

IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS PRESENTES EN EL ICIBIOP GLU OBTENIDO POR LA FERMENTACIÓN CON *GLUCONACETOBACTER DIAZOTROPHICUS*

IDENTIFICATION OF METABOLITES PRESENT IN ICIBIOP GLU OBTAINED FROM FERMENTATION WITH *GLUCONACETOBACTER DIAZOTROPHICUS*

Jahyla H. Granados López ^{a,*}(0009-0009-4763-8355)
Wu Songna^d (0009-0002-5637-889X)
Li Kailong^c (0000-0003-2386-6897)
Vivian León Fernández^a (0009-0008-6576-7380)
Zhang Xin^a (0000-0002-4955-5328)
Daisy Dopico Ramírez^a (0000-0001-9367-7253)

^a Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar. Cuba

^b Hunan Academy of Agricultural Sciences, Changsha. China

^c Hunan Plant Protection Institute. China

^d Hunan Institute of Nuclear Agriculture and Chinese Medicinal Materials. China

^{a,*} jahyla1026@gmail.com

Recibido: 28 de febrero de 2025;

Aceptado: 28 de agosto de 2025;

RESUMEN

El uso de biofertilizantes constituye una vía promisoría para el mejoramiento de las condiciones de crecimiento de las plantas, pues con su uso se pretende sustituir parcial o totalmente la aplicación de fertilizantes sintéticos y reducir su efecto contaminante. En la UEB Bioprocesos Cuba 10, perteneciente al ICIDCA, se produce el Icibiop GLU; un biopreparado que se obtiene a partir del cultivo sumergido de *Gluconacetobacter diazotrophicus* en un medio de cultivo industrial mínimo que favorece su crecimiento. Algunos de los metabolitos presentes en el caldo de cultivo de esta bacteria fueron extraídos con acetato de etilo e identificados mediante cromatografía líquida de alta resolución, acoplado a detector de índice de refracción y espectrómetro de masas. Los resultados revelaron la presencia de ácidos orgánicos y citoquinina, que son compuestos claves en los procesos metabólicos y de señalización celular. Los ácidos orgánicos identificados son productos comunes de la fermentación microbiana y le confieren al bioproducto la posibilidad de solubilizar fosfatos y otros micronutrientes. Por otro lado, la detección de la fitohormona involucrada en el crecimiento vegetal, sugiere un potencial rol en la promoción del desarrollo de las plantas. Estos resultados posicionan al Icibiop GLU como un biofertilizante capaz de incrementar la productividad agrícola de manera sostenible.

Palabras claves: cromatografía, ácidos orgánicos, fosfatos, crecimiento y desarrollo de los cultivos.

ABSTRACT

The use of biofertilizers is a way to improve the conditions of development and growth of plants, with the use of them it is intended to partially or totally replace the application of synthetic fertilizers and reduce their polluting effect. At the UEB Bioprocesos Cuba 10, belonging to ICIDCA, Icibiop GLU is produced; a biopreparation that is obtained from the submerged culture of *Gluconacetobacter diazotrophicus* in a minimal industrial culture medium that favors its growth. Some of the metabolites present in the culture broth of this bacterium were extracted with ethyl acetate and identified by high-performance liquid chromatography, coupled to a refractive index detector and mass spectrometer. The results revealed the presence of organic acids and cytokinin, which are key compounds in metabolic and cell signaling processes. The organic acids identified are common products of microbial fermentation and give the bioproduct the possibility of solubilizing phosphates and other micronutrients. On the other hand, the detection of the phytohormone involved in plant growth suggests a potential role in promoting plant development. These results position Icibiop GLU as a biofertilizer capable of increasing agricultural productivity in a sustainable way.

Keywords: chromatography, organic acids, phosphates, crop growth and development.



INTRODUCCIÓN

Para minimizar la dependencia de los fertilizantes químicos y acorde con la tendencia de encaminar la agricultura hacia un entorno sostenible y amigable con el medio ambiente, surgió el uso de biofertilizantes como una prometedora alternativa (Kahman y Zhang, 2018). Los mismos constituyen una vía para el mejoramiento de las condiciones del desarrollo, permitiendo controlar de manera específica procesos como la producción de metabolitos secundarios, el tiempo de crecimiento de las plantas y la disminución de la concentración de agentes patógenos, etc., que naturalmente son procesos difíciles de regular en un cultivo convencional (Vega *et al.*, 2016) (Alcantara, 2019).

