



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Ciencias Biológicas

Escuela Profesional de Microbiología y Parasitología

**Evaluación de levaduras nativas ambientales como  
productoras de metabolitos promotores de crecimiento  
vegetal**

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN**

Para optar el Grado Académico de Bachiller en Microbiología y  
Parasitología

**AUTOR**

Jean-Paul José-Leopoldo NÚÑEZ MEJÍA

**ASESOR**

Dr. Tito Libio SÁNCHEZ ROJAS

Lima, Perú

2022



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

## Referencia bibliográfica

---

Núñez, J. (2022). *Evaluación de levaduras nativas ambientales como productoras de metabolitos promotores de crecimiento vegetal*. [Trabajo de investigación de bachiller, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Ciencias Biológicas, Escuela Profesional de Microbiología y Parasitología]. Repositorio institucional Cybertesis UNMSM.

---

## Metadatos complementarios

<b>Datos de autor</b>	
Nombres y apellidos	Jean-Paul José-Leopoldo Núñez Mejía
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	72186011
URL de ORCID	<a href="https://orcid.org/0000-0001-6402-240X">https://orcid.org/0000-0001-6402-240X</a>
<b>Datos de asesor</b>	
Nombres y apellidos	Tito Libio Sánchez Rojas
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	08550935
URL de ORCID	<a href="https://orcid.org/0000-0003-3853-2128">https://orcid.org/0000-0003-3853-2128</a>
<b>Datos del jurado</b>	
<b>Presidente del jurado</b>	
Nombres y apellidos	Pedro Luis Castellanos Sánchez
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	09649588
<b>Miembro del jurado 1</b>	
Nombres y apellidos	Mario Alcarraz Curi.
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	31159746
<b>Miembro del jurado 2</b>	
Nombres y apellidos	Jorge León Quispe
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	06451156
<b>Datos de investigación</b>	

Línea de investigación	A.1.2.2. Principios Bioactivos
Grupo de investigación	Investigación y Desarrollo de Procesos Biotecnológicos Agroindustriales y Ambientales
Agencia de financiamiento	Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Vicerrectorado de Investigación y Posgrado. Programa de Promoción de Trabajo de Investigación para obtener el grado académico de Bachiller. Código: B20100450a
Ubicación geográfica de la investigación	Edificio: Laboratorio de Microbiología Ambiental y Biotecnología (223) – Facultad de Ciencias Biológicas – Universidad Nacional Mayor de San Marcos País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: Cercado de Lima Latitud: -12.059689388919 Longitud: -77.08211374385
Año o rango de años en que se realizó la investigación	Octubre 2020 – Diciembre 2021
URL de disciplinas OCDE	Biología celular, Microbiología <a href="https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.06.01">https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.06.01</a>  Biotecnología agrícola, Biotecnología alimentaria <a href="https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#4.04.01">https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#4.04.01</a>



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**  
(Universidad del Perú, Decana de América)

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**ACTA DE SESIÓN PARA OPTAR AL GRADO ACADÉMICO DE  
BACHILLER EN MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA  
(MODALIDAD: SUSTENTACIÓN VIRTUAL DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN)**

Siendo las 16:33 horas del 18 de mayo de 2022, en el Salón de Grados Virtual de la Facultad de Ciencias Biológicas cuya dirección electrónica fue <https://meet.google.com/gxq-kjux-tka> y en presencia del Jurado formado por los profesores que suscriben, se inició la sesión para optar al **Grado Académico de Bachiller en Microbiología y Parasitología (Modalidad: Trabajo de Investigación)** de **JEAN-PAUL JOSE-LEOPOLDO NÚÑEZ MEJIA**.

Luego de dar lectura y conformidad al expediente N° UNMSM-20220020390, el graduando expuso su Trabajo de Investigación: **“EVALUACIÓN DE LEVADURAS NATIVAS AMBIENTALES COMO PRODUCTORAS DE METABOLITOS PROMOTORES DE CRECIMIENTO VEGETAL”**, y el Jurado efectuó las preguntas del caso calificando la exposición con la nota 18, calificativo: Aprobado con mención honrosa.

Finalmente, el expediente será enviado a la Escuela Profesional de Microbiología y Parasitología y al Consejo de Facultad para que se apruebe otorgar el **Grado Académico de Bachiller en Microbiología y Parasitología (Modalidad: Trabajo de Investigación)** a **JEAN-PAUL JOSE-LEOPOLDO NÚÑEZ MEJIA** y se eleve lo actuado al Rectorado para conferir el respectivo grado, conforme a ley.

Siendo las 17:28 horas se levantó la sesión.

Ciudad Universitaria, 18 de mayo de 2022.



Firmado digitalmente por  
CASTELLANOS SANCHEZ Pedro  
Luis FAU 20148092282 soft  
Motivo: Soy el autor del documento  
Fecha: 18.05.2022 18:07:43 -05:00

---

**Ph.D. PEDRO CASTELLANOS SANCHEZ**  
(PRESIDENTE)

---

**Dr. TITO SANCHEZ ROJAS**  
(ASESOR)

---

**Mg. JORGE LEÓN QUISPE**  
(MIEMBRO)

---

**Mg. MARIO ALCARRAZ CURI**  
(MIEMBRO)

Dedico el presente trabajo de investigación a **José Félix Núñez Calderón** y a **Mariel Iris Mejía Colonia**, autores intelectuales de este y todos los trabajos de investigación que se presenten en mi vida.

## **AGRADECIMIENTO**

A mi profesor y asesor, Dr. Tito Libio Sánchez Rojas, por su confianza y su paciencia depositadas en mí durante el desarrollo de este trabajo.

A mi hermana, Katherine Suzaninha Mariel Núñez Mejía, por su compañía, cariño y apoyo durante mi proceso universitario.

Un especial agradecimiento a mis siguientes compañeros: Ana Paula Palacios Rodríguez, Diego Macedo Prada, Diana Alonso Ochoa y Lucía Ramos Neyra. Todos ellos me acompañaron en diferentes etapas de mi carrera universitaria, pero contribuyeron de manera sustancial en mi formación investigadora y personal. Mi gratitud por siempre para ellos y el deseo de que les vaya bien en sus aspectos académicos y personales.

Por último, agradezco al Vicerrectorado de Investigación y Posgrado (VRIP) de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, por su apoyo en el desarrollo de mi trabajo de investigación como parte del programa Trabajo de Investigación con código B20100450a.

# ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	7
<b>1.1 Objetivos</b> .....	8
1.1.1 Objetivo general.....	8
1.1.2 Objetivos específicos.....	8
<b>1.2 Hipótesis</b> .....	9
1.2.1 Hipótesis.....	9
1.2.2 Variables.....	9
<b>2. ESTADO DE CONOCIMIENTO</b> .....	10
<b>3. MÉTODO</b> .....	12
<b>3.1 Material biológico</b> .....	12
<b>3.2 Metodología</b> .....	12
3.2.1 Reactivación de las levaduras nativas de Perú.....	12
3.2.2 Evaluación de la capacidad de producción de amoníaco.....	12
3.2.3 Determinación de la capacidad de solubilización de fosfatos.....	12
3.2.4 Determinación de la capacidad de solubilización de zinc.....	13
<b>3.3 Análisis estadístico</b> .....	13
<b>4. RESULTADOS</b> .....	14
<b>4.1 Reactivación de las levaduras nativas de Perú</b> .....	14
<b>4.2 Evaluación de la capacidad de producción de amoníaco</b> .....	17
<b>4.3 Determinación de la capacidad de solubilización de fosfatos</b> .....	17
4.3.1 Solubilización de fosfato dicálcico (FDC).....	18
4.3.2 Solubilización de fosfato tricálcico (FTC).....	20
<b>4.4 Determinación de la capacidad de solubilización de zinc</b> .....	21
<b>5. DISCUSIÓN</b> .....	23
<b>6. CONCLUSION</b> .....	27
<b>7. RECOMENDACIONES</b> .....	28
<b>8. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	29
<b>9. ANEXOS</b> .....	33

## RESUMEN

El uso excesivo de fertilizantes químicos para incrementar la productividad agrícola ha causado daño en el ecosistema y ha conllevado a la pérdida de este recurso renovable en algunos suelos. Los microorganismos que habitan en el suelo parecen ser una solución prometedora mediante la producción de metabolitos que ayudan directa o indirectamente al crecimiento de las plantas y a la estabilidad del suelo agrícola. En el presente trabajo se evaluó la capacidad promotora de crecimiento vegetal de veinte cepas de levaduras ambientales provenientes de distintas partes del Perú. Se evaluaron la producción de amoníaco, capacidad solubilizadora de fosfato dicálcico, fosfato tricálcico, y óxido de zinc. Las veinte cepas de levaduras fueron capaces de producir amoníaco y solo las cepas 2LJJ6, 2RHP4 y 1.1 tuvieron la capacidad de solubilizar óxido de zinc. Dieciocho cepas fueron capaces de solubilizar fosfato dicálcico destacándose las cepas 1LYP2 e IM con un IS de 2.19, mientras que solo nueve cepas solubilizaron fosfato tricálcico sobresaliendo la cepa 2RHP4 con un IS de 1.14. Los resultados de las actividades evaluadas, nos permiten concluir que las levaduras producen metabolitos promotores de crecimiento vegetal y puedan ser utilizadas en el futuro, como fertilizantes biológicos en la agricultura orgánica y regenerativa.

