



# Scientia Agropecuaria

Web page: <http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/scientiaagrop>

Facultad de Ciencias  
Agropecuarias

Universidad Nacional de  
Trujillo



## RESEARCH ARTICLE

### Molecular analysis of the diversity of nitrogen-fixing and phosphate-solubilizing bacteria in *Neltuma pallida* (Humb. & Bonpl. ex Willd.) Kunth

Análisis molecular de la diversidad de bacterias fijadoras de nitrógeno y solubilizadoras de fosfato en *Neltuma pallida* (Humb. & Bonpl. ex Willd.) Kunth

Mack Frank García León<sup>2</sup> ; Jose Stalyn Cordova-Campos<sup>3</sup> ; Segundo Melecio Garcia-Garcia<sup>3</sup> ; Archi Alejandro Ruiz-Polo<sup>3</sup> ; Eric Louis Mialhe-Matonnier<sup>1</sup> ; Ramón García-Seminario<sup>2</sup> ; César Augusto Mogollón-Farías<sup>1, 2, 3 \*</sup>

<sup>1</sup> Inca Biotec SAC. Jr. Filipinas 212, Tumbes, Perú.

<sup>2</sup> Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Tumbes, Perú.

<sup>3</sup> Estación Experimental Agraria Los Cedros. Subdirección de Recursos Genéticos de la Dirección de Recursos Genéticos y Biotecnología. Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), Tumbes, Perú.

\* Corresponding author: [cmogollonf@gmail.com](mailto:cmogollonf@gmail.com) (C. A. Mogollón Farías).

Received: 30 August 2025. Accepted: 20 July 2026. Published: 17 August 2026.

#### Abstract

The identification of atmospheric nitrogen-fixing and phosphate-solubilizing bacteria emerges as a sustainable fertilization alternative to the use of agrochemicals that pollute the environment. The objective of this research was to molecularly analyze the diversity of nitrogen-fixing and phosphate-solubilizing bacteria in *Neltuma pallida*. Rhizospheric soil samples were collected from juvenile *Neltuma pallida* trees located in the practice field of the Forestry and Environmental Engineering program at the National University of Tumbes, in the locality of Garbanzal. Bacteria were isolated from the soil, morphologically characterized, and evaluated in nitrogen fixation assays by inoculating 5 µL of bacterial suspensions (1×10<sup>8</sup> CFU/mL) in triplicate using ASHBY culture medium. Subsequently, isolates with the highest nitrogen fixation were selected for phosphate solubilization assays, which were inoculated into NBRIP medium supplemented with bromophenol blue (25 ppm), using the same bacterial concentration. Data analysis was performed using R Studio software. Finally, identification of the isolates was carried out by sequencing the 16S rRNA gene, and evolutionary relationships were established through a phylogenetic tree. In total, 50 bacterial strains were isolated, of which 41 had the ability to fix atmospheric nitrogen. Among these, 10 stood out for their high fixation efficiency and, of these, five also showed the ability to solubilize phosphate. However, only two strains exhibited high efficiency in both functions. Phylogenetic relationships grouped the species into three clades (*Firmicutes*, *Proteobacteria*, and *Bacteroidetes*). The species identified with dual capacity (nitrogen fixation and phosphate solubilization) were *Bacillus megaterium*, *Erwinia* spp., *Bacillus flexus*, *Bacillus amyloliquefaciens*, and *Pantoea* spp., whereas those that only fixed nitrogen included *Bacillus endophyticus*, *Olivibacter* spp., *Pantoea septica*, and *Lysinibacillus xylanilyticus*.

**Keywords:** Rhizobacteria; PGPR; Rhizobacteria; PGPR; Nitrogen fixation; Phosphate solubilization.

#### Resumen

La identificación de bacterias fijadoras de nitrógeno y solubilizadoras de fosfato atmosféricas emerge como una alternativa de fertilización sostenible al uso de agroquímicos que contaminan el medio ambiente. El objetivo de esta investigación fue analizar molecularmente la diversidad de bacterias fijadoras de nitrógeno y solubilizadoras de fosfato en *Neltuma pallida*. Se recolectaron muestras de suelo rizosférico de árboles jóvenes de *Neltuma pallida* ubicados en el campo de prácticas del programa de Ingeniería Forestal y Ambiental de la Universidad Nacional de Tumbes, en la localidad de Garbanzal. Las bacterias se aislaron del suelo, se caracterizaron morfológicamente y se evaluaron en ensayos de fijación de nitrógeno inoculando 5 µL de suspensiones bacterianas (1×10<sup>8</sup> UFC/mL) por triplicado en medio de cultivo ASHBY. Posteriormente, se seleccionaron los aislados con mayor fijación de nitrógeno para ensayos de solubilización de fosfato, los cuales se inocularon en medio NBRIP suplementado con azul de bromofenol (25 ppm), utilizando la misma concentración bacteriana. El análisis de datos se realizó con el software R Studio. Finalmente, se realizó la identificación de los aislados mediante la secuenciación del gen 16S rRNA y se establecieron las relaciones evolutivas a través de un árbol filogenético. En total, se aislaron 50 cepas bacterianas, de las cuales 41 tenían la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico. Entre estas, 10 destacaron por su alta eficiencia de fijación y, de estas, cinco también mostraron la capacidad de solubilizar fosfato. Sin embargo, solo dos cepas exhibieron alta eficiencia en ambas funciones. Las relaciones filogenéticas agruparon las especies en tres clados (*Firmicutes*, *Proteobacteria* y *Bacteroidetes*). Las especies identificadas con doble capacidad (fijación de nitrógeno y solubilización de fosfato) fueron *Bacillus megaterium*, *Erwinia* spp., *Bacillus flexus*, *Bacillus amyloliquefaciens* y *Pantoea* spp., mientras que aquellas que solo fijaban nitrógeno incluían *Bacillus endophyticus*, *Olivibacter* spp., *Pantoea septica* y *Lysinibacillus xylanilyticus*.

**Palabras clave:** Rizobacterias; PGPR; Fijación de nitrógeno; Solubilización de fosfato.

DOI: <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2026.045>

#### Cite this article:

García León, M. F., Cordova-Campos, J. S., Garcia-Garcia, S. M., Ruiz-Polo, A. A., Mialhe-Matonnier, E. L., García-Seminario, R., & Mogollón-Farías, C. A. (2026). Análisis molecular de la diversidad de bacterias fijadoras de nitrógeno y solubilizadoras de fosfato en *Neltuma pallida* (Humb. & Bonpl. ex Willd.) Kunth. *Scientia Agropecuaria*, 17(3), 651-662.

## 1. Introducción

El empleo de fertilizantes nitrogenados y fosfatados es una estrategia comúnmente adoptada en la agricultura con el objetivo de mejorar el rendimiento y la productividad de los cultivos. Sin embargo, su aplicación desmedida puede ocasionar impactos negativos en el entorno, favoreciendo la contaminación de suelos, cuerpos de agua y ecosistemas circundantes, lo cual representa una amenaza potencial para la salud humana y animal (Abd-Alla et al., 2023; Jwaideh et al., 2022; Ngoc & Trung, 2025). En Perú, la contaminación ambiental asociada al uso de fertilizantes y plaguicidas ha sido abordada en diversas investigaciones a lo largo de las últimas décadas (Gómez et al., 2023). Sin embargo, esta problemática ha trascendido del ámbito ecológico a la salud pública, dado que estudios recientes han detectado la presencia de compuestos químicos en concentraciones elevadas, lo que representa un riesgo potencial para la seguridad alimentaria (Galagarza et al., 2021).

Para mitigar los efectos de la contaminación ambiental causada por los agroquímicos, se plantea el uso de microorganismos con capacidad biofertilizante como una estrategia biotecnológica sostenible, que no solo mejore la productividad agrícola, sino que también contribuya a la conservación de la salud del suelo y la reducción del impacto de insumos químicos convencionales (Gonçalves et al., 2023; Kumar et al., 2021). En ese contexto, las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) han despertado un creciente interés científico, debido a su capacidad para estimular el desarrollo de las plantas, mejorar el rendimiento agrícola y aumentar la tolerancia frente a factores bióticos y abióticos mediante procesos de fijación de nitrógeno y otros (Choudhury, Tarafdar & Dutta, 2022; Bhattacharyya & Jha, 2012; Gupta et al., 2015).

Estudios previos han demostrado que las bacterias fijadoras de nitrógeno atmosférico ( $N_2$ ) se localizan tanto en los tejidos vegetales, como en tubérculos y raíces, como en la interfaz suelo-rizosfera, y tienen la capacidad de proporcionar cantidades sustanciales de nitrógeno mineral necesario para el desarrollo de las plantas (Tang et al., 2020; Timofeeva et al., 2023). En Perú, a lo largo de las dos últimas décadas se han identificado especies bacterianas con capacidad promotora del crecimiento vegetal, particularmente asociadas a los suelos donde se desarrolla la leguminosa *Caesalpinia spinosa* (Cordero et al., 2017; Cordero et al., 2024). No obstante, son escasos los estudios dirigidos a plantas forestales.

