el periodo de incubación se centrifugaron 2 mL de muestra a 5.000 rpm durante dos minutos, al finalizar se tomaron 500 μL del sobrenadante y se mezclaron con 800 μL de reactivo Mo-Blue. Posteriormente, se aforó a 2 mL con agua destilada y se midió por espectrofotometría a 880 nm en el espectrofotómetro. La absorbancia obtenida se reemplazó en la ecuación de la curva patrón para determinar la concentración (ppm) de fosfatos solubilizados por cada concentración de ppm.

5.5. Metodología para el Segundo Objetivo:

Medir el nivel de estimulación de la germinación de semillas de tomate en condiciones in vitro mediante la aplicación del consorcio microbiano bacteria-alga (*Pseudomonas* sp y *Chlorella* sp)

5.5.1. Reactivación de cepas

1. Las cepas activadas en agar nutrientes fueron conservadas en medio King B e incubadas a $28\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 72 horas.
2. Para determinar si las cepas de *Pseudomonas* sp son *P. fluorescens* se verificaron por la emisión de fluorescencia de las colonias bajo luz UV (254 nm).

5.5.2. Inoculación de *Pseudomonas* sp en semilla de tomate mediante Bio-priming

1. Para la inoculación de los tratamientos se ocupó el método propuesto por Rivera-Conde et al (2018). Por cada réplica se colocaron 33 semillas dentro de una gasa y se cerró con ligas dentro de un frasco con 1 L de agua destilada en aireación por 24 h mediante una bomba de pecera. Después, las semillas se distribuyeron uniformemente en placas Petri de plástico (60 mm diámetro) y se eliminó el agua de la superficie mediante aireación con dos ventiladores por 3 h en condiciones de laboratorio.
2. Las *Pseudomonas* se inocularon por triplicado para cada cepa mediante la inmersión de la semilla por 2 h en 2 mL de una suspensión bacteriana a una densidad celular de $3,9 \times 10^9 \text{ UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$ (absorbancia de 1,740 a 560 nm).
3. *Chlorella* se inoculó por triplicado mediante la inmersión de la semilla por 2 h en 2 mL de una suspensión de *Chlorella* de densidad celular de $1 \times 10^7 \text{ cel/ml}$ (absorbancia de 0,336 a 560 nm) (Bumandalai, 2019).
4. Para la evaluación del consorcio se estableció una relación 1 ml de *Chlorella* de densidad celular de $1,17 \times 10^7 \text{ cel/ml}$ (absorbancia de 0,660 a 560 nm) junto con 1 ml de *Pseudomonas* a una densidad celular de $3,7 \times 10^9 \text{ UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$ (absorbancia de 1,381 a 560 nm).
5. Cada tratamiento se colocó en placas Petri con papel filtro estéril, se agregaron 3.5 mL de agua destilada a cada caja y se colocaron en una cámara de germinación a $28 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 5 días.

Una vez transcurrido el tiempo establecido, se evaluó el porcentaje de germinación en las semillas que cumplen el periodo establecido en la cámara y de las bandejas de germinación a través de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Germinación} = \frac{N^{\circ} \text{ semillas germinadas}}{N^{\circ} \text{ total de semillas}} \times 100$$

6. Tiempo de germinación T_{50}

Así mismo se evaluó el tiempo en días en el que las semillas con el tratamiento de *Chlorella* germinaron al 50 % de acuerdo con la ecuación descrita por Salehzade., et al. (2009).

$$T_{50} = t_i + \frac{\left(\frac{N}{2} - n_i\right) (t_j - t_i)}{n_j - n_i}$$

Donde N es el número final de germinación, n_j y n_i son el número acumulado de semillas germinadas por conteo adyacente al momento en que $n_i < N/2 < n_j$, t_i el número de días que corresponden a n_i y t_j el número de días que corresponden a n_j .

5.5.3. Evaluación del consorcio bacteria microalga en el vigor de plántula de tomate

1. Se seleccionaron al azar 10 semillas germinadas por cada repetición del experimento anterior y se trasplantaron en bandejas de plástico durante 30 días con turba rubia PRO-MIX PGX esterilizada a 121 °C por 1.5 h. Se tomaron 10 plántulas por repetición (30 plántulas por tratamiento), se lavaron las raíces con agua corriente y se dejaron a temperatura ambiente por 72 h; posteriormente, se colocaron en una estufa a 42 °C por 1 h y después permanecieron a 60 °C por 24 h (Rivera-Conde et al., 2018).

Al finalizar, con una balanza analítica, se obtuvo las medidas de altura, longitud de raíces y número de hojas.

5.6. Análisis Estadístico

Para el Análisis estadístico de los resultados se usó el software *INFOSTAT* para realizar un análisis de varianzas (ANOVA) en donde se determina si existe diferencia significativa entre las variables avalado con pruebas de normalidad y varianza, para posteriormente realizar una prueba Tukey al 5%, en las variables que no cumplen con lo anterior mencionado, se someten a una prueba no paramétrica de Kruskal Wallis para identificar la diferencia entre los tratamientos.

6. Resultados

6.1. Resultados para el Primer Objetivo:

Calcular la solubilización de fosfatos y la concentración de fósforo por la interacción del consorcio microbiano bacteria-alga (*Pseudomonas* sp y *Chlorella* sp) como microorganismos estimuladores de crecimiento vegetal.

La cepa 9B (SP9) fue la única cepa fluorescente UV (254 nm) que podría ser *Pseudomonas fluorescens* (figura 5), una de cuyas características más importantes fue la fluorescencia como indicador del productor de auxinas y solubilizador de fosfato. Por lo tanto, es seleccionada para evaluar su capacidad de concentrar fosfatos para la prueba.

