



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

PROGRAMA DE POSTGRADO EN EDAFOLOGÍA

INOCULACIÓN DE *Pseudomonas tolaasii* EN LA PRODUCCIÓN DE HORTALIZAS BAJO CONDICIONES DE INVERNADERO

JOSÉ MANUEL GUTIÉRREZ CAMPOS

T E S I S
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE :

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2017

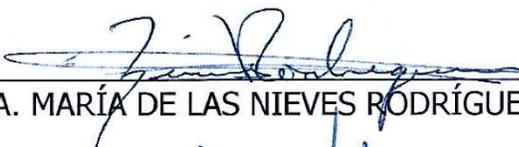
La presente tesis titulada: **Inoculación de *Pseudomonas tolaasii* en la producción de hortalizas bajo condiciones de invernadero**, realizada por el alumno: **José Manuel Gutiérrez Campos**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS

EDAFOLOGÍA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERA


DRA. MARÍA DE LAS NIEVES RODRÍGUEZ MENDOZA

ASESOR


DR. JUAN JOSÉ ALMARAZ SUÁREZ

ASESORA


DRA. MA. DEL CARMEN GUTIÉRREZ CASTORENA

ASESORA


DRA. MARTHA ELENA PEDRAZA SANTOS

ASESOR


DR. JOSÉ LUIS GARCÍA CUÉ

Montecillo, Texcoco, Estado de México, diciembre 2017.

INOCULACIÓN DE *Pseudomonas tolaasii* EN LA PRODUCCIÓN DE HORTALIZAS BAJO CONDICIONES DE INVERNADERO

José Manuel Gutiérrez Campos, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2017.

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue cuantificar el efecto de la inoculación de *Pseudomonas tolaasii* sobre el crecimiento, rendimiento y calidad de frutos de chile pimiento morrón y pepino producidas en cultivo sin suelo. En almácigo se llevó a cabo la producción de plántulas de chile pimiento morrón y pepino que constó de dos tratamientos (no inoculado, e inoculación con *P. tolaasii*) bajo un diseño experimental completamente al azar (DECA). Además, al trasplante se cortaron secciones delgadas del cepellón de las plántulas de los tratamientos inoculados. En microscopio equipado con lámpara fluorescente fueron capturadas imágenes secuenciales en 10x. Mosaico de imágenes se elaboraron y se analizaron en el programa Erdas, donde se obtuvo la localización de las bacterias de la rizósfera. En la producción de pepino y chile pimiento morrón se utilizó un DECA con arreglo factorial 2x2. Un factor fue la solución Steiner a concentraciones (50% y 75%) y el segundo factor con y sin inoculación con *P. tolaasii*, para un total de cuatro tratamientos por cultivo. En la evaluación de plántulas de chile pimiento morrón y pepino, la inoculación incrementó hasta 24% el volumen radical. La distribución de *P. tolaasii* en los dos cultivos fueron principalmente en la raíz y la materia orgánica ligeramente descompuesta. En la producción de pepino las plantas inoculadas con *P. tolaasii* e irrigadas solución Steiner 50% con presentaron mayor volumen radical. En pimiento la irrigación con solución Steiner 75% e inoculados con *P. tolaasii* incrementó los sólidos solubles totales. La inoculación de *Pseudomonas tolaasii* tiene efecto la fisiología de plántulas de chile pimiento morrón y pepino. La distribución de *P. tolaasii* en plántulas de chile pimiento morrón y pepino es influenciada por la zona rizosférica de cada especie. El crecimiento, la producción y la calidad de la cosecha de pepino es influenciada por la solución Steiner. En chile pimiento morrón la inoculación y la concentración de la solución Steiner no modifica el crecimiento y la producción.

Palabras clave: *Cucumis sativus*, *Capsicum annuum*, RPCV, sustentable, microcartografía de suelos.

INOCULATION OF *Pseudomonas tolaasii* IN THE PRODUCTION OF VEGETABLES UNDER GREENHOUSE CONDITIONS

José Manuel Gutiérrez Campos, M.C.
Colegio de Postgraduados, 2017.

ABSTRACT

The objective of the present work was to quantify the effect of inoculation of *Pseudomonas tolaasii* on the growth, yield and quality of bell peppers and cucumbers produced without soil. The production of seedlings of bell pepper and cucumber was carried out in seedbeds, which consisted of two treatments (not inoculated, and inoculation with *P. tolaasii*) under a completely randomized experimental design (CRED). In addition to the transplant, thin sections of the root ball of the inoculated treatments were cut. In microscope equipped with a fluorescent lamp, sequential images were captured in 10x. Mosaic images were developed and analyzed in the Erdas program, where the location of rhizospheric bacteria was obtained. In the production of cucumber and bell pepper, a CRED with a 2x2 factorial arrangement was used. One factor was the Steiner solution at concentrations (50% and 75%) and the second factor with and without inoculation with *P. tolaasii*, for a total of four treatments per culture. In the evaluation of bell pepper and cucumber seedlings, the inoculation increased the radical volume up to 24%. The distribution of *P. tolaasii* in the two crops was mainly in the root and in slightly decomposed organic matter. In the production of cucumber, plants inoculated with *P. tolaasii* and irrigated with 50% Steiner solution had a higher radical volume. In bell pepper, irrigation with 75% Steiner solution and inoculated with *P. tolaasii* increased the total soluble solids in fruit. Inoculation of *P. tolaasii* has effect on the physiology of bell pepper and cucumber seedlings. The distribution of *P. tolaasii* in bell pepper and cucumber seedlings is influenced by the rhizospheric zone of each species. In cucumber the growth, production and quality of harvest is influenced by Steiner solution. In bell pepper the inoculation and concentration Steiner solution does not modify the growth and production.

Key words: *Cucumis sativus*, *Capsicum annuum*, PGPR, sustainable, soil microcartography.

DEDICATORIA

A mi abuelo, Manuel Gutiérrez Iglesias en paz descansa: por inculcarme el camino del aprendizaje, el estudio, el esfuerzo y la superación, por sus consejos de vida y por haber sido, además de mi abuelo, un gran padre que estuvo en los mejores momentos para mí.

A mi abuela Elvira Fuentes Pérez, por su amor y sus enseñanzas, que dios me permita estar mucho tiempo más con ella.

A mi madre, Estefana Campos Murguía: por su apoyo incondicional y su amor en todo momento, por la educación, valores inculcados y el ejemplo de seguir adelante en cualquier circunstancia, que me han aprendido a crecer como persona y profesionista.

A mi pequeña familia, Karla Araceli García Zapién y Zoé Quetzaly Gutiérrez García: por su inmenso amor y apoyo incondicional, por compartir todos los retos que este logro manifestó y su comprensión desde principio a fin.

A mis hermanos, Nicole Anai Mendoza Campos y Bryan Omar Mendoza Campos: por el cariño, respeto y amor que nos tenemos.

A mi familia Gutiérrez y mi familia Campos: por ser parte de mi vida, de mi formación y por brindarme su apoyo y cariño.

Y por último a mi señor padre, José Gutiérrez Fuentes en paz descansa, que este orgulloso del hijo que dejo en la tierra.

AGRADECIMIENTOS

A los millones de mexicanos (as) que pagan impuestos, quienes, a través del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) han financiado mis estudios de postgrado y al Colegio de Postgraduados, en especial al programa de Postgrado de Edafología, por brindarme la oportunidad de realizar mis estudios de Maestría.

A la Dra. María de las Nieves Rodríguez Mendoza, por sus consejos y apoyo, tanto para poder realizar el trabajo de investigación de maestría como para mi desarrollo personal, además de ser paciente y una gran persona.

Al Dr. Juan José Almaraz Suárez, por transmitir sus conocimientos de microbiología, por el apoyo recibido para utilizar las instalaciones del laboratorio y equipo de Microbiología y por ser parte de este proyecto.

A la Dra. Ma. Del Carmen Gutiérrez Castorena, por enseñarme sus conocimientos sobre la ciencia del suelo, por el apoyo brindado para realizar parte de trabajo de tesis y ser pieza fundamental en mi proyecto de investigación.

A la Dra. Martha Elena Pedraza Santos, por sus observaciones y aportaciones y aceptar ser parte de este proyecto.

Al Dr. José Luis García Cué, por su paciencia y sus aportaciones en la parte estadística de esta investigación.

Al personal del laboratorio de Nutrición Vegetal y al del laboratorio de Génesis, Morfología y Clasificación de suelos, en especial al M.C. Patricio Sánchez Guzmán y a Pedro

A mis amigos que hice durante mi estancia en la maestría: Daniel, Erick, Santos, Carlos Patricia, Tania, Cesar, Guadalupe, Fabián, Fernando, Víctor, Luis, Ana, Paulina: por el apoyo mutuo brindado para poder realizar nuestros logros de maestría.

CONTENIDO

RESUMEN.....	iii
ABSTRACT	iv
LISTA DE CUADROS.....	x
LISTA DE FIGURAS.....	xii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.2 Objetivos	2
1.3 Hipótesis	3
2. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1 Producción de hortalizas en México.....	4
2.1.2 Cultivo de pepino.....	5
2.1.3 Cultivo de pimiento	6
2.2 Rizósfera.....	7
2.3 Rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal	8
2.3.1 Rizobacterias en la producción de hortalizas	9
2.3.2 <i>Pseudomonas tolaasii</i>	10
2.4 Micromorfología de suelos en el estudio de la microbiología.....	11
2.5 Análisis de imágenes y la microcartografía de suelos	16
3. MATERIALES Y MÉTODOS	19
3.1 Lugar de investigación	19
3.2 Material vegetal.....	19
3.3 Material Microbiológico	19
3.3.1 Preparación de inóculo para almácigos y producción de cultivos	19

3.3.2	Trasformación genética y preparación de inóculo de <i>P. tolaasii</i> para el estudio de su distribución <i>in situ</i> en la rizósfera de plántulas de chile pimiento morrón y pepino	20
3.4	Producción de plántulas de chile pimiento morrón y pepino	21
3.4.1	Variables evaluadas en la producción de plántulas de chile pimiento morrón y pepino.....	22
3.4.2	Análisis estadístico para la producción de plántulas de chile pimiento morrón y pepino.....	23
3.5	Distribución <i>in situ</i> de <i>P. tolaasii</i> en la rizósfera de plántulas de chile pimiento morrón y pepino	24
3.5.1	Elaboración de mosaico de las secuenciales de imágenes digitales de la distribución de <i>P. tolaasii</i> en plántulas de chile pimiento morrón y pepino	24
3.5.2	Cuantificación de las bacterias individuales o de colonias bacterianas.....	28
3.6	Análisis nutrimental de plántulas, plantas y frutos de pepino y chile pimiento morrón	30
3.7	Producción de pepino y chile pimiento morrón	32
3.7.1	Variables evaluadas en la producción de pepino y chile pimiento morrón	33
3.7.2	Variables evaluadas en la calidad de la cosecha de frutos de pepino	34
3.7.3	Variables evaluadas en la calidad de la cosecha de frutos de chile pimiento morrón	34
3.7.4	Análisis estadístico en producción y la calidad de la cosecha de frutos de pepino y chile pimiento morrón	35
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	36
4.1	Producción de plántulas de chile pimiento morrón y pepino	36

4.2 Distribución <i>in situ</i> de <i>P. tolaasii</i> en la rizósfera de plántulas de chile pimiento morrón y pepino	43
4.2.1 Población bacteriana de <i>P. tolaasii</i> y población de bacterias en plántulas de chile pimiento morrón y pepino.....	44
4.2.2 Distribución de <i>P. tolaasii</i> en la rizósfera de plántulas de chile pimiento morrón y pepino.....	45
4.3 Producción de pepino	51
4.3.1 Calidad de la cosecha de frutos de pepino.....	56
4.4. Producción de chile pimiento morrón	60
.....	65
4.4.1 Calidad de la cosecha de frutos de chile pimiento morrón	65
5. CONCLUSIONES.....	68
6. RECOMENDACIONES.....	69
6.1 Para productores	69
6.2 Para futuras investigaciones	69
7. LITERATURA CITADA	70
8. ANEXOS.....	88

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Estados de la República Mexicana con mayor producción de pepino (<i>Cucumis sativus</i>).....	5
Cuadro 2. Estados de la República Mexicana con mayor producción de chile pimiento morrón (<i>Capsicum annuum</i>).....	7
Cuadro 3. Principales propiedades de varios fluorocromos convencionales utilizados en la tinción de bacterias para el análisis de imágenes en microscopia de fluorescencia.	14
Cuadro 4. Principales propiedades de proteínas fluorescentes utilizadas en la transformación genética de bacterias para el análisis de imágenes en microscopia de fluorescencia.	16
Cuadro 5. Tratamientos establecidos para evaluar el crecimiento de plántulas de hortalizas inoculadas con <i>Pseudomonas tolaasii</i> en condiciones de invernadero.	22
Cuadro 6. Variables fotosintéticas estimadas en chile pimiento morrón y pepino a partir del equipo CIRAS-2.....	23
Cuadro 7. Campo de visión del microscopio petrográfico y de fluorescencia con diferentes objetivos de visión.	25
Cuadro 8. Tratamientos evaluados en la producción de pepino y chile pimiento morrón inoculadas con <i>Pseudomonas tolaasii</i> en hidroponía en condiciones de invernadero.	32
Cuadro 9. Matriz de confusión derivada de la selección de bacterias y espacio en mosaicos de luz fluorescente a objetivo 10x (píxeles de la selección del área de interés).	43
Cuadro 10. Distribución de <i>Pseudomonas tolaasii</i> individuales y/o colonias categorizadas por clases y su relación con diferentes componentes de la rizósfera de plántulas de chile pimiento morrón y pepino.....	46

Cuadro 11. Distribución de bacterias individuales y/o colonias categorizadas por clases y su relación con diferentes componentes de la rizósfera de plántulas de chile pimiento morrón y pepino.....	49
Cuadro 12. Concentración nutrimental de macronutrientes y micronutrientes de frutos de pimiento obtenida por diferentes autores.	66

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de las propiedades fotofísicas de un fluorocromo	13
Figura 2. Imagen en campo de luz UV (a-b) e imagen en campo de luz infrarroja (c-d); las flechas indican la fluorescencia de máxima reflectancia de las bacterias en luz UV e Infrarroja de <i>Pseudomonas tolaasii</i> (a y c). Las flechas en las imágenes b y d indican los polígonos correspondientes a las fluorescencias de las bacterias y <i>P. tolaasii</i>	27
Figura 3 Componentes de la rizósfera de chile pimiento morrón y pepino tomada en diferentes fuentes de luz. Luz polarizada plana (a), luz polarizada cruzada (b), luz polarizada cruzada con compensador (c) y luz incidente (d). La flecha indica la raíz del cultivo, el interior del triángulo señala la materia orgánica ligeramente descompuesta, el interior del cuadro puntualiza la materia orgánica moderadamente descompuestas; el interior del círculo muestra la materia orgánica amorfa.	29
Figura 4 Componentes de la rizósfera de chile pimiento morrón y pepino tomada en diferentes fuentes de luz. Luz polarizada plana (a), luz polarizada cruzada (b), luz polarizada cruzada con compensador (c) y luz incidente (d). El interior del rombo representa el sustrato perlita y el interior del rectángulo constituye la vermiculita.	30
Figura 5. Tasa de transpiración (A) y conductancia estomática (gs) (B) de plántulas de chile pimiento morrón inoculados con <i>Pseudomonas tolaasii</i>	37
Figura 6. Contenido relativo de clorofila en plántulas de chile pimiento morrón inoculados con <i>Pseudomonas tolaasii</i>	38
Figura 7. Volumen radical de plántulas de chile pimiento morrón inoculados con <i>Pseudomonas tolaasii</i>	39
Figura 8. Área foliar de plántulas de chile pimiento morrón inoculados con <i>Pseudomonas tolaasii</i>	40
Figura 9. Tasa fotosintética neta (Pn) de plántulas de pepino inoculados con <i>Pseudomonas tolaasii</i>	41

Figura 10. Diámetro de tallo de plántulas de pepino inoculados con <i>Pseudomonas tolaasii</i>	41
Figura 11. Volumen radical de plántulas de pepino inoculados con <i>Pseudomonas tolaasii</i>	42
Figura 12. Número de hojas del cultivo de pepino inoculados con <i>Pseudomonas tolaasii</i> e irrigados con dos concentraciones de solución Steiner.....	52
Figura 13. Altura de planta del cultivo de pepino inoculados con <i>Pseudomonas tolaasii</i> e irrigados con dos concentraciones de solución Steiner.....	53
Figura 14. Volumen radical del cultivo de pepino inoculados con <i>Pseudomonas tolaasii</i> e irrigados con dos concentraciones de solución Steiner.....	54
Figura 15. Área foliar y biomasa seca aérea del cultivo de pepino inoculados con <i>Pseudomonas tolaasii</i> e irrigados con dos concentraciones de solución Steiner.....	55
Figura 16. Rendimiento del cultivo de pepino inoculados con <i>Pseudomonas tolaasii</i> e irrigados con dos concentraciones de solución Steiner.....	56
Figura 17. Diámetro polar de frutos de pepino inoculados con <i>Pseudomonas tolaasii</i> e irrigados con dos concentraciones de solución Steiner.....	57
Figura 18. Sólidos solubles totales (SST) de frutos de pepino inoculados con <i>Pseudomonas tolaasii</i> e irrigados con dos concentraciones de solución Steiner.....	58
Figura 19. Biomasa seca de fruto de pepinos inoculados con <i>Pseudomonas tolaasii</i> e irrigados con dos concentraciones de solución Steiner.....	59
Figura 20. Diámetro de tallo durante la cinética de crecimiento del cultivo de chile pimiento morrón inoculados con <i>Pseudomonas tolaasii</i> e irrigados con dos concentraciones de solución Steiner.....	61
Figura 21. Número de hojas durante la cinética de crecimiento del cultivo de chile pimiento morrón inoculados con <i>Pseudomonas tolaasii</i> e irrigados con dos concentraciones de solución Steiner.....	62
Figura 22. Contenido relativo de clorofila (lecturas SPAD) durante la cinética de crecimiento del cultivo de chile pimiento morrón inoculados con	

<i>Pseudomonas tolaasii</i> e irrigados con dos concentraciones de solución Steiner.....	63
Figura 23. Concentración de N total del cultivo de chile pimiento morrón inoculados con <i>Pseudomonas tolaasii</i> e irrigados con dos concentraciones de solución Steiner.....	65
Figura 24. Cantidad de solidos solubles totales (SST) en frutos de chile pimiento morrón inoculados con <i>Pseudomonas tolaasii</i> e irrigados con dos concentraciones de solución Steiner.....	67

1. INTRODUCCIÓN

México es un importante productor y exportador mundial de hortalizas, principalmente hacia los Estados Unidos de América, aunque también ha iniciado mercado con otros países (FAO, 2014; SIAP, 2016; FAO-FAOSTAT, 2017). Cuenta con una amplia gama de ecosistemas, lo que permite producir alrededor de 77 especies de hortalizas, las principales son: jitomate, chile verde y pimientos, cebolla y pepino (Ayala y Carrera, 2012; SIAP, 2016).

En el creciente interés por la protección del medio ambiente y la disminución de la contaminación han surgido distintas tecnologías que permiten una nutrición sostenible, que conserve la fertilidad del suelo sin afectar la producción. La agricultura sustentable cumple con lo anterior, mediante distintas prácticas de manejo de plagas y fertilizantes, reutilización de desechos agrícolas y el uso de microorganismos benéficos, por ejemplo, las rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (RPCV) (Papadopoulos *et al.*, 2015; Tahami *et al.*, 2017).

Las RPCV les otorgan beneficios a sus hospederos mediante mecanismos directos (biofertilizantes y producción de fitohormonas) e indirectos (biocontrol de patógenos y tolerancia a estrés) (Stefan *et al.*, 2013; Ahemad y Kibret, 2014). Varias especies no patogénicas del género *Pseudomonas* han sido reportadas por promover el crecimiento vegetal mediante la solubilización del fósforo y potasio; además, de la producción de fitohormonas (auxinas), sideróforos y compuestos antimicrobianos (Ahemad y Kibret, 2014; Zaidi *et al.*, 2015; Bona *et al.*, 2016).

El género *Pseudomonas* se ha utilizado en distintos cultivos, con resultados positivos en el crecimiento, el rendimiento y/o la calidad de frutos. Los ejemplos son: en berenjena mejoró la germinación (Fu *et al.*, 2010), en tabaco y chile pimiento morrón permitió mayor longitud radical (Buono y Ulla, 2016), en jitomate aumentó el peso fresco de frutos y el número de frutos comerciales (Bona *et al.*, 2016). Otros ejemplos se han reportado en chile habanero que incrementó la altura de planta, peso de fruto fresco y el rendimiento

(Reyes *et al.*, 2014) y en pepino multiplicó el número de frutos por planta y el rendimiento (Gül *et al.*, 2013).

Por otro lado, la interacción de los microorganismos con los componentes del suelo y su biota son una incógnita. Existe un creciente interés por la distribución espacial de las bacterias en el suelo. Distintos autores han realizado investigaciones utilizando marcadores fluorescentes en muestras inalteradas de secciones delgadas de suelo (Eickhorst y Tippkötter, 2008; Gutiérrez *et al.*, 2016), en el cual se han observado, caracterizado y monitoreado la distribución de las poblaciones de microorganismos en el suelo (Li *et al.*, 2003); sin embargo, estos trabajos se realizaban en pequeñas áreas (0.282 mm²), observando su distribución en una sola imagen, limitando la comprensión de los fenómenos suscitados (Gutiérrez *et al.*, 2016; Sauzet *et al.*, 2017).

En la actualidad, se ha utilizado en el análisis de imágenes, la elaboración de mosaicos con secuencias de imágenes y alta resolución que acceden a investigaciones con mayores áreas de observación y mejor calidad (Gutiérrez *et al.*, 2016; Sauzet *et al.*, 2017). Además, se ha podido referenciar las imágenes que permiten el acoplamiento de diferentes mosaicos en distintas fuentes de luz, para relacionar y comprender rasgos y/o fenómenos de mejor manera, esto cede la posibilidad a trabajos más detallados y de mejor calidad (Gutiérrez *et al.*, 2016).

En este contexto, la pregunta de investigación propuesta es la siguiente: ¿Cuál es el efecto de la inoculación de *Pseudomonas tolaasii* sobre hortalizas producidas en invernadero y su distribución en la rizósfera y otros componentes del sustrato?

1.2 Objetivos

Objetivo general

- Analizar el efecto de la inoculación de *Pseudomonas tolaasii* sobre el crecimiento, rendimiento y calidad de frutos de hortalizas producidas en cultivo sin suelo.

Objetivos específicos

- Evaluar el crecimiento de plántulas de pepino y chile pimiento morrón por efecto de la inoculación de *Pseudomonas tolaasii*.
- Identificar la distribución *in situ* de *Pseudomonas tolaasii* en la rizósfera de plántulas de pepino y chile pimiento morrón crecidas en sustrato.
- Determinar el crecimiento, la producción y calidad del fruto en el cultivo de pepino y chile pimiento morrón por efecto de la inoculación de *Pseudomonas tolaasii* e irrigadas a dos concentraciones de la solución nutritiva en condiciones de invernadero.

1.3 Hipótesis

Hipótesis general

- Los cultivos de hortalizas, como pepino y chile pimiento morrón, responderán de manera diferencial a la inoculación de *Pseudomonas tolaasii*, bajo condiciones de invernadero.

Hipótesis específicas

- La inoculación de *Pseudomonas tolaasii* favorece el crecimiento de las plántulas y mejorara el estatus nutrimental de pepino y chile pimiento morrón.
- Las colonias de *Pseudomonas tolaasii* se agrupan principalmente en la raíz de plántulas de pepino y chile pimiento morrón.
- La inoculación de *Pseudomonas tolaasii* y la aplicación de la solución Steiner al 50% incrementan el crecimiento, el rendimiento y la calidad de fruto en el cultivo de pepino y chile pimiento morrón en comparación con plantas no inoculadas más solución Steiner al 75%.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Producción de hortalizas en México

Las hortalizas se definen como cultivos herbáceos o semileñosos cuyos productos son perecederos y sirven principalmente para consumo en estado natural (recién cosechado), sin embargo, también pueden utilizarse mediante procesos de industrialización (enlatados, congelados, deshidratados, encurtidos, etc.) (Giacconi y Escaff, 1997).

La producción mundial de hortalizas ha experimentado un incremento notable en los últimos años. En 1995, era de 571 millones de toneladas, y para el 2013, se estimó en 1,169 millones de toneladas de hortalizas en el mundo (FAO-FAOSTAT, 2017). México se encuentra en décimo lugar de productores y exportadores de hortalizas a nivel mundial y es el principal productor en América Latina (FAO, 2014). Además, cuenta con una amplia gama de climas a lo largo de su territorio, esto permite la producción de hortalizas durante todo el año, lo que atribuye una ventaja para satisfacer las demandas nacionales y en contra de sus competidores potenciales en la exportación (Financiera Rural, 2008). En el país se producen alrededor de 77 especies de hortalizas (Ayala y Carrera, 2012).

Las principales hortalizas producidas en México y su valor comercial en millones de pesos son: jitomate (\$20,640), chile y pimientos verdes (\$22, 585), cebolla (\$6,393), nopal (\$1,530), pepino (\$3,999), sandía (\$3,007) y tomate verde (\$3,027). Además, las hortalizas que se encuentran dentro de los veinte principales productos de exportación en México que generan mayores ingresos monetarios en millones de pesos son: jitomate (\$29,600), chile y pimientos verdes (\$16,113), cebolla (\$7,862), el pepino (\$7,659) y la sandía (\$5,920) (SIAP, 2016).

El subsector hortícola en México es el más dinámico en términos de producción y generación de dividendos. En promedio produce 9.74 millones de toneladas de hortalizas anualmente y aporta el 19% de la producción agrícola total. Por otro lado, la superficie agrícola estimada en la siembra de este subsector es de 3.8% y solo representa 6% de la producción total, por lo que genera grandes expectativas en la expansión de la producción y del desarrollo del país (Ayala y Carrera, 2012).

2.1.2 Cultivo de pepino

Las Cucurbitáceas son una familia de plantas de importancia debido que proveen a los seres humanos de fibras y frutos frescos; además, se pueden producir alrededor del mundo (Bisognin, 2002). El cultivo del pepino, perteneciente a esta familia, se considera originario de Asia, específicamente domesticado en la India, posteriormente fue introducido a Europa, de ahí fue llevado a América por Cristóbal Colón, donde fue extendido por todo el continente (López *et al.*, 2011).

El pepino tiene un elevado índice de consumo, pues es un alimento que se aprecia en fresco como industrializado (Marcano *et al.*, 2012). México es el octavo productor de pepino con 637,395 toneladas producidas en el año 2013 (FAO-FAOSTAT, 2017); mientras que en 2015 se convirtió en el tercer exportador del mundo de este cultivo (SIAP, 2016). Los principales estados productores en México se presentan en el Cuadro 1. En los últimos años, el incremento de la superficie sembrada ha otorgado mayores volúmenes de cosecha y mayores rendimientos (SIAP, 2016).

Cuadro 1. Estados de la República Mexicana con mayor producción de pepino (*Cucumis sativus*).

Estado	2013	2014	2015
	Toneladas		
Baja California	24,791	27,915	43,397
Guanajuato	26,573	27,436	33,595
Jalisco	10,484	13,364	17,487
Michoacán	88,616	95,102	80,374
Morelos	27,516	27,972	28,659
San Luis Potosí	2,606	6,385	15,728
Sinaloa	270,513	305,327	359,910
Sonora	62,045	74,777	113,970
Yucatán	32,675	39,497	28,156
Zacatecas	16,869	21,836	26,229

SIAP (2016).

2.1.3 Cultivo de pimiento

Las Solanáceas son una familia botánica que proveer productos para la alimentación humana, dentro de estas se encuentra el género *Capsicum* (Nuez *et al.*, 1996). El chile pimiento morrón pertenece a este género, el cual comprende varias especies, las más reconocidas son: *C. frutescens*, *C. chinense*, *C. baccatum*, *C. pubescens* y *C. annuum*. La mayor parte de chile pimiento morrón cultivados pertenecen a la especie *C. annuum*, por lo que la mayoría de autores aceptan, que esta especie, es la que engloba casi toda la variabilidad genética existente (Zapata *et al.*, 1992).

El origen de todas las especies del género *Capsicum* se encuentran en el continente americano (a excepción de *C. anomalum*). De América, el pimiento fue introducido a Europa, probablemente por Cristóbal Colón, partiendo de este acontecimiento, se distribuyó rápidamente por el mundo (Ibar y Juscafresca, 1987; Nuez *et al.*, 1996).

El pimiento dulce es una de las seis hortalizas más consumidas en el mundo, debido a que puede ser apreciada en fresco, en conserva, cocido, deshidratado para la preparación de pimentón en polvo y también, como materia prima para la obtención de oleorresinas para la industria alimentaria (Figuroa *et al.*, 2015). En México, el pimiento ocupa el segundo lugar dentro de los denominados chiles verdes, con un total del 16.7% de la producción; mientras que el primer lugar lo ocupa el tipo jalapeño que aporta el 33.7%. Los principales Estados productores de pimiento se encuentran en el Cuadro 2. El Estado que mayor aporta a la producción de chile pimiento morrón es Sinaloa con 56.44% de la producción nacional; Sonora ha aumentado la superficie de siembra en los últimos años, lo que le permite estar en el segundo lugar con una contribución del 17.38% del total nacional (SIAP, 2016).

Cuadro 2. Estados de la República Mexicana con mayor producción de chile pimiento morrón (*Capsicum annuum*).

Estado	2013	2014	2015
	Toneladas		
Baja California Sur	11,114	18,704	14,004
Guanajuato	23,307	21,148	36,253
Jalisco	7,310	17,849	23,659
Querétaro	4,932	5,032	18,078
Sinaloa	320,347	248,510	240,848
Sonora	164	26,087	74,182
Otros Estados*	10,026	27,293	19,670

*Otros Estados: Baja California, Coahuila, Chihuahua Durango, Hidalgo, México, Michoacán, Nayarit, Nuevo León, San Luis Potosí, Tamaulipas, Yucatán y Zacatecas. SIAP (2016).

2.2 Rizósfera

El termino rizósfera fue descrito por Lorenz Hiltner, como la capa del suelo influenciada por las raíces (Reinhold-Hurek *et al.*, 2015) y puede constituir hasta 3% de volumen total del suelo (Badalucco y Nannipieri, 2007). La rizósfera es distinta en regiones adyacentes, por lo cual está dividida en tres subáreas desde el punto de vista microbiológico: endorizósfera, rizoplano y ectorizósfera. La endorizósfera está constituida por el tejido cortical de la raíz colonizado por microorganismos; el rizoplano está conformado por la superficie de la raíz en el que residen los microorganismos y la ectorizósfera es la rizósfera externa que abarca la región del suelo que rodea la raíz hasta 2 mm a partir del rizoplano (Reinhold-Hurek *et al.*, 2015).

Las plantas a través de los exudados radicales emplean diferentes compuestos y productos carbonados derivados de la fotosíntesis y otros procesos biológicos (carbohidratos, aminoácidos, iones de ácidos orgánicos, vitaminas, flavonoides, quercetina) que intervienen en la interacción planta-microorganismos en la rizósfera. Varios autores han reportado que el 5-21% del carbono fijado fotosintéticamente es transportado a la rizósfera como exudados radicales, por esta razón, las raíces

proporcionan un nicho atractivo, rico en nutrientes para la proliferación de microorganismos; sin embargo, gradientes fisicoquímicos y la actividad bioquímica en la rizósfera diferencian el microhabitat que repercute en las interacciones entre microorganismos y la diversidad microbiana (Ahemad y Kibret, 2014; Reinhold-Hurek *et al.*, 2015; Jiang *et al.*, 2017).

2.3 Rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal

Los microorganismos de la rizósfera pueden afectar la nutrición de las plantas a través de su influencia en el crecimiento, la morfología y la fisiología de las raíces, la fisiología y el crecimiento de las plantas, la disponibilidad de nutrientes y el proceso de absorción del nutriente por la planta (Marschner, 2012).

Las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV) se definen como las bacterias de la raíz que colonizan y ejercen efectos benéficos sobre el crecimiento de las plantas. La colonización comprende la capacidad de las bacterias para establecerse sobre o en la raíz de la planta para multiplicarse, sobrevivir y dispersarse a lo largo de la raíz en presencia de microorganismos nativos (Parray *et al.*, 2016).

Las rizobacterias una vez establecidas dentro, sobre o cerca de las raíces de la planta (endORIZÓSFERA, rizoplano y ectorizósfera) pueden influir en el crecimiento de plantas a través de diferentes mecanismos directos e indirectos (Bulgarelli *et al.*, 2013). Los mecanismos directos que se han reportado por parte de las RPCV son: solubilizar nutrientes (Meena *et al.*, 2015; Shaikh y Saraf, 2017), fijar nitrógeno, sintetizar fitohormonas (Shabayev, 2012). Los mecanismos indirectos son: ayudar a la tolerancia por estrés salino en plantas (Kasim *et al.*, 2016), mitigar los efectos negativos a las plantas de suelos contaminados con metales pesados (Hassan *et al.*, 2016) y son antagonistas de fitopatógenos (Rais *et al.*, 2016).

2.3.1 Rizobacterias en la producción de hortalizas

Las hortalizas tienen un potencial económico por ser productos de exportación, genera divisas, crea y mantiene empleos (Ortiz *et al.*, 2009; Vasquez *et al.*, 2014); sin embargo, al ser cultivos de manejo intensivo requieren de grandes cantidades de insumos como agua, fertilizantes y agroquímicos, lo que ha llevado al uso indiscriminado de éstos impactando negativamente en la productividad de los cultivos y ocasionando contaminación del agua, el suelo y riesgos en la salud humana (Wick *et al.*, 2012; Zaidi *et al.*, 2015).

En la búsqueda de alternativas que permitan la disminución del uso de la fertilización mineral ha surgido un sinnúmero de tecnologías de producción, que contribuyen a una nutrición sostenible y ecológica, que protegen al medio ambiente y conservan la fertilidad del suelo, sin afectar la producción. Entre ellas, la agricultura sostenible está considerada como sistema de gestión de cohesión para la producción, reconocida por su papel en la disminución de los impactos negativos en el ambiente (Papadopoulos *et al.*, 2015).

La agricultura sostenible se basa en la reutilización y transformación de desechos vegetales-animales en compost, el manejo racional de pesticidas y fertilizantes minerales, aplicación de productos derivados de sustancias húmicas o vermicomposts y utilización de microorganismos benéficos (Papadopoulos *et al.*, 2015); en particular, las rizobacterias promotoras de crecimiento de plantas (RPCV) han presentado ciertas ventajas en el agroecosistema (Tahami *et al.*, 2017).

Muchos géneros microbianos han sido comercializados y/o introducidos en el suelo, raíces, tubérculos, sustratos y otros materiales de siembra para mejorar el crecimiento de los cultivos. Estos géneros bacterianos incluyen *Acinetobacter*, *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Bradyrhizobium*, *Frankia*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Serratia*, *Thiobacillus* y otros géneros (Bakker *et al.*, 2007).

Distintos trabajos se han reportado sobre el efecto de las RPCV en la producción de hortalizas; por ejemplo, la inoculación de rizobacterias mejora la germinación y los días a

emergencia hasta 21%, esto por respuesta de la producción de distintas fitohormonas (Reyes *et al.*, 2008; Fu *et al.*, 2010).

En otros casos, la inoculación de bacterias a los sistemas de producción de hortalizas incrementa el área foliar, el número de hojas, la altura de planta, la biomasa fresca y seca de tallo y raíz (Fu *et al.*, 2010; Isfahani y Besharati, 2012; Kang *et al.*, 2014; Chatterjee *et al.*, 2016), lo que se traduce en la mejora del rendimiento y la calidad del fruto en un rango entre 20 a 40 % (Gül *et al.*, 2013; Bona *et al.*, 2016). Estos beneficios que las bacterias ofrecen son permitidos por el reciclar, solubilizar y absorción de nutrientes hacia la planta, y es efecto principal por el incremento del sistema radicular, tanto en la producción en suelo como en condiciones hidropónicas (Fu *et al.*, 2010; Prajapati y Modi, 2016; Buono y Ulla, 2016),

Además, es bien conocido que las rizobacterias permiten atenuar el estrés de los cultivos por diferentes causas mediante la síntesis de aminoácidos, antioxidantes y fitohormonas. Por ejemplo: ayudan aminorar el estrés causado por sales, sequía, contaminación por metales pesados y heladas (Fu *et al.*, 2010; Kang *et al.*, 2014; (Figueiredo *et al.*, 2016; Tallapragada *et al.*, 2016).

