

Caracterización de bacterias antárticas solubilizadoras de fósforo y promoción del crecimiento vegetal

Characterization of Antarctic bacteria phosphorus-solubilizing and plant growth promotion

Marcos Vera-Morales * 1,2

<https://orcid.org/0000-0003-2342-6269>
mxvera@espol.edu.ec

Eloy López-Medina ²

<https://orcid.org/0000-0001-7719-8607>
slopezm@unitru.edu.pe

Ángel Avilés-Centeno ³

<https://orcid.org/0009-0003-4375-5358>
avilesc2@unemi.edu.ec

María F. Ratti ¹

<https://orcid.org/0000-0003-3725-8921>
mratti@espol.edu.ec

*Corresponding author

1. Escuela Superior Politécnica del Litoral, ESPOL, Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador, Campus Gustavo Galindo Km. 30.5 Vía Perimetral, P.O. Box 09-01-5863, Guayaquil, Ecuador.

2. Universidad Nacional de Trujillo, Escuela de Postgrado, Trujillo, Perú.

3. Facultad de Ciencias e Ingeniería, Universidad Estatal de Milagro, Guayas, Ecuador.

Citación

Vera-Morales M, López-Medina E, Avilés-Centeno A, Ratti MF. 2024. Caracterización de bacterias antárticas solubilizadoras de fósforo y promoción del crecimiento vegetal. Revista peruana de biología 31(4): e28402 001-012 (diciembre 2024). doi: <https://dx.doi.org/10.15381/rpb.v31i4.28402>

Presentado: 29/06/2023

Aceptado: 16/10/2024

Publicado online: 15/12/2024

Editor: Leonardo Romero

Resumen

La Antártida presenta uno de los ambientes más hostiles del planeta y alberga una notable biodiversidad de microorganismos con un alto potencial como recursos biotecnológicos, incluyendo aquellos capaces de solubilizar fósforo y promover el crecimiento vegetal. Esta investigación tuvo como objetivo caracterizar molecularmente bacterias aisladas de suelos y organismos fotosintéticos colectados en la Antártida durante el verano de 2023, así como evaluar su capacidad para producir sideróforos y solubilizar fosfato tricálcico en condiciones de laboratorio. Adicionalmente, se analizó su efecto en la germinación de semillas de fréjol (*Phaseolus vulgaris*). Las bacterias aisladas se identificaron como pertenecientes a los géneros *Pseudomonas*, *Sporosarcina*, *Sphingomonas*, *Arthrobacter* y *Moraxella*. El 73% de las bacterias estudiadas mostraron capacidad de producir sideróforos, y *Arthrobacter* presentó los mejores resultados en la solubilización de fosfato tricálcico en medio de agar Pikovskaya. Además, estas bacterias promovieron el enraizamiento de *P. vulgaris*. Los resultados obtenidos sugieren que estas cepas tienen un gran potencial como biofertilizantes tolerantes al frío, con aplicaciones prometedoras para el desarrollo de una agricultura sostenible en zonas de altura.

Abstract

Antarctica with one of the most hostile environments on the planet, harbors remarkable microbial biodiversity with significant potential as biotechnological resources, including those capable of phosphorus solubilization & plant growth promotion. This study aimed to molecularly characterize bacteria isolated from soils & photosynthetic organisms collected in Antarctica during the summer of 2023, & to evaluate their ability to produce siderophores & solubilize tricalcium phosphate under laboratory conditions. Additionally, their effects on the germination of *Phaseolus vulgaris* (common bean) seeds were assessed. The isolated bacteria were identified as belonging to the genera *Pseudomonas*, *Sporosarcina*, *Sphingomonas*, *Arthrobacter*, & *Moraxella*. Of the bacteria studied, 73% demonstrated siderophore production capability, with *Arthrobacter* showing the best results in tricalcium phosphate solubilization on Pikovskaya agar medium. Moreover, these bacteria promoted root development in *P. vulgaris*. The findings highlight the promising potential of these strains as cold-tolerant biofertilizers for sustainable agriculture in high-altitude regions.

Palabras claves:

Antártida; bacterias antárticas; bacterias psicrófilas; Bacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal; *Pseudomonas*; Bacterias solubilizadoras de fosfato.

Keywords:

Antarctica; Antarctic bacteria; psychrophilic bacteria; Plant growth-promoting bacteria; *Pseudomonas*; Phosphate solubilizing bacteria.

Introducción

En la Antártida, las condiciones abióticas extremas, como bajas temperaturas, alta salinidad del suelo, bajas concentraciones de nutrientes y alta incidencia de radiación ultravioleta limitan el desarrollo de la mayoría de las plantas superiores y muchas comunidades animales (Doytchinov & Dimov 2022). Sin embargo, los microorganismos desempeñan un papel crucial en los ciclos biogeoquímicos, contribuyendo al mantenimiento de la funcionalidad ecológica de los suelos (Cowan et al. 2014; Ortiz et al. 2020; Khan et al. 2023).

Para sobrevivir en estas condiciones extremas, los microorganismos antárticos han desarrollado adaptaciones biológicas que les permiten producir enzimas, metabolitos y moléculas bioactivas (Hughes et al. 2015; Varrella et al. 2021). Por ejemplo, los microorganismos psicrófilos pueden mitigar el impacto del estrés salino acumulando solutos compatibles que ayudan a mantener el equilibrio osmótico intracelular (Sharma et al. 2016; Acuña-Rodríguez et al. 2019). Además, estos microorganismos mejoran la biodisponibilidad de elementos esenciales como nitrógeno, potasio, fósforo (da Silva et al. 2021) e hierro (Styczynski et al. 2022), lo que favorece el crecimiento vegetal (Musialowski et al. 2023). Estas capacidades los convierten en alternativas biotecnológicas prometedoras debido a su versatilidad metabólica, particularmente en aplicaciones agrícolas (Araya et al. 2020; Santa-Cruz et al. 2021). Asimismo, se ha documentado que estas adaptaciones fisiológicas les permiten establecer asociaciones beneficiosas con plantas vasculares y no vasculares, haciéndolas más tolerantes y competitivas en entornos hostiles (Berríos et al. 2013; Noh et al. 2021).

En el contexto agrícola, el fósforo representa un desafío significativo. A pesar de ser el segundo elemento más importante para el desarrollo de las plantas después del nitrógeno y de encontrarse en abundancia en el suelo, su baja disponibilidad para las raíces limita su aprovecha-

miento (Rawat et al. 2021). Esto ocurre debido a procesos químicos y bioquímicos que inmovilizan el fósforo en el suelo, lo que reduce la efectividad de los fertilizantes fosfatados (Tian et al. 2021). Los microorganismos del suelo pueden contrarrestar esta limitación al solubilizar el fósforo mediante mecanismos como la acidificación, la quelación y las reacciones de intercambio iónico (Vera-Morales et al. 2023).

En los agroecosistemas de montaña, donde los suelos suelen ser ácidos y deficientes en fósforo, los microorganismos capaces de tolerar bajas temperaturas han demostrado ser particularmente efectivos para promover el crecimiento de las plantas (Yarzabal et al. 2018). En este contexto, el uso de biofertilizantes basados en microorganismos antárticos para fijar nitrógeno y solubilizar fosfatos ofrece una solución sostenible y de bajo costo para mejorar el rendimiento de los cultivos, sin generar daños ambientales (Yarzabal, 2014).

En este trabajo, informamos del aislamiento y caracterización molecular de microorganismos psicrófilos procedentes de la Antártida, así como su capacidad para producir sideróforos y solubilizar fosfato tricálcico, y por último el efecto de las bacterias sobre la germinación y el crecimiento de *Phaseolus vulgaris* (frejol común) en condiciones de invernadero.

Material y métodos

Área de estudio. Las bacterias fueron aisladas de las raíces de plantas antárticas, recolectadas a 106 metros sobre el nivel del mar en la isla Horseshoe del continente antártico (67°49'51.9"S - 67°13'38.5"W) (Fig. 1). La isla Horseshoe es una de las islas más grandes de la bahía Margarita y se encuentra aproximadamente a 20 km al oeste de la desembocadura del glaciar Forbes (Çiner et al. 2019). Las muestras se colocaron en recipientes estériles y se mantuvieron congeladas durante todo el proceso de recolección, almacenamiento y transporte.

