

## Efectos de la co-inoculación de Bioformulados (PGPR's) sobre el porcentaje de germinación y promover el crecimiento en plántula de papaya (*Carica papaya* L.)

Effects of co-inoculation of Bioformulates (PGPR's) on germination percentage and growth promotion in papaya (*Carica papaya* L.) seedlings

Cristhian John Macías-Holguín<sup>1,\*</sup>; Hayron Fabricio Canchignia-Martínez<sup>2</sup>;  
Vicenta Dayana Delgado-Basurto<sup>2</sup>; Fernando Patricio Paucar-Nieto<sup>2</sup>; Ketty Vanessa Arellano-Ibarra<sup>2</sup>;  
Ángel Virgilio Cedeño-Moreira<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Microbiología Molecular del Departamento de Biotecnología (PGPR's), Campus Experimental La María, Carrera de Agronomía, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Técnica Estatal de Quevedo, km 1.5 a Santo Domingo de los Tsáchilas, EC. 120501, Quevedo, Ecuador.

<sup>2</sup> Laboratorio de Biología y Microbiología, Campus Experimental La María, Vicerrectorado Administrativo, Universidad Técnica Estatal de Quevedo, km 1.5 a Santo Domingo de los Tsáchilas, EC. 120501, Quevedo, Ecuador.

\* Autor correspondiente: [cristhian.macias2016@uteq.edu.ec](mailto:cristhian.macias2016@uteq.edu.ec) (C. J. Macías Holguín).

ID ORCID de los autores

C. J. Macías-Holguín: <https://orcid.org/0000-0003-2068-8503>

H. F. Canchignia-Martínez: <https://orcid.org/0000-0003-1195-5446>

K. V. Arellano-Ibarra: <https://orcid.org/0000-0002-6564-5569>

A. V. Cedeño-Moreira: <https://orcid.org/0000-0002-6564-5569>

### RESUMEN

La latencia es un bloqueo para la germinación y representa un mecanismo adaptativo que permite a la semilla de papaya retrasar su emergencia. Las rizobacterias mejoran el crecimiento de las plantas de diversas formas, la producción de fitohormonas, la fijación de nitrógeno, la solubilización de fosfatos y aumenta la morfología de las raíces. La presente investigación se realizó para determinar la eficiencia de las rizobacterias (PGPR's) *Pseudomonas protegens* (CHA0) y *Pseudomonas putida* (BMR 2-4) inoculadas dentro de tres bioformulados para ser evaluadas dentro del porcentaje de germinación, incremento de pelos absorbentes utilizando rizotrones y plántulas bajo consorcios o en combinación de fertilizantes fosforados. En condiciones *in-vitro* la co-inoculación BIOIMPULSE fue muy eficaz para aumentar el porcentaje de germinación con promedio 80%. En rizotrones se exhibieron mayor aumento de pelos absorbentes de 5,67 mm y área de raicillas 0,86 mm<sup>2</sup> por BIOIMPULSE comparable al tratamiento expuesto con AIA (25 mg/mL). En plántulas son altamente efectivas para mejorar la morfología de las raíces y altura emendando 5 g/L fosforo se observó dimensiones Ø del hipocótilo entre (5,12 a 4,62 mm) y hojas funcionales (9,75 a 11,75). BIOIMPULSE modifican el funcionamiento de las raíces, mejoran la nutrición de las plantas e influyen en la fisiología vegetativa siendo versátil sobre todos los demás bioformulados por aumentar el porcentaje de germinación, aparición temprana de pelos radicular e incremento radicular en presencia de fertilizantes fosforados. Lo que repercute que pueden ser útiles para reducir el costo de los fertilizantes químicos.

**Palabras clave:** BIOIMPULSE; *P. protegens* (CHA0); *P. putida* (BMR 2-4); rizotrones; pelos absorbentes.

### ABSTRACT

Dormancy is a blockage to germination and represents an adaptive mechanism that allows papaya seed to delay its emergence. Rhizobacteria improve plant growth in several ways, phytohormone production, nitrogen fixation, phosphate solubilization and increase root morphology. The present investigation was conducted to determine the efficiency of rhizobacteria (PGPR's) *Pseudomonas protegens* (CHA0) and *Pseudomonas putida* (BMR 2-4) inoculated within three bioformulates to be evaluated within the percentage of germination, increase of absorbing hairs using rhizotrons and seedlings under consortia or in combination of phosphorus fertilizers. Under *in-vitro* conditions, BIOIMPULSE co-inoculation was very effective in increasing germination percentage with an average of 80%. In rhizotrons, a greater increase in absorbing hairs of 5.67 mm and root area of 0.86 mm<sup>2</sup> per BIOIMPULSE was exhibited, comparable to the treatment with AIA (25 mg/mL). In seedlings, BIOIMPULSE is highly effective in improving root morphology and height by emending 5 g/L phosphorus was observed Ø hypocotyl dimensions between (5.12 to 4.62 mm) and functional leaves (9.75 to 11.75). BIOIMPULSE modifies root functioning, improves plant nutrition, and influences vegetative physiology, being versatile over all other bioformulates by increasing the germination percentage, early appearance of root hairs and root growth in the presence of phosphorus fertilizers. This means that they can be useful to reduce the cost of chemical fertilizers.

**Keywords:** BIOIMPULSE; *P. protegens* (CHA0); *P. putida* (BMR 2-4); rhizotrons; absorbent hairs.

Recibido: 03-04-2022.

Aceptado: 05-06-2022.



