



**UMA**  
Universidad  
María Auxiliadora

**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA  
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**“ACTIVIDAD PROMOTORA DE CRECIMIENTO VEGETAL  
DE BACTERIAS AISLADAS DE LA RIZOSFERA DE  
*Plantago major* (LLANTÉN)”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO  
FARMACÉUTICO**

**AUTORES**

Bach. DE LA CRUZ VASQUEZ, BEATRIZ ISABEL

ORCID: 0009-0001-5133-5850

Bach. SILVA PALACIOS, MANUELA GUADALUPE

ORCID: 0009-0003-7236-7629

**ASESOR**

PhD HUALPA CUTIPA, EDWIN

<https://orcid.org/0000-0002-7999-6917>

**LIMA – PERÚ**

**2024**

## DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, De la Cruz Vásquez, Beatriz Isabel, con DNI 71950682 en mi condición de autora de la tesis presentada para optar el TÍTULO PROFESIONAL de Químico Farmacéutico de título "Actividad promotora de crecimiento vegetal de bacterias aisladas de la rizosfera de *Plantago major* (llantén)", **AUTORIZO** a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para publicar de manera indefinida en el repositorio institucional, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Indicar que dicho documento es **ORIGINAL** con un porcentaje de similitud 16% y, que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregado la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

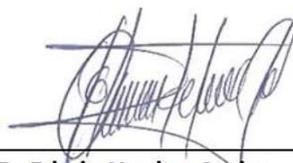
Conforme a lo indicado firmo el presente documento dando conformidad a lo expuesto.

Lima, 26, de febrero de 2025.



---

DE LA CRUZ VASQUEZ, BEATRIZ ISABEL



---

PhD. Edwin Hualpa Cutipa

## DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, Silva Palacios, Manuela Guadalupe, con DNI 03901246 en mi condición de autor(a) de la tesis presentada para optar el presentada para optar el TITULO PROFESIONAL Químico Farmacéutico de título "Actividad promotora de crecimiento vegetal de bacterias aisladas de la rizosfera de *Plantago major* (llantén)", **AUTORIZO** a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para publicar de manera indefinida en el repositorio institucional, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Indicar que dicho documento es **ORIGINAL** con un porcentaje de similitud 16% y, que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregado la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

Conforme a lo indicado firmo el presente documento dando conformidad a lo expuesto.

Lima, 26, de febrero 2024.



---

Silva Palacios, Manuela Guadalupe



---

PhD. Edwin Hualpa Cutipa

# 16% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

## Filtrado desde el informe

- ▶ Bibliografía
- ▶ Texto mencionado
- ▶ Coincidencias menores (menos de 8 palabras)

## Fuentes principales

- 15%  Fuentes de Internet
- 4%  Publicaciones
- 0%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

## Marcas de integridad

### N.º de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

## DEDICATORIA

Bach. Silva Palacios, Guadalupe

*Este trabajo está dedicado a Dios ya que gracias a él he podido concluir mi carrera. A mis padres y mis hijos por todo su amor y apoyo incondicional y aunque ya no estés conmigo papito le gritó al cielo lo logré viejito. A mis profesores y amigos que de alguna manera contribuyeron para el logro de mi carrera.*

Bach. De La Cruz Vásquez, Beatriz Isabel

*A Dios por darme la fuerza para culminar este objetivo. A mis padres por haberme forjado como persona y brindarme apoyo incondicional. A mi abuelito que siempre me daba apoyo moral hoy le envió un abrazo al cielo y le digo que si se logró. A mi esposo por todo el apoyo y aliento hasta culminar mi carrera. A mis maestros y a mi asesor por todas las enseñanzas brindadas.*

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad María Auxiliadora y los docentes quienes nos han enseñado todos los fundamentos de la carrera y nos han permitido sobresalir y encontrar una guía para nuestro desarrollo profesional.

A nuestro asesor quien nos ha orientado y guiado de manera constante en todo el proceso del desarrollo de la tesis.

# ÍNDICE GENERAL

<b>RESUMEN</b> .....	vi
<b>ABSTRACT</b> .....	vii
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	8
<b>II. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	14
<b>2.1. ENFOQUE Y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN</b> .....	14
<b>2.2. POBLACIÓN, MUESTRA Y MUESTREO</b> .....	14
<b>2.3. VARIABLES DE ESTUDIO</b> .....	15
<b>2.4. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE MEDICIÓN</b> .....	16
<b>2.5. PROCEDIMIENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS</b> .....	16
2.5.1. Recolección y reconocimiento de la muestra vegetal: .....	16
2.5.2. Aislamiento y purificación de las bacterias rizosféricas.....	17
2.5.3. Evaluación cualitativa in vitro de la solubilización de fosfato tricálcico. ....	17
2.5.4. Evaluación cualitativa in vitro de la producción de sideróforos. ....	17
2.5.5. Evaluación cualitativa in vitro de la producción de AIA.....	18
<b>2.6. METODOS DE ANALISIS ESTADISTICO</b> .....	18
<b>2.7. ASPECTOS ÉTICOS</b> .....	18
<b>III. RESULTADOS</b> .....	20
<b>3.1. Aislamiento de cepas bacterianas a partir de la rizosfera</b> .....	20
<b>3.2. Solubilización de fosfatos</b> .....	22
<b>3.3. Producción cualitativa de sideróforos</b> .....	22
<b>3.4. Detección cualitativa y cuantitativa de Ácido Indol Acético (AIA)</b> .....	23
<b>IV. DISCUSIÓN</b> .....	25
<b>4.1. Discusión de resultados</b> .....	25
<b>4.2. Conclusiones</b> .....	30
<b>4.3. Recomendaciones</b> .....	31
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	32
<b>ANEXOS</b> .....	39
<b>ANEXO A. Operacionalización de la variable</b> .....	40
<b>ANEXO B. Instrumentos de la recolección de datos</b> .....	41
<b>ANEXO C. Evidencia del trabajo de campo y laboratorio (fotos)</b> .....	49

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Cepas bacterianas aisladas a partir de la rizosfera de <i>Plantago major</i> .....	19
Tabla 2. Índice de solubilización (ISx) de fosfatos de las rizobacterias aisladas de <i>P. major</i> . ....	21
Tabla 3. Producción de sideróforos de las cepas aisladas de la rizosfera de <i>P. major</i> .....	22
Tabla 4. Producción de AIA por las cepas bacterianas aisladas de <i>P. major</i> . ....	23

## RESUMEN

Las propiedades de las plantas medicinales han sido estudiadas intensamente, sin embargo, la asociación de microorganismos a plantas medicinales de origen altoandino ha sido investigado de manera escasa. **Objetivo:** evaluar las propiedades promotoras del crecimiento vegetal de rizobacterias aisladas de la rizosfera de *Plantago major* (Llantén) mediante ensayos in vitro. **Materiales y métodos:** se aislaron un total de 50 cepas bacterianas, las cuales fueron caracterizadas morfológicamente. Se evaluó de manera cualitativa la capacidad de solubilización de fosfatos, la producción de sideróforos y la producción de ácido indol acético (AIA). **Resultados:** se logro aislar un total de 50 rizo-bacterias, de las cuales seis cepas bacterianas poseían la capacidad de solubilizar fosfatos en el medio NBRIP. Asimismo, nueve cepas mostraron producción cualitativa de sideróforos. En cuanto a la producción de AIA, 15 cepas presentaron esta capacidad, detectada mediante la prueba de Salkowski y lectura al espectrofotómetro, con variaciones en la intensidad de la reacción colorimétrica. Conclusiones: este estudio permite resaltar el potencial de las bacterias rizosféricas de *P. major* en aplicaciones agrícolas, debido a su capacidad para solubilizar fosfatos, producir sideróforos y ácido indolacético, lo que podría optimizar el desarrollo de plantas y su resistencia a condiciones adversas. Estos resultados sugieren que estas bacterias pueden ser utilizadas en futuros estudios de biofertilización, control biológico y actividad terapéutica.

**Palabras clave:** bacteria, endófitos, *Plantago major*, reguladores del crecimiento vegetal, rizosfera, sideróforos (*Fuente: DeCS*)

## ABSTRACT

The properties of medicinal plants have been intensively studied; however, the association of microorganisms with medicinal plants of high Andean origin has yet to be investigated. **Aim:** To evaluate the growth-promoting properties of rhizobacteria isolated from the rhizosphere of *Plantago major* (Llantén) by in vitro assays. **Materials and Methods:** 50 bacterial strains were isolated and morphologically characterized. Phosphate solubilisation capacity, siderophore production and indole acetic acid (IAA) production were qualitatively evaluated. **Results:** 50 rhizobacteria were isolated, of which six bacterial strains could solubilize phosphates in the NBRIP medium. Likewise, nine strains showed qualitative production of siderophores. As for the production of AIA, 15 strains showed this capacity, detected by the Salkowski test and spectrophotometer reading, with variations in the intensity of the colorimetric reaction. **Conclusions:** This study highlights the potential of rhizospheric bacteria of *P. major* in agricultural applications due to their ability to solubilize phosphates and produce siderophores and indoleacetic acid, which could optimize plant development and resistance to adverse conditions. These results suggest that these bacteria can be used in future studies of biofertilization, biological control, and therapeutic activity.

**Keywords:** bacteria, endophytes, *Plantago major*, plant growth regulators, rhizosphere, siderophores (source: MeSH).

## I. INTRODUCCIÓN

Las plantas medicinales agrupan a un conjunto de organismos vegetales con características medicinales y/o curativas las cuales han sido utilizadas por el hombre desde los inicios de su origen. Estos organismos vegetales poseen una excelente capacidad de producción de metabolitos secundarios que tienen efectos curativos contra diferentes enfermedades e infecciones ocasionadas por microorganismos patogénicos, además dichos metabolitos poseen características antimicrobianas, anti-parasíticas, antifúngicas, antivirales y hasta anticancerígenas (1-5). Los organismos vegetales forman íntimas relaciones con una diversidad de organismos y microorganismos, dentro de este grupo se han descrito varios integrantes microbianos tales como bacterias endófitas y bacterias rizósfericas. Estas últimas viven asociadas a la rizosfera de las plantas y en ocasiones pueden ingresar al interior de los tejidos convirtiéndose en endófitos bacterianos de la planta huésped sin ocasionar efectos nocivos aparentes. Estas bacterias poseen varias ventajas como promover el crecimiento de las plantas, aumentan su resistencia a los patógenos y al estrés, regulando la síntesis de metabolitos medicinales.

Estudios recientes demuestran la relación entre las bacterias rizósfericas y las plantas medicinales. Las rizobacterias pueden tener múltiples aplicaciones en la agricultura, la medicina y la industria, debido a su capacidad de mejorar el crecimiento vegetal, potenciar la resistencia de las plantas a factores ambientales adversos y producir metabolitos medicinales. Su distribución y población dependen de la genética, la salud y el medio ambiente de la planta huésped. Comprender los endófitos y rizobacterias puede ayudar a utilizarlos para mejorar el rendimiento y la calidad de las plantas medicinales (6,7).

Las rizobacterias de plantas agrícolas pueden promover el crecimiento y la salud de las plantas, pero poco se conoce sobre las rizobacterias asociadas a plantas medicinales de origen altoandino. Estudios desarrollados en *Teucrium polium* permitieron el aislamiento de endófitos bacterianos y fúngicos donde se caracterizaron sus propiedades promotoras del crecimiento vegetal. Los endófitos identificados como especies de *Bacillus* y *Penicillium*. Ambas bacterias produjeron hormonas de crecimiento vegetal, enzimas, antimicrobianos y solubilizaron

fosfatos. Estos endófitos y consorcios seleccionados se aplicaron sobre el crecimiento de la planta medicinal. Las rizobacterias mejoraron el crecimiento de las plantas, por lo que pueden utilizarse como inoculantes para la producción sostenible de cultivos (8).