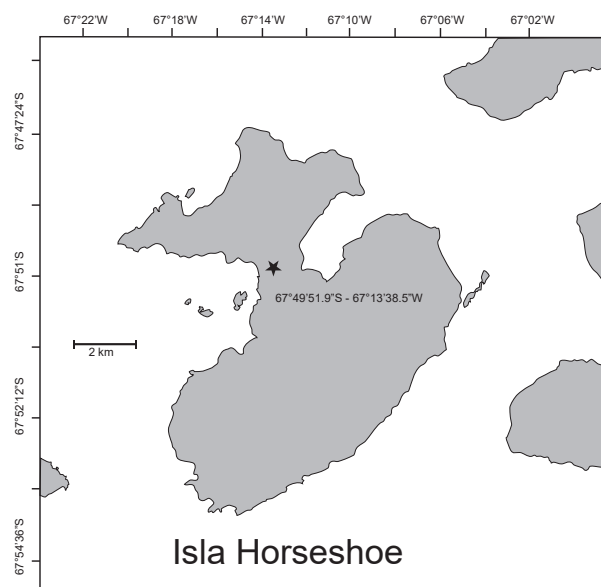


Figura 1. Ubicación del lugar de colecta de suelo en la isla Horseshoe, Antártida. Mapa de la Antártida adaptado de (https://es.m.wikipedia.org/wiki/Archivo:Antarctica_location_map.svg#globalusage).

Aislamiento. Las muestras se procesaron en el Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador (CIBE) de la Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL). Para obtener y aislar bacterias del suelo, se añadió un gramo de la muestra de suelo a 9 mL de caldo Luria-Bertani (LB), y las mezclas se incubaron a 10°C durante 10 días. Luego se realizaron diluciones seriadas desde 10^{-1} hasta 10^{-4} , y se suspendieron 50 µL de las soluciones de 10^{-3} a 10^{-4} en medio de agar nutritivo para aislar las bacterias. Las placas de Petri se incubaron a 10°C y se revisaron después de siete días para observar el crecimiento. Los aislamientos se transfirieron a medios de cultivo frescos. Se realizó la técnica de estriado para obtener cepas puras. Las cepas bacterianas se incubaron a 10°C durante 2 días.

Caracterización molecular de bacterias. Las cepas se conservaron en la colección de cultivos puros de microorganismos del CIBE-ESPOL. Los aislados bacterianos se conservaron en caldo LB con un 20% de glicerol. Cada muestra se almacenó con su correspondiente réplica en tubos estériles de 2 mL a una temperatura de congelación de -80 °C.

Para la extracción de ADN genómico de los aislamientos bacterianos, se utilizó un protocolo modificado descrito por Ausubel et al. (2003). Los genes del ARN 16S se amplificaron por PCR utilizando cebadores para la región 16S de procariotas: 27F (5'AGAGTTTGATCCTGGCTCAG3') y 1492R (5'GGTTACCTTGTACGACTT3'). La mezcla de reacción de PCR consistió en 20–200 ng de ADN genómico bacteriano, 2.0 µL de tampón PCR 10X con 20 mM de MgCl₂, 2.0 µL de dNTPs 10 mM, 1 unidad de Taq polimerasa, 200 pM de los cebadores 27F y 1492R, y agua ultrapura estéril hasta un volumen final de 25 µL. La amplificación por PCR se realizó en un termociclador Mastercycler (Eppendorf Nexus GSX1, Hamburgo, Alemania) utilizando las siguientes condiciones: desnaturalización inicial a 96°C durante 5 minutos, 35 ciclos de desnaturalización a 96°C durante 1 minuto, alineamiento a 55°C durante 1 minuto, extensión a 72°C durante 1 minuto, seguido de una extensión final a 72°C durante 3 minutos y finalmente mantenimiento a 4°C (Lorenz 2012).

Los productos de PCR purificados se secuenciaron utilizando el servicio comercial de *Psomagen*, Estados Unidos (<https://www.psomagen.com/>). Los datos de las secuencias recibidos de *Psomagen* para la secuenciación del gen 16S rRNA se alinearon con secuencias de los géneros más cercanos obtenidos de la base de datos GenBank utilizando el programa MUSCLE. La identificación de especies relacionadas con el 16S rRNA se realizó utilizando la herramienta de búsqueda de alineamiento disponible en la base de datos del Centro Nacional de Información Biotecnológica (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Posteriormente, se accedió a las secuencias desde GenBank utilizando la herramienta de Comparación Múltiple de Secuencias por Log-Expectation (MUSCLE), y el modelo apropiado para los datos se calculó con el software MEGA-X.

El árbol filogenético se construyó utilizando la inferencia de Máxima Verosimilitud con el modelo de Kimura de 2 parámetros. La estabilidad de las topologías resultantes se evaluó mediante un análisis de bootstrap con 1000 repeticiones. Finalmente, las secuencias se enviaron a la base de datos GenBank del NCBI y se asignaron los números de acceso de la siguiente manera: PQ759888, PQ759889, PQ759890, PQ759891, PQ759892, PQ759893, PQ759894, PQ759895, PQ759896, PQ759897, PQ759898, PQ759899, PQ759900, PQ759901.

Producción de sideróforos y solubilización de fósforo. La producción cualitativa de sideróforos se detectó utilizando el ensayo universal de Chrome Azurol-S (CAS) (Schwyn & Neilands 1987). La producción de sideróforos se determinó por un cambio de color del medio CAS de azul a amarillo o blanco (Ulloa-Muñoz et al. 2020). Para la detección rápida de la solubilización de fósforo, las bacterias se colocaron en placas de agar Pikovskaya suplementadas con el indicador bromotimol azul.

Para evaluar la capacidad de solubilización de cada cepa, las bacterias fueron seleccionadas e inoculadas en medio Pikovskaya (PVK) suplementado con azul de bromotimol (BTB) (C₁₉H₁₀Br₄O₅S) a 28°C por 7 días. El medio PVK-BTB contenía: 10 g/L D-glucosa; 5 g/L Ca₃(PO₄)₂; 5 g/L MgCl₂·6H₂O; 0,25 g/L MgSO₄·7H₂O; 0.2 g/L KCl; 0.1 g/L (NH₄)₂SO₄; 0.4 g/L BTB; 15 g/L agar; pH 7.0 (Nautiyal 1999).

Las cepas que crecieron rápidamente y desarrollaron halos claros alrededor de sus colonias fueron seleccionadas y almacenadas. Para el almacenamiento a -20°C, se utilizaron tubos de criopreservación de 2 mL que contenían medio Luria-Bertani (LB) con 40% de glicerol. Las bacterias se inocularon en medio de agar nutritivo a 10°C ± 1 durante 48 horas para obtener suspensiones bacterianas de 1 – 2x10⁸ UFC/mL. Se depositó un volumen de 2 µL de cada suspensión en triplicado sobre medio sólido PVK-BTB. Las placas se incubaron a 10°C durante 7 días (Joe et al. 2018). El pH inicial del medio se ajustó a 7.0.

Solubilización de fosfato. El índice de solubilización de fósforo (SI) se estimó mediante la relación entre el diámetro total (colonia + zona de halo) y el diámetro de la colonia (Fig. 2) (Edi-Premono et al. 1996), utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Índice de Solubilización (IS)} = \frac{\text{Diámetro total (colonia A + halo B)}}{\text{Diámetro de la colonia (A)}}$$

Las observaciones se realizaron con cuatro réplicas. Las cepas que desarrollaron zonas claras alrededor de sus colonias fueron clasificadas como bacterias solubilizadoras de fósforo.

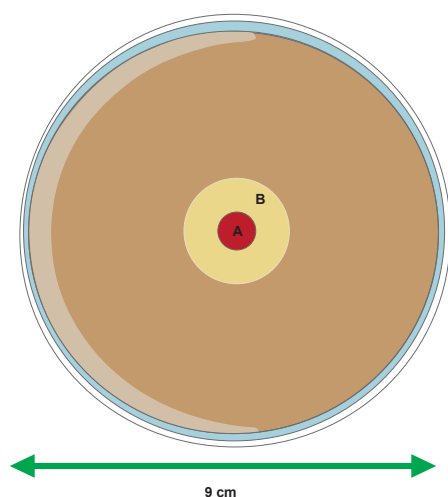


Figura 2. Solubilización de fosfato tricálcico en medio de cultivo PVK (A) = diámetro de la colonia bacteriana (mm); (B) = diámetro del halo (mm).

Ensayo de germinación de semillas. Las bacterias aisladas con propiedades de solubilización de fósforo se inocularon en placas de Petri con medio de cultivo nutritivo e incubaron a 10°C durante 48 horas. Después de 48 horas de crecimiento, los aislamientos se inocularon en caldo Luria-Bertani (LB) a 100 rpm durante 72 horas a 10°C. Las células bacterianas se recogieron por centrifugación durante 20 minutos a 5000 rpm. Para las suspensiones bacterianas, las células se recolectaron en una solución salina al 0.5% y se estandarizaron en escala McFarland 0.5 Cat. no (TM50) para aproximar el número de bacterias (10^8 UFC/mL).