2.3.2 *Pseudomonas tolaasii*

Pseudomonas tolaasii es una bacteria gram negativa conocida principalmente por ser el agente causal de la mancha bacteriana o mancha parda en hongos comestibles cultivados y esta estrechamente relacionada con *P. fluorescens*. Sin embargo, se puede diferenciar de entre ésta y otras *Pseudomonas* fluorescentes mediante: 1) mediante secuencias genéticas, 2) su patogenicidad a hongos comestibles y 3) pruebas bacteriológicas (Munsch *et al.*, 2000; Tajalipour *et al.*, 2015).

Muchos son los trabajos en los que se reporta a *P. tolaasii* como patógeno de hongos comestibles (*Agaricus bisporus*, *Agaricus bitorquis*, *Agaricus campestris*, *Pleurotus ostreatus* y *Pleurotus eryngii*) (Munsch *et al.*, 2000); sin embargo, existen trabajos en los que se menciona como RPCV. Dell'Amico *et al.*, (2008) obtuvieron que *P.*

tolaasii minimizó el efecto del estrés causado por la acumulación de cadmio en plantas de canola cultivadas en macetas en cámara de crecimiento; además, incrementó el peso seco de raíces y tallos, tanto en condiciones de estrés con cadmio ($15 \mu\text{g Cd g}^{-1}$ de suelo seco) como en condiciones control (sin cadmio), en comparación con los demás tratamientos (*P. fluorescens*, control absoluto, etc.).

Adhikari *et al.* (2001) concluyeron que la inoculación de *P. tolaasii* reduce la incidencia de los patógenos *Achlya klebsiana* y *Pythium spinosum* de 50-73% en comparación con los controles sin la RPCV en plántulas de arroz crecidas en cámara de crecimiento, con solución Hoagland la inoculación aumentó la longitud de raíz y del tallo en 13% y 24%, respectivamente, comparado con las plántulas crecidas únicamente con solución. Estos mismos autores mediante análisis de PCR utilizando iniciadores universales del gen *nifD* (FdB260 y FbB261) mostraron que esta cepa bacteriana contiene el gen *nifD*, que codifica enzimas implicadas en la fijación biológica del nitrógeno atmosférico.

En maíz la inoculación de *P. tolaasii* en semillas incrementó la germinación (8.3%), la longitud de tallo (19%), la concentración de P en planta (54%), el peso seco de la planta (32%) y del rendimiento (45%) con respecto al control sin inoculación (Viruel *et al.*, 2014). Por su parte, Dell'Amico *et al.* (2005) reportaron la resistencia de *P. tolaasii* a Cd, Zn, Ni y Co, incubadas durante 4 días a 30 °C en medio líquido TMMG suplementado con dichos metales pesados a una concentración de 1 mM para los tres primeros y para el último de 0.5 mM. Estos últimos autores indican esta bacteria puede ser utilizada como rizobacteria promotora de crecimiento vegetal por su habilidad de producir ácido indol-3-acético, sideróforos y ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico desaminasa (ACC-desaminasa).

2.4 Micromorfología de suelos en el estudio de la microbiología

La micromorfología de suelos es una rama de la Edafología que se relaciona con la descripción, interpretación y la medición de los componentes, rasgos y fábricas de los suelos a nivel microscópico. Esta rama tiene como principal característica el estudio *in situ* de la zona de interés mediante muestras inalteradas de suelo embebidos en resina

que son tratados hasta obtener secciones delgadas (25-30 μm de grosor), estas muestras son analizadas a través de observación en microscopio petrográfico a diferentes microescalas de observación (Bullock *et al.*, 1985).

La micromorfología de suelos durante las primeras décadas de existencia basa los estudios principalmente en la génesis y la clasificación del suelo (Hossner *et al.*, 2008), sin embargo, en la actualidad la micromorfología se aplica como herramienta en la física del suelo, la química, mineralogía y biología del suelo, como integrador de las diferentes disciplinas de la Edafología (Blum, 2008), además de la agricultura, también se reporta su uso en Arqueología, Ecología y Geología (Bullock *et al.*, 1985).

La adquisición del conocimiento de las interacciones de los microorganismos en los componentes del suelo (minerales, materia orgánica, el agua y el aire) ha sido una tarea desafiante. Poco se sabe de los procesos relacionados de los microorganismos de manera *in situ* en microescalas (Eickhorst y Tippkötter, 2008). El estudio de la zoología del suelo mediante muestras inalteradas (micromorfología) fue introducido por McGill y Spence (1985), que derivó en el interés de diferentes autores en el estudio de las relaciones espaciales de los microorganismos en el suelo mediante esta rama (Eickhorst y Tippkötter, 2008).

La microscopia de fluorescencias es una técnica comúnmente que se utiliza en la observación de microorganismos, caracterización de poblaciones bacterianas y monitoreo de la distribución de microorganismos en el suelo (Li *et al.*, 2003). Esta técnica se basa en el diagrama de Jablonski (Figura 1) la cual consiste en el uso de un microscopio óptico que es capaz de iluminar la muestra con luz cuya longitud de onda sea específica. Por ejemplo, el marcaje de la muestra con fluorocromo específico para esa longitud de onda, puede absorber un fotón de la molécula del marcador, y excitar desde el nivel de vibración más bajo (S0) hasta el estado de vibración más alto (S1). Después de la relajación vibratoria, la molécula del fluorocromo permanece durante pocos nanosegundos en el estado S1 antes de emitir un fotón de fluorescencia y regresar a su estado inicial S0 (Aspelmeier *et al.*, 2015), al emitir esta longitud de onda diferente,

confiere a las bacterias marcadas propiedades distintas a otros componentes celulares de la muestra, permitiendo su fotodetección (Kentner y Sourjik, 2010).

Los fluorocromos se pueden definir como sustancias que tienen la propiedad de emitir un fotón de una longitud de onda determinada cuando son excitados por un fotón incidente de una longitud de onda específica. Existen fluorocromos orgánicos, convencionales y proteínas fluorescentes (Aspelmeier *et al.*, 2015). Diferentes tintes fluorescentes (fluorocromos) convencionales se han utilizado para la detección de los microorganismos en el suelo (Cuadro 3). Calcofluor es un tinte fluorescente utilizado en la detección rápida de bacterias, hongos, organismos parásitos y, además, permite su cuantificación. Este fluorocromo tiene afinidad sobre diferentes polisacáridos, por ejemplo, se ha indicado su alta afinidad hacia la celulosa. A pesar de las variantes marcas de calcofluor en el mercado, el espectro de absorción sigue siendo la luz UV y la emisión de fluorescencia color blanco-azulado (Plášek y Hošková, 2010).

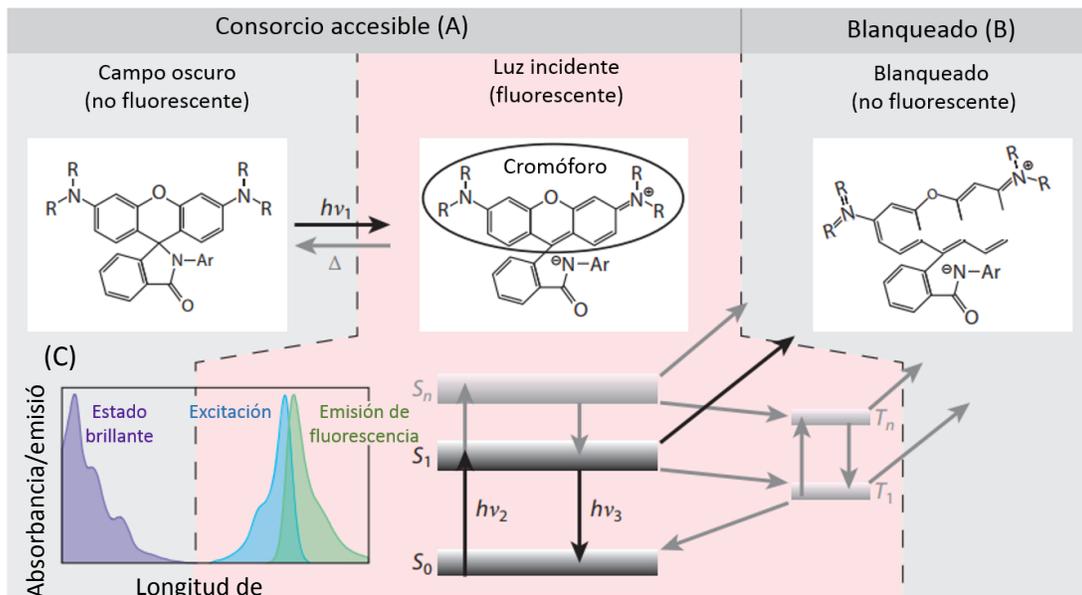


Figura 1. Esquema de las propiedades fotofísicas de un fluorocromo. El fluoróforo se encuentra en estado oscuro al no ser irradiado con alguna longitud de onda específica, sin embargo, al ser irradiada con dicha luz, es transferido a estado fluorescente (A) por la absorción de un fotón de energía $h\nu_1$ (diagrama de Jablonski), posteriormente la molécula del cromóforo puede excitarse desde su estado de vibración más bajo S_0 hasta su estado de vibración más alto S_1 ($h\nu_2$), de ahí, el fluoróforo blanquea (B) o emite un fotón de energía para luego regresar al S_0 ($h\nu_3$ y Δ). En gris opaco se encuentran otras transiciones de luz, las cuales pueden ser desde el estado S_0 a un estado triplete (ejemplo T_1 - T_n), sin embargo, son poco probable que sucedan. En la parte inferior izquierda (C) muestra los espectros para cambiar del estado oscuro al brillante (púrpura), la excitación (azul) y la emisión de fluorescencia (verde) de los fluorocromos en general. (Aspelmeier *et al.*, 2015).

En un trabajo realizado por Li *et al.* (2003) reportaron la distribución de *Escherichia coli* marcada con bromuro de etidio principalmente sobre los agregados del suelo y en menor medida alrededor de partículas de cuarzo, arcilla y la materia orgánica en secciones delgadas. Eickhorst y Tippkötter (2008) demostraron la localización de bacterias nativas con fluorocromo convencionales en los complejos arcillo-humus de suelos arcillosos y arenosos en muestras de secciones delgadas. Por otro lado, Gutiérrez *et al.* (2016) realizaron un estudio más detallado en secciones delgadas sobre la distribución de bacterias nativas, marcadas con calcofluor en cultivos agrícolas (maíz y alfalfa); donde concluyeron que los sitios preferenciales fueron los agregados y granos minerales del suelo para el primer cultivo; para el segundo se encontraron en los agregados y en las raíces; sin embargo, las colonias más grandes se encontraron en los residuos orgánicos.

Cuadro 3. Principales propiedades de varios fluorocromos convencionales utilizados en la tinción de bacterias para el análisis de imágenes en microscopia de fluorescencia.

Propiedad	CFW	DAPI	DTAF	Eosina Y	Bromuro de etidio	FITC
Excitación (nm)	365	358	492	515	518	490
Emisión (nm)	435	461	516	545	605	523
Ionización	Aniónico	Catiónico	Aniónico (pH neutral)	Aniónico	Catiónico	Aniónico (pH neutral)
Afinidad	Polisacáridos	Doble cadena de ADN	Proteína, Carbohidratos y polisacáridos	NA	Ácidos nucleicos	Proteínas
Peso molecular (g/mol)	936.95	350.25	495.28	692	394.31	389.38

NA*= Información no disponible; Li *et al.* (2003).

El procedimiento común para la microscopia de fluorescencia de los microorganismos en el suelo usando fluorocromos convencionales y orgánicos incluye: fijación de la muestra, tinción, desecado, deshidratación, aplicación (incrustación) de la resina y procesamiento de la sección delgada (Li *et al.*, 2003). Por otro lado, Gutiérrez *et al.* (2016) utilizaron una modificación a esta última metodología obteniendo resultados similares, esto consiste en que la sección delgada procesada se tiñe con un fluorocromo (calcofluor) durante 5

minutos; posterior a este tiempo se lava con agua destilada, se seca la muestra y se coloca el cubreobjetos para su posterior visualización en microscopio.

El marcaje mediante proteínas fluorescentes (PF) es una técnica en la cual se codifica genéticamente la bacteria para emitir fluorescencia. Una característica única de las PF es la especificidad en el marcaje debido a que se logra a nivel genético, esto es, en la secuencia del ADN bacteriano que codifica a la PF integrándose el gen objetivo (fluorescencia), eliminando el marcaje inespecífico como ocurre con los fluorocromos orgánicos y convencionales. Las desventajas de las PF es emitir menor fluorescencia que los convencionales, debido a los coeficientes de extinción son generalmente de menos magnitud, además suelen ser menos fotoestables y mucho más fáciles de fotoblanquear (Xia *et al.*, 2013).

La primera proteína fluorescente reportada fue de color verde, extraída de *Aequorea victoria*, a partir de esto, diferentes proteínas de distintos colores se han obtenido de otras especies marinas en los últimos años (Shaner *et al.*, 2004; Merzlyak *et al.*, 2007). El procedimiento para el marcaje con PF en bacterias parte de: 1) La extracción del gen fluorescente de interés mediante primers, 2) la obtención de células competentes bacterianas a modificar genéticamente con el plásmido y 3) el crecimiento de las células competentes bacterianas en medios de cultivo adicionados con antibióticos, que confirman el éxito de la modificación genética (Sambrook *et al.*, 1989; Idris *et al.*, 2007; Lagendijk *et al.*, 2010).

Las PF se han utilizado en diferentes trabajos en los que se ven implicadas bacterias (Cuadro 4). En un estudio donde se utilizó *Bacillus amyloliquefaciens* marcada con proteína verde fluorescente reveló que la superficie de la raíz y pelos radicales correspondían a los sitios preferenciales por adhesión de sustancias poliméricas extracelulares en cultivo de maíz y en la lenteja de agua (Fan *et al.*, 2011). En otro estudio con raíces de plántulas de jitomate inoculadas durante 7 días, se observó que la bacteria *Pseudomonas putida* modificada con proteína fluorescente mCherry se localizaba formando biofilms entre las células epidérmicas de la raíz (Lagendijk *et al.*, 2010).

Cuadro 4. Principales propiedades de proteínas fluorescentes utilizadas en la transformación genética de bacterias para el análisis de imágenes en microscopia de fluorescencia.

Propiedad	DsRed	mOrange	tdTomato	mStrawberry	mCherry
Excitación (nm)	558	548	554	574	587
Emisión (nm)	583	562	581	596	610
Coefficiente de Extinción ($M^{-1} \text{ cm}^{-1}$)	75,000	71,000	138,000	90,000	72,000
Rendimiento cuántico de fluorescencia	0.79	0.69	0.69	0.29	0.22
Brillo (% de DsRed)	100	83	160	44	27

Shaner *et al.* (2004); nm= nanómetros; $M^{-1} \text{ cm}^{-1}$ = Moles por centímetro.

2.5 Análisis de imágenes y la microcartografía de suelos

En la década de los 70's, con la mejora de los equipos computacionales y fotográficos, el análisis de imágenes se volvió una técnica importante en la descripción e interpretación de las secciones delgadas utilizadas en la micromorfología de suelos, teniendo mayor auge la cuantificación de la porosidad, la estructura del suelo, la permeabilidad, la compactación, etc. (Hossner *et al.*, 2008). Esto revolucionó la micromorfología de suelos, al cambiar de una descripción cualitativa o subjetiva a una cuantitativa, debido a que el conteo de los componentes del suelo se ejecuta con mayor precisión y velocidad con softwares computacionales utilizados en el análisis de imágenes, lo que evita errores humanos (Sauzet *et al.*, 2017).

Para el análisis de imágenes es indispensable: I) contar con microscopio, una cámara digital de alta resolución y una computadora, y II) tener un software para el procesamiento del análisis de imágenes. Este último es fundamental para extracción de datos específicos de interés de la imagen, según sea el caso de estudio (Copper *et al.*, 2015).

En la cuantificación de bacterias y otros fenómenos dentro del suelo, se han utilizado un sinnúmero de softwares para el análisis de imágenes (Copper *et al.*, 2015). En un estudio en Brasil se utilizó el software Noesis-Visilogr 5.4 para determinar el sistema poroso de

suelos erosionados sometidos a condiciones de humectación y secado (Pires *et al.*, 2009). En otro estudio se utilizó el programa Image J para analizar la distribución de poros en el suelo, la novedad de esto fue que dicho programa era de dominio público (Passoni *et al.*, 2014). Por otro lado, Gutiérrez *et al.* (2016) utilizaron ERDAS Imagine v. 2014 y ArGis para el análisis de imágenes y la cuantificación de las colonias de biofilms y hotspots de bacterias en maíz y alfalfa. Ya sean software de dominio público o adquiridos con licencia, se deben corroborar la veracidad de la información de los programas utilizados (Passoni *et al.*, 2014).

El análisis de imágenes que se realizaba anteriormente eran con imágenes individuales, utilizando grandes aumentos de microscopio (Passoni *et al.*, 2014; Gutiérrez *et al.*, 2016), o mediante el escaneo de las secciones delgadas de tamaño pequeño y con calidad de la imagen deficiente (Carpentier y Vandermeulen, 2016). Lo anterior limitaba la descripción y la interpretación de los fenómenos existentes (Passoni *et al.*, 2014; Gutiérrez *et al.*, 2016).

Para corregir el problema de la evaluación y la comprensión del análisis de imágenes digitales por la falta de secuencias de imágenes, se han elaborado mosaicos de imágenes para visualizar todos o parte de los componentes de las secciones delgadas; sin embargo, estos mosaicos eran de baja resolución (90-176 μm por pixel) o de áreas muy pequeñas (0.282 mm^2), lo que dificultaba establecer el patrón de las distribuciones a múltiples escalas (Gutiérrez *et al.*, 2016; Sauzet *et al.*, 2017).

Recientemente se han realizado trabajos donde se han elaborado mosaicos de imágenes de alta resolución (2.6 μm por pixel) y de mayor área observable (38.5 cm^2), además se referenciaron mediante coordenadas, lo cual permite el acoplamiento de diferentes rasgos del mosaico con distintas fuentes de luz (ej. plana, polarizada, UV, Infrarroja). Esta técnica permite relacionar y comprender ciertos rasgos o fenómenos de mejor manera en secciones delgadas (Gutiérrez *et al.*, 2017). La referenciación mediante coordenadas se realiza con procedimientos similares a la teledetección o a las técnicas de cartografía

utilizadas en los sistemas de información geográfica llamados en estos programas de georeferenciación (GIS).

Estas nuevas técnicas abren la posibilidad a trabajos más detallados, que permitan comprender la distribución, cuantificación de colonias bacterianas y su relación con otros componentes del suelo, independientemente de la escala de microobservación (Gutiérrez *et al.*, 2016). Existen muy pocos trabajos donde se examina la distribución *in situ* de bacterias (Franklin y Mills, 2007), en especial bacterias que sean marcadas específicamente y se tenga total certeza de su identificación.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Lugar de investigación

La investigación se llevó a cabo en el invernadero del Área de Nutrición Vegetal del Colegio de Postgraduados en el Campus Montecillo, ubicado en el Km 36.5 de la carretera México-Texcoco, Montecillo, Texcoco, en el Estado de México. El invernadero es del tipo túnel, cuenta con ventilación y cortinas laterales, estructura de acero galvanizada y cubierta de polietileno UVII-720. Geográficamente se sitúa por la Latitud Norte 19°27'42.84" y Longitud Oeste 98°54'28.32" y una altitud de 2250 msnm (Google Earth, 2015). La temperatura promedio osciló de 38.7°C (máxima) y 9.5°C (mínima); mientras la humedad relativa fue de 61.8% (máxima) y 26.8% (mínima).

3.2 Material vegetal

Semillas de chile pimiento morrón (*Capsicum annuum* var. California Wonder) tipo semiprecox se utilizaron en la presente investigación. La planta es muy productiva y de porte medio. Produce frutos de forma cuadrada (blocky), de 10 cm de longitud y 10 cm de ancho, con 3-4 cascotes, de color rojo brillante en madurez, con carne gruesa y es muy dulce.

El pepino (*Cucumis sativus* var. Poinset) es de tipo americano, planta de crecimiento indeterminado y muy vigorosa que produce frutos rectos, color verde, ligeramente cónicos hacia el extremo de la flor y tiene espinas negras muy finas. El promedio de tamaño de la fruta es de 20-25 cm por 5-6 cm de diámetro.

3.3 Material Microbiológico

3.3.1 Preparación de inóculo para almácigos y producción de cultivos

La cepa bacteriana *Pseudomonas tolaasii* P61 se utilizó como inóculo y pertenece a la colección microbiana del Laboratorio de Microbiología del Colegio de Postgraduados (Montecillos, Estado de México). Para preparar el inóculo bacteriano, *P. tolaasii* se

sembró con asa bacteriológica en caja de Petri que contenía agar nutritivo (Merck), Una vez sembradas las cajas, se incubaron (Binder) a 28 °C por 72 h y se verificó su pureza. La bacteria se propagó en caldo nutritivo (Merck) en incubadora con agitación rotatoria (Thermo scientific Maxq 4000) a 280 rpm durante 72 h y 28 °C. Posteriormente se centrifugo a 7800 rpm durante 10 minutos, se desechó el sobrenadante y la biomasa bacteriana se resuspendió en agua destilada estéril, y mediante la escala de McFarland (McFarland, 1907) se ajustó la concentración bacteriana hasta obtener 1×10^9 UFC mL⁻¹.

3.3.2 Transformación genética y preparación de inóculo de *P. tolaasii* para el estudio de su distribución in situ en la rizósfera de plántulas de chile pimienta morrón y pepino

En la transformación genética de la cepa de *P. tolaasii* P-61 se empleó el método Sambrook *et al.* (1989) con modificaciones, que consiste en la preparación de células competentes.

Para la preparación de células competentes se utilizó 1 mL de precultivo de *P. tolaasii* P-61 crecida en caldo nutritivo (Merck) estéril con una concentración de 20 mmol L⁻¹ de MgCl₂; Posteriormente, se centrifugó a 7800 rpm durante 10 minutos, se eliminó el sobrenadante y la biomasa bacteriana se resuspendió en una solución estéril de 20 mL de CaCl₂ a una concentración de 50 mmol L⁻¹, esta solución se encontraba previamente colocada sobre hielo. La suspensión se dispuso a baño de hielo durante 30 minutos y se centrifugó a 7800 rpm durante 10 minutos. Se desechó el sobrenadante y se resuspendió en una solución estéril de 50 mmol L⁻¹ con glicerol al 20%, la solución se había colocado previamente sobre hielo.

Posteriormente, se utilizó 200 µL de células competentes y se agregó 5 µL de plásmido pmp 704 cherry. El producto fue colocado en baño de hielo durante 30 minutos y enseguida se indujo a choque térmico en plancha de calor a 42 °C durante 30 segundos y nuevamente se colocó sobre baño de hielo durante 5 minutos. A continuación, a la mezcla de las células competentes y el plásmido se les adicionó 1 mL de caldo nutritivo,

y en seguida se colocó en incubadora con agitación rotatoria a 280 rpm durante 2 horas a 28 °C. Una vez transcurrido el tiempo se tomó 100 µL del caldo nutritivo y con asa Drigalski se sembró la bacteria sobre placas de agar nutritivo adicionado con tetraciclina a una concentración de 40 µg µL⁻¹.

La cepa P-61 transformada genéticamente se colocó en incubadora con agitación rotatoria a 280 rpm durante 72 horas, en seguida se centrifugó a 7800 rpm durante 10 minutos, se desechó el sobrenadante y la biomasa bacteriana se resuspendió en agua destilada estéril; mediante la escala de McFarland (McFarland, 1907) a 580 nm se ajustó la concentración bacteriana hasta obtener 1x10⁹ UFC mL⁻¹.

3.4 Producción de plántulas de chile pimiento morrón y pepino

Semillas de chile pimiento morrón y pepino fueron sembradas en charolas de polietileno de 50 cavidades (75 cm³ c/u). Los semilleros fueron desinfectados previamente con hipoclorito de sodio a una concentración de 200 ppm y lavadas con agua corriente para eliminar el exceso del desinfectante. Las charolas contenían una mezcla de sustratos (relación 1:1:1 v/v) conformada por turba (marca Premier), perlita (marca Agrolita) y vermiculita (marca Agrolita) previamente esterilizadas en olla de presión a una temperatura de 125°C y a 1.3 kg/cm² de presión, durante 3 horas y 3 días consecutivos (con la finalidad de eliminar cualquier estructura microbiana resistente).

Después de la siembra se regó a diario con agua y una vez que las plántulas presentaron la primera hoja verdadera fueron irrigadas con solución Steiner (1961) a una concentración de 15% aumentando gradualmente 5% cada tres días hasta llegar a una concentración del 25% de dicha solución. Dos semanas antes de realizar la evaluación del cultivo, la solución se incrementó gradualmente hasta llegar a 50% de la solución Steiner (esto para preparar a las plántulas para el trasplante). La aplicación de los tratamientos (Cuadro 5) se efectuó el día 5 de julio de 2016, a las plántulas en almácigo se agregó 2 mL del inóculo bacteriano a una concentración de 1x10⁹ UFC mL⁻¹, mientras

que los tratamientos control se les añadió 2 mL de agua destilada estéril a los 44 y 28 días después de la siembra (dds) para pimiento y pepino, respectivamente.

Cuadro 5. Tratamientos establecidos para evaluar el crecimiento de plántulas de hortalizas inoculadas con *Pseudomonas tolaasii* en condiciones de invernadero.

Tratamiento	Cultivo	Inoculación	Abreviación
1	Chile pimiento morrón	Sin <i>Pseudomonas tolaasii</i>	PINOI
2	Chile pimiento morrón	Con <i>Pseudomonas tolaasii</i>	PIINC
3	Pepino	Sin <i>Pseudomonas tolaasii</i>	PENOI
4	Pepino	Con <i>Pseudomonas tolaasii</i>	PEINC

A los 51 y 35 dds para pimiento y pepino, respectivamente, las plántulas fueron trasplantadas a vasos de unicel con capacidad de 200 cm³ que contenían la misma mezcla de sustratos de las charolas de siembra. Este procedimiento se hizo con la finalidad de permitir más tiempo en el proceso de asociación bacteria-planta en un ambiente más apto para la bacteria.

3.4.1 Variables evaluadas en la producción de plántulas de chile pimiento morrón y pepino

Las variables en la producción de almácigo fueron evaluadas a los 75 dds para pimiento y a los 61 dds para pepino; se consideró para ambos cultivos que el sistema de raíces envolviera completamente el sustrato (amarre de cepellón).

En el muestreo se evaluó el diámetro de tallo (mm) tomado por debajo de los cotiledones con vernier digital (Truper); altura de plántula (cm) desde el cuello del tallo hasta el ápice foliar, con flexómetro (Truper); longitud radical (cm) desde el cuello del tallo hasta el ápice radical con flexómetro (Truper). También se consideró el volumen radical (cm³) con probeta y un volumen conocido de agua, se introdujo la raíz y se registró el desplazamiento de agua dentro de la probeta; área foliar (cm²) con el equipo LI-COR (LI-3100C), las hojas junto con el peciolo fueron desprendidas del tallo y puestas en prensa

de papel durante 48 horas para su posterior lectura; se midió biomasa seca radical (g), considerando desde el cuello radical hasta el ápice radical, y biomasa seca parte aérea (g) con balanza analítica (Sartorius), considerando desde el cuello del tallo, hojas, peciolo y hasta el ápice foliar; contenido relativo de clorofila en las hojas (lecturas SPAD) con el equipo SPAD 502 (Minolta, Japan) y las variables fotosintéticas (Cuadro 6) se determinaron con el equipo CIRAS-2 PP SYSTEMS, ambos considerando para las lecturas la hoja más recientemente madura.

Cuadro 6. Variables fotosintéticas estimadas en chile pimiento morrón y pepino a partir del equipo CIRAS-2.

Variable	Símbolo	Unidad de estimación
Concentración de CO ₂ de la cavidad sub-estomática	Ci	ppm
Tasa de transpiración	E	mmol m ⁻² s ⁻¹
Conductancia estomática	gs	mmol m ⁻² s ⁻¹
Tasa fotosintética neta	Pn	μmol m ⁻² s ⁻¹

3.4.2 Análisis estadístico para la producción de plántulas de chile pimiento morrón y pepino

El experimento se ejecutó bajo un diseño completamente al azar con 15 repeticiones por tratamiento (Cuadro 5), excepto los análisis nutrimentales que contaron con tres y cinco repeticiones para chile pimiento morrón y pepino, respectivamente. El análisis estadístico se realizó por especie. Los datos obtenidos se sometieron a pruebas de normalidad y homogeneidad de varianza, para su posterior análisis de varianza ($\alpha=0.05$) mediante *t de student* y se realizaron pruebas de comparación de medias con Tukey.

3.5 Distribución in situ de *P. tolaasii* en la rizósfera de plántulas de chile pimiento morrón y pepino

Plántulas de pimiento y pepino se cortaron a un centímetro a la base del tallo a los 75 y 61 dds, respectivamente. El cepellón con la base del tallo, se dejó secar al ambiente. Una vez secas, los vasos de unicel fueron envueltos con bolsas de plástico e impregnados con una mezcla compuesta de resina poliéster insaturada (2 kg), monómero de estireno (500 mL) y 1.5 mL de catalizador (Peróxido de metil-etil-cetona), enseguida se llevó a cámara de vacío a 1.055 kg/cm² (15 libras) de presión durante 4 horas, con la finalidad de que la muestra fuera impregnada por todos los espacios de ella. Posteriormente las muestras se sometieron a gelación y posteriormente el endurecimiento de la resina. El bloque fue cortado con un disco de punta de diamante y realizaron cortes verticales hasta formar un rectángulo con medidas de 5 cm x 7 cm (ancho y largo); por último, se realizó un corte vertical con el objetivo de exponer la raíz principal.

Los cortes se adhirieron con la mezcla de resina y catalizador antes mencionados, y se colocaron sobre portaobjetos de tamaño 7.5 x 5 cm. Enseguida se pulieron las muestras hasta conseguir un grosor de 30 µm y se añadió Calcofluor White (Sigma) como fluorocromo para la observación de la población bacteriana, de acuerdo por los procedimientos de Altemüller y Vorbach (1987), y Postma y Altemüller (1990) con modificaciones. Este procedimiento consiste en agregar el Calcofluor White sobre la sección delgada, dejando reposar durante 1 minuto. Transcurrido el tiempo se lavó con agua destilada para eliminar el sobrante y se dejó secar la sección. A continuación, se colocó el cubreobjetos con la misma mezcla que se utilizó para adherir el portaobjeto.

3.5.1 Elaboración de mosaico de las secuenciales de imágenes digitales de la distribución de *P. tolaasii* en plántulas de chile pimiento morrón y pepino

La elaboración del mosaico de las secuencias de imágenes digitales y la cuantificación de las bacterias se realizaron siguiendo la metodología de Gutiérrez *et al.* (2017), es comprendido por el siguiente procedimiento:

Las secciones delgadas se observaron en microscopio petrográfico óptico (MPO) Olympus BX51 TRF y en microscopio óptico equipado con lámpara de fluorescencia (MOF) Olympus BX51 TRF. Una cámara digital Canon T3 Rabel montada sobre los microscopios se utilizó para la captura de las imágenes. En el primer microscopio se tomaron imágenes en Luz Polarizada Plana (LPP), Luz Polarizada Cruzada (LPC), Luz Polarizada Cruzada con compensador ($LPC\lambda$) y Luz Incidente (LIN) y en el segundo microscopio en Luz Polarizada Plana (LPP), en Luz UV (LUV) y en Luz infrarroja (LIR) para la observación de las bacterias inoculadas y otras bacterias en los cultivos.

En el MPO realizaron fotografías con el objetivo 2x con medidas de 5 cm por 3 cm para la creación de la secuencia de imágenes digitales (SID) de la sección, y en el MOF se tomaron fotografías en objetivo 10x en sitios donde se encontrarán todos los componentes de la sección (raíces, sustrato, etc.). Previamente a la captura fotográfica, los microscopios fueron calibrados con la ayuda de una cámara de Neubauer en los ejes X y Y, con el fin de que la toma de fotografías llevara un rumbo paralelo con respecto a los bordes de la sección. El campo de visión de los objetivos en los diferentes microscopios se observa en el Cuadro 7.

Cuadro 7. Campo de visión del microscopio petrográfico y de fluorescencia con diferentes objetivos de visión.

Objetivo	Eje "X"	Eje "Y"	Área
	mm	mm	mm ²
MPO en 2x	11.19	7.46	83.47
MFO en 10x	2.2352	1.4904	3.33

MPO: Microscopio petrográfico óptico, MFO: Microscopio fluorescente óptico, mm: milímetros, mm²: milímetros cuadrados.

Una vez capturadas las imágenes de las secciones delgadas, se transformaron del formato .CR2 a .IMG (esto para poder interactuar con el programa ERDAS IMAGE) mediante el programa ArcGIS v.10.1, con el siguiente procedimiento: ArcToolbox>Conversion Tools>To Raster>Raster to other format. Posteriormente se corrigieron las fotos al tamaño real del campo del objetivo (Cuadro 7) con el Programa

ERDAS Imagine v. 2014 mediante la ruta: Raster>Multispectral>Control point>Model List>Polynomial. De entrada se introdujeron los metadatos de la foto original y de salida se dio las coordenadas correspondientes a los cuatro vértices de la foto según el objetivo de la cual fue tomada.

Una vez corregida las imágenes se referenciaron en el programa ArcGIS. Con la ayuda de la opción Georeferencing se localizaron puntos de similitud, empalmando las imágenes unas con otras, hasta la finalización de la referenciación.

La elaboración de los mosaicos se realizó en el programa ERDAS. La ruta fue la siguiente: Raster>Mosaic>MosaicPro y se seleccionan las imágenes que integrarán el mosaico. En este último proceso se realizan dos configuraciones, La generación de uniones del mosaico y el balance de color. El primero es mediante la opción Seamline Generation Options>Weighted Seamline y el segundo mediante Color Corrections>Use Color Balancing. Una vez finalizadas estas opciones se inicia el proceso para la obtención del mosaico mediante la configuración Run the Mosaic Process to Disk.

Con la ayuda del software ERDAS se delimitaron las colonias bacterianas en los mosaicos de las luces LUV LIR tomadas desde el microscopio de fluorescencia, considerando la mayor reflectancia o fluorescencia dentro de la imagen, para ambas luces (Figura 2). Este proceso se realizó utilizando similitud de algoritmos de la reflectancia bacteriana creando áreas de interés (AOI) mediante la siguiente ruta: Raster>Drawing>Grow. De igual manera, se delimitó lo que se denominó espacio (toda área ajena a las colonias bacterianas). Una vez creadas las AOI, se verificó la precisión de lo indicado como áreas de interés mediante matriz de confusión mediante la metodología propuesta por Congalton (1991); para lo cual fue necesario seguir el procedimiento Raster>Supervised>Signature Editor>Contingency.

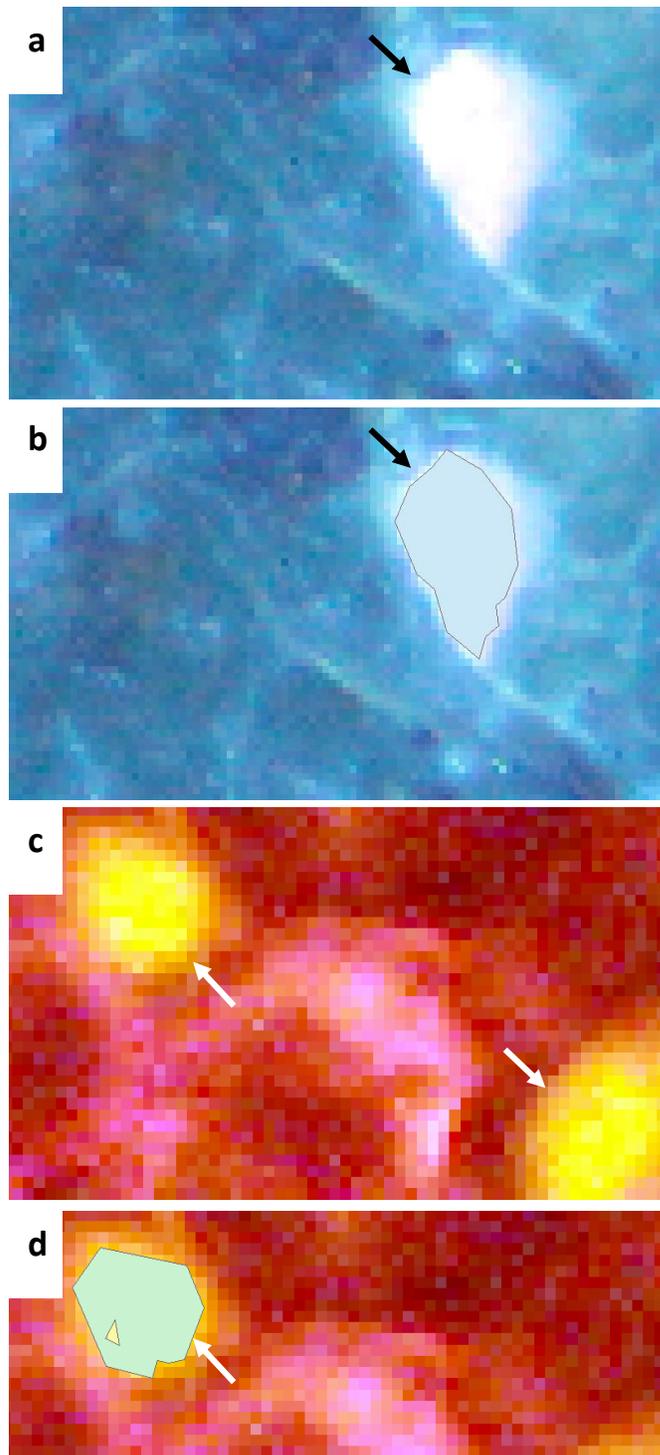


Figura 2. Imagen en campo de luz UV (a-b) e imagen en campo de luz infrarroja (c-d); las flechas indican la fluorescencia de máxima reflectancia de las bacterias en luz UV e Infrarroja de *Pseudomonas tolaasii* (a y c). Las flechas en las imágenes b y d indican los polígonos correspondientes a las fluorescencias de las bacterias y *P. tolaasii*.