Los biofertilizantes son todos aquellos productos que contienen microorganismos vivos, con capacidad para colonizar la rizosfera o el interior de las plantas, que aplicados al suelo o de manera foliar, pueden vivir asociados o en simbiosis con las especies vegetales y ayudarles a su nutrición y protección. Los bioproductos elaborados principalmente a base de bacterias pueden sustituir parcial o totalmente la aplicación de fertilizantes sintéticos, y reducir su efecto contaminante (Mishra y Dash, 2014).

Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal son importantes para el desarrollo de sistemas agrícolas sostenibles (Moreno, 2018). En particular, *Gluconacetobacter diazotrophicus* es una bacteria fijadora de nitrógeno (Kumar *et al.*, 2024) que requiere condiciones microaeróbicas para su crecimiento (Chawla *et al.*, 2014). *G. diazotrophicus* ha sido empleado en nuestro país fundamentalmente en la aplicación en gramíneas y viandas tropicales, además en hortalizas de raíz donde presentó un efecto positivo en los cultivos de zanahoria y remolacha, estimulando el crecimiento de estos (Río, 2016). Resultados similares obtuvieron (Vidal *et al.*, 2017) y (Fernández *et al.*, 2019) quienes al inocular las plantas de tomate con *G. diazotrophicus* obtuvieron un aumento en la producción del 45 % en los frutos de primera, componente importante de la calidad comercial del tomate.

En función de aportar al desarrollo de los cultivos y a la agricultura en general, en el Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA) se formuló un bioproducto con base en la fermentación *G. diazotrophicus*, registrado bajo el nombre de Icibiop GLU y del cual los estudios en campo reportan satisfactorios resultados, obtenidos con su aplicación en hortalizas como el tomate (Barrios *et al.*, 2024) y en la propagación *in vitro* de yemas axiales para el cultivo de la caña de azúcar (Bernal *et al.*, 2024), respondiendo probablemente a la acción sinérgica de diferentes fitohormonas que pudieran estar presentes, las cuales actúan en complejas redes de señalización, con efectos interactivos sobre la expresión de las respuestas de las plantas al estrés (Schmelz *et al.*, 2003).

Identificar la composición de los caldos fermentados en cultivo bacterianos es una tarea compleja, necesaria e importante que puede abrir nuevas perspectivas para estrategias agrícolas, a la vez que puede permitir la optimización de los biofertilizantes a partir del conocimiento de los metabolitos bacterianos que lo componen.

Para analizar la composición de biopreparados se han utilizado diferentes métodos, incluida la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) acoplada a diferentes tipos de detectores con determinada sensibilidad y selectividad (Quattrocchi, 1992). Como objetivo de este trabajo se pretende identificar mediante HPLC, algunos de los metabolitos resultantes de la fermentación de *G. diazotrophicus* en determinadas condiciones del cultivo, cuya existencia evidencia la acción positiva del biofertilizante Icibiop GLU en las plantas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación del inóculo y condiciones de cultivo

El Icibiop GLU se obtuvo a partir del cultivo sumergido a escala industrial (5m³) de *Gluconacetobacter diazotrophicus* INICA 166, en un medio compuesto por hidrolizado de la levadura *Candida utilis*, miel final de caña de azúcar y sales trazas. Al inicio de la fermentación se ajustó el valor de pH y se fijaron parámetros importantes como aireación, agitación y temperatura. Durante el proceso y en la hora final se controló el crecimiento de la bacteria partir de conteo de viables, la pureza y azúcares reductores totales (ART).

Adquisición de datos y métodos analíticos

Para evaluar el curso del proceso, se tomaron muestras a intervalos regulares y se sometieron a control en el laboratorio, mediante los siguientes análisis:

- **Pureza microbiológica por tinción de Gram:** El análisis busca identificar y clasificar las bacterias en Gram positivas o Gram negativas. El método se basa en identificar el color fijado por los microorganismos luego de que los indicadores retenidos y decolorados con una solución de alcohol y acetona.