Las semillas de dos variedades de frijoles *Phaseolus vulgaris* L. ("Panamito" y "Mantequilla") fueron esterilizadas con hipoclorito de sodio al 2% y alcohol al 70% durante 2 minutos en cada fase y se lavaron tres veces con agua estéril. Veinticinco semillas de frijol se sumergieron en suspensiones bacterianas de aislados individuales durante cinco horas. Se utilizó agua destilada estéril como control. Luego, las 25 semillas se colocaron sobre papel de filtro y algodón en recipientes plásticos. Los recipientes se organizaron en un diseño completamente al azar e incubaron a 15°C durante 15 días. Se registró el número de semillas germinadas y se midió el crecimiento de los brotes y las raíces para calcular el porcentaje de enraizamiento. Los ensayos *in vivo* fueron instalados y realizados en el invernadero del Instituto de Papa y Cultivos Andinos (IPACA) de la Universidad Nacional de Trujillo, Perú (UNT).

Para la evaluación de los tratamientos de germinación de semillas, se contó el número de plántulas que emergieron diariamente desde el día en que se plantaron en los recipientes hasta la germinación (Musialowski et al. 2023). Para los cálculos, se utilizaron las fórmulas del Índice de Germinación (G.I.) de la Asociación de Análisis de Semillas Oficiales (AOSA) (1983), las cuales están basadas en la ecuación de Ellis y Roberts, (1981); y el Índice de Vigor de las Semillas (V.I.) se calculó utilizando la fórmula de Abdul-Baki y Anderson, (1973).

$$IG = \sum \left(\frac{n_i}{d_i} \right)$$

$$IV = (\text{Longitud de la plántula}) \times \%G$$

Donde n_i = número de semillas que emergen en el día i ; d_i = día después de la siembra, y $\%G$ es el porcentaje de germinación.

Análisis de datos. Se utilizaron cinco réplicas para cada experimento. Los datos se analizaron mediante análisis de varianza (ANOVA). Los porcentajes se transformaron a arco seno y se compararon utilizando ANOVA. Las comparaciones post-hoc se realizaron usando la prueba de Tukey para experimentos de laboratorio y la prueba de Duncan para experimentos en invernadero con un nivel de significancia de $p < 0.05$. En el experimento en invernadero, los tratamientos diferentes se organizaron en un diseño de bloques completamente al azar con cinco repeticiones por tratamiento. Dado que los datos sobre el enraizamiento de semillas de frijol no eran paramétricos, se realizó la prueba de Kruskal-Wallis H. Los datos de todas las pruebas se analizaron para determinar la homogeneidad de varianza. Cuando la varianza era igual, los datos agrupados se combinaron. El análisis de los datos se realizó utilizando el paquete de software estadístico InfoStat versión 2020 para Windows.

Resultados y discusión

Caracterización molecular. Se secuenciaron quince cepas de bacterias psicrófilas utilizando el gen 16S rRNA, seguido de un análisis filogenético. La secuenciación de ADN y el análisis filogenético revelaron que todos los aislamientos mostraron una similitud de $\geq 98 - 100\%$ con cinco géneros descritos. Se construyó un árbol filogenético para las 15 bacterias identificadas para determinar sus afiliaciones (Fig. 3). En general, el 46.7% de los morfotipos totales pertenecían a *Pseudomonas*, seguidos por *Sporosarcina* (33.3%), *Sphingomonas* (6.7%), *Arthrobacter* (6.7%) y *Moraxella* (6.7%).

De las 15 cepas de bacterias psicrófilas aisladas, 7 pertenecían al género *Pseudomonas*, lo que lo convierte en el género más representativo de la investigación. Publicaciones anteriores han informado sobre la diversidad bacteriana en hábitats fríos, donde la presencia de *Pseudomonas* predominó sobre otros géneros (Balcazar et al. 2015; Verma et al. 2015). Las *Pseudomonas* son bacterias frecuentes en ambientes fríos, con propiedades para aplicaciones ecológicas y biotecnológicas (Ball et al. 2014; Chauhan et al. 2023). Pueden crecer en un amplio rango de temperaturas, soportando diversos tipos de estrés, y poseen una gran versatilidad metabólica (Moreno & Rojo 2014; Jain & Pandey 2016), lo que las hace potencialmente útiles para el desarrollo de tecnologías relacionadas con la agricultura (Balcazar et al. 2015).

Detección de la producción de sideróforos y solubilización de fósforo. Del total de bacterias aisladas y estudiadas, el 73% mostró capacidad para producir sideróforos. De manera similar, todas estas bacterias fueron capaces de solubilizar fosfato tricálcico (Tabla 1; Fig. 4).

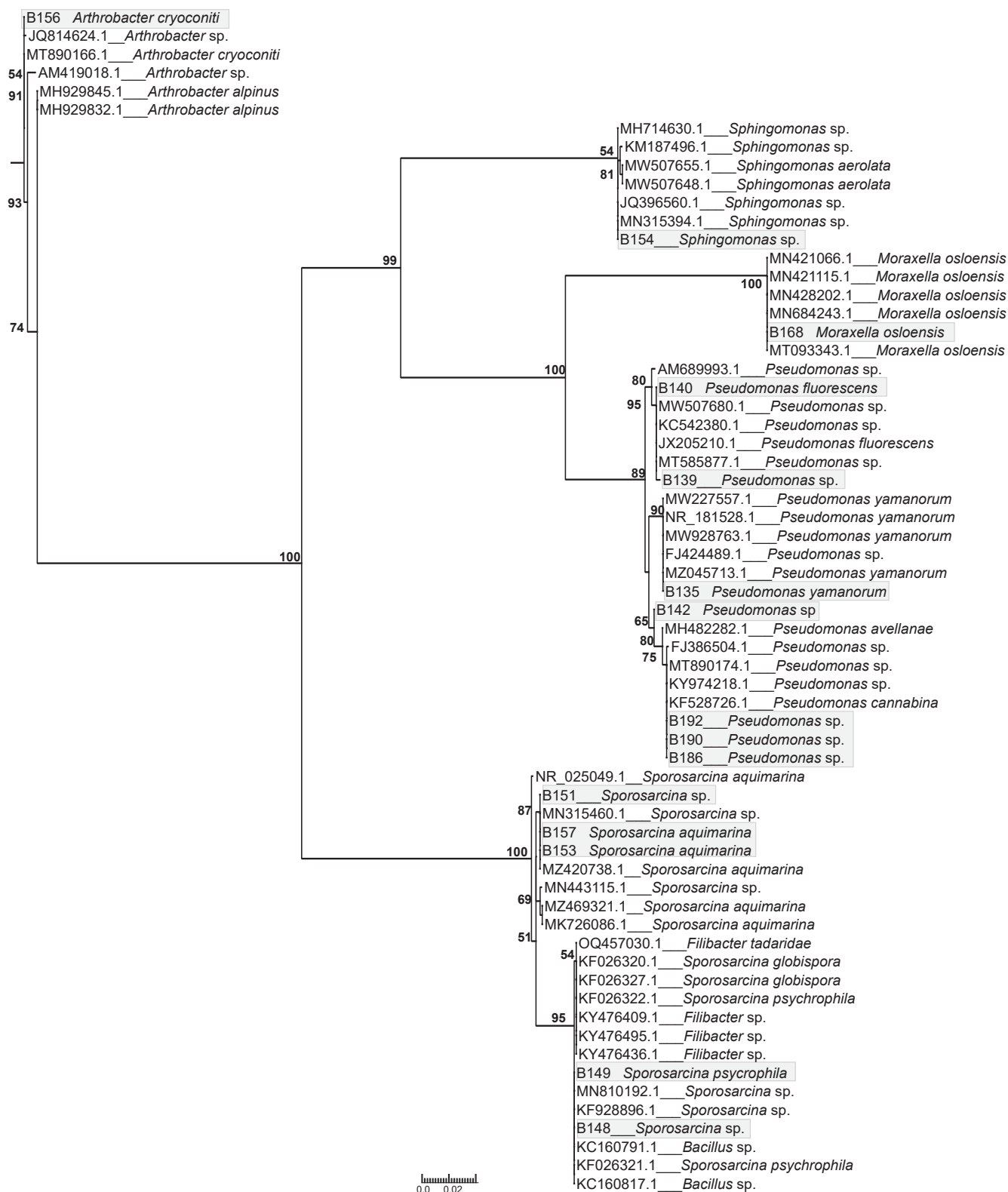


Figura 3. El árbol filogenético con inferencia de Máxima Verosimilitud muestra la relación entre los 15 aislamientos bacterianos según las secuencias del gen 16S rRNA, con secuencias de referencia obtenidas mediante el análisis BLAST. El alineamiento de secuencias se realizó utilizando el software Geneious 10.2.6, y los árboles se construyeron utilizando el modelo de sustitución Kimura 2 y 1000 repeticiones de Bootstrap con el software MEGA-X. Los números representan el soporte de Bootstrap para la generación de ramas del árbol (mostrados solo si el valor es ≥ 50).

