

Análisis de la liberación celular de rizobacterias en cápsulas de alginato de sodio y carboximetilcelulosa

Analysis of rhizobacteria cell release in sodium alginate and carboxymethylcellulose beads

Jaime Ramírez Acosta¹, Fernando Guevara Cordova¹, Yareli Caracheo Herrera¹, Vania Sarai Gómez Torres¹, Margarita Verenice García Jiménez¹, Ricardo Hernández Martínez¹, Rafael Alejandro Veloz García¹, Blanca Estela Gómez Luna¹.

¹Licenciatura en Ingeniería Biotecnología, División de Ciencias de la Salud e Ingenierías, Campus Celaya Salvatierra, Universidad de Guanajuato, Av. Ing. Barros Sierra No. 201 Ejido de Santa María del Refugio, Celaya, Guanajuato, 36000, México;
j.ramirezacosta@ugto.mx, f.guevaracordova@ugto.mx, caracheoherrera@ugto.mx, vs.gomeztorres@ugto.mx,
mv.garciajimenez@ugto.mx, r.hernandez.m@ugto.mx, alejandrovloz@ugto.mx, be.gomez@ugto.mx

Resumen

El uso indiscriminado de agroquímicos ha generado diversos problemas ambientales, tales como la reducción de organismos beneficiosos en el suelo y la contaminación de suelo, agua y aire. Para abordar estas desventajas, se han buscado alternativas sostenibles, entre las cuales se destacan los microorganismos promotores del crecimiento vegetal, especialmente ciertas bacterias que ofrecen beneficios a las plantas, como mejorar la absorción de nutrientes, inhibir ataques de patógenos y descomponer sustancias tóxicas. Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal pueden emplearse como biofertilizantes, siendo el uso de consorcios una estrategia para potenciar sus habilidades complementarias y lograr resultados más efectivos. Una forma de aplicación es mediante la encapsulación con polímeros, lo cual protege a las rizobacterias contra el estrés ambiental y mejora su rendimiento en el suelo. En esta investigación, se utilizó alginato de sodio, un polímero ampliamente empleado debido a su versatilidad y biocompatibilidad, junto con carboximetilcelulosa, un derivado hidrosoluble de la celulosa, para la encapsulación de un consorcio de rizobacterias. Entre ellas, se destaca la cepa 419 por su capacidad para degradar carboximetilcelulosa, lo cual es relevante para la degradación de este componente presente en la cápsula y, por ende, para promover una liberación de las bacterias. Se observó que la concentración de la cepa bacteriana 419 en la formulación de las cápsulas influye en su tasa de liberación. Los resultados mostraron que una concentración del doble de la cepa incrementa la velocidad de liberación, aunque se identificó un límite que compromete este proceso. Estos hallazgos son relevantes para optimizar la encapsulación y asegurar la efectividad de la liberación controlada de las bacterias promotoras del crecimiento en aplicaciones agrícolas sostenibles.

Palabras clave: microorganismos benéficos, simbiosis, fitoestimulación, consorcios, biofertilizantes.

Introducción

Los agroquímicos son sustancias utilizadas en cultivos agrícolas para incrementar la producción y así lograr cubrir la gran demanda mundial de alimentos que existe en la actualidad; sin embargo, esto mismo ha provocado el uso indiscriminado de estos productos (Guzmán-Plazola y otros, 2016). Algunos de los problemas provocados por la aplicación intensiva de agroquímicos son: eliminación de organismos, efectos de resistencia de poblaciones de plagas y contaminación de ecosistemas acuáticos (Reyes y otros, 2010). Lamentablemente, los sistemas acuáticos, terrestres y marinos son los más afectados por el uso de productos contaminantes como plaguicidas y fertilizantes, alterando las condiciones naturales de los ecosistemas (García-Gutiérrez y Rodríguez-Meza, 2012).

Ante las desventajas de su uso, se han llevado a cabo investigaciones en busca de alternativas más amigables con el ambiente y sostenibles, que logren disminuir la aplicación de estos productos en la agricultura. Una de las alternativas es el uso de microorganismos promotores del crecimiento vegetal que establecen simbiosis con especies vegetales de interés agrícola, forestal y ornamental los cuales suministran grandes beneficios a la planta (Cruz-Cárdenas y otros, 2021). Un ejemplo de estos microorganismos son las rizobacterias, las cuales poseen importantes capacidades metabólicas ya que

logran utilizar diferentes fuentes de carbono para multiplicarse, respiración aeróbica y anaeróbica, emplean diferentes donantes de electrones orgánicos e inorgánicos, etcétera. Además, son capaces de relacionarse con otras especies hongos, animales o plantas, y estas interacciones pueden llegar a ser favorables, neutras o negativas (Pardo y otros, 2021).