Los microorganismos endófitos y rizosféricos asociados a las plantas medicinales *Hypericum perforatum* y *Ziziphora capitata* poseen actividades antimicrobianas contrastadas. Los extractos obtenidos de *H. perforatum* mostraron una fuerte actividad antimicrobiana. Mediante MALDI-TOF MS se identificaron las bacterias rizósfericas y endofíticas cultivables presentes en esta planta. En la planta *H. perforatum* se encontraron más bacterias con actividad antagonista. Los aislados antagonistas controlaron la podredumbre radicular por *Fusarium* en tomates y fueron capaces de estimular el crecimiento de las plantas en el invernadero, mostrando potencial como agentes de biocontrol rentables (13).

Un estudio de 24 plantas medicinales de los Ghats occidentales logro el aislamiento de 75 endófitos y rizobacterias. Mediante la secuenciación del gen 16S rRNA se identificó 13 géneros, perteneciente principalmente a Gammaproteobacterias y Firmicutes. La secuenciación del genoma permito identificar además especies dentro de los géneros dominantes *Bacillus*, *Enterobacter* y *Serratia*. Cinco aislados mostraron actividad antimicrobiana contra el patógeno *Pectobacterium*. La aplicación de enfoques moleculares y genómicos permitió la obtención de una colección única de endófitos y rizobacterias de plantas medicinales que albergan grupos de genes de metabolitos especializados que pueden analizarse en busca de nuevos compuestos bioactivos (14).

Otro estudio evaluó la capacidad de las bacterias rizósfericas y endófitas asociadas a mānuka. Diez bacterias aisladas de esta planta mostraron la capacidad de inhibir hongos botriosferiáceos. Pruebas sobre los mutantes de rifampicina y PCR ERIC confirmaron que 2 aislados colonizaban endofíticamente la vid cuando se inoculaban sobre las heridas. Las bacterias fueron capaces de inhibir 2 especies de botryosphaeriaceos y redujeron la longitud de las lesiones patógenas (32-52%) frente a los controles. Mānuka permitió obtener nuevos microbios para el biocontrol en agricultura sostenible, lo cual demuestra que los endófitos y rizobacterias de

plantas medicinales pueden transferirse a otros huéspedes y suprimir enfermedades (15).

Actualmente existe un gran problema por la sobrepoblación y crecimiento demográfico estimándose que al 2050 la población humana alcanzará los 9000 millones, indiscutiblemente este incremento poblacional desencadenará una necesidad abundante por alimento. Para sobrellevar este problema requerirá una mayor producción de alimentos hasta en un 80%. Por lo tanto, se requiere estrategias adecuadas para enfrentar y mejorar el rendimiento de los cultivos con estrategias amigables con el ambiente (9,10).

Por otro lado, otro problema importante para destacar es el tema relacionado a la resistencia microbiana a los antibióticos que requiere soluciones urgentes y búsqueda de nuevos compuestos con actividad antimicrobiana que reemplacen a los antibióticos tradicionales. Otra problemática adicional es la contaminación ambiental, sobre todo la asociada a las matrices acuáticas por la emisión de efluentes residuales, por lo cual, los microorganismos asociados a plantas pueden ser empleados en los procesos de biorremediación para el tratamiento de dichos contaminantes (11,12).

**Las rizobacterias o también conocidas como rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR)** son microorganismos que forman parte de la rizosfera vegetal, y tienen diferentes propiedades al desarrollar una relación simbiótica con la planta. Benefician a la planta al mejorar crecimiento de las plantas a través de una diversidad de mecanismos: solubilización de fosfatos minerales, producción de sideróforos, fijación de nitrógeno atmosférico, moldear la arquitectura de la rizosfera, entre otras descritas ampliamente (16).

**Las plantas medicinales** son altamente valoradas debido a sus características y propiedades de producción de metabolitos secundarios. El Llantén (*Plantago major*) es una planta originaria de América y Europa utilizada ampliamente en la medicina andina para el tratamiento de dolor de muelas, dolor de oídos, halitosis, lesiones orales, llagas en la boca, epistaxis, hemoptisis, dientes flojos, gingivitis y amigdalitis haciendo gárgaras con el jugo de las hojas o su decocción, o dejándolo caer en el oído y aplicando hojas secas semi-calientes sobre el lugar afectado (17-19). Sin embargo, poca o escasa información se ha elaborado acerca de los

microorganismos rizosféricos asociados a esta planta, dichos microbios de la rizosfera y epifitos poseen un elevado potencial biotecnológico.

Específicamente no se reportan estudios previos en la especie *Plantago major* en nuestra latitud, sin embargo, en otras zonas se han desarrollado ensayos para el estudio de rizobacterias asociadas a otras especies del género *Plantago*.

Bhardwaj et al. (2023) lograron el aislamiento de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) de la rizósfera de *Acorus calamus*, una planta medicinal de alta relevancia. Mediante métodos moleculares, se identificaron las cepas KH8, ND15, GP17 y NR24 como *Obesumbacterium proteus* MK036425, *Hafnia* sp. MH825718, *Kosakonia oryzae* MH825719 y *Bacillus thuringiensis* MK036424, respectivamente, con una similitud del 99% en el gen 16S rRNA. Estas cepas demostraron actividades significativas de solubilización de fosfatos (49-72,52 µg/ml), producción de sideróforos (52-83 %SU), enzimas líticas y compuestos como HCN y amoníaco. Este estudio enfatiza la potencialidad de estas rizobacterias para ser usadas en bioformulaciones, contribuyendo a la sostenibilidad ambiental (20).

Estudios desarrollados por Shi et al. (2023) desarrollaron el aislamiento de tres cepas bacterianas con alta eficiencia en la fijación de nitrógeno desde la rizosfera y tejido radicular de *Astragalus mongolicus*, una planta medicinal tradicional en China. Las cepas identificadas como *Bacillus* sp. J1, *Arthrobacter* sp. J2 y *Bacillus* sp. G4, fueron seleccionadas entre 86 cepas potenciales debido a su capacidad de promover significativamente el crecimiento de *A. mongolicus*, aumentando el contenido de nitrógeno, fósforo y potasio en la planta. Los análisis filogenéticos del gen 16S rRNA confirmaron que estas cepas pertenecen a géneros bacterianos conocidos por sus propiedades benéficas para la agricultura. Además, se comprobó la ausencia de antagonismo entre las cepas, lo que permitió su combinación en un biofertilizante. Este producto no solo mejoró la biomasa y la acumulación de metabolitos activos de la planta, sino que también modificó la estructura de la comunidad bacteriana en el suelo, incrementando la abundancia relativa de Proteobacterias, grupo clave en la fijación de nitrógeno y resistencia al estrés ambiental (21).

Ensayos desarrollados por Chamkhi et al. (2023) reportan el aislamiento de 88 cepas de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) asociadas a la

rizosfera de *Crocus sativus* L. (azafrán) en la región de Taliouine, Marruecos. El análisis filogenético del gen 16S rRNA permitió identificar ocho géneros bacterianos, destacando *Pseudomonas*, *Rahnella* y *Variovorax* como los más abundantes. Estas cepas demostraron múltiples propiedades beneficiosas, como solubilización de fósforo, producción de auxinas, sideróforos, fijación biológica de nitrógeno y actividad antagonista contra *Fusarium oxysporum*. Las cepas más prometedoras serán evaluadas en ensayos de campo como biofertilizantes, buscando mejorar el rendimiento y la calidad del cultivo de azafrán (22).

Khalil et al. (2021) detallan el aislamiento de 15 hongos endófitos a partir de hojas saludables de *Ephedra pachyclada*, una planta medicinal del Protectorado de Santa Catalina, Egipto. El análisis filogenético del gen ITS permitió identificar cepas pertenecientes a los géneros *Penicillium*, *Alternaria* y *Aspergillus*, siendo *Penicillium commune* EP-5 el productor más eficiente de ácido indolacético (IAA), con  $192.1 \pm 4.04$   $\mu\text{g/mL}$  en presencia de  $5$   $\mu\text{g/mL}$  de triptófano. Además, *Aspergillus flavus* EP-14 mostró una alta capacidad de solubilización de fosfatos. Estos hongos demostraron promover el crecimiento de *Zea mays* L., mejorando la longitud de raíces y aumentando la biomasa. Los resultados sugieren su potencial aplicación como biofertilizantes ecológicos (23).

Otros ensayos desarrollados por Hlongwane et al. (2023) reportan el aislamiento de tres cepas de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) a partir de nódulos radiculares de *Lessertia frutescens*, una planta medicinal nativa de Sudáfrica. El análisis filogenético del gen 16S rRNA permitió identificar las cepas como *Mesorhizobium* sp. TUTLFNC33, TUTLFNC37 y TUTLFWC74. La cepa TUTLFNC37 demostró ser la más prometedora, induciendo tolerancia a la sequía mediante el aumento de la proliferación radicular, acumulación del osmolito prolina y cierre estomático. Además, la inoculación con esta cepa mejoró la biomasa, la actividad antioxidante y la síntesis de metabolitos secundarios como los sutherlandiosidos y sutherlandinas. Este estudio destaca el potencial de TUTLFNC37 como un bioinoculante ambientalmente amigable para mitigar el estrés hídrico en cultivos medicinales (24).

Estudios realizados por Saryanah et al. (2021) lograron el aislamiento de 150 bacterias endófitas y rizobacterias asociadas a *Curcuma xanthorrhiza* en Indonesia,

de las cuales 57 mostraron propiedades promotoras del crecimiento vegetal. El análisis funcional reveló que 29 cepas tenían capacidad de solubilizar fosfato, 32 podían fijar nitrógeno y 55 producían ácido indolacético (IAA) en concentraciones de hasta 79.243 mg/L. Diez cepas seleccionadas, incluyendo endófitas y rizobacterias, demostraron aumentar significativamente la longitud de raíces y el peso fresco de plántulas de arroz, pero no tuvieron efectos significativos en el crecimiento de cúrcuma de Java. Los resultados destacan el potencial de estas bacterias como biofertilizantes sostenibles para la agricultura (25).

Estudios sobre las características y actividad promotora de crecimiento vegetal de bacterias aisladas de la rizosfera de *Plantago major* son relevantes para la industria farmacéutica, debido al mayoritario empleo de esta planta medicinal en la formulación de productos medicinales y nutracéuticos, gracias a sus propiedades antiinflamatorias, antimicrobianas y cicatrizantes. La optimización del cultivo de *P. major* empleando bacterias promotoras de crecimiento (PGPR) ayudaría a incrementar el rendimiento y la calidad de los metabolitos bioactivos de la planta, mejorando así la eficiencia en la producción de principios activos. Adicionalmente, el enfoque y potencial biotecnológico mediante la asociación con PGPR puede reducir la necesidad de insumos agrícolas sintéticos, garantizando la sostenibilidad y calidad de las materias primas utilizadas en la elaboración de productos farmacéuticos, conllevando a una extracción y desarrollo sostenible en el tiempo.

Por lo tanto, el objetivo del estudio es identificar las características promotoras de crecimiento vegetal de rizobacterias aisladas de la rizosfera de *Plantago major*.

Hipótesis: En la rizosfera del *Plantago major* se encuentra rizobacterias que presentan características promotoras de crecimiento vegetal mediante la producción de fosfatos, solubilización de fosfatos y producción de Ácido Indol Acético.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1. ENFOQUE Y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

**Enfoque:** Este trabajo de investigación es de ruta cuantitativa porque cuenta con variables cuyas mediciones otorgan datos numéricos susceptibles a ser organizados con herramientas estadísticas, aunque la naturaleza de las variables es mixta cualitativa y cuantitativa.

**Diseño:** Se empleo un diseño no experimental puesto que, aunque se buscó establecer una causa de promoción del crecimiento vegetal en las bacterias aisladas de la rizosfera; la cantidad de biomasa de estas no fue manipulada por el investigador para establecer un nivel de relación más profundo y explicativo.

**Tipo o Alcance:** Correccional causal al intentar establecer la relación entre la presencia de bacterias aisladas de la rizosfera de *P. major* y la promoción del crecimiento vegetal evidenciado en tres indicadores como fueron (i) la solubilización de fosfatos, (ii) producción de sideróforos y de (iii) ácido indolacético (fitohormona).

**Corte:** Transversal al aislarse las bacterias y analizar sus propiedades promotoras del crecimiento vegetal en un único evento, o periodo de tiempo de investigación.