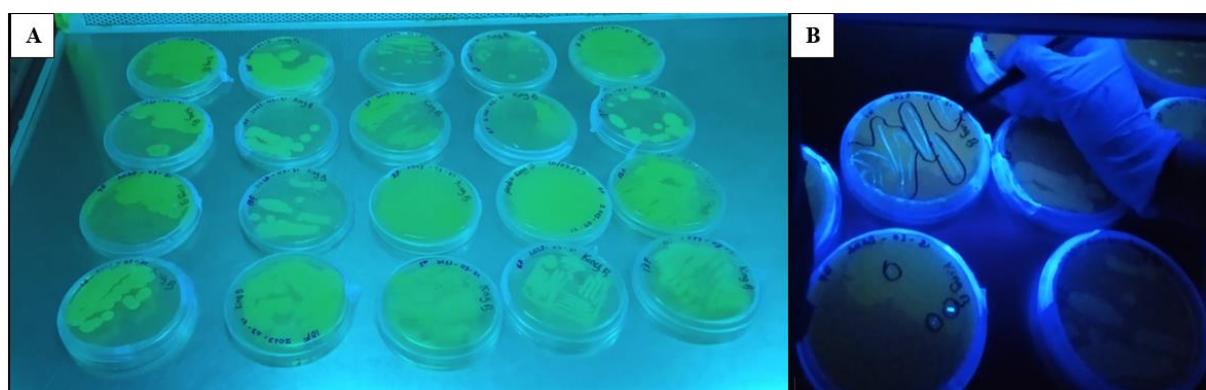


Figura 5. Prueba de luz UV (254 nm) a las 5 cepas de *Pseudomonas* sp (A) identificando a la cepa 9B (SP9) como *Pseudomonas fluorescens* (B) Fuente: Nayeli Cumbicos (2023)

Las cepas de *Pseudomonas* (MA2), (SP10) y (SP13), fueron descartadas al presentar absorbancias negativas, (Tabla 4) es decir, no asimilaban el fósforo de mejor manera. Mientras la cepa 9B (SP9) fue quien presentó mayores niveles de solubilización con un valor de 5.39, la cepa 6F (LC6) tuvo un valor de 2.96 que no es significativamente diferente a *Chlorella* sp con 2.54.

Tabla 4. Solubilización y concentración de fosfato tricálcico en 3 cepas viables de *Pseudomonas* sp y una muestra de *Chlorella* sp tras las 168 horas de incubación mediante la curva patrón obtenida para la absorbancia de fosfatos.

Tratamiento	Absorbancia	
	Medias	
T3: <i>Pseudomonas</i> sp 9B (SP9)	5.39	a
T2: <i>Pseudomonas</i> sp 6F (LC6)	2.96	b
T6: <i>Chlorella</i> sp	2.54	b
T0: Testigo	-0.57	c
T1 <i>Pseudomonas</i> sp 2F (MA2)	-2.64	d
T5 <i>Pseudomonas</i> sp 13F (SP13)	-4.01	d e
T4 <i>Pseudomonas</i> sp 10F (SP10)	-4.56	e

Letras desiguales difieren significativamente por la prueba de Kruskal Wallis ($\alpha < 0,05$). Fuente: Nayeli Cumbicos (2023).

6.2. Resultados para el Segundo Objetivo:

Medir el nivel de estimulación de la germinación de semillas de tomate en condiciones in vitro mediante la aplicación del consorcio microbiano bacteria-alga (*Pseudomonas* sp y *Chlorella* sp)

Se encontró que *Chlorella* sp (T3) presenta el mayor porcentaje respecto a la germinación, con un valor de 57.16 %, superando a los tratamientos de control negativo T0 (51.08) y positivo T1 (42.99 %), por otro lado, el T4 correspondiente al consorcio de la bacteria microalga ha presentado valores similares al T1 con un valor del 41.89 %, por último, *Pseudomona fluorescens* ha presentado menor germinación con un valor de 26.57 %

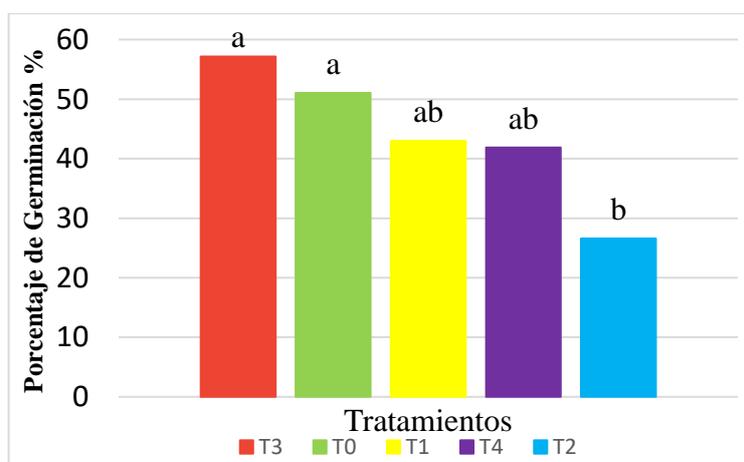


Figura 6. Porcentaje de germinación a los cinco días en la cámara de germinación. Fuente: Nayeli Cumbicos (2023) Barras con letras desiguales difieren significativamente por la prueba de Tukey ($p < 0,05$). **Leyenda:** T0 (Agua Destilada); T1 (Ácido Indo acético); T2 (*Pseudomona* sp); T3 (*Chlorella* sp); T4 (*Pseudomona* sp + *Chlorella* sp).

Se observó que el tratamiento testigo (T0) (Agua Destilada) tuvo la mejor velocidad de germinación con un valor de 89.68 % seguido por el tratamiento químico (T1) (Ácido Indo acético) con un valor de 78.16, siendo estos los tratamientos de control, los tratamientos a probar mostraron cambios a diferencia del ensayo anterior, pues el T4 (*Pseudomona* sp + *Chlorella*) ha sido el tratamiento con mejores resultados con 73.36 siendo significativamente diferente a *Chlorella* sp (T3) (69.6) y *Pseudomona fluorescens* (T2) (66.72).

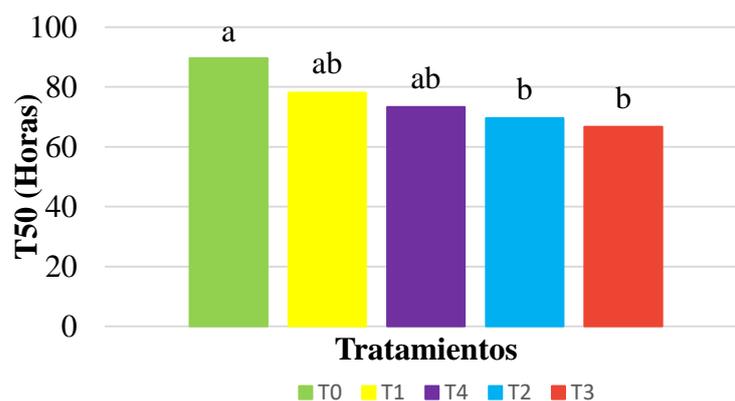


Figura 7. Velocidad de germinación (T50) transformados a horas en 5 tratamientos. Fuente: Nayeli Cumbicos (2023). Barras con letras desiguales difieren significativamente por la prueba de Tukey ($p < 0,05$). **Leyenda:** T0 (Agua Destilada); T1 (Ácido Indo acético); T2 (*Pseudomona* sp); T3 (*Chlorella* sp); T4 (*Pseudomona* sp + *Chlorella* sp).