- **Crecimiento celular estimado por la viabilidad a la hora final del proceso:** Este procedimiento se utiliza para identificar la cantidad de células en crecimiento/división activa en una muestra. El método de recuento en placa

o placa extendida, se cultiva una colonia de bacterias en un medio nutritivo hasta que sea visible y se procede a contar el número de colonias en una placa.

- Consumo de sustrato (ART) estimado por el método de Eynon-Lane: Mediante este método (AOAC 923.09, 1990) se determinan los ART a partir de la acción de los extremos reductores presentes en la muestra sobre los iones cobre de la disolución de trabajo.

Todos los ensayos fueron realizados por triplicado y los datos que se informan en los resultados representan la media aritmética de las determinaciones analíticas.

Preparación de la muestra a partir del caldo fermentado

Para el trabajo en equipos de cromatografía es necesario utilizar muestras que se encuentren libre de célula, además para lograr una identificación clara y precisa, se requiere que los componentes de interés se encuentren lo más concentrados posible en la muestra a analizar. Teniendo en cuenta las condiciones de trabajo del equipo, la muestra del fermentado se centrifugó a 15 000 min⁻¹ durante 30 min, luego a una alícuota de 5 mL de sobrenadante se le ajustó el pH a 3 y se le realizaron extracciones sucesivas con acetato de etilo. El extracto orgánico se evaporó hasta sequedad y el residuo se disolvió en 2 mL de fase móvil. La disolución resultante se filtró a través de un microfiltro de 0,2 µm y se analizó por HPLC.

Condiciones cromatográficas

Para identificar la posible presencia de citoquininas en el extracto del cultivo se utilizó el equipo HPLC AB Sciex 4500Q Trap LC-MS/MS system (Framingham, USA); provisto de una columna ZORBAX RRHD Eclipse plus C18 (3.0 × 100 mm id, 1.8 µm; Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). Se empleó una fase móvil compuesta por metanol y ácido acético al 0,1% (v/v). Durante el análisis se ajustaron los parámetros de flujo, inyección y gradiente de fase móvil con el objetivo de obtener cromatogramas con un rango de detección correcto, valores de resolución y selectividad aceptables y un tiempo de análisis adecuado.

Se trabajó con un patrón comercial de 6-bencilaminopurina (Sigma-Aldrich calidad HPLC), con el cual se compararon tiempos de retención y valores de las relaciones masa/carga (m/z) de los extractos. Se preparó una curva de calibración entre 1 y 100 µg/L. Se inyectaron de 2 µL de la muestra, la que se hizo fluir a 0,4 mL/min.

Autores como Paredes (2010) han informado acerca de la presencia de ácidos orgánicos en caldos de cultivo de esta bacteria. Para su identificación en el extracto del cultivo, se seleccionaron patrones a los que se le prepararon disoluciones estándares mixtas de 0,05-10 mg/mL de ácido glucónico, cítrico, oxálico, málico, acético, fórmico y butírico, y se obtuvieron las respectivas curvas de calibración para cada componente.

Se empleó un equipo HPLC Ultimate 3000 con detector de índice de refracción diferencial y una columna Aminex[®] HPX-87H (7,8 x 300 mm). Se utilizó un a fase móvil compuesta por agua y ácido sulfúrico. Se fijó un volumen de inyección de 10 µL y la muestra fluyó a 0,6 mL/min durante 30 min. Los patrones se inyectaron mezclados en concentraciones conocidas y se calcularon los respectivos coeficientes de correlación y tiempos de retención. Para el procesamiento de los cromatogramas se utilizó el programa de análisis de datos Chromeleon (c) Dionex 7.2.4.8179.

Resultados y discusión

El cultivo sumergido es una técnica que permite la producción eficiente y escalable de metabolitos beneficiosos para los cultivos. En este caso, el microorganismo se sumerge en un medio líquido aireado, favoreciendo la transferencia de oxígeno y la distribución homogénea de nutrientes. Como resultado, se incrementa la síntesis de sustancias que le aportan valor al bioproducto, lo que amplía su potencial para innovar en el manejo agronómico con enfoque ecológico.

