

AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS ENDÓFITAS DEL MANGLAR CON CAPACIDAD DE TOLERAR ALTAS CONCENTRACIONES DE NaCl

Dani Alexander Rolong Orozco
CC 1.001.869.558
Código estudiantil: 201821695771
Correo: Dani.rolong@unisimon.edu.co

Trabajo de Investigación del Programa de Microbiología

Tutor:

Hernando José Bolívar Anillo

Antecedentes

Los bosques de manglar son un ecosistema conformado por especies vegetales leñosas arbóreas y halófilas llamadas mangles, este ecosistema se caracteriza por su locación; ya que se desarrolla en zonas mareales, estuarinas, intermales y ribereñas de las costas tropicales y subtropicales (Vera & Martínez, 2013). Dichas zonas son caracterizadas por presentar un ambiente dinámico, ya que poseen una gran biodiversidad de fauna, flora, especies fúngicas y de microorganismos. Los bosques de manglar son un ecosistema altamente relevante desde el punto de vista biológico, económico, cultural, científico etc. Además la ONU reconoce a los bosques de manglar como uno de los mayores captadores de gases de efecto invernadero como lo es el CO₂ (Lee *et al.*, 2014; Polidoro *et al.*, 2010).

A nivel mundial los manglares cubren una superficie aproximadamente de 150.000 km² (Barbier, 2016; Giri *et al.*, 2011; Hamilton y Casey, 2016). En Latino América a revisten un área que oscila entre los 3,58 y 4,54 x 10⁶ ha. En Colombia, cubren un área aproximada de 379,954 ha, siendo 69,894 ha ubicadas en el litoral Caribe. En el Caribe colombiano las especies *Avicennia germinans* y *Rhizophora mangle* son las más abundantes (Agudelo *et al.*, 2015; Álvarez-León, 2003). El departamento del Atlántico actualmente cuenta con alrededor de 613 ha y se estima que solo queda el 9% de los bosques de mangle (Bolívar y Sanchez, 2020).

En la actualidad, los bosques de manglar se están viendo amenazados por la alta salinidad presente en este ecosistema convirtiéndose en su mayor amenaza (Ellison, 2015; Giri *et al.*, 2011). Sin embargo, este ecosistema es una fuente



potencial de comunidades microbianas que incluyen bacterias, hongos, algas y protozoarios (Holguín *et al.*, 2001). Estos microorganismos juegan un papel fundamental tanto en el funcionamiento como en el mantenimiento del ecosistema (Andreote *et al.*, 2012). Puesto que son los responsables de la adaptación y sobrevivencia de las plantas de mangle, a condiciones extremas de dichos sedimentos, esto último gracias a la interacción dada por la liberación de exudados ricos en vitaminas y azúcares de las raíces del mangle, las cuales son favorables para el establecimiento y proliferación de las comunidades microbianas sobre la superficie de la raíz, que de alguna u otra forma favorecen a la planta a través de mecanismos tales como la fitoestimulación, la biofertilización y el control de fitopatógenos (Bashan & Holguín; 2002).

Objetivos:

Objetivos generales

- Aislar y caracterizar bacterias endófitas tolerantes al NaCl de *Avicennia germinans* de los bosques de manglar del litoral del departamento del Atlántico.

Objetivos específicos

- Determinar la tolerancia de las bacterias a diferentes concentraciones de cloruro de sodio (NaCl).
- Evaluar la capacidad de promoción de crecimiento vegetal de las bacterias endófitas tolerantes al NaCl de *Avicennia germinans*.