Con respecto a las hojas verdaderas, se observó que en la primera semana de evaluación no hubo diferencias significativas respecto a los tratamientos, por otro lado, a partir de la segunda semana el tratamiento químico y el tratamiento bacteriano (T2) (*Pseudomona* sp) no tuvieron diferencias significativas entre sí, en la tercera semana el tratamiento de microalga (T3) (*Chlorella* sp) es quien presenta menor respuesta a diferencia del resto de tratamientos, en la cuarta semana el tratamiento testigo y el tratamiento químico (T1 y T2) fueron significativamente diferentes al resto de tratamientos (T2, T3 y T4).

Tabla 5. Hojas verdaderas en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) A lo largo de la evaluación.

Tratamientos	Hojas verdaderas			
	semanas			
	1	2	3	4
T0: Agua (cm)	1.10 a	2.00 b	2.90 ab	4.10 a
T1: Ac Indolacético (cm)	1.90 a	2.70 a	3.30 a	4.00 a
T2: Pseudomonas (cm)	1.10 a	2.10 ab	2.50 abc	3.40 b
T3: Chlorella (cm)	1.00 a	1.70 b	2.00 c	3.20 b
T4: Pseudomona + Chlorella sp	1.20 a	1.70 b	2.40 b	3.10 b

Letras desiguales difieren significativamente por la prueba de Kruskal Wallis ($\alpha < 0,05$). Fuente: Nayeli Cumbicos (2023).

Por otro lado, en la altura de las plantas, el tratamiento químico y el tratamiento del consorcio (T1 y T4) fueron significativamente diferentes al resto de tratamientos desde el día uno hasta el día veintiuno, a partir del día veintiséis hasta finalizar el día treinta, los tratamiento testigo, químico, bacteriano y de consorcio (T0, T1, T2 y T4) no presentaron diferencias significativas entre sí.

Tabla 6. Altura de la planta de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) A lo largo de la evaluación.

Tratamientos	Altura de la planta						
	Días						
	1	6	11	16	21	26	30
T0: Agua	0.25 b	1.87 b	3.16 ab	4.57 ab	6.17 ab	7.89 a	9.19 a
T1: Ac Indolacético	0.15 b	2.19 ab	3.77 a	5.44 a	7.39 a	9.38 a	11.2 a
T2: Pseudomonas sp	0.78 ab	2.55 a	3.61 ab	4.41 ab	5.67 ab	7.87 a	10.1 a
T3: Chlorella sp	0.40 ab	1.61 b	3.01 b	3.83 b	4.89 b	5.97 b	6.98 b
T4: Pseudomona sp + Chlorella sp	1.11 a	2.58 a	3.85 a	5.26 a	7.05 a	8.42 a	10.5 a

Fuente: Nayeli Cumbicos (2023).

Letras desiguales difieren significativamente por la prueba de Kruskal Wallis ($\alpha < 0,05$).

En cuanto a la longitud de raíces, se encontró que el tratamiento microalga (T3) (*Chlorella* sp) tuvo mayor diferencia significativa respecto a los demás tratamientos con un valor de 10.67, seguido del tratamiento químico (T1) (Ácido Indo acético) (8.23), los tratamientos del consorcio y testigo (T4 y T0) (*Pseudomona* sp + *Chlorella* sp) (Agua Destilada) no presentaron diferencias entre sí (7.62 y 6.67 respectivamente), por otro lado, el tratamiento bacteriano (T2) (*Pseudomona* sp) presentó el menor valor con 3.21.

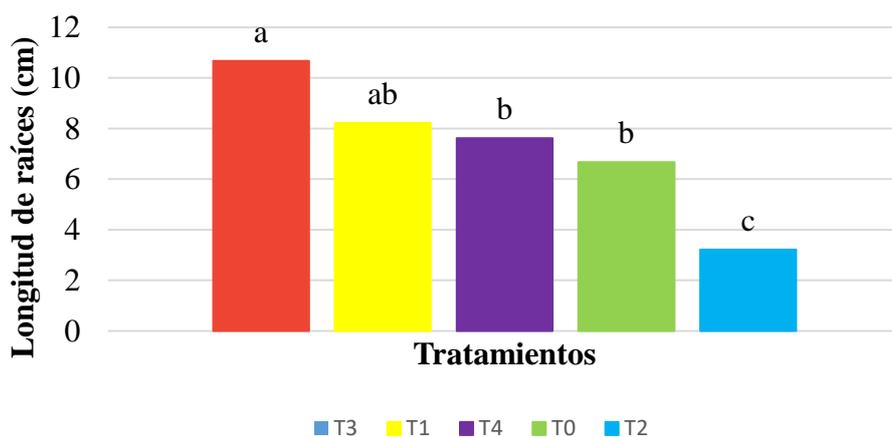


Figura 8. Longitud de raíces al finalizar el ensayo en cinco tratamientos. Fuente: Nayeli Cumbicos (2023). Barras con letras desiguales difieren significativamente por la prueba de Tukey ($p < 0,05$). **Leyenda:** T0 (Agua Destilada); T1 (Ácido Indo acético); T2 (*Pseudomona* sp); T3 (*Chlorella* sp); T4 (*Pseudomona* sp + *Chlorella* sp).

7. Discusiones

7.1. Discusión para el Primer Objetivo

La cepa 9B (SP9) mostró la absorbancia más alta entre todos los tratamientos evaluados, lo que indica que puede solubilizar mejor el fósforo (Tabla 4). Esto coincide con los resultados de Buono y Ulla (2016) que presentaron un análisis cuantitativo de fosfato tricalcico en el medio líquido NBRIP mostrando que *P. fluorescens* solubilizó más fosfato (405,3 mg/l) que otras bacterias probadas después de 6 días de incubación. Es probable que esta distinción se haya producido debido a los diferentes tiempos de incubación, condiciones de luz y método de evaluación, lo que se confirma por los resultados de Ruiz-Chutan et al., (2021) al evaluar la estabilidad de solubilización en diferentes aislados de *P fluorescens* donde se observó que el comportamiento es variado entre todos los aislados, siendo mayor su capacidad de solubilización en la resiembra o siendo menor en las pruebas de estabilidad y otros que no muestran ningún patrón definido en su capacidad de solubilización, en el presente estudio se debe considerar que se evaluó con una bacteria identificada en género pero no especie específicamente, además existe el factor tiempo que influye en su capacidad de solubilizar fosfatos. Restrepo et al., (2015) Evaluó las cepa *P fluorescens* a través de un medio sólido con un regulador de fosfato tricálcio donde se encontraron halos alrededor de la muestra UFC donde demostraba su capacidad de solubilización, debe aclararse que aparte de los estudios mencionados anteriormente, se han realizado en medios sólidos a diferencia del presente estudio en medio líquido.