### 2.2. POBLACIÓN, MUESTRA Y MUESTREO

La población de estudio estuvo conformada por bacterias rizósfericas asociadas a las plantas llantén. 3 individuos de *P. major* fueron seleccionadas con la finalidad de obtener 500 gramos del suelo rizosférico, los cuales fueron extraídos de la zona circum-lacustre del distrito, provincia y departamento de Puno ubicado a 3820 msnm, tomando las coordenadas aproximadas de 15°43'18.6"S y 69°46'59.93"W. La muestra estuvo constituida por las bacterias asociadas al suelo rizosférico (500 g) de seis plantas de Llantén siguiendo criterios tales como:

Los criterios de inclusión considerados serán los siguientes:

- Plantas sanas
- Raíces de las plantas
- Bacterias procedentes de la rizosfera del llantén

Los criterios de exclusión serán:

- Plantas enfermas

- Otras partes de la planta.

El muestreo desarrollado en el proyecto fue mediante muestreo aleatorio simple buscando seleccionar las plantas en el área seleccionada, donde cada planta tuvo la misma probabilidad de ser recolectada (27).

### 2.3. VARIABLES DE ESTUDIO

#### **Variable uno: Cepas de bacterias rizósfericas.**

**Definición conceptual:** Las bacterias rizósfericas son microorganismos que colonizan la rizosfera de las plantas, desarrollando un nicho ecológico en el suelo. Este grupo de bacterias viven de manera inocua en el suelo y forman parte del microbiota benéfico del suelo que se asocia a las raíces vegetales (28).

#### **Definición operacional:**

Aislamiento y caracterización de bacterias de la rizosfera de plantas de *P. major* mediante técnicas microbiológicas.

#### **Variable dos: Características promotoras de crecimiento vegetal.**

**Definición conceptual:** Características fisiológicas de bacterias rizósfericas que promueven el crecimiento vegetal mediante diferentes mecanismos tales como: solubilización de fosfatos por la producción de fitasas y ácidos orgánicos, producción de sideróforos con actividad quelante de moléculas de hierro, producción de Ácido Indol Acético (AIA) como un precursor de la fitohormona vegetal (29).

#### **Definición operacional:**

Las Características promotoras de crecimiento vegetal indican las propiedades o actividad de un componente biológico que participa y contribuye en el desarrollo de las plantas. Bajo esta premisa se evaluaron los siguientes parámetros: i) producción de fitohormonas: evaluación de la capacidad de las bacterias en la producción de un precursor de la fitohormona ácido indolacético (AIA) mediante la adición del reactivo de Salkowski, ii) solubilización de fosfatos: ensayos in vitro en medio NBRIP, realizados con la finalidad de evaluar la capacidad de las bacterias para

transformar fosfatos insolubles en formas solubles que puedan ser absorbidas por las plantas, iii) producción de sideróforos: análisis de la capacidad de las bacterias rizósfericas en la producción de sideróforos (metabolitos quelantes de hierro), dicha evaluación se realiza en medio modificado de Cromo Azurol Sulfonato (CAS) (29).

## 2.4. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE MEDICIÓN

La técnica fue observacional, para la cual se aplicaron los siguientes ítems:

- **Guía de Observación:** se utilizaron fichas de datos para registrar el crecimiento celular, la identificación de las cepas y registrar datos cualitativos como como color, tamaño, forma de las cepas bacterianas. Adicionalmente se registraron las características promotoras de crecimiento vegetal (índices de solubilización de fosfatos, producción de sideróforos y producción de Acido Indol Acético por longitud de onda).

## 2.5. PROCEDIMIENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS

### 2.5.1. Recolección y reconocimiento de la muestra vegetal:

Las plantas fueron recolectadas de la zona circum-lacustre de la ciudad de Puno a 3820 msnm. Se tomaron seis muestras de 500 g del suelo rizosférico del Llantén, los cuales fueron colocados en bolsas estériles ziploc, manteniéndolos bajo refrigeración en cooler con gel packs hasta su transporte al laboratorio. Toda la recolección fue desarrollada en condiciones estériles utilizando guantes para su manipulación (28).

### 2.5.2. Aislamiento y purificación de las bacterias rizosféricas

Con la finalidad de recuperar las bacterias de la rizosfera, 10 g del suelo rizosférico fueron colocados en 90 ml de una solución salina (NaCl 0.8%), dicha muestra estuvo bajo agitación constante por un periodo de 30 minutos a temperatura ambiente (27). A partir de esta muestra se realizaron diluciones sucesivas ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  y  $10^{-4}$ ). Seguidamente, 100  $\mu$ L de cada dilución fueron inoculadas en placas Petri con medio de cultivo para crecimiento bacteriano (agar Luria Bertani), finalmente, las placas fueron

incubadas a 30°C ±2 por 48 h o hasta observar crecimiento y aparición de colonias visibles (27). El siguiente paso consistió en seleccionar todas las colonias separadas y repicarlas en los medios de cultivo utilizados previamente con la finalidad de aislarlas y obtener cepas bacterianas puras. Una vez obtenido el pool de cepas se procedió a su almacenamiento en un banco de cepas utilizando glicerol al 30 %, el cual se utilizó como crioprotectante (30).

### **2.5.3. Evaluación cualitativa in vitro de la solubilización de fosfato tricálcico.**

Las bacterias rizósfericas fueron reactivadas en agar LB e incubadas a 28 °C y luego fueron inoculadas en caldo LB a una temperatura de 28 °C con la finalidad de alcanzar un crecimiento exponencial o una población de  $3 \times 10^7$  UFC. A partir de esta muestra 100 µL fueron inoculados sobre el medio NBRIP (10 g de glucosa, 5 g de  $MgCl_2$ , 0.2 g de KCl, 0.25 g de  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0.1 g de  $(NH_4)_2SO_4$ , 5 g de  $Ca_3(PO_4)_2$  y 15 g de agar) con el objetivo de inducir la solubilización del fosfato mineral (29). Este ensayo fue realizado por triplicado. Cada placa se incubó a 28 °C por un periodo de cinco días hasta observar la formación de halos de solubilidad.

### **2.5.4. Evaluación cualitativa in vitro de la producción de sideróforos.**

Para la evaluación de la producción de sideróforos se empleó el medio de cultivo agar Cromo Azurol Sulfonato (Agar CAS). La preparación de este medio posee cierta complejidad: 0.06 g de CAS en 50 ml de  $H_2O$  son mezclados con 10 ml de solución de cloruro de hierro (0.0027 g  $FeCl_3 \cdot 6 H_2O$  y HCl 10 mM). Luego se agrega una solución de 0.073 g de HDTMA (Bromuro de hexa-decil-trimetil-amonio) en 40 ml de  $H_2O$ , donde se obtiene una solución de color azul oscuro. Seguidamente, se prepara una mezcla de 800 ml de  $H_2O$ , 100 ml de MM9 (g/L:  $KH_2PO_4$ , 30; NaCl, 50; 100 g  $NH_4Cl$  y 20 ml de glucosa al 20 %.) 1.5 % de agar y 10.29 g de Tris-HCl 0.1 M (65,66). Finalmente, se mezclan las soluciones esterilizadas agregando la solución colorante azul a lo largo del vidrio y se agita. Los montajes se realizan por triplicado inoculando por punción la bacteria a evaluar, en el centro de una placa de 6 mm Agar CAS y se incubo por 3 días a 28 °C (33).

### **2.5.5. Evaluación cualitativa in vitro de la producción de AIA.**

Se emplearon tubos de ensayo con 5 ml de caldo LB suplementado con triptófano (0.1%) a los cuales se inoculo 20 µl de inóculo bacteriano, seguidamente fueron incubados a 28 °C por 72 manteniendo una agitación constante (150 rpm). Se tomo el sobrenadante para la evaluación el cual fue obtenido de la siguiente manera: centrifugación de los tubos a 5000 rpm durante 5 min, transfiriendo solo 2 ml del sobrenadante a un tubo de ensayo nuevo y se descartó el pellet. Se adiciono 4 ml del reactivo de Salkowsky (FeCl<sub>3</sub> al 2 % en ácido perclórico 0.5 M al 35 %). Esta mezcla se mantuvo en oscuridad, a temperatura ambiente durante 30 min. Finalmente se verifico el viraje de coloración, indicando las positivas con un tono color rosa muy fuerte (35, 36).

## **2.6. METODOS DE ANALISIS ESTADISTICO**

Uso del programa Microsoft Excel para la tabulación de los datos.

## **2.7. ASPECTOS ÉTICOS**

Se han tenido en cuenta varias consideraciones éticas fundamentales para el desarrollo del estudio. En primer lugar, se ha evaluado el impacto ambiental de la toma de muestras de la rizosfera, utilizando métodos ecológicos y no destructivos para la recolección. Esta práctica garantiza la conservación del ecosistema local y previene la posible extinción de especies. Asimismo, se ha asegurado la obtención de los permisos pertinentes al recolectar muestras de áreas protegidas o de propiedad privada, incluyendo el consentimiento de las comunidades locales cuando sea necesario. Este enfoque respeta tanto los derechos de las personas como las normativas ambientales vigentes. La investigación se ha realizado con un alto grado de transparencia, presentando los métodos y resultados de forma clara y honesta. Además, se han declarado posibles conflictos de interés y se ha asumido la responsabilidad en la interpretación de los hallazgos. Al trabajar con microorganismos y plantas, se ha considerado la importancia de la biodiversidad y el uso sostenible de los recursos biológicos, investigando el impacto potencial de las prácticas en otras especies del ecosistema.

### III. RESULTADOS

#### 3.1. Aislamiento de cepas bacterianas a partir de la rizosfera

Un total de 50 bacterias cepas bacterianas fueron aisladas a partir del suelo rizosférico (tabla 1), donde se observó distintos tamaños y formas de la colonia en cada cepa bacteriana.

**Tabla 1. Cepas bacterianas aisladas a partir de la rizosfera de *Plantago major***

Etiqueta	Morfología	Color	Tamaño (mm)
Pmjr1	Bacilo	Blanco	1.5
Pmjr2	Cocos	Amarillo	2.0
Pmjr3	Espirilo	Rosa	1.8
Pmjr4	Bacilo	Verde	2.5
Pmjr5	Cocos	Naranja	1.2
Pmjr6	Bacilo	Blanco	2.0
Pmjr7	Espirilo	Crema	1.5
Pmjr8	Cocos	Blanco	2.3
Pmjr9	Bacilo	Amarillo	1.7
Pmjr10	Espirilo	Verde	2.8
Pmjr11	Cocos	Blanco	1.6
Pmjr12	Bacilo	Naranja	2.1
Pmjr13	Espirilo	Crema	2.0
Pmjr14	Bacilo	Rosa	1.9
Pmjr15	Cocos	Blanco	1.4
Pmjr16	Bacilo	Amarillo	2.6
Pmjr17	Espirilo	Verde	1.7
Pmjr18	Cocos	Crema	2.2
Pmjr19	Bacilo	Naranja	2.4
Pmjr20	Espirilo	Blanco	1.5
Pmjr21	Cocos	Rosa	1.8
Pmjr22	Bacilo	Verde	2.7
Pmjr23	Espirilo	Crema	1.9
Pmjr24	Cocos	Blanco	2.0
Pmjr25	Bacilo	Amarillo	2.3
Pmjr26	Espirilo	Naranja	2.1
Pmjr27	Cocos	Crema	1.6
Pmjr28	Bacilo	Blanco	2.4
Pmjr29	Espirilo	Rosa	1.5
Pmjr30	Cocos	Verde	2.5
Pmjr31	Bacilo	Crema	2.2
Pmjr32	Espirilo	Blanco	1.7
Pmjr33	Cocos	Amarillo	2.0
Pmjr34	Bacilo	Naranja	2.1
Pmjr35	Espirilo	Crema	2.3
Pmjr36	Cocos	Blanco	1.9
Pmjr37	Bacilo	Rosa	2.5
Pmjr38	Espirilo	Verde	1.8
Pmjr39	Cocos	Crema	2.1
Pmjr40	Bacilo	Blanco	2.6
Pmjr41	Espirilo	Amarillo	1.5
Pmjr42	Cocos	Naranja	2.4

<b>Pmjr43</b>	Bacilo	Crema	2.2
<b>Pmjr44</b>	Espirilo	Blanco	1.9
<b>Pmjr45</b>	Cocos	Verde	2.0
<b>Pmjr46</b>	Bacilo	Naranja	2.5
<b>Pmjr47</b>	Espirilo	Crema	2.3
<b>Pmjr48</b>	Cocos	Blanco	1.6
<b>Pmjr49</b>	Bacilo	Amarillo	2.1
<b>Pmjr50</b>	Espirilo	Verde	2.7

La tabla 1, presenta la agrupación de diferentes cepas bacterianas donde se describen sus características morfológicas, colores y tamaños de colonia. Referente a la morfología, las cepas se agrupan en tres distintas categorías morfológicas: i) Bacilo: forma más frecuente en la tabla, con un total de 19 cepas, estos bacilos presentaron una característica más alargada y en forma de bastón; ii) cocos: 16 cepas aisladas muestran forma de cocos, siendo estas células redondeadas o de forma esférica; iii) espirilo: la cual incluye 15 cepas que mostraron una forma espiral o helicoidal. Con respecto al color de las colonias, el color blanco es el color más común, presente en 14 cepas, este color es una característica muy habitual en las colonias bacterianas y probablemente este asociado con una diversidad de especies. El color crema es el segundo color con mayor frecuencia, con 10 cepas. Este color, también es un color típico en bacterias con capacidad de producir pigmentos con ligero color. Los colores amarillo, Verde, Naranja, y Rosa fueron menos comunes, sin embargo, cada uno aparece en varias cepas, indicando ligeras diferencias en la producción de pigmentos bacterianos. Por último, el tamaño de las colonias varía entre 1.2 mm y 2.8 mm, sugiriendo diferencias en la tasa de crecimiento y la capacidad de expansión de las diferentes cepas.