En este contexto, el análisis molecular de la diversidad de bacterias fijadoras de nitrógeno y

solubilizadoras de fosfato en *Prosopis pallida* (algarrobo), actualmente reclasificado como *Neltuma pallida* (Humb. & Bonpl. ex Willd.) Kunth (Hughes et al., 2022), una especie forestal del norte de Perú constituye una línea de investigación básica que permita determinar la diversidad microbiana, su distribución y funcionalidad en las plantas que habitan dentro de los ecosistemas áridos. El rol biológico que estas bacterias desempeñan en el proceso de nutrición vegetal, al facilitar la disponibilidad de minerales limitantes como el nitrógeno y fósforo en suelos poco fértiles, aportarán información relevante para comprender los mecanismos fisiológicos implicados en el crecimiento de las especies forestales nativas, sentando las bases para establecer estrategias sostenibles de conservación y manejo del bosque seco en el norte peruano.

## 2. Metodología

### Diseño y localización del estudio

Se realizó una investigación con diseño experimental, corte transversal con nivel descriptivo y enfoque mixto. El estudio se realizó en el campo de prácticas del programa de Ingeniería Forestal y Medio Ambiente de la Universidad Nacional de Tumbes, localizado en el centro poblado Garbanzal, distrito de San Juan de la Virgen, Región de Tumbes en las coordenadas 03° 36' 14,8" S / 80° 25' 53,3" O. Esta zona presenta un suelo de textura arenosa, clima cálido y árido, con temperatura oscilante entre 22,8 °C y 31,2 °C, con humedad relativa media anual de 79 % y precipitación acumulada de 464,1 mm, entre diciembre y abril (Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú, 2018).

### Recolección de muestras

Se realizó una identificación y selección de árboles élite de *Neltuma pallida* (Humb. & Bonpl. ex Willd.) Kunth. En torno a un árbol juvenil y en condiciones asépticas se recolectaron 3 submuestras de suelo rizosférico a una profundidad de 30 cm, se homogeneizaron para obtener una muestra compuesta de aproximadamente 1 kg, la cual fue depositada en una bolsa hermética Ziploc estéril, y conservada en una caja de poliestireno refrigerada con gelpack para su transporte al laboratorio de Microbiología de la empresa Inca Biotec S.A.C., donde se realizaron los análisis correspondientes.

### Aislamiento de bacterias

9 g de suelo rizosférico fueron depositados en un tubo Falcon conteniendo 40 mL de agua destilada estéril, la suspensión se homogeneizó con un agitador orbital Shaker (Biobase) a 200 rpm durante 30 minutos. Se transfirieron 100  $\mu$ L a un tubo Eppendorf, que contenían 900  $\mu$ L de agua destilada

estéril, de esta mezcla se prepararon diluciones seriadas de  $10^{-1}$  a  $10^{-6}$  UFC/mL. 100  $\mu$ L de las diluciones  $10^{-3}$ ,  $10^{-5}$  y  $10^{-6}$  se inocularon por triplicado en placas Petri con medio agar tripticasa soja (TSA), incubando las muestras a 28 °C por 24 horas. Las colonias bacterianas fueron purificadas siguiendo el método de estrías por agotamiento en el mismo medio, y re-incubadas posteriormente a 28 °C durante 48 horas.

Caracterización morfológica

A partir de las cepas bacterianas purificadas, se realizó la caracterización morfológica macroscópica (por observación directa) y microscopía óptica (Nikon Eclipse E100), cuyos parámetros se describen en la **Tabla 1**.

**Tabla 1**  
Caracterización morfológica macroscópica y microscópica de cepas bacterianas aisladas de suelo rizosférico de *Neltuma pallida* (Humb. & Bonpl. ex Willd.) Kunth

| Técnica            | Parámetro | Descripción                                                                                                                                                                           |
|--------------------|-----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Microscopía óptica | Forma     | (B) Bacilos (C) Cocos (CB) Cocobacilos (DC) Diplococos (SC) Estreptococos                                                                                                             |
|                    | Gram      | (+) Positivo (-) Negativo                                                                                                                                                             |
| Macroscopía óptica | Forma     | (IR) Irregular (CI) Circular                                                                                                                                                          |
|                    | Borde     | (ON) Ondulado (EN) Entero (EC) Encrespado (RI) Rizado                                                                                                                                 |
|                    | Elevación | (PL) Plana (EL) Elevada (CO) Convexa (UM) Umbonado                                                                                                                                    |
|                    | Tamaño    | (ME) Mediano (PU) Puntiforme (GR) Grande (PE) Pequeño                                                                                                                                 |
|                    | Textura   | (LI) Lisa (RU) Rugosa                                                                                                                                                                 |
|                    | Color     | (CT) Crema Translúcido (CN) Crema no Translucido (BT) Blanca Translucido (BN) Blanca no translucido (AT) Amarilla Translúcido (AN) Amarilla no Translucido (RN) Rojiza no translucido |
|                    |           | Crecimiento                                                                                                                                                                           |
|                    |           | (+) Moderado (++) Abundante                                                                                                                                                           |
|                    |           |                                                                                                                                                                                       |

Ensayo de Fijación de nitrógeno

La determinación de bacterias fijadoras de nitrógeno se realizó siguiendo los protocolos de **Jiménez et al. (2011)** y **Ariza et al. (2020)**. Las colonias aisladas y purificadas se cultivaron en placas Petri con medio sólido ASHBY, el cual es específico para el crecimiento de bacterias fijadoras de nitrógeno atmosférico. Aquellas colonias que crecieron en este medio fueron inoculadas con 5  $\mu$ L en una concentración de  $1 \times 10^8$  UFC/ml en discos de papel filtro estéril (5 mm de diámetro, Whatman grado 44) por triplicado, las muestras se incubaron a 28 °C durante 24 horas. A las 24 y 48 horas se midió el radio de las colonias con un calibrador digital (modelo Uyustools profesional), calculando el área de crecimiento con la fórmula  $A = \pi \cdot r^2$  (**Palmer & Fletcher, 2003**).

Ensayo de Solubilización de fosfato

La solubilización de fosfato se evaluó cualitativamente, teniendo en cuenta el cambio de color de azul a amarillo en el medio de cultivo, el cual es un indicativo de la producción de ácidos (**Tejera, Heydrich & Rojas, 2013**). Se utilizaron placas Petri con medio específico NBRIIP sólido, suplementado con 25 ppm de azul de bromofenol, sobre las cuales se inocularon suspensiones bacterianas ( $1 \times 10^8$  UFC/ml) de las 10 cepas que mostraron alta eficiencia en la fijación de nitrógeno atmosférico. Las placas se incubaron a 26 °C durante 24 y 48 horas. En ambos periodos de tiempos se midió el radio de los halos de solubilización de fosfato con un vernier, para luego calcular el área mediante la fórmula de la corona circular.

Identificación molecular de bacterias aisladas

Se identificaron 10 cepas bacterianas que presentaron alta capacidad en la fijación de nitrógeno, 5 de las cuales también mostraron eficiencia en la solubilización de fosfatos.

Extracción de ADN

Se realizó mediante el método de ebullición en buffer fosfato alcalino (PBS, por sus siglas en inglés). Las colonias puras fueron cultivadas en medio LB y centrifugadas a 10 000 rpm por 2 minutos, se descartó el sobrenadante. La lisis celular en el pellet se llevó a cabo agregando Tris-HCl-EDTA (1X), y una nueva centrifugación. El sedimento se resuspendió en 200  $\mu$ L de TE 1X (NaCl, KCl,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  y  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), y se sometió a ebullición por 10 minutos, seguido de un enfriamiento en hielo por 5 minutos. Tras una última centrifugación, el pellet se resuspendió en agua ultra pura, se adicionó ARNasa (0,1mg/mL) y se incubó a 37 °C durante 1 hora.

PCR dirigida al gen 16S y electroforesis en geles de agarosa

Para la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) dirigida al gen 16S RNAr se utilizaron los primers universales 27F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTC-3') y 1492R (5'-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3'). La mezcla de reacción (25  $\mu$ L) incluyó: buffer Taq 1X, Taq DNA polimerasa recombinante (0,04 U/ $\mu$ L),  $\text{MgCl}_2$  (2,5 mM), dNTPs (0,2 mM), primers (0,36 pmol cada uno), 2  $\mu$ L de ADN y agua ultrapura. La amplificación del gen parcial ADN ribosómico 16S por PCR se realizó en un termociclador marca BLUE-RAY Turbocycler con el siguiente programa: predesnaturalización a 94 °C por 5 min; 35 ciclos de 94 °C por 30 s, 58 °C por 45 s y 72 °C por 90 s; seguido de una elongación final a 72 °C por 6 min. Los productos de PCR fueron analizados mediante electroforesis en gel de agarosa al 1,5 %, preparado

con 60 mL de buffer TAE 1X, 0,9 g de agarosa y 3  $\mu$ L de bromuro de Etidio como agente intercalante. En cada pocillo del gel se cargaron 8  $\mu$ L del producto amplificado junto con 4  $\mu$ L de buffer de carga (6X). La corrida electroforética se realizó a 80 V y 250 mA durante 45 minutos.

### Secuenciación de ADN, identificación molecular y relación filogenética

Los productos PCR fueron enviados a la empresa MACROGEN (EE. UU.). Las secuencias resultantes se alinearon con ClustalW, mediante el software MEGA v. 6,0 y se identificaron utilizando la herramienta básica de búsqueda de alineación local BLAST del Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI, por sus siglas en inglés) para comparación con homología de secuencias. Finalmente, para el análisis evolutivo, se construyó un árbol filogenético empleando el método de agrupación de unión de vecinos (*Neighbor joining*, en inglés) (Saitou & Nei, 1987) en el software MEGA v. 11 bajo el modelo de 3 parámetros de Tamura (1992) con 1000 réplicas de arranque, además de una secuencia de *Actinomyces naeslundii* como grupo externo (NR\_037033).