Tabla 1. Capacidad de las bacterias para producir sideróforos y solubilizar fósforo.

Aislamiento	Sideróforos ¹	Fosfato tricálcico
B135	+	+
B139	-	+
B140	-	+
B142	+	+
B186	+	+
B190	+	+
B192	+	+
B148	+	+
B149	+	+
B151	+	+
B153	-	+
B157	+	+
B154	-	+
B156	+	+
B168	+	+

¹ Detección: Positivo (+), Negativo (-)

Los sideróforos bacterianos son compuestos quelantes con el potencial de promover el crecimiento de las plantas (Musialowski et al. 2023). Este estudio ha demostrado que las bacterias de la Antártida pueden producir sideróforos que podrían aplicarse en la agricultura. Estudios previos han mostrado que las bacterias psicrófilas son eficientes en la producción de sideróforos, la solubilización de fosfatos (Balcazar et al. 2015), y también en la promoción del crecimiento de plantas (Tapia-Vázquez et al. 2020). Entre estas bacterias, las del género *Pseudomonas* han sido ampliamente estudiadas por su versatilidad en condiciones extremas y la producción de compuestos beneficiosos para los cultivos de plantas (Moreno & Rojo 2014; De Serrano et al. 2016).

Solubilización de fosfato por bacterias psicrófilas. Estos resultados mostraron que todas las bacterias estudiadas tenían la capacidad de solubilizar fosfato tricálcico. Sin embargo, los resultados de los tratamientos mostraron diferencias significativas entre cepas. Las bacterias con el índice de solubilización más alto en el medio de Pikovskaya fueron *Arthrobacter* B156 (I.S. 3.45), *Pseudomonas* B135 (I.S. 3.31), *Sporosarcina* B157 (I.S. 3.29), y *Pseudomonas* B192 (I.S. 3.18) (Fig. 5A).

Asimismo, todas las cepas bacterianas psicrófilas fueron capaces de colonizar medios de Pikovskaya con fosfato tricálcico. No obstante, mostraron diferencias significativas en comparación con el control. Las bacterias con el mayor crecimiento radial fueron *Pseudomonas* C186, *Sporosarcina* B157, *Arthrobacter* B156 y *Pseudomonas* B192. En promedio, las cepas de *Pseudomonas* crecieron un 9.75% más que el control, mientras que las cepas de *Sporosarcina* y *Arthrobacter* crecieron un 6.67% y un 8.11% más que el control, respectivamente (Fig. 5B).

La capacidad de solubilización de fósforo de las cepas bacterianas fue visible en placas de agar Pikovskaya suplementadas con fosfato tricálcico, donde produjeron una zona clara alrededor de sus colonias en el medio de cultivo. Verma et al. (2015) evaluó 45 bacterias psicrófilas con la finalidad de identificar atributos promotores del crecimiento vegetal; encontrando que 24 podían solubilizar fósforo, incluyendo dos especies del género *Arthrobacter* y siete del género *Pseudomonas*. En general, las especies de *Pseudomonas* muestran alta actividad para solubilizar fosfato tricálcico (Gulati et al. 2008; Vega-Celedón et al. 2021), debido a su capacidad innata para producir ácidos orgánicos como el ácido glucónico, oxálico, 2-ceto-glucónico, láctico, succínico, fórmico, cítrico y málico (Trivedi & Sa 2008; Vyas & Gulati 2009; Balcazar et al. 2015).

En esta investigación, las cepas solubilizaron fósforo en un rango de I.S. de 2.48 (*Pseudomonas* - B142) a 3.45 (*Arthrobacter* - B156) después de 10 días de incubación a 10°C. En investigaciones previas encontraron que bacterias seleccionadas pudieron solubilizar fosfato tricálcico después de 6 días a diferentes temperaturas (4, 15 y 28 °C) (Mishra et al. 2011; Adhikari et al. 2021).

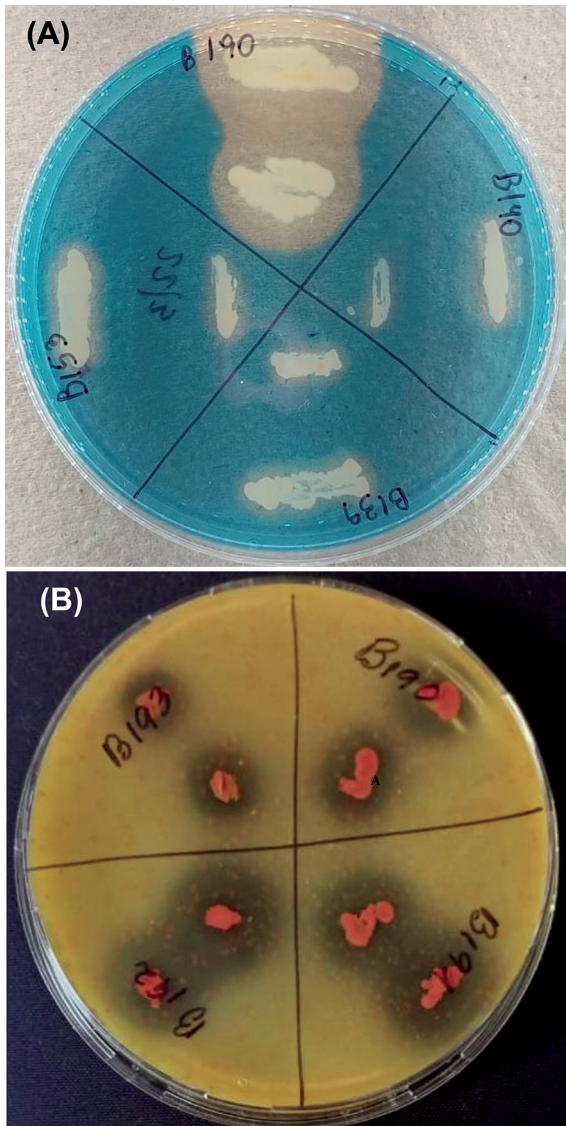


Figura 4. A) Producción de sideróforos por bacterias cultivadas a 10°C; B) Solubilización de fosfato tricálcico a 10°C.