Las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal son microorganismos que viven en la rizósfera, la cual es el área del suelo que se encuentra unida a la raíz y que se extiende a algunos milímetros de la superficie del sistema radicular. En esta parte existe una interacción dinámica de los procesos biogeoquímicos entre las raíces y microorganismos del suelo, los cuales se ven influenciados por los exudados radiculares (Rodríguez-Sahagún y otros, 2020).

Estos microorganismos pueden ser aislados y aprovechados de diversas fuentes y ambientes naturales, como las Áreas Naturales Protegidas (ANP). Estas zonas no han sido alteradas por la actividad humana y conservan intactas sus características fisicoquímicas, así como las poblaciones de microorganismos que albergan y que realizan funciones importantes para la calidad y salud del suelo y los ecosistemas (Gómez Luna y otros, 2021). Sin embargo, es importante destacar que no todas las bacterias aisladas de plantas o suelos tienen la capacidad de promover el crecimiento vegetal. Por lo tanto, se deben realizar estudios previos para evaluar su interacción y capacidad de fitoestimulación (Vivanco-Calixto y otros, 2015).

Las rizobacterias benefician a las plantas a través de diferentes mecanismos (Figura 1) como: fijación de nitrógeno, síntesis de fitohormonas, desarrollo del crecimiento de la raíz, proliferación de pelos radiculares, mejora de la absorción de nutrientes y agua, inhibición del crecimiento de microorganismos patógenos y producción de sideróforos (Torriente, 2010). Además, participan en el ciclaje tomando nutrientes no aprovechables para la planta y transformándolas hasta la obtención de formas asimilables para las células vegetales (Camelo y otros, 2011). Así mismo favorecen el desarrollo de otros microorganismos benéficos, promueven la descomposición de sustancias tóxicas y aumentan el contenido de materia orgánica (Reséndez y otros, 2018).

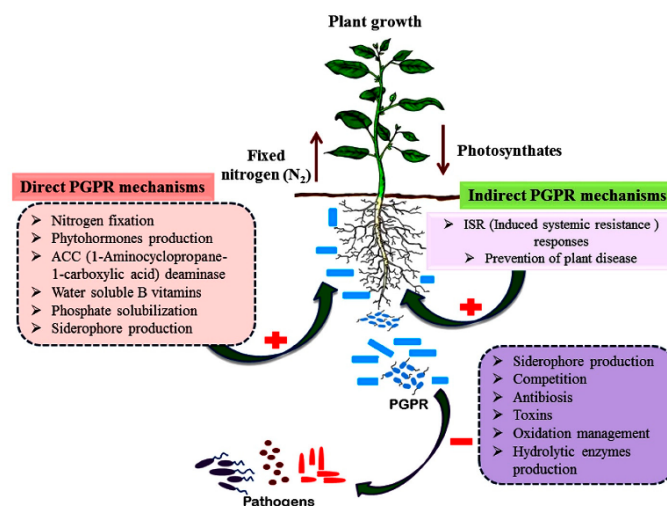


Figura 1. Mecanismos de actividad de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR, por sus siglas en inglés).
 Fuente: (Chandran y otros 2021)

La formación de consorcios de rizobacterias es una estrategia adecuada para potenciar las actividades de estos microorganismos y sus efectos positivos en las plantas. Un consorcio consiste en una asociación de diversas cepas de rizobacterias que trabajan en conjunto para mejorar el crecimiento y la salud de las plantas. Al combinar cepas con habilidades complementarias, se pueden lograr resultados superiores a los que se obtendrían utilizando una sola cepa.

Las características benéficas de las rizobacterias han sido consideradas para su aplicación en la agricultura, con el objetivo de mejorar la producción agrícola (Camelo y otros, 2011). Una de estas aplicaciones es su uso como biofertilizante, lo que representa una alternativa sostenible a los problemas generados por el uso de agroquímicos, como el empobrecimiento de nutrientes en el suelo y la contaminación. La Organización de

las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación ha propuesto el uso de microorganismos como una opción para lograr una alimentación y agricultura sostenibles (Castillo, 2019).