7.2. Discusión para el Segundo Objetivo

El tratamiento T3 correspondiente a *Chlorella* sp tuvo los valores más altos en la germinación de semillas, a diferencia del T2 (*Pseudomona* sp.) que fue de los valores más bajos. Esto podría explicarse a que *Chlorella* sp posee mayores capacidades de asimilación al tratarse de una microalga. Por otro lado, Rivera-Conde et al., (2018) evaluaron la capacidad germinativa de la bacteria *Pseudomona f.* obteniendo valores positivos de hasta 95.9 %, sin embargo hay que considerar que no realizaron comparaciones con otras bacterias u organismos, aunque estas observaciones podrían explicar cómo el tratamiento T4 correspondiente al consorcio tuvo valores superiores a la bacteria, pero menores a los testigos, es decir , la capacidad germinativa de *Chlorella* sp, se ve muy reducida para acelerar el proceso de la bacteria, pero es contradictorio al estudio de Manikandan et al., (2010) que incrementó el proceso germinativo desde el segundo día realizando una inoculación a las semillas desde el propio suelo, caso

contrario al presente estudio donde se lo realiza de manera aislada. Esto también se refleja en los resultados de Ferrás et al. (2022) al momento de someter semillas de cacao en tratamientos con *Chlorella* sp, resultando que la aplicación de *Pseudomonas* sp a las semillas de cacao durante la siembra tuvo un impacto positivo y significativo en su emergencia; en comparación con las semillas en el mismo volumen de abono orgánico, su emergencia aumentó un 14,57%. Por lo tanto, *Pseudomonas* tiene mejor eficacia cuando se evalúa en sustrato porque podría aumentar su capacidad en consorcio con *Chlorella* sp ya que con un sustrato como lo es la turba, *Pseudomonas f.* libera auxinas, giberelinas y citoquininas además, que incrementaría el crecimiento de la microalga lo que permite la germinación a diferencia del presente ensayo en formulaciones puras.

Estas conjeturas también se ven reflejadas en la velocidad de germinación T₅₀, pues a pesar de que el T3 (*Chlorella* sp) posee una gran capacidad germinativa, es el T4 (*Pseudomonas* sp + *Chlorella* sp) quien presentó la mejor velocidad en germinar las semillas. superado únicamente por los tratamientos testigo (T0 y T1), esta posición también se observa en los estudios de Rivera-Conde et al., (2018) donde el T₅₀ h 14 cepas (75 %) de 20 cepas inoculadas con *Pseudomonas f.* aumenten la velocidad de germinación con respecto al testigo entre 31 y 38 horas siendo independientes de su porcentaje de germinación, entonces, T3 (*Chlorella* sp) puede desarrollar más rápido las semillas pero a una velocidad más lenta (66.72 h), caso contrario con T2 (*Pseudomonas* sp) que puede germinar un poco más rápido (69.6 h) pero no desarrollarlo, su uso en consorcio (T4) por acción de ambos organismos aceleran su velocidad (73.36 h) pero no su desarrollo, esto puede deberse a que la microalga no posee otros organismos ni suelo vivo en donde realizar y liberar los carbohidratos y auxinas para la misma semilla. Gómez et al. (2022) explica que gracias a la producción de polisacáridos y mucílagos, la *Chlorella* fortalece el suelo, aporta minerales y ayuda a la estructura. Además, un consorcio de cianobacterias, microalgas, y bacterias del suelo promueve la fertilidad, la absorción y almacenamiento de agua, la producción primaria, la eliminación de contaminantes, y la estabilidad general del suelo.

En el caso de las hojas verdaderas presentes al finalizar el ensayo, se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos testigo (T0 y T1) del resto de tratamientos, esta respuesta difiere significativamente con los resultados de Lino et al. (2021), Donde evaluó distintos consorcios con *Chlorella vulgaris* durante 64 días, encontrando que si la microalga tiene más de un organismo, mayor cantidad de carbohidratos liberará y existirá un mayor número de hojas, en el presente estudio la microalga presente no ha sido estudiada por especie más que genero además que los tiempos de evaluación son distintos junto a la evaluación y el

cultivo (cilantro).

Con respecto a la Altura de las plantas a lo largo del estudio, el tratamiento T1 (Ácido Indo acético) y el T4 (*Pseudomonas* sp + *Chlorella* sp) no presentaron diferencias entre sí, siendo los que mejor respuesta tienen, siendo similares a los resultados de Manikandan et al., (2010) evaluando solo *Pseudomonas* sp, con valores máximos de 6.20 cm. Esto es positivo ya que podrían ser aceptados con mayor facilidad en el mercado como alternativa biológica de los fertilizantes químicos. Cochard et al., (2022) aplicó aislados bacterianos en plántulas de tomate donde encontró que *Pseudomonas fluorescens* era capaz de desarrollar las plantas tras una aplicación en campo dando resultados favorables. En el presente ensayo, los resultados de estimulación del crecimiento después de 30 días son muy cercanos a los obtenidos con el control positivo T1 (Ácido Indo acético), lo que indica que las bacterias tienen una acción fertilizadora igual a los fertilizantes químicos. En el caso del T3 (*Chlorella* sp), la investigación de Sánchez Gutiérrez (2018), sugiere que *Chlorella* sp. Reacciona de mejor manera en un consorcio con una bacteria que en solitario, esto podría deberse a que cuenta con suelo orgánico donde liberar nitrógeno y carbohidratos que absorbe de la solubilización de la bacteria, por lo tanto, el desarrollo de las plantas empieza a acelerar.