### Análisis de datos

Los datos obtenidos en el presente estudio se analizaron empleando el software R estudio (v.4.5). Los que corresponden a los ensayos de fijación de nitrógeno registrados a las 24 y 48 horas se sometieron a un análisis de componentes principales (PCA, por sus siglas en inglés) previo proceso de normalización. Para la representación gráfica se consideraron los dos primeros componentes principales, los cuales explicaron la mayor proporción de la variabilidad total del conjunto de datos. En cuanto a los datos de la solubilización de fosfato, estos se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA), seguido por la prueba de comparaciones múltiples de Tukey ( $p < 0,05$ ), con el propósito de identificar diferencias estadísticamente significativas entre las distintas cepas evaluadas y los tiempos de incubación considerados.

## 3. Resultados y discusión

### Caracterización morfológica de aislados bacterianos

En el medio de cultivo TSA se aislaron 50 colonias bacterianas a partir del suelo rizosférico de *Neltuma pallida* (Tabla 2), cuya caracterización morfológica macroscópica reveló que, el 32% de las colonias bacterianas presentaron forma irregular y 68% circulares, mientras que, su borde varió en 80% entero, 12% ondulado, 4% encrespado y 4% rizado. En cuanto a la textura se observó un 82% lisa y 18% rugosa. El tamaño osciló desde un

36% para pequeño, 36% puntiforme, 26% moderado y 2% para grande. Las coloraciones fueron de 24% cremas translúcidas, 24% blancas no translúcidas, 12% blancas translúcidas, 14% amarillas translúcidas, 18% amarillas no translúcidas, 6% cremas no translúcidas y 2% rojas no translúcidas; en tanto que, la elevación varió de 68% para planas, 10% elevadas, 8% convexas y 14% umbonadas.

Por otro lado, la morfología celular de las cepas bacterianas vistas al microscopio óptico mostró que el 48% tuvieron forma de bacilos, 24% cocos, 20% cocobacilos, 6% diplococos y 2% estreptococos. La reacción de tinción Gram fue de 22% positiva y 78% negativa. Estos datos son similares a los reportados por Mosquera et al. (2024), en su estudio sobre la biodisponibilidad del fósforo en la rizosfera de plantas de café, encontrando un 93% de bacilos Gram negativos, 5% bacilos Gram positivos y un 2% de cocos Gram positivos. Otra investigación realizada con suelo rizosférico en plantas de *Neltuma pallida* del bosque seco de Piura, muestra 16 bacterias aisladas en tocones de árboles talados y 18 en árboles adultos (Merino-Rafael & Jaramillo-Calle, 2024). La baja diversidad bacteriana en estos estudios podría estar relacionada con factores como la edad de los árboles, así como el tipo de suelo y el clima (Seaton et al., 2020; Pasiecznik et al., 2001).

### Fijación de nitrógeno

De las 50 colonias bacterianas aisladas, 41 mostraron potencial para fijar nitrógeno. Esta alta proporción (82%) indica el notable papel que desempeñan las comunidades microbianas rizosféricas en la promoción de la fertilidad del suelo (Tabla 3).

El PCA explicó un 100% de la variabilidad total, distribuida en dos componentes principales: Dim1 (96,4%) y Dim2 (3,6%). En el biplot (Figura 1), se observa una clara separación de los aislamientos en función de su desempeño en los dos tiempos evaluados. Los vectores de las variables Área\_24h y Área\_48h muestran direcciones opuestas, lo que indica que algunos aislamientos presentan mayor actividad fijadora en las primeras 24 horas, mientras que otros alcanzan diámetros de halo más amplios tras 48 horas. Asimismo, se observa que las cepas MK-45, MK-3 y MK-10 se alinean fuertemente con el vector Área\_48h, sugiriendo un mayor potencial fijador en etapas tardías. Por otro lado, los aislamientos MK-12, MK-14, MK-40 y MK-44 se asocian más estrechamente con Área\_24h, indicando un desempeño más eficiente en las primeras horas de evaluación. No obstante, la mayoría de los aislamientos se agrupan en el centro del gráfico, con contribuciones moderadas o similares a ambas variables.

**Tabla 2**  
Características morfológicas de los aislados bacterianos obtenidos del suelo rizosférico de *Neltuma pallida* (Humb. & Bonpl. ex Willd.) Kunth

| N.º | Código | Morfología celular |      | Morfología de la Colonia |       |           |        |         |       |             |
|-----|--------|--------------------|------|--------------------------|-------|-----------|--------|---------|-------|-------------|
|     |        | Forma              | Gram | Forma                    | Borde | Elevación | Tamaño | Textura | Color | Crecimiento |
| 1   | MK-3   | B                  | +    | IR                       | ON    | PL        | ME     | LI      | CN    | +           |
| 2   | MK-9   | CB                 | -    | CI                       | EN    | PL        | PU     | LI      | BN    | ++          |
| 3   | MK-10  | DC                 | -    | CI                       | EC    | PL        | GR     | LI      | AT    | ++          |
| 4   | MK-12  | B                  | -    | IR                       | EN    | PL        | PU     | LI      | AT    | ++          |
| 5   | MK-14  | B                  | -    | IR                       | EN    | PL        | PU     | LI      | BT    | ++          |
| 6   | MK-16  | B                  | +    | IR                       | EN    | EL        | PE     | RU      | BN    | ++          |
| 7   | MK-40  | B                  | -    | IR                       | EN    | CO        | PE     | LI      | BN    | ++          |
| 8   | MK-43  | B                  | +    | IR                       | EN    | PL        | PE     | LI      | BT    | ++          |
| 9   | MK-44  | B                  | +    | IR                       | EN    | PL        | PU     | RU      | AN    | ++          |
| 10  | MK-45  | C                  | -    | IR                       | EN    | PL        | PE     | LI      | AN    | ++          |
| 11  | MK-2   | C                  | -    | CI                       | EN    | PL        | PU     | LI      | CT    | ++          |
| 12  | MK-4   | C                  | +    | IR                       | ON    | UM        | ME     | RU      | CN    | +           |
| 13  | MK-5   | CB                 | +    | CI                       | EN    | UM        | ME     | RU      | BN    | +           |
| 14  | MK-6   | CB                 | +    | CI                       | EN    | CO        | PU     | LI      | BN    | ++          |
| 15  | MK-21  | C                  | -    | IR                       | EC    | UM        | ME     | LI      | AT    | +           |
| 16  | MK-7   | CB                 | -    | CI                       | EN    | PL        | PU     | LI      | BT    | ++          |
| 17  | MK-8   | B                  | -    | CI                       | EN    | UM        | ME     | RU      | RN    | +           |
| 18  | MK-11  | B                  | -    | CI                       | EN    | CO        | PE     | LI      | BN    | ++          |
| 19  | MK-13  | B                  | -    | CI                       | EN    | PL        | ME     | LI      | CN    | +           |
| 20  | MK-15  | B                  | -    | CI                       | EN    | EL        | PE     | LI      | CT    | ++          |
| 21  | MK-17  | CB                 | -    | CI                       | EN    | PL        | PE     | LI      | AT    | ++          |
| 22  | MK-18  | B                  | -    | CI                       | EN    | CO        | PE     | LI      | BN    | ++          |
| 23  | MK-20  | C                  | +    | CI                       | EN    | EL        | PE     | LI      | AN    | ++          |
| 24  | MK-22  | CB                 | +    | IR                       | ON    | PL        | PE     | LI      | BT    | ++          |
| 25  | MK-19  | C                  | +    | CI                       | EN    | PL        | PE     | LI      | AN    | ++          |
| 26  | MK-25  | CB                 | -    | CI                       | EN    | PL        | PU     | LI      | CT    | ++          |
| 27  | MK-26  | B                  | -    | CI                       | EN    | PL        | PU     | LI      | CT    | ++          |
| 28  | MK-34  | DC                 | -    | CI                       | EN    | PL        | PE     | LI      | BN    | +           |
| 29  | MK-27  | B                  | +    | IR                       | RI    | UM        | ME     | LI      | BT    | +           |
| 30  | MK-28  | CB                 | -    | CI                       | EN    | PL        | PU     | LI      | AN    | ++          |
| 31  | MK-29  | CB                 | -    | CI                       | EN    | UM        | PE     | LI      | CT    | ++          |
| 32  | MK-30  | CB                 | -    | CI                       | EN    | PL        | PU     | LI      | AN    | ++          |
| 33  | MK-31  | C                  | -    | CI                       | EN    | PL        | PU     | LI      | AN    | ++          |
| 34  | MK-32  | C                  | -    | CI                       | EN    | PL        | PE     | LI      | BN    | ++          |
| 35  | MK-33  | DC                 | -    | CI                       | EN    | PL        | PU     | LI      | AN    | ++          |
| 36  | MK-35  | B                  | -    | CI                       | EN    | PL        | PU     | LI      | BT    | ++          |
| 37  | MK-36  | SC                 | -    | CI                       | EN    | PL        | PE     | RU      | BN    | ++          |
| 38  | MK-37  | C                  | -    | CI                       | EN    | PL        | PU     | LI      | CT    | ++          |
| 39  | MK-38  | B                  | -    | CI                       | EN    | PL        | ME     | RU      | BN    | +           |
| 40  | MK-39  | B                  | -    | CI                       | EN    | UM        | PE     | LI      | AT    | ++          |
| 41  | MK-41  | B                  | -    | CI                       | EN    | EL        | ME     | LI      | BN    | +           |
| 42  | MK-42  | C                  | -    | IR                       | ON    | PL        | ME     | LI      | CT    | +           |
| 43  | MK-46  | B                  | -    | IR                       | RI    | EL        | ME     | LI      | AT    | +           |
| 44  | MK-1   | B                  | -    | CI                       | EN    | PL        | PU     | LI      | CT    | ++          |
| 45  | MK-48  | B                  | -    | CI                       | EN    | PL        | PU     | LI      | CT    | ++          |
| 46  | MK-19  | B                  | -    | CI                       | EN    | PL        | PU     | LI      | AN    | ++          |
| 47  | MK-21  | C                  | -    | CI                       | EN    | PL        | ME     | RU      | CT    | +           |
| 48  | MK-23  | C                  | -    | CI                       | EN    | PL        | ME     | RU      | AT    | +           |
| 49  | MK-24  | B                  | -    | IR                       | ON    | PL        | PE     | LI      | CT    | ++          |
| 50  | MK-47  | B                  | -    | IR                       | ON    | PL        | PE     | LI      | CT    | ++          |