Esta obra está publicada bajo la licencia [CC BY 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

## INTRODUCCIÓN

La papaya (*Carica papaya* L.) pertenece a la familia de las Caricaceae, es un árbol frutal tropical americano (Koul et al., 2022) posee un valor nutricional rico en vitaminas y minerales bajo en calorías (Alara et al., 2020). La propagación de este cultivo se realiza solo a través de semillas (Chandni et al., 2022). En condiciones ambientales, la germinación de las semillas se dificulta debido a los inhibidores presentes en la sarcotesta membrana que contiene compuestos fenólicos inductores de latencia (Romero Rodríguez et al., 2013), misma que se convierte en una barrera física que limita el paso de agua y gases lo que provoca una germinación baja (Rodríguez et al., 2019) y facilita la colonización de fitopatógenos (Benítez et al., 2013). Los bioformulados de PGPR's que contienen células microbianas vivas que son incorporadas en la rizosfera (Mitra et al., 2021) son propicios a la hidratación de las semillas y mejoran el proceso de movilización de nutrientes (Chaudhary et al., 2020; Raj et al., 2021). Se ha convertido en una solución eficiente a los fertilizantes y pesticidas químicos (Vassileva et al., 2021). Muchas bacterias, incluidas *Acinobacter*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, se han explorado de manera efectiva (Qessaoui et al., 2021; Widawati, 2018). Capaces de estimular el crecimiento de las plantas a través de una variedad de mecanismos que mejoran la nutrición de las plantas, producción y regulación de fitohormonas (Martínez-Viveros et al., 2010) por la síntesis de ácido indol acético (AIA) controla diversos procesos fisiológicos como la elongación y división celular (Vega-Celedón et al., 2016) y ácido giberelico que controla procesos de crecimiento como la latencia de semilla, elongación y desarrollo de flores (Saidi y Hajibarat, 2021). En una etapa temprana de desarrollo mejora la producción de biomasa a través de efectos directos

sobre tasa germinativa, aumento del crecimiento de raíces y brotes (Katiyar et al., 2016) por tratamientos de recubrimiento o imprimación (Carrasco-Fernández et al., 2020; Cardarelli et al., 2022) las plantas pueden seleccionar bacterias con características beneficiosas y transferirlas a través de la semilla para beneficiar a la siguiente generación (Truyens et al., 2015). El crecimiento de la población microbiana a partir de un bioformulado (Bharathi et al., 2004) depende en gran medida la pureza de la melaza que proporciona azúcares para su división celular (Ganeshamoorthi et al., 2008), las fuentes de nitrógeno y harina de trigo como principal vehículo de carbono Mishra et al., (2020) para mejorar la tasa de supervivencia y mantener la población microbiana activa Wong et al., 2019. Además, estos elementos protegen a las células microbianas del estrés biótico Kalita et al., (2015) y mejoran el control de enfermedades al aumentar la producción de metabolitos antimicrobianos Adoko et al., (2021).

La latencia es un bloqueo para la germinación, que persiste en el estado embebido y representa un mecanismo adaptativo que permite que una semilla retrase la germinación. Las técnicas utilizadas en el beneficio de semilla de papaya para eliminar la sarcotesta son limitadas lo que provoca una tasa germinación lenta generando pérdidas económicas. En este estudio, se probaron tres bioformulaciones bacteriana ampliamente utilizadas (Bioimpulse, BioBacter Plus, Rizobacterias), en consorcios *Pseudomonas protegens* (CHA0) y *Pseudomonas putida* (BMR 2-4) para evaluar su efecto estimulante roptura de la latencia semilla, incremento radicular y morfología vegetal sobre plántulas de papaya.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Ubicación

La investigación se ejecutó en el Laboratorio de Microbiología y Biología molecular de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ), ubicado en la Finca Experimental "La María" situado en el km 7 1/2 de la Vía Quevedo - El Empalme, canton Mocache, sus coordenadas geográficas 01° 06' de latitud Sur y 79° 29' de latitud Oeste, a 75 msnm.

### Multiplicación masiva de bacterias fluorescentes

Del banco de germoplasma del laboratorio microbiología de la UTEQ, se escogieron 2 cepa bacterianas *Pseudomonas protegens* (CHA0) y *Pseudomonas putida* (BMR 2-4). Las bacterias fluorescentes se incubaron a 150 rpm / 48 h a temperatura ambiente 27 °C en un agitador (Marca) en 50 mL de caldo King B [(g/L): peptona, 20.0; glicerol, 15 mL; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1.5 g; MgSO<sub>4</sub> x 7H<sub>2</sub>O, 1.5 g; agua destilada] (King et al., 1954). Después de 48 h, se recuperó 5 mL de suspensión de caldo y de consorcio bacteriano que contiene 9x10<sup>9</sup> UFC/mL, incorporadas en 3 bioformulados

con capacidad de 1 Litro para la reproducción masiva, Bioimpulse (Melaza 30%, Harina de maíz 50%, Sal en grano 0,25%, glicerina 10%, fijador biológico 0,35%), BioBacter PLUS (Melaza 25%, Harina de maíz 50%, urea 2.5%, glicerina 10%, roca fosfórica 1,5%), RizoBacterias (Melaza 30%, Harina de maíz 50%, Sal en grano 0,25%, glicerina 10%, roca fosfórica 1,5%), se mezclaron en condiciones estériles siguiendo el método descrito por (Vidhyasekaran & Muthamilan, 1995).