*Palabras claves:* levaduras, promotores de crecimiento vegetal, amoníaco, óxido de zinc, fosfato dicálcico

## ABSTRACT

The excessive use of chemical fertilizers to increase agricultural productivity has caused damage to the ecosystem and has led to the loss of this renewable resource in some soils. Soil-dwelling microorganisms appear to be a promising solution through the production of metabolites that directly or indirectly aid plant growth and agricultural soil stability. In the present work, the plant growth promoting capacity of twenty strains of environmental yeasts from different parts of Peru was evaluated. The production of ammonia and the solubilizing capacity of tricalcium phosphate, dicalcium phosphate and zinc oxide were evaluated. All twenty yeast strains were capable of producing ammonia and only strains 2LJJ6, 2RHP4 and 1.1 had the ability to solubilize zinc oxide. Eighteen strains were able to solubilize dicalcium phosphate, with the 1LYP2 and IM strains standing out with an IS of 2.19, while only nine strains solubilizing tricalcium phosphate, with the 2RHP4 strain standing out with an IS of 1.14. The results of the evaluated activities allow us to conclude that yeasts produce plant growth promoting metabolites and can be used in the future as biological fertilizers in organic and regenerative agriculture.

*Keywords:* yeast, plant growth promoters, ammonia, zinc oxide, dicalcium phosphate

## 1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, el requerimiento de alimentos nutritivos es el principal desafío para los países; y los problemas como la tasa acelerada del crecimiento de la población y escases de alimentos, el aumento de la urbanización e industrialización conlleva a la pérdida de tierras dedicadas a la agricultura (Mishra, Singh y Arora 2017). Según Vinceti *et al.* (2013), 1.5 billones de hectáreas, que viene a ser el 12% del área de las tierras del planeta, son utilizadas para desarrollar actividades agrícolas; mientras el 38% de estas áreas de tierra han sido degradadas por las inadecuadas prácticas de manejo de suelos agrícolas, principalmente por el uso de pesticidas y fertilizantes químicos. Además, las pérdidas de las cosechas a nivel global son causadas por fitopatógenos (hongos, bacterias, artrópodos), también por malezas y, a factores ambientales adversos. Según Fletcher *et al.* (2006) los diferentes problemas que enfrentan las plantas ocasionan un 42% de pérdida pre-cosecha y un 10% adicional post-cosecha. Simultáneamente, la producción agrícola ha venido en aumento en las últimas décadas, dependiendo mucho más de los agroquímicos, como un método confiable (Compant *et al.* 2005), y esto ha generado una fuerte demanda de fertilizantes sintéticos que generan problemas ambientales como la eutrofización de aguas (Yang *et al.* 2008). Aunque el objetivo principal fue aumentar la productividad, sin hacer daño al agro ecosistema; las actuales medidas que se han tomado no han sido suficientes, dejando impactos negativos en suelos agrícolas (Mishra, Singh y Arora 2017). El uso excesivo de fertilizantes químicos, los cultivos profundos e intensivos con irrigaciones superficiales, y pesticidas químicos, son ejemplos de malos manejos de prácticas agrícolas, que llevan al deterioro y desbalance de las propiedades fisicoquímicas del suelo, generando deterioro y pérdida de su biodiversidad (Diacono *et al.* 2012; Aktar, Sengupta y Chowdhury 2009; Hole *et al.* 2005). A nivel global, los investigadores están tratando de encontrar nuevas alternativas que permitan mejorar las prácticas agrícolas y, por ende, contribuir al medio ambiente. McNear (2013) ha probado que la biología de la rizosfera puede ser aprovechada según las interacciones entre la microbiota y las raíces de las plantas para mejorar la productividad y la sostenibilidad de los suelos agrícolas; los microorganismos promotores de crecimiento de plantas (Plant Growth-Promoting Microorganisms:

PGPM, *por sus siglas en inglés*) pueden ser empleados como biofertilizantes y como agentes de control biológico (Maheshwari *et al.* 2012; Mishra *et al.* 2015). Los roles multifuncionales de las actividades, más su capacidad como PGPM, han mostrado excelentes resultados en la biorremediación de diferentes contaminantes generados por las actividades humanas. Los PGPM tienen diversas actividades como la solubilización de compuestos inorgánicos (fosforo, potasio), degradación y mineralización de compuestos orgánicos, producción de fitohormonas, quelantes de metales y síntesis de sustancias antagonistas como antibióticos, que contribuyen de manera directa o indirecta en el crecimiento y mejora de la planta (Kapulnik y Okon 2002); además, de proporcionar una relación benéfica entre la diversidad microbiana, el suelo y la planta, involucrándose positivamente en la sostenibilidad, regeneración y equilibrio en los ecosistemas del suelo (Mishra, Singh y Arora 2017). Los impactos positivos que han generado los microorganismos durante los últimos años son diversos y el rol de los PGPM son importantes en la agricultura. Estos PGPM involucran bacterias, mohos y levaduras. Existen pocas referencias de levaduras empleadas en los cultivos agrícolas; estos microorganismos tienen un potencial en la agricultura orgánica contribuyendo y mejorando en la producción y sostenibilidad ambiental (Higa 2013) . Por lo cual, es importante estudiarlas con la finalidad de conocer el rol que cumplen en las plantas como promotoras de crecimiento vegetal; las levaduras aisladas de diversas zonas del Perú poseen características beneficiosas en la agricultura sostenible y regenerativa.

## **1.1 Objetivos**

### **1.1.1 Objetivo general**

Evaluar la producción de metabolitos promotores de crecimiento vegetal en cepas de levaduras nativas, aisladas de diversas zonas del Perú.

### **1.1.2 Objetivos específicos**

- Reactivar y seleccionar levaduras nativas de diversas zonas de Perú.
- Determinar la capacidad de solubilización de zinc en las levaduras nativas.

- Determinar la capacidad de solubilización de fosfatos en las levaduras nativas.
- Evaluar la capacidad de producción de amoníaco en las levaduras nativas.

## **1.2 Hipótesis**

### **1.2.1 Hipótesis**

**Ha:** Las cepas de levaduras ambientales nativas de Perú, producen metabolitos promotores de crecimiento en vegetales.

**Ho:** Las cepas de levaduras ambientales nativas de Perú, no producen metabolitos promotores de crecimiento en vegetales.

### **1.2.2 Variables**

**Independientes:** cepas de levaduras ambientales nativas de Perú.

**Dependientes:** producción de metabolitos promotores de crecimiento vegetal, producción de amoníaco, solubilización de fosfatos y zinc.

## 2. ESTADO DE CONOCIMIENTO

Los hongos son organismos que forman parte de la biomasa microbiana y biodiversidad del suelo, su morfología puede variar desde formas macroscópicas a filamentosas, e incluso a formas unicelulares (Ekelund, Rønn y Christensen 2001; Domsch, Gams y Anderson 1980). Las formas unicelulares de los hongos reciben el nombre de levaduras y su reproducción es de tipo asexual: por gemación o fisión binaria; además de pertenecer a un grupo polifilético, las levaduras son ubicuas y se pueden encontrar en varias localizaciones geográficas y bajo condiciones climáticas diversas (Carmo Sousa 1969). La amplia variedad de levaduras en la rizósfera de plantas ha sido reportado por Spencer *et al.* (1997) que logró aislar diferentes géneros de levaduras del suelo que incluyen a *Candida*, *Cryptococcus*, *Debaryomyces*, *Hansenula*, *Pichia*, *Aureobasidium*, *Torulaspota*, entre otros.

El grupo microbiano más ampliamente estudiado del suelo son las PGPR que pueden favorecer el crecimiento de la planta de forma directa o indirecta, mediante la producción de metabolitos como sideróforos y antibióticos (Buysens *et al.* 1996; Folman *et al.* 2004) con efectos indirectos que promueven el crecimiento de la planta disminuyendo las actividades de los microorganismos fitopatógenos o también mediante efectos directos como son la fijación de nitrógeno, producción de fitohormonas (auxinas, giberelinas y citoquininas) y solubilización de minerales (Cocking 2003; Bottini, Cassán y Piccoli 2004). Una vasta diversidad de PGPR existen en el suelo: *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Azotobacter*, *Klebsiella*, *Alcaligenes*, *Burkholderia*, entre otros; todos ellos han sido reportados por sus características beneficiosas en el crecimiento de vegetales (Beneduzi, Ambrosini y Passaglia 2012; Ahemad y Kibret 2014). Por ejemplo: *Pseudomonas*, *Bacillus* y *Rhizobium* son microorganismos capaces de solubilizar fosfatos (Rodríguez y Fraga 1999); diferentes miembros del género *Bacillus* se emplean en la producción de pesticidas, fungicidas y fertilizantes (Sivasakthi, Usharani y Saranraj 2014); así, mismo, el género *Pseudomonas*, son conocidos por su actividades, como promotoras de crecimiento vegetal (Tewari y Arora 2015). Otros microorganismos que también se encuentran en el suelo son los actinomicetos productores de fitohormonas (Solans *et al.* 2011), también producen enzimas

degradadoras de la pared fúngica (Anitha y Rabeeth 2010) y producción de antibióticos (de Lima Procópio *et al.* 2012), estas actividades de los actinomicetos, promueven y benefician el crecimiento de las plantas.