Los resultados obtenidos en el presente estudio son similares a los de [Merino-Rafael & Jaramillo-Calle \(2024\)](#), quienes observaron que el 100% de los aislados bacterianos en suelo rizosférico de *Neltuma pallida* mostraron actividad positiva en la fijación de nitrógeno. Estudios similares llevados a cabo en otros cultivos confirman la estimulación de crecimiento de plantas inoculadas con cepas bacterianas aisladas de suelo rizosférico ([Mahdi et al., 2020](#); [Gu et al., 2020](#); [Daraz et al., 2021](#); [Shamem et al., 2022](#); [Sun et al., 2025](#)). Ello evidencia que esta función biológica es relativamente frecuente en microorganismos asociados a las raíces de distintas especies de plantas. Las bacterias fijadoras de nitrógeno sean o no simbióticas, liberan compuestos nitrogenados al suelo que pueden ser aprovechados por las plantas ([Zuberer, 2021](#)). En cultivos de caña de azúcar se ha documentado la presencia de actividad

bacteriana vinculada al crecimiento vegetal, atribuida a procesos de fijación biológica de nitrógeno y mecanismos de tolerancia al estrés abiótico, destacándose la cepa *Enterobacter roggenkampii* ED5 como el agente principal (Dao-Jun et al., 2020). Los suelos rizosféricos constituyen reservorios ricos en bacterias benéficas para la nutrición vegetal; sin embargo, debe considerarse que, el estado fisiológico de las plantas puede influir significativamente en la abundancia de bacterias fijadoras de nitrógeno (Khan et al., 2024). Tal es el caso de que si se realiza una poda severa de árboles disminuye la densidad de microorganismos en la rizosfera, tal como ocurre con la tala indiscriminada de árboles de algarrobo. Las muestras de suelo rizosférico de algarrobos juveniles utilizados en nuestro trabajo podrían haber favorecido la obtención de un alto porcentaje de aislados con actividad diazotrófica, puesto que las plantas en pleno crecimiento suelen

mantener una rizosfera más densa y metabólicamente activa.

Solubilización de fosfato

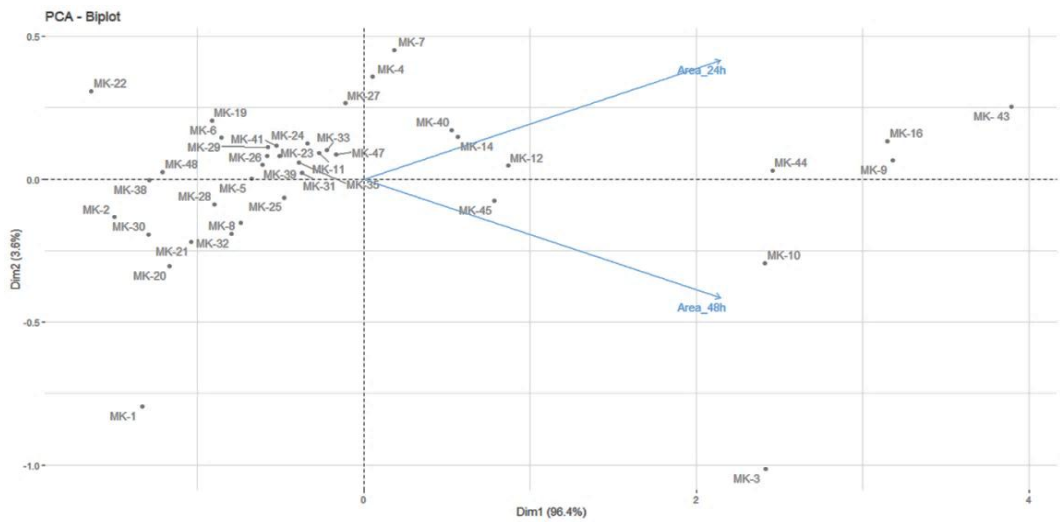
En el análisis de la solubilización de fosfato, evidencio diferencias significativas (Tukey,  $p < 0,05$ ) tanto entre cepas como entre tiempos de incubación (24 y 48 horas). Las cepas MK45 y MK40 mostraron las mayores áreas de halo de solubilización, destacando significativamente sobre las demás a las 48 h, con MK45 presentando el mayor valor (letra D), lo que indica su alto potencial como solubilizadora de fosfato. En contraste, las cepas MK16, MK43 y MK44 mostraron los menores halos en ambos tiempos, sin diferencias significativas entre ellas (Figura 2). No obstante, todas las cepas tendieron a incrementar su capacidad de solubilización con el tiempo, evidenciando un efecto positivo del tiempo de incubación sobre la actividad fosfato-solubilizadora.

Tabla 3

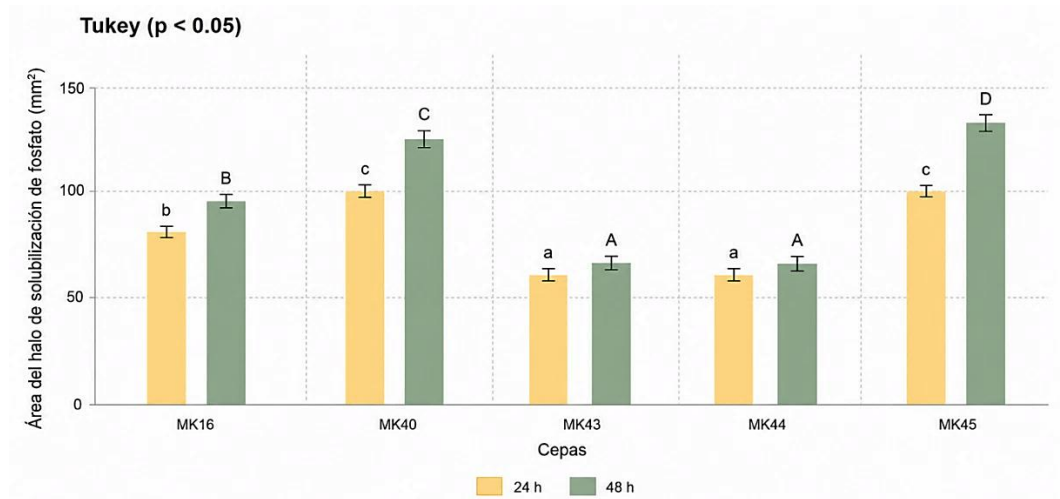
Crecimiento de aislados bacterianos cultivados en medio ASBHY