Aunque la inoculación de plantas con rizobacterias se realiza comercialmente en la agricultura, la formulación de un inóculo con un efecto confiable y consistente en condiciones de campo es problemática (Malusá y otros, 2012). Para la formulación exitosa de bioinoculantes o biofertilizantes, se deben superar condiciones específicas de temperatura, humedad, salinidad, radiación UV, estrés hídrico y pH de suelos desfavorables (García y otros, 2011). El uso de microorganismos promotores de crecimiento vegetal debe ser manejado en base a protocolos que sean seguros para los agricultores y su entorno, no tener algún componente que resulte nocivo para las plantas y ser capaz de degradarse en el suelo por acción microbiana, resistente a los factores ambientales destructivos presentes en el suelo (Hernández-Martínez y otros, 2022).

La encapsulación en biopolímeros es una técnica valiosa para el desarrollo de biofertilizantes, permitiendo la protección y liberación controlada de microorganismos beneficiosos en el campo. Entre todos los materiales utilizados en los procesos de encapsulación, el alginato se considera el polímero experimental más común en la agricultura (Meftah-Kadmiri y otros, 2021) por ser versátil y biocompatible con los compuestos activos. Investigaciones anteriores han demostrado resultados favorables al formar cápsulas de alginato por su gran capacidad de atrapar las bacterias suficientes dentro del proceso de encapsulado (Hernández-Martínez y otros, 2022). La encapsulación con polímeros ofrece protección contra el estrés ambiental y, en consecuencia, aumenta la supervivencia y liberación de microorganismos en el suelo o en la semilla (Guo y otros, 2012).

El desarrollo y aplicación de biofertilizantes en cultivos debe tener en cuenta diversos aspectos, como el tipo de planta y la etapa fenológica del cultivo en la que se desea aplicar. La etapa inicial de crecimiento de las plantas es particularmente importante, ya que es en este momento cuando las plantas comienzan a desarrollar y fortalecer sus tallos, hojas, ramas y sistema radicular. Durante esta etapa, las plantas requieren una atención especial en cuanto a los nutrientes que reciben. Las rizobacterias pueden ser de gran ayuda en este sentido, ya que pueden ejercer sus efectos benéficos en la planta. Por lo tanto, es esencial asegurar que los biofertilizantes proporcionen una presencia adecuada de estos microorganismos durante el crecimiento de la planta para contribuir al desarrollo correcto del cultivo.

El presente estudio se centra en el desarrollo de un biofertilizante basado en cápsulas de alginato de sodio (AS) y carboximetilcelulosa (CMC), diseñadas para encapsular rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal, susceptible a la degradación enzimática bacteriana. Para ello, se partió de una identificación previa del material biológico y del desarrollo de un consorcio bacteriano, además de un protocolo para la encapsulación de estos microorganismos.

La formulación del biofertilizante incluye CMC como fuente de carbono, específicamente dirigida a una bacteria clave del consorcio, debido a su actividad carboximetilcelulasa (CMCasa). En estudios previos se demostró su destacada capacidad para sintetizar CMCasa, llegando a producir 43.34 unidades enzimáticas por mililitro (U/mL) (Hernández-Martínez y otros, 2023). Se busca que con la presencia de esta bacteria en el encapsulado se permita la “degradación controlada” de la porción de carboximetilcelulosa, y tenga impacto positivo en la tasa de liberación (Figura 2).

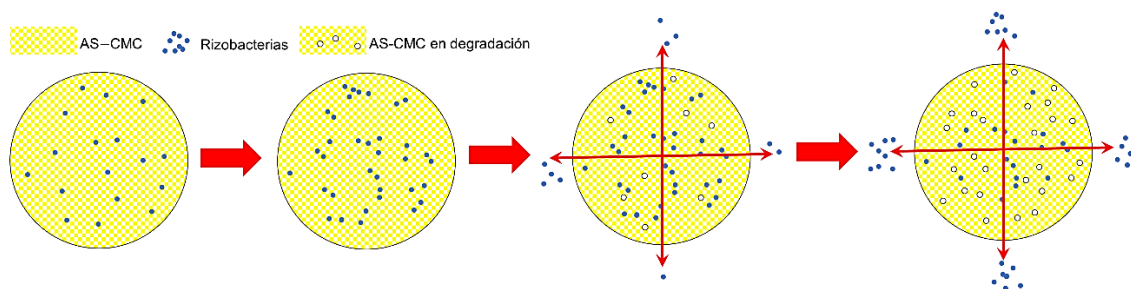


Figura 2. Modelo teórico de liberación celular de encapsulado.