Una vez corroborada la precisión de las reflectancias de las colonias bacterianas y el espacio, se realizó una clasificación de estas, siguiendo la ruta: Raster>Supervised>Signature Editor>Classify>Supervised. Esta clasificación dio como resultado una imagen con formato raster en .IMG con solo dos componentes, bacterias y espacio, para facilitar la observación se seleccionó un color para las bacterias dependiendo de la luz de la imagen (e.g. amarillo o rosa) y otro para el espacio (e.g. negro).

3.5.2 Cuantificación de las bacterias individuales o de colonias bacterianas

Para la cuantificación de las bacterias fue necesario utilizar varios procedimientos. I) De la imagen donde se clasificaron los dos componentes (bacteria y espacio) se extrajo la información de las bacterias (sin espacio), mediante el procedimiento: ArcToolbox>Spatial Analyst Tools>Reclass>Reclassify. En este proceso se seleccionó el espectro de color de las bacterias seleccionadas dependiendo de la luz de la imagen y se cambió el formato de la imagen a GRID para realizar los siguientes procesos en el programa. II) El archivo anterior se cambió a shapefile y se utilizó la tabla de propiedades donde se agregó un recuadro con el nombre de “área” y “bacterianas”; se calculó el área que delimitaban las bacterias individuales o las colonias bacterianas. Una vez obtenido este dato se contabiliza la población bacteriana. Los datos utilizados fueron: el área de las colonias bacterianas y el tamaño de la bacteria *Pseudomonas*. Garrity *et al.* (2005) describe al género *Pseudomonas* como varillas rectas o ligeramente curvas de tamaño 0.5-1.0 μm (ancho) y 1.5-5 μm (largo), por lo que para esta investigación se consideró un área de bacteria de 4 μm^2 , de igual manera se consideró este tamaño para las otras bacterias obtenidas de las fotografías de luz UV. El área de las colonias se dividió entre el área de la bacteria (4 μm^2), concluyendo en el número de bacterias individuales o de cada colonia.

Las colonias bacterianas se categorizaron según el número de bacterias: I: 1-10, II: 11-100, III: 101-500, IV: 501-1,000, V: 1,001-5,000, VI: 5,001-10,000 y VII: 10,001-30,000; además, se relacionaron con los componentes del sustrato de la sección delgada

(vermiculita, perlita, materia orgánica ligeramente descompuesta, materia orgánica moderadamente descompuesta y materia orgánica amorfa) identificándolos visualmente. Este proceso se realizó sobreponiendo la imagen del mosaico de las firmas espectrales de las bacterias (LUV o LIR) en la imagen del mosaico de la LPP, LPC, LPC λ y LIN. La Figura 3 muestra los componentes del sustrato en los diferentes campos de luz que se fotografiaron.

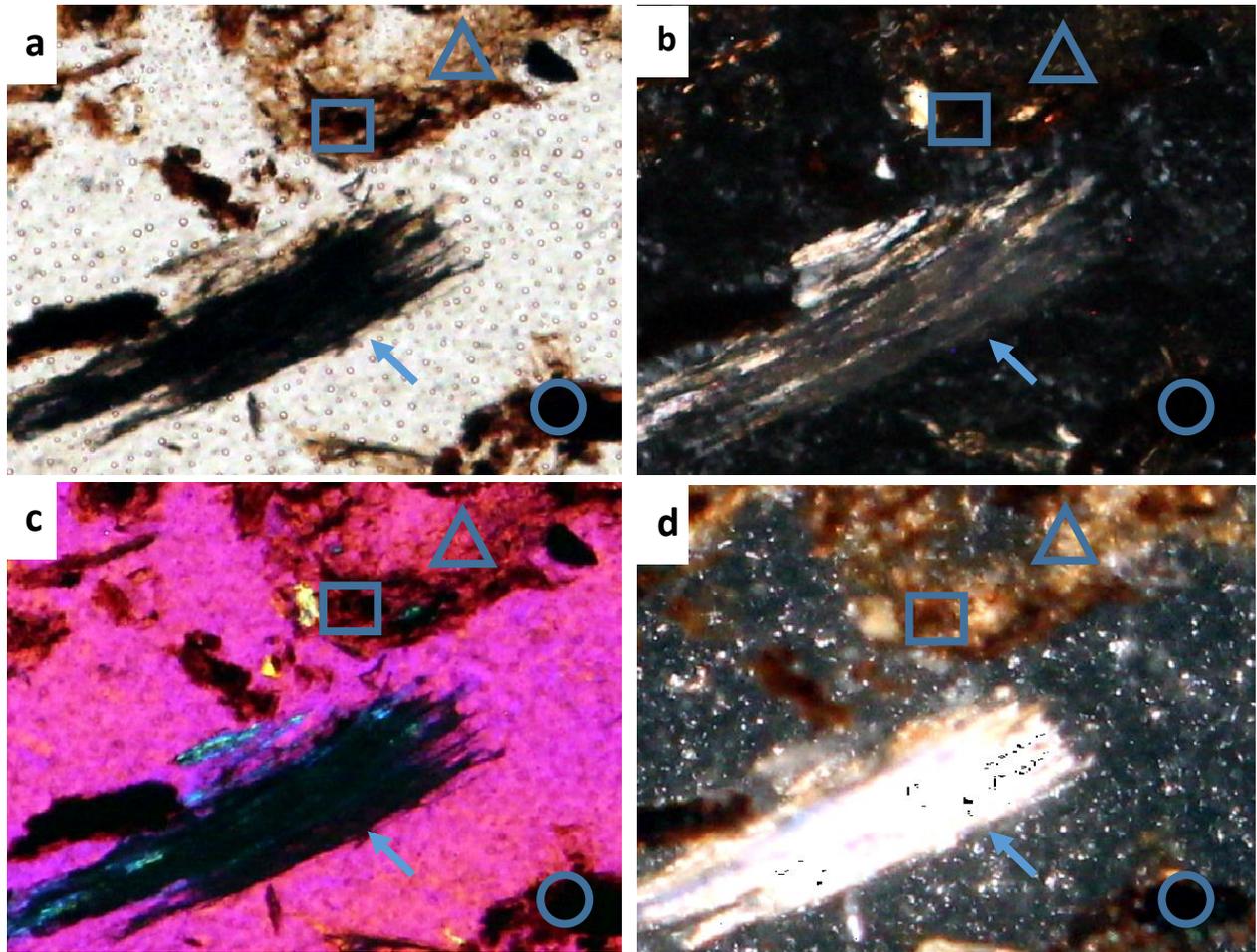


Figura 3 Componentes de la rizósfera de chile pimienta morrón y pepino tomada en diferentes fuentes de luz. Luz polarizada plana (a), luz polarizada cruzada (b), luz polarizada cruzada con compensador (c) y luz incidente (d). La flecha indica la raíz del cultivo, el interior del triángulo señala la materia orgánica ligeramente descompuesta, el interior del cuadro puntualiza la materia orgánica moderadamente descompuestas; el interior del círculo muestra la materia orgánica amorfa.

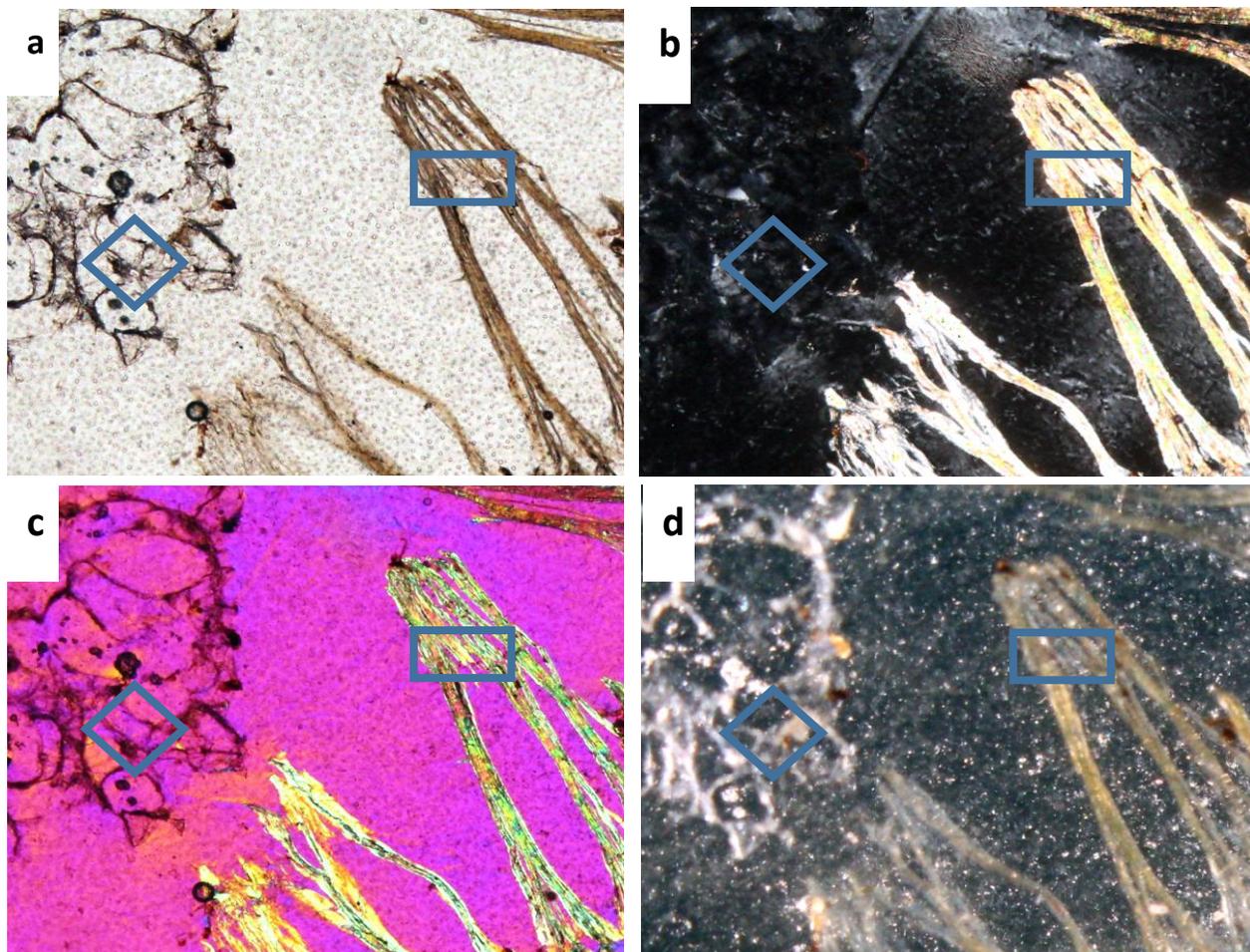


Figura 4 Componentes de la rizósfera de chile pimiento morrón y pepino tomada en diferentes fuentes de luz. Luz polarizada plana (a), luz polarizada cruzada (b), luz polarizada cruzada con compensador (c) y luz incidente (d). El interior del rombo representa el sustrato perlita y el interior del rectángulo constituye la vermiculita.

3.6 Análisis nutrimental de plántulas, plantas y frutos de pepino y chile pimiento morrón

Para el análisis nutrimental, el material vegetal (el tallo y las hojas que comprendían la biomasa aérea de plántulas, plantas en producción del pepino y pimiento, así como los frutos de los mismos) fue secado en estufa a 70 °C durante 72 horas; posteriormente, el material fue molido en el equipo y pasado por un tamiz de <1 mm para conseguir un tamaño de partícula deseado. La determinación de nitrógeno total se realizó por el método de Microkjeldall por digestión húmeda (Alcántar y Sandoval, 1999). Del material

vegetal se pesaron 0.1 g y se adicionó 2 mL de la mezcla de ácido sulfúrico-ácido salicílico (relación 30 mL/1 g, respectivamente) y se dejó reposar durante 24 horas para preoxidación. Posteriormente, se agregó 0.2 g de la mezcla de catalizadores (96 g de Na_2SO_4 , 0.5 g de selenio metálico y 3.5 g CuSO_4) previamente mezclada y tamizada. A continuación, se colocaron en plancha de arena a una temperatura de 100 °C durante 5 minutos, seguido de esto la temperatura fue aumentando gradualmente hasta llegar a los 400 °C. Las muestras terminaron la digestión cuando el producto se tornó de un color verde aqua claro.

Cuando finalizó la digestión se agregaron 10 mL de agua destilada y se llevó al equipo de destilación, donde se agregaron 10 mL de NaOH. La destilación se recibió en matraz Erlenmeyer de 125 mL que contenía 20 mL de ácido bórico al 4% y 4 gotas de indicador (verde de bromocresol-rojo de metilo). La destilación fue completa cuando el matraz alcanzó un volumen de 50 mL y una coloración azulada.

Posteriormente, se llenó una bureta de 50 mL con H_2SO_4 al 0.05 N y se tituló el destilado hasta que tomó una coloración rosada. El gasto se cuantificó y se utilizó la siguiente fórmula para estimar el contenido de nitrógeno total:

$$\% \text{N} = \text{mL de } \text{H}_2\text{SO}_4 \times \text{Normalidad de } \text{H}_2\text{SO}_4 \times 1.4/0.1\text{g}$$

Para la determinación de P, K, Ca, Mg, S, Fe, Mn, B, Zn y Cu, se pesó 0.5 g del material vegetal que fue agregado en un tubo de digestión, se adicionó 8 mL de la mezcla de ácido nítrico-ácido perclórico (relación 2:1, respectivamente) y se dejó reposar durante 24 horas para preoxidación. Una vez transcurrido el tiempo se colocó a digestión en plancha de arena a una temperatura de 100 °C. La temperatura fue aumentando gradualmente sin exceder los 300 °C para evitar la evaporación de las muestras.

El resultado de la digestión fue enfriado al ambiente y transferido a matraces volumétricos de 25 mL donde fueron aforadas con agua destilada; posteriormente, se colocaron en frascos de cristal de 25 mL previamente filtradas con papel Whatman No. 40. La solución

fue leída en el espectrofotómetro de emisión atómica de inducción con plasma acoplado (ICP-AES VARIAN Liberty™ II).

En ambas metodologías se utilizaron blancos, con finalidad de eliminar error de la técnica y en el manejo de las muestras. El valor obtenido del blanco se restó a las muestras para obtener los valores reales de cada una de las muestras.

3.7 Producción de pepino y chile pimiento morrón

Las plántulas de pepino (*Cucumis sativus* var. Poinset) y pimiento dulce (*Capsicum annuum* var. California Wonder) que se utilizaron tenían 61 y 75 días después de la siembra (dds), respectivamente. Las plántulas fueron trasplantadas a bolsas de polietileno de 40x40 (15 L), en el fondo de la bolsa hasta los primeros 10 cm se colocó tezontle de un tamaño de partícula ≥ 5 mm. Posteriormente las bolsas se llenaron con tezontle de ≤ 5 mm. Antes, las bolsas fueron desinfectadas con hipoclorito de sodio a una concentración de 200 ppm y lavadas con agua corriente para eliminar el exceso.

Al momento del trasplante, las plántulas de pepino y pimiento fueron inoculadas una vez más con 10 mL de *P. tolaasii* a una concentración de 1×10^9 UFC mL⁻¹ e irrigadas con su solución nutritiva Steiner (1961) correspondiente, el Cuadro 8 muestra el diseño de los tratamientos evaluados en esta etapa para ambas especies.

Cuadro 8. Tratamientos evaluados en la producción de pepino y chile pimiento morrón inoculadas con *Pseudomonas tolaasii* en hidroponía en condiciones de invernadero.

Tratamiento	Factor solución	Factor Inoculación	Abreviatura
1	Solución Steiner 50%	Sin <i>Pseudomonas tolaasii</i>	SS50+NOI
2	Solución Steiner 50%	Con <i>Pseudomonas tolaasii</i>	SS50+INC
3	Solución Steiner 75%	Sin <i>Pseudomonas tolaasii</i>	SS75+NOI
4	Solución Steiner 75%	Con <i>Pseudomonas tolaasii</i>	SS75+INC

El manejo agronómico de pepino se realizó mediante podas de formación (consiste en eliminar brotes hasta los primeros 50 cm de altura de la planta) y podas de mantenimiento a un solo tallo (Rache, 1996) y durante la investigación se eliminaron 7 hojas. En Chile pimiento morrón se maneja la poda de formación durante toda la investigación (elimina brotes y la flor de la primera bifurcación) y podas de mantenimiento mediante el método holandés con espaldera en “V” a dos tallos (Bojaca *et al.*, 2012). En ambos casos el tutorado se efectuó con rafia de polipropileno negro con ayuda de alambre galvanizado localizado a 2.5 metros desde el suelo

3.7.1 Variables evaluadas en la producción de pepino y Chile pimiento morrón

Se realizó una cinética de crecimiento para pepino y pimiento en etapa vegetativa, se efectuaron mediciones mensuales del 5 de septiembre hasta el 5 de noviembre del 2016 para pepino y para pimiento fue hasta el 5 de diciembre. Las variables respuestas fueron: diámetro de tallo (mm) con vernier digital (Truper), considerando los cotiledones como referencia; altura de planta (cm) con flexómetro (Truper) partiendo desde el cuello del tallo hasta el ápice foliar; número de hojas, se contabilizaron cada una de las hojas en la planta y el contenido relativo de clorofila (Lecturas SPAD) en las hojas con el equipo SPAD 502 (Minolta, Japan), considerando para las lecturas la hoja más recientemente madura.

En el último muestreo (tres y cuatro meses después del trasplante para pepino y pimiento, respectivamente) de la cinética de crecimiento se tomaron las siguientes variables destructivas: longitud radical (cm) con flexómetro (Truper) partiendo desde el cuello del tallo hasta el ápice radical; volumen radical (cm³) con probeta, área foliar (cm²) con el equipo LI-COR (LI-3100C), las hojas junto con el peciolo fueron desprendidas del tallo y puestas en prensa de papel durante 48 horas para su posterior lectura; biomasa seca radical (g), considerando desde el cuello radical hasta el ápice radical, y biomasa seca parte aérea (g) con balanza analítica (Sartorius), considerando desde el cuello del tallo, hojas, peciolos y hasta el ápice foliar; estas dos últimas variables previamente secadas en horno a una temperatura de 70°C durante 72 horas.

3.7.2 Variables evaluadas en la calidad de la cosecha de frutos de pepino

La determinación de calidad de la cosecha del pepino se efectuó en los primeros cuatro frutos por unidad experimental, en donde las variables fueron: biomasa fresca de fruto (g) con báscula (Ohaus Adventurer), los frutos una vez cosechados de la planta se pesaron en un lapso no mayor a una hora; diámetro polar (cm) y ecuatorial (cm) con flexómetro (Truper); grosor de mesocarpio (mm) y la placenta (mm) con vernier digital (Truper); sólidos solubles totales (°Brix) con refractómetro; biomasa seca de fruto (g) con bascula (Ohaus Adventurer), previamente secado en horno a una temperatura de 70°C durante 72 horas; y rendimiento en toneladas por hectárea ($t\ ha^{-1}$), obtenido a partir de la extrapolación del rendimiento por planta en toneladas y multiplicándola por la densidad de plantas.

3.7.3 Variables evaluadas en la calidad de la cosecha de frutos de chile pimiento morrón

La determinación de calidad de la cosecha se efectuó en los primeros tres frutos por unidad experimental considerando las variables: biomasa fresca de fruto (g) con bascula, diámetro polar (cm) y ecuatorial (cm) con flexómetro (Truper); pericarpio (mm) con vernier digital (Truper), que se obtuvo del promedio de cuatro mediciones en el perímetro del fruto; sólidos solubles totales (°Brix) con refractómetro; potencial de Hidrogeno (pH) con potenciómetro, se pesaron 10 gramos de muestra de pimiento y se adicionó 50 mL de agua destilada, se licuó y se pasó por un cedazo; posteriormente, se introdujo el electrodo. En la acidez titulable se usó el método 942.15 de la Association of Official Agricultural Chemical (A.O.A.C. 1997), para ello se utilizaron 10 mL del licuado anterior y se agregaron 4 gotas de fenolftaleína como indicador. A continuación, se tituló la muestra con hidróxido de sodio (NaOH) a una concentración 0.01 M, hasta que presentó una coloración rosada; biomasa seca de fruto (g) con báscula, previamente secado en horno a una temperatura de 70 °C durante 72 h; y rendimiento en toneladas por hectárea ($t\ ha^{-1}$), obtenido a partir de la extrapolación del rendimiento por planta en toneladas y multiplicándola por la densidad de plantación.

3.7.4 Análisis estadístico en producción y la calidad de la cosecha de frutos de pepino y chile pimiento morrón

El experimento se instaló bajo un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2x2. Un factor fue la irrigación con la solución Steiner (1961) al 50 y 75%; el segundo factor fue la inoculación y no inoculación de *P. tolaasii*. Para pepino y pimiento en producción y calidad de la cosecha cada tratamiento contó con 7 y 10 repeticiones, respectivamente, para los análisis nutrimentales cada tratamiento contó con cinco repeticiones. Los datos obtenidos fueron sometidos a pruebas de normalidad y homogeneidad de varianzas para su posterior análisis de varianza ($\alpha=0.05$) y pruebas de comparación de medias de Tukey, el análisis estadístico se realizó por especie.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Producción de plántulas de chile pimiento morrón y pepino

La respuesta de las plántulas de chile pimiento morrón y pepino a la inoculación de *Pseudomonas tolaasii* fue distinta. En plántulas de pimiento no existió diferencias estadísticas significativas en concentración de CO₂ en la cavidad sub-estomática, tasa fotosintética neta, diámetro de tallo, altura de plántula, longitud radical, biomasa seca radical, biomasa seca aérea y el análisis nutrimental (Anexos 1, 2, 3, 4 y 5). Para pepino no hubo diferencias estadísticas significativas en la concentración de CO₂ en la cavidad sub-estomática, tasa de transpiración, conductancia estomática, contenido relativo de clorofila, altura de plántula, longitud radical, área foliar, biomasa seca radical, biomasa seca aérea y el análisis nutrimental (Anexos 6, 7, 8, 9 y 10). En esta etapa del cultivo es posible que no todos los mecanismos de promoción del crecimiento por parte de *P. tolaasii* se hayan activado, posiblemente porque el tiempo transcurrido desde la inoculación hasta la cosecha de las plántulas fue corto (31 y 33 días para chile pimiento morrón y pepino, respectivamente); también estos resultados indican la heterogeneidad entre las especies a la inoculación con microorganismos. Varios autores mencionan que los mecanismos por los cuales las rizobacterias promueven el crecimiento pueden expresarse en un momento o en diferentes etapas del crecimiento (Dell'Amico *et al.*, 2008; Figueiredo *et al.*, 2016).

En pimiento hubo diferencias estadísticas significativas en las variables tasa de transpiración (E), conductancia estomática (gs), contenido relativo de clorofila (CRC), volumen radical y área foliar (Anexos 1, 2 y 3).

El tratamiento inoculado (PIINC) obtuvo el valor más bajo en la tasa de transpiración; mientras que el no inoculado (PINOI) obtuvo el valor más bajo de la conductancia estomática (Figura 5 y Anexo 1). La inoculación de *P. tolaasii* afecta los procesos fisiológicos de las plántulas de pimiento bajo diferentes mecanismos, lo que permite un mejor control en la apertura de estomas en esas condiciones. Yu *et al.* (2003) obtuvieron valores más bajos de transpiración de plántulas de pepino al agregar a la solución

nutritiva diferentes concentraciones. Por otro lado, Peng *et al.* (2002) reportaron mayor conductancia estomática en plantas de arroz inoculadas con *Rhizobium* en comparación con las plantas sin inocular.

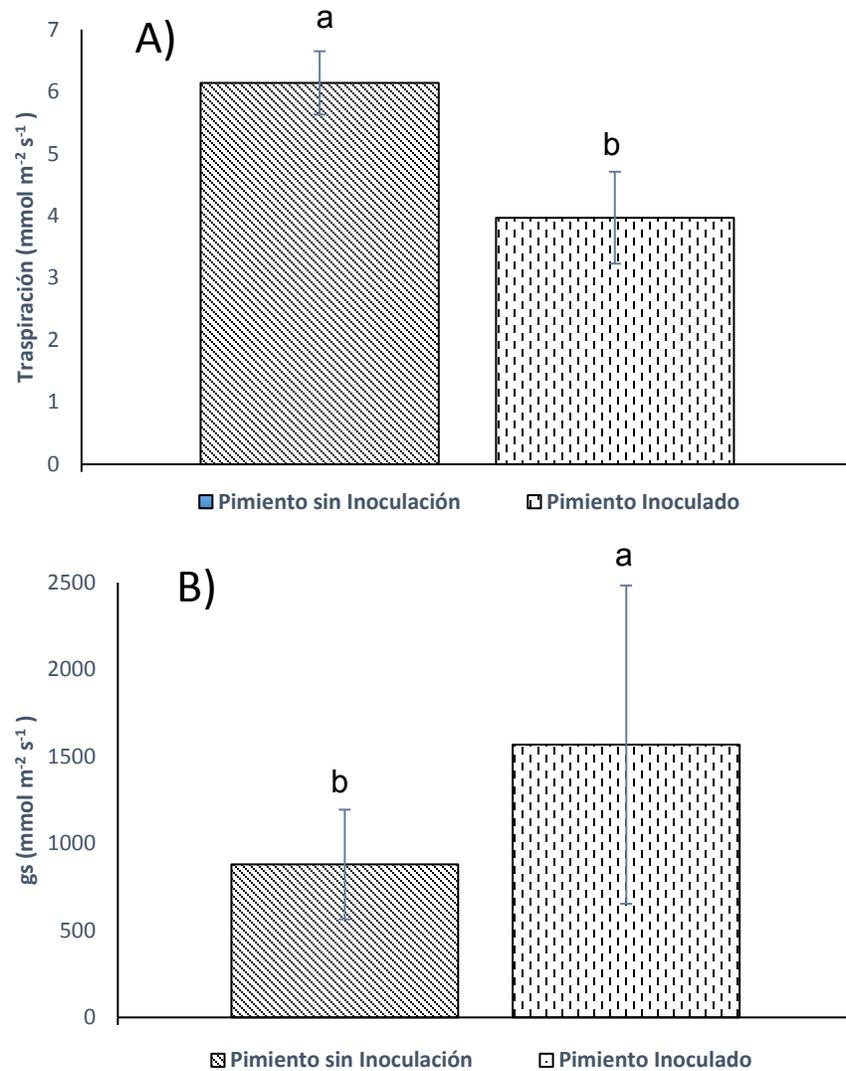


Figura 5. Tasa de transpiración (A) y conductancia estomática (gs) (B) de plántulas de chile pimiento morrón inoculados con *Pseudomonas tolaasii*. Valores con la misma letra dentro de la gráfica son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$). Símbolo “I” dentro de la gráfica indica la desviación estándar.

El tratamiento PIINC mostró el contenido relativo de clorofila más alto en comparación con el tratamiento sin la inoculación (Figura 6). Es posible que la inoculación favoreciera la absorción de diferentes nutrimentos, ejerciendo un efecto sobre esta variable. Resultados similares encontraron Díaz *et al.* (2013) en las lecturas SPAD (45.9) al inocular la micorriza arbuscular *Rhizofagus intraradices* en plantas de pimiento cv. Valeria, superando al control sin inocular que obtuvo el valor más bajo de lecturas SPAD (41). Hirai *et al.* (2007) indican que el hierro contenido en las hojas de las plantas puede ser correlacionado con las lecturas SPAD. En el presente trabajo existe una relación positiva entre el mayor contenido de hierro y los valores más altos de lecturas SPAD. Por otro lado, el género *Pseudomonas* se ha reportado por su habilidad de producir sideróforos tanto en condiciones aeróbicas como anaeróbicas, que facilita la absorción del hierro por las plantas (Saha *et al.*, 2016). Por lo que estos valores obtenidos por el tratamiento inoculado pudieron haber sido por este mecanismo de promoción del crecimiento por parte de la bacteria.

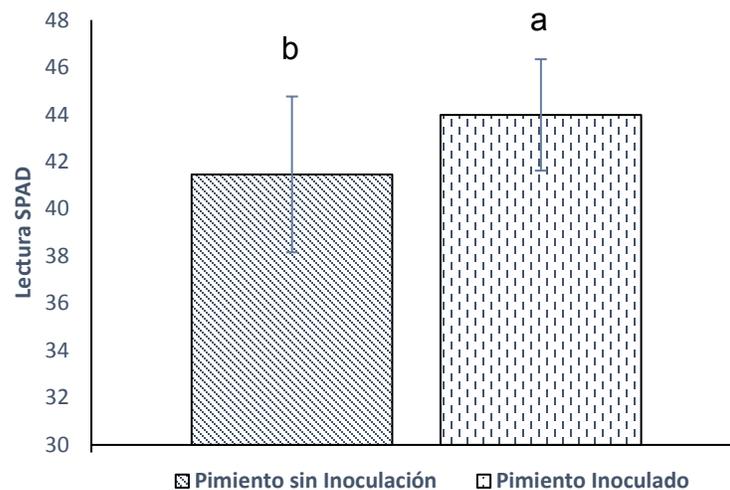


Figura 6. Contenido relativo de clorofila en plántulas de chile pimiento morrón inoculados con *Pseudomonas tolaasii*. Valores con la misma letra dentro de la gráfica son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$). Símbolo “I” dentro de la gráfica indica la desviación estándar.

La Figura 7 muestra que las plántulas de chile pimiento morrón inoculadas incrementaron su volumen radical (24.22%). La producción de ácido indol-3-acético por parte de *P. tolaasii* puede haber aumentado el volumen radical. Pérez *et al.* (2015) reportaron incrementos en el volumen radical de hasta 64% en plántulas de mora inoculadas con *P.*

migulae en comparación con el tratamiento sin inoculación. *Pseudomonas* es un género de bacteria reportado como productor de auxinas, dentro de este grupo de hormonas la más investigada es el ácido indol-3-acético, la cual es una fitohormona involucrada en la estimulación del crecimiento radical (Amara *et al.*, 2015).

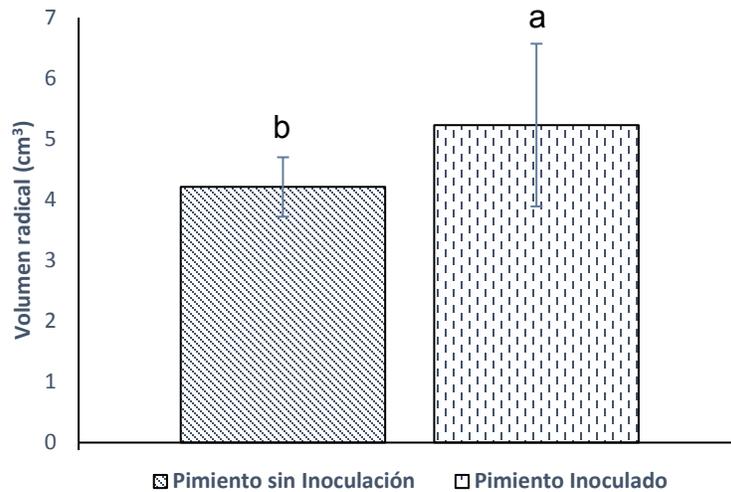


Figura 7. Volumen radical de plántulas de chile pimiento morrón inoculados con *Pseudomonas tolaasii*. Valores con la misma letra dentro de la gráfica son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$). Símbolo “I” dentro de la gráfica indica la desviación estándar.

La Figura 8 muestra los valores obtenidos de la variable área foliar, el tratamiento control (PINOI) obtuvo los valores más altos (17%) respecto al tratamiento inoculado (PIINC). La inoculación de la bacteria pudo haber cambiado por efecto de alguna hormona el área foliar del cultivo, la inoculación no siempre muestra mayores valores en ciertas variables. Los resultados obtenidos son similares a los encontrados por Mesas *et al.* (2014) donde al inocular distintas rizobacterias en plántulas de pimiento, tuvieron a los 49 días después de la siembra menor área foliar, en comparación con el tratamiento control sin inocular. Menores valores en las mediciones morfológicas no son parámetros que puedan afectar el crecimiento y el rendimiento de un cultivo. De hecho, Mesas *et al.* (2014) concluyeron que a mayor área foliar puede presentar mayores problemas de deshidratación, mayor transpiración y, por ende, consumo de agua. Esto se relaciona con lo obtenido en esta

variable, donde el tratamiento PIINC presentó menor área foliar, pero también mostró menor tasa de transpiración (Anexo 1).

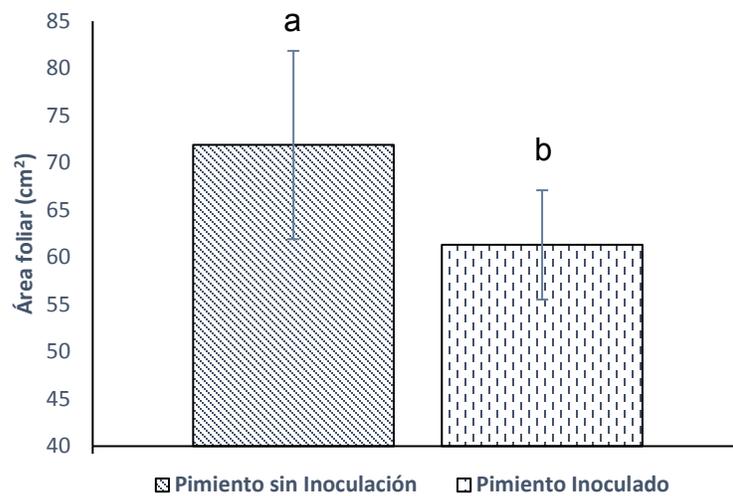


Figura 8. Área foliar de plántulas de chile pimiento morrón inoculados con *Pseudomonas tolaasii*. Valores con la misma letra dentro de la gráfica son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$). Símbolo “I” dentro de la gráfica indica la desviación estándar.

Para plántulas de pepino, el análisis de varianza mostró diferencias estadísticas significativas en las variables tasa fotosintética neta, diámetro de tallo y volumen radical, la inoculación de *P. tolaasii* incrementó los valores de estas variables (Anexos 6, 7 y 8).

La tasa fotosintética neta aumentó hasta un 12.24% por la aplicación de la inoculación de *P. tolaasii* (PEINC) respecto al tratamiento control sin inoculación (PENOI) (Figura 9). Stefan *et al.* (2013) encontraron resultados similares en el incremento de la fotosíntesis de plantas de frijol en distintas fechas de muestreos al ser co-inoculadas e inoculadas con cepas de *Bacillus*, en relación al control sin inoculación. Por otro lado, Peng *et al.* (2002) indican incrementos de 12 % en la tasa fotosintética en el cultivo de arroz al ser inoculado con *Rhizobium*; además, mencionan que hay una relación lineal positiva entre el contenido de N en la hoja y la tasa fotosintética, lo que también concuerda con lo encontrado en esta investigación (Anexos 1 y 9).