Cada aislado obtenido fue purificado en una placa individual y seguidamente almacenado a -80 °C, empleando un anticongelante como el glicerol (30%) y el medio de cultivo respectivo (LB).

### 3.2. Solubilización de fosfatos

La evaluación para la solubilización de fosfatos fue desarrollada en el medio NBRIP utilizando un indicador de pH (verde bromocresol) (anexo 2). La formación de un halo alrededor de la colonia permitió diferenciar las bacterias positivas a la prueba de solubilización de fosfatos, siendo 6 las bacterias positivas: Q1R1, PS3, Q1Rh2, Q1Rh6, Q1Rp2 y PS8. Por otra parte, en la tabla 2, se aprecia los índices de solubilización de fosfatos tomados a partir de los halos formados.

**Tabla 2. Índice de solubilización (ISx) de fosfatos de las rizobacterias aisladas de *P. major*.**

Especie	Cepa	Φ halo	Φ colonia	ISx (A/B) (mm)
<i>Plantago major</i>	Pmjr10	3.15	1.05	3.0
	Pmjr14	4.09	1.2	3.4
	Pmjr2	3.8	1.23	3.1
	Pmjr45	4.5	1	4.5
	Pmjr50	3.83	1.33	2.9
	Pmjr40	5.32	1.26	4.2

El índice de solubilización de fosfatos en las bacterias positivas a la prueba de solubilización, donde la cepa Q1RH2 mostro una elevada capacidad cualitativa de solubilización frente a las demás, siendo una cepa con un alto potencial promotor de crecimiento vegetal.

Según la tabla 2, se observan el diámetro del halo y la colonia, así como la relación ISx (A/B), para diferentes cepas asociadas a *P. major*. Los diámetros del halo varían de 3.15 mm a 5.32 mm y los de la colonia de 1.0 mm a 1.33 mm. La relación ISx (A/B), que indica la efectividad de la cepa en la formación del halo, varía entre 2.9 y 4.5, siendo Q1RH2 la más alta (4.5 mm) y Q1RP2 la más baja (2.9 mm). Las variaciones en los diámetros y la relación ISx sugieren diferencias en la actividad de las cepas, posiblemente reflejando distintas capacidades de interacción con el entorno o de producción de compuestos.

### 3.3. Producción cualitativa de sideróforos

La detección cualitativa de la producción de sideróforos fue desarrollada en el medio CAS (Cromorazul) el cual es ampliamente empleado para este tipo de evaluaciones (tabla 3). La formación de un halo naranja alrededor de la colonia

permite identificar de manera positiva los microorganismos con capacidad de producir sideróforos. La prueba de sideróforos fue positiva en 9 cepas bacterianas del total de cepas aisladas, tal como se aprecia en el anexo 3.

**Tabla 3. Producción de sideróforos de las cepas aisladas de la rizosfera de *P. major*.**

Código de cepa	Producción de sideróforos (formación de halo)	Tamaño de halo (mm)
Pmjr9	+	0.9
Pmjr10	+	0.7
Pmjr11	+	0.5
Pmjr12	+	0.6
Pmjr19	+	0.2
Pmjr26	+	0.5
Pmjr33	+	1
Pmjr45	+	1.5
Pmjr50	+	1.2

La tabla 3 muestra los datos cualitativos de la producción de sideróforos de las cepas bacterianas aisladas de la rizosfera de *P. major*, señalando la formación de halos y su tamaño. E las 50 cepas evaluadas, solo 9 mostraron capacidad de producir sideróforos, evidenciado por la presencia de halos (+). El tamaño de los halos varía entre 0.2 mm y 1.5 mm, lo que sugiere diferencias en la capacidad de las cepas para secretar sideróforos y movilizar hierro. Las cepas Pmjr45 y Pmjr33 presentan los halos con mayor tamaño (1.5 mm y 1.0 mm, respectivamente), lo que podría indicar una mayor eficacia en la producción de sideróforos. En contraste, la cepa Pmjr19 muestra el halo más pequeño (0.2 mm), indicando una actividad relativamente menor.

### **3.4. Detección cualitativa y cuantitativa de Ácido Indol Acético (AIA)**

La detección cualitativa de AIA se desarrolló utilizando el reactivo de Salkowski, permitiendo evidenciar el viraje a un color rosado indicando la positividad de la bacteria para esta característica (anexo 4). El cambio de coloración tras la reacción con el reactivo permite detectar la presencia de anillos indol en el sobrenadante, lo cual indica la presencia del mecanismo de síntesis de AIA, tal como se aprecia en la figura 4. Adicionalmente la lectura de la cantidad de AIA producida por cada cepa se muestra en la tabla 1.

**Tabla 4. Producción de AIA por las cepas bacterianas aisladas de *P. major*.**

Cepas	AIA ( $\mu\text{g/ml}$ )
Pmjr10	0.43
Pmjr14	0.9
Pmjr16	0.52
Pmjr19	0.83
Pmjr21	0.99
Pmjr22	0.95
Pmjr23	1.08
Pmjr24	1.27
Pmjr25	0.23
Pmjr27	1.14
Pmjr29	1.41
Pmjr3	2.88
Pmjr33	2.94
Pmjr4	2.21
Pmjr50	2.85
Pmjr7	3.18

La tabla 5 muestra la producción de ácido indolacético (AIA) por las cepas bacterianas aisladas a partir de la rizósfera de *P. major*, expresada en  $\mu\text{g/ml}$ . Los niveles de AIA varían mayoritariamente entre las cepas, partiendo desde 0.23  $\mu\text{g/ml}$  (Pmjr25) hasta 3.18  $\mu\text{g/ml}$  (Pmjr7). Esta variabilidad indica diferencias en la capacidad de síntesis de esta fitohormona que promueve el crecimiento vegetal. Las cepas Pmjr7, Pmjr33 y Pmjr3 destacan por su alta producción de AIA (por encima de 2.8  $\mu\text{g/ml}$ ), lo que podría sugerir un mayor potencial para estimular el crecimiento de las plantas. En contraste, cepas como Pmjr25 y Pmjr10, mostraron niveles más bajos, indicando una actividad más limitada en la producción de AIA.

## IV. DISCUSIÓN

### 4.1. Discusión de resultados

*Plantago major* es una planta con cualidades medicinales, antimicrobianas y antioxidantes. Sus hojas contienen compuestos bioactivos como flavonoides, iridoides y fenoles, que actúan como agentes antioxidantes y protegen las células contra el estrés oxidativo (40). Estudios reportados por Monawer et al (2023) han demostrado que los extractos etanólicos de *P. major* poseen actividad antibacteriana significativa contra patógenos, mostrando zonas de inhibición de hasta 22.18 mm (41). Adicionalmente, sus propiedades antiinflamatorias también han sido documentadas, atribuidas a la presencia de glicósidos iridoides y flavonoides (45). Se ha estudiado ampliamente las propiedades medicinales de la planta, sin embargo, la presencia de las bacterias asociadas a la rizosfera que poseen propiedades promotoras de crecimiento vegetal no ha sido reportada en esta planta, siendo este uno de los principales objetivos del presente estudio.

Los resultados obtenidos en el presente estudio permitieron el aislamiento de un total de 50 cepas bacterianas a partir del suelo rizosférico de *P. major*, adicionalmente se obtuvieron levaduras y hongos, sin embargo, ellos no han sido tomados en cuenta debido a que el objetivo del estudio estuvo enfocado al aislamiento de microorganismos bacterianos. La investigación sobre el aislamiento de bacterias a partir de especies de *Plantago* resalta varios aspectos importantes sobre la interacción microbiana con estas especies vegetales. Estudios reportados por de Souza et al (2024), mencionan a *P. lanceolata*, demostrando que las semillas albergan y mantienen un microbioma central estable, el cual está dominado abundantemente por bacterias como *Pseudomonas rhizosphaerae*, *Sphingomonas faeni* y *Pirellula* spp., como ya se conoce, las bacterias de la rizosfera pueden ingresar a los tejidos mediante las raíces y convertirse en endófitos vegetales (46). Asimismo, otros estudios en *P. major* se han enfocado en el aislamiento de compuestos antibacterianos, tales como sustancias esteroides que son efectivas contra *Escherichia coli* (47). Por otro lado, estudios desarrollados por Squirrell y Wolff (2001), mencionan la identificación y aislamiento de secuencias polimórficas ubicadas en loci microsátélites en *P. major*, lo cual ha facilitado comprender con mayor claridad el aislamiento reproductivo y los patrones evolutivos de las

especies. Todos estos estudios contribuyen a comprender mejor la diversidad bacteriana y las adaptaciones evolutivas en diversas especies de *Plantago*, resaltando tanto sus funciones ecológicas como sus potenciales aplicaciones biotecnológicas (48).

El microbioma de la rizosfera influye en la absorción de nutrientes y la tolerancia al estrés de las especies de *Plantago*. Un estudio en el que se investigó la sensibilidad al hierro y su absorción en diferentes especies de *Plantago* reveló que las variaciones en las interacciones de la rizosfera, incluida la reducción de quelatos de hierro y la superficie radicular, influían significativamente en la eficiencia del hierro. En *P. major*, se observó una mayor acidificación de la rizosfera, lo que facilitó la absorción de hierro a bajas concentraciones externas. Especies como *P. lanceolata* demostraron un menor crecimiento a niveles de hierro subóptimos como resultado de una menor eficiencia en la adquisición de hierro. Este estudio indica que el microbioma, especialmente dentro de la rizosfera, influye en la capacidad de una planta para movilizar nutrientes vitales como el hierro, afectando así a su crecimiento y distribución en diversos entornos (49).

La solubilización de fosfatos es una característica inherente a microorganismos promotores de crecimiento vegetal. En el estudio desarrollado se logró identificar hasta seis cepas bacterianas con capacidad de solubilización de fosfatos. Esta propiedad PGP ha sido totalmente estudiada y descrita en una infinidad de estudios relacionados al aislamiento de microorganismos a partir de la rizosfera y los tejidos vegetales.