El cultivo de la bacteria fue seguido durante el proceso. Los resultados de los análisis de concentración de biomasa, ART y pH se muestran en la Tabla 1. Nótese que en el biorreactor se logró un cultivo puro y sin contaminación del medio, con un crecimiento de acuerdo a las especificaciones de calidad propuestas; en el orden de 10⁹ UFC/mL. Este resultado destaca la elevada concentración de células viables de *G. diazotrophicus* en el caldo de cultivo, lo cual es crucial para garantizar la eficacia del producto final en aplicaciones agrícolas. La alta titulación asegura que el producto mantenga su acción en campo, resistiendo el estrés ambiental, la desecación y la competencia microbiana.

Tabla 1. Control de las variables críticas del proceso

Hora cero F-5000L	pH	5,70
	Pureza	Libre de contaminantes
	ART	76 g/L
Hora Final F-5000L	pH	4,15
	Pureza	Cultivo puro
	Viabilidad	3,05 x10 ⁹ UFC/mL
	ART	29 g/L

El pH presentó un cambio desde 5,70 a 4,15; dicha disminución se puede explicar a partir de asumir que *G. diazotrophicus* tiene un metabolismo oxidativo en el que se producen y liberan al medio ácidos carboxílicos (Restrepo *et al.*, 2023) (Nieto *et al.*, 2014), característica fisiológica que fue evaluada y demostrada por Cavalcante y Dobereiner (1988) y cuya identificación es parte de este trabajo. En cuanto a la fuente de carbono se consume poco más del 60 %, quedando una cantidad considerable a la hora final del cultivo que pudiera contribuir a la estabilidad del producto, dado que la presencia de azúcares en el producto final puede prevenir la muerte celular durante el almacenamiento.

Siguiendo el criterio de Pineda (2019) en su estudio de la fermentación de *G. diazotrophicus* con vinaza como fuente carbono, se puede asumir la probabilidad de que existan componentes diferentes a los azúcares reductores que le sirvan de fuente de carbono al microorganismo para poder realizar sus funciones vitales, como por ejemplo la sacarosa que es un azúcar no reductor.

El análisis de la muestra analizada por HPLC según los métodos antes descritos, permitieron la identificación de 6-bencilaminopurina y los ácidos orgánicos, a partir de la comparación de los tiempos de retención con los patrones, a la vez que se logró cuantificar sus concentraciones.

En la curva de calibración que se realizó para la fitohormona patrón representada por la Ecuación 1 se obtuvo un coeficiente de correlación de 0,99 y en el cromatograma se comprobó que, para las fracciones de ion identificadas, se corresponde el mismo tiempo de retención, 2,91 min, bajo las condiciones antes mencionadas.

$$y = 1,32x + 2,53 \quad \text{Ec. 1}$$

La producción de citoquinina por la bacteria fue determinada mediante HPLC/MS. Esta técnica permitió identificarla (Figura 1) y cuantificarla. La detección de esta molécula en el caldo de cultivo sugiere que la bacteria puede involucrarse en la producción o modificación de compuestos similares a las citoquininas, lo que podría tener implicaciones en su interacción con las plantas, promoviendo el crecimiento y la tolerancia al estrés (Schaller *et al.*, 2015). Este hallazgo refuerza la hipótesis de que las bacterias asociadas a plantas, como *G. diazotrophicus*, no solo fijan nitrógeno, sino que también pueden contribuir a la síntesis de fitohormonas o sus precursores, capaces de añadir valor bioestimulante al caldo y beneficiar el desarrollo vegetal. La presencia de 6-bencilaminopurina en la composición del compuesto en estudio podría relacionarse con beneficios tales como división celular, la proliferación de yemas axilares, senescencia floral el desarrollo de cloroplastos y la floración, (Bieto *et al.*, 2008).