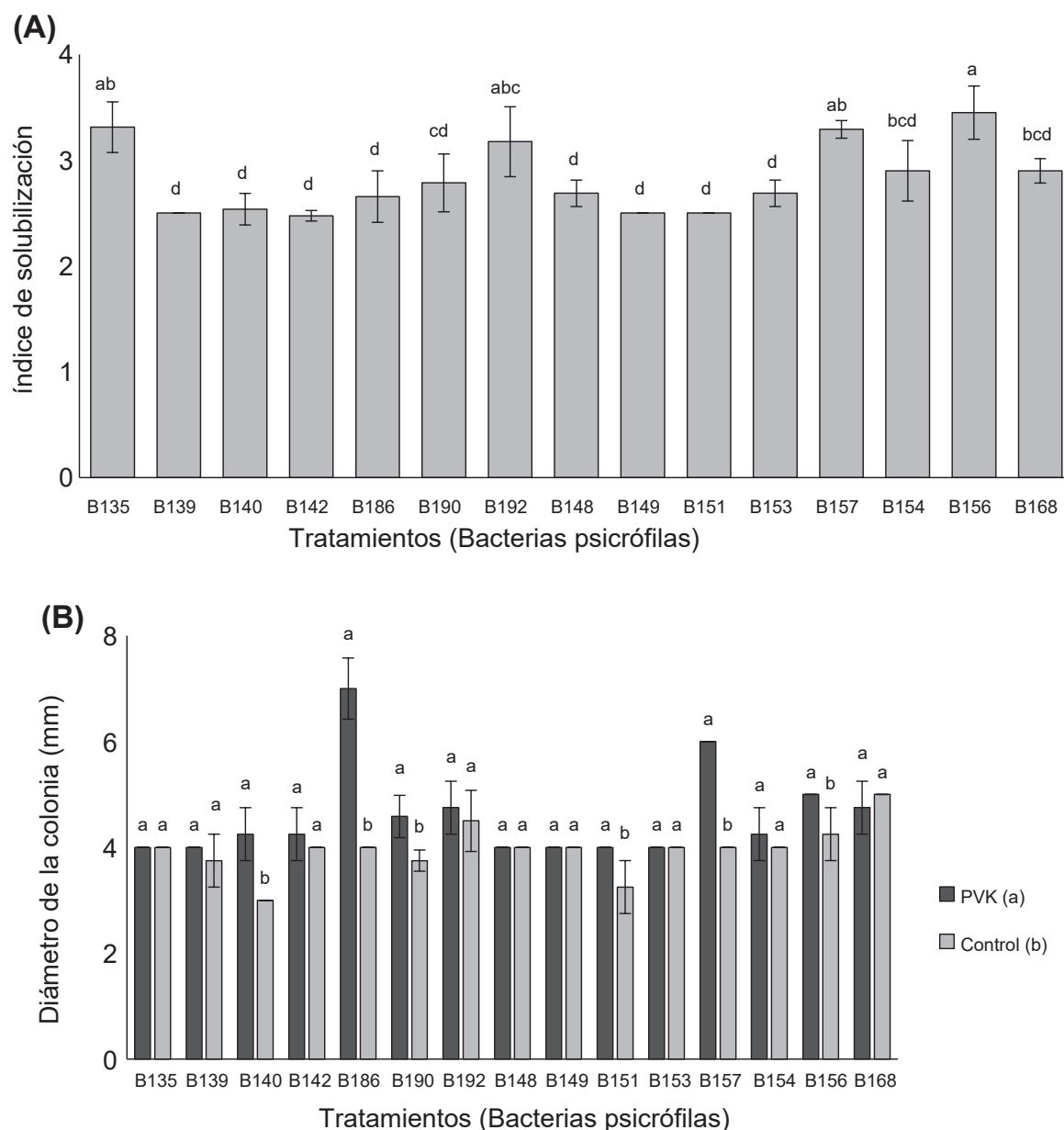


Figura 5. A) Efecto de las cepas bacterianas psicrófilas en la solubilización del medio de Pikovskaya con fosfato tricálcico. B) Crecimiento radial en mm de las cepas bacterianas psicrófilas en el medio de Pikovskaya suplementado con fosfato tricálcico comparado con el control sin fosfato tricálcico. Los datos de las columnas se presentan como promedio, y las barras de error representan la desviación estándar. Las barras con letras diferentes son significativamente diferentes, de acuerdo con la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Bioensayo de germinación. Los resultados del bioensayo sobre el efecto de las bacterias psicrófilas en el enraizamiento de *P. vulgaris* revelaron diferencias significativas entre las variedades de frijol examinadas, Panamito y Mantequilla (ver Fig. 6C). En promedio, el frijol Panamito mostró un índice de enraizamiento del 71.6%, contrastando significativamente con el 28.4% registrado en el frijol Mantequilla, lo que representa una diferencia del 43.3%. Los gráficos no muestran las bacterias que presentaron promedios más bajos que el control.

Entre las bacterias psicrófilas evaluadas para mejorar el enraizamiento de frijoles Mantequilla, las cepas

B135 (41.7%), B149 (41.7%) y B153 (50%) destacaron en comparación con el control (33.3%), mostrando diferencias porcentuales de 8.3%, 8.3% y 16.7%, respectivamente (ver Fig. 6A). Para el enraizamiento de frijoles Panamito, las cepas B154 (58.3%), B139 (66.7%), B157 (66.7%), B140 (83.3%) y B156 (100%) obtuvieron mejores resultados en comparación con el control (50%), con diferencias porcentuales de 8.3%, 16.7%, 16.7%, 33.3% y 50.0%, respectivamente (ver Fig. 6B).

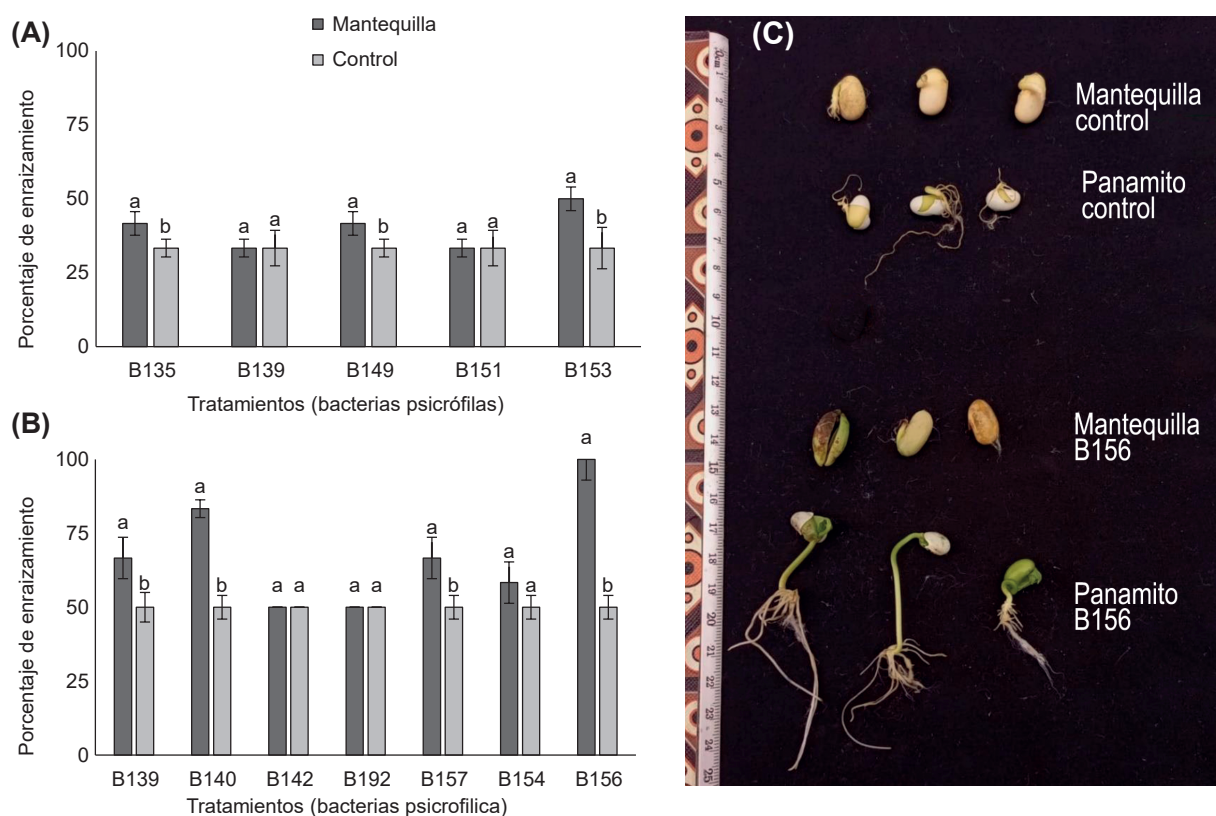


Figura 6. A) Efecto de las cepas bacterianas psicrófilas en el enraizamiento de *Phaseolus vulgaris* L., variedad Mantequilla. B) Efecto de las cepas bacterianas psicrófilas en el enraizamiento de *Phaseolus vulgaris* L., variedad Panamito. Los datos de las columnas se presentan como media, y las barras de error representan la desviación estándar. Las barras con letras diferentes son significativamente distintas, de acuerdo con la prueba de Duncan ($p < 0.05$). C) Fotografía representativa del bioensayo de enraizamiento de semillas de *Phaseolus vulgaris*.

La creciente necesidad de incorporar biofertilizantes en ambientes fríos para cultivos en áreas montañosas (Yarzabal 2020) ha llevado al desarrollo de investigaciones orientadas a comprender las competencias ecológicas y rizosféricas de las bacterias psicrófilas (Pandey & Yarzabal 2019). Según nuestros resultados, las bacterias que mostraron la mayor capacidad de enraizamiento en el presente estudio pertenecen a los géneros *Pseudomonas*, *Sporosarcina*, *Sphingomonas* y *Arthrobacter*.

Las bacterias psicrófilas del género *Pseudomonas* pueden promover el crecimiento de las plantas. En plantas de tomate, han aumentado significativamente el desarrollo de las raíces en un 30-51%, y son compatibles en consorcios, lo que causa un aumento significativo con valores de 1.72 y 1.88 cm en el sistema radicular (Vega-Celedón et al. 2021).