### Evaluación *in vitro* de semillas inoculadas con bioformulados

Las semillas de papaya se desinfectaron con hipoclorito de sodio (NaClO) al 1% por 5 min y sumergidas en agua destilada estéril para retirar restos NaClO, finalmente secadas en papel toalla estéril. Las semillas tratadas se empaparon sobre suspensión de 50 mL de bioformulado con inoculados bacterianos combinados 1x10<sup>7</sup> UFC/mL por 30 min. Se colocaron aproximadamente ± 20 semillas ubicadas en papeles de germinación de semillas con agua destilada estéril colocadas en placa Petri y puestas bajo incubación (memmert)

modelo TwinDISPLAY a 27 °C por un fotoperiodo de 16 h luz/8 h oscuridad por 20 días.

### Estudio de rizotrones y análisis de parámetro radicular

Se analizó el desarrollo de raíces seminales en etapa temprana, las semillas de papaya se cultivaron en cajas Perspex (rizotrones) de 2 cm de espesor, 18 cm de ancho y 36 cm de profundidad que contenían una mezcla estéril de turba - tierra en relación 1:2. Los rizotrones se colocaron en una cámara de crecimiento con una humedad relativa del 60% con un fotoperiodo de 12 h de ciclo de iluminación y temperaturas de 24 °C día/noche. Se envolvieron con cartulina negra para evitar la fotooxidación. Se inocularon 50 µl de bioformulado BIOIMPULSE de bacterias en consorcio  $1 \times 10^8$  UFC/mL, 25 mg L<sup>-1</sup> de AIA y el control con agua destilada estéril. Se realizaron 3 inoculaciones a los 2, 8 y 16 días. Los rizotrones se retiraron al final del día 22 y se tomaron imágenes con una resolución de 300 DPI con un escáner de documentos portátil (ISCAN Portable Handheld Scanner). Las imágenes se analizaron con ImageJ (imagej.nih.gov, Rueden et al., 2017). Como resultado del análisis, se midieron la longitud y área de pelos absorbentes.

### Aplicación de bioformulados en plántulas

Se examinó la influencia del bioformulado BIOIMPULSE (BMR 2-4 + CHA0) suplementado con 5 gr/L roca fosfórica (RF) y superfosfato triple (SFT) por separado. Las semillas pregerminadas de papayas fueron trasladadas a fundas de polietileno 10x20 con 4500 gr del sustrato antes mencionado que se mantuvieron bajo condiciones de invernadero. Se realizaron 2 inoculaciones 5 mL/plántula  $1 \times 10^8$  UFC/mL a los 10 y 20 días. Las plántulas fueron sacrificadas a los 40 días después de la inoculación y se tomaron las siguientes medidas. Se determinaron las características morfológicas porcentaje de germinación, número y longitud radicular, longitud y diámetro del hipocótilo y peso fresco.

### Análisis estadístico

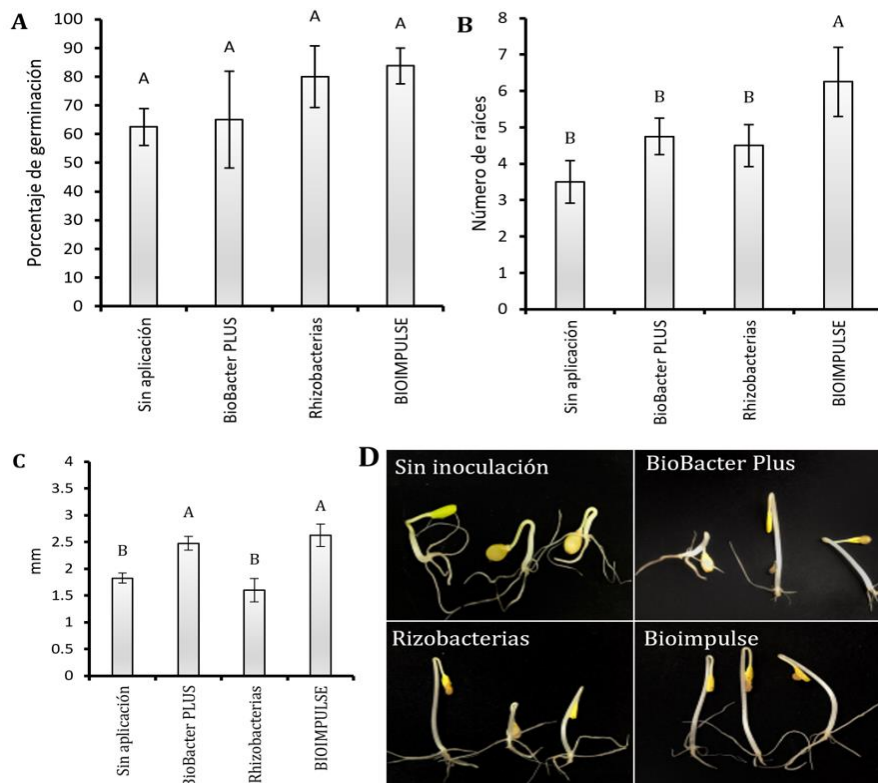
Se utilizó un DCA, cada experimento con 3 réplicas y con 4 unidades experimentales. Los valores a cada condición están representados con la desviación estándar promedio individual ( $\pm$ ), los tratamientos fueron sujetos al análisis de varianza por ANOVA, y separados por procedimiento de comparación múltiple de Tukey SD, al nivel de significancia de ( $p \leq 0,05$ ), empleando Statgraphics.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Efecto de los bioformulados en la germinación de semillas y el crecimiento radicular