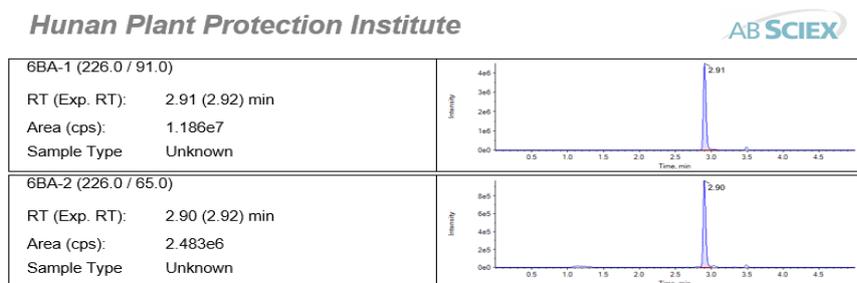


Fig. 1. Señal de 6-bencilaminopurina en la muestra de Icibiop GLU

En el análisis por HPLC/MS, las señales correspondientes a la 6-bencilaminopurina (6-BAP) se identifican en el espectro de masas en función de su masa molecular, apareciendo, tanto en el patrón como en la muestra, la señal principal del ion molecular en m/z 226. Además, también se observan fragmentos en m/z 91 y m/z 65. El primero correspondiente a un fragmento que resulta común en moléculas que contienen un grupo bencilo ($C_7H_7^+$) y el segundo, aunque no es un fragmento directo, puede ser el resultado de una fragmentación secundaria o terciaria de la molécula. La presencia de esta fitohormona se cuantificó con una concentración de 87,3 $\mu\text{g/L}$.

Las ecuaciones de las curvas de calibración para los patrones de los ácidos oxálico, cítrico, glucónico, málico, fórmico, acético y butírico se obtuvieron con coeficientes de correlación superiores a 0,99. Sus tiempos de retención se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Ecuaciones de las rectas correspondientes a las concentraciones de cada patrón

Compuesto	Tiempos de retención (min)	Ecuación de la recta	Coef. correlación (R)
ácido oxálico	6,22	$y=1,60x-0,15$	0,999
ácido cítrico	7,59	$y=2,31x-0,10$	0,999
ácido glucónico	8,53	$y=2,03x-0,10$	0,999
ácido málico	9,09	$y=2,76x-0,22$	0,999
ácido fórmico	13,3	$y=1,96x-0,55$	0,993
ácido acético	14,57	$y=1,25x-0,05$	0,999
ácido butírico	20,74	$y=0,85x-0,03$	0,999

x- tiempo (min), *y*- índice de refracción (μRIU)

Los ácidos orgánicos tienen la capacidad de aumentar la disponibilidad de fósforo a partir de la acidificación en la rizosfera de la planta, formar complejos estables con metales como el aluminio y el hierro. Además, incrementan la disponibilidad de micronutrientes, como zinc y magnesio en el suelo al disminuir el pH en la rizosfera, o por la quelación de estos micronutrientes. Además de agentes quelantes, los ácidos orgánicos desempeñan funciones particulares, aportando mayores beneficios para las plantas (Beltrán, 2014).

En el cromatograma obtenido a partir del extracto orgánico de la muestra de Icibiop GLU, (Figura 2) se identificaron los picos que se corresponden con los tiempos de retención de cada uno de los ácidos trabajados y se calculó la concentración en que se encuentran. Los resultados se resumen en la Tabla 3.