Las levaduras también han demostrado ser buenos promotores de crecimiento vegetal como en un estudio realizado por Fu *et al.* (2016), donde se logró aislar diferentes especies de levaduras de la filósfera y rizósfera de la planta *Drosera spatulata*, mostraron tener características como promotoras de crecimiento vegetal; las cepas fueron capaces de producir ácido indol acético, sideróforos, amoniaco, ACC desaminasa, enzimas líticas de la pared celular de hongos y poliaminas, además de solubilizar fosfatos y zinc. En otros estudios, Nutaratat *et al.* (2014) logró aislar una cepa *Torulospora globosa* DMKURP31 que fue capaz de solubilizar zinc; Gori *et al.* (2007) reportó a *Debaryomyces hansenii* y otras levaduras asociadas a la producción de queso como productora de amoniaco; Amprayn *et al.* (2012) demostró que *Candida tropicalis* pudo solubilizar fosfato tricálcico, producir ácido indolacético, ACC desaminasa, fitasas y poliaminas.

Por lo mencionado anteriormente, las levaduras parecen cumplir un rol vital en la rizosfera e influir directa o indirectamente en el crecimiento de las plantas. Por lo cual, es importante estudiar y conocer sus características como promotoras de crecimiento vegetal, y su rol en la agricultura sostenible y regenerativa.

### **3. MÉTODO**

#### **3.1 Material biológico**

Se emplearon dos grupos de levaduras: 15 cepas de levaduras nativas de lagunas contaminadas de relaves mineros altoandinos de Junín y Pasco y 5 cepas de suelos de cultivo de cacao (*Theobroma cacao*) de la provincia de Satipo, Junín. Ambos grupos pertenecen al cepario del Laboratorio de Microbiología Ambiental y Biotecnología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

#### **3.2 Metodología**

##### **3.2.1 Reactivación de las levaduras nativas de Perú**

Las 20 cepas de levaduras se reactivaron en 20 tubos de 16x150 mm con 5 mL de caldo Yeast Peptone Glucose (YPG, *por sus siglas en inglés*) en cada tubo, durante 72 horas a una temperatura de 28 °C y en agitación a 100 rpm. Luego, se realizó la tinción Gram para verificar la pureza de las cepas.

##### **3.2.2 Evaluación de la capacidad de producción de amoníaco**

Se tomó 1 mL del cultivo en caldo YPG de las cepas de levaduras y se ajustó a una DO de 0.10 a 600 nm. 100 uL de cada cepa de levadura fueron transferidos a tubos de 16x150 mm con 5 mL de agua peptonada, incubados en agitación 100 rpm, temperatura de 28°C, durante 5 días. La producción de amoníaco fue detectada usando el reactivo de Nessler. El desarrollo de un color amarillo a marrón fue indicativo de un resultado positivo para la producción de amoníaco (Cappuccino y Welsh 2017).

##### **3.2.3 Determinación de la capacidad de solubilización de fosfatos**

Los cultivos de levaduras de 24 horas creciendo en caldo YPG se ajustaron a una DO de 0.10 a 600 nm. 10 uL fueron inoculados a placas con 2 tipos de agar Pikovskaya: uno contenía fosfato dicálcico y el otro, fosfato tricálcico. Las placas fueron incubadas a 28 °C durante 7 días. La solubilización de fosfatos se observó como una zona clara alrededor de la colonia. La capacidad de solubilización de fosfato se analizó determinando el índice de solubilización (IS) de cada cepa, esta se midió según la siguiente fórmula (Kumar y Narula 1999):

$$IS = \frac{\text{Diámetro (colonia+zona de halo)}}{\text{Diámetro de la colonia}}$$

### 3.2.4 Determinación de la capacidad de solubilización de zinc

Se tomaron los cultivos de levaduras en caldo YPG y se inocularon en placas de agar ZO según la metodología de Farokh *et al.* (2011) con algunas modificaciones. Las placas fueron incubadas a 28°C durante 7 días y la observación de una zona clara alrededor de las colonias fue indicativo de la solubilización de zinc. El índice de solubilización (IS) de cada cepa se midió según la siguiente fórmula (Kumar y Narula 1999):

$$IS = \frac{\text{Diámetro (colonia+zona de halo)}}{\text{Diámetro de la colonia}}$$

### 3.3 Análisis estadístico

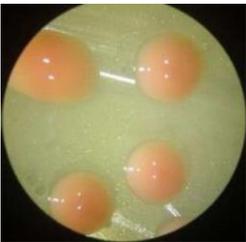
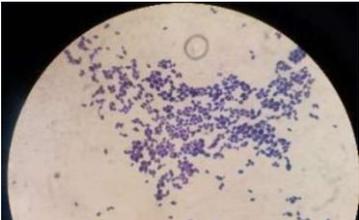
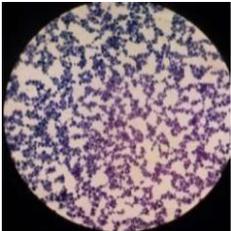
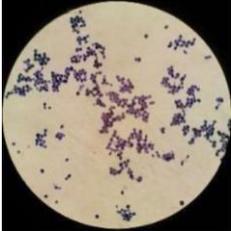
Las pruebas se realizaron por triplicado y el análisis estadístico se realizó en el programa GraphPad prism versión 7 para hallar el promedio y la desviación estándar (SD).

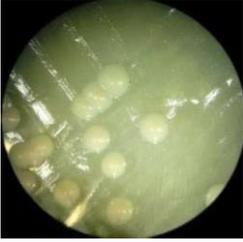
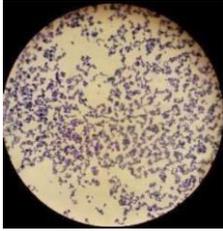
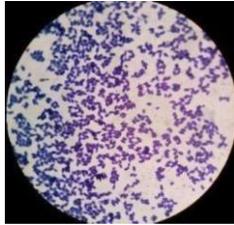
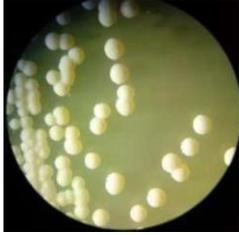
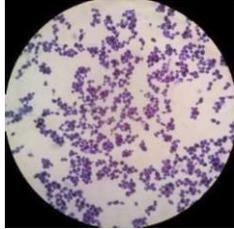
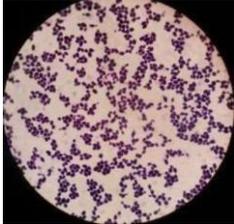
## 4. RESULTADOS

### 4.1 Reactivación de las levaduras nativas de Perú

Se reactivaron 20 cepas de levaduras: 15 cepas procedentes de lagunas altoandinas contaminadas con relaves mineros y 5 cepas procedentes de tierra de cultivo de cacao de la provincia Satipo, Junín. Según la tinción Gram, todas las cepas estaban puras, forma ovalada con un tamaño variable, entre células pequeñas y grandes. En la tabla 1 se pueden observar algunas cepas de levaduras empleadas en el presente estudio tanto en su morfología macroscópica como microscópica.

**Tabla 1.** Características morfológicas de algunas cepas de levaduras empleadas en el presente estudio.

Especie	Cepa	Morfología de las colonias	Coloración Gram
<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	3RSJJ1		
<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	2LHJ2		
<i>Yarrowia lipolytica</i>	IM		

<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	2RHP5		
<i>Cystobasidium sp</i>	1LYP2		
<i>Yarrowia lipolytica</i>	AMJ3		
<i>Yarrowia lipolytica</i>	2LJJ6		

Según la morfología de las colonias de levadura empleadas en el presente estudio, la pigmentación varió entre crema y rosácea como se observa en la cepa IM y 3RSJJ1, respectivamente; siendo la primera con borde ondulado y superficie rugosa y la segunda con borde entero y superficie lisa. Además, la mayoría de las cepas de levaduras presentaron aspecto seco y solo algunas mostraron un aspecto húmedo. En la tabla 2 se describen con mayor detalle, las características macroscópicas de las levaduras empleadas en el presente estudio.