Las bacterias solubilizadoras de fosfato (BSF) contribuyen de forma importante al crecimiento de las plantas transformando los fosfatos insolubles en formas biodisponibles para su absorción por las plantas. Hasta la fecha no se ha identificado ninguna investigación específica que aborde directamente las BSF aisladas de especies de *Plantago*; sin embargo, una diversidad de investigaciones ofrece información sobre los mecanismos y el potencial de las BSF derivadas de otras especies vegetales. Las BSF aisladas de la rizosfera de *Cardiospermum halicacabum* y *Pisum sativa* exhibieron una notable capacidad para solubilizar fosfato, mejorando así el crecimiento de las plantas a través de la liberación de fosfato de diversos compuestos inorgánicos (50). Estos estudios generalmente

evalúan la capacidad de solubilización de fosfatos mediante la generación de halos o zonas claras que se forman en el medio de cultivo específico (agar NBRIP o Pikovskaya). Una cepa del género *Klebsiella sp.* aislada de *Sorghum bicolor*, demostró la capacidad de mejorar la germinación de semillas y el crecimiento de la planta, lo cual resalta su potencial en la biofertilización (51). La identificación de BSF puede ser desarrollada mediante diferentes técnicas, sin embargo, la identificación más precisa y con mayor aplicación es a través de la secuenciación del gen 16S rRNA es esencial para identificar cepas seguras no patogénicas con elevados índices de solubilización (52). La utilización de métodos análogos en *Plantago* podría permitir el descubrimiento de cepas BSF igualmente eficaces y ventajosas para la agricultura orgánica y el desarrollo sostenible de las plantas.

La prueba de sideróforos fue marcada en nueve cepas bacterianas aisladas de la rizosfera de *P. major*. Otros estudios reportan también la producción de sideróforos en bacterias, tales como las del género *Bacillus*, destacando a la cepa por su capacidad de mejorar la absorción de hierro en las plantas el cual es un elemento esencial en numerosos procesos biológicos. En estudios recientes, se ha observado que cepas como *Bacillus cereus* y *Bacillus thuringiensis* producen sideróforos, contribuyendo así a la promoción del crecimiento vegetal. Estas cepas no solo mejoran la disponibilidad de hierro, sino que también muestran actividad antagonista contra hongos fitopatógenos, lo que las posiciona como alternativas biológicas en la protección de cultivos y en la reducción del uso de fertilizantes químicos (53).

Por otro lado, los sideróforos (proteínas quelantes de hierro) también desempeñan un papel crucial en el biocontrol de patógenos. Investigaciones realizadas con bacterias aisladas de la rizosfera de plantas medicinales, como *Urtica dioica*, han demostrado que los sideróforos producidos por microorganismos ayudan a inhibir el crecimiento de hongos patógenos al competir por el hierro. Estas bacterias promotoras del crecimiento vegetal también potencian la absorción de nutrientes, mejorando la salud y el vigor de las plantas tratadas. Este efecto bioprotector es especialmente relevante en el manejo de enfermedades causadas por patógenos fúngicos (54).

Adicionalmente, estudios sobre *Streptomyces* en la promoción del crecimiento

vegetal y la producción de sideróforos destacan su capacidad para suprimir hongos fitopatógenos. La combinación de la producción de sideróforos y la síntesis de quitinasas en estas bacterias les permite proteger a las plantas contra una amplia variedad de patógenos. Este enfoque ecológico resulta beneficioso para mejorar el rendimiento de los cultivos, disminuyendo el uso de agroquímicos y promoviendo un manejo integrado de plagas que maximiza el uso de recursos naturales (55).

Un total de quince cepas bacterianas mostraron capacidad de producción de AIA, de ellas diez cepas reaccionaron con el reactivo Salkowski produciendo una coloración muy fuerte, y 5 cepas mostraron un cambio de coloración tenue. Estos resultados demuestran la capacidad de las bacterias rizósfericas en la producción de esta fitohormona la cual es muy importante para el crecimiento vegetal. El ácido indolacético (IAA) constituye una auxina vital sintetizada por las bacterias rizosféricas, que facilita el crecimiento de las plantas al mejorar el alargamiento celular, promover la formación de raíces laterales y aumentar la permeabilidad al agua dentro de las células vegetales. Las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) habitan en la rizosfera y los sistemas radiculares de las plantas, y establecen una relación simbiótica con sus huéspedes mediante la secreción de reguladores del crecimiento, incluido el IAA. Esta fitohormona es fundamental para regular una multitud de procesos fisiológicos, que abarcan la floración y la fructificación (52). La síntesis de AIA en especies bacterianas puede producirse a través de vías tanto dependientes como independientes del triptófano. En la vía dependiente del triptófano, el triptófano se convierte en indol-3-acetamida (IAM), que posteriormente se hidroliza para producir IAA (47). La biosíntesis del IAA por parte de estos microorganismos es crucial para mejorar la integridad estructural del sistema radicular de las plantas, lo que a su vez optimiza la absorción de nutrientes y el crecimiento general de las plantas (53). Esta estrategia biotecnológica presenta una alternativa prometedora a los fertilizantes químicos convencionales en las prácticas agrícolas, ya que fomenta el desarrollo sostenible de las plantas mediante la utilización de bacterias productoras de AIA.

De la misma manera, Yamini et al (2021) identificaron la presencia de bacterias capaces de sintetizar ácido indoleacético (AIA) en los suelos agrícolas, evaluando su influencia en el crecimiento de *Spinacia oleracea*. La cepa bacteriana aislada, *Pseudomonas fluorescens*, demostró una mejora estadísticamente significativa en

la longitud de los brotes y raíces de los especímenes tratados. Estos resultados corroboran la posible aplicación de estas bacterias como inoculantes biofertilizantes para aumentar el desarrollo de las plantas, lo que representa una alternativa sostenible a los fertilizantes químicos tradicionales (54).

Otra investigación realizada por Meneguzzi et al. (2024) exploraron la síntesis de ácido indoleacético (IAA) en cepas bacterianas autóctonas obtenidas de la rizosfera de *Minthostachys verticillata*, una especie medicinal que tiene prioridad para la conservación. Los resultados mostraron que el 50% de las cepas bacterianas examinadas poseían la capacidad de sintetizar el IAA, siendo esta una característica vital capaz de mejorar el crecimiento de las plantas. Cabe destacar una de las cepas (SM-33) mostró un rendimiento excepcional, con una producción de IAA de 936,3 ng/mL, lo que se correlacionó con un marcado aumento del peso de los brotes frescos y del peso de las raíces secas (56).

Pant y Agrawal (2014) investigaron las bacterias rizosféricas vinculadas a *Withania somnifera* y evaluaron su capacidad para producir IAA. En experimentos realizados con toallas de papel, se identificaron seis cepas bacterianas, entre ellas *Bacillus* spp., que mejoraron significativamente la germinación de las semillas y la longitud de las raíces y los brotes. Esta investigación puso de relieve el papel fundamental de la IAA en el fomento del crecimiento de la flora medicinal, y propuso que estas entidades bacterianas podrían servir como biofertilizantes eficaces para fines agrícolas (57).

Estudios similares desarrollados Randive et al (2024), evaluaron la capacidad de sintetizar IAA de cinco cepas bacterianas procedentes de la rizosfera de *Pterocarpus marsupium* Roxb. determinando su capacidad para sintetizar AIA bajo parámetros optimizados demostrando que un aislado (RP6) produjo la mayor concentración de AIA (84,12 µg/mL) cuando se sometió a incubación a 35 °C durante 96 horas, manteniendo un pH de 7 y una concentración de triptófano de 0,1 mg/ml. Esto resalta la importancia de calibrar meticulosamente las condiciones agrícolas para mejorar la biosíntesis del AIA. A nivel fisiológico, la incorporación del triptófano como precursor en la vía de síntesis de la IAA eleva notablemente la producción de esta auxina. Sin embargo, los autores de este estudio observaron que los niveles elevados de triptófano pueden impedir la síntesis de la AIA, lo que

indica que un equilibrio meticuloso de las concentraciones de este aminoácido es esencial para lograr la máxima producción. Estos resultados enfatizan la necesidad de refinar las condiciones de cultivo para facilitar la utilización efectiva del PGPR en prácticas agrícolas sostenibles (58).

Cabe resaltar que las bacterias estudiadas en este estudio mostraron interesantes características promotoras de crecimiento vegetal, siendo también potenciales reservas de metabolitos secundarios con efecto terapéutico.

## 4.2. Conclusiones

- Un total de 50 cepas bacterianas fueron aisladas a partir de la rizosfera de *Plantago major* mediante técnicas básicas de microbiología, lográndose caracterizar morfológicamente.
- Seis cepas bacterianas aislada de la rizosfera de la planta estudiada, mostraron capacidad de solubilizar fosfatos en un medio específico de fosfatos (NBRIP), demostrando la característica promotora de crecimiento vegetal y su potencial aplicación en diferentes áreas de investigación.
- La producción cualitativa de sideróforos fue identificada en nueve cepas bacterianas aisladas de la rizosfera de *P. major*, lo cual demuestra la capacidad de estos microorganismos en proteger a la planta frente a diferentes tipos de estrés biótico y abiótico.
- La producción de Acido Indol Acético (AIA) fue positiva mediante la evaluación cualitativa empleando el reactivo de Salkowski, donde quince bacterias mostraron dicha característica variando de mayor a baja producción, diferenciada por la tonalidad y viraje de la reacción colorimétrica. Demostrando que estos microorganismos poseen propiedades promotoras de crecimiento vegetal apoyando el crecimiento de *P. major*.

### 4.3. Recomendaciones

- Se sugiere realizar estudios moleculares mediante el gen ARNr 16S, con la finalidad de determinar la identidad exacta de las cepas bacterianas aisladas en el presente estudio.
- Es recomendable que se realice la cuantificación de las propiedades promotoras de crecimiento vegetal evaluadas en este estudio (solubilización de fosfatos, producción de sideróforos y producción de AIA), lo cual permitirá en un futuro tener una idea mas precisa de la producción de dichos componentes.
- Se recomienda estudiar la producción de metabolitos de interés terapéutico por parte de las cepas bacterianas aisladas, debido a que existen reportes e investigaciones que detallan esa propiedad.
- Finalmente se recomienda realizar un estudio más profundo del microbioma rizosférico asociado a *P. major*, con la finalidad de conocer toda la comunidad de microorganismos asociados a ella.
- Se recomienda realizar estudios de actividad antimicrobiana por parte de las cepas aisladas a partir de *P. major* y enfrentarlas con microorganismos patogénicos, con la finalidad de evaluar su potencial terapéutico.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. José-Luis Ríos, Recio MC. Medicinal plants and antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology* [Internet]. 2005 Aug 1 [cited 2023 Aug 15];100(1-2):80–4. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378874105003247>
2. Petrovska BB. Historical review of medicinal plants' usage. *Pharmacognosy Reviews* [Internet]. 2012;6(11):1. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3358962/>
3. Alcayde A, Jose Antonio Garrido-Cardenas, Manzano-Agugliaro F. Worldwide Research Trends on Medicinal Plants. *International Journal of Environmental Research and Public Health* [Internet]. 2020 May 12 [cited 2023 Aug 15];17(10):3376–6. Available from: <https://www.mdpi.com/1660-4601/17/10/3376>
4. Fitzgerald M, Heinrich M, Booker A. Medicinal Plant Analysis: A Historical and Regional Discussion of Emergent Complex Techniques. *Frontiers in Pharmacology* [Internet]. 2020 Jan 9 [cited 2023 Aug 15];10. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2019.01480/full>
5. Marrelli M. Medicinal Plants. *Plants* [Internet]. 2021 Jul 2 [cited 2023 Aug 15];10(7):1355–5. Available from: <https://www.mdpi.com/2223-7747/10/7/1355/htm>
6. Wei W, Chen W, Liu S, Wu J, Zhu Y, Qin LP, et al. Beneficial Relationships Between Endophytic Bacteria and Medicinal Plants. *Frontiers in Plant Science* [Internet]. 2021 Apr 22 [cited 2023 Aug 16];12. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2021.646146/full>
7. Yadav G, Meena M. Bioprospecting of endophytes in medicinal plants of Thar Desert: An attractive resource for biopharmaceuticals. *Biotechnology Reports* [Internet]. 2021 Jun 1 [cited 2023 Aug 16];30:e00629–9. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2215017X2100045X>
8. Saad El-Din Hassan. Plant growth-promoting activities for bacterial and fungal endophytes isolated from medicinal plant of *Teucrium polium* L. *Journal of Advanced Research* [Internet]. 2017 Nov 1 [cited 2023 Aug 16];8(6):687–95.

- Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2090123217301017>
9. Landa-Acuña D, Solorzano-Acosta A, Sánchez-Ortiz V, Hualpa-Cutipa E, Vargas-de-la-Cruz C, Luis-Alaya B, et al. Microbial food products: A sustainable solution to alleviate hunger. *Relationship Between Microbes and the Environment for Sustainable Ecosystem Services, Volume 1* [Internet]. 2022 [cited 2023 Agost 6];1–27. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780323899383000013?via%3Dihub>
  10. Hualpa-Cutipa E, Acosta RAS, Gutierrez GT, Cariga OJM, Espinoza-Medina MA, Vasquez-Condori G, et al. Plant-microbes association: Psychrophilic and psychrotrophic microorganisms associated with plants and their potential environmental services. *Metagenomics to Bioremediation* [Internet]. 2023 [cited 2023 Mar 6];561–75. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780323961134000111?via%3Dihub>
  11. Pereira CP, Goldenstein JPN, Bassin JP. Industrial Wastewater Contaminants and Their Hazardous Impacts. *Biosorption for Wastewater Contaminants* [Internet]. 2021 Oct 15 [cited 2023 Mar 6];1–22. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781119737629.ch1>
  12. Castronovo LM, Vassallo A, Mengoni A, Miceli E, Bogani P, Firenzuoli F, et al. Medicinal Plants and Their Bacterial Microbiota: A Review on Antimicrobial Compounds Production for Plant and Human Health. *Pathogens* [Internet]. 2021 Jan 22 [cited 2023 Mar 6];10(2):106. Available from: <https://www.mdpi.com/2076-0817/10/2/106>
  13. Difuza Egamberdieva, Wirth S, Behrendt U, Ahmad P, Berg G. Antimicrobial Activity of Medicinal Plants Correlates with the Proportion of Antagonistic Endophytes. *Frontiers in Microbiology* [Internet]. 2017 Feb 9 [cited 2023 Aug 16];8.
  14. Webster G, Mullins AJ, Cunningham-Oakes E, R.R. Arun Renganathan, Jamuna Bai Aswathanarayan, Eshwar Mahenthiralingam, et al. Culturable diversity of bacterial endophytes associated with medicinal plants of the Western Ghats, India. *FEMS Microbiology Ecology* [Internet]. 2020 Jul 25 [cited 2023 Aug 16]; Available

15. Wisnu Adi Wicaksono, E. Eirian Jones, Monk J, Ridgway HJ. Using bacterial endophytes from a New Zealand native medicinal plant for control of grapevine trunk diseases. *Biological Control* [Internet]. 2017 Nov 1 [cited 2023 Aug 16];114:65–72. Available from: [https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1049964417301664?casa\\_token=YZS77NqqqnkAAAAA:1pXn8plysRiuWz90Z8WN690juhx0d9SfsiLyS9f8tKqVHGurpRLPnmzod7RzCNsP0PZA3zPITA](https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1049964417301664?casa_token=YZS77NqqqnkAAAAA:1pXn8plysRiuWz90Z8WN690juhx0d9SfsiLyS9f8tKqVHGurpRLPnmzod7RzCNsP0PZA3zPITA)
16. Bhattacharyya PN, Jha DK. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World J Microbiol Biotechnol.* abril de 2012;28(4):1327-50.
17. Jesús Rascón, Jesús Rascón, Elgar Barboza Castillo, Macía MJ. Medicinal Plants for Rich People vs. Medicinal Plants for Poor People: A Case Study from the Peruvian Andes. *Plants* [Internet]. 2021 Aug 9 [cited 2023 Aug 16];10(8):1634–4. Available from: <https://www.mdpi.com/2223-7747/10/8/1634>
18. Jesús Rascón, Andrés O, Macía MJ. Different patterns in medicinal plant use along an elevational gradient in northern Peruvian Andes. *Journal of Ethnopharmacology* [Internet]. 2019 Jul 1 [cited 2023 Aug 16];239:111924–4. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378874118348736>
19. Sarah-Lan Mathez-Stiefel, Vandebroek I. Distribution and Transmission of Medicinal Plant Knowledge in the Andean Highlands: A Case Study from Peru and Bolivia. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine* [Internet]. 2012 Jan 1 [cited 2023 Aug 16];2012:1–18. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3235884/>
20. Bhardwaj S, Sharma N, Negi S. Bioprospecting plant growth promoting rhizobacteria isolated from pharmacologically important medicinal plant *Acorus calamus* in Mid-Hill Himalayas. *Materials Today: Proceedings.* 2023;79:139-42.
21. Shi Z, Guo X, Lei Z, Wang Y, Yang Z, Niu J, et al. Screening of high-efficiency nitrogen-fixing bacteria from the traditional Chinese medicine plant *Astragalus mongolicus* and its effect on plant growth promotion and bacterial communities in the rhizosphere. *BMC Microbiol.* 16 de octubre de 2023;23(1):292.
22. Chamkhi I, Sbabou L, Aurag J. Isolation and screening of multi-trait plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) colonizing saffron (*Crocus sativus* L.)

- rhizosphere. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. agosto de 2023;51:102730.
23. Khalil AMA, Hassan SED, Alsharif SM, Eid AM, Ewais EED, Azab E, et al. Isolation and Characterization of Fungal Endophytes Isolated from Medicinal Plant *Ephedra pachyclada* as Plant Growth-Promoting. *Biomolecules*. 22 de enero de 2021;11(2):140.
24. Hlongwane MM, Dakora FD, Mohammed M, Mokgalaka-Fleischmann NS. Bioprospecting for Rhizobacteria with the Ability to Enhance Drought Tolerance in *Lessertia frutescens*. *IJMS*. 18 de diciembre de 2023;24(24):17585.
25. Saryanah NA, Roswanjaya YP, Himawati S, Sulastri, Bidara IS, Iskandar D. Screening of plant growth-promoting bacterial endophytes and rhizobacteria isolated from *Curcuma xanthorrhiza*. *IOP Conf Ser: Earth Environ Sci*. 1 de noviembre de 2021;913(1):012022.
26. Suarez C, Ratering S, Geissler-Plaum R, Schnell S. *Hartmannibacter diazotrophicus* gen. nov., sp. nov., a phosphate-solubilizing and nitrogen-fixing alphaproteobacterium isolated from the rhizosphere of a natural salt-meadow plant. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2014;64(Pt\_9):3160-7.
27. Suarez C, Ratering S, Schäfer J, Schnell S. *Ancylobacter pratisalsi* sp. nov. with plant growth promotion abilities from the rhizosphere of *Plantago winteri* Wirtg. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2017;67(11):4500-6.
28. Mishra BK, Ashutosh Sharma AS, Dubey PN, Arunabh Joshi AJ. Bioprospecting of phosphate-solubilizing bacteria from Isabgol (*Plantago ovata* Forsk.) rhizospheric soils in western arid Rajasthan. 2015;9(1):9-16.
29. Guija M, Guija R. *Metodología de la investigación Científica*. 1st ed. Lima: Editorial USMP; 2019. 166 p.
30. Ling N, Wang T, Yakov Kuzyakov. Rhizosphere bacteriome structure and functions. *Nature Communications* [Internet]. 2022 Feb 11 [cited 2023 Sep 9];13(1). Available from: <https://www.nature.com/articles/s41467-022-28448-9#:~:text=The%20bacterial%20community%20in%20the,and%20Nitrospirae%20are%20significantly%20reduced>.
31. Alves L, Henrique C, Edvan Teciano Frezarin, Luziane Ramos Sales, Everlon Cid Rigobelo. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria for Sustainable Agricultural

- Production. *Microorganisms* [Internet]. 2023 Apr 21 [cited 2023 Sep 9];11(4):1088–8. Available from: <https://www.mdpi.com/2076-2607/11/4/1088#:~:text=PGPR%20promote%20plant%20growth%20through,sveral%20phytopathogens%2C%20and%20reduced%20diseases>.
32. Yasin Ahmed Waday, Ermias Girma Aklilu, Mohammed Seid Bultum, Venkata Ramayya Ancha, Beyene D. Isolation and Characterization of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria from Coffee Plantation Soils and Its Influence on Maize Growth. *Applied and Environmental Soil Science* [Internet]. 2022 Jul 6 [cited 2023 Sep 10];2022:1–8. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/aess/2022/5115875/>
33. Luziatelli F, Anna Grazia Ficca, Colla G, Švecová E, Ruzzi M. Foliar Application of Vegetal-Derived Bioactive Compounds Stimulates the Growth of Beneficial Bacteria and Enhances Microbiome Biodiversity in Lettuce. *Frontiers in Plant Science* [Internet]. 2019 Feb 5 [cited 2023 Sep 10];10. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2019.00060/full>
34. Tariq M, Shaheen F, Mustafa S, Ali S, Fatima A, Shafiq M, et al. Phosphate solubilizing microorganisms isolated from medicinal plants improve growth of mint. *PeerJ* [Internet]. 2022 Aug 17 [cited 2023 Sep 10];10:e13782–2. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9392447/>
35. Tariq M, Shaheen F, Mustafa S, Ali S, Fatima A, Shafiq M, et al. Phosphate solubilizing microorganisms isolated from medicinal plants improve growth of mint. *PeerJ* [Internet]. 2022 Aug 17 [cited 2023 Sep 10];10:e13782–2. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9392447/>
36. Maheshwari R, Bhutani N, Suneja P. Screening and characterization of siderophore producing endophytic bacteria from *Cicer arietinum* and *Pisum sativum* plants. *J App Biol Biotech*. 10 de septiembre de 2019;7(5):7-14.
37. Kusumawati DI, Widawati S, Kanti A, Sudiana IM, Lisdiyanti P. Indole-3-acetic acid of rhizobacteria isolated from *Imperata cylindrica* grasslands in Indonesia. *AIP Conference Proceedings*. 4 de enero de 2023;2606(1):020019.
38. Patten Cheryl L., Glick Bernard R. Role of *Pseudomonas putida* Indoleacetic Acid in Development of the Host Plant Root System. *Applied and Environmental Microbiology* [Internet]. 1 de agosto de 2002 [citado 10 de septiembre de 2023];68(8):3795-801. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/AEM.68.8.3795-3801.2002>

39. Patten Cheryl L., Glick Bernard R. Role of *Pseudomonas putida* Indoleacetic Acid in Development of the Host Plant Root System. *Applied and Environmental Microbiology* [Internet]. 1 de agosto de 2002 [citado 10 de septiembre de 2023];68(8):3795-801. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/AEM.68.8.3795-3801.2002>
40. Laanet PR, Bragina O, Jõul P, Vaher M. *Plantago major* and *Plantago lanceolata* Exhibit Antioxidant and *Borrelia burgdorferi* Inhibiting Activities. *Int J Mol Sci*. 28 de junio de 2024;25(13):7112.
41. Turki Monawer A, Mohammed Abdulkahar Mammani I. Antibacterial activity of ethanolic extracts of *Plantago major* leaves against *Pseudomonas aeruginosa* from burn infections. *J Infect Dev Ctries*. 28 de febrero de 2023;17(2):276-80.
42. Munawer NT. *Plantago major* as a Beneficial Medicinal Plant. *European Journal of Medical and Health Research*. 1 de mayo de 2024;2(3):89-97.
43. de Souza YPA, Schloter M, Weisser W, Huang Y, Schulz S. The seeds of *Plantago lanceolata* comprise a stable core microbiome along a plant richness gradient. *Environmental Microbiome*. 2 de febrero de 2024;19(1):11.
44. Najib A, Alam G, Halidin M. Isolation and identification of antibacterial compound from diethyl ether extract of *Plantago major* L. *Pharmacognosy Journal*. 1 de septiembre de 2012;4(31):59-62.
45. Squirrell J, Wolff K. Isolation of polymorphic microsatellite loci in *Plantago major* and *P. intermedia*. *Molecular Ecology Notes*. 2001;1(3):179-81.
46. Schmidt W, Fühner C. Sensitivity to and Requirement for Iron in *Plantago* Species. *The New Phytologist*. 1998;138(4):639-51.
47. Gomaa A, Mahmoud SM, Abbas M, Abd El-Rahim WM. Isolation of Phosphate Solubilizing Bacteria from the rhizosphere of the balloon vine (*Cardiospermum Halicacabum*) grown in Saluga and Ghazal Protected Area, Aswan, Egypt. *Aswan University Journal of Environmental Studies*. 1 de junio de 2023;4(3):113-21.
48. Bhalani R, Dasgupta S. Assessing the potential of phosphate solubilizing bacteria isolated from rhizospheres of *Sorghum bicolor* grown in Surat, south Gujarat. *South Asian J Agric Sci*. 2024;4(1):141-6.
49. Sembiring A, Sumanto NL. Identification of Potential Isolate Phosphate Solubilizing Bacteria Used 16S rRNA Gene. *Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi*. 30 de diciembre de 2022;10(2):941-9.