Este enfoque tiene como motivo el lograr una aplicación óptima de biofertilizante en cultivos durante la fase fenológica de crecimiento primario, lo cual es de crucial importancia en el desarrollo de las plantas. La

presencia de rizobacterias en abundancia en esta etapa crítica beneficiaría procesos como el establecimiento del sistema radicular y la asimilación de nutrientes, lo que se traduciría en un crecimiento vigoroso y sano de las plantas. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto sobre la tasa de liberación de rizobacterias encapsuladas en cápsulas de AS-CMC bajo la influencia de la actividad CMCasa generada por el material biológico dentro del encapsulado.

Materiales y métodos

La investigación se desarrolló en el laboratorio de investigación en Biotecnología de la Universidad de Guanajuato, Campus Celaya - Salvatierra, División de Ciencias de la Salud e Ingenierías, sede Mutualismo.

Material biológico utilizado

En este estudio, se empleó un consorcio de cinco cepas bacterianas identificadas con los códigos 419, 112, 256, 275 y 303, las cuales fueron aisladas de suelos ubicados en ANP del estado de Guanajuato. Los aislados de rizobacterias fueron caracterizados, y se generaron colecciones de bacterias Gram positivas y Gram negativas, principalmente del género *Bacillus spp.* Las cepas 112, 256, 275 y 303 se obtuvieron de suelos en la ANP "El Cerro de Culiacán", localizado entre los municipios de Cortázar, Jaral del Progreso y Salvatierra. Por otro lado, la cepa 419 se aisló del suelo de la ANP "La Sierra de los Agustinos".

Previamente, se investigó el consorcio bacteriano (datos no publicados), y se observó que las cepas 112 y 256 ejercieron un efecto positivo del 92 % en el porcentaje de germinación de lentejas (*Lens culinaris*). Además, en términos del efecto promotor del crecimiento de las plantas de lenteja, las cepas 303 y 256 mejoraron significativamente la cantidad de biomasa, longitud de raíz y follaje en comparación con el control. La cepa 275 también mostró resultados favorables en cuanto a la germinación y promoción del crecimiento de las plantas de lenteja y de huisache (*Acacia farnesiana*).

Se investigó y demostró que estas cepas bacterianas poseen varias actividades que las hacen promotoras del crecimiento vegetal. Todas ellas mostraron actividad de la enzima ACC desaminasa, lo que es relevante en la reducción de la concentración de ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC), una sustancia que inhibe el crecimiento de las plantas. Además, todas las cepas solubilizaron fosfatos, lo cual es esencial para mejorar la disponibilidad de este nutriente esencial para el desarrollo de las plantas. Asimismo, todas las cepas, a excepción de la 419, mostraron capacidad para producir sideróforos, compuestos quelantes de hierro que facilitan la absorción de este elemento vital. Todas las cepas produjeron ácido indolacético, una hormona vegetal asociada con la promoción del crecimiento radicular y la formación de raíces adventicias. Es importante mencionar que, entre las cepas estudiadas, únicamente la cepa 419 muestra actividad de CMCasa, la cual exhibe una destacada y notable actividad, como se describió anteriormente.

Preparación del inóculo

Se llevó a cabo la inoculación individual de las cepas en caldo papa dextrosa, excepto para la cepa 419 que fue inoculada en caldo nutritivo. Los cultivos se llevaron a incubación 29° C con una velocidad de agitación de 150 rpm. Durante la fase estacionaria temprana, se recolectó el cultivo resultante y se centrifugó a 2000 rpm durante 20 min. Después, se eliminó el sobrenadante y se resuspendió el pellet en una solución de peptona al 1 % (p/v).

Soluciones

Se preparó una solución denominada gelificante, utilizando CMC y AS al 0.75 y 2 % (p/v) respectivamente. Estos componentes se disolvieron mediante agitación y calentamiento para facilitar su solubilización. Por otro lado, se preparó una solución denominada endurecedora, utilizando cloruro de calcio (CaCl_2) a una concentración de 0.135 M, complementada con Tween 20 a una concentración de 0.1 g/L. Ambas soluciones

se transfirieron a frascos de vidrio con tapa de rosca y se sometieron a esterilización en autoclave a 121° C durante 15 min.