**Tabla 2.** Características macroscópicas de los cultivos de levaduras, en agar YPG empleadas en el presente estudio.

CEPA	PIGMENTACIÓN	ELEVACIÓN	BORDE	FORMA	SUPERFICIE	ASPECTO	LUZ REFLEJADA	LUZ TRANSMITIDA	CONSISTENCIA
2LHJ2	Blanca	Elevada	Entero	Circular	Lisa	Húmeda	Brillante	Opaca	Blanda
2LJJ6	Crema	Elevada	Ondulado	Irregular	Rugosa	Seca	Mate	Opaca	Blanda
2RHP5	Crema	Elevada	Ondulado	Irregular	Rugosa	Seca	Mate	Opaca	Blanda
E5	Blanca	Elevada	Ondulado	Irregular	Rugosa	Seca	Mate	Opaca	Blanda
IM	Crema	Elevada	Ondulado	Irregular	Rugosa	Seca	Mate	Opaca	Blanda
9JSAL1	Blanca	Elevada	Ondulado	Irregular	Rugosa	Seco	Brillante	Opaca	Blanda
3RSJJ1	Blanca	Elevada	Ondulado	Irregular	Rugosa	Seco	Brillante	Opaca	Blanda
2LCL4	Rosa	Elevada	Entero	Circular	Lisa	Húmedo	Brillante	Opaca	Mucosa
2LCL3	Rosa	Elevada	Entero	Circular	Lisa	Húmedo	Brillante	Opaca	Mucosa
1LYP2	Rosa	Elevada	Entero	Circular	Lisa	Húmedo	Brillante	Opaca	Mucosa
SC	Blanca	Elevada	Ondulado	Irregular	Rugosa	Seca	Mate	Opaca	Blanda
2RHP4	Crema	Elevada	Ondulado	Irregular	Rugosa	Seca	Mate	Opaca	Blanda
AMJ3	Crema	Elevada	Ondulado	Irregular	Rugosa	Seca	Mate	Opaca	Blanda
TLJ8	Blanca	Elevada	Entero	Irregular	Rugosa	Seca	Mate	Opaca	Blanda
TLJ7	Crema	Elevada	Entero	Circular	Lisa	Seca	Mate	Opaca	Blanda
TLJ9	Crema	Elevada	Entero	Circular	Lisa	Seca	Mate	Opaca	Blanda
TLJ4	Crema	Elevada	Entero	Circular	Lisa	Seca	Mate	Opaca	Blanda
TLJ11	Crema	Elevada	Entero	Circular	Lisa	Seca	Mate	Opaca	Blanda
2SNP2	Blanca	Elevada	Entero	Circular	Lisa	Húmeda	Brillante	Opaca	Blanda
1.1	Blanca	Elevada	Entero	Circular	Lisa	Húmeda	Brillante	Opaca	Blanda

## 4.2 Evaluación de la capacidad de producción de amoníaco

Todas las cepas de levaduras, evaluadas en el presente estudio, demostraron su capacidad de producir amoníaco. La producción fuerte o débil de amoníaco se evidencio, por el cambio de color del medio a marrón naranja, cuando se agregó el reactivo de Nessler (Figura 1). Las levaduras provenientes de lagunas altoandinas, produjeron amoníaco con mayor intensidad, estas fueron las cepas: 2RHP4, 2SNP2, 3RSJ11, E5, 2LCL4, AMJ3, 2LCL3, IM y 9JSAL1. Por el otro lado, de las 5 cepas de levaduras aisladas de tierra de cultivo de cacao, ninguna mostró una producción fuerte de amoníaco (tabla 3).



**Figura 1.** Visualización de la producción de amoníaco de las cepas de levaduras: pocillos 1A \_ 10A y 1C \_ 10C.  
Control negativo: pocillo 2E

**Tabla 3.** Resultados de la solubilización de sales de fosfato, zinc y producción de amoníaco de las cepas de levaduras empleadas en el presente estudio

Cepa	FDC (IS)*	FTC (IS)*	ZO (IS)*	Producción de amoníaco
1LYP2	2.19(±0.07)	1.03(±0.05)	ND	+
2LHJ2	1.45(±0.13)	1.10(±0.01)	NC	++
2LJJ6	2.04(±0.12)	1.13(±0.06)	2.93(±0.39)	+
IM	2.19(±0.13)	1.08(±0.07)	ND	++
2RHP4	1.75(±0.13)	1.14(±0.04)	1.33(±0.11)	++
3RSJ11	1.75(±0.06)	ND	NC	++
AMJ3	1.78(±0.19)	ND	ND	+
2SNP2	2.17(±0.19)	ND	ND	++
2LCL3	1.96(±0.07)	ND	NC	++
2LCL4	1.91(±0.09)	ND	ND	++
2RHP5	1.24(±0.06)	ND	NC	+
9JSAL1	1.76(±0.13)	1.05(±0.05)	ND	++
E5	1.87(±0.05)	1.14(±0.07)	ND	++
1.1	1.74(±0.10)	1.04(±0.04)	1.3(±0.20)	+
SC	1.72(±0.02)	ND	NC	+
TLJ4	ND	ND	NC	+
TLJ7	1.73(±0.15)	1.06(±0.06)	ND	+
TLJ8	ND	ND	NC	+
TLJ9	1.28(±0.05)	ND	NC	+
TLJ11	1.66(±0.15)	ND	NC	+

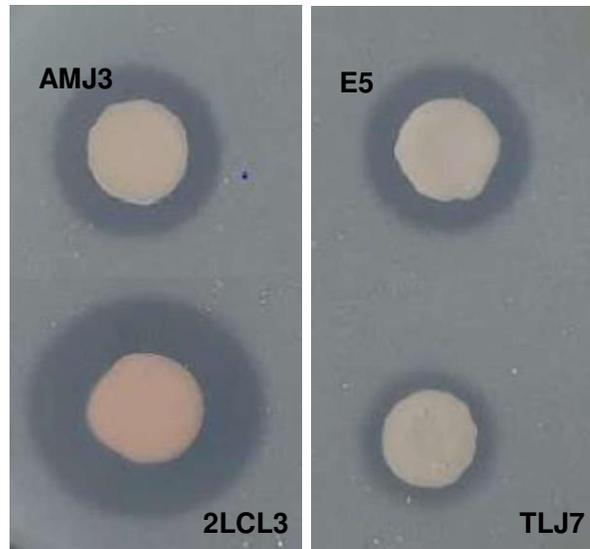
\* Datos son expresados como promedio ± DE. IS: Índice de Solubilización, ++: Resultado positivo fuerte, +: Resultado positivo débil, ND: No Detectado, NC: No Creció

### 4.3 Determinación de la capacidad de solubilización de fosfatos

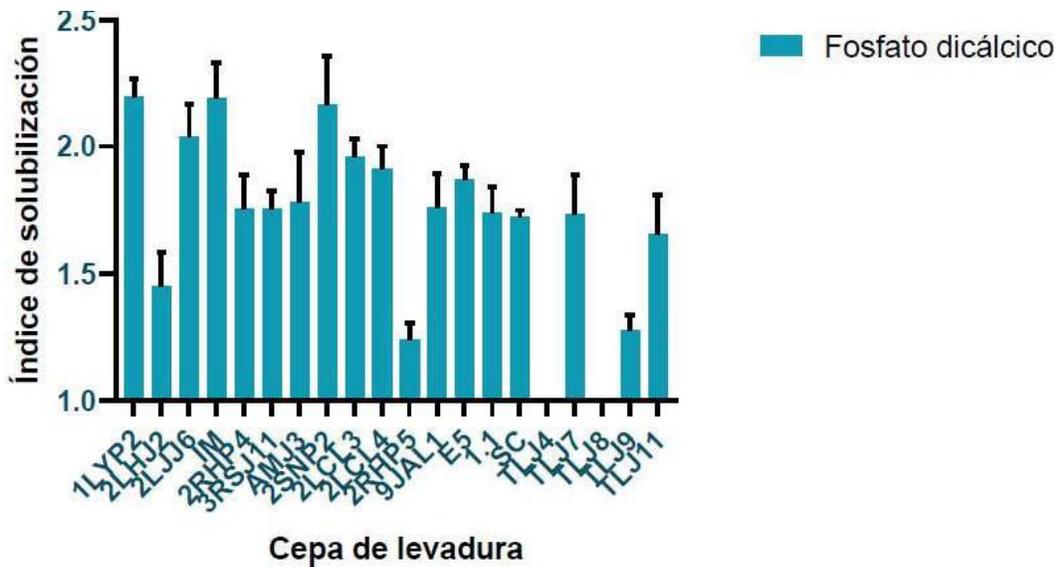
#### 4.3.1 Solubilización de fosfato dicálcico (FDC)

Todas las levaduras provenientes de lagunas contaminadas con relaves mineros mostraron la capacidad de solubilizar fosfato dicálcico. Los IS de este grupo de levaduras variaron desde el valor de 1.24 a 2.19 como se puede observar en la tabla 3. Por el otro lado, solo 3 cepas de las 5 cepas de levaduras aisladas de tierra de cultivo de cacao mostraron la capacidad de solubilizar fosfato dicálcico, variando los valores de IS desde 1.28 a 1.73 (Tabla 3).

En la Figura 2 se puede observar los halos de solubilización que tuvieron cuatro cepas de levaduras frente al FDC y en la Figura 3 se muestra el comportamiento de todas las cepas de levaduras frente al FDC. Por ejemplo, las cepas 2RHP5 y TLJ9 fueron las que menos solubilizaron FDC; mientras que las cepas IM y 1LYP2 obtuvieron los IS más altos en FDC. Por otro lado, las cepas TLJ4 y TLJ8, provenientes de suelo agrícola, no fueron capaces de solubilizar FDC hasta el séptimo día de incubación.