Materiales y Métodos:

Hojas sin signos de enfermedad se recolectaron de *A. germinans*, en la Ciénaga de Balboa (Puerto Colombia/ Atlántico). Las hojas se colocaron en bolsas herméticas estériles y se transportaron al laboratorio en nevera portátil a temperatura de 5°C. Posteriormente, cada muestra se esterilizó superficialmente por medio de un lavado con agua de grifo con el fin de eliminar restos de suelo adherido. Luego se lavaron con etanol al 80% por 1 minuto, seguido de un lavado con hipoclorito de sodio al 4% durante 5 minutos, finalizando con 8 lavados seguidos con agua estéril. Las hojas se cortaron en fragmentos pequeños con la ayuda de un bisturí estéril y fueron maceradas en un mortero estéril que contenía 3 mL de solución salina estéril al 0.9%. El líquido obtenido fue cultivado en agar BHI incubado por 5 días a 25°C. Se realizó una Curva de tolerancia al cloruro de sodio en medio BHI con diferentes concentraciones de cloruro de sodio 2.5%, 10%, 15% y 20%. Se evaluó la actividad proteolítica mediante un medio de cultivo suplementado con leche desnatada. La actividad amilolítica fue evaluada en medio TSA y para evaluar la actividad se le adicionó al medio lugol para revelar, la presencia de halos transparentes alrededor



de las colonias. Se evaluó la capacidad de solubilizar fosfato en medio Pikovskaya's, en cuanto a la Solubilización de potasio se empleó el medio de cultivo Aleksandrov. Por último se evaluó la capacidad de fijación de nitrógeno en el medio semisólido libre de nitrógeno JMV, la presencia de crecimiento en los medios de cultivo indicará dicha capacidad.

Resultados

Se aisló un total de 7 aislados bacterianos dentro de las cuales 3 de las 7 cepas aisladas, presentaron un color anaranjado, una textura aterciopelada con forma convexa y las 5 cepas restantes presentaban colonias con una textura mucosida, con forma plana de color beige. Posteriormente 4 aislados fueron identificados como cocos gram positivos, dos como bacilos gram positivos y un bacilo gram negativo. La curva de tolerancia de NaCl, arrojó que el 100% de los aislados presentaron un crecimiento óptimo en 2.5%, 5%, 10%, 15% de NaCl, sin embargo sólo uno de los aislados creció en una concentración de NaCl al 20%. El 42.8% presentaron actividad proteolítica, el 57.1% poseen actividad amilolítica, el 100% de las cepas no presentaron la capacidad de solubilizar fosfato y potasio y en cuanto a la fijación de nitrógeno el 71.4% de los aislados poseen dicha capacidad.

Conclusiones

Esta investigación preliminar demuestra que las bacterias endófitas del manglar de la Ciénaga de Balboa pueden ser empleadas para aumentar la tolerancia de las plántulas y árboles de mangle a estrés salino y en la promoción de crecimiento vegetal y proponerlas como una posible estrategia de reforestación de dicho ecosistema. Sin embargo, es necesario que se exploren aún más los manglares y de esta manera conocer el potencial uso que tiene el microbiota endófito de este y la contribución directa en la conservación y recuperación del mismo. De esta manera se podría garantizar la prevalencia de este ecosistema natural a futuro, contribuyendo así en los aspectos económicos, sociales y turísticos a los que se encuentra vinculado.

Palabras claves: *Avicennia germinans*, bacterias endófitas, Ciénaga de Balboa, Puerto Colombia, manglares.

Background

Mangrove forests are an ecosystem made up of woody tree and halophilic plant species called mangroves, this ecosystem is characterized by its location; since it develops in tidal, estuarine, intertidal and riparian zones of the tropical and subtropical coasts (Vera & Martínez, 2013). These areas are characterized by a

dynamic environment, as they have a great biodiversity of fauna, flora, fungal species and microorganisms. Mangrove forests are a highly biologically, economically, culturally, scientifically relevant ecosystem. In addition, the UN recognizes mangrove forests as one of the largest greenhouse gas collectors such as CO₂ (Lee et al., 2014; Polidoro et al., 2010).

Globally, mangroves cover an area of approximately 150,000 km² (Barbier, 2016; Giri et al., 2011; Hamilton and Casey, 2016). In Latin America they cover an area ranging from 3.58 to 4.54 x 10 ha. In Colombia, they cover an area of approximately 379,954 hectares, with 69,894 hectares located on the Caribbean coast. In the Colombian Caribbean the species *Avicennia germinans* and *Rhizophora mangle* are the most abundant (Agudelo et al., 2015; Álvarez-León, 2003). The department of the Atlantic currently has about 613 ha and it is estimated that only 9% of mangrove forests remain (Bolívar and Sánchez, 2020).