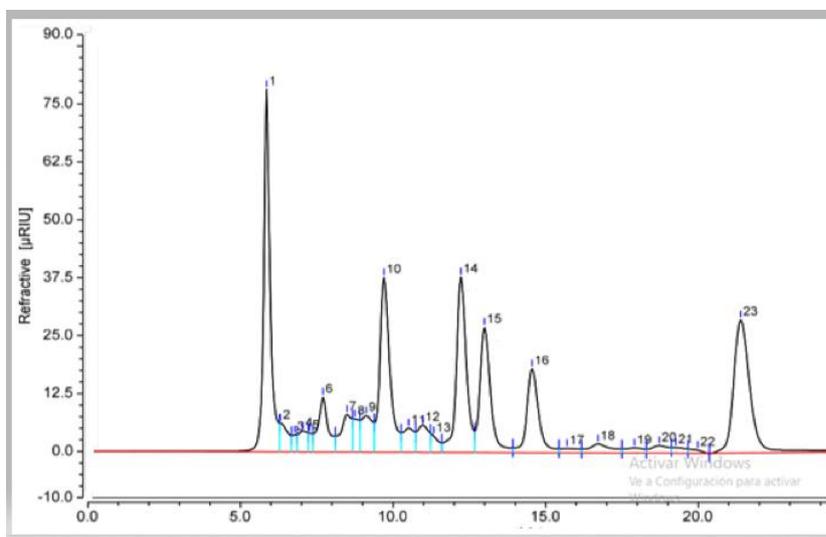


Fig. 2. Cromatograma del extracto orgánico de la muestra de Icibiop GLU

Tabla. 3. Cuantificación de los ácidos orgánicos identificados

Metabolito	Pico	Concentración (mg/mL) Icibiop GLU
Ácido oxálico	2	0,1
Ácido cítrico	6	0,9
Ácido glucónico	7	0,7
Ácido málico	8	0,8
Ácido fórmico	15	10,6
Ácido acético	16	5,3
Ácido butírico	23	8,3

La Tabla 3 muestra los valores de concentración para cada uno de los metabolitos identificados. Sin embargo, hay que tener en cuenta que tanto la producción de estos ácidos como la eficiencia de la acción del bioproducto en la solubilización de fosfatos van a depender de la fuente de carbono utilizada, que en el caso de la producción de Icibiop GLU es la melaza. En particular, la melaza tiene una composición que varía en dependencia de la variedad de caña, tipo de suelo donde se cultiva, almacenamiento y condiciones de procesamiento. También se debe considerar el microorganismo, así como las características de los suelos en los cuales realice la acción. (Beltrán, 2014).

La presencia del ácido cítrico y el ácido acético aseguran el control del pH del medio y evitan la hidrólisis de los productos cuando son aplicados de manera foliar, funcionan como herbicidas naturales por sus propiedades antagonicas similares a las del ácido butírico, que además presenta función antibiótica (Muños *et al.*, 2014). Contar con ácido málico en la composición del bioproducto podría garantizar el transporte y el almacenamiento del dióxido de carbono además de actuar como acidificante para suelos para solubilizar fósforo insoluble (Martínez y Calderón, 2005). El ácido fórmico puede actuar principalmente como conservante, descalcificador, repelente contra ácaros y como antimicrobiano fundamentalmente contra los hongos. El ácido oxálico actúa como nematocida y su uso se ha comprobado en especies leguminosas como las judías verdes (Villanueva, 2015). Mientras que, el ácido glucónico ha sido descrito como el agente más frecuente en la solubilización de fosfatos y es producido por la mayoría de las especies bacterianas implicadas en esa función, (Beltrán, 2014). Las concentraciones en las que se encuentran estos ácidos no causan riesgo para las membranas celulares de las plantas. No obstante, el caldo se puede aplicar diluido en agua para evitar cualquier eventualidad en cuanto a fitotoxicidad.

En el biopreparado evaluado se combinan propiedades fertilizantes, quelatantes y hormonales que resultan muy prometedoras para la agricultura, con evidentes ventajas sobre alternativas químicas.

CONCLUSIONES

Con este trabajo se logró identificar citoquinina y ácidos orgánicos en el bioproducto Icibiop GLU, fruto del cultivo en condiciones controladas del *Gluconacetobacter diazotrophicus*. El cultivo de la bacteria propició una elevada titulación de la misma y la producción de metabolitos que coadyuvan al potencial agrícola de un biopreparado que asegura tanto la entrega de metabolitos activos como de células viables tanto al suelo como a la planta. La presencia de citoquinina podría estimular la división celular y la tolerancia al estrés, mientras que la presencia de ácidos orgánicos favorece la solubilización de fosfatos y la quelación de metales. Los resultados respaldan la capacidad que tiene la bacteria para producir metabolitos con potencial acción en la agricultura y abre nuevas perspectivas para su aprovechamiento en estrategias encaminadas hacia la sostenibilidad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alcántara, C. S.J. (2019). Principales reguladores hormonales y sus interacciones en el crecimiento vegetal. *Nova*, 17(32).
http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S1794-24702019000200109&script=sci_arttext
 AOAC 923.09 Invert Sugar and Sirups pag 1016- 1017 in Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists (AOAC). Food composition; additives; natural contaminants vol 2 15th edition 1990 Edited by Kenneth Helrich
<https://core.ac.uk/download/pdf/493037565.pdf>