**Figura 2.** Halo de solubilización de las cepas de levaduras frente a fosfato dicálcico.



**Figura 3.** Índice de solubilidad del fosfato dicálcico de las cepas levaduriformes.

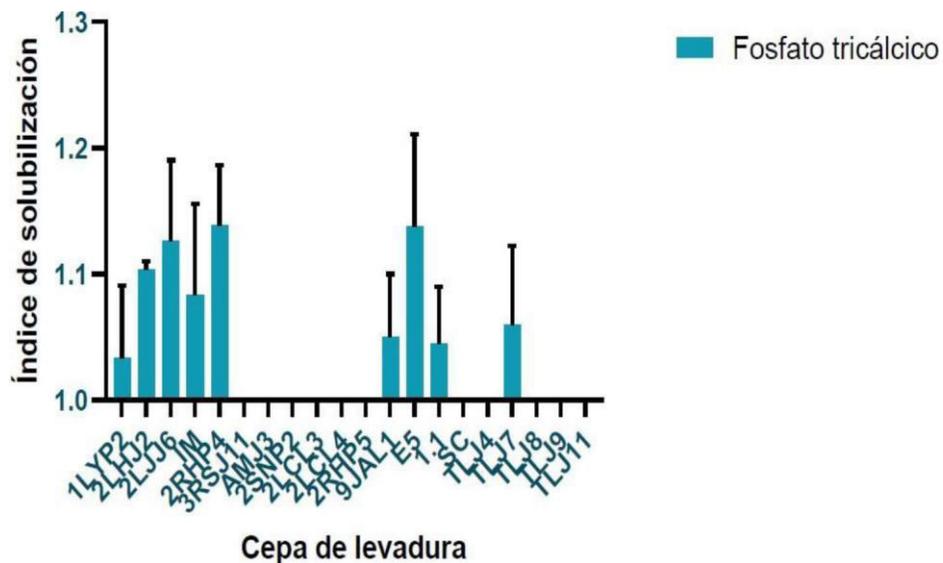
### 4.3.2 Solubilización de fosfato tricálcico (FTC)

La capacidad de solubilizar FTC por las levaduras empleadas en el presente estudio fue diferente al que mostraron frente a FDC (Tabla 3). Los IS fueron menores, el más bajo del grupo de levaduras altoandinas fue de 1.03, mientras que el mayor IS fue de 1.14. En el grupo de las levaduras de suelo agrícola solo una levadura fue capaz de solubilizar el FTC con un IS de 1.06.



**Figura 4.** Halo de solubilización de las cepas de levaduras frente a fosfato tricálcico.

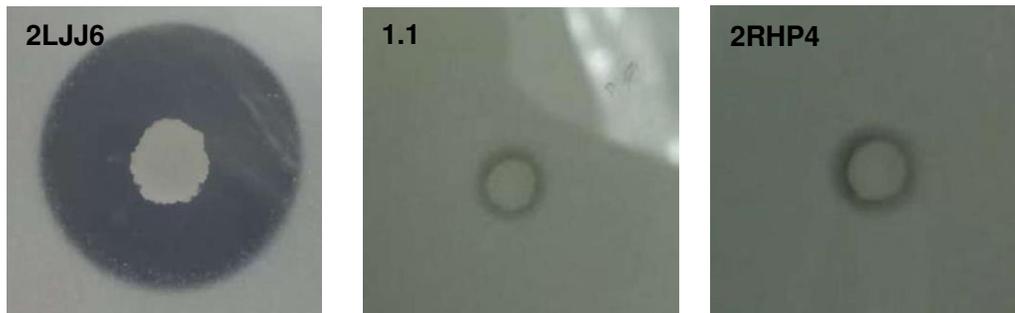
Los halos de solubilización del FTC se observaron, que solo nueve, de las veinte levaduras estudiadas, fueron capaces de solubilizar el FTC. De las nueve cepas, la 2RHP4 y E5 obtuvieron el IS más alto; mientras que el IS más bajo fue de la cepa 1LYP2. La cepa TLJ7, aislada de suelos agrícolas, fue la única que solubilizó el FTC (Figura 5).



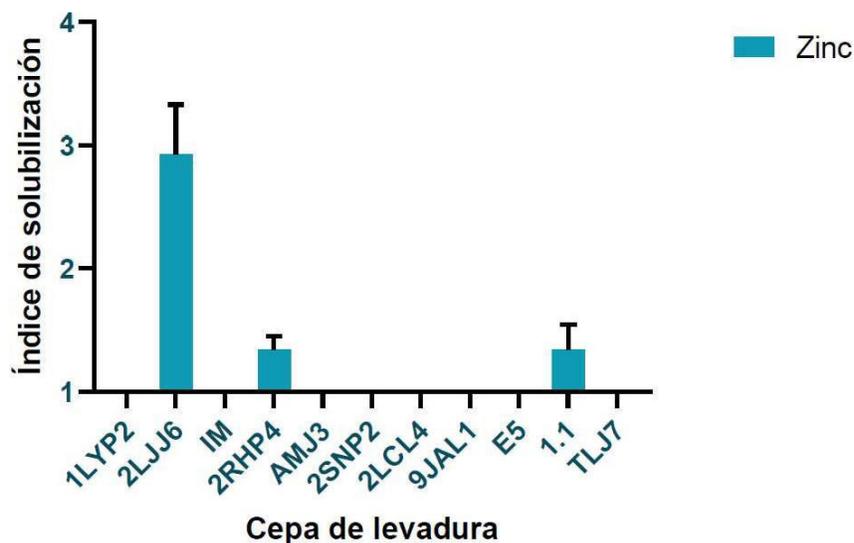
**Figura 5.** Índice de solubilización de las levaduras frente a fosfato tricálcico.

#### 4.4 Determinación de la capacidad de solubilización de zinc

El comportamiento de las cepas de levadura frente a óxido de zinc fue totalmente diferente al que mostraron con FDC y FTC. En la Figura 6 se puede observar los halos de solubilización que presentaron, solo tres cepas, provenientes de zonas altoandinas; en la Figura 7 se muestra el índice de solubilización de estas levaduras que fueron capaces de solubilizar óxido de zinc. Los IS que presentaron las cepas 2LJJ6, 2RHP4 y 1.1 fueron de 2.93, 1.33 y 1.30, respectivamente (Tabla3). Además, no todas las levaduras pudieron crecer en el medio Agar ZO. No hubo crecimiento de las cepas 2LHJ2, 3RSJ11, 2LCL3, 2RHP5, SC, TLJ4, TLJ8, TLJ9 y TLJ11 durante el tiempo de incubación. De las cepas provenientes de suelo agrícola, solo la cepa TLJ7 pudo crecer en el medio de cultivo ZO, pero no fue capaz de solubilizar el óxido de zinc.

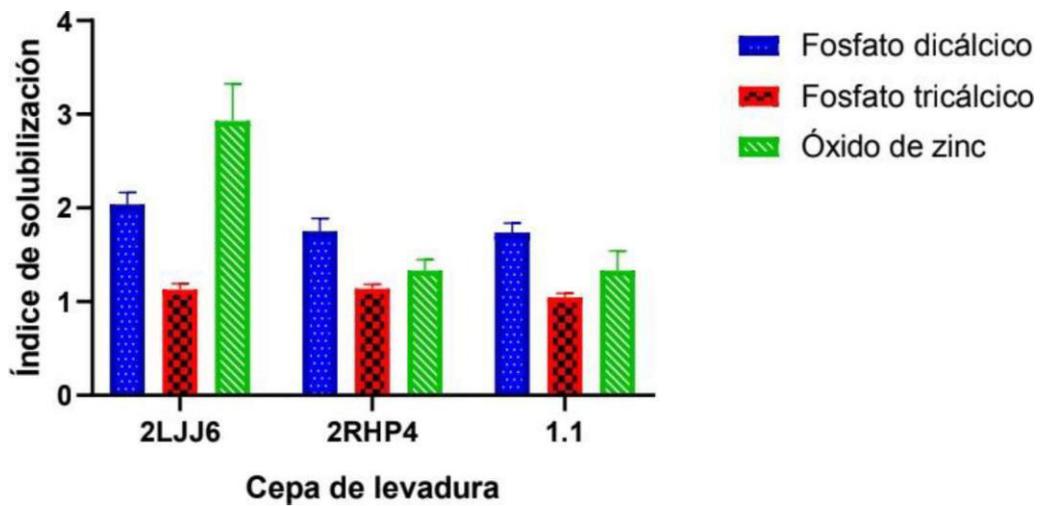


**Figura 6.** Halo de solubilización de las cepas de levaduras frente al óxido de zinc.



**Figura 7.** Índice de solubilización de las levaduras frente al óxido de zinc.

De las veinte cepas de levadura evaluadas en el presente estudio, se resaltan las características promotoras de crecimiento vegetal de tres cepas: 2LJJ6, 2RHP4 y 1.1. Estas tres levaduras fueron las únicas capaces de solubilizar los tres compuestos inorgánicos ensayados en el presente trabajo: FDC, FTC y óxido de zinc (Figura 8); sin embargo, solo la cepa 2RHP4 fue capaz de generar una producción fuerte de amoníaco (Tabla 3). Las tres cepas presentaron un buen IS en las pruebas de FDC y óxido de zinc, mientras que en la prueba de FTC sus IS fueron discretos; destacando la cepa 2LJJ6 por poseer el IS más alto en ZO y FDC.