No se encontró diferencia estadística sobre el porcentaje de germinación de papaya bajo

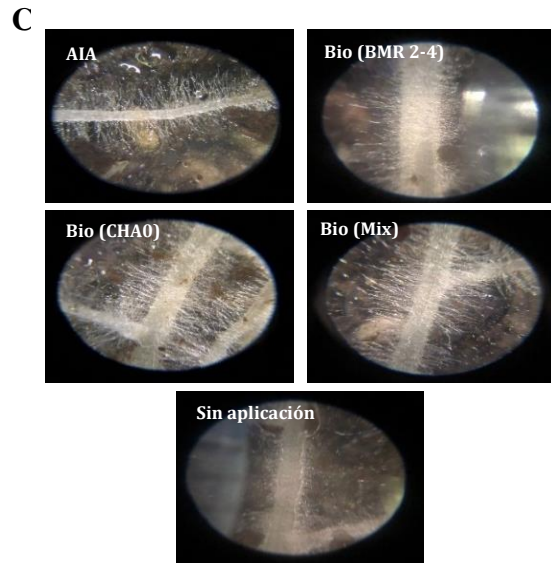
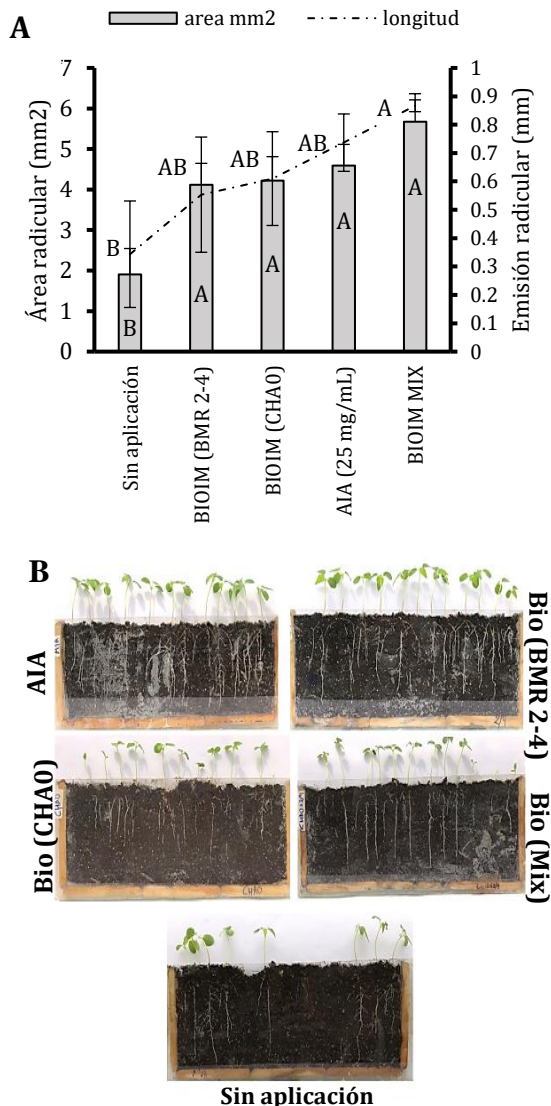
aplicación de bioformulados en estudios. El empleo de BIOIMPULSE: (BMR 2-4 y CHA0) obtuvieron mayores promedios del 80% sobre la tasa germinativa (Figura 1A).



**Figura 1.** Resultados de la aplicación de bioformulados (*P. protegens* CHA0 + *P. putida* BMR 2-4) en semillas de papaya *Hawaina*. A) Porcentaje de germinación. B) Número de raíces. C) Longitud de raíces en cm. Las barras indican el DE individual para tratamiento ( $\pm$ ). Con diferencias significativas al nivel de ( $p \leq 0,05$ ), por el procedimiento de comparación múltiple de Tukey D) Efecto de los bioformulados en la germinación de la semilla.

### Medición de área y pelos radicales

Al estar expuestas las semillas papayas bajo la co-inoculación con BIOIMPULSE mezclando rizobacterias promovieron el incremento temprano de pelos radiculares de 4,12 a 5,67 mm demostrando que este tratamiento ocupó un espacio sobre el área de la radícula a 0,86 mm<sup>2</sup> y sin inoculante se aprecia la disminución de zona de crecimiento pilosa (Figura 2A). Sugiriendo que las interacciones subterráneas entre las raíces de las plantas dan una mejor adquisición de nutrientes (Figura 2B). La preparación del sistema inmunológico de las plantas conduce a una mayor ramificación lateral de la raíz y al desarrollo de pelos radiculares (Figura 2C). En aplicaciones edáficas con *B. subtilis* (B77 y B8) incrementaron biomasa seca radical a 48% controlando la infección de *R. solani* en maíz (Ugoji & Laing, 2008). La colonización por PGPR está asociada con cambios en el metabolismo de las plantas, la señalización y la homeostasis hormonal (Tsukanova et al., 2017). La modificación de la arquitectura del sistema radicular por PGPR implica la producción de fitohormonas y otras señales (Adebayo et al., 2022).



**Figura 2.** Estimación del consorcio sobre el Fenotipado de *Carica papaya* y análisis de imagen de pelos radicales. A) Presencia del área y longitud de pelos absorbentes. Las barras indican el DE individual para tratamiento ( $\pm$ ). Con diferencias significativas al nivel de ( $p \leq 0,05$ ), por el procedimiento de comparación múltiple de Tukey. B) Incremento radicular cultivados en rizotrones. C) Análisis de la distribución radicular en software Imagen J@ versión 1.8.0.