| N.º | Código | Crecimiento de la colonia | Área de corona circular (mm²) |          |
|-----|--------|---------------------------|-------------------------------|----------|
|     |        |                           | 24 horas                      | 48 horas |
| 1   | MK- 43 | +++                       | 62.31                         | 68.97    |
| 2   | MK-3   | +++                       | 43.96                         | 67.36    |
| 3   | MK-9   | +++                       | 56.28                         | 64.95    |
| 4   | MK-16  | +++                       | 56.54                         | 64.20    |
| 5   | MK-10  | +++                       | 48.76                         | 61.83    |
| 6   | MK-44  | +++                       | 51.22                         | 59.71    |
| 7   | MK-45  | +++                       | 39.34                         | 47.74    |
| 8   | MK-12  | +++                       | 40.71                         | 47.44    |
| 9   | MK-14  | +++                       | 39.38                         | 44.38    |
| 10  | MK-40  | +++                       | 39.29                         | 43.91    |
| 11  | MK-47  | ++                        | 34.06                         | 39.25    |
| 12  | MK-7   | ++                        | 38.84                         | 39.11    |
| 13  | MK-4   | ++                        | 37.36                         | 38.84    |
| 14  | MK-33  | ++                        | 33.80                         | 38.70    |
| 15  | MK-26  | ++                        | 33.55                         | 38.57    |
| 16  | MK-11  | ++                        | 33.42                         | 38.43    |
| 17  | MK-27  | ++                        | 35.63                         | 38.30    |
| 18  | MK-31  | ++                        | 32.26                         | 38.16    |
| 19  | MK-25  | ++                        | 30.99                         | 38.03    |
| 20  | MK-21  | ++                        | 24.89                         | 37.76    |
| 21  | MK-35  | ++                        | 32.39                         | 37.76    |
| 22  | MK-24  | ++                        | 33.16                         | 37.63    |
| 23  | MK-1   | ++                        | 20.39                         | 37.09    |
| 24  | MK-8   | ++                        | 28.63                         | 36.69    |
| 25  | MK-23  | ++                        | 31.75                         | 36.69    |
| 26  | MK-32  | ++                        | 28.01                         | 36.56    |
| 27  | MK-41  | ++                        | 31.88                         | 36.29    |
| 28  | MK-39  | ++                        | 30.87                         | 36.16    |
| 29  | MK-5   | ++                        | 30.11                         | 36.03    |
| 30  | MK-29  | ++                        | 31.50                         | 35.90    |
| 31  | MK-28  | ++                        | 28.01                         | 34.98    |
| 32  | MK-20  | ++                        | 24.77                         | 34.58    |
| 33  | MK-26  | ++                        | 29.00                         | 33.67    |
| 34  | MK-6   | ++                        | 29.86                         | 33.55    |
| 35  | MK-30  | ++                        | 24.65                         | 32.77    |
| 36  | MK-19  | ++                        | 29.86                         | 32.64    |
| 37  | MK-21  | ++                        | 27.52                         | 32.13    |
| 38  | MK-48  | ++                        | 26.68                         | 31.75    |
| 39  | MK-38  | ++                        | 25.96                         | 31.37    |
| 40  | MK-2   | ++                        | 23.71                         | 30.74    |
| 41  | MK-22  | +                         | 25.72                         | 26.32    |

Crecimiento: Leve (+), Moderado (++) y abundante (+++).



**Figura 1.** Análisis de Componentes Principales (PCA) basado en el diámetro de los halos de fijación de nitrógeno formados por 41 aislamientos bacterianos a las 24 y 48 horas de incubación. **Nota.** El biplot muestra la distribución de los aislamientos (puntos) y las variables evaluadas (vectores), explicando un 100% de la variabilidad total en los dos primeros componentes (Dim1: 96,4%, Dim2: 3,6%).



**Figura 2.** Área del halo de solubilización de fosfato (mm<sup>2</sup>) de las bacterias aisladas de la rizósfera del *Neltuma pallida*, incubadas a 26 °C por 24 horas (círculo menor) y 48 horas (círculo mayor).

Dentro de la comunidad microbiana del suelo se encuentran bacterias que participan activamente en el ciclo del fósforo (P), contribuyendo, tanto, a la mineralización de compuestos orgánicos de fósforo, como a la solubilización de formas inorgánicas estables de este elemento. De acuerdo con **Rawat et al. (2020)** y **Nghia et al. (2022)**, la solubilización de fosfatos es una reacción química mediada por la acción de fosfatasas, enzimas especializadas que, poseen determinados microorganismos para transformar formas insolubles de fósforo en compuestos asimilables por las plantas, visualizándose a través de halos en medios de cultivo que contienen fósforo insoluble. **Pedrinho et al. (2023)**, señalan qué, bacterias con esta actividad biológica, incluidas las del género *Bacillus*, tienen la capacidad de sintetizar y

excretar ácidos orgánicos (oxálico, málico, fórmico, cítrico y glucónico) que facilitan la solubilización de formas recalcitrantes de fósforo (P) en el suelo. Esto sugiere qué, la capacidad de fijar nitrógeno y solubilizar fosfatos podría ser una característica relativamente común entre las rizobacterias, aunque dependiente del origen del aislamiento y de las condiciones experimentales.

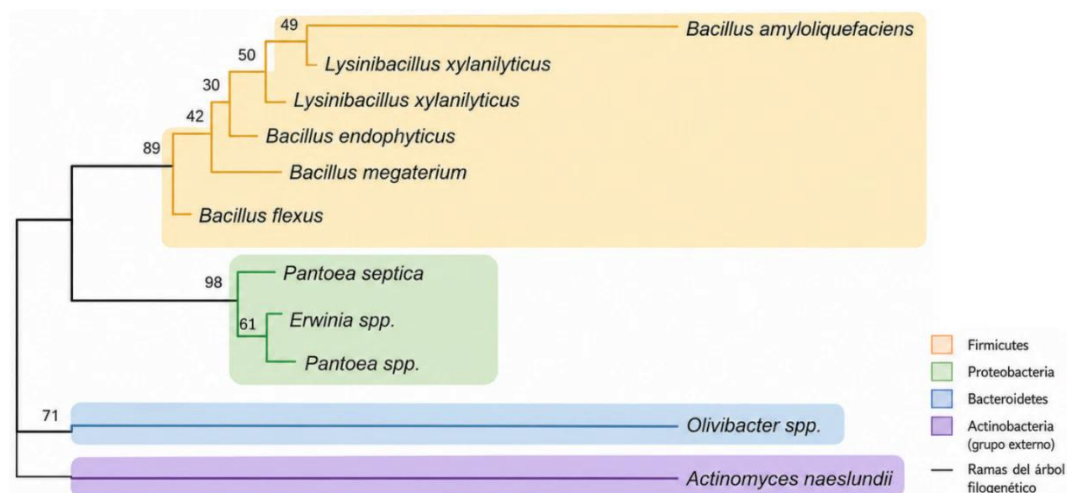
**Identificación molecular y relación filogenética**  
La identificación molecular de las 10 cepas bacterianas que presentaron alta capacidad de fijación de nitrógeno y en las que 5 mostraron eficiencia en la solubilización de fosfatos, reveló que corresponden a los filos *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* y *Firmicutes*, distribuidos en cinco géneros: *Bacillus*, *Pantoea*, *Lysinibacillus*, *Olivibacter* y *Erwinia*. No obstante, el

género *Bacillus* mostro predominancia por cuatro especies (*Bacillus thuringiensis*, *Bacillus paramycoi-des*, *Bacillus wiedmannii* y *Bacillus subtilis*), lo cual particularmente relevante, dado que este grupo es ampliamente reconocido por su versatilidad metabólica y promover el crecimiento vegetal (Tabla 4). El análisis filogenético reveló un árbol con relaciones evolutivas donde las especies bacterianas se agrupan en tres filos principales: Firmicutes, Proteobacteria y Bacteroidetes (Figura 3). En Firmicutes, se forma un clado con los géneros *Bacillus* y *Lysinibacillus*, en el que se encuentran *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus endophyticus* y *Bacillus flexus*, con valores de soporte moderados (30–89), lo que indica una proximidad evolutiva cercana. No obstante, *Lysinibacillus* aparece estrechamente relacionado con *Bacillus*, lo que evidencia una relación evolutiva marcada. Respecto a Proteobacteria, este filo muestra que los géneros *Pantoea* y *Erwinia* presentan valores de soporte altos (61–98), reflejando una relación estrecha entre *Pantoea septica*, *Pantoea* spp. y *Erwinia* spp. En cuanto al filo Bacteroidetes, *Olivibacter* spp. se presenta como un grupo más distante. Esta distribución refleja una diversidad taxonómica marcada y permite inferir relaciones evolutivas entre bacterias con características fisiológicas distintas, lo cual permitiría explicar la fijación de nitrógeno y solubilización de fosfato. Estos hallazgos son consistentes con los reportados por Merino-Rafael & Jaramillo-Calle (2024), quienes también identificaron especies del género *Bacillus* como microorganismos capaces de fijar nitrógeno en la rizósfera de *Neltuma pallida*. Otros autores como da Rosa et al. (2024), señalan que, bacterias de este mismo género, también poseen actividad enzimática para solubilizar formas de fosfato. Esto es respaldado por Iqbal et al. (2024) quienes han hallado a *Bacillus* spp. como una especie bacteriana solubilizadora de fosfato, una capacidad que mo-

dula la actividad de las exoenzimas del suelo y mejora el crecimiento del trigo. Lo cual es consistente con reportes de *Bacillus megaterium* con características fisiológicas de solubilizar fosfato (Saeid et al., 2018). No obstante, estudios realizados por Ávila et al. (2015), concluyen que especies del género *Bacillus*; además, de realizar estas funciones celulares, también son productoras de la hormona ácido indolacético, una auxina, que juega un papel crucial en el crecimiento y desarrollo de las plantas. En consecuencia, los resultados encontrados en nuestro trabajo, confirman el papel fundamental de ciertas especies del género *Bacillus* como determinante en los procesos de fijación biológica de nitrógeno y solubilización de fosfatos en la rizosfera de *Neltuma pallida*; además, de reforzar la hipótesis de que *Bacillus* podría ser un componente esencial para estrategias de biofertilización en ecosistemas asociados a esta especie vegetal. Estudios previos han demostrado que diversas especies del género *Pantoea* desempeñan funciones relevantes en la promoción del crecimiento vegetal. En este contexto, Bakhora et al. (2024) evidenciaron que *Pantoea agglomerans* posee una notable capacidad para colonizar la rizósfera y establecer asociaciones beneficiosas con *Vitis vinifera* L., favoreciendo procesos relacionados con el desarrollo vegetal. De manera concordante, Nascimento et al. (2020) señalaron que numerosas cepas pertenecientes a este género exhiben características típicas de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR), entre ellas la fijación biológica de nitrógeno, la solubilización de fosfatos y la producción de metabolitos bioactivos. En ese sentido, puesto que en el presente estudio se identificó a *Pantoea* spp. en la rizósfera de *Neltuma pallida* y su elevada eficiencia en la fijación de nitrógeno y la solubilización de fosfatos, se refuerza la hipótesis de que este género constituye un componente funcionalmente importante del microbioma asociado al algarrobo.