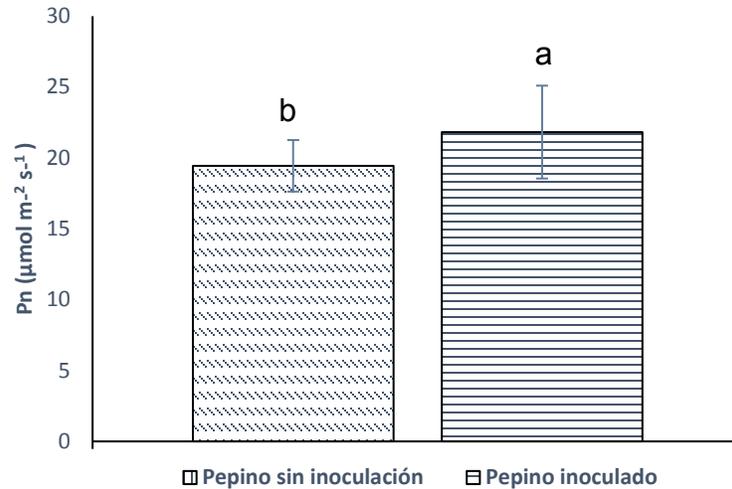


Figura 9. Tasa fotosintética neta (Pn) de plántulas de pepino inoculados con *Pseudomonas tolaasii*. Valores con la misma letra dentro de la gráfica son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$). Símbolo "I" dentro de la gráfica indica la desviación estándar.

Las plántulas inoculadas con *P. tolaasii* incrementaron el diámetro de tallo 7.69% (5.1 mm) en comparación al tratamiento control sin inocular (Figura 10). La inoculación favoreció la nutrición de las plántulas de pepino, manifestándose en esta variable. Estos valores fueron más altos que los reportados por Shaharoon *et al.* (2007) quienes indican un incremento del diámetro de tallo de 2.1% por efecto de la inoculación de *P. fluorescens* en plántulas de chícharo, respecto a su control sin inocular. Lee *et al.* (2010) reportaron aumentos de 4 a 16% en el diámetro de tallo en plántulas de berenjena inoculadas con *Pseudomonas* a diferentes concentraciones en la suspensión bacteriana.

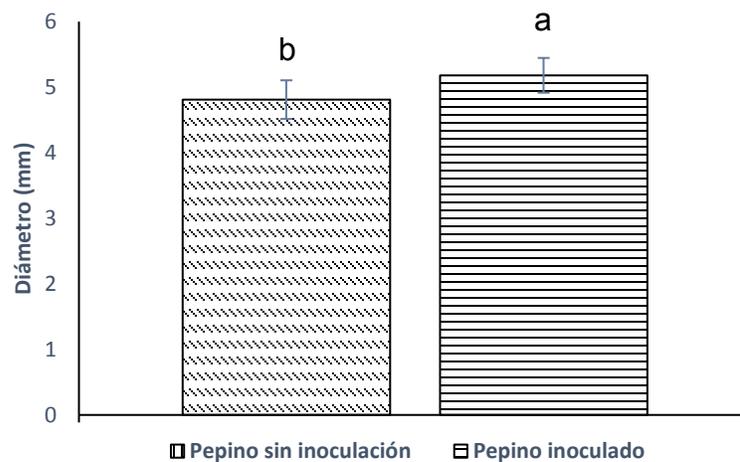


Figura 10. Diámetro de tallo de plántulas de pepino inoculados con *Pseudomonas tolaasii*. Valores con la misma letra dentro de la gráfica son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$). Símbolo "I" dentro de la gráfica indica la desviación estándar.

El volumen radical de las plántulas se incrementó 13.43% respecto a las plantas control con la inoculación de *P. tolaasii* (Figura 11). Los resultados son respuesta de la producción de distintas fitohormonas reguladoras del crecimiento, principalmente ácido indol-3-acético que está involucrada en el crecimiento radical. Este incremento fue similar a los obtenidos por Lozano *et al.* (2013), quienes indican un aumento de 12% en volumen radical en plántulas de pasto brizantha inoculado con *Pseudomonas* en comparación con el tratamiento control.

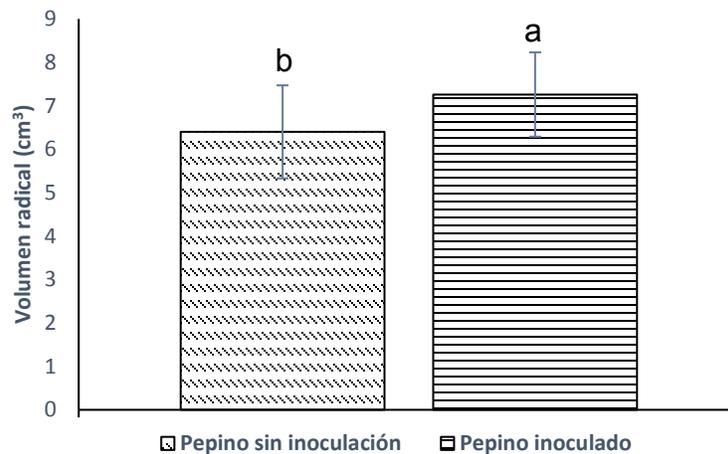


Figura 11. Volumen radical de plántulas de pepino inoculados con *Pseudomonas tolaasii*. Valores con la misma letra dentro de la gráfica son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$). Símbolo “I” dentro de la gráfica indica la desviación estándar.

De forma general, la inoculación de *P. tolaasii* a plántulas de pimiento y pepino no mostró incremento de las mediciones agronómicas evaluadas en este experimento; sin embargo, es posible que un efecto diferente se hubiera observado si se hubiera inoculado desde la siembra, mejorando la germinación y los días germinación-trasplante. A pesar de ello, la inoculación presentó en los dos cultivos un mayor crecimiento en el volumen radical. Esta variable es importante en la supervivencia a la hora del trasplante y en la eficiencia en la absorción de agua y nutrimentos.

4.2 Distribución in situ de *P. tolaasii* en la rizósfera de plántulas de Chile pimienta morrón y pepino

El Anexo 11 muestra los mosaicos elaborados de 24 imágenes en objetivo 2x de Chile pimienta morrón y pepino para una visión general de observación. En los Anexos 12 y 13 se presentan los mosaicos de 6 imágenes en objetivo 10x con un campo de visión de 2.4 x 5.7 mm obtenidos de las muestras correspondientes de cada cultivo.

El Cuadro 9 muestra los datos que se obtuvieron de la matriz de confusión y la precisión para determinar las bacterias (*P. tolaasii* o bacterias) en los mosaicos de imágenes en luz fluorescente, que fue mayor a 96%. Esta precisión se obtuvo debido a que los fluorocromos tienen una excitación en longitud de onda específica, así como también su emisión. Gutiérrez *et al.* (2017) reportaron precisión similar para obtener diferentes grados de la descomposición de la materia orgánica de un horizonte úmbrico.

Cuadro 9. Matriz de confusión derivada de la selección de bacterias y espacio en mosaicos de luz fluorescente a objetivo 10x (píxeles de la selección del área de interés).

	Bacteria	Espacio	Pu	Pg	Pp
Chile pimienta morrón (Luz Infrarroja)					
Bacteria	3288	1	0.99	0.99	1
Espacio	0	286108			
Chile pimienta morrón (Luz UV)					
Bacteria	371	0	1	1	1
Espacio	0	48502			
Pepino (Luz Infrarroja)					
Bacteria	2348	88	0.96	0.99	1
Espacio	0	219456			
Pepino (Luz UV)					
Bacteria	2455	0	1	1	1
Espacio	0	74119			

Bacteria en luz infrarroja= *Pseudomonas tolaasii*; Bacteria en luz UV= bacterias; Espacio= Cualquier otro componente que no identifique como *P. tolaasii* o bacterias; Pu= Precisión del usuario; Pg= Precisión general; Pp= Precisión de producto.

4.2.1 Población bacteriana de *P. tolaasii* y población de bacterias en plántulas de chile pimienta morrón y pepino

La población bacteriana total de *P. tolaasii* en chile pimienta morrón se estimó en 1.2×10^5 UFC. La mayor cantidad de bacterias individuales y/o colonias se encontraron en la clase I y II, con una estimación de 5,363 y 671, respectivamente; Además, las clases con mayor número de bacterias fueron la clase VII (35,492) y I (23,481), representando el 27.72% y 18.34% respectivamente, de la población total. En pepino, la población total de *P. tolaasii* se estimó en 9.5×10^4 UFC; La mayor cantidad de bacterias individuales o colonias fue similar a lo encontrado para chile pimienta morrón, donde la clase I tuvo un aproximado de 4,800 y la clase II alrededor de 900; además, estas dos clases concuerdan con el mayor número de bacterias, aproximadamente el 50% de la población total de *P. tolaasii* (Cuadro 10). *Pseudomonas tolaasii* se comportó de forma diferencial en la rizósfera de los dos cultivos. La diferencia entre las poblaciones de *P. tolaasii* en los cultivos es efecto de la calida y cantidad de los exudados radicales, la asociación raíz-bacteria. Estos resultados fueron más bajos a los obtenidos por Gutiérrez *et al.* (2016) donde encontraron en diferentes cultivos un conteo total de bacterias superior a los 4 millones y la mayor frecuencia de bacterias fueron en las clases III y V, correspondientes a colonias de 101-500 y 1001-5000, respectivamente; cabe destacar que estos autores realizaron su investigación en imágenes digitales de mayor dimensión (1 cm^2).

Por otro lado, la estimación de la población de bacterias en chile pimienta morrón fue aproximadamente la mitad de lo encontrado para *P. tolaasii* en el mismo cultivo y tanto la cantidad de bacterias individuales y/o colonias, como las clases con mayor número de bacterias se encontraron de forma similar que en lo obtenido para *P. tolaasii*. En pepino, la población de total de otras bacterias se estimó en 3.6×10^4 UFC. La cantidad de bacterias individuales y/o colonias se observaron de forma similar que lo obtenido para *P. tolaasii* de pepino; las clases donde se contabilizaron mayor número de bacterias fueron las clases VI y VII, éstas contienen el 85.44% de la población bacteriana total (Cuadro 11). La población de otras bacterias fue menor a la población de *P. tolaasii*

inoculada, esto muestra la habilidad para establecerse y crecer en un nicho colonizado por otros microorganismos; además, se reporta que esta bacteria tiene algún mecanismo de antibiosis con el cual ejerció su establecimiento. Hoflich (1999) menciona que la promoción del crecimiento vegetal no solo incluye los efectos de los mecanismos benéficos hacia la planta, sino no va más allá, asegurar la supervivencia y el establecimiento de la cepa inoculada en la rizósfera, en competencia de la flora nativa microbiana. Haas y Keel (2003) indican que la mayoría de cepas del género *Pseudomonas* tienen mecanismos de biocontrol que producen antibióticos difusibles y/o volátiles e inhiben el crecimiento de distintas bacterias (patogénicas y no patogénicas).

4.2.2 Distribución de *P. tolaasii* en la rizósfera de plántulas de chile pimienta morrón y pepino

4.2.2.1 Distribución de *P. tolaasii* en la raíz del cultivo y la materia orgánica ligeramente descompuesta

El padrón de la distribución de *P. tolaasii* en las diferentes clases de tamaños de colonias bacterianas, sobre la raíz del cultivo y la materia orgánica fue similar, independientemente del cultivo. Las clases con colonias mayores (V-VII) tenían una ligera preferencia hacia la raíz, conforme disminuía el tamaño de colonia (clases II-IV), la frecuencia fue menor. Por otro lado, la distribución de *P. tolaasii* sobre la materia orgánica en las clases V-VII tenían menor o igual cantidad como en la raíz del cultivo; sin embargo, en las clases II-IV se incrementó notablemente. Este comportamiento fue independiente de la especie (Cuadro 10). Esta asociación de la bacteria inoculada se debe a los nutrimentos y fuentes de carbono que estos componentes pueden contribuir para soportar el establecimiento y el crecimiento de este tamaño de las colonias bacterianas. Resultados similares encontraron Fan *et al.* (2011), quienes reportaron que *Bacillus* sp. marcado con proteína verde fluorescente se asociaba más a las superficies de la raíz del maíz por adhesión de sustancias poliméricas extracelulares. Kuzyakov y Blagodatskaya (2015) mencionan que la actividad microbiana está limitada por el C lábil que se encuentre a disposición. Las raíces de las plantas libera exudados y los distintos grados

de descomposición de la materia orgánica contienen diferentes cantidades de C lábil y nutrimentos.

Cuadro 10. Distribución de *Pseudomonas tolaasii* individuales y/o colonias categorizadas por clases y su relación con diferentes componentes de la rizósfera de plántulas de chile pimienta morrón y pepino.

Clase	Rango de bacterias	Bacterias o número de colonias	Total de bacterias	%	Componentes de la rizósfera (%)					
					V	P	MLD	MMD	MOA	R
Chile pimienta morrón										
I	1-10	5,363	23,481	18.34	ND	ND	ND	ND	ND	ND
II	11-100	671	17,007	13.28	9.48	9.87	21.03	27.02	21.12	11.48
III	101-500	65	13,756	10.74	3.2	11.09	40.36	14.32	19.5	11.52
IV	501-1000	11	7,229	5.65	7.65	9.45	36.8	-	25.0	21.1
V	1001-5000	7	14,576	11.39	-	-	49.23	-	-	50.77
VI	5001-10000	2	16,485	12.88	-	-	45.36	-	-	54.64
VII	10001-30000	2	35,492	27.72	-	-	-	-	-	100
Total			128,026							
Pepino										
I	1-10	4,816	19,996	21.04	ND	ND	ND	ND	ND	ND
II	11-100	964	27,133	28.55	0.31	8.19	49.61	33.85	2.17	5.87
III	101-500	104	20,725	21.80	-	15.54	58.15	18.89	-	7.42
IV	501-1000	15	11,482	12.08	-	14.89	65.98	-	-	19.13
V	1001-5000	7	15,707	16.53	-	-	51.84	-	-	48.16
VI	5001-10000	-	-							
VII	10001-30000	-	-							
Total			95043							

V= Vermiculita; P= Perlita; MLD= Materia orgánica ligeramente descompuesta; MMD= Materia orgánica moderadamente descompuesta; MOA= Materia orgánica amorfa; R= Raíz del cultivo; ND= No definidos.

4.2.2.2 Distribución de *P. tolaasii* en la materia orgánica moderadamente descompuesta y materia orgánica amorfa

En los dos cultivos no se encuentra la materia orgánica moderadamente descompuesta en las clases IV-VII de colonias de *P. tolaasii* y las clases II-III la distribución se comportó de manera diferencial. La preferencia de *P. tolaasii* sobre la materia orgánica amorfa se

distingue dependiente del cultivo. En pimiento tiene una participación de aproximadamente $22\pm 3\%$ en las clases II-IV y nula en las clases V-VII; mientras que, en pepino solo se registra un 2.17% de las bacterias de *P. tolaasii* en la clase II sobre la materia orgánica amorfa (Cuadro 10). La asociación de *P. tolaasii* de la materia orgánica amorfa y moderadamente descompuesta podría ser por la capacidad de producir enzimas que descomponen polisacáridos y obtener fuente de energía. Fontaine *et al.* (2003) indican que, en las últimas etapas de la descomposición de la materia orgánica, solo aquellas bacterias capaces de sintetizar enzimas degradadoras de polisacáridos mantienen su crecimiento. Varios autores reportan que el género *Pseudomonas* es capaz de sintetizar enzimas degradadoras de almidón, celulosa, hemicelulosa y lignina (Zimmermann, 1990; Ramírez y Cocha, 2003; Carriello *et al.*, 2007), estos compuestos son parte de la materia orgánica (Kögel, 2002).

4.2.2.3 Distribución de *P. tolaasii* en la perlita y vermiculita

En los dos cultivos, la perlita y la vermiculita son los componentes donde menos se asoció *P. tolaasii*. La perlita presentó un porcentaje similar de bacterias en las clases II-IV, que fue aproximadamente de 10% para pimiento y alrededor del 13% en pepino; este componente no tuvo participación en las clases >IV. La asociación de *P. tolaasii* en la vermiculita fue distinta en los cultivos: en pimiento, obtuvo la menor participación de todos los componentes, el porcentaje que obtuvo de las clases II, III y IV fue de 7.6, 3.2 y 9.4, respectivamente; mientras que en pepino sólo se registró en la clase II con una participación de 0.31% de *P. tolaasii* (Cuadro 10). Además de la alta retención de humedad, la baja asociación de *P. tolaasii* con el material inorgánico tal vez se daba a que no hay una fuente de carbono para que puedan multiplicarse. La perlita es sintética e inerte que tiene alta retención de agua (80-94%) y baja capacidad de aireación (6-18%) en partículas <2 mm (Anicua *et al.*, 2009); mientras la vermiculita puede tener capacidad de retención de humedad de hasta 70% (Verdonck *et al.*, 1977).

4.2.3 Distribución de bacterias en la rizósfera de plántulas de chile pimiento morrón y pepino

4.2.3.1 Distribución de bacterias en la raíz del cultivo y la materia orgánica ligeramente descompuesta

La distribución de las bacterias en la raíz fue diferente en los dos cultivos. En pimiento, las colonias bacterianas VI y VII se localizaron totalmente en la raíz, en la clase II y III presentó una asociación considerable en comparación con los otros componentes; en pepino no se manifestó asociación de las bacterias en las clases IV, VI y VII; mientras en la clase V obtuvo el 100% de participación de bacterias con este componente. Además, en las clases II y III mostró aproximadamente el 11% del total de bacterias en esas categorías. Por su parte, la distribución de bacterias en la materia orgánica también fue dependiente del cultivo: en chile pimiento morrón se registró la preferencia de las bacterias menor a 7.5% en las clases II y III; mientras que, en pepino obtuvo valores del orden de 28-46% entre las categorías II-IV (Cuadro 11). La influencia de la raíz del cultivo sobre las demás bacterias es relativamente similar a lo encontrado en *P. tolaasii* y caso contrario ocurrió en la materia orgánica ligeramente descompuesta. Gutiérrez *et al.* (2016) encontraron similar tendencia de bacterias nativas sobre las raíces del cultivo de alfalfa y un comportamiento diferente entre la relación de las bacterias-residuos orgánicos en dos cultivos.

4.2.3.2 Distribución de bacterias en la materia orgánica moderadamente descompuesta y material orgánica amorfa

En el cultivo de chile pimiento morrón, la distribución de las bacterias sobre la materia orgánica moderadamente descompuesta sólo se presentó en la clase II; mientras en pepino se encontraba en las clases II y III, con una participación aproximada de 28% y 22%, respectivamente. Por su parte, la asociación de las bacterias con la materia orgánica amorfa se presentó sólo en la clase II con valores bajos en ambos cultivos (Cuadro 11). Las bacterias encontradas en esta materia orgánica podrían tener la facultad de crecer en condiciones de C y nutrientes limitados. Fontaine *et al.* (2003) indican que a la materia orgánica moderadamente descompuesta y amorfa se asocia una pequeña

cantidad de microorganismos que están adaptados a condiciones de déficit de carbono labil.

Cuadro 11. Distribución de bacterias individuales y/o colonias categorizadas por clases y su relación con diferentes componentes de la rizósfera de plántulas de chile pimiento morrón y pepino.

Clase	Rango de bacterias	Bacterias o número de colonias	Total de bacterias	%	Componentes de la rizósfera (%)					
					V	P	MLD	MMD	MOA	R
Chile pimiento morrón										
I	1-10	351	1,587	2.74	ND	ND	ND	ND	ND	ND
II	11-100	103	2,967	5.13	11.02	57.16	4.31	1.92	0.75	24.84
III	101-500	15	3,123	5.40	-	42.65	7.37	-	-	49.98
IV	501-1000	1	743	1.28	-	100	-	-	-	-
V	1001-5000	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VI	5001-10000	2	15,523	26.84	-	-	-	-	-	100
VII	10001-30000	2	33,889	58.60	-	-	-	-	-	100
Total			57,832							
Pepino										
I	1-10	896	3,888	10.60	ND	ND	ND	ND	ND	ND
II	11-100	183	4,785	13.04	4.33	22.07	28.32	28.44	5.89	10.95
III	101-500	24	5,730	15.62	-	26.82	39.63	22.44	-	11.1
IV	501-1000	2	1,277	3.48	-	53.95	46.05	-	-	-
V	1001-5000	2	8,676	23.64	-	-	-	-	-	100
VI	5001-10000	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VII	10001-30000	1	12,339	33.63	-	-	40	55	5	-
Total			36,695							

V= Vermiculita; P= Perlita; MLD= Materia orgánica ligeramente descompuesta; MMD= Materia orgánica moderadamente descompuesta; MOA= Materia orgánica amorfa; R= Raíz del cultivo; ND= No definidos.

4.2.3.3 Distribución de bacterias en la perlita y vermiculita

La distribución de las bacterias sobre la perlita fue considerable en los dos cultivos, siendo el primer o segundo sitio mayor concurrido a partir de la clase II-IV; sin embargo, a mayores clases que las antes mencionadas no hay ninguna participación. En los dos cultivos, la preferencia de las bacterias hacia la vermiculita fue baja (<11%) y sólo se presentó en la clase II (Cuadro 11). Debido a las propiedades de estos componentes, el aumento en la distribución de las bacterias, principalmente en la perlita, puede deberse a que existe otro grupo de bacterias se pueden desarrollar de forma anaeróbica.

Se sugiere que esta técnica puede ser capaz de mostrar la habilidad o inhabilidad del establecimiento y crecimiento en la rizobacterias en un microambiente colonizado por microorganismos nativos y mostrar su comportamiento específico.

4.3 Producción de pepino

En pepino, la cinética de crecimiento no mostró diferencias estadísticas durante los muestreos mensuales para las variables diámetro de tallo y contenido relativo de clorofila (Anexos 14 y 17).

La variable número de hojas se comportó igual durante todo el experimento con excepción del último muestreo (5 de noviembre 2016), donde presentó diferencias estadísticas significativas (Anexos 15). El mayor número de hojas lo obtuvo el tratamiento con la Solución Steiner 75% más la inoculación de *P. tolaasii*, seguido de su tratamiento control (SS75+NOI). De igual manera la Solución Steiner 50% más inoculación obtuvo un mayor número de hojas que su tratamiento control. El análisis estadístico demostró que el incremento del número de hojas correspondía a la concentración de la solución Steiner, teniendo más en aquellas a concentración de 75% (Figura 12). Hernández *et al.* (2014) encontraron 22.5 a 27.5 hojas por planta en pepinos cv. Solverde sin injerto e injertados. Por otro lado, Marcano *et al.* (2012) indica un total de 28.55 a 29.33 hojas de pepino crecido en distintas localidades de municipio de Lara en Venezuela. Un mayor número de hojas en las plantas proporciona mayor intercepción de luz, en respuesta, mayor fotosíntesis y acumulación de fotoasimilados, lo que puede resultar en el aumento de la biomasa y del rendimiento (Carrillo *et al.*, 2016). En el presente trabajo se observó un ligero incremento que varió de 1.17 a 9.6% en los tratamientos SS50%+INC y SS75%+INC, respecto a su control en solución Steiner. Barreto *et al.* (2007) afirman que la inoculación mejora el área foliar e incrementan raíces secundarias al producir un efecto hormonal y nutricional en las plantas.

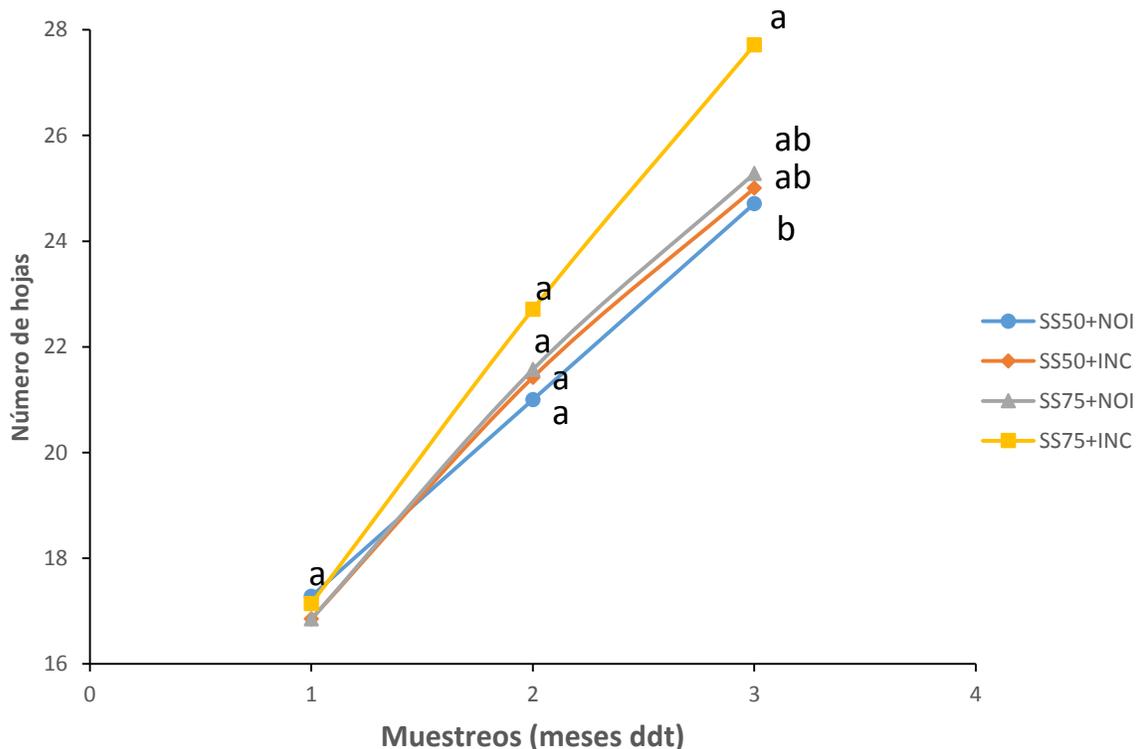


Figura 12. Número de hojas del cultivo de pepino inoculados con *Pseudomonas tolaasii* e irrigados con dos concentraciones de solución Steiner. Valores con la misma letra dentro de cada muestreo son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$); ddt= días después del trasplante; SS75+INC= Solución Steiner 75% más inoculación, SS75+NOI= Solución Steiner 75% sin inoculación, SS50+INC= Solución Steiner 50% más inoculación, SS50+NOI= Solución Steiner 50% sin inoculación.

La variable altura de planta en el primer muestreo (5 de septiembre 2016) no mostró diferencias estadísticas; sin embargo, en el segundo y tercer muestreo mensual se presentaron diferencias estadísticas significativas. Las plantas irrigadas con la solución Steiner 75% presentaron mayor altura que la regadas con la solución Steiner al 50%. Las plantas con la inoculación de *P. tolaasii* mostraron un ligero incremento de altura de planta independiente de la solución (Figura 13). El análisis estadístico demostró que el incremento de la altura de planta se debía al factor Solución Steiner, teniendo la mayor altura en aquellas con mayor concentración (Anexo 16). Estos resultados se deben a la actividad hormonal que pudiera presentar la inoculación de *P. tolaasii*, aunado a la concentración de la solución que pudiera maximizar este efecto. Resultados similares

fueron reportados por Isfahani y Besharati (2012) quienes encontraron incrementos de 20% a 34% en la altura de planta de pepinos fertilizados a dosis de 75 y 50% e inoculados con *Pseudomonas* sp. respecto a los tratamientos control fertilizados con las mismas dosis en un suelo de textura franca. Galindo *et al.* (2014) reportaron en plantas de pepino irrigadas con Solución Steiner 100% alturas de 211 cm, mientras que en plantas crecidas en varios sustratos orgánicos obtuvieron alturas de 140-185 cm.

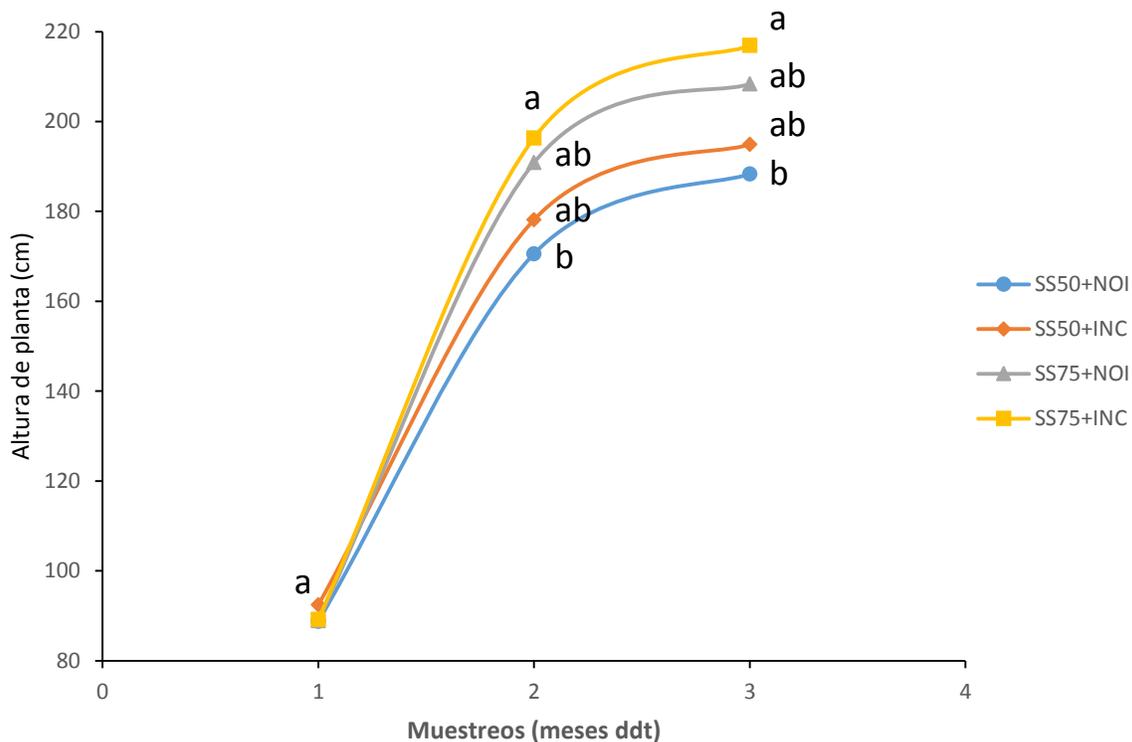


Figura 13. Altura de planta del cultivo de pepino inoculados con *Pseudomonas tolaasii* e irrigados con dos concentraciones de solución Steiner. Valores con la misma letra dentro de cada muestreo son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$); ddt= días después del trasplante; SS75+INC= Solución Steiner 75% más inoculación, SS75+NOI= Solución Steiner 75% sin inoculación, SS50+INC= Solución Steiner 50% más inoculación, SS50+NOI= Solución Steiner 50% sin inoculación.

En el muestreo destructivo realizado el 5 de noviembre del 2016, no se obtuvieron diferencias estadísticas significativas para las variables longitud radical, biomasa seca radical y para ninguno de los elementos del análisis nutrimental (N total, P, K, Ca, Mg, S, Fe, Mn, B, Zn y Cu) (Anexos 18, 19 y 20).

La Figura 14 que muestra el mayor volumen radical de la planta que se presentó con la aplicación de solución Steiner 50% más la inoculación de la rizobacteria, seguido de la solución Steiner 75% inoculado con *P. tolaasii*, con 40.9 y 14.45% mayores en comparación con su similar en la solución (Anexo 18). Esta respuesta a la inoculación de *P. tolaasii* es por la capacidad de la cepa de producir ácido indol-acético estimulando el crecimiento radical. Respuesta similar fue encontrada por Egamberdieva *et al.* (2017) con el incremento del 45% del volumen radical en el cultivo de soya, crecida 40 días en condiciones hidropónicas e inoculadas con *P. putida* y *Bradyrhizobium japonicum* en comparación con el tratamiento control sin rizobacterias. El incremento de volumen radical en la planta es una ventaja ya que incrementa el área de exploración de las raíces en el suelo, favoreciendo la absorción de agua y nutrientes (Carrillo *et al.*, 2016).

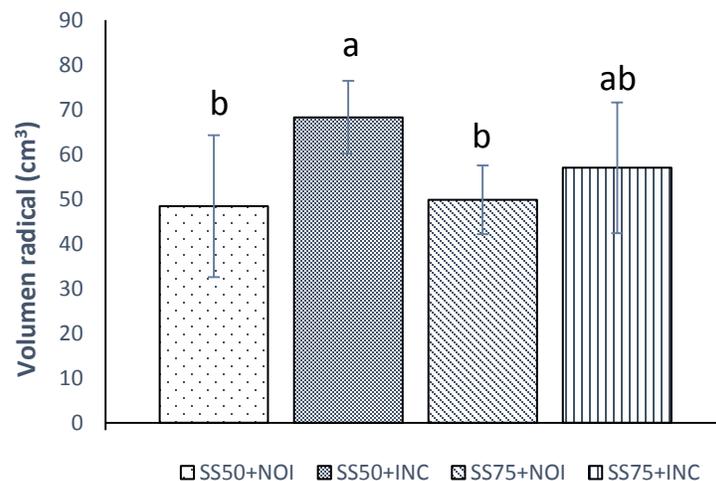


Figura 14. Volumen radical del cultivo de pepino inoculados con *Pseudomonas tolaasii* e irrigados con dos concentraciones de solución Steiner. Valores con la misma letra dentro de la gráfica son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$); Símbolo "I" dentro de la gráfica indica la desviación estándar. SS75+INC= Solución Steiner 75% más inoculación, SS75+NOI= Solución Steiner 75% sin inoculación, SS50+INC= Solución Steiner 50% más inoculación, SS50+NOI= Solución Steiner 50% sin inoculación.

El área foliar y la biomasa seca aérea respondieron de forma similar a los tratamientos, presentando una respuesta positiva a la concentración de la solución y a la inoculación con *P. tolaasii*, superando los valores obtenidos en los tratamientos sin la inoculación (Figuras 15 y Anexo 18). La respuesta por efecto de la concentración de la solución nutritiva se debe a la disponibilidad nutrimental, la absorción por parte de la planta y la

formación de tejidos, órganos y compuestos orgánicos. Los resultados de área foliar concuerdan con lo reportado con El-Shabrawy *et al.* (2010), quienes obtuvieron un 12% en la disminución del área foliar en plántulas de pepino, al reducir la fertilización nitrogenada en 25% e inocular con *Azotobacter*. Colla *et al.* (2011) reportaron una disminución de 9% en la biomasa seca aérea en plantas de melón mini por efecto de la dosis de fertilización que fue de 50% menor respecto al control. Hernández *et al.* (2014) en pepino var. Solverde irrigado con solución Steiner al 100% obtuvieron 50.6 g de biomasa seca aérea, valores más altos que en la presente investigación, donde el pepino var. Poinset regado con solución Steiner al 75% se tuvo hasta 37.92 g de biomasa seca aérea. Esta disminución se debió a que se realizó poda de hojas (7 hojas) en pepino para poder realizar “bajada de planta” en las labores culturales de pepino y evitar que las hojas quedaran en contacto directo con la cubierta del suelo.

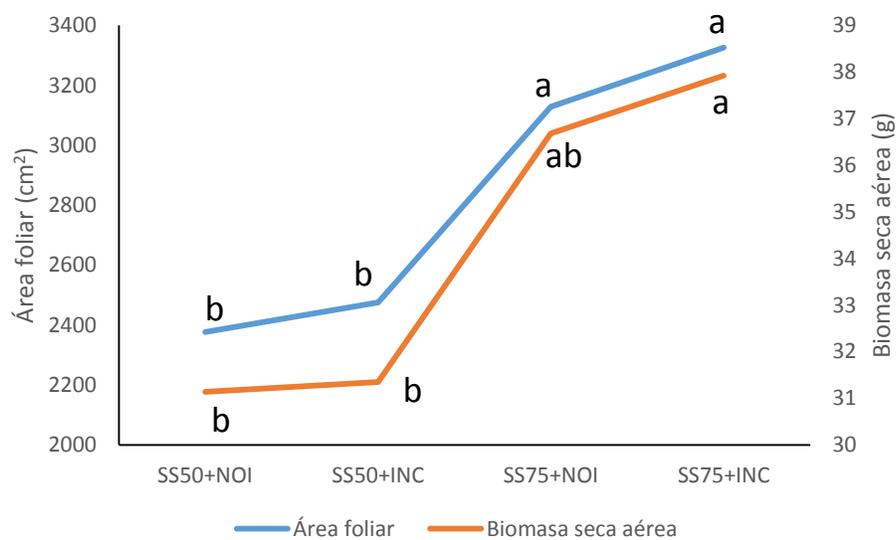


Figura 15. Área foliar y biomasa seca aérea del cultivo de pepino inoculados con *Pseudomonas tolaasii* e irrigados con dos concentraciones de solución Steiner. Valores con la misma letra dentro de la gráfica son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$); SS75+INC= Solución Steiner 75% más inoculación, SS75+NOI= Solución Steiner 75% sin inoculación, SS50+INC= Solución Steiner 50% más inoculación, SS50+NOI= Solución Steiner 50% sin inoculación.