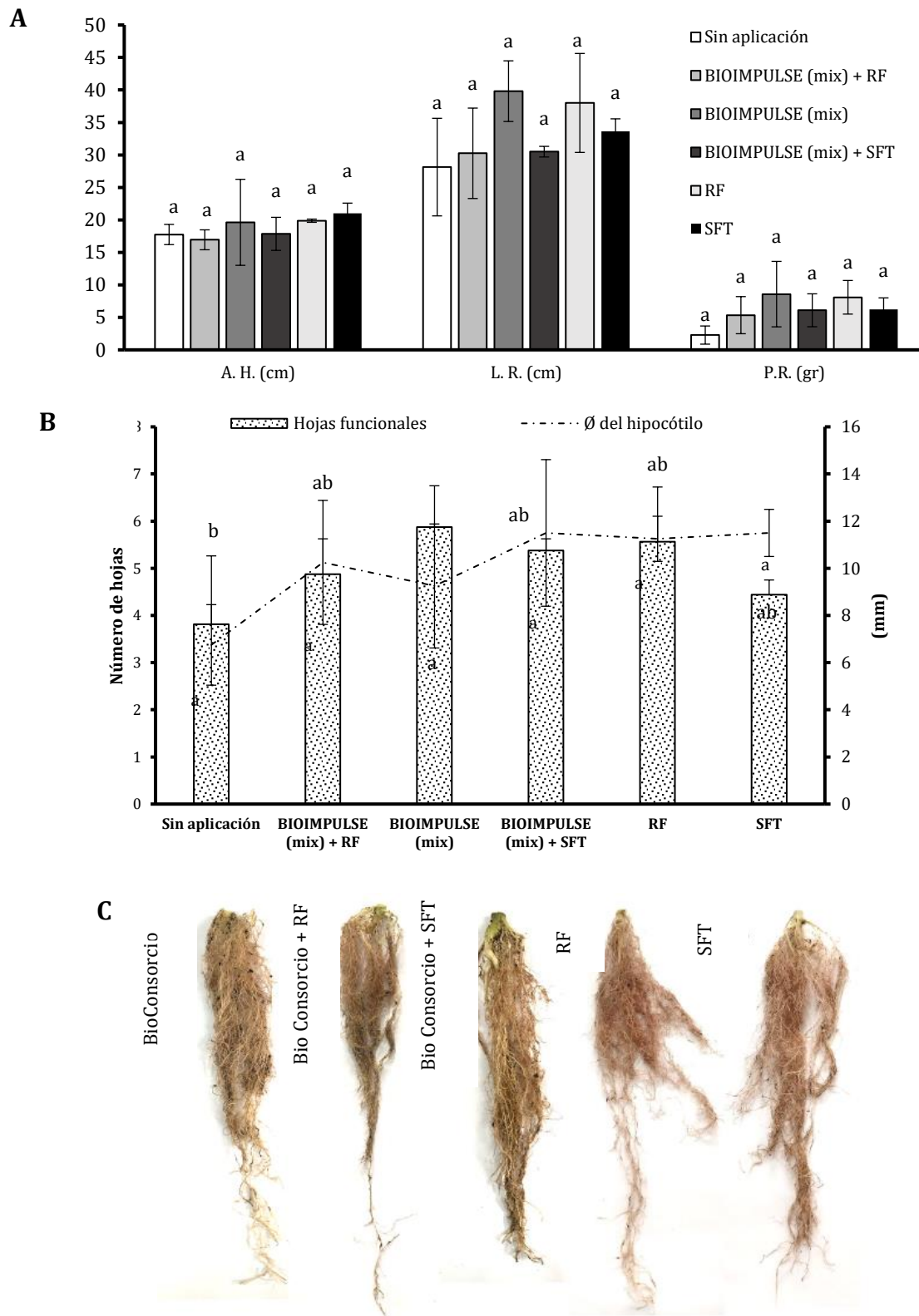
### Combinación bacteriana con fertilizante fosforado sobre el crecimiento de papaya

El empleo de consorcios microbianos (CHA0 + BMR 2-4) bajo la adición de fertilizantes fosforados sobre las variables morfométricas alcanzado por los tratamientos no mostró diferencia significativa. Se manifiesta un mayor aumento celular de BIOIMPULSE sin la incorporación de fosforo inorgánico (Super Fosfato Triple SPT y Roca Fosfórica RC) promovieron el desarrollo en la altura del hipocótilo de (19,62 a 17,85 cm), con un hinchamiento en el crecimiento radicular de (30,5 a 39,81 cm), con un engrosamiento sobre el peso de la raíz de (5,33 a 8,57 g) (Figura 3A). Donde la altura de la planta en la etapa de madurez de arroz sobre la interacción entre la tasa de P y la inoculación de *P. fluorescens* no fue afectada (Hasani & Aminpanah, 2015). Tras incorporar suministros de fósforo, las bacterias mostraron baja actividad metabólica para solubilizar el P y es posible que se hayan visto perjudicadas por altas dosis de P (Rosa et al., 2020). La rizobacterias ejercen mayores beneficios en presencia del aminoácido L-triptófano (Trp) estimulando eficazmente sobre el incremento el peso radicular (Marquina et al., 2018). La co-inoculación de los consorcios rizobacterianos (PGPR) generan mayor formación de hojas funcionales dentro de la zona aérea de plántulas de papayas con valores promedios de 4,62 mm a diferencia de co-inoculación sin consorcios que hay un formación baja de hojas funcionales de 3,37 mm presentando diferencia significativa, donde la variable del  $\emptyset$  de hipocótilo no demuestra diferencia significativa este efecto se ve influenciado por la utilización de comunidad microbiana mezclando fertilizante



fosforado o sin fertilizante fosforado y con aplicaciones individuales fosforado (Figura 3B). El número de vainas por planta de haba estuvo significativamente influenciado por la aplicación de P, la cepa de *P. fluorescens*. En ausencia de P,

*Pseudomonas* (136) produjo el mayor número de vainas por planta (Nikfarjam & Aminpanah, 2015). Esto podría deberse a la combinación de bacterias y fósforo se correlacionaron con el mayor incremento de raíces (Figura 3C).