Las bacterias psicrófilas del género *Pseudomonas* también han demostrado su capacidad para promover el crecimiento de las plantas (Berríos et al. 2013). Por ejemplo, en plantas de tomate se observó un aumento significativo en el desarrollo de las raíces, que varió del 30 al 51% (Dolkar et al. 2018). Además, estas bacterias son compatibles en consorcios, logrando aumentos significativos que alcanzaron valores de 1.72 y 1.88 cm en la longitud de las raíces de los tomates (Vega-Celedón et al. 2021). En semillas de trigo (*Triticum aestivum*) expuestas a diferentes concentraciones de *Pseudomonas*, se produjo una elongación de las raíces con valores entre

31.9 y 61.7% más largos que las raíces de las semillas no inoculadas (Yarzabal et al. 2018). *Pseudomonas putida* aislada de suelos árticos mejoró el crecimiento de las plantas y promovió la elongación de las raíces en *Brassica napus* (Sun et al. 1995). Estos estudios han llevado al desarrollo de biofertilizantes de fósforo a partir de recursos microbiológicos extremófilos (Rizvi et al. 2021), así como patentes relacionadas con *Pseudomonas antarctica* psicrófila (Gidekel et al. 2008).

Las bacterias psicrófilas del género *Pseudomonas* también han demostrado su capacidad para promover el crecimiento de las plantas (Berríos et al. 2013). En estudios realizados en plantas de tomate, se observó un aumento significativo en el desarrollo de las raíces, que varió del 30 al 51% (Dolkar et al. 2018). Además, estas bacterias son compatibles en consorcios, logrando aumentos significativos que alcanzaron valores de 1.72 y 1.88 cm en la longitud de las raíces de los tomates (Vega-Celedón et al. 2021). En semillas de trigo (*Triticum aestivum*) expuestas a diferentes concentraciones de *Pseudomonas*, se produjo una elongación de las raíces con valores entre 31.9 y 61.7% más largos que las raíces de las semillas no inoculadas (Yarzabal et al. 2018). *Pseudomonas putida* aislada de suelos árticos mejoró el crecimiento de las plantas y promovió la elongación de las raíces en *Brassica napus* (Sun et al. 1995). Estos estudios han llevado al desarrollo de biofertilizantes de fósforo a partir de recursos microbiológicos extremófilos (Rizvi et

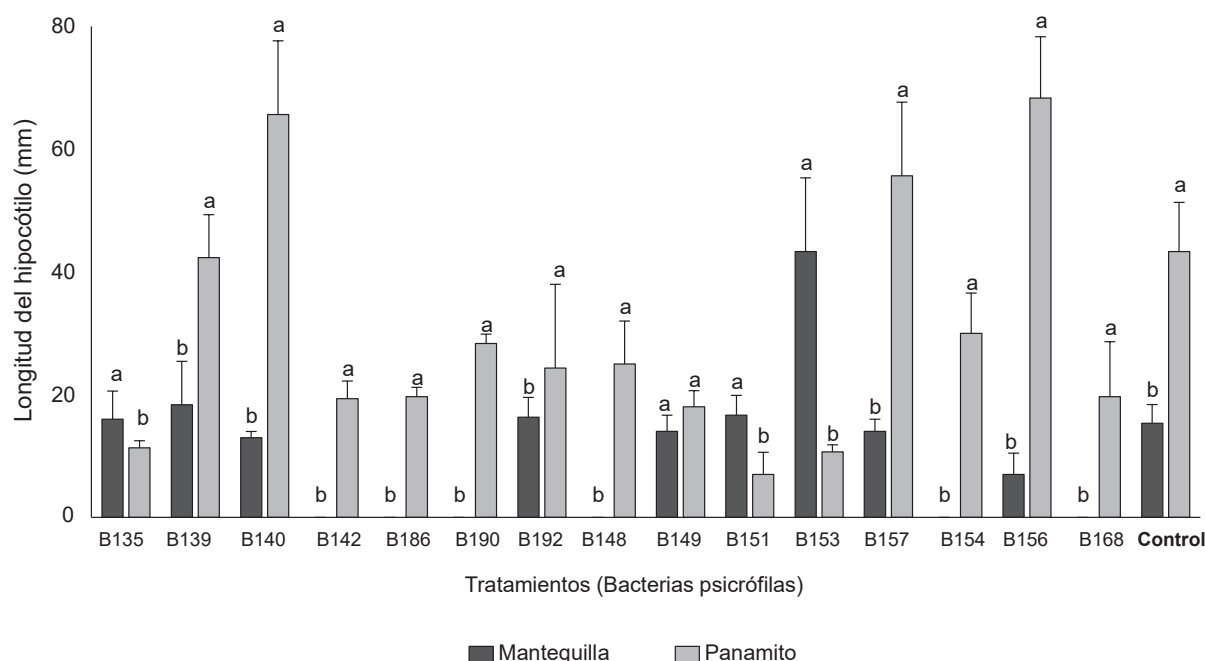


Figura 7. Efecto de las cepas bacterianas psicrófilas sobre la longitud del hipocótilo de *Phaseolus vulgaris* L. en las variedades Mantequilla y Panamito. Los datos en columnas se presentan como media, y las barras de error representan la desviación estándar. Las diferencias significativas se analizaron utilizando la prueba de Kruskal-Wallis seguida de comparaciones múltiples por pares. Las medias con letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

al. 2021), así como patentes relacionadas con *Pseudomonas antarctica* psicrófila (Gidekel et al. 2008).

Longitud de hipocótilo y raíces. Los resultados del bioensayo de bacterias psicrófilas sobre la longitud de las raíces y los hipocótilos de plántulas de *P. vulgaris* revelaron diferencias significativas entre las variedades de frijol Panamito y Mantequilla. En promedio, el frijol Panamito mostró un crecimiento de 10.9 mm, en contraste significativo con los 30.5 mm registrados en el frijol Mantequilla, representando una diferencia de 19.7 mm. Entre las bacterias psicrófilas evaluadas para mejorar el crecimiento de los frijoles Mantequilla, las cepas B135 (16 mm), B192 (16.3 mm), B151 (16.7 mm), B139 (18.3 mm) y B153 (43.3 mm) destacaron en comparación con el control (15.3 mm). Para el crecimiento de los frijoles Panamito, las cepas B157 (55.7 mm), B140 (65.7 mm) y B156 (68.3 mm) obtuvieron mejores resultados en comparación con el control (43.3 mm), con diferencias porcentuales de 2.5%, 4.6% y 5.1%, respectivamente (ver Fig. 7).

De los resultados obtenidos, *Pseudomonas*, *Sporosarcina* y *Arthrobacter* mostraron los mejores promedios en el crecimiento inicial de las plántulas de frijol. El estudio realizado por Mishra et al. (2011), indicó que doce cepas psicrófilas de *Pseudomonas* mejoraron el crecimiento de plántulas de trigo a una temperatura de 8°C (Mishra et al. 2011). También promovieron el crecimiento y el contenido de elementos en plantas de maíz (Vyas & Gulati 2009). Las bacterias *Pseudomonas* se han utilizado en ensayos para la solubilización de fósforo, actuando como biofertilizantes activos en condiciones frías (Rondón et al. 2019) y promoviendo el crecimiento de las plantas (Pandey et al. 2009).

Las bacterias psicrófilas del género *Sporosarcina* pueden promover el crecimiento vegetativo debido a la eficiente producción de ácido indolacético (IAA) con $99.3 \pm 1.5 \mu\text{g mL}^{-1}$ (Yadav et al. 2016). Además, las especies del género *Arthrobacter* han mostrado atributos que promueven el crecimiento de plantas (Yadav et al. 2015), como en el cultivo de trigo (*Triticum aestivum*) en altitudes elevadas (Verma et al. 2015). La búsqueda de bacterias de ambientes extremos que mejoren el crecimiento de las plantas al incrementar el suministro de nutrientes es de gran importancia en la agricultura, especialmente para los cultivos cultivados en condiciones montañosas (Yadav et al. 2019). El uso de bacterias antárticas podría ser una alternativa ecológica para aumentar la supervivencia de las plantas y reducir el efecto fisiológico de los estresores ambientales (Acuña-Rodríguez et al. 2019).

Esta investigación aporta al desarrollo de productos biotecnológicos ecológicos, como biofertilizantes activos en frío, especialmente relevantes para la agricultura de montaña, donde la absorción de nutrientes del suelo es limitada. El uso de estas bacterias psicrófilas representa una opción prometedora para superar este desafío.