La asociación de solución Steiner a 75% con la inoculación de *P. tolaasii* aumentó el rendimiento de pepino var. Poinset en condiciones de invernadero hasta 16% más que si se usara únicamente la solución nutritiva a 75%; comportamiento similar ocurrió en el tratamiento de la solución nutritiva a 50% más la inoculación de *P. tolaasii* que

incrementaron el rendimiento 10.6% más, que el tratamiento de la solución Steiner al 50% sin inocular (Figura 16 y Anexo 18). Los incrementos en el rendimiento se deben a que la inoculación de *P. tolaasii* estimula el volumen radical y aumenta el área de contacto con la solución nutritiva, lo que favorece la absorción de nutrientes. Incrementos similares fueron reportados por Gül *et al.* (2013) en pepino cultivado en perlita como sustrato e irrigados con solución nutritiva, donde la inoculación de *P. fluorescens* y *P. putida* aumentaron el rendimiento en 20 y 40% respectivamente, en comparación con el tratamiento control que fue únicamente irrigado con la solución nutritiva.

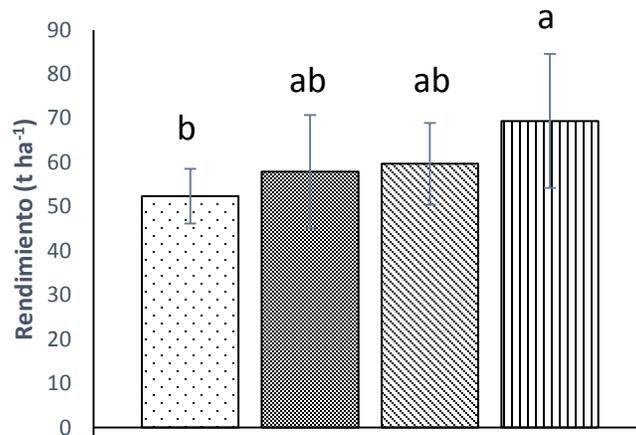


Figura 16. Rendimiento del cultivo de pepino inoculados con *Pseudomonas tolaasii* e irrigados con dos concentraciones de solución Steiner. Valores con la misma letra dentro de la gráfica son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$); Símbolo "I" dentro de la gráfica indica la desviación estándar. SS75+INC= Solución Steiner 75% más inoculación, SS75+NOI= Solución Steiner 75% sin inoculación, SS50+INC= Solución Steiner 50% más inoculación, SS50+NOI= Solución Steiner 50% sin inoculación.

4.3.1 Calidad de la cosecha de frutos de pepino

En la calidad de la cosecha de frutos de pepino, las variables evaluadas biomasa fresca de fruto, diámetro ecuatorial, mesocarpio, la placenta y los elementos del análisis nutricional (N total, P, K, Ca, Mg, S, Fe, Mn, B, Zn y Cu) no tuvieron diferencias estadísticas significativas. En las variables de calidad de fruto el tratamiento que obtuvo los valores más altos fue la Solución Steiner 75% más la inoculación con *Pseudomonas tolaasii*. En el análisis nutrimental los dos tratamientos inoculados superaron a sus

controles (SS75+NOI y SS50+NOI) en la mayoría de las concentraciones de los elementos (Anexos 21, 22 y 23).

En diámetro polar del fruto de pepino se tuvo diferencias estadísticas significativas entre tratamientos (Anexo 21). El tratamiento solución Steiner 75% más la inoculación de *P. tolaasii* tuvo 3% más longitud que su similar en solución sin la bacteria; mientras que, el tratamiento solución Steiner 50% más la inoculación disminuyó 2% la longitud, respecto a su similar sin la rizobacteria (Figura 17). El análisis estadístico demuestra que estos incrementos son por efecto de la concentración Steiner, favoreciendo aquellos con mayor concentración (Anexo 21). Los resultados manifiestan que en algunas situaciones las rizobacterias no ofrecen beneficios directos sobre el tamaño del fruto, sin embargo, a pesar de ser ligeramente más pequeños pudo haber producido un mayor número de frutos, reflejándose en el rendimiento (Anexo 21). En esta investigación se encontraron valores menores a los indicados por Bravo *et al.* (2011) que van del orden de 23-25 cm en el diámetro polar en pepino híbrido Intimidator cultivados a distintas densidades y con diferentes tallos de producción. Esto se puede explicar debido a que las variedades pueden presentar diferencias entre las características tanto del fruto como del porte de la planta.

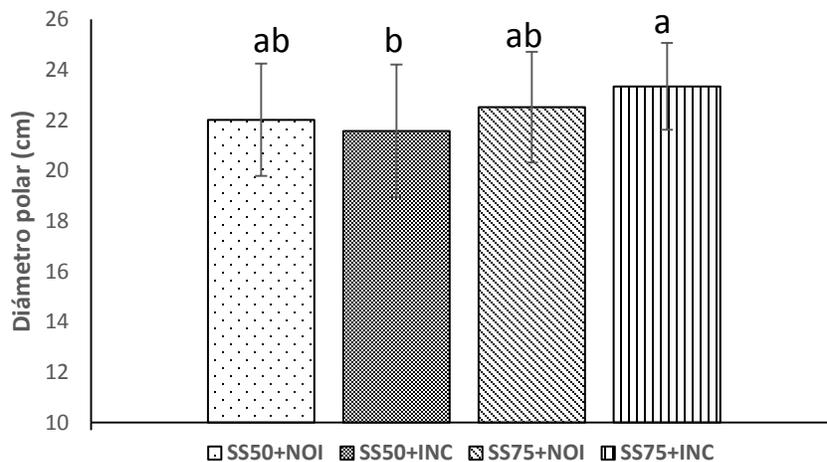


Figura 17. Diámetro polar de frutos de pepino inoculados con *Pseudomonas tolaasii* e irrigados con dos concentraciones de solución Steiner. Valores con la misma letra dentro de la gráfica son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$); Símbolo “I” dentro de la gráfica indica la desviación estándar. SS75+INC= Solución Steiner 75% más inoculación, SS75+NOI= Solución Steiner 75% sin inoculación, SS50+INC= Solución Steiner 50% más inoculación, SS50+NOI= Solución Steiner 50% sin inoculación.

Los frutos de las plantas de pepino con solución Steiner 75% presentaron mayor contenido de sólidos solubles totales (SST) en comparación con los frutos desarrollados con solución Steiner al 50%. No obstante, los frutos de las plantas inoculadas con *P. tolaasii* mostraron un ligero incremento en los °Brix, independiente de la solución (Figura 18 y Anexo 21). Estos resultados indican que la inoculación de *P. tolaasii* mejoró la cantidad de nutrientes en la planta afectado de forma directa el contenido de SST. Moreno *et al.* (2013) reportan valores de °Brix de 3.15, 3.20 y 3.47 en cultivares de pepino variedad Constable, Lider y Zapata, respectivamente. Además, Moreno *et al.* (2015) en pepinos var. Sanson tras ser almacenados durante 7 días a 25 °C, reportaron en la irrigados con solución Morard y Benavides 100 y 50% valores de 3.57 y 3.18 °Brix, correspondientemente; mientras que, la solución Steiner 100% y 50% obtuvieron 3.33 y 2.97 °Brix, respectivamente. Estos valores son similares a los encontrados en esta investigación; aunque la concentración de la solución nutritiva es menor. Varios autores mencionan sobre la relación positiva entre la concentración de nitrógeno del fruto o en el extracto celular de pecíolo con el contenido de SST (Pérez *et al.*, 2006; Tapia *et al.*, 2010; Moreno *et al.*, 2015). Esta relación existió en este estudio, donde a mayor concentración de N total en el fruto, mayor contenido de SST (Anexos 21, 22 y 24).

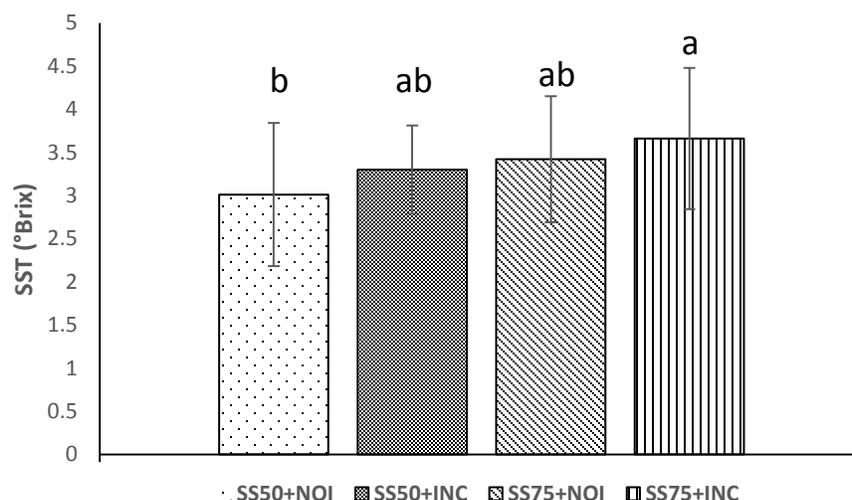


Figura 18. Sólidos solubles totales (SST) de frutos de pepino inoculados con *Pseudomonas tolaasii* e irrigados con dos concentraciones de solución Steiner. Valores con la misma letra dentro de la gráfica son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$); Símbolo "I" dentro de la gráfica indica la desviación estándar. SS75+INC= Solución Steiner 75% más inoculación, SS75+NOI= Solución Steiner 75% sin inoculación, SS50+INC= Solución Steiner 50% más inoculación, SS50+NOI= Solución Steiner 50% sin inoculación.

La Figura 19 muestra que la mayor biomasa seca del fruto de pepino la obtuvo la solución Steiner 75% más la inoculación de la bacteria y las más baja la obtuvo la solución Steiner 50% con la inoculación de *P. tolaasii*, mostrando diferencias estadísticas entre ellos (Anexo 21). El crecimiento del fruto está relacionado con la acumulación de biomasa seca del mismo (Barraza, 2012), lo que explica el comportamiento de esta variable por efecto de los tratamientos. Por otro lado, el menor tamaño, peso fresco y seco de frutos de pepino en el tratamiento SS50+INC puede deberse a una mejor distribución de los fotoasimilados entre los órganos demandantes (frutos) (Peil y Galvez, 2005), obteniendo frutos ligeramente más pequeños, pero en mayor número de frutos, viéndose reflejado en el rendimiento.

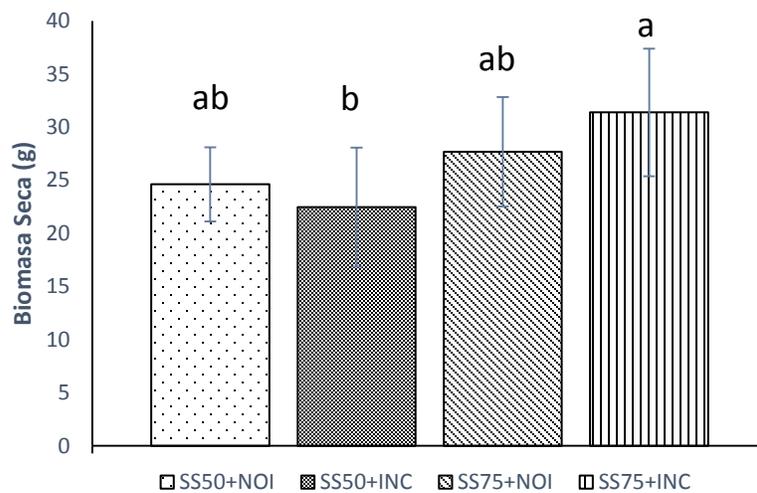


Figura 19. Biomasa seca de fruto de pepinos inoculados con *Pseudomonas tolaasii* e irrigados con dos concentraciones de solución Steiner. Valores con la misma letra dentro de la gráfica son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$); Símbolo "I" dentro de la gráfica indica la desviación estándar. SS75+INC= Solución Steiner 75% más inoculación, SS75+NOI= Solución Steiner 75% sin inoculación, SS50+INC= Solución Steiner 50% más inoculación, SS50+NOI= Solución Steiner 50% sin inoculación.

4.4. Producción de chile pimiento morrón

En chile pimiento morrón, la cinética de crecimiento no mostró diferencias estadísticas durante los muestreos mensuales de la altura de planta. Las plantas inoculadas con *P. tolaasii* e irrigadas con la solución Steiner 50% obtuvieron la mayor altura; así mismo, la menor altura fueron aquellas irrigadas solamente con la solución Steiner 50% (Anexo 27).

Durante la cinética de crecimiento, la variable diámetro de tallo no presentó diferencias estadísticas en el primer muestreo; no instante a partir del segundo muestreo y hasta el último se obtuvieron diferencias estadísticas entre tratamientos (Anexo 25). En la Figura 20 se muestra que el valor más alto lo obtuvo el tratamiento SS75%+NOI seguido de SS75+INC, SS50+INC y finalmente SS50+NOI. El análisis estadístico arrojó que el aumento del diámetro de tallo estuvo influenciado por la concentración de la solución Steiner, beneficiando a los tratamientos con la concentración más alta. La respuesta de los tratamientos con solución Steiner no fue lo que se esperaba. Esto puede explicarse debido a que el nitrógeno que esta en la planta (Anexo 30) no tiene una tendencia normal respecto al crecimiento de la planta. El contenido de N en la planta no siempre se relaciona de manera positiva con el crecimiento y el rendimiento, lo que indica que el nitrógeno pudo quedar concentrado en organelos de las células vegetales y no formar parte de alguna función específica (Barker y Bryson, 2007; Hawkesford *et al.*, 2012).

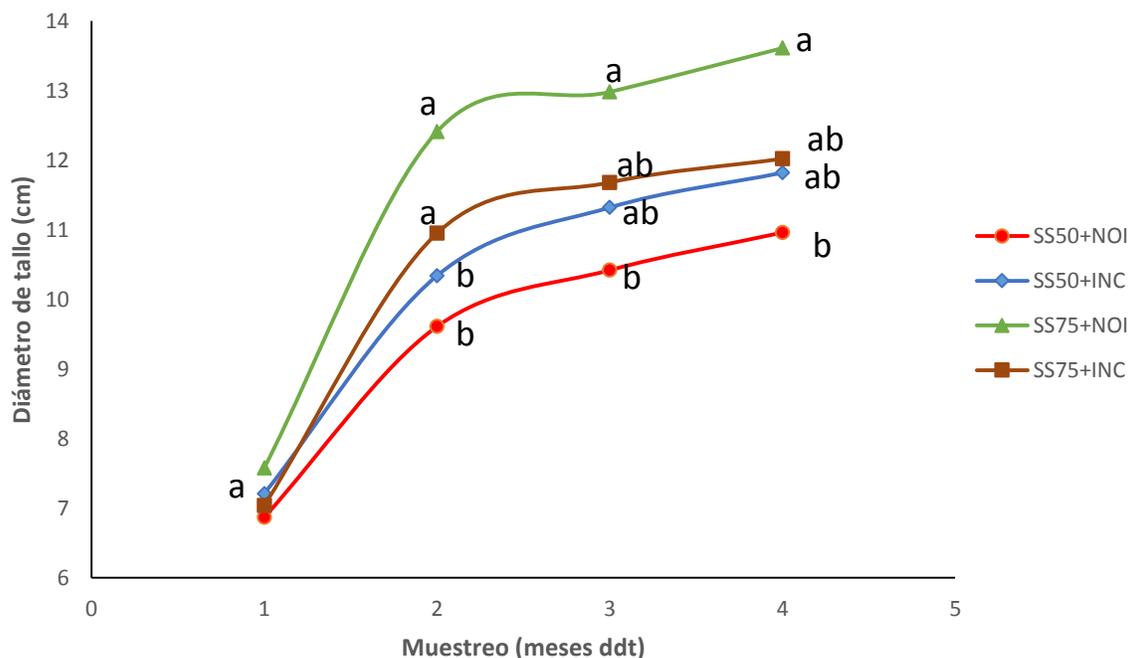


Figura 20. Diámetro de tallo durante la cinética de crecimiento del cultivo de chile pimienta morrón inoculados con *Pseudomonas tolaasii* e irrigados con dos concentraciones de solución Steiner. Valores con la misma letra dentro de cada muestreo son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$); SS75+INC= Solución Steiner 75% más inoculación, SS75+NOI= Solución Steiner 75% sin inoculación, SS50+INC= Solución Steiner 50% más inoculación, SS50+NOI= Solución Steiner 50% sin inoculación.

El número de hojas durante la cinética de crecimiento se vio afectada estadísticamente sólo en el primer muestreo realizado el día 5 de septiembre 2016 (Anexo 26). Los tratamientos inoculados con *P. tolaasii* se observaron bajos o cercanos a aquellos que no fueron inoculados; sin embargo, a partir del segundo muestreo y hasta el último (5 de noviembre 2016) los tratamientos inoculados presentaron un aumento en el número de hojas hasta superar aquellos que no estaban inoculados. A pesar de ello no existieron diferencias estadísticas significativas en los subsecuentes muestreos (Figura 21 y Anexo 26). Esto puede ser posible a que los mecanismos para promover el crecimiento por parte de la bacteria pueden expresarse en diferentes etapas del cultivo. Varios autores concuerdan con lo mismo e incluso mencionan que puede suceder por ciertas cuestiones abióticas (Dell'Amico *et al.*, 2008; Figueiredo *et al.*, 2016).

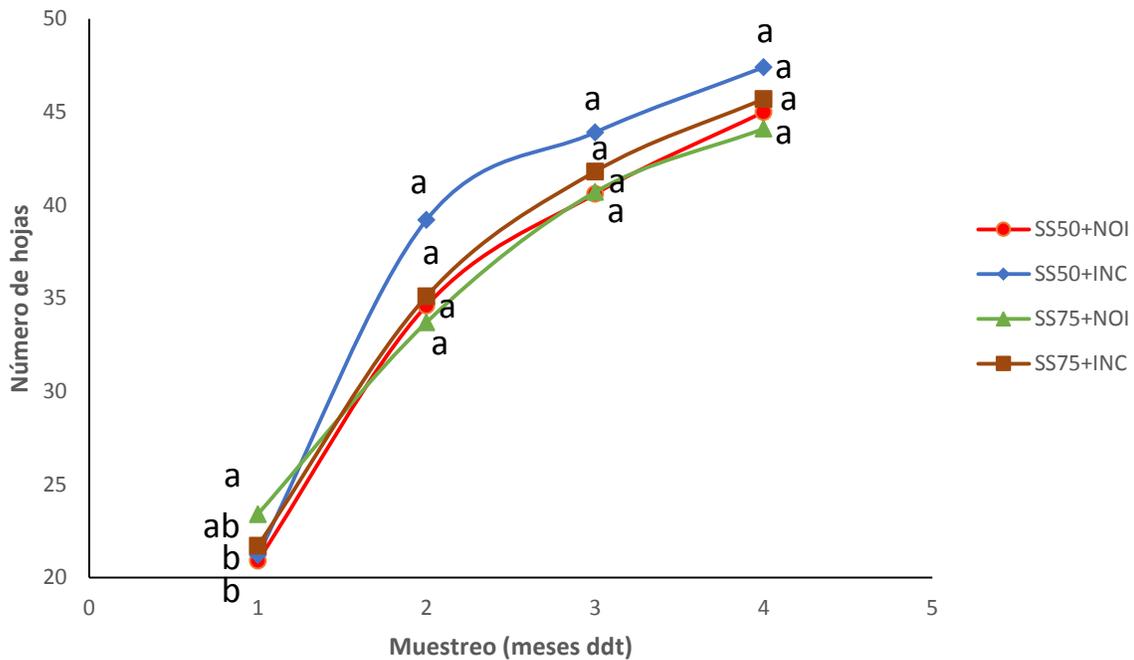


Figura 21. Número de hojas durante la cinética de crecimiento del cultivo de chile pimiento morrón inoculados con *Pseudomonas tolaasii* e irrigados con dos concentraciones de solución Steiner. Valores con la misma letra dentro de cada muestreo son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$); SS75+INC= Solución Steiner 75% más inoculación, SS75+NOI= Solución Steiner 75% sin inoculación, SS50+INC= Solución Steiner 50% más inoculación, SS50+NOI= Solución Steiner 50% sin inoculación.

La Figura 22 muestra el comportamiento del contenido relativo de clorofila en la cinética de crecimiento del cultivo. En el muestreo realizado el 5 de agosto no existieron diferencias estadísticas; mientras en los muestreos subsecuentes se observa una tendencia diferencial entre los tratamientos irrigados con la solución Steiner 75% y los regados con la concentración al 50% (Anexo 28). Este comportamiento es confirmado por el análisis estadístico, el cual atribuye que esta variable está siendo afectada por la concentración de la solución. Los datos obtenidos son respuesta al aumento de elementos como el N, Mg y Fe en la solución, los cuales pueden ser absorbidos en mayores cantidades por la planta y formar parte de la molécula de la clorofila. Varios autores reportan la influencia positiva de la concentración de N tanto en la solución nutritiva como foliar sobre el contenido relativo de clorofila (Colla *et al.*, 2010; Rodríguez

et al., 2013). Esta relación fue encontrada en la presente investigación (Anexos 28, 30 y 32).

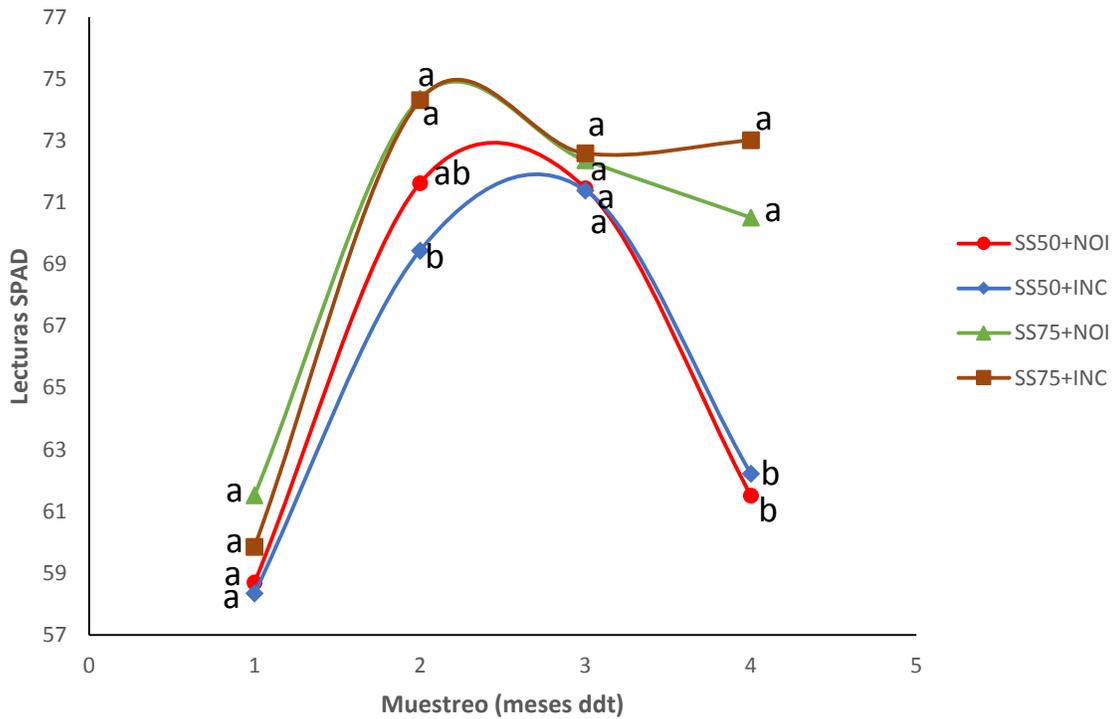


Figura 22. Contenido relativo de clorofila (lecturas SPAD) durante la cinética de crecimiento del cultivo de Chile pimiento morrón inoculados con *Pseudomonas tolaasii* e irrigados con dos concentraciones de solución Steiner. Valores con la misma letra dentro de cada muestreo son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$); SS75+INC= Solución Steiner 75% más inoculación, SS75+NOI= Solución Steiner 75% sin inoculación, SS50+INC= Solución Steiner 50% más inoculación, SS50+NOI= Solución Steiner 50% sin inoculación.

En el muestreo destructivo realizado el día 5 de diciembre del 2016 no se encontraron diferencias estadísticas significativas para las variables: longitud radical, volumen radical, área foliar, biomasa seca radical, biomasa seca aérea, rendimiento y el análisis nutrimental (P, K, Ca, Mg, S, Fe, Mn, B, Zn y Cu). En la mayoría de estas variables el tratamiento que obtuvo los valores más altos fue la Solución Steiner 75% sin la inoculación de *P. tolaasii*, seguidos de la Solución Steiner 50% más la inoculación de la rizobacteria, SS75+INC y por último SS50+NOI (Anexo 29, 30 y 31). La baja

concentración de K en la planta y la extrema variación de temperatura mermaron la respuesta de los tratamientos en plantas de pimiento (Anexo 30). Jones *et al.* (1991) indican que la concentración de K en plantas en producción de pimiento morrón debe estar entre 35-45 gK kg⁻¹ de biomasa seca, lo que contrasta con lo obtenido, donde los intervalos registrados están por debajo de ese rango (24-31gK kg⁻¹). La ley del mínimo de Liebig establece que el crecimiento vegetal está condicionado por aquel elemento o factor que se encuentre en forma limitada (Machado *et al.*, 2009; López y Alvarado, 2010). Por otro lado, Montañó y Belisario (2012) indican que la temperatura diurna óptima para el crecimiento de pimiento esta entre 20-25°C y la nocturna entre 16-18°C. Por otro lado, menciona que se inhibe el crecimiento a temperaturas inferiores de 15°C y a partir de 10°C se detiene el crecimiento, por lo que pimiento producido bajo estas condiciones tienen efectos negativos en la productividad.

La Figura 23 muestra la concentración de N total en los diferentes tratamientos. Los tratamientos inoculados SS75+INC y SS50+INC superaron a sus controles SS75+NOI y SS50+NOI, respectivamente (Anexo 30). Las rizobacterias tienen la capacidad de facilitar la absorción de distintos elementos, por ejemplo, el nitrógeno. Trejo *et al.* (2003) reportan concentraciones de N total de 1.09-1.7 g kg⁻¹ de biomasa seca de pimiento var. California Wonder cultivado en suelo neutro y con diferentes fertilizaciones determinado después del primer corte. Por su parte, Jones *et al.* (1991) indican que la concentración de N en plantas en producción de pimiento debe ser de 35 a 50 g kg⁻¹ de biomasa seca. Todos los tratamientos con excepción de la SS50+NOI (34.16 gN kg⁻¹) estuvieron es el estado de suficiencia de nitrógeno.

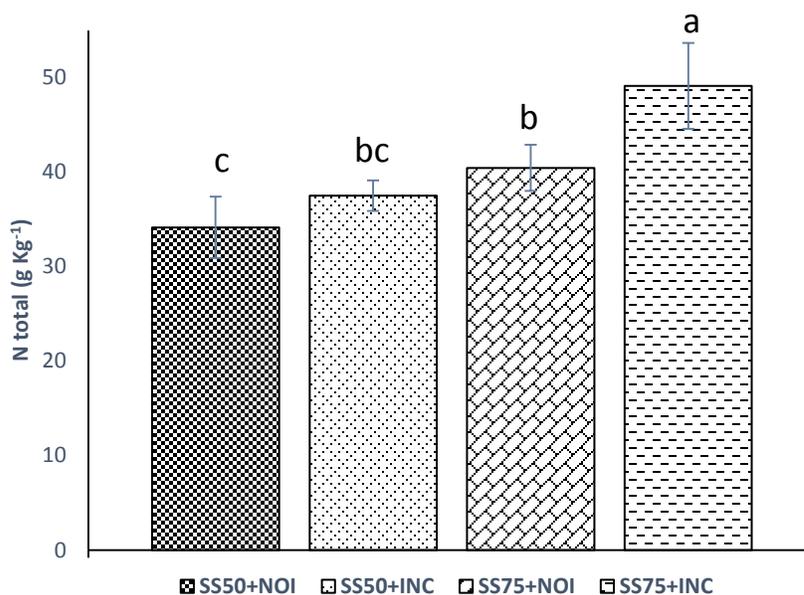


Figura 23. Concentración de N total del cultivo de chile pimiento morrón inoculados con *Pseudomonas tolaasii* e irrigados con dos concentraciones de solución Steiner. Valores con la misma letra dentro de cada muestreo son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$); Símbolo “I” dentro de la gráfica indica la desviación estándar. SS75+INC= Solución Steiner 75% más inoculación, SS75+NOI= Solución Steiner 75% sin inoculación, SS50+INC= Solución Steiner 50% más inoculación, SS50+NOI= Solución Steiner 50% sin inoculación.

4.4.1 Calidad de la cosecha de frutos de chile pimiento morrón

En la calidad de los frutos de pimiento, la biomasa fresca, diámetro polar, diámetro ecuatorial, pericarpio, pH, acidez titulable, biomasa seca de fruto y la concentración del análisis nutrimental (N total, P, K, Ca, Mg, S, Fe, Mn, B, Zn y Cu) no mostraron diferencias estadísticas entre los tratamientos (Anexos 33, 34, 35 y 36). La falta de respuesta de los tratamientos sobre la calidad de los frutos de pimiento es debido a la baja concentración de los nutrientes en los mismos. El Cuadro 12 muestra la concentración nutrimental de fruto de pimiento obtenido en este estudio y de distintos autores. Chaparro *et al.* (2009) menciona que pueden presentarse trastornos de translocación de Ca y K a frutos de Solanáceas por efecto de temperatura altas (35°C) y bajas condiciones de humedad relativa. Esto se relaciona a lo sucedido en la investigación, donde se obtuvieron temperaturas promedio mayores a 35 °C y humedades relativas bajas (<27%).

Cuadro 12. Concentración nutrimental de macronutrientes y micronutrientes de frutos de pimiento obtenida por diferentes autores.

Autor\Nutriente	N total	P	K	Ca	Mg	S
g kg ⁻¹						
Assouline <i>et al.</i> (2006)	25.6-28.8	3.5-4.3	34.6-42.6	1.2-1.7	2.0-2.2	ND*
Silber <i>et al.</i> (2004)	ND*	6.6-7.7	ND*	1.4-1.8	2.3-2.7	ND*
Presente Investigación	20.7-22.8	3.0-3.3	14.0-17.6	0.8-1.0	1.6-2.0	0.5-0.6
Autor\Nutriente	Fe	Mn	Zn	B	Cu	
mg kg ⁻¹						
Assouline <i>et al.</i> (2006)	88-106	18-25	34.2-40.8	ND*	ND*	
Silber <i>et al.</i> (2004)	ND*	29-53	ND*	ND*	ND*	
Presente Investigación	81-122	13-17	11-14.9	16-21	9-26.6	

*ND= No Definido.

Los tratamientos inoculados con *Pseudomonas tolaasii* obtuvieron mayor incremento en los sólidos solubles totales (SST) en frutos de pimiento en comparación con los no inoculados (Figura 24 y Anexo 34). La inoculación mejoró la concentración de azúcares en los frutos. Oliva *et al.* (2008) encontraron en pimientos crecidos sobre diferentes relaciones de vermicompost y suelo, valores de 8.1-8.6 °Brix en fruto. Pirlak y Köse (2009) reportaron incrementos de los SST en 3% en la inoculación de *Pseudomonas* y *Bacillus* en plantas de fresas en comparación con el control sin inocular. Estos últimos autores explican que estos incrementos pueden deberse a la capacidad de estas rizobacterias de producir auxinas y citoquininas, influyendo sobre esta variable. Por otro lado, Preciado *et al.* (2011) mencionan que, debido a la baja absorción y acumulación de agua por parte de los frutos, estos pueden concurrir a cambios fisiológicos para acumular solutos orgánicos como azúcares simples (glucosa, sacarosa y fructuosa).

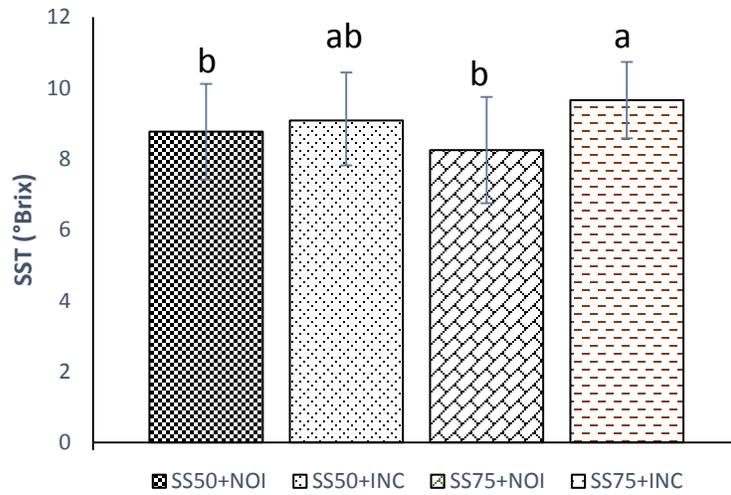


Figura 24. Cantidad de solidos solubles totales (SST) en frutos de chile pimiento morrón inoculados con *Pseudomonas tolaasii* e irrigados con dos concentraciones de solución Steiner. Valores con la misma letra dentro de cada muestreo son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$); SS75+INC= Solución Steiner 75% más inoculación, SS75+NOI= Solución Steiner 75% sin inoculación, SS50+INC= Solución Steiner 50% más inoculación, SS50+NOI= Solución Steiner 50% sin inoculación.

5. CONCLUSIONES

La inoculación de *Pseudomonas tolaasii* en chile pimiento morrón favorece la fisiología de la plántula (evapotranspiración, la conductancia estomática y el contenido relativo de clorofila), más no el crecimiento ni concentración nutrimental. En plántulas de pepino solo se incrementa la tasa fotosintética neta, el volumen radical y el diámetro de tallo.

La mayor distribución *in situ* de *Pseudomonas tolaasii* en la rizósfera de plántulas de chile pimiento morrón se localiza en la raíz y le sigue en la materia orgánica ligeramente descompuesta. A diferencia, en pepino la mayor población de la bacteria se encuentra sobre la materia orgánica ligeramente y seguida en la raíz.

Los exudados radicales de plántulas de chile pimiento morrón favorece el crecimiento de *Pseudomonas tolaasii* y bacterias, a diferencia de las plántulas de pepino, en donde la población es menor.

En pepino el mayor crecimiento, rendimiento y calidad se presenta con el riego de la solución Steiner al 75%, pero la inoculación de *Pseudomonas tolaasii* incrementa el volumen radical a concentración de la solución Steiner 50 y 75%.

El crecimiento y rendimiento del chile pimiento morrón no se modifica por la inoculación de *Pseudomonas tolaasii* ni la concentración de la solución nutritiva Steiner al 50 y 75%, pero los sólidos solubles totales aumentan con la inoculación de la bacteria independientemente de la concentración de solución utilizada.

6. RECOMENDACIONES

6.1 Para productores

Las semillas de las especies sean inoculadas con la rizobacteria antes de la siembra, lo que puede repercutir en posible efecto al mejorar la germinación, emergencia trasplante. Inocular desde la siembra es una práctica de manejo fácil y sencillo, comparado con la inoculación a plántulas.

6.2 Para futuras investigaciones

Cuando se elaboren secciones delgadas del suelo y se pretenda observar las población de bacterias marcadas genéticamente y con marcadores no específicos, verificar que la emisión de la longitud de onda de las dos fluorescencias este lo más lejana entre sí, para evitar posibles interferencias entre estas.

Para obtener la población bacteriana de secciones delgadas del suelo, correlacionar la concentración de la técnica de placa utilizada en microbiología y la estimación obtenida con el conteo mediante el análisis de imágenes.

7. LITERATURA CITADA

- Adhikari, T., Joseph, C., Yang, G., Phillips, D., y Nelson, L. 2001. Evaluation of bacteria isolated from rice for plant growth promotion and biological control of seedling disease of rice. *Canadian Journal of Microbiology*, Vol. 47, No. 10, 916-924 pp.
- 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, 1-20 pp.
- Alcántar G., G. y M. Sandoval, V. 1999. Manual de análisis químico de tejido vegetal. Publicación Especial No. 10. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, A.C. Chapingo, Edo. De México. 156 p.
- Altemüller, H., y Vorbach, A. 1987. Fluoreszenzmikroskopische wurzeluntersuchungen im gewachsenen bodenkontakt. *VDLUFA-Schriftenreihe* 23, 183-193 pp.
- Amara, U., Khalid, R., y Hayat, R. 2015. Soil bacteria and phytohormones for sustainable crop production. In *Bacterial metabolites for sustainable agroecosystem* (87-103 pp). Springer International Publishing.
- Anicua, R., Gutiérrez, M., Sánchez, P., Ortiz, C., Volke, V., y Rubiños, J. 2009. Tamaño de partícula y relación micromorfológica en propiedades físicas de perlita y zeolita. *Agricultura Técnica en México*, Vol. 35, No. 2, 147-156 pp.
- Aspelmeier, T., Egner, A., y Munk, A. 2015. Modern statistical challenges on high-resolution fluorescence microscopy. *Annual Review of Statistics and its Application*, Vol. 2, 163-202 pp.
- Assouline, S., Möller, M., Cohen, S., Ben-Hur, M., Grava, A., Narkis, K., y Silber, A. 2006. Soil-plant system response to pulsed drip irrigation and salinity. *Soil Science Society of America Journal*, Vol. 70, No. 5, 1556-1568 pp.