Finalmente, la longitud de raíces también ha sufrido cambios pues no tiene una relación proporcional con las alturas, el tratamiento T3 (*Chlorella* sp), ha sido quien presentó las raíces con mayor longitud (10.67 cm), superando al tratamiento Químico T1 (Ácido Indo acético), mientras tanto el T4 (*Pseudomonas* sp + *Chlorella* sp) (7.62 cm) supera al tratamiento bacteriano T2 (*Pseudomonas* sp) (3.21 cm), por lo tanto presenta el mismo estado que los resultados de germinación, sin embargo estos logran beneficiarse entre sí, *Pseudomonas* sp inhibe el desarrollo de las raíces pero *Chlorella* sp. Compensa esto en el desarrollo del área foliar, Sánchez Gutiérrez (2018) tiene una respuesta similar para el uso de *Chlorella vulgaris* en consorcio con otras bacterias de estiércol y fertilizantes sintéticos, donde su uso en consorcio ha logrado tener raíces de 31 cm, además, hay que considerar que en el presente estudio se evaluó tanto de bacteria como microalga identificadas en especie pero no en género específico bajo condiciones distintas. Becerra y Rojas (2019). Evaluaron la capacidad de *Chlorella* como bioestimulante donde el tratamiento algal tuvo longitudes radiculares de 34.05 cm, relacionados de forma directa con sus alturas, el uso de consorcio como bioestimulante genera mayores beneficios desde el desarrollo foliar que germinativo.

8. Conclusiones

- *Pseudomonas fluorescens* de la cepa 9B (SP9) y *Chlorella* sp pueden solubilizar el fósforo de manera más efectiva, y su uso en conjunto tiene resultados positivos como bioestimuladores foliares, igualando la capacidad de un estimulante sintético, lo que reduce los costos de producción y sería una alternativa rentable y ecológica.
- *Chlorella* sp. funciona mejor como bioestimulante de germinación con o sin contacto con el suelo que los tratamientos químicos, aunque reduce su velocidad germinativa. Por lo tanto, su uso es beneficioso para futuras investigaciones y también se puede usar como tratamiento pregerminativo, ya sea en mucílago o en condiciones controladas como la cámara de germinación.
- El uso de un consorcio microbiano como medio pregerminativo en condiciones de cámara es similar al uso de componentes sintéticos, y se deben evaluar las condiciones y la formulación en las que su respuesta pueda superar los estimulantes sintéticos.

9. Recomendaciones

- Inocular por más tiempo las cepas de *Pseudomonas* sp. para evaluar su capacidad de concentración de fosfato tricálcico respecto al tiempo.
- Probar el tratamiento pre germinativo de Bio – Priming con las demás cepas descartadas del primer objetivo para evaluar su capacidad de estimulación en la germinación a pesar de no solubilizar la misma cantidad de fósforo que la cepa 9B (SP9).
- Evaluar distintas formulaciones del consorcio (*Pseudomona* sp + *Chlorella* sp) donde permita encontrar resultado similares a un tratamiento químico además de ser probados tanto en condiciones controladas como a campo abierto.

10. Bibliografía

- Acurio V, Ramiro D, Mamarandi M, Johanna E; Ojeda S, Andrea G; Tenorio M, Estefany M; Utreras, Viviana P & Vaca S, De los Ángeles I (2020). Evaluación de *Bacillus* spp. como rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) en brócoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) y lechuga (*Lactuca sativa*). *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 21 (3). <https://revistacta.agrosavia.co/html/1465/index.htm>
- Awasthi, R., Tewari, R., & Nayyar, H. (2011). Synergy between plants and P-solubilizing microbes in soils: effects on growth and physiology of crops. *International Research Journal of Microbiology*, 2(12), 484-503. https://www.researchgate.net/publication/265209336_Synergy_between_Plants_and_P-Solubilizing_Microbes_in_soils_Effects_on_Growth_and_Physiology_of_Crops
- Becerra Aldana, X., & Sánchez Rojas, G. (2019). Evaluación del potencial de *Chlorella* spp. en la germinación y producción de zanahoria (*Daucus carota* L.), en sustrato agrícola del lote A1-USME-UAN. https://ridum.umanizales.edu.co/bitstream/handle/20.500.12746/4054/Becerra_Aldana_Xiomara_2019.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Bejarano Bohórquez, D. N. (2014). Cinética de biodegradación de fenol, a partir de un cultivo de *Pseudomonas aeruginosa* aislada mediante selección, en consorcio con *Chlorella vulgaris* como matriz de inmovilización. <https://repositorio.uniandes.edu.co/bitstream/handle/1992/20027/u671866.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Beltrán, M. E. (2014). Phosphate solubilization as a microbial strategy for promoting plant growth. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 15(1), 101-113. <http://www.scielo.org.co/pdf/ccta/v15n1/v15n1a09.pdf>
- Bobadilla, C., & Rincón, S. (2008). Aislamiento y producción de bacterias fosfato solubilizadoras a partir de compost obtenido de residuos de plaza [tesis de pregrado, Pontificia Universidad Javeriana]. Repositorio institucional. <https://javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis130.pdf>
- Buono, N.I., & Ulla, E.L.. (2016). Efectos de la inoculación con bacterias solubilizadoras de fosfato en tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) y pimiento (*Capsicum annum* L.) en condiciones controladas. *Revista agronómica del noroeste argentino*, 36(2), 45-54. Recuperado en 02 de agosto de 2023, de http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2314-

369X2016000200003&lng=es&tlng=es.