Currently, mangrove forests are being threatened by the high salinity present in this ecosystem becoming its biggest threat (Ellison, 2015; Giri et al., 2011). However, this ecosystem is a potential source of microbial communities that include bacteria, fungi, algae and protozoa (Holguín et al., 2001). These microorganisms play a fundamental role in the functioning and maintenance of the ecosystem (Andreote et al., 2012). Since they are responsible for the adaptation and survival of mangrove plants, to extreme conditions of such sediments, the latter thanks to the interaction given by the release of exudates rich in vitamins and sugars from the roots of the mangrove, which are favorable for the establishment and proliferation of microbial communities on the surface of the root, which in some way favor the plant through mechanisms such as plant stimulation, biofertilization and control of plant pathogens (Bashan & Holguín; 2002).

Objectives:

General objectives

- Isolate and characterize endophytic bacteria tolerant to the NaCl of *Avicennia germinans* from the mangrove forests of the coast of the Atlantic department.

Specific objectives • Determine the tolerance of bacteria to different concentrations of sodium chloride (NaCl).

- Evaluate the ability of endophytic bacteria tolerant to *Avicennia germinans* to promote plant growth.

Materials and Methods:

Leaves without signs of disease were collected from *A. germinans*, in the Ciénaga de Balboa (Puerto Colombia/ Atlántico). The leaves were placed in sterile airtight bags and transported to the laboratory in a portable refrigerator at a temperature of

5°C. Subsequently, each sample was sterilized superficially by means of a wash with tap water in order to remove traces of adhered soil. They were then washed with 80% ethanol for 1 minute, followed by a 4% sodium hypochlorite wash for 5 minutes, ending with 8 washes followed by sterile water. The leaves were cut into small fragments with the help of a sterile scalpel and macerated in a sterile mortar containing 3 mL of 0.9% sterile saline. The liquid obtained was cultured in BHI agar incubated for 5 days at 25°C. A sodium chloride tolerance curve was performed in BHI medium with different sodium chloride concentrations of 2.5%, 10%, 15% and 20%. Proteolytic activity was evaluated using a culture medium supplemented with skimmed milk. Amylolytic activity was evaluated in TSA medium and to evaluate the activity was added to the lugol medium to reveal the presence of transparent halos around the colonies. The ability to solubilize phosphate in Pikovskaya's medium was evaluated, in terms of potassium solubilization the Aleksandrov culture medium was used. Finally, the nitrogen fixation capacity in the nitrogen-free semi-solid medium VMY was evaluated, the presence of growth in the culture media shall indicate this capacity.

Results

A total of 7 bacterial isolates were isolated, of which 3 of the 7 isolated strains had an orange color, a velvety texture with a convex shape and the remaining 5 strains had colonies with a mucoid texture, with a flat beige color. Subsequently 4 isolates were identified as gram-positive coconuts, two as gram-positive bacilli and one gram-negative bacillus. The tolerance curve of NaCl showed that 100% of the isolates had an optimal growth in 2.5%, 5.10% of NaCl, but only one of the isolates grew in a concentration of NaCl to 20%. The 42.8% had proteolytic activity, 57.1% had amylolytic activity, 100% of the strains did not have the ability to solubilize phosphate and potassium and in nitrogen fixation 71.4% of the isolates have this capacity.

Conclusions

This preliminary research shows that endophytic bacteria from the mangrove of Balboa Swamp can be used to increase the tolerance of saplings and mangrove trees to saline stress and to promote plant growth and propose them as a possible Reforestation strategy for this ecosystem. However, it is necessary to further explore the mangroves and in this way know the potential use that the endophyte microbiota has of this and the direct contribution in its conservation and recovery. In this way, the prevalence of this natural ecosystem could be guaranteed in the future, thus contributing to the economic, social and tourist aspects to which it is linked.

Keywords: *Avicennia germinans*, endophytic bacteria, Ciénaga de Balboa, Puerto Colombia, mangroves.