- Ayala, A., y Carrera, B. 2012. La horticultura en México: una primer aproximación al estudio de su competitividad. INCEPTUM, Vol. 7, No. 12, 271-293 pp.
- Badalucco, L. y Nannipieri, P. 2007. Nutrient transformation in the rhizosphere. In: Pinton, R., Z, Varanini., P, Nannipieri (Eds.) The Rhizosphere. Biochemistry and organic substances at the soil-plant interface. CRC Press, Boca Raton, Florida. 111-120 p.
- Bakker M. P.A.H., Raaijmakers J.M., Bloemberg G., Höfte M. y Lemanceau P., 2007. New perspectives and approaches in Plant Growth-Promoting Rhizobacteria research. European Journal of Plant Pathology, Vol. 119, No. 3, 241-242 pp.
- Barker, A., y Bryson, M. 2007. Nitrogen. In: Handbook of plant nutrition. Barker, A., y Pilbeam, D. 2007. Taylor & Francis Group, 21-50 pp.
- Barraza V., F. 2012. Acumulación de materia seca del cultivo de pepino (*Cucumis sativus* L.) en invernadero. Temas Agrarios, Vol. 17, No. 2, 18-29 pp.
- Barreto, D., Valero, N., Muños, A., y Peralta, A. 2007. Efecto de microorganismos rizosféricos sobre la germinación y crecimiento temprano de *Anacardium excelsum*. Zona Áridas, Vol. 11, No. 1, 240-250 pp.
- Bisognin, D.A. 2002. Origin and evolution of cultivated cucurbits. Ciencia Rural, Vol. 32, No. 4, 715-723 pp.
- Blum, W.E.H. 2008. The role of soil micromorphology in the light of the european thematic strategy for soil protection. In: New trends in soil micromorphology, Eds: S. Kapur, A. Mermut, and, G. Stoops, (Springer 2008).
- Bojacá, C., Monsalve, O., Casilimas, H., Gil, R., Villagrán, E., Arias, L., y Fuentes, L. 2012. Manual de producción de pimientón bajo invernadero. Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, Centro de Bio-Sistemas.

- Bona, E., Cantamessa, S., Massa, N., Manassero, P., Marsano, F., Copetta, A., y Berta, G. 2016. Arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth-promoting pseudomonads improve yield, quality and nutritional value of tomato: a field study. *Mycorrhiza* 27:1-11.
- Bravo, P., Zambrano, J., y Párraga, L. 2011. Influencia de la densidad de siembra y la poda en el cultivo del pepino (*Cucumis sativus*). *Revista EspamCiencia*, Vol. 2, No. 2, 45-48 pp.
- Bulgarelli, D., Schlaeppi, K., Spaepen, S., van Themaat, E., y Schulze, P. 2013. Structure and Functions of the bacterial microbiota of plants. *Annual Review of Plant Biology*. 64:807-838.
- Bullock, P., Jongerius, A., Tursina, T., Federoff, N., Stoops, G., y Babel, U. 1985. Manual para la descripción micromorfológica de suelos. Gutiérrez Ma. De C., Ortiz, C.A. (Trads). Colegio de Postgraduados, Montecillos, Texcoco, México.
- Buono, N. y Ulla, E. 2016. Efectos de la inoculación con bacterias solubilizadoras de fosfato en tabaco (*Nicotina tabacum* L.) y pimiento (*Capsicum annuum* L.) en condiciones controladas. *Revista agronómica del noroeste argentino*, Vol. 36, 45-54 pp.
- Cariello, M., Castañeda, L., Riobo, I., y González, J. 2007. Inoculante de microorganismos endógenos para acelerar el proceso compostaje de residuos sólidos urbanos. *Revista de Ciencia Nutrición Vegetal*, Vol. 7, No. 3, 26-37 pp.
- Carpentier, F. y Vandermeulen, B. 2016. High-Resolution photography for soil micromorphology slide documentation. *Geoarchaeology*, Vol. 31, No. 6, 603-607 pp.

- Carrillo, M., Ruiz, E., Reyes, A., Borges, L., Cristobal, J., y Pacheco, J. 2016. Crecimiento y respuesta a *Bemisia tabaci* en genotipos de *Capsicum annuum* inoculados con *Brevibacillus brevis* Cepa CBTC1. *Agrociencia*, Vol. 50, No. 3, 323-334 pp.
- Chaparro, L., Sánchez, A., Guzmán, M., y Valenzuela, J. 2009. La relación de Ca/K en el fertirriego. Su efecto sobre la calidad de frutos de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill cv. Raf). III Jordanadas del Grupo de Fertilización de la SECH, Almería, 35-41 pp.
- Chatterjee, R., Koner, S., y Datta, S. 2016. Impact of microbial inoculants on the performance of bell pepper (*Capsicum annuum* L.) varieties under foot hills of Eastern Himalayan región. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, Vol. 5, No. 9, 131-138 pp.
- Congalton, R. 1991. A review of assessing the accuracy of classifications of remotely sensed data. *Remote sensing of environment*, Vol. 37, No. 1, 35-46 pp.
- Colla, G., Cardona, C., y Cardarelli, M. 2010. Improving nitrogen use efficiency in melón by grafting. *HortScience*, Vol. 45, No. 4, 559-565 pp.
- Colla, G., Roupael, Y., Mirabelli, C., y Cardarelli, M. 2011. Nitrogen-use efficiency trains of mini-watermelon in response to grafting and nitrogen-fertilization doses. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* Vol. 174, 933-941 pp.
- Copper, M., Stucchi, R., da Silva, V., da Silva, L. 2015. Software for micromorphometric characterization of soil pores obtained from 2-D image analysis. *Scientia Agricola*, Vol. 73, No. 4, 388-393 pp.
- Dell'Amico, E., Cavalca, L., Andreoni, V. 2008. Improvement of *Brassica napus* growth under cadmium stress by cadmium-resistant rhizobacteria. *Soil Biology y Biochemistry*, Vol. 40, 74-84 pp.

- Dell'Amico, E., Cavalca, L., Andreoni, V. 2005. Analysis of rhizobacterial communities in perennial Gramineae from polluted water meadow soil, and screening of metal resistant, potentially plant growth-promoting bacteria. *FEMS Microbiology Ecology*, Vol. 52, 153-162 pp.
- Díaz, A., Alvarado, M., Ortiz, F., y Grageda, O. 2013. Nutrición de la planta y calidad de fruto de pimiento asociado con micorriza arbuscular en invernadero. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, Vol. 4, No. 2, 315-321 pp.
- Egamberdieva, D., Wirth, S., Jabborova, D., Räsänen, L., y Liao, H. 2017. Coordination between *Bradyrhizobium* and *Pseudomonas* alleviates salt stress in soybean through altering root system architecture. *Journal of Plant Interactions* Vol. 12, 100-107 pp.
- Eickhorst, T. y R. Tippkötter. 2008. Detection of microorganisms in undisturbed soil by combining fluorescence in situ hybridization (FISH) and micropedological methods. *Soil Biology and Biochemistry*, Vol. 40, No. 6, 1284-1293 pp.
- El-Shabrawy, R., Ramadan, A., y El-Kady, S. 2010. Use of humic acid and some biofertilizers to reduce nitrogen rates on cucumber (*Cucumis sativus* L.) in relation to vegetative growth, yield and chemical composition. *Journal Plant Production* Vol. 1, 1041-1051 pp.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations Trade). 2014. Anuario estadístico de la FAO. La Alimentación y la Agricultura en América Latina y el Caribe. pp: 72-81 pp.
- FAO-FAOSTAT (Food and Agriculture Organization of the United Nations Trade). 2017. Estadísticas de producción y comercialización. [En línea]. México. Internet: <http://faostat3.fao.org/> [Consultado el día 2 de abril de 2017].

- Fan, B., Chen, X., Budiharjo, A., Bleiss, W., Vater, J. y Borriss, R. 2011. Efficient colonization of plant roots by the plant growth promoting bacterium *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42, engineered to express Green fluorescent protein. *Journal of Biotechnology*, Vol.151, 303-311 pp.
- Figueiredo, M., Bonifacio, A., Rodrigues, A., y de Araujo, F. 2016. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria: Key Mechanisms of Action. In *Microbial-mediated Induced Systemic Resistance in Plants*, Springer Singapore, pp 23-37.
- Figueroa C, I.E., Martínez D, M.T., Rodríguez P, J.E. Cruz A, O., Beryl C, M.T., Valle G, S. y Ramírez, S.P. 2015. Capacidad antioxidante en variedades de pimiento morrón (*Capsicum annum* L.). *Interciencia*, Vol. 40, No.10, 696-703 pp.
- Financiera Rural. 2008. "La producción de hortalizas en México". Dirección General Adjunta de Fomento y Promoción de Negocios Dirección Ejecutiva de Diseño de Programas y Productos.
- Fontaine, S., Mariotti, A., y Abbadie, L. 2003. The priming effect of organic matter: a question of microbial competition? *Soil Biology & Biochemistry*, Vol. 35, 837-843 pp.
- Franklin, R., y Mills, A. 2007. The importance of microbial distribution in space and spatial scale to microbial ecology. In: Franklin, R., y Mills, A. (eds.), *The spatial distribution of microbes in the environment*. Springer, Netherlands, 1-30 pp.
- Fu, Q., Liu, C., Ding, N., Lin, Y., y Guo B. 2010. Ameliorative effects of inoculation with the plant growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas* sp. DW1 on growth of eggplant (*Solanum melongena* L.) seedlings under salt stress. *Agricultural Water Management*, Vol. 97, 1994-2000 pp.

- Galindo, F., Fortis, M., Preciado, P., Trejo, R., Segura, M., Orozco, J. 2014. Caracterización físico-química de sustratos orgánicos para producción de pepino (*Cucumis sativus* L.) bajo sistema protegido. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, Vol. 5, No. 7, 1219-1232 pp.
- Garrity, G., Bell, J. y Lilburn, T. (2005). *Pseudomonadales* Orla-Jensen 1921, 270. In: Brenner D. *et al.*, (eds). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Springer, Boston, MA.
- Giaconi, V., y Escaff, M. 1997. Clasificación de las hortalizas. En: *Cultivo de hortalizas*. Editorial Universitaria, 15 p.
- Gutiérrez, E., Gutiérrez, M., González, T., Cajuste, L., Delgadillo, J., Suástegui, E., Ortiz, C. 2016. Micromapping of microbial hotspots and biofilms from different crops using digital image mosaics of soil thin sections. *Geoderma*, Vol. 279, 11-21 pp.
- Gutiérrez, C., Gutiérrez, E., González, T., Ortiz, C., Suástegui, E., Cajuste, L., Rodríguez, M. 2017. Thematic micro-maps of soil components using high-resolution spatially referenced mosaics from whole soil thin sections and image analysis. *European Journal of Soil Science*. doi: 10.1111/ejss.12506
- Gül, A., Özaktan, H., Kidoğlu, F. y Tüzel, Y. 2013. Rhizobacteria promoted yield of cucumber plants grown in perlite under *Fusarium* wilt stress. *Scientia Horticulturae*, Vol. 153. 22-25 pp.
- Haass, D., y Keel, C. 2003. Regulation of antibiotic production in root-colonizing *Pseudomonas* spp. and relevance for biological control of plant disease. *Annual review of phytopathology*, Vol. 41, No. 1, 117-153 pp.

- Hassan, T., Bano, A., y Naz, Irum. 2016. Alleviation of heavy metals toxicity by the application of plant growth promoting rhizobacteria and effects on wheat grown in saline sodic field. *International Journal of Phytoremediation*, Vol. 19, No. 6, 522-529 pp.
- Hawkesford, M., Horst, W., Kichey, T., Lambers, H., Schjoerring, J., Skrumsager, M., y White, P. 2012. Functions of macronutrients. In: n: Marschner, P. 2012. *Mineral Nutrition of Higher Plants*, 3rd edición. Editorial Academic Press, Elsevier, 135-189 pp.
- Hernández, R., Fernández, C., y Baptista, P. 2006. *Metodología de la investigación*. The McGraw-Hill Interamericana, México.
- Hernández, Z., Sahagún, J., Espinosa, P., Colinas, T., y Rodríguez, E. 2014. Efecto del patrón en el rendimiento y tamaño de fruto en pepino injertado. *Revista Fitotecnia Mexicana*, Vol. 37, No. 1, 41-47 pp.
- Hirai, M., Higuchi, K., Sasaki, H., Suzuki, T., Maruyama, T., Yoshiba, M., y Tadano, T. 2007. Contribution of iron associated with high-molecular-weight substances to the maintenance of the SPAD value of Young leaves of barley under iron-deficient conditions. *Soil Science and Plant Nutrition*, Vol. 53, 612-620 pp.
- Hoflich, G. 1999. Colonization and growth promoting of non-legumes by *Rhizobium* bacteria. In *Proceedings of the 8th international symposium on Microbial Ecology*.
- Hossner, L., Yatsu, E., Young, I., Warland, J., y Stoop, G. 2008. Micromorphology. In *Encyclopedia of soil science*, Springer Netherlands, 457-466 pp.
- Ibar y Juscafresca. 1987. El pimiento. En: *Tomates, pimientos y berenjenas*. Editorial Aedos-Barcelona, 73-89.

- Idris, E., Iglesias, D., Talon, M. y Borriss, R. 2007. Tryptophan dependent production of indole-3-acetic acid (IAA) affects level of plant growth promotion by *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, Vol. 20, No. 6, 619-626 pp.
- Isfahani, F., y Besharati, H. 2012. Effect of biofertilizers on yield and yield components of cucumber. *Journal of Biology and Earth Sciences*, Vol. 2, 83-92 pp.
- Jiang, Y., Li, S., Li, R., Zhang, J., Liu, Y., Lv, L., Zhu, H., Wu, W. y Li, W. 2017. Plant cultivars imprint the rhizosphere bacterial community composition and association networks. *Soil Biology and Biochemistry*, Vol. 109, 145-155 pp.
- Jones, B., Wolf, B., y Mills, H. 1991. *Plant analysis handbook II. A practical sampling preparation analysis, and interpretation guide*. Edit. Micromacro Publishing, Inc, 361 y 363 pp.
- Kang, S., Lafit, A., Waqas, M., You, Y., Kim, J., Kim, J., Hamayun, M. y Lee, I. 2014. Plant growth-promoting rhizobacteria reduce adverse effects of salinity and osmotic stress by regulating phytohormones and antioxidants in *Cucumis sativus*. *Journal of Plant Interactions*, Vol. 9, No. 1, 673-682 pp.
- Kasim, W., Gaafar, R., Abou-Ali, R., Omar, M. y Hewait, H. 2016. Effect of biofilm forming plant growth promoting rhizobacteria on salinity tolerance in barley. *Annals of Agricultural Science*, Vol. 61, No. 2, 217-227 pp.
- Kentner, D., y Sourjik, V. 2010. Use of fluorescence microscopy to study intracellular signaling in bacteria. *Annual review of microbiology*, Vol. 64, 374-390 pp.
- Kögel, I. 2002 The macromolecular organic composition of plant and microbial residues as input to soil organic matter. *Soil Biology & Biochemistry*, Vol. 34, 139-162 pp.

- Kuzyakov, Y., y Blagodatskaya, E. 2015. Microbial hotspots and hot moments in soil: Concept y review. *Soil Biology & Biochemistry*, Vol. 83, 184-199 pp.
- Legendijk, E., Validov, S., Lamers, G., de Weert, S. y Bloemberg, G. 2010. Genetic tolos for tagging gram-negative bacteria with mCherry for visualization in vitro and in natural hábitats, biofilm and pathogenicity studies. *FEMS Microbiol Lett*, Vol. 305, No. 1, 81-90 pp.
- Lee, S., Ahn, I., Sim, S., Lee, S., Seo, M., Kim, S., Park, S., Lee, Y., y Kang, S. 2010. *Pseudomonas* sp. LSW25R, antagonistic to plant pathogens, promoted plant growth, and reduce blossom-end rot of tomato fruits in a hydroponic system. *European Journal of Plant Pathology*, Vol. 126, No. 1, 1-11 pp.
- Li, Y., Dick, W.A. y Tuovinen, O.H. 2003. Evaluation of fluorochromes for imaging bacteria in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, Vol. 35, No. 6, 737-744 pp.
- López E. J., Rodríguez J. C., Huez M. A., Garza S., Jiménez J., y Leyva E. I. 2011. Producción y calidad de pepino (*Cucumis sativus* L.) bajo condiciones de invernadero usando dos sistemas de poda. *Idesia (Arica)*, Vol. 29, No. 2. 21-27 pp.
- López, M., y Alvarado, J. 2010. Interpretación de nomogramas de análisis de vectores para diagnóstico nutrimental de especies forestales. *Madera y Bosques*, Vol. 16, No. 1, 99-108 pp.
- Lozano, M., Rivas, F., y Castillo, J. (2013) Crecimiento de plántulas de *Brachiaria brizantha* en respuesta a la aplicación de hongos micorrizógenos y bacterias diazotróficas. *Pastos y Forrajes*, Vol. 36, No. 2, 227-232 pp.
- Machado, H., Suset, A., Martín, G., y Funes, F. 2009. Del enfoque reduccionista al enfoque de sisrema en la agrícola cubana: un necesario cambio de visión. *Pastos y Forrajes*, Vol. 32, No. 3, 1-20 pp.

- Marcano, C., Acevedo, I., Contreras, J., Jiménez, O., Escalona, A. y Pérez, P. 2012. Crecimiento y desarrollo del cultivo de pepino (*Cucumis sativus* L.) en la zona hortícola de Humocaro bajo, estado Lara, Venezuela. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, Vol. 3, No. 8, 1629-1636 pp.
- Marschner, P. 2012. Rhizosphere Biology In: Marschner, P. 2012. Mineral Nutrition of Higher Plants, 3rd edición. Editorial Academic Press, Elsevier, pp 369-388.
- Martínez, L., Martínez, R., Hernández, M., Arvizu, S. y Pacheco, J. 2013. Caracterización de rizobacterias aisladas de tomate y su efecto en el crecimiento de tomate y pimiento. *Revista Fitotecnia Mexicana*, Vol. 36, No. 1, 63-69 pp.
- McFarland, J. (1907). The nephelometer: An instrument for estimating the number of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines. *Journal of the American Medical Association*, Vol. 49, No. 14, 1176-1178 pp.
- McGill, W.B. y Spence, J.R. 1985. Soil fauna and soil structure: feedback between size and architecture. *Questiones Entomologicae*, Vol. 21, 645-654 pp.
- Meena, V., Maurya, B., Verma, K., Aeron, A., Kumar, A., Kim, K. y Bajpai, V. 2015. Potassium solubilizing rhizobacteria (KSR): isolation, identification, and K-release dynamics from waste mica. *Ecological Engineering*, Vol. 81, 340-347 pp.
- Merzlyak, E., Goedhart, J., Shcherbo, D., Dhcheglov, A., Fradkov, A.,...y Chudakov, D. 2007. Bright monomeric red fluorescent protein with an extended fluorescence lifetime. *Nature methods*, Vol. 4, No. 7, 555-557 pp.
- Mesas, R., Diáñez, F., Yau, J. 2014. Utilización de bacterias endófitas en el desarrollo de plántulas de pimiento. Tesis de Licenciatura. Almería, Universidad de Almería, Escuela Politécnica Superior y Facultad de Ciencias Experimentales.

- Montaño, N., y Belisario, H. 2012. Comportamiento agronómico de siete cultivares de pimentón (*Capsicum annuum* L.) Revista Científica UDO Agrícola, Vol. 12, No. 1, 32-44 pp.
- Moreno, D., Cruz, W., García, E., Ibáñez, A., Barrios, J., y Barrios, B. 2013. Cambios fisicoquímicos poscosecha en tres cultivares de pepino con y sin película plástica. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas, Vol. 4, No. 6, 909-920 pp.
- Moreno, D., Hernández, B., Barrios, J., Ibáñez, A., Cruz, W., y Berdeja, R. 2015. Calidad poscosecha de frutos de pepino cultivados con diferente solución nutritiva. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas, Vol. 6, No. 3, 637-643 pp.
- Munsch, P., Geoffroy, V., Alatosava, T., y Meyer, J. 2000. Application of siderotyping for characterization of *Pseudomonas tolaasii* and "*Pseudomonas reactans*" isolates associated with brown blotch disease of cultivated mushrooms. Applied and Environmental Microbiology, Vol. 66, No. 11, 4834-4841 pp.
- Nuez V. F., Gil O. R. y Costa, J. 1996. Origen e importancia del pimiento. En: El cultivo de pimientos, chiles y ajies. Ediciones Mundi-Prensa, 25-49 pp.
- Ortiz, J., Sánchez, F., Mendoza, Ma. del C. Torres, A. 2009. Características deseables de plantas de pepino crecidas en invernadero e hidroponía en altas densidades de población. Revista Mexicana de Fitopatología, Vol. 32, No. 4, 289-294 pp.
- Oliva, M., Guzman, J., Cabrera, B., Rincón, R., Montes, J., Dendooven, L., y Gutiérrez, F. 2008. Fruit characteristics of bell pepper cultivated in sheep manure vermicompost substituted soil. Journal of Plant Nutrition, Vol. 31, No. 9, 1585-1598 pp.
- Papadopoulos, S., Karelakis, C., Zafeiriou, E., Koutoumanidis, T. 2015. Going sustainable or conventional? Evaluating the CAP's impacts on the implementation of sustainable forms of agriculture in Greece. Land Use Policy, Vol. 47, pp. 90-97.

- Parray, J., Jan, S., Kamili, A., Qadri, R., Egamberdieva D., y Ahmad, P. 2016. Current perspectives on plant growth-promoting rhizobacteria. *Journal of Plant Growth Regulation*, Vol. 35, No. 3, 877-902 pp.
- Plášek, J. y B. Hošková. 2010. Solvatochromic effect in the optical spectra of Calcofluor and its relation of fluorescent staining of yeast cell walls. *Journal of Fluorescence*, Vol. 20, No.1, 343-352 pp.
- Passoni, S., da Silva, F., Pires, L., da Costa, S. y Cooper, M. 2014. Software Image J to study soil pore distribution. *Ciencia e Agrotecnologia*, Vol. 38, No. 2, 122-128 pp.
- Peil, R., y Galvez, J. 2005. Reparto de materia seca como factor determinante de la producción de las hortalizas de fruto cultivadas en invernadero. *Current Agricultural Science and Technology*, Vol. 11, No. 1, 5-11 pp.
- Peng, S. Biswas, J., Ladha, J., Gyaneshwar, P., y Chen, Y. 2002. Influence of rhizobial inoculation on photosynthesis and grain yield of rice. *Agronomy Journal*, Vol. 94, No. 4, 925-929 pp.
- Pérez, U., Ramírez, M., Zapata, Y., & Córdoba, J. (2015). Efecto de la inoculación simple y combinada con hongos formadores de micorriza arbuscular (HFMA) y rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (BPCV) en plántulas micropropagadas de mora (*Rubus glaucus* L.). *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, Vol. 16, No. 1, 95-103 pp.
- Pérez, O., Cigales, Ma., y Pérez, K. Nitrógeno y humedad del suelo, concentración nutrimental, rendimiento y calidad de melos cantaloupe. *Terra Latinoamericana*, Vol. 25, No. 2, 177-185 pp.

- Pirlak, L., y Köse, M. 2009. Effects of plant growth promoting rhizobacteria on yield and some fruit properties of strawberry. *Journal of Plant Nutrition*, Vol. 32, No. 7, 1173-1184 pp.
- Pires, L., Reichardt, K., Cooper, M., Cássaro, F., Dias, N., Bacchi, O. 2009. Pore system changes of damaged Brazilian oxisols and nitosols induce by wet-dry cycles as seen in 2-D micromorphologic image analysis. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*, Vol. 81, No. 1, 151-161 pp.
- Postma, J., y Altemüller. H. 1990. Bacteria in thin soil sections stained with the fluorescent brightener calcofluor White M2R. *Soil Biology and Biochemistry* 22, 89-96 pp.
- Prajapati, K., y Modi, H. 2016. Growth promoting effect of potassium solubilizing *Enterobacter hormaechei* (KSB-8) on cucumber (*Cucumis sativus*) under hydroponic conditions. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences*, Vol. 3, No. 4, 168-173 pp.
- Preciado, P., Fortis, M., García, J., Rueda, E., Esparza, J., Lara, A., Segura., M., Orozco, J. 2011. Evaluación de soluciones nutritivas orgánicas en la producción de tomate en invernadero. *Interciencia*, Vol. 36, No. 9, 689-693 pp.
- Ramírez, P. y Cocha, J. 2003. Degradación enzimática de celulosa por actinomicetos termófilos: aislamiento, caracterización y determinación de la actividad celulolítica. *Revista Peruana de Biología*, Vol. 10, No. 1, 67-77 pp.
- Rais, A., Shakeel, M., Yusuf, F., Nadeem, M., 2016. Plant growth promoting rhizobacteria suppress blast disease caused by *Pyricularia oryzae* and increase grain yield of rice. *Biocontrol*, Vol. 61, 769-780 pp.
- Reinhold-Hurek, B., Bünker, W. Burbano, C.S., Sabale, Mugdha y Hurek T., 2015. Roots shaping their microbiome: Global hotspots for microbial activity. *Annual Review of Phytopathology*. 53: 403-424.

- Reyes, I., Alvarez, L., El-Ayoubi, H. y Valery, A. 2008. Selección y evaluación de rizobacterias promotoras del crecimiento en pimiento y maíz. *Bioagro*, Vol. 20, No. 1: 37-48 pp.
- Reyes, A., López, M., Ruiz, E., Latournerie, L., Pérez, A., Lozano, M., y Zavala, M. 2014. Efectividad de inoculantes microbianos en el crecimiento y productividad de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.). *Agrociencia*, Vol. 48, No. 3, 285-294 pp.
- Roche, J. 1995. Poda de hortalizas en invernadero (calabacín, melón, pepino y sandía). Hojas divulgadoras No. 1-2/95.
- Rodríguez, N., Chávez, R., García, J., y Benavides, A. 2013. Inoculación de bacterias promotoras de crecimiento en el cultivo de melón (*Cucumis melo*). *Interciencia*, Vol. 38, No. 12, 857-862 pp.
- Saha, M., Sarkar, S., Sarkar, B., Kumar, B., Bhattacharjee, S., Tribedi, P. 2016. Microbial siderophores and their potential applications: a review. *Environ Sci Pollut Res*, Vol. 23, 3984-3999 pp.
- Sambrook J., Maniatis T., Fritsch ET. 1989. *Molecular Cloning, a Laboratory Manual*. 2ed. Book 1. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, EE.UU. 182-184 pp.
- Sauzet, O., Cammas, C., Marc, J., Bajard, M. y Montagne, D. 2017. Development of a novel image analysis procedure to quantify biological porosity and illuvial clay in large soil thin sections. *Geoderma*, Vol. 292, 135-148 pp.
- Shabayev, V. P. 2012. Mineral nutrición of plants inoculated with plant growth-promoting rhizobacteria of *Pseudomonas* genus. *Biology Bulletin Reviews*, Vol. 2, No. 6, 487-499 pp.

- Shaharoon, B., Arshad, M., y Khaalid, A. 2007. Differential response of etiolated pea seedlings to inoculation with rhizobacteria capable of utilizing 1-Aminocyclopropane-1-carboxylate or L-Methinine. *The Journal of Microbiology*, Vol. 45, No. 1, 15-20 pp.
- Shaikh, S., y Saraf, M. 2017. Biofortification of *Triticum aestivum* through the inoculation of zinc solubilizing plant growth promoting rhizobacteria in field experiment. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. Vol. 9, 120-126 pp.
- Shaner, N., Campbell, R., Steinbach, P., Giepmans, B., Palmer, A. y Tsien, R. 2004. Improved monomeric red, orange and yellow fluorescent proteins derived from *Discosoma* sp. red fluorescent protein. *Nature Biotechnology*, Vol. 22, No.12, 1567 pp.
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2016. Atlas Agroalimentario 2016. [En línea]. México. Internet: http://nube.siap.gob.mx/gobmx_publicaciones_siap/pag/2016/Atlas-groalimentario-2016 [Consultado el día 3 de abril el 2017].
- Silber, A., Bruner, M., Kenig, E., Reshef, G., Zohar, H., Posalski, I, Yehezkel, H., Shmuel, D., Cohen, S., Dinar, M., Matan, E., Dinkin, I., Cohen, Y., Karni, L., Aloni, B., y Assouline, S. 2004. High fertigation frequency and phosphorus level: Effects on summer-grown bell pepper growth and blossom-end rot incidence. *Plant and soil*, Vol. 270, No. 1, 135-146 pp.
- Stefan, M., Munteanu, N., Stoleru, V., Mihasan, M. y Hritcu, L. 2013. Seed inoculation with plant growth promoting rhizobacteria enhances photosynthesis and yield of runner bean (*Phaseolus coccineus* L.). *Scientia Horticulturae*, Vol. 151, 22-29 pp.

- Steiner, A. 1961. A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. *Plant and soil*, Vol. 15, No. 2, 134-154 pp.
- Tahami, M., Jahan, M., Khalilzadeh, H., Mehdizadeh, M. 2017. Plant growth promoting rhizobacteria in an ecological cropping system: a study on basil (*Ocimum basilium* L.) essential oil production. *Industrial Crop and Products* 107:97-104.
- Tajalipour, S., Hassanzadeh, N., Heydari, A., y Khabbaz, H. 2015. Study on genetic diversity of *Pseudomonas tolaasii* and *Pseudomonas reactans* bacteria associated with mushroom brown blotch disease employing ERIC and BOX-PCR techniques. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, Vol. 3, No. 3, 398-405 pp.
- Tallapragada, P., Dikshit, R. y Seshagiri, S. 2016. Influence of *Rhizophagus* spp. And *Burkholderia seminalis* on the growth of tomato (*Lycopersicon esculatum*) and bell pepper (*Capsicum annuum*) under drought stress. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, Vol. 47, No. 17, 1975-1984 pp.
- Tapia, L., Rico, H., Larios, A., Vidales, I. Pedraza, M. 2010. Manejo nutrimental en relación con la calidad de fruto y estado nutricional del melón cantaloupe. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, Vol. 16, No. 1, 49-55 pp.
- Trejo, L., Rodríguez, M., Alcántar, G., y Vásquez, A. 2003. Fertilización foliar para corregir deficiencias nutrimentales en tres tipos de suelo. *Terra Latinoamericana*, Vol. 21, No. 3, 365-372 pp.
- Vasquez, E., Lira, R., Valdez, L., Cárdenas, A., Ibarra, L. y González, D. 2014. Respuesta del pepino a la fertilización biológica y mineral con y sin acolchado plástico en condiciones de casa sombra. *Revista Internacional de Investigación e Innovación Tecnológica*. Año 2, No. 10.

- Verdonck, O., Cappaert, I., y Boodt. 1977. Physical characterization of horticultural substrates. *Acta Horticulturae*, Vol. 82, 191-200 pp.
- Viruel, E., Erazzú, L., Martínez, L., Ferrero, M., Lucca, M. y Siñeriz, F. 2014. Inoculation of maize with phosphate solubilizing bacteria: effect on plant growth and yield. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, Vol. 14, No. 4, 819-831 pp.
- Wick, K., Heumesser, C. y Schmid, E. 2012. Groundwater nitrate contamination: Factors and indicators. *Journal of Environmental Management*, No. 11, pp. 178-186.
- Xia, T., Li, N., y Fang, X. 2013. Single-molecule fluorescence imaging in living cells. *Annual Review of Physical Chemistry*, Vol. 64, 459-480 pp.
- Yu, J., Ye, S., Zhang, M., Hu, W. 2003. Effects of root exudates and aqueous root extracts of cucumber (*Cucumis sativus*) and allelochemicals, on photosynthesis and antioxidant enzymes in cucumber. *Biochemical Systematics and Ecology*, Vol. 31, No. 2, 129-139 pp
- Zaidi, A., Ahmad, E., Khan, M., Rizvi, A. 2015. Role of plant growth promoting rhizobacteria in sustainable production of vegetables: Current perspective. *Scientia horticulturae* Vol, 193, 231-239 pp.
- Zapata, M., Bañon, S. y Cabrera, P. 1992. Características botánicas. En: Pimiento para pimentón, Ediciones Mundi-Prensa, 35-42 pp.
- Zimmermann, W. 1990. Degradation of lignin by bacteria. *Journal of Biotechnology*, Vol. 13, 119-130.

8. ANEXOS

Anexo 1. Efecto de la inoculación de *Pseudomonas tolaasii* sobre las variables fotosintéticas estimadas a partir del equipo CIRAS-2 en plántulas de pimiento morrón var. California Wonder a los 75 días después de la siembra.

Tratamientos	Ci ppm	E mmol m ⁻² s ⁻¹	gs mmol m ⁻² s ⁻¹	Pn μmol m ⁻² s ⁻¹
PINOI	346.00±22.03 a	6.14±0.5 a	879.3±315.27 b	19.86± 1.74 a
PIINC	347.93±28.91 a	3.97±0.74 b	1568.6±915.01 a	19.98± 2.06 a
DMSH*	19.22	0.475	511.87	1.43
R ²	0.0015	0.7580	0.2136	0.001172
Varianza	660.74	0.4038	468325.4	3.6619
C.V.	7.40	12.55	55.91	9.60

Medias (± desviación estándar) con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente similares con base a prueba Tukey (α=0.05); C.V.= Coeficiente de Variación, DMSH=Diferencia Mínima Significativa Honesta. PINOI: Pimiento sin inoculación, PIINC: Pimiento Inoculado con *P. tolaasii*. Ci: Concentración de CO₂ de la cavidad sub-estomática; E: Tasa de transpiración, gs: Conductancia estomática; Pn: Tasa fotosintética neta.

Anexo 2. Efecto de la inoculación de *Pseudomonas tolaasii* sobre el contenido relativo de clorofila (CRC), diámetro de tallo, altura de plántula, longitud radical en plántulas de pimiento morrón var. California Wonder a los 75 días después de la siembra.

Tratamientos	CRC Lecturas SPAD	Diámetro tallo mm	Altura de plántula cm	Longitud radical cm
PINOI	41.46±3.3 b	2.99± 0.18 a	6.54±0.44 a	22.45±3.03 a
PIINC	43.98±2.36 a	2.92±0.13 a	6.36±0.52 a	21.53± 2.18 a
DMSH*	2.14	0.1192	0.365	1.97
R ²	0.1714	0.0456	0.0351	0.0313
Varianza	8.2611	0.0253	0.2382	7.0039
C.V.	6.72	5.38	7.56	12.03

Medias (± desviación estándar) con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente similares con base a prueba Tukey (α=0.05); C.V.= Coeficiente de Variación, DMSH=Diferencia Mínima Significativa Honesta. PINOI: Pimiento sin inoculación, PIINC: Pimiento Inoculado con *P. tolaasii*.

Anexo 3. Efecto de la inoculación de *Pseudomonas tolaasii* sobre el volumen radical, área foliar, biomasa seca radical, biomasa seca aérea en plántulas de pimiento morrón var. California Wonder a los 75 días después de la siembra.

Tratamientos	Volumen radical cm ³	Área foliar cm ²	Biomasa seca radical g	Biomasa seca aérea g
PINOI	4.21± 0.49 b	71.89±9.97 a	0.1682±0.0216 a	0.374±0.039 a
PIINC	5.23±1.34 a	61.31±5.79 b	0.1688±0.0212 a	0.366±0.038 a
DMSH*	0.75	6.09	0.016	0.0289
R ²	0.213	0.3107	0.0001996	0.01148
Varianza	1.02966	66.4957	0.000459	0.001492
C.V.	21.48	12.24	12.71	10.42

Medias (± desviación estándar) con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$); C.V.= Coeficiente de Variación, DMSH=Diferencia Mínima Significativa Honesta. PINOI: Pimiento sin inoculación, PIINC: Pimiento Inoculado con *P. tolaasii*.