**Figura 3.** Estimulación del bioformulado microbiano mezclando fósforo inorgánico sobre sistemas radicular. A) Incremento morfométrico de la planta. B) Número de hojas y diámetro del hipotécalo. Las barras indican el DE individual para tratamiento ( $\pm$ ). Con diferencias significativas al nivel de ( $p \leq 0,05$ ), por el procedimiento de comparación múltiple de Tukey. C) Variación morfológica sobre la arquitectura radicular bajo fertilizantes fosforados.

## CONCLUSIONES

Las formulaciones con mayor efecto bioestimulador sobre el proceso germinativo de semillas de papaya BIOIMPULSE fueron CHA0 y BMR 2-4, lo que favoreció la evaluación temprana al desarrollo radicular y un aumento de pelos radicales con rizotronas. El efecto de estimulación impartido por la bacteria puede ser más fuerte en las primeras etapas del crecimiento de la planta y luego puede estabilizarse hacia el final del desarrollo de la planta. La combinación de bacterias y un contenido bajo de fósforo se correlacionaron con el mayor

incremento de raíces. Los resultados obtenidos del presente estudio proponen CHA0 y BMR 2-4 con propiedades bioestimulante que podría ser una herramienta prometedora para mejorar el sustento de los agricultores a través de la agricultura orgánica de varias especies frutícolas. De hecho, nuestros resultados ayudan a ampliar el conocimiento sobre cómo los consorcios microbianos interactúan por efecto sinérgico con las plantas y las comunidades microbianas nativas del suelo.

## AGRADECIMIENTOS

Este proyecto se realizó por financiamiento FOCICYT-2021 (Empleo potencial de biocontroladores antagonicos de origen bacteriano a *Fusarium*