REFERENCES

1. Agudelo, C., Bolívar, J., Polanía, J., Urrego, L., Yepes, A. y Sierra, A., 2015. Estructura y composición florística de los manglares de la bahía de Cispatá, Caribe colombiano. *Revista de Biología Tropical* 63: 1137-1147.
<https://www.redalyc.org/journal/449/44942283021/html/>
2. Alongi, D.M. 1988. Bacterial productivity and microbial biomass in tropical mangrove sediments. *Microb.Ecol.* 15:59-79 <https://doi.org/10.1007/BF02012952>
3. Álvarez León, R., (2003). Los manglares de Colombia y la recuperación de sus áreas degradadas: revisión bibliográfica y nuevas experiencias. *Madera y Bosques*, 9 (1),3-25.[fecha de Consulta 26 de Octubre de 2022]. ISSN: 1405-0471. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61790101>
4. Amador, A., G. Holguin y Y. Bashan. 1999. Isolation of sulfate reducing bacteria and anoxygenic photosynthetic bacteria from mangrove aerial roots and sediments (resultados no publicados).
5. Andreote, F., Jiménez, D., Chaves, D., Dias, A., Luvizotto, D., Dini-Andreote, F., de Melo, I. (2012). The microbiome of Brazilian mangrove sediments as revealed by metagenomics. *PLoS ONE*, 7(6). <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0038600>
6. Archana, G., Buch, A., & Naresh, K. (2012). Microorganisms in sustainable agriculture and biotechnology. Pivotal role of organic acid secretion by rhizobacteria in plant growth promotion, (3)1–829. Springer, India.
<https://doi.org/10.1007/978-94-007-2214-9>
7. Bashan, Y. y Holguín, G. (2002). Bacterias promotoras del crecimiento vegetal: una herramienta potencial para la reforestación de manglares áridos. *Árboles* , 16 (2), 159-166
8. Bayona, FE (2016). Análisis multitemporal de los ecosistemas de manglar presentes en la ciénaga de mallorquín, departamento del Atlántico. Recuperado de: <http://hdl.handle.net/10654/15799>.
9. Berger, U., Rivera-Monroy, V. H., Doyle, T. W., Dahdouh-Guebas, F., Duke, N. C., Fontalvo-Herazo, M. L., Hildenbrandt, H., Koedam, N., Mehlig, U., Piou, C., & Twilley, R. R. (2008). Advances and limitations of individual-based models to

analyze and predict dynamics of mangrove forests: A review. *Aquatic Botany*, 89(2), 260–274. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2007.12.015>

10. Bibi, F., Ullah, I., Alvi, S., Bakhsh, S., Yasir, M., Al-Ghamdi, A., & Azhar, E. (2017). Diversity and bioprospecting potential of rhizo and endophytic bacteria from two mangrove plants in Saudi Arabia. *Genetics and Molecular Research*, 16(2), 1–12. <http://doi.org/10.5897/AJMR2017.8552>

11. Bolívar-Anillo, H. J., Anfuso, G., Chacón Abarca, S., Badillo Romero, M. D., Villate Daza, D. A., Serrano, M. C., Sánchez Moreno, H. 2020. Natural processes and human actuations: impacts on mangrove forests of South America. *Revista Costas*, 2(1): 211-232. doi: 10.26359/costas.1802

12. Bolívar-Anillo, H.J., Sánchez, H., Fernandez, R., Villate, D., Anfuso, G., 2019. An Overview on Mangrove Forests Distribution in Colombia : an Ecosystem at Risk. *J. Aquat. Sci. Mar. Biol.* 2: 16–18.