- Barrios, H., A., Guevara, V., Y., Dopico, R., D., San Juan, R., A. N. (2024). Evaluación de paquetes tecnológicos nutricionales en el cultivo del tomate, como alternativa a la fertilización química. *Icidca sobre los derivados de la caña de azúcar*, 58(2), 45-52.
<https://www.revista.icidca.azcuba.cu/wp-content/uploads/2024/08/articulo-7.pdf>
- Beltrán, P., M. E. (2014). La solubilización de fosfatos como estrategia microbiana para promover el crecimiento vegetal. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 15(1), 101-113.
http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0122-87062014000100009&script=sci_arttext
- Bernal, V., A., Núñez, J. D., Toledo, R. E. A., Delgado, M. I., Gómez-Kosky, A. (2024). Empleo de bioproductos en la aclimatización ex vitro de la caña de azúcar (*Saccharum spp*). *Icidca sobre los derivados de la caña de azúcar*, 58(3), 22-30.
<https://www.revista.icidca.azcuba.cu/wp-content/uploads/2024/12/articulo-3.pdf>
- Bieto, J. A., Cubillo, M. T., Mangas, I. B., Ormaechea, A. G. (2008). *Fundamentos de fisiología vegetal*. España: McGraw-Hill.
<https://inta.gob.ni/wp-content/uploads/2024/01/5.pdf>
- Cavalcante, V., Dobereiner, J. (1988). A new acid-tolerant nitrogen-fixing bacterium associated with sugarcane. *Plant and Soil*, 108(1), 23-31
<https://link.springer.com/article/10.1007/BF02370096>
- Chawla, N., Phour, M., Suneja, S., Sangwaan, S., Goya, S. (2014). *Gluconacetobacter diazotrophicus*: An overview. *Environment and Life Sciences*, 7(1) 1-10.
https://www.researchgate.net/profile/Manisha-Phour/publication/320224539_Gluconacetobacter_diazotrophicus_An_overview/links/59d5bf200f7e9b7a7e48a298/Gluconacetobacter-diazotrophicus-An-overview.pdf
- Fernández, D.J., Abad, R.E.M., Salgado-Pulido, J.M. (2019). Efecto de *Gluconacetobacter diazotrophicus* en el cultivo del tomate (*Solanum lycopersicum L.*). *Avances*, 21(3), 264-275.
<https://www.redalyc.org/journal/6378/637869483001/637869483001.pdf>
- Kumar, A., Kumari, M. S., Sinha, S K, Singh, A K., (2024). Isolation and Biochemical Characterization of Endophytic Bacterium from Native *Gluconacetobacter diazotrophicus* Sugarcane Cultivar of Middle Gangetic Plains of India. *Indian Journal of Ecology*, 51 (1), 104-112.
DOI:10.55362/IJE/2024/4202
- Martínez, C. J. L., Calderón, S. J. V. (2005). La función y transporte del ácido L- málico en las plantas: un dicarboxílico estrella. *Revista de Educación Bioquímica*, 24(002), 39-46.
<http://www.facmed.unam.mx/publicaciones/ampb/numeros/2005/02/2005-volumen-24-numero-2.pdf#page=6>
- Mishra, P., Dash, D. (2014). Rejuvenation of Biofertiliser for Sustainable Agriculture Economic Development Consilience. *Journal of Sustainable Development*, 11(1), 41-61.
<https://www.jstor.org/stable/26188729>
- Moreno, R. A. (2018). Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal: una alternativa de biofertilización para la agricultura sustentable. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 20(1), 68-83.
<https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v20n1.73707>
- Muñoz, V. A., Sáens, G. A., López, L.I. (2014). Ácido Cítrico: Compuesto interesante. *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila*, 6(12), 18-23.
https://www.academia.edu/download/54702568/4_acido_citrico_informacion.pdf
- Nieto, P., Carlos, G., Savino, M.J., Bertini, E.V., Sanchez, L.A. (2014). Gluconic acid produced by *Gluconacetobacter diazotrophicus* Pa15 possesses antimicrobial properties. *Research in Microbiology*, 165(7), 549-558
[.https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0923250814001028](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0923250814001028)
- Paredes, M., Espinosa, D. (2010). Ácidos orgánicos producidos por rizobacterias que solubilizan fosfatos: una revisión crítica. *Terra Latinoamericana.*, 28(1), 61-70.
https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0187-57792010000100007&script=sci_arttext
- Pineda, P. S. (2019). Producción de biofertilizante a partir de la fermentación de vinazas azucareras por *Gluconacetobacter diazotrophicus*. (Trabajo de investigación presentado como requisito parcial para optar al título de: Magíster en Ingeniería – Ingeniería Química). Universidad Nacional de Colombia –Sede Manizales Facultad de Ingeniería y Arquitectura, Departamento de Ingeniería Química Manizales, Colombia.
<https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/76021>
- Quattrocchi, O. A., Abelaria S., Laba R. F. (1992). *Introducción a la HPLC. Aplicación y Práctica*. Artes Gráficas Farro.