**Figura 8.** Comportamiento de las tres mejores cepas de levaduras frente a FTC, FDC y óxido de zinc.

## 5. DISCUSIÓN

Las levaduras como microorganismos promotores de crecimiento vegetal han sido poco estudiadas a nivel local y global, y de la literatura científica que se tiene acerca de levaduras con característica de PGPR, están relacionadas principalmente a bacterias. Las levaduras, al ser microorganismos ubicuos, pueden tener el potencial de promover el crecimiento vegetal sin estar relacionados al hábitat de una planta. Por lo cual, en el presente trabajo se reactivaron 20 cepas de levaduras con la finalidad de estudiarlas como promotoras de crecimiento vegetal.

El amoníaco o el ion amonio han sido encontrados como el compuesto que ayuda a comunicar las células o colonias de levaduras y es considerada una característica PGP deseable, además de jugar un rol importante en la disponibilidad de nitrógeno (Marques *et al.* 2010). Palková *et al.* (2003), demostró que las levaduras que producían amoníaco modificaban el comportamiento de las colonias que se encontraban a su alrededor. Esta señal que intermedia la comunicación entre levaduras consiste en propiciar un estado de alerta en las colonias, causadas por factores de estrés promovidos por el ambiente como la limitación de nutrientes, aumento de temperatura, etc.; de esta manera mejora la supervivencia de la colonia. En el ensayo de producción de amoníaco, todas las cepas de levadura evaluadas fueron capaces de producir amoníaco, resaltando 8 cepas provenientes de lagunas contaminadas con relaves mineros, mediante el cambio de color brusco del medio de color amarillo opaco a naranja oscuro con el reactivo de Nessler. En otro trabajo, Kumla *et al.* (2020) también demostró que 42 cepas de levaduras aisladas de plantaciones de té de Assam podían producir amoníaco. Aunque no se podría asegurar que las levaduras de forma general utilizan el amoníaco como señal de comunicación, puesto que en un estudio hecho por Fu *et al.* (2016) se encontró que algunas especies de levaduras no producían este compuesto mediante el mismo ensayo realizado en el presente trabajo, y en otro estudio por Fernandez-San Millan *et al.* (2020), 39 de un total de 69 levaduras tenían la capacidad de producir amoníaco. Cabe resaltar que la reacción del amoníaco con el reactivo de Nessler nos permite visualizar de manera cualitativa la presencia de este

compuesto, por tanto, sería de mayor relevancia realizar un ensayo cuantitativo para poder diferenciar la producción de amoníaco entre cada cepa de levadura.

El fósforo es un micronutriente esencial para el desarrollo de la planta y los microorganismos juegan un papel importante en su disponibilidad para las plantas. En el presente estudio, las levaduras se comportaron de una manera diferente frente al FDC y FTC, observándose una mayor dificultad al momento de solubilizar FTC. Un estudio realizado en Taiwán por Fu *et al.* (2016), reportó que, en un aislamiento de 40 cepas de levaduras, 18 tuvieron la capacidad de solubilizar FDC siendo el IS de 1.67 el más alto presentado por la cepa *Rhodosporidium paludigenum* JYC100. En el presente trabajo, catorce cepas evaluadas presentaron un IS más alto que el reportado por el trabajo anterior; resaltando las cepas IM y 1LYP2 con un IS de 2.19 (Tabla 3). En el mismo estudio hecho por Fu *et al.* (2016), solo dos cepas de levaduras fueron capaces de solubilizar FTC, siendo el IS de 1.33, el más alto. Kumla *et al.* (2020), logró aislar 42 cepas de levaduras donde solo 6 cepas pudieron solubilizar FTC con el IS de 1.56 como el más alto. En otra investigación, Fernandez-San Millan *et al.* (2020) reportó que 33 cepas de levaduras fueron capaces de solubilizar FTC con un IS de 2.56, mucho más alto que los otros dos trabajos mencionados anteriormente. Los IS obtenidos en el ensayo de solubilización de FTC en el presente trabajo fueron muy bajos con respecto a los IS obtenidos en los estudios que se han mencionado anteriormente. El mayor IS presentado en este trabajo fue de 1.14 generado por las cepas 2RHP4 y E5, siendo 2.24 veces menor que el IS presentado por Fernandez-San Millan. Además, menos de la mitad de las cepas evaluadas en la presente investigación pudieron solubilizar FTC y, por el contrario, casi todas las cepas (18 de 20) fueron capaces de solubilizar FDC. En un estudio realizado por Bashan *et al.* (2013), se coloca al fosfato dicálcico con mayor grado de solubilización respecto al fosfato tricálcico, aparte de que el fosfato tricálcico es muy difícil de solubilizar no solo para las levaduras, sino también para las bacterias y mohos. No obstante, Nautiyal (1999) muestra que el método de halo de solubilización en placa no siempre es el adecuado, porque hay microorganismos que solubilizan ciertos minerales en un medio líquido pero no en uno sólido. Esto se puede deber a que el compuesto que ayuda a solubilizar el mineral no posee una buena característica de difusión

en un ambiente sólido (Johnston 1952). De esta manera, para una mejor evaluación de solubilización de fosfato se tendría que realizar en un medio líquido donde, además, se podría cuantificar la cantidad exacta de fosfato solubilizado.

El zinc, de igual manera que el fósforo, se necesita en pequeñas cantidades para desarrollar un buen metabolismo celular. Además, Fernandez-San Millan *et al.* (2020), argumenta que su uso inadecuado reduce el rendimiento del cultivo y en este mismo estudio, 69 levaduras que fueron aisladas, tuvieron la capacidad de solubilizar óxido de zinc siendo el IS de 6.25 el más alto producido por la cepa *Candida pimensis* Cpi-27, y más alto que los obtenidos en el presente trabajo que fue un IS de 2.93, producido por la cepa 2LJJ6. Kumla *et al.* (2020) reportó que 6 cepas de levaduras de 10 cepas evaluadas, fueron capaces de solubilizar óxido de zinc con un IS de 2.13 como el más alto; sin embargo, valor menor al presentado por la cepa 2LJJ6 del presente trabajo que tuvo un IS de 2.93. En otros trabajos también se pudieron evidenciar la solubilización de este compuesto inorgánico como en el de Khunnamwong *et al.* (2020) y Fu *et al.* (2016) que reportaron la solubilización de óxido de zinc de 7 y 12 levaduras con un IS de 1.0 y 2.18, respectivamente. Por otro lado, once de las veinte cepas evaluadas en la presente investigación pudieron crecer en el medio con óxido de zinc, pudiéndose inferir que el óxido de zinc podría estar causando cierta toxicidad a las nueve levaduras restantes que no pudieron crecer. Kasemets *et al.* (2009) demostró que a una concentración de 250 mg/L de óxido de zinc se inhibe el 80% de crecimiento de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, y esta concentración representa la cuarta parte utilizada por el presente trabajo (1000 mg/L); además, no es el óxido de zinc el que causa la toxicidad, sino es la acumulación del zinc solubilizado que va alterando la homeostasis del zinc celular, provocando daño mitocondrial y lisosomal, y muerte celular a la levadura (Kasemets *et al.* 2009).

Como se ha podido observar, no todas las levaduras presentan la característica de solubilizar los mismos compuestos inorgánicos y que Fu *et al.* (2016) y Fernandez-San Millan *et al.* (2020) argumentan que la solubilización de fosfatos y de óxido de zinc no es una característica común entre levaduras y que se necesita mayor investigación para explorar este detalle. Sin embargo, se resalta

la acción de las cepas de levaduras estudiadas en el presente estudio por reunir cualidades que le permitirían promover el crecimiento de las plantas directa o indirectamente y, ser evaluadas posteriormente como biofertilizantes en diferentes tipos de cultivos agrícolas.

## 6. CONCLUSIONES

- Solo las cepas de levaduras 2LJJ6, 2RHP4 y 1.1 fueron capaces de solubilizar óxido de zinc, resaltando la cepa 2LJJ6 con un IS de 2.93.
- La mayoría de cepas evaluadas en el presente trabajo solubilizaron el FDC, siendo las cepas IM y 1LYP2 de mayor actividad por su IS de 2.19; mientras que solo nueve cepas fueron capaces de solubilizar FTC destacando la cepa 2LJJ6 con un IS de 1.13.
- Las cepas de levaduras evaluadas en el presente trabajo fueron capaces de producir amoníaco.
- Solo tres cepas de levaduras presentaron actividad en los 4 ensayos desarrolladas en el presentes trabajo, cepas 2LJJ6, 2RHP4 y 1.1.
- La solubilización de zinc y fosfatos no es una característica general de las levaduras.