Literatura citada

- Abdul-Baki AA, Anderson JD. 1973. Vigor determination in soybean seed by multiple criteria. *Crop Science*. 13(6):630-633. <https://doi.org/10.2135/cropsci1973.0011183X001300060013x>
- Acuña-Rodríguez IS, Hansen H, Gallardo-Cerda J, Atala C, Molina-Montenegro MA. 2019. Antarctic extremophiles: biotechnological alternative to crop productivity in saline soils. *Frontiers in Bioengineering & Biotechnology*. 7. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00022>

- Adhikari P, Jain R, Sharma A, Pandey A. 2021. Plant Growth Promotion at Low Temperature by Phosphate-Solubilizing *Pseudomonas* spp. Isolated from High-Altitude Himalayan Soil. *Microb Ecol.* 82(3):677-687. <https://doi.org/10.1007/s00248-021-01702-1>
- Araya MA, Valenzuela T, Inostroza NG, Maruyama F, Jorquera MA, Acuña JJ. 2020. Isolation & characterization of cold-tolerant hyper-acc-degrading bacteria from the rhizosphere, endosphere, & phyllosphere of Antarctic vascular plants. *Microorganisms.* 8(11):1788. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8111788>
- Association of Official Seed Analysts (AOSA). 1983. Seed Vigor Testing Handbook: Contribution No. 32 to the Handbook on Seed Testing. The Association.
- Ausubel FM, Brent R, Kingston RE, Moore DD, Seidman JG, Smith JA, Struhl K. 2003. Current Protocols in Molecular Biology. NJ, USA: John Wiley & Sons: Hoboken,
- Balcazar W, Rondón J, Rengifo M, Ball MM, Melfo A, Gómez W, Yarzabal LA. 2015. Bioprospecting glacial ice for plant growth promoting bacteria. *Microbiological Research.* 177:1-7. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.05.001>
- Ball MM, Gómez W, Magallanes X, Rosales R, Melfo A, Yarzabal LA. 2014. Bacteria recovered from a high-altitude, tropical glacier in Venezuelan Andes. *World J Microbiol Biotechnol.* 30(3):931-941. <https://doi.org/10.1007/s11274-013-1511-1>
- Berrios G, Cabrera G, Gidekel M, Gutiérrez-Moraga A. 2013. Characterization of a novel antarctic plant growth-promoting bacterial strain & its interaction with antarctic hair grass (*Deschampsia antarctica* Desv). *Polar Biology* 36(3):349-362. <https://doi.org/10.1007/s00300-012-1264-6>
- Chauhan M, Kimothi A, Sharma A, Pandey A. 2023. Cold adapted *Pseudomonas*: ecology to biotechnology. *Frontiers in Microbiology* 14:1218708. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1218708>
- Çiner A, Yildirim C, Sarikaya MA, Seong YB, Yu BY. 2019. Cosmogenic ¹⁰Be exposure dating of glacial erratics on Horseshoe Island in western Antarctic Peninsula confirms rapid deglaciation in the Early Holocene. *Antarctic Science.* 31(6):319-331. <https://doi.org/10.1017/S0954102019000439>
- Cowan DA, Makhalanyane TP, Dennis PG, Hopkins DW. 2014. Microbial ecology & biogeochemistry of continental Antarctic soils. *Frontiers in Microbiology* 5:154. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00154>
- da Silva AV, de Oliveira AJ, Tanabe ISB, Silva JV, da Silva Barros TW, da Silva MK, França PHB, Leite J, Putzke J, Montone R, et al. 2021. Antarctic lichens as a source of phosphate-solubilizing bacteria. *Extremophiles* 25(2):181-191. <https://doi.org/10.1007/s00792-021-01220-5>
- De Serrano LO, Camper AK, Richards AM. 2016. An overview of siderophores for iron acquisition in microorganisms living in the extreme. *Biometals.* 29(4):551-571. <https://doi.org/10.1007/s10534-016-9949-x>
- Dolkar D, Dolkar P, Stobdan T, Katiyar AK. 2018. Tomato Growth Promotion Induced by Stress Tolerant Phosphate Solubilizing *Pseudomonas* *simiae* in Arid trans-Himalaya. *Defence Life Science Journal* 3(2):105. <https://doi.org/10.14429/dlsj.3.12565>
- Doytchinov VV, Dimov SG. 2022. Microbial community composition of the antarctic ecosystems: review of the bacteria, fungi, & archaea identified through an NGS-based metagenomics approach. *Life (Basel).* 12(6):916. <https://doi.org/10.3390/life12060916>
- Edi-Premono M, Moawad AM, Vlek PLG. 1996. Effect of phosphate solubilizing *Pseudomonas putida* on the growth of maize & its survival in the rhizosphere. *Indonesian Journal of Crop Science.* 11:13-23.
- Ellis RA, Roberts EH. 1981. The quantification of ageing & survival in orthodox seeds. *Seed Science & Technology.* 9:373-409.
- Gidekel M, Gutierrez A, Barrientos L, Cabrera G, Berrios G, Mihovilovic I. 2008 Oct 30. Biofertilizer Formulation. [accessed 2024 Jan 19]. <https://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?docId=W02008130701>.
- Gulati A, Rahi P, Vyas P. 2008. Characterization of Phosphate-Solubilizing Fluorescent *Pseudomonads* from the Rhizosphere of Seabuckthorn Growing in the Cold Deserts of Himalayas. *Current Microbiology* 56(1):73-79. <https://doi.org/10.1007/s00284-007-9042-3>
- Hughes KA, Cowan DA, Wilmotte A. 2015. Protection of Antarctic microbial communities - 'out of sight, out of mind.' *Frontiers in Microbiology.* 6:151. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00151>
- Jain R, Pandey A. 2016. A phenazine-1-carboxylic acid producing polyextremophilic *Pseudomonas chlororaphis* (MCC2693) strain, isolated from mountain ecosystem, possesses biocontrol & plant growth promotion abilities. *Microbiol Res.* 190:63-71. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2016.04.017>
- Joe MM, Deivaraj S, Benson A, Henry AJ, Narendrakumar G. 2018. Soil extract calcium phosphate media for screening of phosphate-solubilizing bacteria. *Agriculture & Natural Resources.* 52(3):305-308. <https://doi.org/10.1016/j.anres.2018.09.014>
- Khan A, Punetha A, Kukreti B, Sharma RS, Panthari D, Naudiyal N, Gouri V, Baweja HS, Singh AV. 2023. Microbial Community Dynamics of Antarctica: Their Ecological Potential & Industrial Importance. In: Soni R, Suyal DC, Morales-Oyervides L, editors. *Microbial Bioactive Compounds: Industrial & Agricultural Applications.* Cham: Springer Nature Switzerland. p. 261-289. https://doi.org/10.1007/978-3-031-40082-7_15
- Lorenz TC. 2012. Polymerase Chain Reaction: Basic Protocol Plus Troubleshooting & Optimization Strategies. *Journal of Visualized Experiments-JoVE* (63):3998. <https://doi.org/10.3791/3998>
- Mishra PK, Bisht SC, Ruwari P, Selvakumar G, Joshi GK, Bisht JK, Bhatt JC, Gupta HS. 2011. Alleviation of cold stress in inoculated wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings with psychrotolerant *Pseudomonads* from NW Himalayas. *Archives of Microbiology* 193(7):497-513. <https://doi.org/10.1007/s00203-011-0693-x>
- Moreno R, Rojo F. 2014. Features of *Pseudomonads* growing at low temperatures: another facet of their versatility. *Environmental Microbiology Reports* 6(5):417-426. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12150>
- Musialowski M, Kowalewska Ł, Stasiuk R, Krucoń T, Debiec-Andrzejewska K. 2023. Metabolically versatile psychrotolerant Antarctic bacterium *Pseudomonas* sp. ANT_H12B is an efficient producer of siderophores & accompanying metabolites (SAM) useful for agricultural purposes. *Microbial Cell Factories* 22(1):85. <https://doi.org/10.1186/s12934-023-02105-2>
- Nautiyal CS. 1999. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiology Letters.* 170(1):265-270. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1999.tb13383.x>