50. Longoria-Espinoza, R. M., Leyva-Ruiz, C., Zamudio-Aguilasocho, G. M., & Félix-Gastélum, R. (2024). Caracterización de bacterias endófitas promotoras de crecimiento vegetal en plantas de papa (*Solanum tuberosum*). *Revista Mexicana de Fitopatología*, 42(2), 10.
51. Stamenov DR, Hajnal-Jafari TI, Đurić SS, Hasanagić DI. Biostimulatory activity of root-associated bacillus isolates from nettle (*Urtica dioica* L.). *Zbornik Matice srpske za prirodne nauke*. 2024;(147):47-57.
52. Islas-Lugo F, Gutiérrez-García V, Cruz-Arredondo A, Ríos-Muñiz D, Evangelista-Martínez Z. Evaluación de la capacidad promotora del crecimiento vegetal y actividad antagonista contra hongos fitopatógenos de las bacterias *Streptomyces*. 22 de julio de 2024;
53. Chudiwal A, Nalawade A. Production of Indole Acetic Acid from soil bacteria: An alternative approach on plant growth. *Int J Adv Res Biol Sci*. 2024;11(5):9-14. DOI: <http://dx.doi.org/10.22192/ijarbs.2024.11.05.002>
54. Yasin R, Rasheed S, Cheema MT, Amin A. Isolation and characterization of plant growth-promoting bacteria from different rhizospheric soils. *J Microbiol Mol Genet*. 2022;3(3):179-189.
55. Yamini P, Gopalakrishnan R, Prasad SS, Karkuvelraja R. Isolation and identification of indole acetic acid (IAA) producing bacteria from organic soil: Investigating its efficacy on plant growth. *J Univ Shanghai Sci Technol*. 2021;23(6):1294-1312.
56. Meneguzzi R del V, Fernandez M, Cappellari L del R, Giordano W, Banchio E. Isolation and Characterization of Plant Growth-Promoting Bacteria from the Rhizosphere of Medicinal and Aromatic Plant *Minthostachys verticillata*. *Plants*. enero de 2024;13(15):2062.
57. Pant G, Agrawal PK. Isolation and characterization of indole acetic acid producing plant growth promoting rhizobacteria from rhizospheric soil of *Withania somnifera*. *J Biol Sci Opin*. 2014;2(6):377-383. DOI: <http://dx.doi.org/10.7897/2321-6328.02687>.
58. Randive V. S, Agnihotri S. N, Bhagat R. B. Screening and Optimization of IAA Production by PGPR isolated from Rhizosphere of a *Pterocarpus marsupium* Roxb. and their Effect on Plant Growth. *Curr Agri Res* 2024; 12(1). Available from: <https://bit.ly/3unsdZP>

## **ANEXOS**

## ANEXO A. Operacionalización de la variable

Variable	Definición Conceptual	Definición Operacional	Dimensión	Indicador	Instrumento de Medición	Escala de Medición
Rizobacterias	Microorganismos benéficos presentes en la rizosfera que pueden mejorar el crecimiento vegetal.	Aislamiento y caracterización de bacterias de la rizosfera de plantas de <i>P. major</i> mediante técnicas microbiológicas.	Presencia en la rizosfera	Aislamiento en medios de cultivo selectivos	Cultivo en medios específicos y observación morfológica	Nominal (presencia/ausencia)
Producción cuantitativa de AIA	Capacidad de las rizobacterias para sintetizar ácido indolacético, una hormona promotora del crecimiento vegetal.	Cuantificación de la cantidad de AIA producido por las rizobacterias aisladas en medios de cultivo específicos.	Síntesis de AIA	Medición colorimétrica y Concentración de AIA en el medio de cultivo	Espectrofotometría para cuantificación de AIA	Razón (mg/L o µg/mL)
Producción cualitativa de sideróforos	Habilidad de las rizobacterias para producir sideróforos, que capturan hierro y lo hacen disponible para la planta.	Evaluación de la presencia de sideróforos producidos por las rizobacterias mediante métodos cualitativos.	Producción de sideróforos	Presencia o ausencia de halo en prueba CAS	Prueba CAS (Chrome Azurol S) para detección cualitativa	Nominal (positivo/negativo)
Solubilización de fosfatos	Capacidad de las rizobacterias para convertir fosfatos insolubles en formas solubles, que son accesibles para las plantas.	Medición de la capacidad de solubilización de fosfato de las rizobacterias en medios específicos.	Capacidad de solubilización	Diámetro del halo de solubilización en el medio de cultivo	Medición directa del halo en milímetros	Intervalo (mm)

## ANEXO B. Instrumentos de la recolección de datos

FICHA DE OBSERVACION DE DATOS											
Muestra	Código de la muestra	Fecha de aislamiento	Origen de la muestra	Presencia de rizobacterias (Sí/No)	Morfología	Color	Tamaño de colonia (mm)	Índice de solubilización de fosfatos (ISx) (mm)	Producción de sideróforos (Presencia (+)/Ausencia(-))	Producción de AIA (µg/mL)	Observaciones adicionales
Planta 1	Pmjr1	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Bacilo	Blanco	1.5	-----	-	-----	-----
	Pmjr2	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Cocos	Amarillo	2	3.1	-	-----	Potencial bacteria PGPR
	Pmjr3	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Espirilo	Rosa	1.8	-----	-	-----	-----
	Pmjr4	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Bacilo	Verde	2.5	-----	-	2.21	-----
	Pmjr5	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Cocos	Naranja	1.2	-----	-	-----	-----
	NC	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	NO	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

NC	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	NO	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
NC	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	NO	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Pmjr6	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Bacilo	Blanco	2	-----	-		-----
Pmjr7	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Espirilo	Crema	1.5	-----	-	3.18	-----
Pmjr8	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Cocos	Blanco	2.3	-----	-	-----	-----
Pmjr9	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Bacilo	Amarillo	1.7	-----	+	-----	-----
Pmjr10	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Espirilo	Verde	2.8	3	+	0.43	Potencial bacteria PGPR
Pmjr11	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Cocos	Blanco	1.6	-----	+	-----	-----

	Pmjr12	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Bacilo	Naranja	2.1	-----	+	-----	-----
	Pmjr13	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Espirilo	Crema	2	-----	-	-----	-----
	Pmjr14	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Bacilo	Rosa	1.9	3.4	-	0.9	Potencial bacteria PGPR
Planta 2	Pmjr15	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Cocos	Blanco	1.4	-----	-	-----	-----
	Pmjr16	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Bacilo	Amarillo	2.6	-----	-	0.52	-----
	Pmjr17	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Espirilo	Verde	1.7	-----	-	-----	-----
	Pmjr18	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Cocos	Crema	2.2	-----	-	-----	-----
	Pmjr19	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Bacilo	Naranja	2.4	-----	+	0.83	Potencial bacteria PGPR

NC	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	NO	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Pmjr20	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Espirilo	Blanco	1.5	-----	-	-----	-----
Pmjr21	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Cocos	Rosa	1.8	-----	-	0.99	-----
Pmjr22	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Bacilo	Verde	2.7	-----	-	0.95	-----
Pmjr23	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Espirilo	Crema	1.9	-----	-	1.08	-----
Pmjr24	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Cocos	Blanco	2	-----	-	1.27	-----
Pmjr25	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Bacilo	Amarillo	2.3	-----	-	0.23	-----
Pmjr26	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Espirilo	Naranja	2.1	-----	+	-----	-----

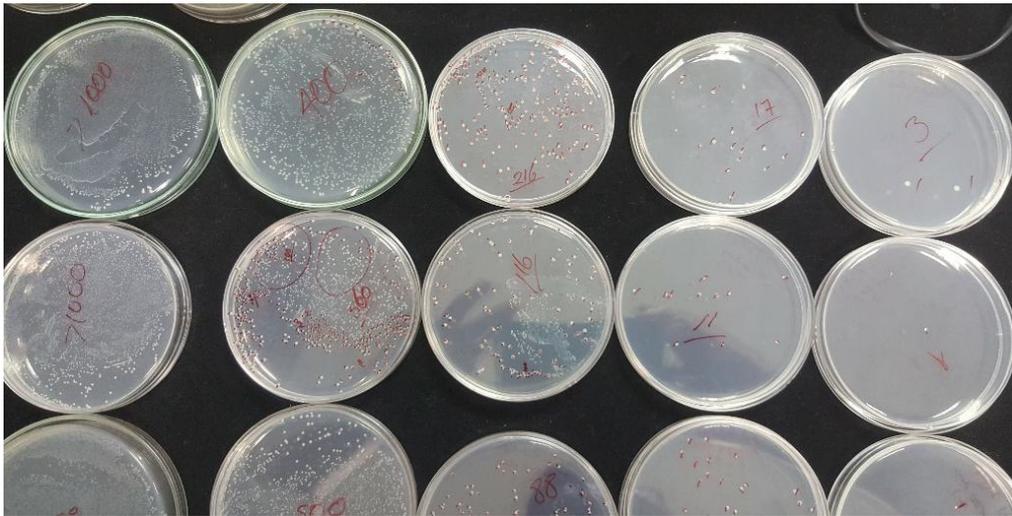
	Pmjr27	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Cocos	Crema	1.6	-----	-	1.14	-----
	Pmjr28	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Bacilo	Blanco	2.4	-----	-	-----	-----
	Pmjr29	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Espirilo	Rosa	1.5	-----	-	1.41	-----
	Pmjr30	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Cocos	Verde	2.5	-----	-	-----	-----
Planta 3	Pmjr31	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Bacilo	Crema	2.2	-----	-	-----	-----
	Pmjr32	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Espirilo	Blanco	1.7	-----	-	-----	-----
	Pmjr33	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Cocos	Amarillo	2	-----	+	2.94	Potencial bacteria PGPR
	NC	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	NO	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

Pmjr34	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Bacilo	Naranja	2.1	-----	-	-----	-----
Pmjr35	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Espirilo	Crema	2.3	-----	-	-----	-----
Pmjr36	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Cocos	Blanco	1.9	-----	-	-----	-----
NC	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	NO	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Pmjr37	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Bacilo	Rosa	2.5	-----	-	-----	-----
Pmjr38	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Espirilo	Verde	1.8	-----	-	-----	-----
Pmjr39	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Cocos	Crema	2.1	-----	-	-----	-----
Pmjr40	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Bacilo	Blanco	2.6	4.2	-	-----	-----

Pmjr41	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Espirilo	Amarillo	1.5	-----	-	-----	-----
Pmjr42	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Cocos	Naranja	2.4	-----	-	-----	-----
Pmjr43	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Bacilo	Crema	2.2	-----	-	-----	-----
Pmjr44	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Espirilo	Blanco	1.9	-----	-	-----	-----
Pmjr45	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Cocos	Verde	2	4.5	+	-----	Potencial bacteria PGPR
Pmjr46	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Bacilo	Naranja	2.5	-----	-	-----	-----
Pmjr47	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Espirilo	Crema	2.3	-----	-	-----	-----
Pmjr48	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Cocos	Blanco	1.6	-----	-	-----	-----

	Pmjr49	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Bacilo	Amarillo	2.1	-----	-	-----	-----
	Pmjr50	1/04/2024	Rizosfera de <i>Plantago major</i>	si	Espirilo	Verde	2.7	2.9	+	2.85	Potencial bacteria PGPR