*oxysporum* f. sp. cubense (Mal de Panamá) Raza 1 y su identificación morfológica-molecular), otorgado por la Universidad Técnica Estatal de Quevedo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adedayo, A. A., Babalola, O. O., Prigent-Combaret, C., Cruz, C., Stefan, M., Kutu, F., & Glick, B. R. (2022). The application of plant growth-promoting rhizobacteria in *Solanum lycopersicum* production in the agricultural system: A review. *PeerJ*, 10, e13405.
- Adoko, M. Y. E., Agbodjato, N. A., Noumavo, A. P., Amogou, O. E., Adjanohoun, A., & Baba-Moussa, L. (2021). Bioformulations based on plant growth promoting rhizobacteria for sustainable agriculture: Biofertilizer or Biostimulant?. *African Journal of Agricultural Research*, 17(9), 1256-1260. <https://doi.org/10.5897/AJAR2021.15756>.
- Alara, O. R., Abdurahman, N. H., & Alara, J. A. (2020). Carica papaya: comprehensive overview of the nutritional values, phytochemicals and pharmacological activities. *Advances in Traditional Medicine*, 22(1), 1-31.
- Benítez, S. P., Mario, L., Delgado, O. A., & Medina, C. I. (2013). Estudios de germinación y remoción de latencia en semillas de papayuelas *Vasconcellea cundinamarcensis* y *Vasconcellea goudotiana*. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 14(2), 187-197. [https://doi.org/10.21930/rcta.vol14\\_num2\\_art:407](https://doi.org/10.21930/rcta.vol14_num2_art:407).
- Bharathi, R., Vivekananthan, R., Harish, S., Ramanathan, A., & Samiyappan, R. (2004). Rhizobacteria-based bioformulations for the management of fruit rot infection in chillies. *Crop Protection*, 23(9), 835-843. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2004.01.007>.
- Cardarelli, M., Woo, S. L., Roupheal, Y., & Colla, G. (2022). Seed Treatments with Microorganisms Can Have a Biostimulant Effect by Influencing Germination and Seedling Growth of Crops. *Plants*, 11(3), 259. <https://doi.org/10.3390/plants11030259>.
- Carrasco-Fernández, J., Guerra, M., Castro, J. F., Bustamante, L., Barra-Bucarei, L., Ceballos, R., ... & France, A. (2020). Plant growth promoting rhizobacteria from Juan Fernández archipelago improve germination rate of endangered plant *Solanum fernandezianum* Phil. *Chilean journal of agricultural research*, 80(1), 41-49. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392020000100041>.
- Chandni, B., Kanzaria, D. R., Karmur, N. N., Sandh, M., Parsana, J. S., & Patel, H. N. (2022). Effect of sarcotesta on papaya seedling. *The Pharma innovation journal*, 11(8), 1412-1415. <https://doi.org/10.5772/intechopen.88012>.
- Chaudhary, T., Dixit, M., Gera, R., Shukla, A. K., Prakash, A., Gupta, G., & Shukla, P. (2020). Techniques for improving formulations of bioinoculants. *3 Biotech*, 10(5), 1-9. <https://doi.org/10.1007/s13205-020-02182-9>.
- Donati, A. J., Lee, H. I., Leveau, J. H., & Chang, W. S. (2013). Effects of indole-3-acetic acid on the transcriptional activities and stress tolerance of *Bradyrhizobium japonicum*. *PLoS one*, 8(10), e76559. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0076559>.
- Ganeshamoorthi, P., Anand, T., Prakasam, V., Bharani, M., Ragupathi, N., & Samiyappan, R. (2008). Plant growth promoting rhizobacterial (PGPR) bioconsortia mediates induction of defense-related proteins against infection of root rot pathogen in mulberry plants. *Journal of Plant Interactions*, 3(4), 233-244.
- Glick, B. R. (2005). Modulation of plant ethylene levels by the bacterial enzyme ACC deaminase. *FEMS microbiology letters*, 251(1), 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.femsle.2005.07.030>.
- Hasani, H., & Aminpanah, H. (2015). Effect of *Pseudomonas fluorescens* Inoculation on Yield and Yield Components of Rice (*Oryza sativa* L.) under Different Levels of Phosphorus Fertilizer. *Thai Journal of Agricultural Science*, 48(3), 157-163.
- Jaramillo, M. P., Álvarez, A. E. B., Navarrete, E. D. T., Martínez, H. F. C., Prieto-Encalada, H., & Carriel, J. M. (2016). Producción de ácido indol-3-acético por *Pseudomonas veronii* R4 y formación de raíces en hojas de vid "Thompson seedless" in vitro. *Ciencia y Tecnología*, 9(1), 31-36. <https://doi.org/10.18779/cyt.v9i1.158>.
- Jeyanthi, V., & Kanimozhi, S. (2018). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR)-prospective and mechanisms: a review. *J Pure Appl Microbiol*, 12(2), 733-749. <https://dx.doi.org/10.22207/JPAM.12.2.34>.
- Kalita, M., Bharadwaz, M., Dey, T., Gogoi, K., Dowarah, P., Unni, B. G., ... & Saikia, I. (2015). Developing novel bacterial based bioformulation having PGPR properties for enhanced production of agricultural crops. *Indian Journal of Experimental Biology*, 53(1), 56-60.
- Katiyar, D., Hemantaranjan, A., & Singh, B. (2016). Plant growth promoting Rhizobacteria-an efficient tool for agriculture promotion. *Adv Plants Agric Res*, 4(6), 426-434.
- Keswani, C., Singh, S. P., Cueto, L., García-Estrada, C., Mezaache-Aichour, S., Glare, T. R., ... & Sansinenea, E. (2020). Auxins of microbial origin and their use in agriculture. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104, 8549-8565.
- King, E. O., Ward, M. K., & Raney, D. E. (1954). Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. *The Journal of laboratory and clinical medicine*, 44(2), 301-307.
- Koul, B., Pudhuvai, B., Sharma, C., Kumar, A., Sharma, V., Yadav, D., & Jin, J. O. (2022). Carica papaya L.: a tropical fruit with benefits beyond the tropics. *Diversity*, 14(8), 683. <https://doi.org/10.3390/d14080683>.
- Marquina, M. E., Ramírez, Y., & Castro, Y. (2018). Efecto de bacterias rizosféricas en la germinación y crecimiento del pimentón *Capsicum annuum* L. Var. cacique gigante. *Bioagro*, 30(1), 3-16.
- Martínez-Viveros, O., Jorquera, M. A., Crowley, D. E., Gajardo, G. M. L. M., & Mora, M. L. (2010). Mechanisms and practical considerations involved in plant growth promotion by rhizobacteria. *Journal of soil science and plant nutrition*, 10(3), 293-319.
- Minchev, Z., Kostenko, O., Soler, R., & Pozo, M. J. (2021). Microbial consortia for effective biocontrol of root and foliar diseases in tomato. *Frontiers in Plant Science*, 2428. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-95162010000100006>.
- Mitra, D., Mondal, R., Khoshru, B., Shadangi, S., Mohapatra, P. K. D., & Panneerselvam, P. (2021). Rhizobacteria mediated seed bio-priming triggers the resistance and plant growth for sustainable crop production. *Current Research in Microbial Sciences*, 2, 100071. <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2021.100071>.