13. Castro, R.A., Quecine, M.C., Lacava, P.T. et al. Isolation and enzyme bioprospection of endophytic bacteria associated with plants of Brazilian mangrove ecosystem. *SpringerPlus* 3, 382 (2014). <https://doi.org/10.1186/2193-1801-3-382>

14. Chacón Abarca, S., Serrano, M. C., Bolívar-Anillo, H. J., Villate Daza, D. A., Sánchez Moreno, H., & Anfuso, G. (2020). Bosques de manglar del Caribe Norte Colombiano: Análisis, evolución y herramientas de gestión. *Revista Latinoamericana De Recursos Naturales*, 16(1), 31-54. Recuperado a partir de <https://revista.itson.edu.mx/index.php/rlrn/article/view/289>

15. Dias, A., Andreote, F., Andreote, F., Lacava, P., Sá, A., Melo, I., & Azevedo, J. (2009). Diversity and biotechnological potential of culturable bacteria from Brazilian mangrove sediment. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(7), 1305–1311. <http://doi.org/10.1007/s11274-009-0013-7>

16. Dourado, M. N., Ferreira, A., Araújo, W. L., Azevedo, J. L., & Lacava, P. T. (2012). The Diversity of Endophytic Methylo trophic Bacteria in an Oil-Contaminated and an Oil-Free Mangrove Ecosystem and Their Tolerance to Heavy Metals. *Biotechnology Research International*, 2012, 1–8. <http://doi.org/10.1155/2012/759865>

17. Duke, N. C., Meynecke, J. O., Dittmann, S., Ellison, A. M., Anger, K., Berger, U., ... & Dahdouh-Guebas, F. (2007). A world without mangroves?. *Science*, 317(5834), 41-42. DOI: 10.1126/ciencia.317.5834.41b

18. Ellison, J. C. (2015). Vulnerability assessment of mangroves to climate change and sea-level rise impacts. *Wetlands Ecology and Management*, 23(2), 115–137. <https://doi.org/10.1007/s11273-014-9397-8>
19. Etesami, H., & Alikhani, H. A. (2019). Halotolerant Plant Growth-Promoting Fungi and Bacteria as an Alternative Strategy for Improving Nutrient Availability to Salinity-Stressed Crop Plants. In *Saline Soil-based Agriculture by Halotolerant Microorganisms*. https://doi.org/10.1007/978-981-13-8335-9_5
20. Ezcurra, E., O. Aburto y L. Rosenzweig. 2009. Los riñones del mundo: ¿Por qué debemos proteger los manglares de México? *Investigación Ambiental*. Volumen 1. Número 2. 202-206 pp. <https://biblioteca.semarnat.gob.mx/janium/Documentos/Ciga/agenda/DOFsr/INVEA MB000018.pdf>
21. Galindo, T., Polanía, J., Sánchez, J., Moreno, N., Vanegas, J., & Holgín, G. (2006). Efecto de inoculantes microbianos sobre la promoción de crecimiento de plántulas de mangle y plantas de *Citrullus vulgaris* -San Andrés Isla, Colombia. *Acta Biológica Colombiana*, 11(1), 83–97. http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120548X2006000100007&script=sci_arttext
22. García, S.C. (2011). Bacterias simbióticas fijadoras de nitrógeno. *Cuadernos de Tomás*, (3), 173-186. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3761553>
23. Gómez Osorio, L. M. (2017). Aislamiento de bacterias solubilizadoras de fosfato nativas de la ciénaga de Mallorquín en el departamento del Atlántico, Colombia. <https://hdl.handle.net/10901/17616>
24. Haldar, S., & Nazareth, S. W. (2018). Taxonomic diversity of bacteria from mangrove sediments of Goa: metagenomic and functional analysis. *3 Biotech*, 8(10), 0. <http://doi.org/10.1007/s13205-018-1441-6>
25. Herrera, L. (2015). Microorganismos productores de enzimas hidrolíticas provenientes del oligoqueto antártico, *Grania* sp. <http://www.iau.gub.uy/wp-content/uploads/2018/11/Herrera-2015.pdf>
26. Holguin, G., Bashan, Y., Puente, E., Carrillo, A., Bethlenfalvai, G., Rojas, A., ... & Hernández, J. P. (2003). Promoción Del Crecimiento En Plantas Por Bacterias De La Rizosfera Plant Growth Promotion By Rhizosphere Bacteria. *Agricultura Técnica en México*, 29(2). <https://www.redalyc.org/pdf/608/60829210.pdf>