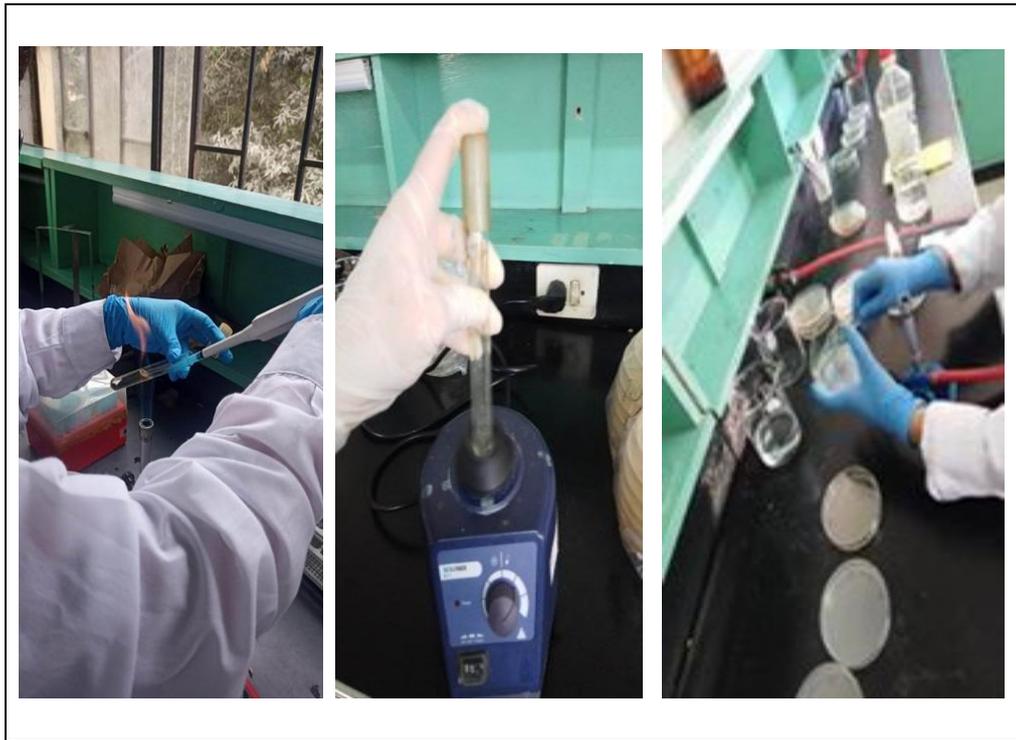
## ANEXO C. Evidencia del trabajo de campo y laboratorio (fotos)



**Figura 1.** Cepas bacterianas aisladas a partir de la rizosfera de *Plantago major*.



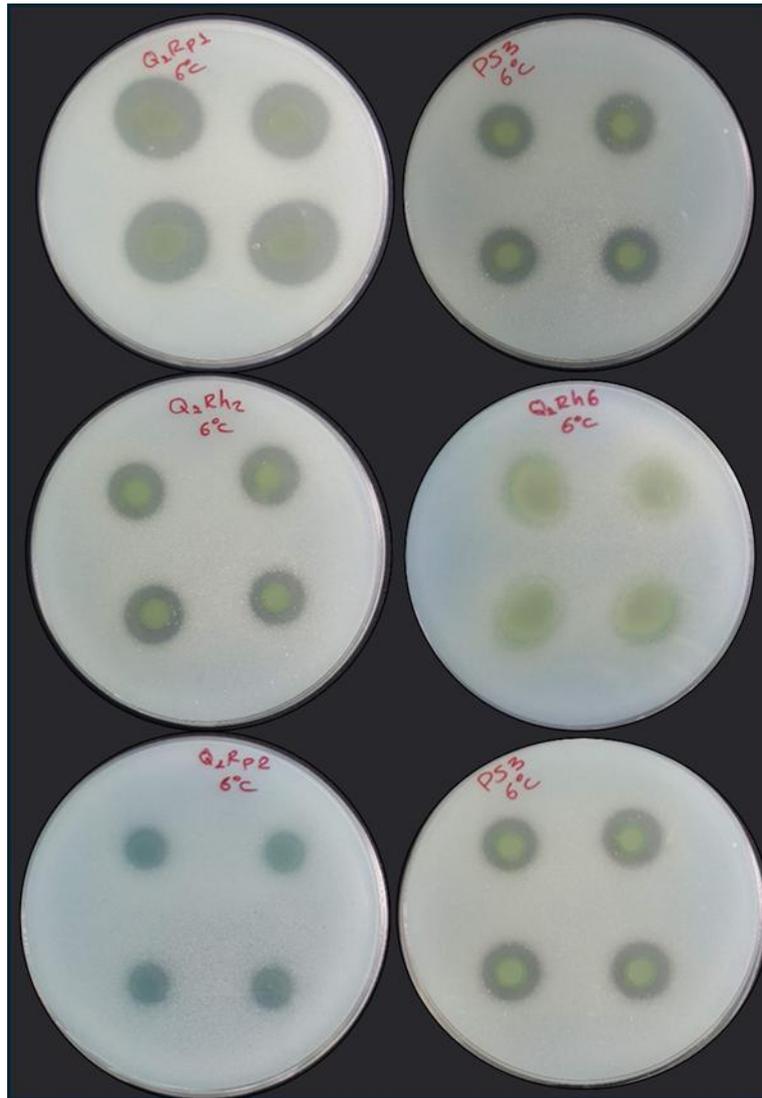
**Figura 2.** Especie de *Plantago major* donde se recolecto la rizosfera para el estudio.



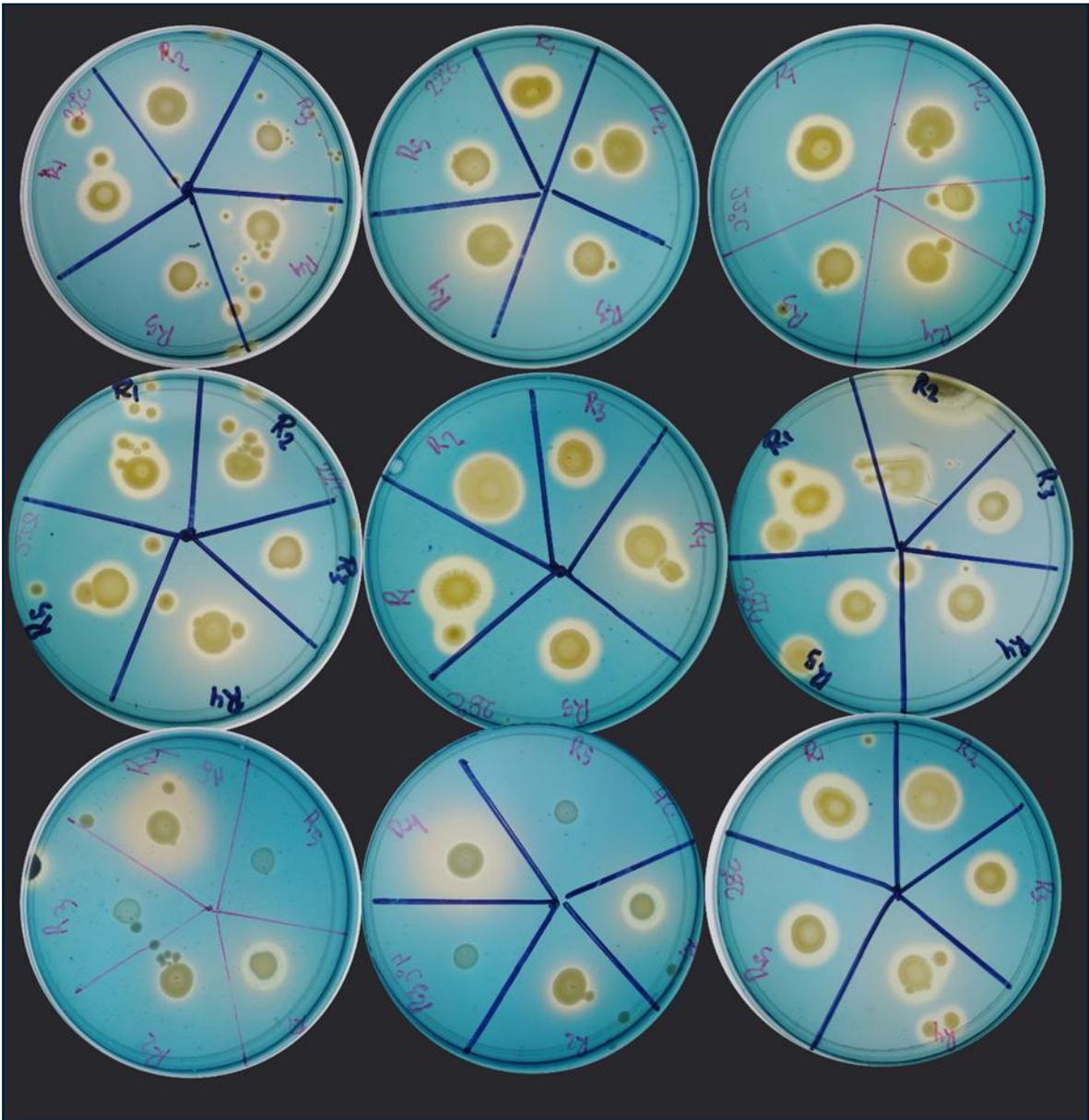
**Figura 3.** Procedimientos en laboratorio para el aislamiento de las bacterias rizósfericas



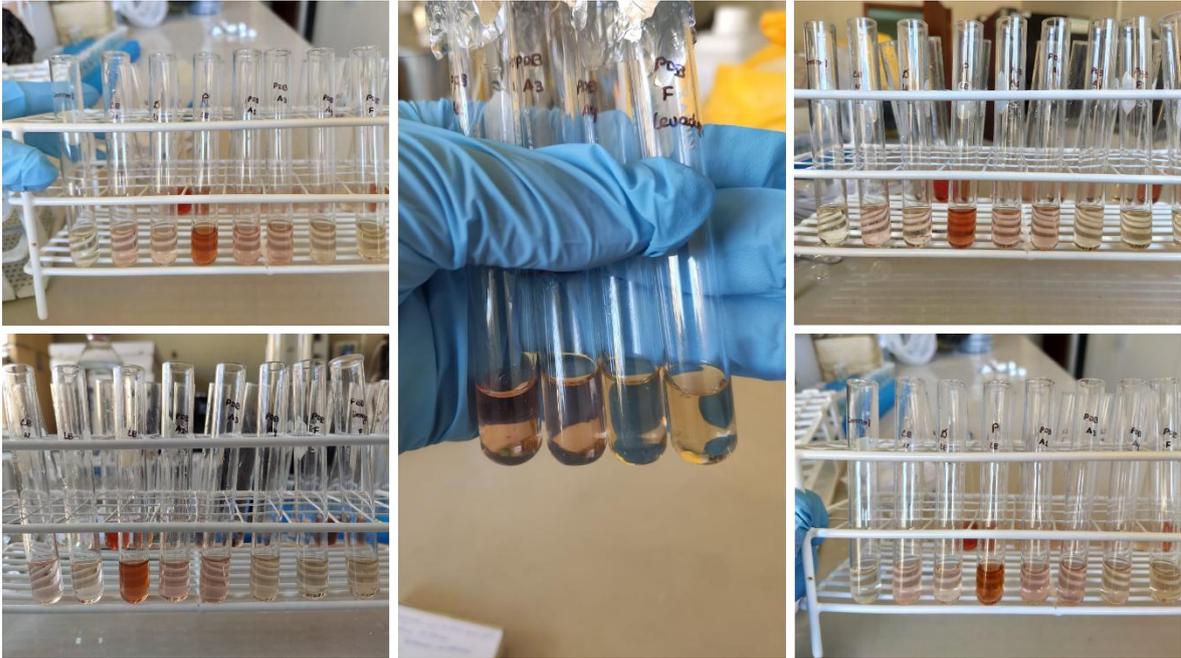
**Figura 4.** Fotografías de las cepas aisladas de la rizosfera de *Plantago major*



**Figura 5.** Ensayo cualitativo de solubilización de fosfatos por parte de las bacterias rizósfericas



**Figura 6.** Evaluación cualitativa de sideróforos en las cepas bacterianas rizósfericas.



**Figura 7.** Evaluación cualitativa de la producción de AIA en las cepas bacterianas rizósfericas.