- Noh H-J, Park Y, Hong SG, Lee YM. 2021. Diversity & physiological characteristics of antarctic lichens-associated bacteria. *Microorganisms* 9(3):607. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9030607>
- Ortiz M, Bosch J, Coclet C, Johnson J, Lebre P, Salawu-Rotimi A, Vikram S, Makhallanyane T, Cowan D. 2020. Microbial Nitrogen Cycling in Antarctic Soils. *Microorganisms*. 8(9):1442. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8091442>
- Pandey A, Singh S, Kumar A, Malviya MK, Rinu K. 2009. Isolation of an endophytic plant growth promoting bacterium *Pseudomonas* sp. strain gb3 (MTCC 9476) from *Ginkgo biloba* L., growing in temperate himalaya. *National Academy Science Letters*. 32(3/4):83-88.
- Pandey A, Yarzabal LA. 2019. Bioprospecting cold-adapted plant growth promoting microorganisms from mountain environments. *Appl Microbiol Biotechnol*. 103(2):643-657. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9515-2>
- Rawat P, Das S, Shankhdhar D, Shankhdhar SC. 2021. Phosphate-solubilizing microorganisms: mechanism & their role in phosphate solubilization & uptake. *J Soil Sci Plant Nutr*. 21(1):49-68. <https://doi.org/10.1007/s42729-020-00342-7>
- Rizvi A, Ahmed B, Khan MS, Umar S, Lee J. 2021. Psychrophilic Bacterial Phosphate-Biofertilizers: A Novel Extremophile for Sustainable Crop Production under Cold Environment. *Microorganisms*. 9(12):2451. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9122451>
- Rondón JJ, Ball MM, Castro LT, Yarzabal LA. 2019. Eurypsychrophilic *Pseudomonas* spp. isolated from Venezuelan tropical glaciers as promoters of wheat growth & biocontrol agents of plant pathogens at low temperatures. *Environmental Sustainability*. 2(3):265-275. <https://doi.org/10.1007/s42398-019-00072-2>
- Santa-Cruz YM, Gomes MB, e Silva TR, Duarte AWF, Rosa LH, de Oliveira VM. 2021. Cold-adapted chitinases from Antarctic bacteria: Taxonomic assessment & enzyme production optimization. *Biocatalysis & Agricultural Biotechnology*. 34:102029. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102029>
- Schwyn B, Neilands JB. 1987. Universal chemical assay for the detection & determination of siderophores. *Analytical Biochemistry*. 160(1):47-56. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(87\)90612-9](https://doi.org/10.1016/0003-2697(87)90612-9)
- Sharma S, Kulkarni J, Jha B. 2016. Halotolerant Rhizobacteria Promote Growth & Enhance Salinity Tolerance in Peanut. *Frontiers in Microbiology* 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01600>
- Styczynski M, Bieganski G, Decewicz P, Rewerski B, Debiec-Andrzejewska K, Dziewit L. 2022. Application of psychrotolerant Antarctic bacteria & their metabolites as efficient plant growth promoting agents. *Frontiers in Bioengineering & Biotechnology*. 10. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.772891>
- Sun X, Griffith M, Pasternak J, Glick BR. 1995. Low temperature growth, freezing survival, & production of antifreeze protein by the plant growth promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2. *Canadian Journal of Microbiology* 41(9):776-784. <https://doi.org/10.1139/m95-107>
- Tapia-Vázquez I, Sánchez-Cruz R, Arroyo-Domínguez M, Lira-Ruan V, Sánchez-Reyes A, del Rayo Sánchez-Carbente M, Padilla-Chacón D, Batista-García RA, Folch-Mallol JL. 2020. Isolation & characterization of psychrophilic & psychrotolerant plant-growth promoting microorganisms from a high-altitude volcano crater in Mexico. *Microbiological Research*. 232:126394. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.126394>
- Tian J, Ge F, Zhang D, Deng S, Liu X. 2021. Roles of phosphate solubilizing microorganisms from managing soil phosphorus deficiency to mediating biogeochemical P cycle. *Biology (Basel)*. 10(2):158. <https://doi.org/10.3390/biology10020158>
- Trivedi P, Sa T. 2008. *Pseudomonas corrugata* (NRRL B-30409) Mutants Increased Phosphate Solubilization, Organic Acid Production, & Plant Growth at Lower Temperatures. *Current Microbiology* 56(2):140-144. <https://doi.org/10.1007/s00284-007-9058-8>
- Ulloa-Muñoz R, Olivera-Gonzales P, Castañeda-Barreto A, Villena GK, Tamariz-Angeles C. 2020. Diversity of endophytic plant-growth microorganisms from *Gentiana weberbaueri* & *Valeriana pycnantha*, highland Peruvian medicinal plants. *Microbiological Research*. 233:126413. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126413>
- Varrella S, Barone G, Tangherlini M, Rastelli E, Dell'Anno A, Corinaldesi C. 2021. Diversity, ecological role & biotechnological potential of Antarctic marine fungi. *Journal of Fungi*. 7(5):391. <https://doi.org/10.3390/jof7050391>
- Vega-Celedón P, Bravo G, Velásquez A, Cid FP, Valenzuela M, Ramírez I, Vasconez I-N, Álvarez I, Jorquera MA, Seeger M. 2021. Microbial Diversity of Psychrotolerant Bacteria Isolated from Wild Flora of Andes Mountains & Patagonia of Chile towards the Selection of Plant Growth-Promoting Bacterial Consortia to Alleviate Cold Stress in Plants. *Microorganisms*. 9(3):538. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9030538>
- Vera-Morales M, López Medina SE, Naranjo-Morán J, Quevedo A, Ratti MF. 2023. Nematophagous fungi: a review of their phosphorus solubilization potential. *Microorganisms*. 11(1):137. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11010137>
- Verma P, Yadav AN, Khannam KS, Panjiar N, Kumar S, Saxena AK, Suman A. 2015. Assessment of genetic diversity & plant growth promoting attributes of psychrotolerant bacteria allied with wheat (*Triticum aestivum*) from the northern hills zone of India. *Annals of Microbiology* 65(4):1885-1899. <https://doi.org/10.1007/s13213-014-1027-4>
- Vyas P, Gulati A. 2009. Organic acid production in vitro & plant growth promotion in maize under controlled environment by phosphate-solubilizing fluorescent *Pseudomonas*. *BMC Microbiol*. 9:174. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-9-174>
- Yadav AN, Sachan SG, Verma P, Saxena AK. 2015. Prospecting cold deserts of north western Himalayas for microbial diversity & plant growth promoting attributes. *Journal of Bioscience & Bioengineering*. 119(6):683-693. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2014.11.006>
- Yadav AN, Sachan SG, Verma P, Saxena AK. 2016. Bioprospecting of plant growth promoting psychrotrophic Bacilli from the cold desert of north western Indian Himalayas. *Indian Journal of Experimental Biology*. 54:142-150.
- Yadav AN, Yadav N, Sachan SG, Saxena AK. 2019. Biodiversity of psychrotrophic microbes & their biotechnological applications. *J App Biol Biotech*. 7(4):99-108. doi:10.7324/JABB.2019.70415. <https://doi.org/10.7324/JABB.2019.70415>

- Yarzabal LA. 2014. Cold-tolerant phosphate-solubilizing microorganisms & agriculture development in mountainous regions of the world. In: Khan MS, Zaidi A, Musarrat J, editors. *Phosphate Solubilizing Microorganisms: Principles & Application of Microphos Technology*. Cham: Springer International Publishing. p. 113-135. [accessed 2023 Jul 26]. https://doi.org/10.1007/978-3-319-08216-5_5
- Yarzabal LA, Monserrate L, Buela L, Chica E. 2018. Antarctic *Pseudomonas* spp. promote wheat germination & growth at low temperatures. *Polar Biol.* 41(11):2343-2354. <https://doi.org/10.1007/s00300-018-2374-6>
- Yarzabal LA. 2020. Perspectives for using glacial & periglacial microorganisms for plant growth promotion at low temperatures. *Appl Microbiol Biotechnol.* 104(8):3267-3278. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10468-4>

Agradecimientos / Acknowledgments:

Al Dr. Pablo Araujo-Granda y a la Dra. Andrea Bonilla-Garzón por su colaboración en la recolección de muestras en el continente antártico. Al capitán y la tripulación del Betanzos por el transporte al continente blanco. A los ingenieros Ashley Baque, Melany Vargas y Jeison Valenzuela por su colaboración durante los ensayos in vitro. Los autores agradecen el patrocinio brindado por el Instituto Oceanográfico y Antártico de la Armada del Ecuador (INOCAR) por la logística durante la recolección de muestras en el continente antártico.

Conflicto de intereses / Competing interests:

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Rol de los autores / Authors Roles:

MV-M: Conceptualización; Investigación; Validación; Escritura-Preparación del borrador original; Redacción-revisión-edición

EL-M: Conceptualización; Investigación; Recursos; Metodología.

AA-C: Investigación; Metodología; Visualización.

MFR: Investigación; Adquisición de fondos; Administración de proyecto.

Fuentes de financiamiento / Funding:

Esta investigación no recibió ninguna subvención específica de ninguna agencia de financiación, sector comercial o sin fines de lucro.

Aspectos éticos / legales; Ethics / legals:

Los autores declaran no haber violado u omitido normas éticas o legales al realizar la investigación y esta obra.