Anexo 4. Análisis macronutricional de la biomasa seca aérea de plántulas de pimiento var. California Wonder inoculados con *Pseudomonas tolaasii*.

Tratamiento	N total	P	K	Ca	Mg	S
	g kg ⁻¹					
PINOI	55.41±1.06 a	6.66±1.17 a	28.78± 6.4 a	10.11±0.82 a	16.02±2.15 a	1.42±0.18 a
PIINC	53.55± 1.4 a	6.76±0.5 a	29.2±1.56 a	10.16±0.38 a	15.37± 0.73 a	1.54±0.03 a
DMSH*	2.829	2.044	10.56	1.4609	3.65	0.3031
R ²	0.457143	0.004035	0.003054	0.00206	0.0577	0.214194
Varianza	1.55166667	0.8136282	21.72531477	0.41527116	2.5953695	0.01787928
C.V.	2.28631	13.434	16.075	6.355	10.2627	9.00661

Medias (± desviación estándar) con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$); C.V.= Coeficiente de Variación, DMSH=Diferencia Mínima Significativa Honesta. PINOI: Pimiento sin inoculación, PIINC: Pimiento Inoculado con *P. tolaasii*.

Anexo 5. Análisis micronutricional de la biomasa seca aérea de plántulas de pimiento var. California Wonder inoculados con *Pseudomonas tolaasii*.

Tratamiento	Fe	Mn	Zn	B	Cu
mg kg ⁻¹					
PINOI	196.83±37.89 a	97.99±19.1 a	84.01±14.35 a	68.52±8.4 a	464.3± 182.34 a
PIINC	203.24±20.14 a	112.68± 3.19 a	103.13±24.6 a	62.89±1.35 a	397.8±41.83 a
DMSH*	68.79	31.05	45.665	13.647	299.89
R ²	0.016461	0.301457	0.252	0.24662	0.08657
Varianza	921.002929	187.65445	405.761	36.237608	17499.8822
C.V.	15.17	13.23	21.52	9.16	30.68

Medias (± desviación estándar) con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$); C.V.= Coeficiente de Variación, DMSH=Diferencia Mínima Significativa Honesta. PINOI: Pimiento sin inoculación, PIINC: Pimiento Inoculado con *P. tolaasii*.

Anexo 6. Efecto de la inoculación de *Pseudomonas tolaasii* sobre las variables fotosintéticas estimadas a partir del equipo CIRAS-2 en plántulas de pepino var. Poinset a los 61 días después de la siembra.

Tratamientos	Ci	E	gs	Pn
	ppm	mmol m ⁻² s ⁻¹	mmol m ⁻² s ⁻¹	μmol m ⁻² s ⁻¹
PENOI	361.53±8.48 a	3.63±1.36 a	928.3±302.71 a	19.44± 1.81 b
PEINC	357.80±21.82 a	3.79±0.77 a	967.5± 305.36 a	21.82±3.27 a
DMSH*	12.386	0.8289	227.42	1.9819
R ²	0.013432	0.005553	0.004433	0.177706
Varianza	274.219048	1.22795238	92444.252	7.0207143
C.V.	4.604141	29.84192	32.07467	12.843

Medias (± desviación estándar) con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$); C.V.= Coeficiente de Variación, DMSH=Diferencia Mínima Significativa Honesta. PENOI: Pepino sin inoculación, PEINC: Pepino Inoculado con *P. tolaasii*. Ci: Concentración de CO₂ de la cavidad sub-estomática; E: Tasa de transpiración; gs: Conductancia estomática; Pn: Tasa fotosintética neta.

Anexo 7. Efecto de la inoculación de *Pseudomonas tolaasii* sobre el contenido relativo de clorofila (CRC), diámetro de tallo, altura de plántula, longitud radical en plántulas de pepino var. Poinset a los 61 días después de la siembra.

Tratamientos	CRC	Diámetro tallo	Altura de planta	Longitud radical
	Lecturas SPAD	mm	cm	cm
PENOI	39.40±3.01 a	4.81± 0.29 b	9.12± 0.96 a	25.66± 3.95 a
PEINC	39.42± 3.54 a	5.18±0.26 a	9.6± 0.95 a	26.42± 4.72 a
DMSH*	2.4607	0.2096	0.7171	3.2603
R ²	0.000004	0.319071	0.062913	0.008077
Varianza	8.347133	0.07853905	0.9192381	19.0000952
C.V.	10.8233333	5.6102	10.23597	16.735

Medias (± desviación estándar) con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$); C.V.= Coeficiente de Variación; DMSH=Diferencia Mínima Significativa Honesta. PENOI: Pepino sin inoculación, PEINC: Pepino Inoculado con *P. tolaasii*.

Anexo 8. Efecto de la inoculación de *Pseudomonas tolaasii* sobre el volumen radical, área foliar, biomasa seca radical, biomasa seca aérea en plántulas de pepino var. Poinset a los 61 días después de la siembra.

Tratamientos	Volumen radical	Área foliar	Biomasa seca radical	Biomasa seca aérea
	cm ³	cm ²	g	g
PENOI	6.4± 1.07 b	113.1±10.1 a	0.1638±0.0259 a	0.8723± 0.0845 a
PEINC	7.26± 0.97 a	116.66± 12.37 a	0.174± 0.0325 a	0.882± 0.0732 a
DMSH*	0.7646	8.4517	0.022	0.0591
R ²	0.159383	0.02589	0.035772	0.004347
Varianza	1.04485714	127.677508	0.00086834	0.00625038
C.V.	14.96607	9.835613	17.40587	9.010505

Medias (± desviación estándar) con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$); C.V.= Coeficiente de Variación; DMSH=Diferencia Mínima Significativa Honesta. PENOI: Pepino sin inoculación, PEINC: Pepino Inoculado con *P. tolaasii*.

Anexo 9. Análisis macronutricional de la biomasa seca aérea de plántulas de pepino var. Poinset inoculados con *Pseudomonas tolaasii*.

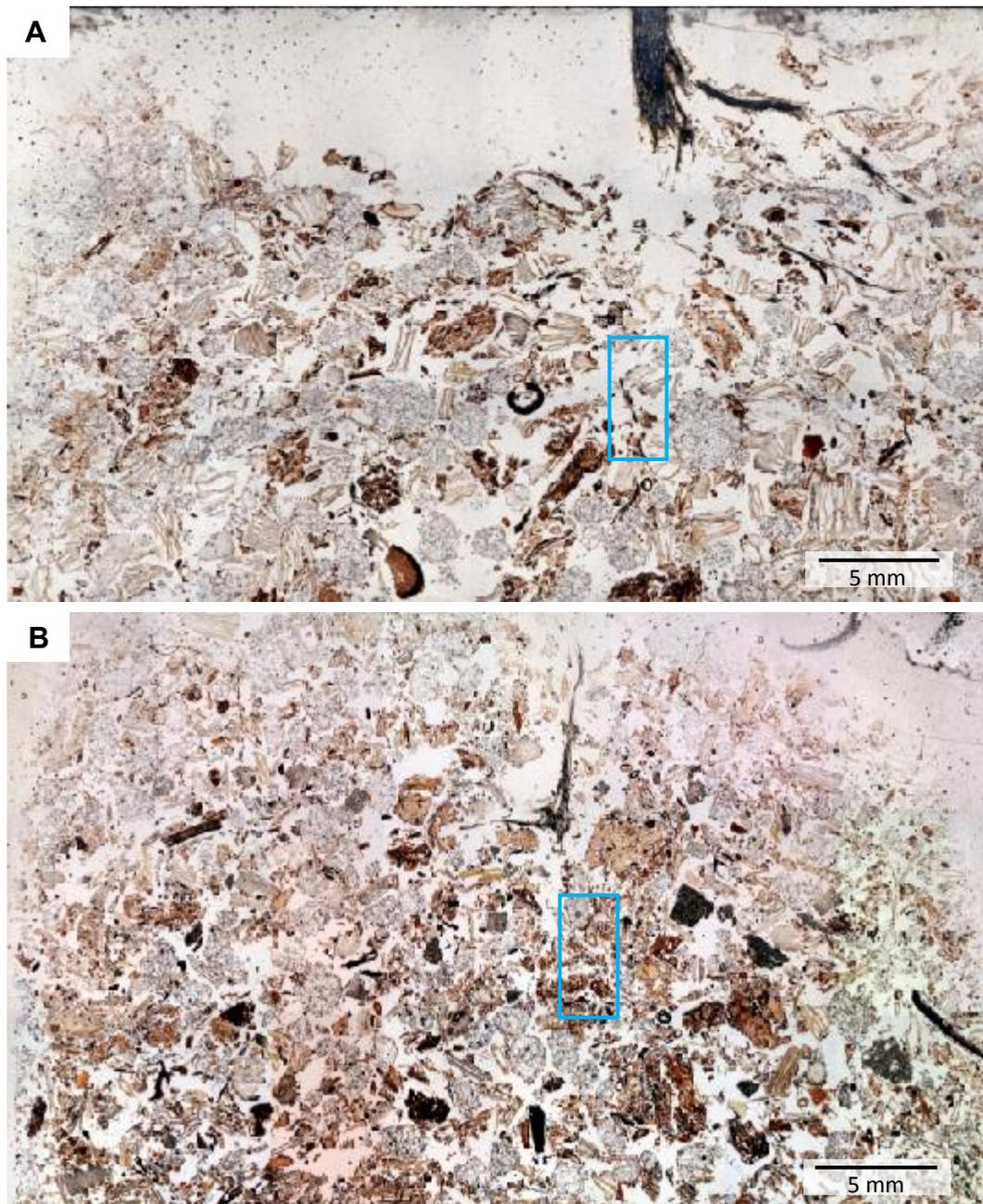
Tratamiento	N total	P	K	Ca	Mg	S
g kg ⁻¹						
PENOI	34.37±1.36 a	4.96±0.93 a	21.37±3.22 a	11.3±1.76 a	16.97±2.9 a	3.57±0.47 a
PEINC	37.03±4.88 a	4.25±1.94 a	17.22±8.01 a	9.6± 3.68 a	13.96± 6.0 a	3.03± 1.15 a
DMSH*	5.2356	2.2235	8.9094	4.2174	6.8769	1.2903
R ²	0.14645	0.0638	0.1263	0.09783	0.113207	0.10465
Varianza	12.887	2.32434896	37.317	8.3621073	22.2332	0.78274437
C.V.	10.05559	33.09	31.65	27.65	30.48	26.76

Medias (± desviación estándar) con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$); C.V.= Coeficiente de Variación; DMSH=Diferencia Mínima Significativa Honesta. PENOI: Pepino sin inoculación, PEINC: Pepino Inoculado con *P. tolaasii*.

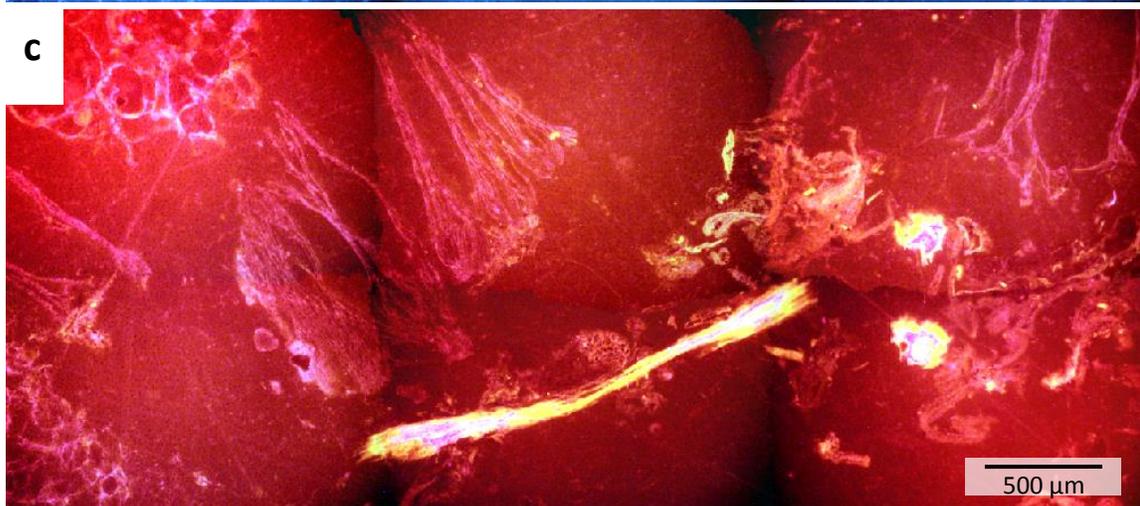
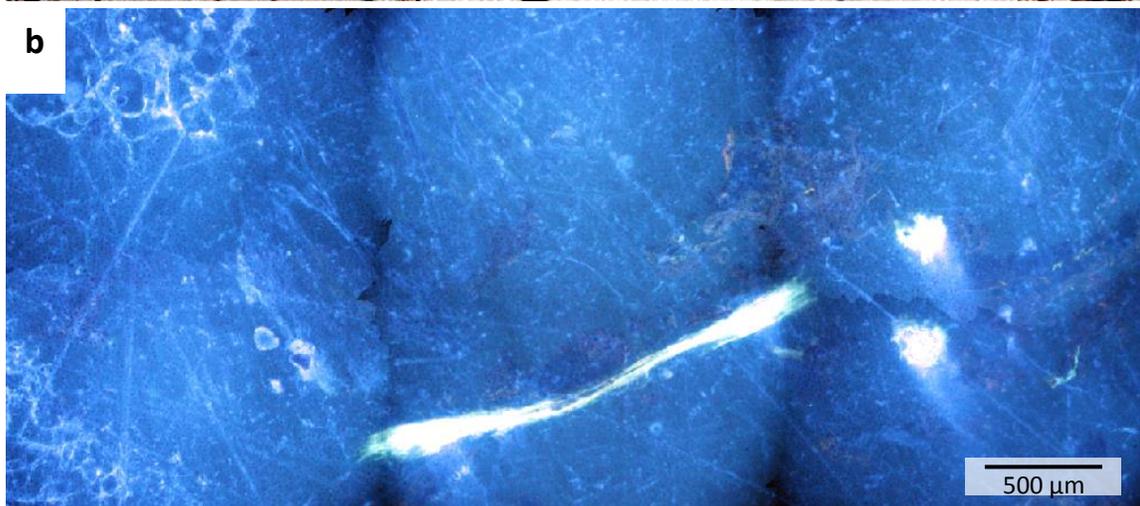
Anexo 10. Análisis micronutricional de la biomasa seca aérea de plántulas de pepino var. Poinset inoculados con *Pseudomonas tolaasii*.

Tratamiento	Fe	Mn	Zn	B	Cu
mg kg ⁻¹					
PENOI	171.69±37.94 a	89.02± 32.98 a	37.74±4.19 a	57.48±9.46 a	577.11± 97.6 a
PEINC	165.64± 78.48 a	72.89±32.91 a	31.23±12.59 a	40.11±17.25 a	532.49±186.53 a
DMSH*	89.908	48.061	13.694	20.298	217.11
R ²	0.003	0.069635	0.13057	0.327462	0.027309
Varianza	3800.32446	1085.928939	88.15987	193.693538	22160.9343
C.V.	36.5495	40.7057	27.226	28.51864	26.8325

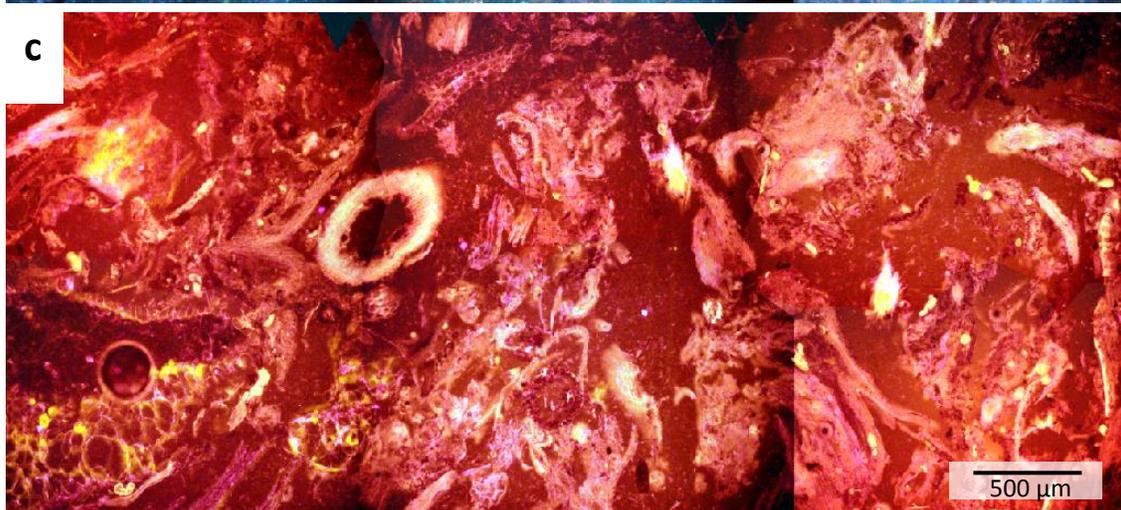
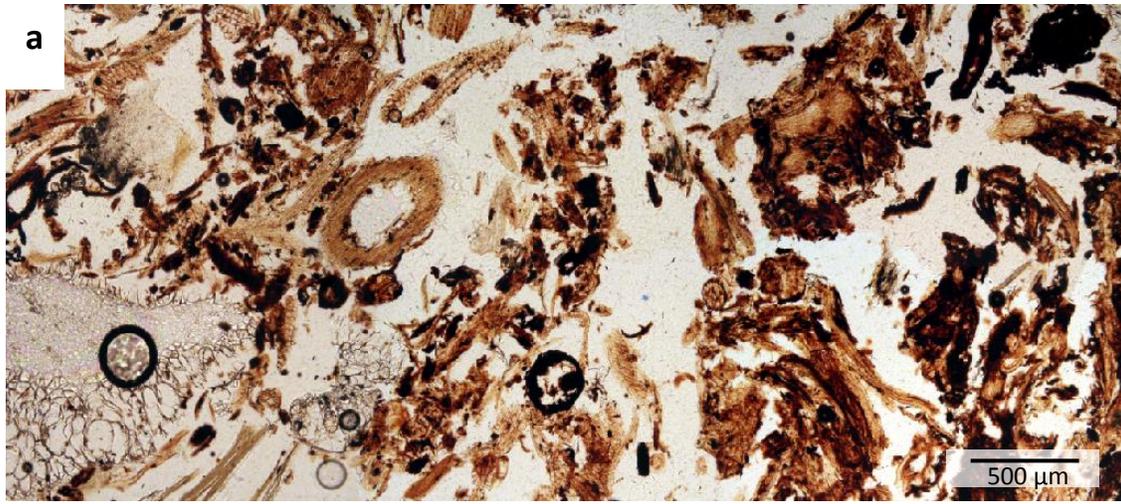
Medias (± desviación estándar) con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$); C.V.= Coeficiente de Variación; DMSH=Diferencia Mínima Significativa Honesta. PENOI: Pepino sin inoculación, PEINC: Pepino Inoculado con *P. tolaasii*.



Anexo 11. Mosaico de imágenes de la sección delgada de chile pimienta morrón (A) y pepino (B) compuesta por 24 imágenes a objetivo 2x. Los cuadros dentro de cada mosaico señalan la ampliación de los mosaicos de creados apartir de imágenes en luz fluorescentes a objetivo 10x.



Anexo 12. Mosaicos de la sección delgada de la rizósfera de chile pimienta morrón compuesta por 6 imágenes a objetivo 10x. Mosaico de imágenes obtenidas en luz polarizada plana (a), luz UV (b) y luz infrarroja (c).



Anexo 13. Mosaicos de la sección delgada de la rizósfera de pepino, compuesta por 6 imágenes a objetivo 10x. Mosaico de imágenes obtenidas en luz polarizada plana (a), luz UV (b) y luz infrarroja (c).

Anexo 14. Cinética de crecimiento de pepino var. Poinset inoculados con *Pseudomonas tolaasii* e irrigados a dos concentraciones de solución Steiner y su influencia sobre el diámetro de tallo (mm) en diferentes muestreos después del trasplante.

Tratamientos	Muestreo		
	05-sep-16	05-oct-16	05-nov-16
SS50+NOI	7.26±0.44 a	7.56±0.3 a	8.84±0.92 a
SS50+INC	7.28±0.45 a	7.87±0.5 a	8.42±0.79 a
SS75+NOI	7.27±0.73 a	7.82±0.71 a	8.61±1.18 a
SS75+INC	7.22±0.31 a	7.51±0.23 a	8.15± 0.63 a
DMSH*	0.7544	0.7037	1.3403
R ²	0.002138	0.113312	0.083751
Varianza	0.261756	0.227755	0.826207
C.V.	7.04712	6.20075	10.68376
Factor solución			
Solución Steiner 75%	7.25 a	7.67 a	8.384 a
Solución Steiner 50%	7.27 a	7.722 a	8.631 a
DMSH*	0.39	0.3723	0.7091
Factor inoculación			
Inoculado	7.25 a	7.695 a	8.285 a
No inoculado	7.26 a	7.697 a	8.73 a
DMSH*	0.39	0.3723	0.7091
Probabilidad			
Solución (S)	0.9185	0.772	0.4789
Inoculación (I)	0.9359	0.9875	0.2083
S x I	0.855	0.0971	0.9508

Medias (± desviación estándar) con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$); *DMSH=Diferencia mínima significativa honesta; C.V.= Coeficiente de variación; SS75+INC= Solución Steiner 75% más inoculación, SS75+NOI= Solución Steiner 75% sin inoculación, SS50+INC= Solución Steiner 50% más inoculación, SS50+NOI= Solución Steiner 50% sin inoculación.

Anexo 15. Cinética de crecimiento de pepino var. Poinset inoculados con *Pseudoonas tolaasii* e irrigados a dos concentraciones de solución Steiner y su influencia sobre el número de hojas en diferentes muestreos después del trasplante.

Tratamientos	Muestreo		
	05-sep-16	05-oct-16	05-nov-16
SS50+NOI	17.28±1.38 a	21.0±1.15 a	24.71±1.88 b
SS50+INC	16.85±0.89 a	21.42±1.39 a	25.0±1.41 ab
SS75+NOI	16.85±0.69 a	21.57±2.29 a	25.28±3.14 ab
SS75+INC	17.14±0.69 a	22.71±2.92 a	27.71±0.75 a
DMSH*	1.41	3.0526	2.9535
R ²	0.041991	0.098592	0.292574
Varianza	0.91666667	4.2857143	4.011905
C.V.	5.620117	9.549507	7.800177
FACTOR SOLUCIÓN			
Solución Steiner 75%	17.0 a	22.14 a	26.50 a
Solución Steiner 50%	17.07 a	21.21 a	24.85 b
DMSH*	0.74	1.61	1.562
FACTOR INOCULACIÓN			
Inoculado	17.0 a	22.07 a	26.35 a
No inoculado	17.07 a	21.28 a	25.00 a
DMSH*	0.74	1.61	1.5625
Probabilidad			
Solución (S)	0.8452	0.2469	0.0401
Inoculación (I)	0.8452	0.3253	0.0856
S x I	0.3335	0.6522	0.1698

Medias (± desviación estándar) con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$); *DMSH=Diferencia mínima significativa honesta; C.V.= Coeficiente de variación; SS75+INC= Solución Steiner 75% más inoculación, SS75+NOI= Solución Steiner 75% sin inoculación, SS50+INC= Solución Steiner 50% más inoculación, SS50+NOI= Solución Steiner 50% sin inoculación

Anexo 16. Cinética de crecimiento de pepino var. Poinset inoculados con *Pseudoonas tolaasii* e irrigados a dos concentraciones de solución Steiner y su influencia sobre la altura de planta en diferentes muestreos después del trasplante.

Tratamientos	Muestreo		
	05-sep-16	05-oct-16	05-nov-16
SS50+NOI	88.75±7.17 a	170.57±12.17 b	188.35±14.33 b
SS50+INC	92.42±7.82 a	178.14±18.96 ab	194.92±11.09 ab
SS75+NOI	88.92±11.54 a	190.85±14.73 ab	208.38±19.80 ab
SS75+INC	89.21±4.47 a	196.35±18.72 a	216.91±16.35 a
DMSH*	12.029	24.184	23.177
R ²	0.038335	0.310002	0.370838
Varianza	66.54726	268.9911	247.0545
C.V.	9.080993	8.91442	7.775536
FACTOR SOLUCIÓN			
Solución Steiner 75%	89.07 a	193.6 a	212.65 a
Solución Steiner 50%	90.59 a	174.35 b	191.643 b
DMSH*	6.36	12.794	12.261
FACTOR INOCULACIÓN			
Inoculado	90.82 a	187.25 a	205.92 a
No inoculado	88.84 a	180.714 a	198.371 a
DMSH*	6.36	12.794	12.261
Probabilidad			
Solución (S)	0.6262	0.0048	0.0017
Inoculación (I)	0.5271	0.3022	0.216
S x I	0.5881	0.8687	0.8705

Medias (± desviación estándar) con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$); *DMSH=Diferencia mínima significativa honesta; C.V.= Coeficiente de variación; SS75+INC= Solución Steiner 75% más inoculación, SS75+NOI= Solución Steiner 75% sin inoculación, SS50+INC= Solución Steiner 50% más inoculación, SS50+NOI= Solución Steiner 50% sin inoculación.

Anexo 17. Cinética de crecimiento de pepino var. Poinset inoculados con *Pseudomonas tolaasii* e irrigados a dos concentraciones de solución Steiner y su influencia sobre el contenido relativo de clorofila (Lecturas SPAD) en diferentes muestreos después del trasplante.

Tratamientos	Muestreo		
	05-sep-16	05-oct-16	05-nov-16
SS50+NOI	46.15±8.41 a	57.44±7 a	44.37± 5.36 a
SS50+INC	53.14±7.05 a	60.04±5.29 a	50.65±6.38 a
SS75+NOI	48.91±8.05 a	56.87±9.84 a	52.07±6.87 a
SS75+INC	47.9±5.86 a	58.1±8.71 a	51.88±7.48 a
DMSH*	10.933	11.66	9.6936
R ²	0.123105	0.025965	0.211322
Varianza	54.97095	62.53202	43.21726
C.V.	15.12228	13.60719	13.2149
Factor solución			
Solución Steiner 75%	48.40 a	57.48 a	51.979 a
Solución Steiner 50%	49.65 a	58.74 a	47.514 a
DMSH*	5.78	6.1687	5.1282
Factor inoculación			
Inoculado	50.52 a	59.071 a	51.27 a
No inoculado	47.53 a	57.157 a	48.22 a
DMSH*	5.78	6.1687	5.1282
Probabilidad			
Solución (S)	0.6614	0.6778	0.085
Inoculación (I)	0.2973	0.5279	0.2315
S x I	0.1664	0.8205	0.2052

Medias (± desviación estándar) con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$); *DMSH=Diferencia mínima significativa honesta; C.V.= Coeficiente de variación; SS75+INC= Solución Steiner 75% más inoculación, SS75+NOI= Solución Steiner 75% sin inoculación, SS50+INC= Solución Steiner 50% más inoculación, SS50+NOI= Solución Steiner 50% sin inoculación.

Anexo 18. Variables destructivas evaluadas en pepino var. Poinset inoculados con *Pseudomonas tolaasii* e irrigados a dos concentraciones de solución Steiner tres meses después del trasplante (5 de noviembre 2016).

Tratamientos	Longitud radical cm	Volumen radical cm ³	Área foliar cm ²	Biomasa seca radical g	Biomasa seca aérea g	Rendimiento t ha ⁻¹
SS50+NOI	53.0±7.8 a	48.42±15.8 b	2376.4±285 b	3.17±1.2 a	31.14±3.1 b	52.37±6.1 b
SS50+INC	59.71± 9.6 a	68.28±8.1 a	2475.6±319 b	3.20±1.0 a	31.35± 4.3 b	57.94±12.8 ab
SS75+NOI	49.35±11.4 a	49.85±7.6 b	3128.3±450 a	3.17±0.6 a	36.68± 4.2 ab	59.69±9.2 ab
SS75+INC	58.78±5.2 a	57.0±14.6 ab	3325.8±321 a	3.10±1.3 a	37.92±4.7 a	69.39±15.1 a
DMSH*	13.043	17.898	515.92	1.6499	6.1743	16.77
R ²	0.212108	0.328354	0.613448	0.00127	0.384068	0.253478
Varianza	78.2381	147.3333	122417.6	1.252024	17.53321	323686.3
C.V.	16.01982	21.7167	12.37853	35.401	12.2154	19.01046
Factor solución						
Solución Steiner 75%	54.071 a	53.429 a	3227 a	3.135 a	37.307 a	64.54 a
Solución Steiner 50%	56.357 a	58.357 a	2426 b	3.185 a	31.25 b	55.16 b
DMSH*	6.9	9.4687	272.94	0.8729	3.2664	8.87
Factor inoculación						
Inoculado	59.25 a	62.643 a	2900.7 a	3.15 a	34.643 a	63.67 a
No inoculado	51.17 b	49.143 b	2752.3 a	3.171 a	33.914 a	56.03 a
DMSH*	6.9	9.4687	272.94	0.8729	3.2664	8.87
Probabilidad						
Solución (S)	0.5007	0.2934	<.0001	0.9069	0.0008	0.039
Inoculación (I)	0.0238	0.0071	0.273	0.96	0.6494	0.0884
S x I	0.6884	0.1786	0.7134	0.9069	0.748	0.6361

Medias (± desviación estándar) con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$); *DMSH=Diferencia mínima significativa honesta; C.V.= Coeficiente de variación; SS75+INC= Solución Steiner 75% más inoculación, SS75+NOI= Solución Steiner 75% sin inoculación, SS50+INC= Solución Steiner 50% más inoculación, SS50+NOI= Solución Steiner 50% sin inoculación.

Anexo 19. Análisis macronutricional de la Biomasa seca aérea de pepino var. Poinset inoculados con *Pseudomonas tolaasii* e irrigados a dos concentraciones de solución Steiner evaluados tres meses después del trasplante (5 de noviembre 2016).

Tratamiento	N total	P	K	Ca	Mg	S
g kg ⁻¹						
SS50+NOI	31.92±1.89 a	5.36± 2.9 a	19.07±11.91 a	33.26±12.63 a	14.68±5.39 a	1.78±0.69 a
SS50+INC	32.34±2.34 a	7.08±0.46 a	17.33± 2.3 a	43.77±7.09 a	19.14±3.05 a	2.41±0.48 a
SS75+NOI	34.58±2.35 a	3.81±1.83 a	13.22± 7.16 a	30.65±15.64 a	11.02± 5.47 a	1.32±0.45 a
SS75+INC	35±3.28 a	4.28±2.58 a	14.49±8.86 a	35.54±19.67 a	12.7±6.92 a	1.41±0.80 a
DMSH*	4.5581	3.91	15.063	26.251	9.76	1.1337
R ²	0.398293	0.66166	0.4782	0.59455	0.657705	0.709845
Varianza	10.3635	4.494	79.23604	195.144	27.8093	0.36105686
C.V.	9.62115	41.28	55.52	39.0106	36.6422	34.614
Factor solución						
Solución Steiner 75%	34.79 a	4.04 b	13.86 a	33.09 a	11.86 a	1.37 b
Solución Steiner 50%	32.13 b	6.22 a	18.2 a	38.52 a	16.91 a	2.10 a
DMSH*	1.573	2.26	7.945	15.49	5.6846	0.6715
Factor inoculación						
Inoculado	33.67 a	5.68 a	15.91 a	39.65 a	15.92 a	1.91 a
No inoculado	33.25 a	4.58 a	16.15 a	31.96 a	12.85 a	1.55 a
DMSH*	3.3199	2.1863	9.1798	14.4	5.4383	0.619
Probabilidad						
Solución (S)	0.0312	0.0388	0.2601	0.4155	0.0525	0.0189
Inoculación (I)	0.7142	0.2743	0.9507	0.2527	0.2217	0.223
S x I	1.00	0.5312	0.6904	0.6706	0.5723	0.3479

Medias (± desviación estándar) con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$); *DMSH=Diferencia mínima significativa honesta; C.V.= Coeficiente de variación; SS75+INC= Solución Steiner 75% más inoculación, SS75+NOI= Solución Steiner 75% sin inoculación, SS50+INC= Solución Steiner 50% más inoculación, SS50+NOI= Solución Steiner 50% sin inoculación.

Anexo 20. Análisis micronutricional de la biomasa seca aérea de pepino var. Poinset inoculados con *Pseudoonas tolaasii* e irrigados a dos concentraciones de solución Steiner evaluados tres meses después del trasplante (5 de noviembre 2016).

Tratamiento	Fe	Mn	Zn	B	Cu
	mg kg ⁻¹				
SS50+NOI	315.13±141.57 a	217.39±73.63 a	37.98±10.15 a	50.76±21.70 a	1199.8±859.64 a
SS50+INC	379.46±101.11 a	229.27±32.44 a	42.36±8.35 a	55.05±9.73 a	1691.8±454.19 a
SS75+NOI	259.52±161.58 a	208.33±116.16 a	35.28±9.02 a	39.59±19.08 a	1173.3±650.29 a
SS75+INC	265.82±114.59 a	247.18±148.02 a	26.28±15.12 a	41.42±21.03 a	1198.4±635.52 a
DMSH*	238.53	185.15	19.886	33.517	1204.4
R ²	0.654634	0.024597	0.263639	0.502437	0.71117
Varianza	13999.9393	10469.7617	120.775804	392.66	290004.927
C.V.	38.795	45.36658	30.81229	42.4289	40.92724
Factor solución					
Solución Steiner 75%	262.67 a	227.76 a	31.15 a	40.50 a	1185.8 a
Solución Steiner 50%	347.3 a	223.33 a	40.17 a	52.90 a	1445.8 a
DMSH*	148.57	97.006	10.419	17.66	796.16
Factor inoculación					
Inoculado	322.64 a	238.23 a	39.19 a	48.23 a	1445.1 a
No inoculado	287.33 a	212.86 a	32.13 a	45.17 a	1186.5 a
DMSH*	122.02	97.006	10.419	20.435	555.36
Probabilidad					
Solución (S)	0.1704	0.9242	0.0852	0.1538	0.3955
Inoculación (I)	0.5575	0.587	0.1701	0.7165	0.3979
S x I	0.6293	0.772	0.5926	0.8837	0.4443

Medias (± desviación estándar) con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$); *DMSH=Diferencia mínima significativa honesta; C.V.= Coeficiente de variación; SS75+INC= Solución Steiner 75% más inoculación, SS75+NOI= Solución Steiner 75% sin inoculación, SS50+INC= Solución Steiner 50% más inoculación, SS50+NOI= Solución Steiner 50% sin inoculación.

Anexo 21. Variables evaluadas de la calidad de la cosecha de frutos de pepino var. Poinset inoculados con *Pseudomonas tolaasii* e irrigados a dos concentraciones de solución Steiner evaluados tres meses después del trasplante (5 de noviembre 2016).

Tratamientos	Biomasa fresca de fruto g	Diámetro polar cm	Diámetro ecuatorial cm	Mesocarpio mm	Placenta mm	SST °Brix	Biomasa seca de fruto g
SS50+NOI	573.64±140 a	22.01±2.2 ab	6.83±1.4 a	16.46±2.0 a	33.24±3.3 a	3.01±0.8 b	24.62±3.4 ab
SS50+INC	566.6±175 a	21.57± 2.6 b	6.48±0.6 a	16.08± 2.0 a	32.28±6.8 a	3.3±0.5 ab	22.46±5.6 b
SS75+NOI	614.8±147 a	22.51± 2.2 ab	6.65± 0.5 a	16.21±2.3 a	34.32±3.5 a	3.42±0.7 ab	27.68±5.1 ab
SS75+INC	649.66±135 a	23.34±1.7 a	6.75± 0.4 a	16.82±1.9 a	33.71±3.5 a	3.66±0.8 a	31.38±6.0 a
DMSH*	105.09	1.5522	0.6185	1.4681	3.1807	0.5146	7.594
R ²	0.048771	0.082989	0.021566	0.018414	0.027014	0.094533	0.331509
Varianza	22704.03	4.9536012	0.78637312	4.4312304	20.800034	0.54445106	26.52961
C.V.	25.06398	9.95308	13.2703	12.83678	13.65791	22.01421	19.40871
Factor solución							
Solución Steiner 75%	632.23 a	22.93 a	6.70 a	16.52 a	34.02 a	3.54 a	29.53 a
Solución Steiner 50%	570.12 b	21.79 b	6.65 a	16.27 a	32.76 a	3.15 b	23.54 b
DMSH*	56.444	0.8337	0.3322	0.7885	1.7084	0.2764	4.018
Factor inoculación							
Inoculado	608.13 a	22.45 a	6.62 a	16.45 a	33.00 a	3.48 a	26.92 a
No inoculado	594.22 a	22.26 a	6.74 a	16.34 a	33.78 a	3.21 a	26.15 a
DMSH*	56.444	0.8337	0.3322	0.7885	1.7084	0.2764	4.018
Probabilidad							
Solución (S)	0.0313	0.008	0.7766	0.5357	0.1475	0.0067	0.0052
Inoculación (I)	0.626	0.6445	0.4619	0.771	0.365	0.0607	0.6958
S x I	0.4635	0.1369	0.1881	0.2151	0.8364	0.8581	0.1448

Medias (± desviación estándar) con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$); SST=Sólidos Solubles Totales; *DMSH=Diferencia mínima significativa honesta; C.V.= Coeficiente de variación; SS75+INC= Solución Steiner 75% más inoculación, SS75+NOI= Solución Steiner 75% sin inoculación, SS50+INC= Solución Steiner 50% más inoculación, SS50+NOI= Solución Steiner 50% sin inoculación.