Generación de encapsulados

Se siguió la metodología propuesta por Hernández-Martínez y otros (2022) con algunas modificaciones. Se preparó una solución gelificante que contenía un 10 % (v/v) de bacterias suspendidas en agua peptonada, a concentraciones específicas según se detalla en el siguiente apartado. Posteriormente, se extruyó la solución gelificante inoculada hacia la solución endurecedora, manteniendo una distancia de 6 cm entre la manguera y la solución. Todo el proceso se llevó a cabo a una temperatura de 25° C y se aplicó una velocidad de agitación magnética de 600 rpm, utilizando un agitador magnético. Las cápsulas formadas se sometieron a agitación durante 1 h a 600 rpm. Después de este tiempo, las perlas se separaron de la solución utilizando una malla metálica y las cápsulas resultantes se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril.

Análisis de liberación celular

Para evaluar la liberación celular y el impacto de la cepa 419 en la degradación de cápsulas debido a su actividad CMCasa, se llevó a cabo un análisis de liberación celular. Esto involucró la inmersión de cápsulas que contenían células en diferentes concentraciones (conforme se describe en la Tabla 1), junto con cápsulas sin células como control negativo, en una solución salina estéril.

Tabla 1. Formulación de la solución

Formulación	UFC/mL				
	419	112	256	275	303
F _I	1 × 10 ⁵	1 × 10 ⁵	1 × 10 ⁵	1 × 10 ⁵	1 × 10 ⁵
F _{II}	2 × 10 ⁵	1 × 10 ⁵	1 × 10 ⁵	1 × 10 ⁵	1 × 10 ⁵
F _{III}	3 × 10 ⁵	1 × 10 ⁵	1 × 10 ⁵	1 × 10 ⁵	1 × 10 ⁵
F ₀	0	1 × 10 ⁵	1 × 10 ⁵	1 × 10 ⁵	1 × 10 ⁵
F _{CN}	0	0	0	0	0

En matraces de 125 mL, se introdujeron 100 mL de una solución salina estéril. Posteriormente, se añadieron 80 cápsulas (equivalentes a 5 mL) de cada formulación. Los recipientes se mantuvieron en agitación constante a una velocidad de 150 rpm y a una temperatura de 28 ± 2° C. En intervalos de tiempo específicos, se tomaron muestras de la solución para determinar la concentración de células presente mediante la medición de la densidad óptica a 600 nm (DO₆₀₀). Los resultados se representaron gráficamente en función del tiempo de incubación en días. Las tasas de liberación celular se calcularon a partir de las pendientes obtenidas en determinados intervalos de tiempo a partir de los perfiles de DO₆₀₀. Cada formulación fue analizada en triplicado para asegurar la consistencia y precisión de los resultados.

Resultados y discusiones

De acuerdo con los datos presentados en la Figura 2, se puede inferir que existe una relación directa entre la concentración de la cepa 419 y la tasa de liberación, donde un aumento en la concentración conlleva a un incremento en la tasa de liberación. En consecuencia, es posible establecer que la formulación F_{II}, la cual posee el doble de concentración de la cepa 419 a en comparación con la formulación F_I, exhibe una velocidad de liberación superior a la de F_I. Estos resultados sugieren una dependencia significativa de la concentración sobre el comportamiento de liberación en el sistema estudiado.

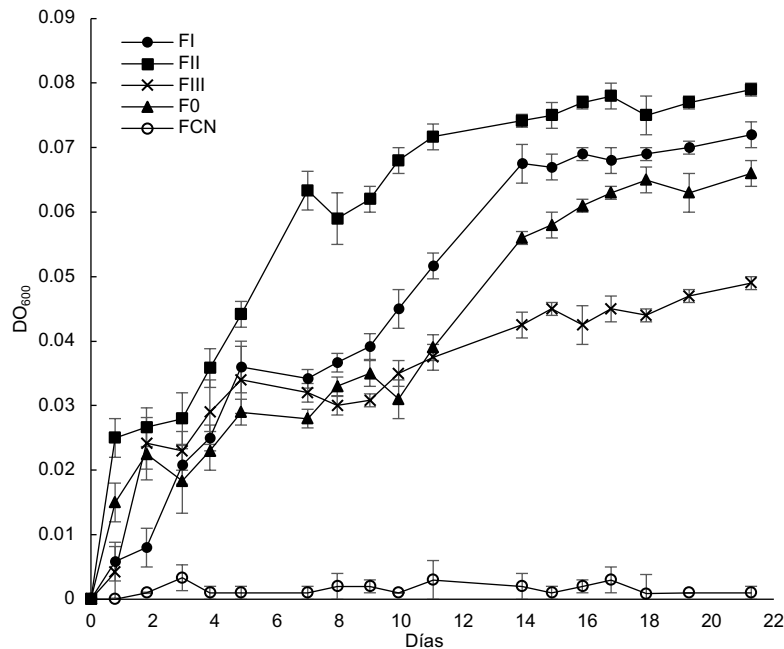


Figura 2. Liberación celular en solución salina para cada formulación.