- https://www.researchgate.net/publication/315771927_Introduccion_a_la_HPLC_Aplicacion_y_Practica
Rahman K. M. A., Zhang, D. (2018). Effects of Fertilizer Broadcasting on the Excessive Use of Inorganic Fertilizers and Environmental Sustainability. *Sustainability*, 10 (3), 759.
<https://www.mdpi.com/2071-1050/10/3/759>
- Restrepo, G.M., Rincón, A., Sánchez, Ó.J. (2023). Kinetic Analysis of *Gluconacetobacter diazotrophicus* Cultivated on a Bench Scale: Modeling the Effect of pH and Design of a Sucrose-Based Medium. *Fermentation*, 9, 705.
<https://www.mdpi.com/2311-5637/9/8/705>
- Ríos, R., Y. (2016). Interacción de la bacteria *Gluconacetobacter Diazotrophicus* y hortalizas de raíz. *Cultivos Tropicales*, 37 (especial) 28-32.
http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0258-59362016000500004&script=sci_arttext&tlng=en
- Schalle G. E., Bishopp A., Kieber J. J. (2015). The Yin-Yang of Hormones: Cytokinin and Auxin. *Interactions in Plant Development*. *Plant Cell*, 27(1), 44–63.
<https://academic.oup.com/plcell/article-abstract/27/1/44/6097886>
- Schmelz, E. A., Engelberth, J., Alborn, H. T., O'Donnell, P., Sammons, M., Toshima, H., & Tumlinson, J. H. (2003). Simultaneous analysis of phytohormones, phytotoxins, and volatile organic compounds in plants. *National Academy of Sciences*. 100(18), 10552–10557
<https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.1633615100>
- Vega, C. P., Canchignia, M. H., González, M., Seeger, M. (2016). Biosynthesis of indole-3-acetic acid and plant growth promoting by bacteria. *Cultivo Tropical*, 37(especial), 33-9.
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362016000500005
- Vidal, V., Vio, S., García, S., Bernabeu, P., Luna, F., Garbi, M., Martínez, S. (2017). Promoción del crecimiento de plantas de tomate inoculadas con *Gluconacetobacter diazotrophicus* y *Burkholderia tropica*. XI Reunión Nacional Científico-Técnica de Biología de Suelos- Corrientes (Argentina). *Agrotecnia* 25. REBIOS. p.47
<https://scholar.archive.org/work/pxiob6yibfandpxce6uksnfboc/access/wayback/http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/118703/Documento.pdf?sequence=1>
- Villanueva, M., C. (2015). Efecto de la aplicación de ácido oxálico como nematocida sobre la calidad de la judía verde (*Phaseolus vulgaris* var. *Nassau*), Universitat Politècnica de Catalunya.
<https://upcommons.upc.edu/handle/2099.1/25195>

CONTRIBUCIÓN AUTORAL

- Jahyla H. Granados López:** Conceptualización, Curación de datos, Adquisición de fondos, Investigación, Metodología, Administración de proyecto, Recursos, Software, Supervisión, Redacción-borrador original.
- Wu Songna:** Curación de datos, Adquisición de fondos Investigación, Metodología, Administración de proyecto, Recursos, Software, Supervisión.
- Li Kailong, Vivian León Fernández:** Conceptualización, Curación de datos, Metodología, Supervisión.
- Zhang Xin, Daisy Dopico Ramírez:** Conceptualización, Análisis formal, Curación de datos, Investigación, Metodología, Software, Supervisión.

En este artículo no existen conflicto de interes entre los autores.