27. Holguin, G., M.A. Guzman y Y. Bashan. 1992. Two new nitrogen-fixing bacteria from the rhizosphere of mangrove trees: Their isolation, identification and in vitro interaction with rhizosphere *Staphylococcus* sp. *FEMS Microbiol. Ecol.* 101:207-216. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1992.tb05777.x>

28. Holguin, G., Vazquez, P., & Bashan, Y. (2001). The role of sediment microorganisms in the productivity, conservation, and rehabilitation of mangrove ecosystems: an overview, 265–278. <http://doi.org/10.1007/s003740000319>

29. Khianggam, S., Techakriengkrai, T., Raksasiri, B., Kanjanamaneesathian, M., & Tanasupawat, S. (2013). Isolation and screening of endophytic bacteria for hydrolytic 57 enzymes from plant in mangrove forest at Pranburi, Prachuap Khiri Khan, Thailand. In *Endophytes for plant protection: the state of the art* (pp. 279–284). Retrieved from http://dpg.phytomedizin.org/fileadmin/daten/04_Verlag/02_SP/11_PPPHE_2013/02_94-sp-2013-ppphe-2.pdf

30. Lee, S. Y., Primavera, J. H., Dahdouh-Guebas, F., McKee, K., Bosire, J. O., Cannicci, S., Diele, K., Fromard, F., Koedam, N., Marchand, C., Mendelssohn, I., Mukherjee, N., & Record, S. (2014). Ecological role and services of tropical mangrove ecosystems: a reassessment. *Global Ecology and Biogeography*, 23(7), 726–743. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/geb.12155>

31. Lee, S.Y., Primavera, J.H., Dahdouh-Guebas, F., Mckee, K., Bosire, J., Cannicci, S., et al., 2014. Ecological role and services of tropical mangrove ecosystems: A reassessment. *Global Ecology and Biogeography* 23: 726–743. <https://doi.org/10.1111/geb.12155>

32. Martins, N. (2004). Os fosfatos na cana-de-açúca. Escola Superior de agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 87. <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/111141/tde-23112004-163145/publico/nilo.pdf>

33. Matondkar, S.G.P., S. Mahtani y S. Mavinkurve. 1981. Studies on mangrove swamps of Goa: I. Heterotrophic bacterial flora from mangrove swamps. *Mahasagar-Bulletin of the National Institute of Oceanography* 14:325-327. <http://ijs.nio.org/index.php/msagar/article/view/2387>

34. Miles, DH, Kokpol, U., Chittawong, V., Tip-Pyang, S., Tunsuwan, K. y Nguyen, C. (1998). Bosques de manglares: la importancia de la conservación como recurso biológico para la diversidad de ecosistemas y la utilización como fuente de constituyentes químicos con valor medicinal y agrícola potencial. *IUPAC*, 70 (11), 1-9. URL: <http://www.iupac.org/symposia/proceedings/phuket97/miles.html>

35. Morita R. Y. (1975). Psychrophilic bacteria. *Bacteriological reviews*, 39(2), 144–167. <https://doi.org/10.1128/br.39.2.144-167.1975>

36. Nosrati, R., Owlia, P., Saderi, H., Rasooli, I., & Malboobi, M.A. (2014). Phosphate solubilization characteristics of efficient nitrogen fixing soil *Azotobacter* strains. *Iranian journal of microbiology*, 6(4), 285
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4367947/>

37. Odum, W.E. y E.J. Heald. 1975a. Mangrove forests and aquatic productivity. pp. 129-136. In: A.D. Hasler (ed.). *Coupling of land and water systems; Ecological studies.*, New York: Springer Verlag. https://doi.org/10.1007/978-3-642-86011-9_5

38. Pérez, E., Sulbaran, M., Ball, M.M. & Yarzabal, L.A. (2007). Isolation and characterization of mineral phosphate-solubilizing bacteria naturally colonizing a limonitic crust in the southeastern Venezuelan region. *Soil Biol Biochem.* 39:2905-2914 <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.06.017>

39. Reyes, M., Aguilar, C., Prado, L., & Martínez, J. (2011). Residuos agroindustriales para la producción de proteasas fúngicas. *Cienciabiota*, 27.