- Cerón Rincón, L. E., & Ancízar Aristizábal Gutiérrez, F. (2012). Dinámica del ciclo del nitrógeno y fósforo en suelos. *Revista colombiana de Biotecnología*, 14(1), 285-295. <http://www.scielo.org.co/pdf/biote/v14n1/v14n1a26.pdf>
- Cochard, B., Giroud, B., Crovadore, J., Chablais, R., Arminjon, L., & Lefort, F. (2022). Endophytic PGPR from Tomato Roots: Isolation, In Vitro Characterization and In Vivo Evaluation of Treated Tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.). *Microorganisms*, 10(4), 765. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10040765>
- Corrales Ramirez, L. C., Arevalo Galvez, Z. Y., & Moreno Burbano, V. E. (2014). Solubilización de fosfatos: una función microbiana importante en el desarrollo vegetal. *Nova*, 12(21), 68-79. <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v12n21/v12n21a06.pdf>
- Elhaisoufi, W., Ghoulam, C., Barakat, A., Zeroual, Y., & Bargaz, A. (2022). Phosphate bacterial solubilization: A key rhizosphere driving force enabling higher P use efficiency and crop productivity. *Journal of Advanced Research*, 38, 13-28. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jare.2021.08.014>
- ESPAC (2022) Módulo de Información Ambiental y Tecnificación Agropecuaria, Instituto Nacional de Estadística y Censos. <https://www.ecuadorencifras.gob.ec/institucional/home>
- FARIÑA, J. J. G. (2022) EL USO DE ALGAS MARINAS COMO BIOESTIMULANTES THE USE OF SEAWEED EXTRACTS AS BIOSTIMULANTS. <https://riull.ull.es/xmlui/bitstream/handle/915/29095/EI%20uso%20de%20algas%20marinas%20como%20bioestimulantes.pdf?sequence=1>
- Ferrás-Negrín, Y., Bustamante-González, C. A., & Ortíz-Gómez, N. (2022). Pseudomonas en la emergencia de semillas y el desarrollo de posturas de cacao. *Agronomía Costarricense*, 46(1), 129-134. <https://www.scielo.sa.cr/pdf/ac/v46n1/0377-9424-ac-46-01-129.pdf>
- Gómez-Luna, L., Tormos-Cedeño, L., & Ortega-Díaz, Y. (2022). Cultivo y aplicaciones de *Chlorella vulgaris*: principales tendencias y potencialidades en la agricultura. *Tecnología Química*, 42(1), 70-93. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-61852022000100070#B54
- Haiwen , D., Wei , L., Zhang, H., Xuebo, Z., Huijie, D., Zhou, L., Xu, T., & Ruan, R. (2022, July 6). Improvement of phosphate solubilizing bacteria *paenibacillus xylanexedens* on the growth of *Chlorella Pyrenoidosa* and wastewater treatment in attached cultivation.

Chemosphere.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0045653522020975?via%3Dihub>

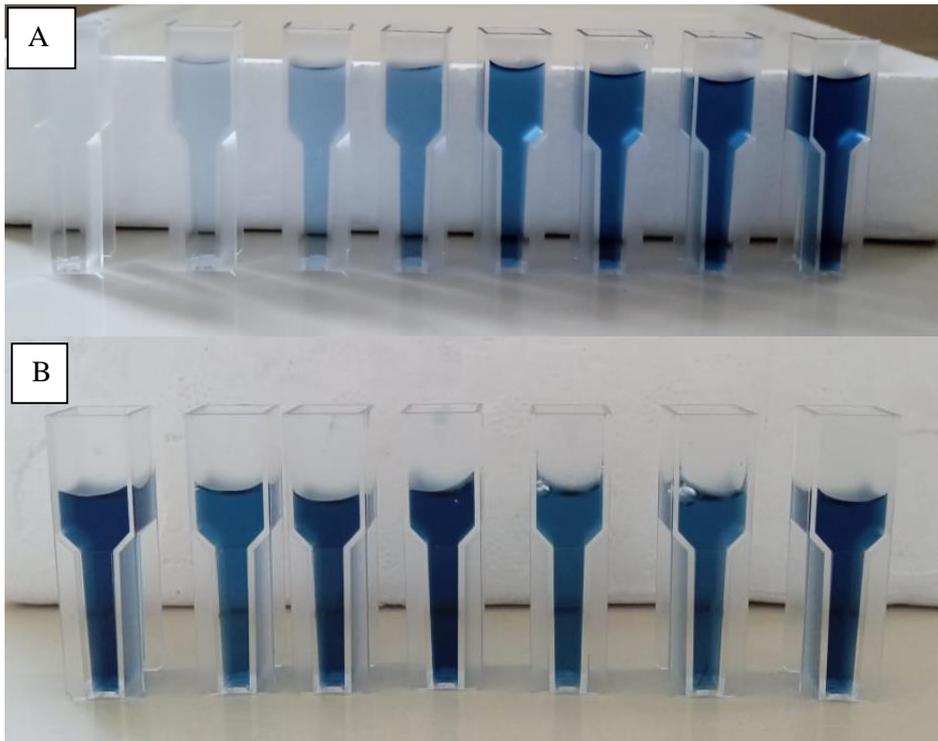
- Infante, C., Angulo, E., Zárate, A., Florez, J. Z., Barrios, F., & Zapata, C. (2012). Propagación de la microalga *Chlorella* sp. en cultivo por lote: cinética del crecimiento celular. *Avances en Ciencias e Ingeniería*, 3(2), 159-164. <https://www.redalyc.org/pdf/3236/323627686016.pdf>
- Jaramillo, N., Jorge Eliecer. (2013). Tecnología para el cultivo de tomate bajo condiciones protegidas. Corporación colombiana de investigación agropecuaria-AGROSAVIA. <https://es.scribd.com/doc/200000905/Tecnologia-para-el-cultivo-del-Tomate-CLIENTE-pdf>
- Knapp, S. (2002, Oct). Tobacco to tomatoes: a phylogenetic perspective on fruit diversity in the Solanaceae. *J Exp Bot*, 53(377), 2001-2022. <https://doi.org/10.1093/jxb/erf068>
- Leopold, K., Jacobsen, S., & Nybroe, O. (1997). A phosphate-starvation-inducible outer-membrane protein of *Pseudomonas fluorescens* Ag1 as an immunological phosphate-starvation marker. *Microbiology (Reading, England)*, 143 (Pt 3), 1019–1027. <https://doi.org/10.1099/00221287-143-3-1019>
- Lino, B. Apolinar, M. Arozarena, D. Gonzalez, P. y Zambrano, J. (2021). Evaluación del Efecto de *Chorela vulgaris* en la fertilización del Cilantro (*Coriandrum Sativum* L.), en Invernadero. *Revista Ingeniantes 2021 Año 8 No. 2 Vol. 1* <https://citt.itsm.edu.mx/ingeniantes/articulos/ingeniantes8no2vol1/6%20Evaluaci%C3%B3n%20del%20Efecto%20de%20Chorela%20vulgaris%20en%20la%20fertilizaci%C3%B3n%20del%20Cilantro.pdf>
- Liu, J., Wu, Y., Wu, C., Muylaert, K., Vyverman, W., Yu, H.-Q., Muñoz, R., & Rittmann, B. (2017). Advanced nutrient removal from surface water by a consortium of attached microalgae and bacteria: a review. *Bioresource Technology*, 241, 1127-1137. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.06.054>
- López Marín, L.M. (2016) MANUAL TÉCNICO DEL CULTIVO DE TOMATE *Solanum lycopersicum*, index. <http://repositorio.iica.int/handle/11324/3143>
- Manikandan, Rajendran & Saravanakumar, Duraisamy & Rajendran, L. & Thiruvengadam, Raguchander & Ramasamy, Samiyappan. (2010). Standardization of liquid formulation of *Pseudomonas fluorescens* Pf1 for its efficacy against *Fusarium* wilt of tomato. *Biological Control*. 54. 83-89. [10.1016/j.biocontrol.2010.04.004](https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2010.04.004).
- Ministerio de Agricultura y Ganadería. (2023). Boletín Situacional Tomate Riñón 2022 -

https://fliphtml5.com/ijia/zsuo/Bolet%C3%ADn_Situacional_Tomate_Ri%C3%B1%C3%B3n_2022/