Sin embargo, se observa que en un punto determinado la formulación F_{III} exhibe una tasa de liberación inferior a la de F₀, a pesar de presentar una concentración tres veces mayor que F_I. Estos resultados sugieren la existencia de un efecto adverso en la velocidad de liberación, el cual parece estar relacionado con la presencia de una concentración más elevada de la cepa 419 en la formulación F_{III}.

El factor temporal desempeña un papel de relevancia en el análisis, como se evidencia en los primeros días, donde los resultados muestran diferencias significativas. No obstante, a medida que progresa el tiempo, se observa un progresivo establecimiento del equilibrio. Este fenómeno se atribuye al estado de equilibrio alcanzado por el sistema, donde las concentraciones dentro y fuera de las cápsulas se igualan.

La formulación F_{III} muestra una tasa de cambio más lenta, mientras que la F_{II} una más rápida (Tabla 2). Por otro lado, las formulaciones F₀ y F_I se asemejan en sus resultados. Estos hallazgos sugieren la existencia de un límite en las concentraciones de las cepas, posiblemente debido a la competencia generada durante la incubación por recursos nutricionales limitados. Además, se infiere que la alta actividad enzimática en la formulación F_{III} podría afectar la porosidad de las cápsulas, comprometiendo su estructura y, consecuentemente, su porosidad.

Tabla 2. Comparación de tasas de liberación celular

Formulación	Tasa de liberación, v_L (días ⁻¹)		
	Inicial (0 – 7 días)	Media (7 – 14 días)	Final (14 – 21 días)
F _I	5.6×10^{-3}	4.9×10^{-3}	0.7×10^{-3}
F _{II}	7.6×10^{-3}	2.2×10^{-3}	0.4×10^{-3}
F _{III}	4.8×10^{-3}	2.2×10^{-3}	0.8×10^{-3}
F ₀	3.4×10^{-3}	4.1×10^{-3}	1.0×10^{-3}
F _{CN}	0	0	0

Conclusiones

Los resultados de la evaluación de la liberación de rizobacterias encapsuladas en cápsulas de AS y CMC, bajo la influencia de la actividad celulolítica de la cepa bacteriana, han demostrado que la concentración de la cepa 419 tiene un impacto significativo en la velocidad de liberación. Se observó que un aumento en la concentración conduce a una mayor tasa de liberación, aunque concentraciones extremadamente altas pueden tener un efecto adverso en la velocidad de liberación. En resumen, la utilización de microorganismos promotores del crecimiento vegetal en el desarrollo de biofertilizantes emerge como una perspectiva prometedora y sostenible para contrarrestar el impacto adverso de los agroquímicos en el entorno ambiental y agrícola. No obstante, es de vital importancia llevar a cabo investigaciones rigurosas y tener en cuenta factores como la liberación para optimizar la aplicación de estos productos y maximizar sus beneficios en los sistemas agrícolas.

