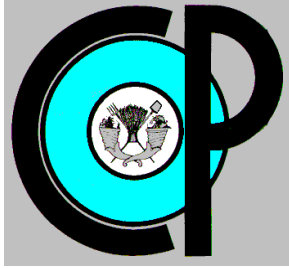


COLEGIO DE POSTGRADUADOS



INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE EDAFOLOGÍA

AISLAMIENTO DE RIZOBACTERIAS ASOCIADAS A TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.) Y SU POTENCIAL PARA PROMOVER CRECIMIENTO VEGETAL

YURIDIA MARLEN DAZA MARTÍNEZ

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

MAESTRA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO

2021

La presente tesis titulada: **Aislamiento de rizobacterias asociadas a tomate (*Solanum lycopersicum* L.) y su potencial para promover crecimiento vegetal**, realizada por la alumna: **Yuridia Marlen Daza Martínez**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS
EDAFOLOGÍA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



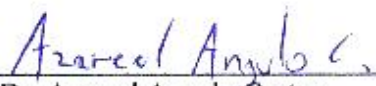
Dr. Juan José Almaraz Suárez

ASESORA



Dra. María de las Nieves Rodríguez Mendoza

ASESOR



Dr. Azareel Angulo Castro

Montecillo, Texcoco, Estado de México, abril de 2021

AISLAMIENTO DE RIZOBACTERIAS ASOCIADAS A TOMATE (*Solanum lycopersicum L.*) Y SU POTENCIAL PARA PROMOVER CRECIMIENTO VEGETAL

Yuridia Marlen Daza Martínez, M. C.
Colegio de Posgraduados, 2021

RESUMEN

Una alternativa para reducir dosis elevadas de fertilizantes químicos en cultivos como tomate es el uso de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (RPCV). El objetivo de esta investigación fue aislar y caracterizar cepas de rizobacterias así como evaluar su potencial para promover crecimiento vegetal en plántulas de tomate. Se recolectaron muestras del suelo de la rizosfera de tomate en la comunidad la Bajada, Municipio de Coyuca de Catalán, en el estado de Guerrero. Se aislaron un total de 70 cepas de rizobacterias de las cuales se seleccionaron 12 en función de su capacidad para producir indoles, solubilizar fosfatos y producir sideróforos. Las cepas se identificaron a nivel molecular y se encontró que pertenecieron a 7 especies: *Arthobacter pokkalii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Arthrobacter enclensis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus drentensis*, *Staphylococcus equorum* y *Pseudarthrobacter* sp. Los resultados obtenidos en el experimento de semillero, mostraron que la cepa JLB4 fue la mejor, ya que incrementó significativamente ($P \leq 0.05$) las variables altura, volumen radical, peso fresco de parte aérea, peso fresco de tallo y peso seco total, así como contenido de N, P y K, con respecto al testigo y la cepa de referencia P61. La cepa JN24 mostró mayor diámetro y altura de plántulas, JLB2 fue la mejor en área foliar y la cepa JP4 en el área foliar específica. La cepa *Arthobacter pokkalii* JLB4, que tuvo los mayores efectos en plántulas con un 78% de incremento en biomasa, tiene un gran potencial y podría usarse en la producción de tomate condiciones de invernadero.

Palabras clave: Comunidades microbianas, crecimiento de plántulas, hortalizas, bacterias.