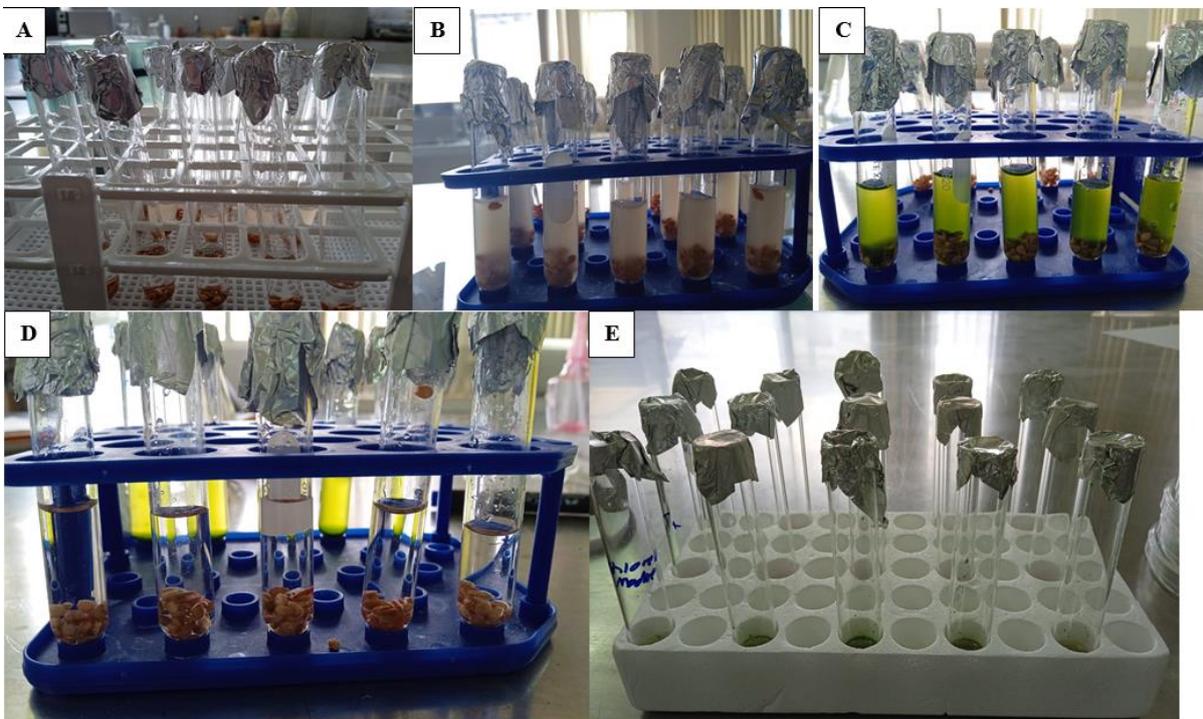
- Marques, J. M., da Silva, T. F., Vollu, R. E., de Lacerda, J. R. M., Blank, A. F., Smalla, K., & Seldin, L. (2015). Bacterial endophytes of sweet potato tuberous roots affected by the plant genotype and growth stage. *Applied Soil Ecology*, 96, 273-281. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2015.08.020>
- Murphy, J., & Riley, J. (1962). A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Architecture, Materiality and Society: Connecting Sociology of Architecture with Science and Technology Studies*, 27, 31-36. <https://doi.org/10.1057/9781137461131>
- Nautiyal C. S. (1999). An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS microbiology letters*, 170(1), 265-270. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1999.tb13383.x>
- ONU (2019) Objetivos de Desarrollo, ONU. Available at: <https://onu.org.gt/objetivos-de-desarrollo/>
- Restrepo-Franco, G. M., Marulanda-Moreno, S., Fe-Pérez, Y. D. L., Díaz-de la Osa, A., Baldani, V. L. D., & Hernández-Rodríguez, A. (2015). Bacterias solubilizadoras de fosfato y sus potencialidades de uso en la promoción del crecimiento de cultivos de importancia económica. <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/119061/1/Bacterias-solubilizadoras-de-fosfato-y-sus-potencialidades-de-uso-Baldani.pdf>
- Rivera-Conde, María Isabel, Aranda-Ocampo, Sergio, Carrillo-Castañeda, Guillermo, Gijón-Hernández, Adriana Rosalía, & Bueno-Aguilar, Graciela Margarita. (2018). Efecto de *Pseudomonas fluorescens* en la germinación de semilla y vigor de plántulas de jitomate. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 24(2), 121-131. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2017.06.023>
- Rodríguez, O., Aguilera, I., & Pérez, R. (2013). Adecuación de un micrométodo colorimétrico para la cuantificación de fósforo soluble en cultivos microbianos. *Revista Cubana de Química*, 25(1), 3-8. <http://www.redalyc.org/pdf/4435/443543730001.pdf>
- Rodríguez-Gámez, O., Aguilera-Rodríguez, I., & Pérez-Silva, R. M. (2013). Adecuación de un micrométodo colorimétrico para la cuantificación de fósforo soluble en cultivos microbianos. *Revista Cubana de Química*, 25(1), 3-8. <https://www.redalyc.org/pdf/4435/443543730001.pdf>