Tabla 4  
Identificación molecular de bacterias aisladas de la rizosfera de *Neltuma pallida* mediante secuenciación del ARNr 16S

| Aislamiento | Identidad en GenBank                | Número de acceso | Tamaño del fragmento (pb) /cobertura (%) | Identidad (%) | Valor E |
|-------------|-------------------------------------|------------------|------------------------------------------|---------------|---------|
| MK-03       | <i>Bacillus endophyticus</i>        | MH144228.1       | 954/100                                  | 98            | 0.0     |
| MK-09       | <i>Olivibacter</i> spp.             | CP041643.1       | 933/100                                  | 100           | 0.0     |
| MK-10       | <i>Pantoea séptica</i>              | MH017410.1       | 954/100                                  | 100           | 0.0     |
| MK-12       | <i>Lysinibacillus xylanilyticus</i> | MF582342.1       | 892/100                                  | 100           | 0.0     |
| MK-14       | <i>Lysinibacillus xylanilyticus</i> | MF188191.1       | 941/100                                  | 100           | 0.0     |
| MK-16       | <i>Bacillus megaterium</i>          | HQ898863.1       | 768/100                                  | 96            | 0.0     |
| MK-40       | <i>Erwinia</i> spp.                 | MK070126.1       | 928/100                                  | 99            | 0.0     |
| MK-43       | <i>Bacillus flexus</i>              | KX242399.1       | 956/100                                  | 98            | 0.0     |
| MK-44       | <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>   | CP054415.1       | 952/100                                  | 99            | 0.0     |
| MK-45       | <i>Pantoea</i> spp.                 | CP040095.1       | 925/100                                  | 100           | 0.0     |



**Figura 3.** Árbol filogenético basado en el método de agrupación de unión de vecinos y el modelo 3 parámetros de Tamura con un valor bootstrap de 1000 réplicas, que muestra la relación existente entre los géneros de las especies de bacterias identificadas empleando el gen 16S ARNr.

De forma interesante, investigaciones recientes amplían la comprensión ecológica de *Pantoea* más allá de la interacción planta-microorganismo. Izadi et al. (2026) identificaron bacterias pertenecientes a este género como parte del microbioma intestinal de *Ectomyeloides ceratoniae*, uno de los principales insectos fitófagos asociados al algarrobo. Aunque este hallazgo no demuestra un proceso de transmisión entre insecto y planta, sí revela que ambos organismos comparten determinados grupos bacterianos, sugiriendo la existencia de una red ecológica más compleja de la previamente reconocida. Bajo esta perspectiva, los insectos fitófagos podrían actuar como reservorios, vectores o moduladores de microorganismos con potencial benéfico, hipótesis que deberá ser evaluada mediante estudios de metagenómica comparativa, análisis poblacionales y experimentos de transmisión controlada.

En relación con *Erwinia* spp., diversos estudios han demostrado que especies pertenecientes a este género poseen una elevada capacidad para solubilizar compuestos fosfatados mediante la producción de ácidos orgánicos y enzimas fosfatasa, incrementando la disponibilidad de fósforo para las plantas (Muleta et al., 2013; Bechtaoui et al., 2024). Estos estudios guardan relación con los hallazgos del presente estudio, puesto que se encontró a *Erwinia* spp. como una bacteria con función dual y eficiente en la fijación de nitrógeno y solubilización de fosfatos, lo que amplía el conocimiento sobre el potencial funcional de este género como bacteria promotora del crecimiento vegetal. En ese contexto, autores como Suarez-Silva et al. (2026), detectaron miembros de la familia Erwiniaceae en el microbioma de larvas de *Enallodiplosis discordis* (insecto plaga del

algarrobo) y en el endomicrobioma de *Neltuma pallida*, mientras que Izadi et al. (2026) identificaron bacterias del género *Erwinia* como endosimbiontes intestinales de *Ectomyeloides ceratoniae* (insecto plaga del algarrobo). Estos hallazgos sugieren que *Erwinia* mantiene asociaciones recurrentes con diferentes organismos que integran el ecosistema del algarrobo. Si bien aún no existe evidencia que confirme un intercambio directo entre insectos, suelo y planta, la recurrencia de este género en estos compartimentos biológicos plantea la posibilidad de que participe en redes ecológicas de colonización y dispersión microbiana.

En cuanto a la especie *Lysinibacillus xylanilyticus* identificada en este estudio concuerda con reportes que señalan que el género *Lysinibacillus* comprende diversas especies caracterizadas por su capacidad para sintetizar una amplia gama de enzimas hidrolíticas y metabolitos secundarios con funciones relevantes en la promoción del crecimiento vegetal (Celandroni et al., 2019). Esto es respaldado por los estudios de Shiqi et al. (2023), quienes reportaron a *Lysinibacillus fusiformis* (B301), y de Celestino et al. (2025), quienes también identificaron a *Lysinibacillus fusiformis* como una bacteria promotora del crecimiento vegetal, asociada a procesos de nitrificación que contribuyen a la disponibilidad de nitrógeno en el suelo.

Finalmente, en relación con *Olivibacter* spp., cuya presencia también fue evidenciada en la rizósfera de *Neltuma pallida*, este hallazgo es consistente con estudios previos que describen a este género bacteriano como un componente frecuente de comunidades microbianas presentes en suelos, cuerpos de agua e incluso ambientes contaminados, siendo

*Olivibacter oleidegradans* una especie ampliamente reportada y reconocida por su capacidad para degradar hidrocarburos y otros compuestos orgánicos complejos (Szabo et al., 2011). No obstante, en otros estudios se ha identificado especies como *Olivibacter jilunii* aislada de suelos contaminados con DDT (Chen et al., 2013), *Olivibacter sitiensis* aislada de materia orgánica de residuos de aceite de oliva (Ntougias et al., 2007), y *Olivibacter ginsenosidimutans* (Siddiqi et al., 2018) y *Olivibacter composti* (Shih-Yao et al., 2017) en muestras de compost. Sin embargo, hasta el momento, no se ha documentado evidencia científica que relacione a estas especies con la fijación biológica de nitrógeno o la solubilización de fosfato, siendo esta investigación el primer reporte de una especie del género *Olivibacter* con potencial para fijar nitrógeno, aunque sin actividad solubilizadora de fosfato.

#### 4. Conclusiones

Del suelo rizosférico de *Neltuma pallida* se aislaron 50 cepas bacterianas, de las cuales, al ser cultivadas en medio selectivo ASHBY, únicamente 41 evidenciaron capacidad de crecimiento, lo que indicó su potencial como fijadoras de nitrógeno. De estas, se seleccionaron las 10 con mayor actividad fijadora y se sometieron a ensayos de solubilización de fosfatos, observándose que solo 5 presentaban esta capacidad adicional. La identificación molecular y el análisis filogenético, realizados mediante la secuenciación del gen 16S ARNr, permitieron establecer que las cepas fijadoras de nitrógeno correspondieron a *Bacillus endophyticus*, *Olivibacter* spp., *Pantoea septica* y *Lysinibacillus xylanilyticus* (dos aislados), mientras que las cepas con capacidad tanto de fijación de nitrógeno como de solubilización de fosfatos fueron *Bacillus megaterium*, *Erwinia* spp., *Bacillus flexus*, *Bacillus amyloliquefaciens* y *Pantoea* spp. Estas especies se agruparon en seis géneros: *Lysinibacillus*, *Olivibacter*, *Bacillus*, *Pantoea* y *Erwinia*. Los resultados resaltan la relevancia de seleccionar cepas con funciones fisiológicas múltiples para promover el crecimiento vegetal y su potencial aplicación en estrategias de agricultura sostenible, priorizando aquellas con mayor eficacia para futuros ensayos de formulación y validación en condiciones de invernadero y campo.

#### Declaración de conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses alguno.

#### Agradecimientos

A la empresa Inca Biotec S.A.C. por haber proporcionado los ambientes y equipos de sus laboratorios para la ejecución del presente estudio.

#### Contribución de los autores

**M. F. García-León:** Metodología, Investigación, Validación, Redacción-Borrador Original, Redacción-Revisión y Edición. **J. S. Córdova-Campos:** Metodología, Curación de datos, Redacción-Borrador Original, Redacción-Revisión y Edición. **S. M. García-García:** Software, Análisis formal, Redacción-Borrador Original, Redacción-Revisión y Edición. **A. A. Ruiz-Polo:** Análisis formal, Visualización, Redacción-Borrador Original, Redacción-Revisión y Edición. **E. L. Mialhe-Montannier:** Supervisión, Visualización, Redacción-Borrador Original, Redacción-Revisión y Edición. **R. García-Seminario:** Supervisión, Validación, Visualización, Redacción-Borrador Original. **C. A. Mogollón-Farías:** Conceptualización, Metodología, Investigación, Validación, Visualización, Redacción-Borrador Original, Redacción-Revisión y Edición.