ISOLATION OF RHIZOBACTERIA ASSOCIATED WITH TOMATO (*Solanum lycopersicum* L.) AND ITS POTENTIAL TO PROMOTE PLANT GROWTH

Yuridia Marlen Daza Martínez, M. C.
Colegio de Posgraduados, 2021

ABSTRACT

To reduce high doses of chemical fertilizers in crops such as tomatoes an alternative is the use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR). The objective of this research was to isolate and characterize rhizobacteria strains as well as to evaluate their potential to promote plant growth in tomato seedlings. Soil samples were collected from the tomato rhizosphere in the La Bajada community, Municipality of Coyuca de Catalán, in the state of Guerrero. A total of 70 strains of rhizobacteria were isolated from which 12 were selected based on their ability to produce indoles, to solubilize phosphates and to produce siderophores. The strains were identified at molecular level and found to belong to 7 species: *Arthobacter pokkalii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Arthrobacter enclensis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus drentensis*, *Staphylococcus equorum* and *Pseudarthrobacter* sp. The results obtained in the seedling experiment showed that the JLB4 strain was the best since it significantly increased ($P \leq 0.05$) the variables height, root volume, fresh weight of shoots, fresh weight of stem and total dry weight, as well as content of N, P and K, with respect to the control and the reference strain P61. The seedlings inoculated with JN24 strain showed the greatest diameter and height, those inoculated with JLB2 had the highest foliar area and the treatment with JP4 strain had the biggest specific foliar area. The *Arthobacter pokkalii* JLB4 strain, which had the greatest effects on seedlings with a 78% increase in biomass, has great potential and could be used in tomato production under greenhouse conditions.

Key words: Microbial communities, seedling growth, vegetables, bacteria.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico para la realización de mis estudios académicos.

Al Colegio de Postgraduados, por abrirme las puertas y permitirme ser parte de su comunidad y posibilitar desarrollarme y aprender cosas nuevas para mi desarrollo académico.

Al Dr. Juan José Almaraz Suárez por seguir apoyándome como su estudiante, por toda su paciencia, compartir todos sus conocimientos y su tiempo conmigo y guiarme durante mi formación académica y desarrollo mi trabajo de investigación. Porque sin su apoyo este proyecto no sería posible.

A la Dra. Ma. De las Nieves Rodríguez Mendoza por compartir por sus consejos y apoyo para la realización de esta tesis, gracias por el tiempo dedicado y siempre estar dispuesta apoyarme en cada situación presentada.

Al Dr. Azareel Angulo Castro por su apoyo en la elaboración de los análisis nutrimentales, sus observaciones y sugerencias en el desarrollo del trabajo de investigación y siempre estar atento en mis avances.

A la Dra. Hilda Victoria Silva Rojas por compartir sus conocimientos y permitirme realizar la extracción de DNA de mis cepas bacterianas en su laboratorio.

A Lalo del laboratorio de genética por su apoyo en la extracción de DNA y por su paciencia.

A todos mis amigos (as) por apoyarme en los momentos difíciles, por sus consejos, apoyo en el laboratorio, brindarme su amistad y hacer este recorrido más ameno Karla, Samuel, Maestra Vivian, Luz, Manuel, Orlando, Mena, Maryeli y Ana.

A Sigrid, Doña Mary y Carlos por su apoyo otorgado para poder concluir con mi investigación.

A Juan José Florencio gracias por los consejos, por escucharme cuando lo necesitaba, apoyarme en cada momento y estar al pendiente de mi formación académica.

A todos aquellos que participaron directa o indirectamente en la elaboración de esta investigación.

DEDICATORIA

A Dios por la vida, la salud y la fortaleza en estos tiempos difíciles.

A mi Madre

Laura Elena Martínez con quien estoy eternamente agradecida por todo lo que ha dado, por brindarme su amor incondicional y siempre apoyarme en cada etapa de mi vida. Gracias mamá por sus consejos y ser mi motor para seguir adelante.

A mi abuelita

Minerva León Balandrano por confiar en mí y nunca dejarme, gracias por darme su amor sin esperar nada a cambio y siempre estar en el lugar y momento indicado, lista para ayudarme cuando más lo necesito.

A mi tía

Angélica Martínez gracias por su cariño, por apoyarme en todos los sentidos, gracias por ser la mejor tía espero siempre contar con usted y nunca cambie que usted es genial.

A mi hermana

Blanca Arely Daza por la confianza y apoyo que me brindó en esta etapa de gran importancia para mí. Gracias por todos los momentos vividos y por darme esas hermosas sobrinas quienes amo con todo mi corazón y quienes mi inspiran para seguir adelante.