## **7. RECOMENDACIONES**

- Se recomienda realizar ensayos de MIC para el óxido de zinc en cada cepa de levadura trabajada en la presente investigación.
- Realizar pruebas adicionales de colorimetría para determinar mejor la solubilización de fosfatos.
- Realizar pruebas de HPLC para la detección de ácidos orgánicos involucrados en la solubilización de fosfatos.
- Se recomienda cuantificar la producción de amoníaco para una mejor diferenciación de la producción entre las cepas de levadura.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

- AHEMAD, M. y KIBRET, M., 2014. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *Journal of King Saud University - Science*, vol. 26, no. 1, pp. 1-20. ISSN 10183647. DOI 10.1016/j.jksus.2013.05.001.
- AKTAR, W., SENGUPTA, D. y CHOWDHURY, A., 2009. Impact of pesticides use in agriculture: Their benefits and hazards. *Interdisciplinary Toxicology*, vol. 2, no. 1, pp. 1-12. ISSN 13379569. DOI 10.2478/v10102-009-0001-7.
- AMPRAYN, K.O., ROSE, M.T., KECSKÉS, M., PEREG, L., NGUYEN, H.T. y KENNEDY, I.R., 2012. Plant growth promoting characteristics of soil yeast (*Candida tropicalis* HY) and its effectiveness for promoting rice growth. *Applied Soil Ecology*, vol. 61, pp. 295-299. ISSN 09291393. DOI 10.1016/j.apsoil.2011.11.009.
- ANITHA, A. y RABEETH, M., 2010. Degradation of fungal cell walls of phytopathogenic fungi by lytic enzyme of *Streptomyces griseus*. *African Journal of Plant Sciences*, vol. 4, pp. 61-66.
- BASHAN, Y., KAMNEV, A.A. y DE-BASHAN, L.E., 2013. Tricalcium phosphate is inappropriate as a universal selection factor for isolating and testing phosphate-solubilizing bacteria that enhance plant growth: A proposal for an alternative procedure. *Biology and Fertility of Soils*, vol. 49, no. 4, pp. 465-479. ISSN 01782762. DOI 10.1007/s00374-012-0737-7.
- BENEDUZI, A., AMBROSINI, A. y PASSAGLIA, L.M.P., 2012. <Sziderofórgpr.Pdf>. *Genetics and Molecular Biology*, vol. 4, pp. 1044-1051.
- BOTTINI, R., CASSÁN, F. y PICCOLI, P., 2004. Gibberellin production by bacteria and its involvement in plant growth promotion and yield increase. *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 65, no. 5, pp. 497-503. ISSN 01757598. DOI 10.1007/s00253-004-1696-1.
- BUYSENS, S., HEUNGENS, K., POPPE, J. y HOFTE, M., 1996. Involvement of pyochelin and pyoverdine in suppression of pythium-induced damping-off of tomato by *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 62, no. 3, pp. 865-871. ISSN 00992240. DOI 10.1128/aem.62.3.865-871.1996.
- CAPPUCCINO, J. y WELSH, C., 2017. Microbiology: A laboratory manual. . S.I.:
- CARMO SOUSA, L., 1969. Distribution of yeasts in nature. *The yeasts*, vol. 1, pp. 79-105.
- COCKING, E.C., 2003. Endophytic colonization of plant roots by nitrogen-fixing bacteria. *Plant and Soil*, vol. 252, no. 1, pp. 169-175. ISSN 0032079X. DOI 10.1023/A:1024106605806.
- COMPANT, S., DUFFY, B., NOWAK, J., CLÉMENT, C. y BARKA, E.A., 2005. Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: Principles, mechanisms of action, and future prospects. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 71, no. 9, pp. 4951-4959. ISSN 00992240. DOI 10.1128/AEM.71.9.4951-4959.2005.
- DE LIMA PROCÓPIO, R.E., DA SILVA, I.R., MARTINS, M.K., DE AZEVEDO, J.L. y DE ARAÚJO, J.M., 2012. Antibiotics produced by *Streptomyces*. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, vol. 16, no. 5, pp. 466-471. ISSN 14138670. DOI

10.1016/j.bjid.2012.08.014.

- DIACONO, M., CASTRIGNANÒ, A., TROCCOLI, A., DE BENEDETTO, D., BASSO, B. y RUBINO, P., 2012. Spatial and temporal variability of wheat grain yield and quality in a Mediterranean environment: A multivariate geostatistical approach. *Field Crops Research*, vol. 131, pp. 49-62. ISSN 03784290. DOI 10.1016/j.fcr.2012.03.004.
- DOMSCH, K., GAMS, W. y ANDERSON, T.-H., 1980. *Compendium of soil fungi*. London: Academic Press.
- EKELUND, F., RØNN, R. y CHRISTENSEN, S., 2001. Distribution with depth of protozoa, bacteria and fungi in soil profiles from three Danish forest sites. *Soil Biology and Biochemistry*, vol. 33, no. 4-5, pp. 475-481. ISSN 00380717. DOI 10.1016/S0038-0717(00)00188-7.
- FAROKH, R.Z., SACHDEV, D., POUR, N.K., ENGINEER, A., PARDESI, K.R., ZINJARDE, S., DHAKEPHALKAR, P.K. y CHOPADE, B.A., 2011. Characterization of plant-growth-promoting traits of *Acinetobacter* species isolated from rhizosphere of *Pennisetum glaucum*. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, vol. 21, no. 6, pp. 556-566. ISSN 10177825. DOI 10.4014/jmb.1012.12006.
- FERNANDEZ-SAN MILLAN, A., FARRAN, I., LARRAYA, L., ANCIN, M., ARREGUI, L.M. y VERAMENDI, J., 2020. Plant growth-promoting traits of yeasts isolated from Spanish vineyards: benefits for seedling development. *Microbiological Research*, vol. 237, no. November 2019, pp. 126480. ISSN 09445013. DOI 10.1016/j.micres.2020.126480.
- FLETCHER, J., BENDER, C., BUDOWLE, B., COBB, W.T., GOLD, S.E., ISHIMARU, C.A., LUSTER, D., MELCHER, U., MURCH, R., SCHERM, H., SEEM, R.C., SHERWOOD, J.L., SOBRAL, B.W. y TOLIN, S.A., 2006. Plant Pathogen Forensics: Capabilities, Needs, and Recommendations. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, vol. 70, no. 2, pp. 450-471. ISSN 1092-2172. DOI 10.1128/mmbr.00022-05.
- FOLMAN, L.B., DE KLEIN, M.J.E.M., POSTMA, J. y VAN VEEN, J.A., 2004. Production of antifungal compounds by *Lysobacter enzymogenes* isolate 3.1T8 under different conditions in relation to its efficacy as a biocontrol agent of *Pythium aphanidermatum* in cucumber. *Biological Control*, vol. 31, no. 2, pp. 145-154. ISSN 10499644. DOI 10.1016/j.biocontrol.2004.03.008.
- FU, S.F., SUN, P.F., LU, H.Y., WEI, J.Y., XIAO, H.S., FANG, W.T., CHENG, B.Y. y CHOU, J.Y., 2016. Plant growth-promoting traits of yeasts isolated from the phyllosphere and rhizosphere of *Drosera spatulata* Lab. *Fungal Biology*, vol. 120, no. 3, pp. 433-448. ISSN 18786146. DOI 10.1016/j.funbio.2015.12.006.
- GORI, K., MORTENSEN, H.D., ARNEBORG, N. y JESPERSEN, L., 2007. Ammonia Production and Its Possible Role as a Mediator of Communication for *Debaryomyces hansenii* and other Cheese-Relevant Yeast Species. *Journal of Dairy Science*, vol. 90, no. 11, pp. 5032-5041.
- HIGA, T., 2013. Microorganismos benéficos y efectivos para una agricultura y medio ambiente sostenible. *Journal of Chemical Information and Modeling*, vol. 53, no. 9, pp. 1689-1699. ISSN 1098-6596.
- HOLE, D.G., PERKINS, A.J., WILSON, J.D., ALEXANDER, I.H., GRICE, P. V. y EVANS, A.D., 2005. Does organic farming benefit biodiversity? *Biological Conservation*, vol. 122, no. 1, pp. 113-130. ISSN 00063207. DOI

10.1016/j.biocon.2004.07.018.