#### ORCID

M. F. García León  <https://orcid.org/0009-0005-5080-2858>  
 J. S. Cordova-Campos  <https://orcid.org/0000-0002-5891-4679>  
 S. M. Garcia-Garcia  <https://orcid.org/0009-0003-6300-9221>  
 A. A. Ruiz-Polo  <https://orcid.org/0009-0005-1273-2625>  
 E. L. Mialhe-Matonnier  <https://orcid.org/0000-0002-7952-6907>  
 R. García-Seminario  <https://orcid.org/0000-0003-0756-0935>  
 C. A. Mogollón-Farías  <https://orcid.org/0009-0000-5390-9208>

#### Referencias bibliográficas

- Abd-Alla, M. H., Al-Amri, S., & El-Enany, A. E. (2023). Improving the symbiosis between rhizobia and legumes and reducing the use of nitrogen fertilizers are possible options to mitigate climate change. *Agriculture*, 13(11), 2092. <https://doi.org/10.3390/agriculture13112092>
- Ariza, S., González, O., & López, J. (2020). Evaluación de fijadores biológicos de nitrógeno libres sobre el crecimiento de gramíneas en suelo degradado. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 22(1), 87-97. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v22n1.78019>
- Ávila, E.G., Lizarazo, L. M., & Cortés, F. (2015). Promoción del crecimiento de baccharis macrantha (Asteraceae) con bacterias solubilizadoras de fosfatos asociadas a su rizosfera. *Acta Biologica Colombiana*, 20(3), 121-131. <https://doi.org/10.15446/abc.v20n3.44742>
- Bhattacharyya, P. N., & Jha, D. K. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(2012), 1327-1350. <https://doi.org/10.1007/s11274-011-0979-9>
- Bechtaoui, N., Raklami, A., Tahiri, A., Benidire, L., Göttfert, M., & Oufdou, K. (2024). Rizobacterias solubilizadoras de fosfato y sus efectos en el crecimiento y la absorción de fósforo por las plantas de trigo. *Journal of Plant Nutrition*, 47, 2811-2823. <https://doi.org/10.1080/01904167.2024.2369069>
- Bakhora, D., Sokhibjon, A., Vyacheslav, S., Difuza, J., Bakhora, T., Guzal, K. y Kakhramon, D., (2024). Bacterias asociadas a la rizosfera de la vid (*Vitis vinifera* L.) y su eficacia en la promoción del crecimiento vegetal. *Plant Science Today*, 1(4): 1739-1746. <https://doi.org/10.14719/pst.3338>
- Celandroni, F., Vecchione, A., Cara, A., Mazzantini, D., Lupetti, A., & Ghelardi E. (2019). Identification of *Bacillus* species: Implication on the quality of probiotic formulations. *PLOS ONE*, 14(5), e0217021. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217021>
- Celestino Aguilar, R., Herrera, R., Causadias, J. L., Bernal, B., Chavarría, O., González, C., Góndola, J., Moreno, A., & Martínez, A. A. (2025). "Genomic Insights into Plant Growth-Promoting Traits of *Lysinibacillus fusiformis* and *Bacillus cereus* from Rice Fields in Panama." *Microbiology Research*, 16(5), 95. <https://doi.org/10.3390/microbiolres16050095>
- Chen, K., Tang, S. K., Wang, G. L., Nie, G. X., Li, Q. F., Zhang, J. D.,

- Li, W. J., & Li, S. P. (2013). *Olivibacter jilunii* sp. nov., isolated from DDT-contaminated soil. *International Journal Systematic Evolutionary Microbiology*, 63(3), 1083–1088. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.042416-0>
- Choudhury, D., Tarafdar, S., & Dutta, S. (2022). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and their eco-friendly strategies for plant growth regulation: A review. *Plant Science Today*, 9(3), 524–537. <https://doi.org/10.14719/pst.1604>
- Cordero, I., Ruiz, B., Balaguer, S., Richter, A., Pueyo, J. J., & Rincón, A. (2017). Rhizospheric microbial community of *Caesalpinia spinosa* (Mol.) Kuntze in conserved and deforested zones of the Atiquipa fog forest in Peru. *Applied Soil Ecology*, 114(2017), 132–141. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.02.015>
- Cordero, I., Pueyo, J. J., & Rincón, A. (2024). Bio-fertilisation with native plant growth promoting rhizobacteria increases the tolerance of the neotropical legume tree *Caesalpinia spinosa* to water deficit. *Forest Ecology and Management. Ecología y Gestión Forestal*, 558, 121786. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2024.121786>
- Dao-Jun, G., Singh, R., Singh, P., Dong-ping, L., Sharma, A., Xing, Y., Xiu-peng, S., Li-Tao, Y., & Yang-Rui, L. (2020). Secuencia completa del genoma de *Enterobacter roggenkampii* ED5, una bacteria endófito fijadora de nitrógeno promotora del crecimiento vegetal con propiedades de biocontrol y tolerancia al estrés, aislada de la raíz de la caña de azúcar. *Frontiers in Microbiology*, 11, 580081. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.580081>
- da Rosa, E. D. F. F., do Nascimento Andrade, C., da Luz, S., Kaseker, J. F., Nohatto, M. A., & Nagel, L. E. T. (2024). Avaliação da interação entre bactérias solubilizadoras de fosfato e micorrizas, com doses de fósforo na cultura do milho. *Revista de Ciências Agroveterinárias*, 23(2), 265–275. <https://doi.org/10.5965/223811712322024265>
- Daraz, U., Li, Y., Sun, Q., Zhang, M., & Ahmad, I. (2021). Inoculation of *Bacillus* spp. Modulate the soil bacterial communities and available nutrients in the rhizosphere of vetiver plant irrigated with acid mine drainage. *Chemosphere*, 263, 128345. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128345>
- Galagarza, O. A., Ramirez-Hernandez, A., Oliver, H., Álvarez Rodríguez, M. V., Valdez Ortiz, M. C., Pachari Vera, E., Cereceda, Y., Diaz-Valencia, Y. K., & Deering, A. (2021). Occurrence of chemical contaminants in Peruvian produce: A food-safety perspective. *Foods*, 10(7), 1461. <https://doi.org/10.3390/foods10071461>
- Gonçalves, J., Freitas, J., Fernandes, I., & Silva, P. (2023). Microalgae as biofertilizers: A sustainable way to improve soil fertility and plant growth. *Sustainability*, 15(16), 12413. <https://doi.org/10.3390/su151612413>
- Gómez, V., Molina-Roco, M., Chichipe, E., & Rojas, E. (2023). Trace elements in fertilizers used in Peru. *OnLine Journal of Biological Sciences*, 23, 219–225. <https://doi.org/10.3844/ojbsci.2023.219.225>
- Gu, Y., Dong, K., Geisen, S., Yang, W., Yan, Y., Gu, D., Liu, N., Borisjuk, N., Luo, Y., & Friman, V. (2020). The effect of microbial inoculant origin on the rhizosphere bacterial community composition and plant growth-promotion. *Plant and Soil*, 452, 105–117. <https://doi.org/10.1007/s11104-020-04545-w>
- Gupta, G., Parihar, S. S., Ahirwar, N. K., Snehi, S. K., & Singh, V. (2015). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): current and future prospects for development of sustainable agriculture. *Journal of Microbial & Biochemical Technology*, 7(2), 096–102. <https://doi.org/10.4172/1948-5948.1000188>
- Hughes, C. E., Ringelberg, J. J., Lewis, G. P., & Catalano, S. A. (2022) Disintegration of the genus *Prosopis* L. (Leguminosae, Caesalpinioideae, mimosoid clade). In: Hughes CE, de Queiroz LP, Lewis GP (Eds) *Advances in Legume Systematics 14. Classification of Caesalpinioideae Part 1: New generic delimitations. PhytoKeys*, 205, 147–189. <https://doi.org/10.3897/phytokeys.205.75379>
- Izadi, Z., Fekrat, L., Baghaee Ravari, S. y ZakiAghl, M. (2026). Bacterias intestinales cultivables asociadas con la polilla de la algarroba, *Ectomyelois ceratoniae* (Zeller, 1839) (Lep.: Pyralidae). *Investigación agrícola de Irán*, 45 (2), 12–19. <https://doi.org/10.22099/iar.2026.55185.1732>
- Jwaideh, M., Sutanudjaja, E., & Dalin, C. (2022). Global impacts of nitrogen and phosphorus fertiliser use for major crops on aquatic biodiversity. *Revista Internacional de Evaluación del Ciclo de Vida*, 27, 1058–1080. <https://doi.org/10.1007/s11367-022-02078-1>
- Jiménez, D., Montaña, J., & Martínez, M. (2011). Characterization of free nitrogen fixing bacteria of the genus *Azotobacter* in organic vegetable-grown Colombian soils. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42(3), 846–858. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822011000300003>
- Kumar, S., Diksha, Sindhu, S., & Kumar, R. (2021). Biofertilizers: An ecofriendly technology for nutrient recycling and environmental sustainability. *Current Research in Microbial Sciences*, 3, 100094. <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2021.100094>
- Khan, Q., Huang, X., He, Z., Wang, H., Chen, Y., Xia, G., & Zhang, Y. (2024). Una perspectiva sobre el conflicto y la colaboración entre plantas y microorganismos. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 11, 161. <https://doi.org/10.1186/s40538-024-00684-9>
- Iqbal, Z., Ahmad, M., Raza, M., Hilger, T., & Rasche, F. (2024). Phosphate-Solubilizing *Bacillus* sp. Modulate Soil Exoenzyme Activities and Improve Wheat Growth. *Microbial Ecology, Microb Ecol*, 87, 31. <https://doi.org/10.1007/s00248-023-02340-5>
- Mahdi, I., Fahsi, N., Hafidi, M., Allaoui, A., & Biskri, L. (2020). Plant Growth Enhancement using Rhizospheric Halotolerant Phosphate Solubilizing Bacterium *Bacillus licheniformis* QA1 and *Enterobacter asburiae* QF11 Isolated from *Chenopodium quinoa* Willd. *Microorganisms*, 8(6), 948. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8060948>
- Merino-Rafael, F. A., & Jaramillo-Calle, L. P. (2024). Evaluación de la capacidad promotora del crecimiento vegetal de las rizobacterias de *Neltuma pallida* en el bosque seco de Piura, Perú: pruebas en laboratorio y efecto en la germinación de semillas. *Bosque (Valdivia)*, 45(2), 337–345. <https://doi.org/10.4067/S0717-92002024000200337>
- Mosquera Espinosa, A. T., Taborda Gálvez, D., Suárez Rendón, G., Rivera, J., Rodas, P. P., Cárdenas Varón, R., Garcés Sanmartín, S., García Marulanda, Z., Núscua Otero, A., Rodríguez Parra, D., & Suárez-Barón, H. (2024). Biodisponibilidad del fósforo en la rizosfera de café y cultivos alimentarios por actividad bacteriana. *Temas Agrarios*, 29(1), 22–39. <https://doi.org/10.21897/v2m77468>
- Muleta, D., Assefa, F., Björjesson, E., & Granhall, U. (2013). Phosphate-solubilizing rhizobacteria associated with *Coffea arabica* L. in natural coffee forests of southwestern Ethiopia. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 12(1), 73–84. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2012.07.002>
- Nascimento, F., Hernández, A., Glick, B., & Rossi, M. (2020). The extreme plant-growth promoting properties of *Pantoea phytobeneficialis* MSR2 revealed by functional and genomic analysis. *Environmental microbiology*, 22(4):1341–1355. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14946>
- Nghia, N., Oanh, N., Thanh, N., Xia, L., Vien, D., & Thy, C. (2022). Isolation and selection of salt-tolerant bacterial strains capable of solubilizing phosphorus and synthesizing phosphatase enzyme from rice-shrimp soil in Mekong River Delta, Vietnam. *Applied Environmental Biotechnology*, 7(2): 5–14. <http://doi.org/10.26789/AEB.2022.02.002>
- Ngoc, K. & Trung, M. (2025). Evaluación estadística del impacto de los fertilizantes agrícolas en la calidad del agua y la sostenibilidad ambiental. *Heritage and Sustainable Development*, 7(1), 401–414. <https://doi.org/10.37868/hsd.v7i1.1217>