CONTENIDO

	Páginas
RESUMEN	iii
ABSTRACT	iv
LISTA DE CUADROS	xii
LISTA DE FIGURAS	xiii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS E HIPÓTESIS	3
III. REVISIÓN DE LITERATURA	5
3.1 Rizosfera.....	5
3.2 Rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal	6
3.2.1 Producción de fitohormonas.....	7
3.2.1.1 Auxinas.....	8
3.2.1.2 Giberelinas	10
3.2.1.3 Citoquininas	11
3.2.2 Fijación de nitrógeno.....	12
3.2.3 Solubilización de fosfato.....	14
3.2.4 Producción de sideróforos	15
3.3 Biofertilizantes.....	18

3.4 Perspectivas de las rizobacterias en el cultivo de tomate	18
3.6 Características del tomate	19
3.6.1 Manejo del cultivo.....	20
3.6.2. Siembra en bandejas (almacigo)	20
3.6.2.3 Perlita	22
3.6.3 Requerimiento nutricional.....	22
3.6.3.1 Nitrógeno.....	22
3.6.3.2 Fósforo	23
3.6.3.3 Potasio	23
3.7 Importancia del cultivo de tomate en el mundo	24
3.8 Importancia del cultivo de tomate en México	24
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	26
4.1 Ubicación del experimento	26
4.2 Sitios de muestreo.....	26
4.2.1 Análisis de suelo.....	27
4.3 Aislamiento de cepas de bacterianas	28
4.4 Pruebas cualitativas de las cepas de rizobacterias	29
4.5 Caracterización de las cepas de rizobacterias	30
4.5.1 Capacidad de solubilizar fosfato	30
4.5.2 Producción de indoles totales	32

4.5.3 Determinación de actividad antagónica de RPCV	33
4.5.4 Conservación de cepas	33
4.5.5 Identificación molecular.....	34
4.6 Pruebas de germinación.....	36
4.7 Experimento de inoculación en plántulas de tomate	36
4.7.1 Aplicación de solución nutritiva y manejo agronómico.....	37
4.7.2 Variables de crecimiento.....	37
4.7.2.1 Altura de plántula.	37
4.7.2.2 Diámetro de tallo.....	38
4.7.2.3 Número de hojas.....	38
4.7.2.4 El contenido relativo de clorofila (Unidades SPAD).....	38
4.7.2.5 Volumen radical desplazado de la raíz.....	38
4.7.2.6 Peso fresco de la planta	38
4.7.2.7 Área foliar	38
4.7.2.8 Peso seco de hojas, tallo y raíz (Materia seca).....	38
4.8 Tratamiento y diseño experimental	39
4.9 Análisis nutrimental de NPK.....	39
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	40
5.1 Aislamiento y caracterización	40
5.1.2 Determinación cualitativa de la capacidad de solubilizar fosfato en medio sólido	

por las cepas aisladas.....	42
5.1.4 Producción de indoles	45
5.1.5 Fijación de nitrógeno y producción de sideróforos.....	46
5.1.6 Actividad antagónica sobre hongos fitopatógenos.....	47
5.2 Identificación molecular de las cepas bacterianas.....	48
5.2.1 Caracterización filogenética al gen del ARNr 16S	50
5.3 Efecto de las cepas de RPCV sobre la germinación de semillas	51
5.4 Efectividad de las rizobacterias en la promoción del crecimiento en plántulas	55
5.5 Contenido nutrimental	61
VI. CONCLUSIONES.....	65
VII. LITERATURA CITADA	66
ANEXOS.....	87