- Ruiz-Chutan, J. A., Berdúo-Sandoval, J. E., Sacbajá, A., Kalousová, M., Lojka, B., Fernandez, E. & Sanchez-Perez, A. (2021). Phosphorus solubilization efficiency of native Guatemalan isolates of *Pseudomonas fluorescens*. *Ciencia, Tecnología y Salud*, Vol. 8, Núm. 2, 202. 2409-3459, <https://doi.org/10.36829/63CTS.v8i2.923>.
- Salehzade, H., Shishvan, M. I., Ghiyasi, M., Forouzin, F., & Siyahjani, A. A. (2009). Effect of seed priming on germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Research Journal of Biological Sciences*, 4(5), 629-631. Retrieved from <http://docsdrive.com/pdfs/medwelljournals/rjbsci/2009/629-631.pdf>
- Sanchez Gutierrez, F. O. (2018). Evaluación de la eficiencia de un biofertilizante de residuos orgánicos en relación a otras fuentes de fertilización en el desarrollo del cultivo de Rábano (*Raphanus sativus* L.). <https://citt.itsm.edu.mx/ingeniantes/articulos/ingeniantes8no2vol1/6%20Evaluaci%C3%B3n%20del%20Efecto%20de%20Chorela%20vulgaris%20en%20la%20fertilizaci%C3%B3n%20del%20Cilantro.pdf>
- Srivastava, S., Srivastava, S., Bist, V., Awasthi, S., Chauhan, R., Chaudhry, V., Singh, P. C., Dwivedi, S., Niranjana, A., & Agrawal, L. (2018). *Chlorella vulgaris* and *Pseudomonas putida* interaction modulates phosphate trafficking for reduced arsenic uptake in rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of hazardous materials*, 351, 177-187. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.02.039>
- Silva, A. V., de Oliveira, A. J., Tanabe, I. S. B., Silva, J. V., da Silva Barros, T. W., da Silva, M. K., França, P. H. B., Leite, J., Putzke, J., Montone, R., de Oliveira, V. M., Rosa, L. H., & Duarte, A. W. F. (2021, 2021/03/01). Antarctic lichens as a source of phosphate-solubilizing bacteria. *Extremophiles*, 25(2), 181-191. <https://doi.org/10.1007/s00792-021-01220-5>
- Singh, A. K., Mishra, P., Kashyap, S. P., Karkute, S. G., Singh, P. M., Rai, N., Bahadur, A., & Behera, T. K. (2022). Molecular insights into mechanisms underlying thermo-tolerance in tomato. *Front Plant Sci*, 13, 1040532. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1040532>
- Virgen, G. and Molina, E. (2013) Los biofertilizantes en la Agricultura, Intagri S.C. <https://www.intagri.com/articulos/agricultura-organica/biofertilizantes-en-agricultura#:~:text=Los%20biofertilizantes%20son%20insumos%20formulados,de%20nutrientes%20para%20las%20plantas.>

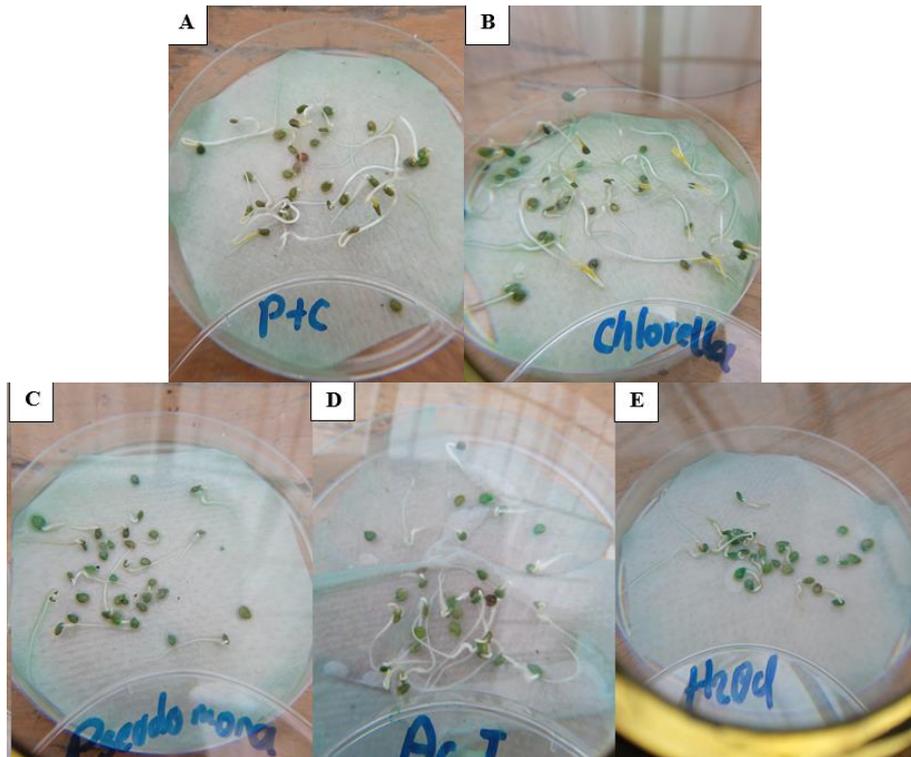
11. Anexos



Anexo 1. A. soluciones estándar para curva de calibración de fosfatos. B soluciones de las bacterias y microalgas evaluadas



Anexo 2. Método Bio-priming. (A) Ácido Indo acético, (B) *Pseudomonas* sp. (C) *Chlorella* sp. (D) Agua destilada y (E) consorcio microbiano



Anexo 3. Germinación de semillas luego de 5 días en la cámara de germinación. (A) Consorcio microbiano, (B) *Chlorella* sp, (C) *Pseudomonas* sp, (D) Ac. Indo acético y (E) Agua destilada



Anexo 4. Evaluación de las semillas en estado de invernáculo



Anexo 5. Extracción de muestras para la evaluación

Lic. Alexander Masache Escobar, Mgtr.

0987216493

alexander.masache@educacion.gob.ec

Loja - Ecuador

Loja, 25 de abril del 2024

El suscrito, Lic. Alexander Masache Escobar, Mgs, **DOCENTE EDUCACIÓN BÁSICA** (registro de la SENESCYT número: 1031-2023-2668502), **ÁREA DE INGLÉS-UNIDAD EDUCATIVA PADRE JULIÁN LORENTE**, a petición de la parte interesada y en forma legal

CERTIFICA:

Que la traducción del resumen del documento adjunto, solicitado por la señorita: **Nayeli Valeria Cumbicos Sarango** con cédula de ciudadanía N° **1900692474**, cuyo tema de investigación se titula: *"Evaluation of the interaction of the microbial consortium Pseudomonas sp and Chlorella sp as plant growth stimulators under in vitro conditions in tomato seeds (Solanum lycopersicum L.)"* *Agronomy Career*, ha sido realizado y aprobado por mi persona, Alexander Masache Escobar, Mgs. Docente de Educación Básica en la enseñanza del inglés como lengua extranjera.

El apartado del ~~Abstract~~ es una traducción textual del Resumen aprobado en español.

Particular que comunico en honor a la verdad para los fines académicos pertinentes, facultando al portador | del presente documento, hacer uso legal.



Lic. Alexander Masache Escobar, Mgs.
English Professor

Anexo 6. Certificación de traducción del resumen.