- Naveed, M., Qureshi, M. A., Zahir, Z. A., Hussain, M. B., Sessitsch, A., & Mitter, B. (2015). L-Tryptophan-dependent biosynthesis of indole-3-acetic acid (IAA) improves plant growth and colonization of maize by *Burkholderia phytofirmans* PsJN. *Annals of microbiology*, 65, 1381-1389. <https://doi.org/10.1007/s13213-014-0976-y>.
- Nikfarjam, S. G., & Aminpanah, H. (2015). Effects of phosphorus fertilization and *Pseudomonas fluorescens* strain on the growth and yield of faba bean (*Vicia faba* L.). *Idesia*, 33(4), 15-21. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292015000400003>.
- Patten, C. L., & Glick, B. R. (1996). Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. *Canadian journal of microbiology*, 42(3), 207-220. <https://doi.org/10.1139/m96-032>.
- Qessaoui, R., Bouharroud, R., Furze, J. N., El Aalaoui, M., Akroud, H., Amarrague, A., ... & Chebli, B. (2019). Applications of new rhizobacteria *Pseudomonas* isolates in agroecology via fundamental processes complementing plant growth. *Scientific Reports*, 9(1), 1-10. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-49216-8>.
- Raj, R. D. P., Preethy, H. A., & Rex, K. G. R. (2021). Development of Banana Peel Powder as Organic Carrier based Bioformulation and Determination of its Plant Growth Promoting Efficacy in Rice Cr100g. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 15(1), 1279-1290. <https://doi.org/10.22207/JPAM.15.3.18>.
- Rodríguez, S., Vargas, I., Hijuelo, A., Loumeto, F., Silva, J. J., Pérez, J., ... & Oliva, D. (2019). Analysis of the effect of scarification process on papaya (*Carica papaya* Lin.) Seeds Germination. In *Seed Dormancy and Germination*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.88012>.
- Romero Rodríguez, J. A., Mejía Contreras, J. A., Carballo Carballo, A., López Jiménez, A., Rangel Lucio, J. A., & Ávila Reséndiz, C. (2013). Escarificación química de semilla de papaya. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 4(6), 947-954. <https://doi.org/10.29312/remexca.v4i6.1162>.
- Rosa, P. A. L., Mortinho, E. S., Jalal, A., Galindo, F. S., Buzetti, S., Fernandes, G. C., ... & Teixeira Filho, M. C. M. (2020). Inoculation with growth-promoting bacteria associated with the reduction of phosphate fertilization in sugarcane. *Frontiers in Environmental Science*, 32(8), 1-18. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2020.00032>.
- Rueden, C. T., Schindelin, J., Hiner, M. C., DeZonia, B. E., Walter, A. E., Arena, E. T., & Eliceiri, K. W. (2017). ImageJ2: ImageJ for the next generation of scientific image data. *BMC bioinformatics*, 18(1), 1-26. <https://doi.org/10.1186/s12859-017-1934-z>.
- Saavedra, D. A. C., Martínez, H. F. C., Rosero, N. C., Cuenca, F. F. G., Fernández, R. G., & Moreira, Á. V. C. (2017). Rizobacterias que promueven el desarrollo e incremento en productividad de *Glycine max* L. *Revista Ciencia y Tecnología*, 10(1), 7-15. <https://doi.org/10.18779/cyt.v10i1.198>.
- Saidi, A., & Hajibarat, Z. (2021). Phytohormones: Plant switchers in developmental and growth stages in potato. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 19(1), 1-17. <https://doi.org/10.1186/s43141-021-00192-5>.
- Sharma, N., Manhas, R. K., & Ohri, P. (2022). *Streptomyces hydrogenans* strain DH-16 alleviates negative impact of *Meloidogyne incognita* stress by modifying physio-biochemical attributes in *Solanum lycopersicum* plants. *Scientific Reports*, 12(1), 15214. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-19636-0>.
- Silva, J. D., Rashid, Z., Nhut, D. T., Sivakumar, D., Gera, A., Souza, M. T., & Tennant, P. (2007). Papaya (*Carica papaya* L.) biology and biotechnology. *Tree and Forestry Science and Biotechnology*, 1(1), 47-73.
- Truyens, S., Weyens, N., Cuyper, A., & Vangronsveld, J. (2015). Bacterial seed endophytes: genera, vertical transmission and interaction with plants. *Environmental Microbiology Reports*, 7(1), 40-50. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12181>.
- Tsukanova, K. A., Meyer, J. J. M., & Bibikova, T. N. (2017). Effect of plant growth-promoting Rhizobacteria on plant hormone homeostasis. *South African Journal of Botany*, 113, 91-102. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.07.007>.
- Ugoji, E. O., & Laing, M. D. (2008). Rhizotron studies on *Zea mays* L. to evaluate biocontrol activity of *Bacillus subtilis*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 24, 269-274. <https://doi.org/10.1007/s11274-007-9466-8>.
- Vassileva, M., Malusà, E., Sas-Pasz, L., Trzcinski, P., Galvez, A., Flor-Peregrin, E., ... & Vassilev, N. (2021). Fermentation strategies to improve soil bio-inoculant production and quality. *Microorganisms*, 9(6), 1254. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9061254>.
- Vega-Celedón, P., Canchignia Martínez, H., González, M., & Seeger, M. (2016). Biosíntesis de ácido indol-3-acético y promoción del crecimiento de plantas por bacterias. *Cultivos Tropicales*, 37, 33-39. <https://dx.doi.org/10.13140/RG.2.1.5158.3609>
- Vidhyasekaran, P., & Muthamilan, M. (1995). Development of formulations of *Pseudomonas fluorescens* for control of chickpea wilt. *Plant disease*, 79(8), 782-786. [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(96\)00045-2](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(96)00045-2).
- Widawati, S. (2017, November). Effect of plant growth promoting rhizobacteria and molasses on seed germination and seedling growth of *Sorghum bicolor* L. Moench. In *Proceedings The SATREPS Conference* (Vol. 1, No. 1, pp. 94-99).
- Wong, C. K. F., Saidi, N. B., Vadamalai, G., Teh, C. Y., & Zulperi, D. (2019). Effect of bioformulations on the biocontrol efficacy, microbial viability and storage stability of a consortium of biocontrol agents against *Fusarium* wilt of banana. *Journal of applied microbiology*, 127(2), 544-555. <https://doi.org/10.1111/jam.14310>.
- Yang, W. (2019). Components of rhizospheric bacterial communities of barley and their potential for plant growth promotion and biocontrol of *Fusarium* wilt of watermelon. *Brazilian Journal of Microbiology*, 50(3), 749-757.