LISTA DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Características físicoquímicas de suelo rizosferico de tomate muestreado en la Bajada del Municipio de Coyuca de Catalán, región de Tierra Caliente, Guerrero.	28
Cuadro 2. Caracterización cualitativa por sus propiedades para solubilizar fosfato, producir indoles y fijar nitrógeno de cepas de RPCV aisladas de rizosfera de tomate.	40
Cuadro 3. Características morfológicas de colonias en agar nutritivo de cepas de RPCV aisladas de rizosfera de tomate.	41
Cuadro 4. Capacidad de solubilizar fosfato de cepas de RPCV, medida por la formación de halos alrededor de las colonias en medio sólido Pikovskaya.	43
Cuadro 5. Producción de sideróforos en medio CAS por cepas de RPCV aisladas de la rizosfera de tomate.	46
Cuadro 6. Identificación molecular de las cepas de rizobacterias promotoras crecimiento vegetal según las secuencias de amplificación del gen 16S ADNr.	50
Cuadro 7. Longitud de las radículas de plántulas de tomate, chile y pepino, inoculadas con las cepas de RPCV aisladas de la rizosfera de tomate.	53
Cuadro 8. Efecto de las RPCV en volumen radical, área foliar, área foliar específica y peso seco de distintos órganos de las plántulas de tomate.	61

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Descripción general de las diferentes vías para sintetizar ácido indol acético en bacterias. El intermedio que hace referencia al nombre de la vía o la vía en sí está subrayado con una línea discontinua. IAAlD, indol-3-acetaldehído; IAM, indol-3-acetamida; IPDC, indol-3-piruvato descarboxilasa; Trp, triptófano (Spaepen <i>et al.</i> , 2007).	10
Figura 2. Ejemplos de categorías principales de sideróforos: (A) enterobactina como catecolato, (B) desferrioxamina B como hidroxamato y (C) estafiloferrina A como (α -hidroxi) –carboxilato.	17
Figura 3. Producción en México de tomate por entidad federativa para el año 2014 (SIAP, 2015).	25
Figura 4. Sitio de muestreo en la comunidad la Bajada del Municipio de Coyuca de catalán, Región de Tierra Caliente, Guerrero.	27
Figura 5. Curva estándar de diferentes concentraciones de fosfato soluble en medio líquido. ...	31
Figura 6. Curva estándar de diferentes concentraciones de Ácido indol acético en medio líquido.	32
Figura 7. Fosfato soluble en medio líquido pikovskaya después de cultivar por 72 h cepas de RPCV aisladas de rizosfera de tomate. Las barras verticales indican el error estándar.	44
Figura 8. Valor del pH final del medio de cultivo Pikovskaya después de cultivar por 72 h cepas de RPCV aisladas de rizosfera de tomate. Las barras verticales indican el error estándar.	44
Figura 9. Producción de AIA en medio LB después de cultivar por 72 h cepas de RPCV aisladas de rizosfera de tomate. Las barras verticales indican el error estándar.	45

Figura 10. Imágenes representativas del antagonismo de cepas de RPCV contra dos hongos fitopatógenos en medio PDA. A, B y C son cajas Petri con *Rhizoctonia Solani*; D, E y F son cajas con *Fusarium* sp. A y D testigo, B y E son la cepa JP5 en confrontación con el ho hongo, C y F son la cepa JP8 contra el hongo. 48

Figura 11. Árbol filogenético de los aislados bacterianos basados en la secuenciación del gen ARNr 16S, las cepas aisladas identificadas se muestran en letras negrita..... 54

Figura 12. Altura de plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum*) inoculadas con diferentes cepas de RPCV. Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas (Tukey, $\alpha=0.05$). 56

Figura 13. Volumen radical de plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum*), inoculadas con diferentes cepas de RPCV. Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas (Tukey, $\alpha=0.05$). 56

Figura 14. Diámetro de tallo de plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum*), inoculadas con diferentes cepas de RPCV. Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas (Tukey, $\alpha=0.05$). 57

Figura 15. Efecto de inoculación de RPCV en el número de hojas y unidades SPAD de plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum*). Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas (Tukey, $\alpha=0.05$). 58

Figura 16. Efecto de inoculación de RPCV en peso fresco de hojas y tallo de plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum*). Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas (Tukey, $\alpha=0.05$). 59