Bibliografía/Referencias

- Camelo, R. M., Vera, M. S. P., & Bonilla, B. R. R. (2011). Mecanismos de acción de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 12(2), 159-166. https://doi.org/10.21930/rcta.vol12_num2_art:227
- Castillo, A. R. (2019). Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) y su aporte en la nutrición mineral de tomate (*Lycopersicon esculentum* L.). <http://repositorio.udec.cl/jspui/bitstream/11594/935/1/Tesis%20Rizobacterias%20promotoras.pdf>
- Chandran, H., Meena, M., & Swapnil, P. (2021). Plant growth-promoting rhizobacteria as a green alternative for sustainable agriculture. *Sustainability*, 13(19), 10986.
- Cruz-Cárdenas, C., Molina, L. X., Cancino, G., De Los Santos-Villalobos, S., Anaya, E. R., Díaz, I., & Ramirez, S. V. (2021). Utilización de microorganismos para una agricultura sostenible en México: consideraciones y retos. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 12(5), 899-913. <https://doi.org/10.29312/remexca.v12i5.2905>
- García G. K., V. H. Poggio, G. F. Esparza, R. J. Ibarra, and C. J. Barrera. 2011. Small microcapsules of crystal proteins and spores of *Bacillus thuringiensis* by an emulsification/internal gelation method. *Bioprocess Biosyst. Eng.* 34: 701-708
- García-Gutiérrez, C., & Rodríguez-Meza, G. D. (2012). Problemática y riesgo ambiental por el uso de plaguicidas en Sinaloa. *Ra Ximhai*, 1-10. <https://doi.org/10.35197/rx.08.03.e2.2012.01.cg>
- Gómez Luna, B. E., Mejía Teniente, L., & Ruiz Aguilar, G. M. D. L. L. (2021). Bacterias benéficas del suelo para proteger y recuperar áreas naturales protegidas. REPOSITORIO NACIONAL CONACYT.
- Guo, L., Z. Wu, A. Rasool, and C. Li. 2012. Effects of free and encapsulated co-culture bacteria on cotton growth and soil bacterial communities. *Eur. J. Soil Biol.* 53: 16-22.
- Guzmán-Plazola, P., Guevara-Gutiérrez, R. D., Olguín-López, J. L., & Mancilla-Villa, O. R. (2016). Perspectiva campesina, intoxicaciones por plaguicidas y uso de agroquímicos. *Idesia*, 34(3), 69-80. <https://doi.org/10.4067/s0718-34292016000300009>
- Hernández-Martínez, R., Enríquez-Arredondo, M., Guevara-Cordova, F., Morales-Vargas, A., y Gómez-Luna, B. (2023). Actividad de microorganismos celulolíticos provenientes del área natural protegida "Sierra de los Agustinos" Guanajuato, México.
- Hernández-Martínez, R., García-Aguado, L. R., Rico-Ramírez, M. V., Peña-Caballero, V., & Gómez Luna, B. E. (2022). Encapsulación en perlas de alginato de bacterias promotoras de crecimiento vegetal aisladas de áreas naturales protegidas. *JÓVENES EN LA CIENCIA*, 16, 1-9. Recuperado a partir de <https://www.jovenesenlaciencia.ugto.mx/index.php/jovenesenlaciencia/article/view/3606>
- Malusá, E., L. Sas-Paszt, and J. Ciesielska. 2012. Technology for beneficial microorganisms inocula used as biofertilizers. *Sci World J.* 2012: 1-12.
- Pardo, S., Mazo, D. C. & Rojas, D. F. (2021). Bacterias promotoras del crecimiento vegetal: filogenia, microbioma, y perspectivas. <https://doi.org/10.21930/agrosavia.analisis.7405019>
- Reséndez, A. M., Mendoza, V. O., Carrillo, J. A., Arroyo, J. P., & Ríos, P. C. (2018c). Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal: una alternativa de biofertilización para la agricultura sustentable. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 20(1), 68-83. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v20n1.73707>

- Reyes, G. E., Chaparro-Giraldo, A., & Ávila, K. (2010). Efecto ambiental de agroquímicos y maquinaria agrícola en cultivos transgénicos y convencionales de algodón. DOAJ (DOAJ: Directory of Open Access Journals). <https://doaj.org/article/dd1e17a8a6924fb0a362b143edfe4686>
- Rodríguez-Sahagún, A., Velasco-Jiménez, A., Castellanos-Hernández, O. A., Acevedo-Hernández, G., & Aarland, R. C. (2020c). Bacterias rizosféricas con beneficios potenciales en la agricultura. *Terra Latinoamericana*, 38(2), 333-345. <https://doi.org/10.28940/terra.v38i2.470>
- Torriente, D. (2010). Aplicación de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en el cultivo de la caña de azúcar. Perspectivas de su uso en Cuba. *Cultivos Tropicales*, 31(1), 00. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362010000100003
- Vivanco-Calixto, R., Molina-Romero, D., Morales-García, Y., Quintero-Hernández, V., Munive-Hernández, A., Baez-Rogelio, A., & Muñoz-Rojas, J. (2015). Reto agrobiotecnológico: inoculantes bacterianos de segunda generación. *Alianzas y tendencias*, 1(1). <https://www.aytbuap.mx/publicaciones#h.26a62fnd2t88>