- JOHNSTON, H., 1952. The solubilization of phosphate: the action of various organic compounds on dicalcium and tricalcium phosphate. *Journal of Science Technology*, pp. 436-444.
- KAPULNIK, Y. y OKON, Y., 2002. Plant Growth Promotion by Rhizosphere Bacteria. *Plant Roots*. 3rd Editio. S.l.: CRC Press, pp. 1344-1368. ISBN 9780429221859.
- KASEMETS, K., IVASK, A., DUBOURGUIER, H.C. y KAHRU, A., 2009. Toxicity of nanoparticles of ZnO, CuO and TiO<sub>2</sub> to yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Toxicology in Vitro*, vol. 23, no. 6, pp. 1116-1122. ISSN 08872333. DOI 10.1016/j.tiv.2009.05.015.
- KHUNNAMWONG, P., LERTWATTANASAKUL, N., JINDAMORAKOT, S., SUWANNARACH, N., MATSUI, K. y LIMTONG, S., 2020. Evaluation of antagonistic activity and mechanisms of endophytic yeasts against pathogenic fungi causing economic crop diseases. *Folia Microbiologica*, vol. 65, no. 3, pp. 573-590. ISSN 18749356. DOI 10.1007/s12223-019-00764-6.
- KUMAR, V. y NARULA, N., 1999. Solubilization of inorganic phosphates and growth emergence of wheat as affected by *Azotobacter chroococcum* mutants. *Biology and Fertility of Soils*, vol. 28, no. 3, pp. 301-305. ISSN 01782762. DOI 10.1007/s003740050497.
- KUMLA, J., NUNDAENG, S., SUWANNARACH, N. y LUMYONG, S., 2020. Evaluation of multifarious plant growth promoting trials of yeast isolated from the soil of assam tea (*Camellia sinensis* var. *assamica*) plantations in Northern Thailand. *Microorganisms*, vol. 8, no. 8, pp. 1-18. ISSN 20762607. DOI 10.3390/microorganisms8081168.
- MAHESHWARI, D.K., DUBEY, R.C., AERON, A., KUMAR, B., KUMAR, S., TEWARI, S. y ARORA, N.K., 2012. Integrated approach for disease management and growth enhancement of *Sesamum indicum* L. utilizing *Azotobacter chroococcum* TRA2 and chemical fertilizer. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, vol. 28, no. 10, pp. 3015-3024. ISSN 09593993. DOI 10.1007/s11274-012-1112-4.
- MARQUES, A.P.G.C., PIRES, C., MOREIRA, H., RANGEL, A.O.S.S. y CASTRO, P.M.L., 2010. Assessment of the plant growth promotion abilities of six bacterial isolates using *Zea mays* as indicator plant. *Soil Biology and Biochemistry*, vol. 42, no. 8, pp. 1229-1235. ISSN 00380717. DOI 10.1016/j.soilbio.2010.04.014.
- MCNEAR, D.H., 2013. The Rhizosphere - Roots, Soil and Everything In Between Meeting the Global Challenge of Sustainable Food, Fuel and Fiber Production. *Nature Education Knowledge*, vol. 4, no. 3, pp. 1-15.
- MISHRA, J., SINGH, R. y ARORA, N.K., 2017. Plant Growth-Promoting Microbes: Diverse Roles in Agriculture and Environmental Sustainability. *Probiotics and Plant Health*. Singapore: Springer, pp. 71-111. ISBN 978-981-10-3473-2.
- MISHRA, J., TEWARI, S., SINGH, S. y ARORA, N.K., 2015. Biopesticides: where we stand? *Plant Microbes Symbiosis: Applied Facets*. New Delhi: Springer, pp. 37-75. ISBN 978-81-322-2068-8.
- NAUTIYAL, C.S., 1999. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiology Letters*, vol. 170, no. 1, pp. 265-270. ISSN 03781097. DOI 10.1016/S0378-1097(98)00555-2.
- NUTARATAT, P., SRISUK, N., ARUNRATTIYAKORN, P. y LIMTONG, S., 2014. Plant growth-promoting traits of epiphytic and endophytic yeasts isolated from rice and

- sugar cane leaves in Thailand. *Fungal Biology*, vol. 118, no. 8, pp. 683-694. ISSN 18786146. DOI 10.1016/j.funbio.2014.04.010.
- PALKOVÁ, Z. y VÁCHOVÁ, L., 2003. Ammonia signaling in yeast colony formation. *International Review of Cytology*, vol. 225, pp. 229-272. ISSN 00747696. DOI 10.1016/S0074-7696(05)25006-4.
- RODRÍGUEZ, H. y FRAGA, R., 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology Advances*, vol. 17, no. 4-5, pp. 319-339. ISSN 07349750. DOI 10.1016/S0734-9750(99)00014-2.
- SIVASAKTHI, S., USHARANI, G. y SARANRAJ, P., 2014. Biocontrol potentiality of plant growth promoting bacteria (PGPR)-*Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*: A review. *African journal of agricultural research*, vol. 9, pp. 1265-1277.
- SOLANS, M., VOBIS, G., CASSÁN, F., LUNA, V. y WALL, L.G., 2011. Production of phytohormones by root-associated saprophytic actinomycetes isolated from the actinorhizal plant *Ochetophila trinervis*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, vol. 27, no. 9, pp. 2195-2202. ISSN 09593993. DOI 10.1007/s11274-011-0685-7.
- SPENCER, J.F.T. y SPENCER, D.M., 1997. Ecology: Where Yeasts Live. *Yeasts in Natural and Artificial Habitats*, pp. 33-58. DOI 10.1007/978-3-662-03370-8\_4.
- TEWARI, S. y ARORA, N.K., 2015. Plant growth promoting fluorescent *Pseudomonas* enhancing growth of sunflower crop. *Int J Sci Technol Soc*, vol. 1, pp. 51-53.
- VINCETI, B., ICKOWITZ, A., POWELL, B., KEHLENBECK, K., TERMOTE, C., COGILL, B. y HUNTER, D., 2013. The Contribution of Forests to Sustainable Diets: background paper for the International Conference on Forests for Food Security and Nutrition. , pp. 30.
- YANG, X.E., WU, X., HAO, H.L. y HE, Z.L., 2008. Mechanisms and assessment of water eutrophication. *Journal of Zhejiang University: Science B*, vol. 9, no. 3, pp. 197-209. ISSN 16731581. DOI 10.1631/jzus.B0710626.

## 9. ANEXOS

### Medios de cultivos

#### Agar YPG

Componentes	Gramos/litro
Glucosa	30
Peptona	10
Extracto de levadura	5
Agar	18

#### Agua Peptonada

Componentes	Gramos/litro
NaCl	10
Peptona	5

#### Medio Agar Pikovskaya

Componentes	Gramos/litro
Glucosa	10
Extracto de levadura	0.5
Agar	18
$(NH_4)_2SO_4$	0.5
KCl	0.2
NaCl	0.2
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.1
$MnSO_4 \cdot H_2O$	0.004
$FeSO_4 \cdot H_2O$	0.002
$Ca_3(PO_4)_2$	3

#### Medio Agar ZO

Componentes	Gramos/litro
Glucosa	10
Extracto de levadura	0.5
Agar	15
$(NH_4)_2SO_4$	0.5
KCl	0.2
Oxido de zinc	1
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.1
$MnSO_4 \cdot H_2O$	traza
$FeSO_4 \cdot H_2O$	traza

Tablas

**Tabla 4: Solubilización de FDC de las cepas de levaduras.**

Cepa	IS1	IS2	IS3	IS promedio	DE
1LYP2	2.222	2.111	2.250	2.194	0.074
2LHJ2	1.500	1.300	1.555	1.457	0.134
2LJJ6	1.888	2.111	2.111	2.037	0.129
IM	2.111	2.352	2.111	2.191	0.139
2RHP4	1.900	1.625	1.727	1.751	0.139
3RSJ11	1.714	1.833	1.714	1.754	0.069
AMJ3	2.000	1.615	1.714	1.776	0.199
2SNP2	2.375	2.000	2.125	2.167	0.191
2LCL3	2.000	1.875	2.000	1.958	0.072
2LCL4	2.000	1.818	1.909	1.909	0.091
2RHP5	1.300	1.166	1.250	1.238	0.068
9JAL1	1.800	1.866	1.611	1.759	0.132
E5	1.800	1.900	1.900	1.867	0.058
1.1	1.629	1.750	1.833	1.737	0.103
SC	1.714	1.700	1.750	1.721	0.026
TLJ4	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000
TLJ7	1.600	1.900	1.700	1.733	0.153
TLJ8	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000
TLJ9	1.285	1.333	1.214	1.277	0.059
TLJ11	1.571	1.833	1.571	1.658	0.151

IS: Índice de Solubilización, DE: Desviación Estándar

**Tabla 5: Solubilización de FTC de las cepas de levaduras.**

Cepa	IS1	IS2	IS3	IS promedio	DE
1LYP2	1.100	1.000	1.000	1.033	0.058
2LHJ2	1.100	1.100	1.111	1.104	0.006
2LJJ6	1.090	1.200	1.090	1.127	0.063
IM	1.125	1.125	1.000	1.083	0.072
2RHP4	1.166	1.166	1.083	1.138	0.048
3RSJ11	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000
AMJ3	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000
2SNP2	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000
2LCL3	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000
2LCL4	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000
2RHP5	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000
9JAL1	1.050	1.100	1.000	1.050	0.050
E5	1.090	1.100	1.222	1.137	0.073
1.1	1.090	1.045	1.000	1.045	0.045
SC	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000
TLJ4	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000
TLJ7	1.055	1.000	1.125	1.060	0.063
TLJ8	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000
TLJ9	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000
TLJ11	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000

IS: Índice de Solubilización, DE: Desviación Estándar

**Tabla 6: Solubilización de Óxido de zinc por las cepas de levaduras.**

Cepa	IS1	IS2	IS3	IS promedio	DE
1LYP2	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000
2LHJ2	NC	NC	NC	ND	ND
2LJJ6	3.000	3.285	2.500	2.928	0.397
IM	1.000	1.000	1.000	1.000	0
2RHP4	1.400	1.200	1.400	1.333	0.115
3RSJ11	NC	NC	NC	ND	ND
AMJ3	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000
2SNP2	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000
2LCL3	NC	NC	NC	ND	ND
2LCL4	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000
2RHP5	NC	NC	NC	ND	ND
9JAL1	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000
E5	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000
1.1	1.500	1.400	1.100	1.333	0.208
SC	NC	NC	NC	ND	ND
TLJ4	NC	NC	NC	ND	ND
TLJ7	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000
TLJ8	NC	NC	NC	ND	ND
TLJ9	NC	NC	NC	ND	ND
TLJ11	NC	NC	NC	ND	ND

IS: Índice de Solubilización, DE: Desviación Estándar, ND: No Detectado, NC: No Creció