Anexo 22. Análisis macronutricional de la biomasa seca de fruto de pepino var. Poinset inoculados con *Pseudomonas tolaasii* e irrigados a dos concentraciones de solución Steiner evaluados tres meses después del trasplante (5 de noviembre 2016).

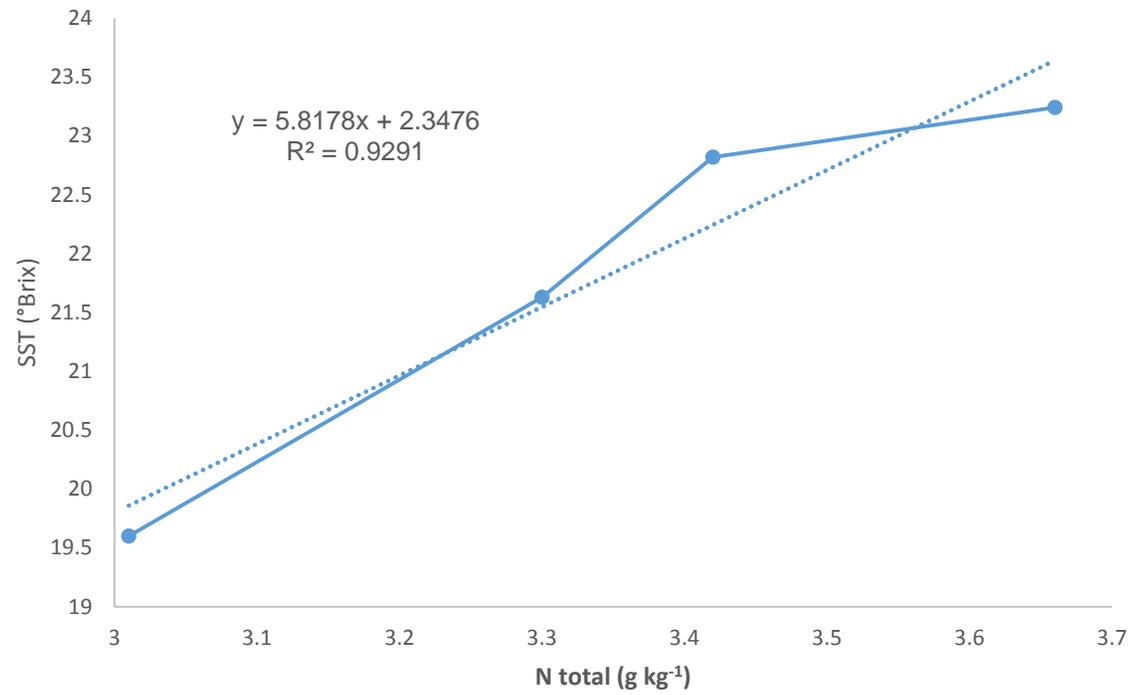
Tratamiento	N total	P	K	Ca	Mg	S
g kg ⁻¹						
SS50+NOI	19.60±3.3 a	4.76±0.7 a	21.84±3.3 a	2.94±0.41 a	3.41±0.56 a	1.08±0.14 a
SS50+INC	21.63± 2.19 a	4.93±1.18 a	20.52±4.35 a	3.25±0.73 a	3.69±0.84 a	1.19± 0.3 a
SS75+NOI	22.82±2.74 a	5.49±0.91 a	24.22±2.36 a	2.77±0.4 a	3.32±0.4 a	1.09±0.18 a
SS75+INC	23.24±4.70 a	5.87±1.32 a	24.66±4.75 a	2.95±0.52 a	3.46±0.91 a	1.12±0.25 a
DMSH*	6.0968	1.92	6.8938	0.973	1.2914	0.4181
R ²	0.180117	0.75772	0.784416	0.605	0.721477	0.62976
Varianza	11.3526875	0.665044	7.81692	0.25857014	0.2967159	0.04144
C.V.	15.43991	15.474	12.25386	17.05	15.67	18.112
Factor solución						
Solución Steiner 75%	23.03 a	5.68 a	24.44 a	2.86 a	3.39 a	1.1 a
Solución Steiner 50%	20.61 a	4.85 a	21.18 a	3.09 a	3.55 a	1.14 a
DMSH*	3.1943	1.0061	3.6119	0.5098	0.6766	0.2191
Factor inoculación						
Inoculado	22.43 a	5.4 a	22.59 a	3.10 a	3.57 a	1.16 a
No inoculado	21.21 a	5.13 a	23.03 a	2.85 a	3.37 a	1.08 a
DMSH*	3.1943	1.0061	3.6119	0.5098	0.6766	0.2191
Probabilidad						
Solución (S)	0.1286	0.0965	0.0741	0.3415	0.6186	0.7416
Inoculación (I)	0.4282	0.5754	0.7991	0.3145	0.5226	0.4943
S x I	0.6005	0.8209	0.6126	0.7861	0.83	0.6854

Medias (± desviación estándar) con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$); *DMSH=Diferencia mínima significativa honesta; C.V.= Coeficiente de variación; SS75+INC= Solución Steiner 75% más inoculación, SS75+NOI= Solución Steiner 75% sin inoculación, SS50+INC= Solución Steiner 50% más inoculación, SS50+NOI= Solución Steiner 50% sin inoculación

Anexo 23. Análisis micronutricional de la biomasa seca de fruto de pepino var. Poinset inoculados con *Pseudomonas tolaasii* e irrigados a dos concentraciones de solución Steiner evaluados tres meses después del trasplante (5 de noviembre 2016).

Tratamiento	Fe	Mn	Zn	B	Cu
	mg kg ⁻¹				
SS50+NOI	243.98±199.57 a	25.56±4.65 a	24.22±4.73 a	34.87±5.64 a	10.22±2.8 a
SS50+INC	286.68±125.05 a	32.56±14.59 a	27.86±8.13 a	31.54±7.59 a	11.55±2.51 a
SS75+NOI	112.95±44.03 a	27.64±5.48 a	26.08±2.48 a	31.29±3.27 a	12.60±1.04 a
SS75+INC	100.43±14.63 a	29.71±6.06 a	27.75±7.34 a	31.67±6.76 a	12.75±2.22 a
DMSH*	217.17	15.709	11.033	10.934	4.0692
R ²	0.362016	0.5107	0.596772	0.8565	0.201907
Varianza	14404.9333	81.93306	32.18968	11.2429697	5.0573669
C.V.	64.52296	31.351	21.42	10.36	19.08527
Factor solución					
Solución Steiner 75%	106.69 b	28.68 a	26.91 a	31.48 a	12.67 a
Solución Steiner 50%	265.33 a	29.06 a	26.04 a	33.2 a	10.88 a
DMSH*	113.79	8.2307	5.7808	5.729	2.132
Factor inoculación					
Inoculado	193.56 a	31.13 a	27.8 a	31.6 a	12.15 a
No inoculado	178.47 a	26.6 a	25.15 a	33.08 a	11.41 a
DMSH*	113.79	8.2307	5.7808	5.729	2.132
Probabilidad					
Solución (S)	0.0093	0.9225	0.7533	0.5326	0.0943
Inoculación (I)	0.7822	0.2598	0.3453	0.5925	0.4734
S x I	0.6141	0.5352	0.7241	0.5027	0.5657

Medias (± desviación estándar) con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$); *DMSH=Diferencia mínima significativa honesta; C.V.= Coeficiente de variación; SS75+INC= Solución Steiner 75% más inoculación, SS75+NOI= Solución Steiner 75% sin inoculación, SS50+INC= Solución Steiner 50% más inoculación, SS50+NOI= Solución Steiner 50% sin inoculación.



Anexo 24. Relación entre el contenido de sólidos solubles totales (SST) y el Nitrógeno total en frutos de pepino var. Poinset.

Anexo 25. Cinética de crecimiento de pimiento var. California Wonder inoculados con *Pseudomonas tolaasii* e irrigados a dos concentraciones de solución Steiner y su influencia sobre el diámetro de tallo (mm) en diferentes muestreos después del trasplante.

Tratamientos	Muestreo			
	05-sep-16	05-oct-16	05-nov-16	05-dic-16
SS50+NOI	6.87±0.34 a	9.61±1.19 b	10.42±1.60 b	10.96± 1.84 b
SS50+INC	7.21±1.06 a	10.34±1.46 b	11.32±2.17 ab	11.82±2.25 ab
SS75+NOI	7.58±0.63 a	12.41±1.59 a	12.98±1.83 a	13.61± 1.98 a
SS75+INC	7.04±0.35 a	10.95±1.64 ab	11.68±1.69 ab	12.02±1.49 ab
DMSH*	0.8071	1.7896	2.2157	2.308
R ²	0.270231	0.347742	0.2173	0.21793
Varianza	2.8055556	2.207776	3.384247	3.671925
C.V.	7.683391	13.71604	15.85651	15.82972
Factor solución				
Solución Steiner 75%	7.313 a	11.685 a	12.331 a	12.819 a
Solución Steiner 50%	7.0475 a	9.981 b	10.872 b	11.391 b
DMSH*	0.4298	0.9529	1.1798	1.229
Factor inoculación				
Inoculado	7.13 a	10.648 a	11.502 a	11.922 a
No inoculado	7.231 a	11.018 a	11.701 a	12.288 a
DMSH*	0.4298	0.9529	1.1798	1.229
Solución (S)				
Solución (S)	0.2175	0.0009	0.0168	0.0241
Inoculación (I)				
Inoculación (I)	0.6365	0.4362	0.7336	0.5491
S x I				
S x I	0.0432	0.0256	0.0661	0.0499

Medias (± desviación estándar) con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$); *DMSH=Diferencia mínima significativa honesta; C.V.= Coeficiente de variación; SS75+INC= Solución Steiner 75% más inoculación, SS75+NOI= Solución Steiner 75% sin inoculación, SS50+INC= Solución Steiner 50% más inoculación, SS50+NOI= Solución Steiner 50% sin inoculación.

Anexo 26. Cinética de crecimiento de pimiento var. California Wonder inoculados con *Pseudomonas tolaasii* e irrigados a dos concentraciones de solución Steiner y su influencia sobre el número de hojas en diferentes muestreos después del trasplante.

Tratamientos	Muestreo			
	05-sep-16	05-oct-16	05-nov-16	05-dic-16
SS50+NOI	20.9±1.44 b	34.6±5.16 a	40.6±3.06 a	45.0± 5.12 a
SS50+INC	21.2±1.22 b	39.2±5.88 a	43.9±3.78 a	47.4±4.22 a
SS75+NOI	23.4±1.77 a	33.7±4.21 a	40.7±4.92 a	44.1±4.25 a
SS75+INC	21.7±2.11 ab	35.1±4.17 a	41.8±4.04 a	45.7±5.27 a
DMSH*	2.01	5.91	4.83	5.7111
R ²	0.270231	0.170089	0.108545	0.0674
Varianza	2.8055556	24.138889	16.0833333	22.4833333
C.V.	7.683391	13.78158	9.605756	10.40979
Factor solución				
Solución Steiner 75%	22.55 a	34.4 a	41.25 a	44.90 a
Solución Steiner 50%	21.05 b	36.9 a	42.25 a	46.20 a
DMSH*		3.151	2.57	3.041
Factor inoculación				
Inoculado	21.45 a	37.15 a	42.85 a	46.55 a
No inoculado	22.15 a	34.15 a	40.65 a	44.55 a
DMSH*	1.07	3.151	2.57	3.041
Solución (S)				
Solución (S)	0.0075	0.1163	0.4356	0.391
Inoculación (I)				
Inoculación (I)	0.1947	0.0614	0.0913	0.1906
S x I				
S x I	0.0671	0.31	0.3915	0.7912

Medias (± desviación estándar) con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$); *DMSH=Diferencia mínima significativa honesta; C.V.= Coeficiente de variación; SS75+INC= Solución Steiner 75% más inoculación, SS75+NOI= Solución Steiner 75% sin inoculación, SS50+INC= Solución Steiner 50% más inoculación, SS50+NOI= Solución Steiner 50% sin inoculación.

Anexo 27. Cinética de crecimiento de pimiento var. California Wonder inoculados con *Pseudomonas tolaasii* e irrigados a dos concentraciones de solución Steiner y su influencia sobre la altura de planta (cm) en diferentes muestreos después del trasplante.

Tratamientos	Muestreo			
	05-sep-16	05-oct-16	05-nov-16	05-dic-16
SS50+NOI	20.29±2.18 a	38.6±4.00 a	43.9±8.99 a	46.40± 9.83 a
SS50+INC	20.8±1.56 a	42.3±5.67 a	48.0±6.64 a	51.70±7.0 a
SS75+NOI	21.72±1.85 a	42.3±5.35 a	47.1±7.41 a	48.85±7.24 a
SS75+INC	20.93±1.40 a	40.6±4.11 a	45.4±5.77 a	49.5±6.83 a
DMSH*	2.1428	5.8353	8.8011	9.4285
R ²	0.084411	0.099051	0.049169	0.060764
Varianza	3.1651667	23.47222	53.39444	61.278
C.V.	8.498168	11.83105	15.85065	15.93903
Factor solución				
Solución Steiner 75%	21.325 a	41.45 a	46.25 a	49.175 a
Solución Steiner 50%	20.545 a	40.45 a	45.95 a	49.05 a
DMSH*	1.141	3.1072	4.686	5.0205
Factor inoculación				
Inoculado	20.865 a	41.45 a	46.7 a	50.6 a
No inoculado	21.005 a	40.45 a	45.5 a	47.62 a
DMSH*	1.141	3.1072	4.6864	5.0205
Solución (S)				
Solución (S)	0.1741	0.5181	0.8974	0.96
Inoculación (I)				
Inoculación (I)	0.8049	0.5181	0.6067	0.2373
S x I				
S x I	0.2556	0.0865	0.2176	0.3539

Medias (± desviación estándar) con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$); *DMSH=Diferencia mínima significativa honesta; C.V.= Coeficiente de variación; SS75+INC= Solución Steiner 75% más inoculación, SS75+NOI= Solución Steiner 75% sin inoculación, SS50+INC= Solución Steiner 50% más inoculación, SS50+NOI= Solución Steiner 50% sin inoculación.

Anexo 28. Cinética de crecimiento de pimiento var. California Wonder inoculados con *Pseudomonas tolaasii* e irrigados a dos concentraciones de solución Steiner y su influencia sobre el contenido relativo de clorofila (Lecturas SPAD) en diferentes muestreos después del trasplante.

Tratamientos	Muestreo			
	05-sep-16	05-oct-16	05-nov-16	05-dic-16
SS50+NOI	58.69±6.07 a	71.62±3.36 ab	71.46±4.46 a	61.51±4.04 b
SS50+INC	58.34±4.39 a	69.44±3.49 b	71.39±3.36 a	62.22±5.12 b
SS75+NOI	61.52±6.54 a	74.36±2.91 a	72.36±2.20 a	70.51±2.69 a
SS75+INC	59.85±8.43 a	74.31±3.57 a	72.59±5.21 a	73.01±6.35 a
DMSH*	7.85	4.03	4.79	5.72
R ²	0.03866	0.294693	0.019476	0.55501
Varianza	42.570944	11.20592	15.82239	22.5578
C.V.	10.94738	4.621577	5.528473	7.10871
Factor solución				
Solución Steiner 75%	60.68 a	74.33 a	72.47 a	71.76 a
Solución Steiner 50%	58.51 a	70.53 b	71.42 a	61.86 b
DMSH*	4.18	2.14	2.55	3.04
Factor inoculación				
Inoculado	59.095 a	71.875 a	71.99 a	67.615 a
No inoculado	60.105 a	72.99 a	71.91 a	66.01 a
DMSH*	4.18	2.14	2.55	3.04
Solución (S)				
Solución (S)	0.2999	0.001	0.4094	<.0001
Inoculación (I)				
Inoculación (I)	0.6274	0.2992	0.9496	0.2924
S x I				
S x I	0.7509	0.3211	0.9057	0.555

Medias (± desviación estándar) con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$); *DMSH=Diferencia mínima significativa honesta; C.V.= Coeficiente de variación; SS75+INC= Solución Steiner 75% más inoculación, SS75+NOI= Solución Steiner 75% sin inoculación, SS50+INC= Solución Steiner 50% más inoculación, SS50+NOI= Solución Steiner 50% sin inoculación.

Anexo 29. Variables destructivas evaluadas en pimiento var. California Wonder inoculadas con *Pseudomonas tolaasii* e irrigados a dos concentraciones de solución Steiner tres meses después del trasplante el 5 de diciembre 2016.

Tratamientos	Longitud radical cm	Volumen radical cm ³	Área foliar cm ²	Biomasa seca radical g	Biomasa seca aérea g	Rendimiento t ha ⁻¹
SS50+NOI	39.1± 3.11 a	130.1±53.56 a	1717.0±620 a	14.52±9.63 a	27.09±10.95 a	15.10±5.42 a
SS50+INC	41.2±3.42 a	129.1±43.55 a	2006.9± 651 a	13.39±4.95 a	32.33±14.47 a	16.02±4.36 a
SS75+NOI	43.2±6.19 a	131.2±36.91 a	2045.5±466 a	12.52±4.37 a	31.71± 7.86 a	17.26±2.24 a
SS75+INC	41.1±3.72 a	114.7± 52.01 a	1876.3±702 a	10.93±6.22 a	29.84± 8.5 a	15.24±4.32 a
DMSH*	5.1708	56.6	742.46	7.9752	12.991	5.1178
R ²	0.112493	0.022242	0.046091	0.04172	0.038153	0.043269
Varianza	18.43056	2208.319	379988.5	43.84319	116.3284	18.0545556
C.V.	10.4327	37.21462	32.25016	51.562	35.663	26.71528
Factor solución						
Solución Steiner 75%	42.15 a	122.9 a	1960.9 a	11.72 a	30.77 a	16.25 a
Solución Steiner 50%	40.15 a	129.6 a	1862.0 a	13.95 a	29.71 a	15.56 a
DMSH*	2.753	30.139	395.35	4.2466	6.9173	2.72
Factor inoculación						
Inoculado	41.15 a	121.9 a	1941.6 a	12.16 a	31.085 a	15.63 a
No inoculado	41.15 a	130.65 a	1881.2 a	13.523 a	29.4 a	16.18 a
DMSH*	2.753	30.139	395.35	4.2466	6.9173	2.72
Probabilidad						
Solución (S)	0.1494	0.6572	0.615	0.2946	0.7566	0.6107
Inoculación (I)	1.00	0.5597	0.7588	0.5192	0.6243	0.6847
S x I	0.1306	0.6052	0.2468	0.912	0.3042	0.2812

Medias (± desviación estándar) con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$); *DMSH=Diferencia mínima significativa honesta; C.V.= Coeficiente de variación; SS75+INC= Solución Steiner 75% más inoculación, SS75+NOI= Solución Steiner 75% sin inoculación, SS50+INC= Solución Steiner 50% más inoculación, SS50+NOI= Solución Steiner 50% sin inoculación.

Anexo 30. Análisis macronutricional de la biomasa seca aérea de pimiento var. California Wonder inoculadas con *Pseudomonas tolaasii* e irrigados a dos concentraciones de solución Steiner evaluados cuatro meses después del trasplante (5 de diciembre 2016).

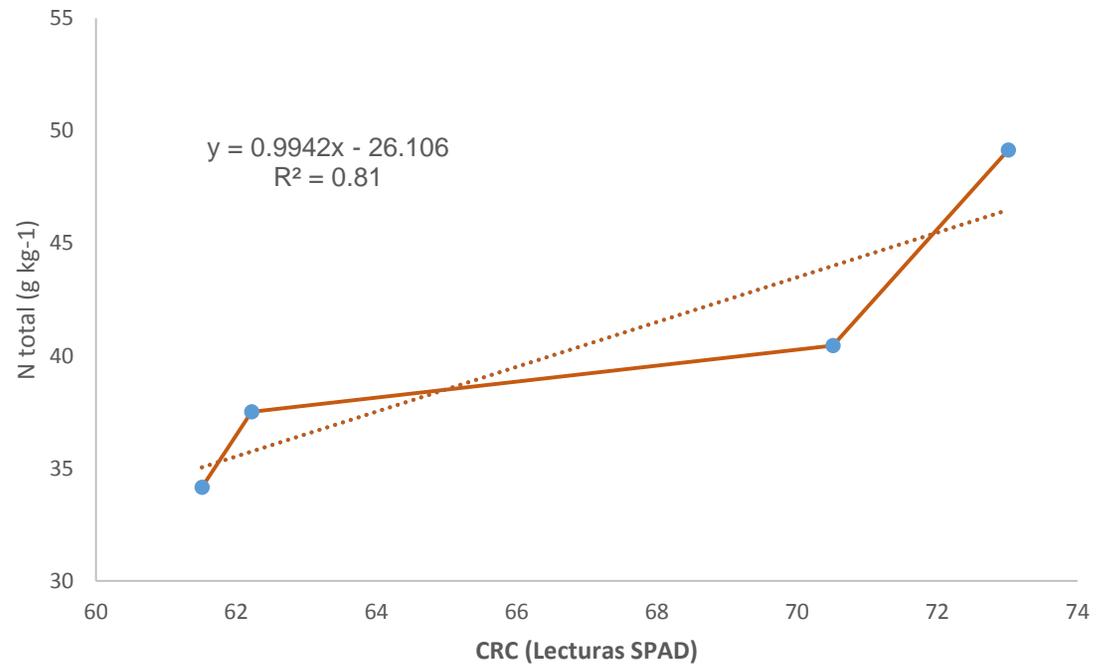
Tratamiento	N total	P	K	Ca	Mg	S
g kg ⁻¹						
SS50+NOI	34.16±3.26 c	2.08±0.61 a	23.54±9.21 a	19.18±3.84 a	11.74±2.41 a	1.43±0.44 a
SS50+INC	37.52±1.61 bc	1.64±0.58 a	24.10±9.28 a	16.18±6.36 a	10.32±3.92 a	1.29±0.37 a
SS75+NOI	40.46±2.44 b	2.09±0.46 a	31.31±9.14 a	19.16±4.86 a	12.14±2.58 a	1.59±0.24 a
SS75+INC	49.14±4.54 a	2.19±0.62 a	30.93±8.36 a	21.48±5.01 a	12.93±3.05 a	1.69±0.44 a
DMSH*	5.7139	1.039	16.304	9.2331	5.5235	0.6976
R ²	0.887825	0.47139	0.305365	0.376987	0.396355	0.3232
Varianza	0.109025	0.253487	26.37406	37.9687657	12.6030129	0.23969301
C.V.	8.18922	31.87446	42.44548	32.42412	30.11129	32.5043
Factor solución						
Solución Steiner 75%	44.8 a	2.14 a	31.12 a	20.32 a	12.54 a	1.64 a
Solución Steiner 50%	35.84 b	1.86 a	23.82 b	17.68 a	11.03 a	1.36 b
DMSH*	0.3101	0.5192	5.2961	3.873	2.533	0.2474
Factor inoculación						
Inoculado	43.33 a	1.92 a	27.51 a	19.17 a	11.94 a	1.49 a
No inoculado	37.31 b	2.08 a	27.43 a	18.83 a	11.63 a	1.51 a
DMSH*	0.3405	0.6584	12.027	6.3545	3.6611	0.5049
Probabilidad						
Solución (S)	<.0001	0.2958	0.089	0.2632	0.2868	0.1298
Inoculación (I)	0.0006	0.5264	0.983	0.8838	0.8202	0.9188
S x I	0.0779	0.3155	0.9085	0.2609	0.4293	0.4887

Medias (± desviación estándar) con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$); *DMSH=Diferencia mínima significativa honesta; C.V.= Coeficiente de variación; SS75+INC= Solución Steiner 75% más inoculación, SS75+NOI= Solución Steiner 75% sin inoculación, SS50+INC= Solución Steiner 50% más inoculación, SS50+NOI= Solución Steiner 50% sin inoculación.

Anexo 31. Análisis micronutricional de la biomasa seca aérea de pimiento var. California Wonder inoculadas con *Pseudomonas tolaasii* e irrigados a dos concentraciones de solución Steiner evaluados cuatro meses después del trasplante (5 de diciembre 2016).

Tratamiento	Fe	Mn	Zn	B	Cu
	mg kg ⁻¹				
SS50+NOI	181.76±9.65 a	176.28±39.66 a	34.43±9.07 a	65.1±11.16 a	36.9±11.99 a
SS50+INC	231.22±89.06 a	148.19±60.21 a	30.69±9.0 a	53.87±23.23 a	26.91±11.94 a
SS75+NOI	227.12±69.34 a	156.95±28.59 a	32.82±7.04 a	63.16±13.87 a	33.95±5.94 a
SS75+INC	244.09±85.07 a	172.12±28.4 a	40.19±9.87 a	67.4±19.75 a	49.83±27.83 a
DMSH*	128.19	74.73	15.94	31.95	29.96
R ²	0.339632	0.298871	0.389086	0.283804	0.601636
Varianza	7542.9275	2617.71146	113.8534	493.971132	287.051035
C.V.	39.2905	31.31445	30.89546	35.62697	45.9173
Factor solución					
Solución Steiner 75%	235.6 a	164.53 a	36.50 a	65.28 a	41.89 a
Solución Steiner 50%	206.49 a	162.24 a	32.56 a	59.48 a	31.90 a
DMSH*	51.51	29.06	6.63	11.74	16.66
Factor inoculación					
Inoculado	237.65 a	166.62 a	35.44 a	60.63 a	38.37 a
No inoculado	204.44 a	160.16 a	33.62 a	64.13 a	35.42 a
DMSH*	89.56	52.76	11.00	22.92	17.47
Probabilidad					
Solución (S)	0.3723	0.9026	0.3322	0.4735	0.1963
Inoculación (I)	0.3106	0.7311	0.6511	0.6643	0.6959
S x I	0.6158	0.2588	0.1777	0.3423	0.0999

Medias (± desviación estándar) con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$); *DMSH=Diferencia mínima significativa honesta; C.V.= Coeficiente de variación; SS75+INC= Solución Steiner 75% más inoculación, SS75+NOI= Solución Steiner 75% sin inoculación, SS50+INC= Solución Steiner 50% más inoculación, SS50+NOI= Solución Steiner 50% sin inoculación.



Anexo 32. Relación entre el contenido relativo de clorofila (CRC) y el Nitrógeno total de la biomasa seca aérea de chile pimiento morrón var. California Wonder.

Anexo 33. Efecto de la inoculación con *Pseudomonas tolaasii* e irrigación a dos concentraciones de solución Steiner sobre la biomasa fresca, diámetro polar, diámetro ecuatorial y pericarpio en la calidad de la cosecha de frutos de pimiento var. California Wonder evaluados cuatro meses después del trasplante (5 de diciembre 2016).

Tratamientos	Biomasa fresca	Diámetro polar	Diámetro ecuatorial	Pericarpio
	g	cm	cm	mm
SS50+NOI	160.08±42.8 a	7.89± 1.29 a	7.67± 0.88 a	5.50±0.87 a
SS50+INC	161.47±42.15 a	8.46±1.42 a	7.87±0.77 a	5.36±0.83 a
SS75+NOI	164.20±55.32 a	7.97±1.66 a	7.87±1.0 a	5.50±0.84 a
SS75+INC	157.47±47.92 a	7.83± 1.08 a	7.43±1.33 a	5.78±1.1 a
DMSH*	31.867	0.9324	0.6871	0.621
R ²	0.002721	0.032737	0.032306	0.026479
Varianza	2241.8051	1.9190801	1.0423299	0.8514571
C.V.	29.44434	17.23164	13.23426	16.65872
Factor solución				
Solución Steiner 75%	160.83 a	7.90 a	7.65 a	5.64 a
Solución Steiner 50%	160.77 a	8.17 a	7.77 a	5.43 a
DMSH*	17.121	0.5009	0.3692	0.3337
Factor inoculación				
Inoculado	159.46 a	8.14 a	7.65 a	5.57 a
No inoculado	162.14 a	7.93 a	7.77 a	5.50 a
DMSH*	17.121	0.5009	0.3692	0.3337
Probabilidad				
Solución (S)	0.994	0.2768	0.5227	0.2231
Inoculación (I)	0.7578	0.3891	0.5285	0.6741
S x I	0.6392	0.1615	0.0828	0.2267

Medias (± desviación estándar) con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$); *DMSH=Diferencia mínima significativa honesta; C.V.= Coeficiente de variación; SS75+INC= Solución Steiner 75% más inoculación, SS75+NOI= Solución Steiner 75% sin inoculación, SS50+INC= Solución Steiner 50% más inoculación, SS50+NOI= Solución Steiner 50% sin inoculación.

Anexo 34. Efecto de la inoculación con *Pseudomonas tolaasii* e irrigación dos a dos concentraciones de solución Steiner sobre el pH, acidez titulable, Solidos Solubles Totales (SST) y la biomasa seca de fruto en la calidad de la cosecha de frutos de pimiento var. California Wonder evaluados cuatro meses después del trasplante (5 de diciembre 2016).

Tratamientos	pH	Acidez titulable	SST	Biomasa seca de fruto
		% ácido cítrico	° Brix	g
SS50+NOI	5.12±0.22 a	0.1932±0.0340 a	8.77±1.35 b	12.68±3.50 a
SS50+INC	5.06±0.25 a	0.2105±0.0484 a	9.09±1.27 ab	12.76± 3.40 a
SS75+NOI	4.97±0.27 a	0.1864±0.0466 a	8.25±1.5 b	12.93±4.89 a
SS75+INC	4.96±0.27 a	0.1959±0.0278 a	9.66±1.08 a	13.14±3.99 a
DMSH*	0.1752	0.027	0.8856	2.6893
R ²	0.063158	0.047204	0.135791	0.001986
Varianza	0.06772882	0.00161303	14.70811	15.966043
C.V.	5.172966	20.43725	1.7312328	31.02092
Factor solución				
Solución Steiner 75%	4.96 b	0.1911 a	8.96 a	13.03 a
Solución Steiner 50%	5.09 a	0.2018 a	8.93 a	12.72 a
DMSH*	0.0941	0.0145	0.4758	1.4449
Factor inoculación				
Inoculado	5.01 a	0.2032 a	9.38 a	12.95 a
No inoculado	5.05 a	0.1898 a	8.51 b	12.80 a
DMSH*	0.0941	0.0145	0.4758	1.4449
Probabilidad				
Solución (S)	0.0096	0.1472	0.9063	0.67
Inoculación (I)	0.4194	0.0702	0.0004	0.8428
S x I	0.6367	0.599	0.0251	0.9255

Medias (± desviación estándar) con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$); SST= Solidos Solubles Totales; *DMSH=Diferencia mínima significativa honesta; C.V.= Coeficiente de variación; SS75+INC= Solución Steiner 75% más inoculación, SS75+NOI= Solución Steiner 75% sin inoculación, SS50+INC= Solución Steiner 50% más inoculación, SS50+NOI= Solución Steiner 50% sin inoculación

Anexo 35. Análisis macronutricional de la biomasa seca de fruto de pimiento var. California Wonder inoculados con *Pseudomonas tolaasii* e irrigados a dos concentraciones de solución Steiner evaluados cuatro meses después del trasplante (5 de diciembre 2016).

Tratamiento	N total	P	K	Ca	Mg	S
g kg ⁻¹						
SS50+NOI	22.82±4.33 a	3.39±1.05 a	17.62±4.67 a	1.0±0.34 a	2.02±0.60 a	0.66± 0.2 a
SS50+INC	20.72±4.0 a	3.31±0.73 a	17.50±2.36 a	0.92±0.18 a	1.94±0.31 a	0.64±0.12 a
SS75+NOI	21.42±1.95 a	3.25±0.2 a	16.02±1.59 a	0.9±0.04 a	1.81±0.07 a	0.67±0.02 a
SS75+INC	21.28±1.27 a	3.01±0.09 a	14.02±1.51 a	0.8±0.05 a	1.61±0.17 a	0.58±0.01 a
DMSH*	5.7419	1.177	5.1451	0.3542	0.6424	0.218
R ²	0.653454	0.623553	0.592725	0.323282	0.551	0.475626
Varianza	7.497	0.3381323	8.741706	0.0603279	0.13972865	0.01679295
C.V.	12.699	17.937	18.144	27.07	20.22	20.16
Factor solución						
Solución Steiner 75%	21.35 a	3.13 a	15.02 a	0.85 a	1.71 a	0.63 a
Solución Steiner 50%	21.77 a	3.35 a	17.56 a	0.96 a	1.98 a	0.65 a
DMSH*	3.0084	0.6172	2.6957	0.1856	0.3366	0.1146
Factor inoculación						
Inoculado	21 a	3.16 a	15.76 a	0.86 a	1.77 a	0.61 a
No inoculado	22.12 a	3.32 a	16.82 a	0.95 a	1.91 a	0.66 a
DMSH*	3.0084	0.6172	2.6957	0.1856	0.3366	0.1146
Probabilidad						
Solución (S)	0.7711	0.4568	0.0629	0.2346	0.1124	0.658
Inoculación (I)	0.4415	0.5927	0.416	0.3141	0.386	0.345
S x I	0.4997	0.7849	0.4716	0.9145	0.7117	0.5411

Medias (± desviación estándar) con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$); *DMSH=Diferencia mínima significativa honesta; C.V.= Coeficiente de variación; SS75+INC= Solución Steiner 75% más inoculación, SS75+NOI= Solución Steiner 75% sin inoculación, SS50+INC= Solución Steiner 50% más inoculación, SS50+NOI= Solución Steiner 50% sin inoculación.

Anexo 36. Análisis micronutricional de la biomasa seca de fruto de pimiento var. California Wonder inoculados con *Pseudomonas tolaasii* e irrigados a dos concentraciones de solución Steiner evaluados cuatro meses después del trasplante (5 de diciembre 2016).

Tratamiento	Fe	Mn	Zn	B	Cu
	mg kg ⁻¹				
SS50+NOI	92.35±30.72 a	16.18±4.85 a	11.74±3.97 a	21.75±7.66 a	13.1±3.57 a
SS50+INC	93.17±24.19 a	15.86±4.0 a	13.47±4.61 a	22.42±5.94 a	26.69±28.36 a
SS75+NOI	122.65±28.78 a	17.08±1.04 a	14.94±5.63 a	19.12±1.32 a	11.96±1.42 a
SS75+INC	81.16±14.86 a	13.55±0.79 a	12.32±4.62 a	16.91±1.84 a	9.82±1.62 a
DMSH*	45.947	5.8158	8.5978	9.0129	25.944
R ²	0.314062	0.169902	0.07624	0.195249	0.210765
Varianza	644.79337	10.33031	22.5775188	24.8098215	205.5807
C.V.	26.08847	20.50956	36.2182	24.83567	93.13035
Factor solución					
Solución Steiner 75%	101.91 a	15.31 a	13.63 a	18.01 a	10.89 a
Solución Steiner 50%	92.76 a	16.02 a	12.60 a	22.09 a	19.89 a
DMSH*	24.074	3.0471	4.5047	4.7222	13.593
Factor inoculación					
Inoculado	87.17 a	14.70 a	12.89 a	19.66 a	18.26 a
No inoculado	107.5 a	16.63 a	13.34 a	20.44 a	12.53 a
DMSH*	24.074	3.0471	4.5047	4.7222	13.593
Probabilidad					
Solución (S)	0.4322	0.6299	0.6372	0.0862	0.1795
Inoculación (I)	0.0923	0.1995	0.8358	0.7322	0.385
S x I	0.0809	0.2815	0.3219	0.527	0.2378

Medias (± desviación estándar) con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente similares con base a prueba Tukey ($\alpha=0.05$); *DMSH=Diferencia mínima significativa honesta; C.V.= Coeficiente de variación; SS75+INC= Solución Steiner 75% más inoculación, SS75+NOI= Solución Steiner 75% sin inoculación, SS50+INC= Solución Steiner 50% más inoculación, SS50+NOI= Solución Steiner 50% sin inoculación.