40. Saghafi, D., Delangiz, N., Lajayer, B. A., & Ghorbanpour, M. (2019). An overview on improvement of crop productivity in saline soils by halotolerant and halophilic PGPRs. *3 Biotech*, 9(7), 1–14. <https://doi.org/10.1007/s13205-019-1799-0>

41. Sánchez-Moreno, H., Bolívar-Anillo, H. J., Villate-Daza, D. A., Escobar-Olaya, G., & Anfuso, G. (2019). Influencia de los impactos antrópicos sobre la evolución del bosque de manglar en Puerto Colombia (Mar Caribe colombiano). *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales*, 15(1), 01-16.
<https://doi.org/10.3390/w12041113>

42. Sánchez-Moreno, H., Bolívar-Anillo, H., Villate-Daza, D., Escobar-Olaya, G., & Anfuso, G. (2019). Influencia de los impactos antrópicos sobre la evolución del bosque de manglar en Puerto Colombia (Mar Caribe colombiano). *Revista Latinoamericana De Recursos Naturales*, 15(1), 01-16. Recuperado a partir de <https://revista.itson.edu.mx/index.php/rlrn/article/view/275>

43. Sandilyan, S. y Kathiresan, K. (2015). Los manglares como bioescudo: un hecho indiscutible. *Gestión costera y oceánica*, 103, 94-96. <https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2014.11.011>

44. Schmidt, H. 1981. Avances en ciencias y tecnología de los alimentos. Alfabetá Impresora, Santiago de Chile.

45. Teutli Hernández, C., Herrera-Silveira, J. A., Cisneros-de la Cruz, D. J., & Roman-Cuesta, R. M. (2020). Guía para la restauración ecológica de manglares: lecciones aprendidas. CIFOR.

46. Torres Salamanca, MG, & Ruíz Vivas, AF (2017). Identificación del cambio de la cobertura de manglar frente al desarrollo de la industria camaronesa en la Costa Caribe colombiana, a partir de la interpretación de imágenes de satélite. Obtenido de https://ciencia.lasalle.edu.co/ing_ambiental_sanitaria/735

47. Valero, N. O., Barraza, B., & Medina, A. M. (2011). Un escenario para el uso de microorganismos del manglar como inoculantes microbianos en Colombia. *Biociencias*, 6(1), 97–103. <https://doi.org/10.18041/2390-0512/bioc..1.2767>

48. Vera, A. y Martínez, M. (2013). Bosque de manglar: ambiente para la enseñanza y aprendizaje de la Ecología. *Multiciencias*, 13 (1),46-52.[fecha de Consulta 26 de Octubre de 2022]. ISSN: 1317-2255. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=90428348009>

49. Vera, A., & Martínez, M. (2013). Bosque de manglar: ambiente para la enseñanza y aprendizaje de la Ecología. *Multiciencias*, 13(1), 46–52. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=90428348009>

50. Yáñez-Arancibia, A., Twilley, R. R., & Lara-Domínguez, A. L. (1998). Los ecosistemas de manglar frente al cambio climático global. *Madera y bosques*, 4(2), 3-19. <https://doi.org/10.21829/myb.1998.421356>

51. Zahedi, H. (2016). Growth-Promoting Effect of Potassium-Solubilizing Microorganisms on Some Crop Species. *Potassium Solubilizing Microorganisms for Sustainable Agriculture* (pp. 1–331). <https://doi.org/10.1007/978-81-322-2776-2>

52. Zaldívar-Jiménez, A., Ladrón-de-Guevara-Porras, P., Pérez-Ceballos, R., Díaz-Mondragón, S., & Rosado-Solórzano, R. (2017). US-Mexico joint Gulf of Mexico large marine ecosystem based assessment and management: Experience in community involvement and mangrove wetland restoration in Términos lagoon, Mexico. *Environmental Development*, 22, 206-213. <https://doi.org/10.1016/j.envdev.2017.02.007>