- Ntougias, S., Fasseas, C., & Zervakis, G. I. (2007). *Olivibacter sitiensis* gen. nov., sp. nov., isolated from alkaline olive-oil mill wastes in the region of Sitia, Crete. *International Journal Systematic Evolutionary Microbiology*, 57(2), 398–404. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.64561-0>
- Pasiecznik, N. M., Felker, P., Harris, P. J. C., Harsh, L. N., Cruz, G., Tewari, J. C., Cadoret, K. & Maldonado, L. J. (2001) The *Prosopis juliflora* - *Prosopis pallida* Complex: A Monograph. HDRA, Coventry, UK, pp.172.
- Palmer, C., & Fletcher, S. (2003). *Matemáticas prácticas*. 2da Edición, Reverté.
- Pedrinho, A., Mendes, L. W., Barros, F. M. do R., Merloti, L. F., Martins, M. M., & Cotta, S. R., (2023). Impacts of deforestation and forest regeneration on soil bacterial communities associated with phosphorus transformation processes in the Brazilian Amazon region. *Ecological Indicators*, 146, 109779. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2022.109779>
- Rawat, P., Das, S., Shankhdhar, D. & Shankhdhar, S. (2020). Phosphate-Solubilizing Microorganisms: Mechanism and Their Role in Phosphate Solubilization and Uptake. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 21, 49 - 68. . <https://doi.org/10.1007/s42729-020-00342-7>
- Saeid, A., Prochownik, E., & Dobrowolska-Iwanek, J., (2018). Phosphorus Solubilization by Bacillus Species. *Molecules*, 23(2897), 4-18. <https://doi.org/10.3390/molecules23112897>
- Saitou, N., & Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol*, 4(4):406-25. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454>
- Shamem, R., J. M., Kumar, P., Rangasamy, G., Gayathri, K., & Parthasarathy, V. (2022). *Rhizobium mayense* sp. Nov., an efficient plant growth-promoting nitrogen-fixing bacteria isolated from rhizosphere soil. *Environmental research*, 220, 115200. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.115200>
- Siddiqi, M. Z., Liu, Q., Lee, S. Y., Choi, K. D. & Im, W. R. (2018). *Olivibacter ginsenosidimutans* sp nov., with ginsenoside converting activity isolated from compost, and reclassification of *Pseudo Sphingobacterium domesticum* as *Olivibacter domesticus* comb. nov. *International Journal Systematic Evolutionary Microbiology*, 68(8), 2509–2514, <https://doi.org/10.1099/ijs.0.002819>
- Shih-Yao, L., Asif, H., Kai-Yeh, C., You-Cheng, L., Yi-Han, H., Wei-An, L. & Chiu-Chung, Y. (2017). *Olivibacter composti* sp. nov., isolated from compost collected at a greenhouse. *International Journal Systematic Evolutionary Microbiology*, 67(2017), 148–152, <https://doi.org/10.1099/ijs.0.001593>
- Shiqi Wu, Na Lv, Y. Zhou & Xiufen Li. (2023). Eliminación simultánea de nitrógeno mediante nitrificación heterotrófica y desnitrificación aeróbica por un nuevo *Lysinibacillus fusiformis* B301. *Water Environment Research*, 95(3), e10850. <https://doi.org/10.1002/wer.10850>
- Seaton, F., George, P., Lebron, I., Jones, D., Creer, S., & Robinson, D. (2020). Soil textural heterogeneity impacts bacterial but not fungal diversity. *Soil Biology and Biochemistry*, 144, 107766. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2020.107766>
- Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú. (2018). *Estudios de Perú*. SENAMHI. <https://www.senamhi.gob.pe/main.php?dp=estaciones>
- Suarez-Silva, R., Saucedo-Bazalar, M., Ramirez Saenz, M., et al. (2026). Exploring the Algarrobo decline in the Pómac Forest: Unraveling the relationship between the endomicrobiome of *Neltuma pallida* and *Enalladiplosis discordis*. *Microbial Ecology*, 89, 74. <https://doi.org/10.1007/s00248-026-02711-8>
- Sun, Y., Tang, L., Cui, Y., Yang, D., Gao, H., Chen, J., Zheng, Z., & Guo, C. (2025). Inoculation of plant growth-promoting rhizobacteria and rhizobia changes the protist community of alfalfa rhizosphere soil under saline-alkali environment. *Applied Soil Ecology*, 206, 105775. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2024.105775>
- Szabo, I., Szoboszlai, S., Kriszt, N., Hahn, J., Harkai, P., Baka, E., Tancsics, A., Kaszab, E., Privler, Z., & Kukolya, J. (2011). *Olivibacter oleidegradans* sp. nov., a hydrocarbon- degrading bacterium isolated from a biofilter clean-up facility on a hydrocarbon-contaminated site. *International Journal Systematic Evolutionary Microbiology*, 61(12), 2861–2865, <https://doi.org/10.1099/ijs.0.026641-0>
- Tang, A., Haruna, A., Majid, N. & Jalloh, M. (2020). Posibles propiedades PGPR de bacterias celulolíticas, fijadoras de nitrógeno y solubilizadoras de fosfato en suelos de bosques tropicales rehabilitados. *Microorganisms*, 8(3), 442. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8030442>
- Tejera, B., Heydrich, M. & Rojas, M. (2013). Aislamiento de *Bacillus* solubilizadores de fosfatos asociados al cultivo del arroz. *Agronomía Mesoamericana*, 24(2), 357-364.
- Timofeeva, A., Galyamova, M. & Sedykh, S. (2023). Bacterias del suelo promotoras del crecimiento vegetal: fijación de nitrógeno, solubilización de fosfato, producción de sideróforos y otras actividades biológicas. *Plants*, 12(24) <https://doi.org/10.3390/plants12244074>
- Tamura, K. (1992). Estimation of the number of nucleotide substitutions when there are strong transition-transversion and G + C-content biases. *Mol Biol Evo*, 9(4):678-687. doi: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040752>
- Zuberer, D. A. (2021). Biological dinitrogen (N<sub>2</sub>) fixation: introduction and nonsymbiotic. 3era Edición. In Principles and applications of soil microbiology. *Elsevier*, 423-453. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820202-9.00016-2>