Figura 17. Contenido total de nitrógeno (A) y potasio (B), de plantulas de tomate (*Solanum lycopersicum*), por efecto de la inoculación de cepas de rizobacterias promotora del crecimiento vegetal. \pm Error estándar. 63

Figura 18. Contenido de fósforo de plantulas de tomate (*Solanum lycopersicum*), por efecto de la inoculación de cepas de rizobacterias promotora del crecimiento vegetal. \pm Error estándar. 64

I. INTRODUCCIÓN

El tomate (*Solanum lycopersicum L.*) es una de las hortalizas de mayor consumo a nivel nacional e internacional debido a que se adapta a condiciones de clima cálido y templado, se puede cultivar en lugares con alturas de entre 100 a 1,500 metros sobre el nivel del mar. Es considerado como una de las hortalizas de mayor importancia por su valor económico, su alto contenido de vitaminas y minerales (Escobar y Lee, 2009; Álvarez, 2018). Sin embargo, para la producción de tomate, se utiliza una fuerte cantidad de fertilizantes químicos y biocidas con la finalidad de abordar las deficiencias de nutrientes, el control de enfermedades y malezas. En consecuencia, se origina la contaminación de los agroecosistemas como el suelo y agua, afectando la salud de las personas, además de tener un alto costo de producción (Riah *et al.*, 2014; Shen *et al.*, 2016).

Una alternativa para reducir el uso de fertilizantes químicos es la introducción de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (RPCV) en los agroecosistemas ya que, estas pueden mejorar las interacciones planta-microbios beneficiando la sostenibilidad de los ecosistemas, la productividad agrícola y la calidad ambiental (Zahid *et al.*, 2015). Esto es posible dado que la comunidad microbiana es un componente importante en la biota del suelo, gracias a sus efectos directos como la fijación de nitrógeno, solubilización de fosfato y fitoestimulación (producen fitohormonas promotoras de crecimiento), también contribuyen de manera indirecta como agentes de biocontrol, ya sea por la producción de compuestos químicos antimicrobianos o por la inducción de resistencia sistémica en la planta contra los patógenos (Kido *et al.*, 2009; Lee *et al.*, 2010; Camelo *et al.*, 2011; Mustafa *et al.*, 2019).

A pesar de la poca información que hay con respecto al aislamiento de rizobacterias en el cultivo de tomate, se ha encontrado que los géneros *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus* y

Streptomyces, forman parte de la comunidad microbiana de la rizosfera de este cultivo (Alfonso *et al.*, 2005).

La agricultura sustentable es una alternativa para reducir el uso de productos agroquímicos y la degradación del medio ambiente, además, asegura a la población productos de consumo sanos y de buena calidad (Soto,2008).

Tomando en cuenta la problemática que se presenta de la contaminación con agroquímicos y la perturbación en los suelos, esta investigación tuvo como objetivo Aislar y caracterizar rizobacterias asociadas a *Solanum lycopersicum* L. y evaluar su potencial para promover crecimiento vegetal de plántulas de tomate.

II. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

2.2 Objetivo General

- Aislar y caracterizar rizobacterias asociadas a *Solanum lycopersicum L* y evaluar su potencial para promover crecimiento vegetal en plántulas de tomate.

2.2.1 Objetivos Específicos

- Aislar rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (RPCV) de rizosfera de tomate de la localidad la Bajada del Municipio de Coyuca de Catalán, Región de Tierra Caliente, Guerrero.
- Caracterizar y seleccionar cepas con atributos de promoción de crecimiento vegetal (solubilización de fosfatos, producción de auxinas, fijación de nitrógeno y producción de sideroforos).
- Identificar de forma molecular las cepas aisladas de la rizosfera del cultivo de tomate.
- Evaluar el efecto de las RPCV seleccionadas en el crecimiento de plántulas de tomate

2.2 Hipótesis General

- Cepas de RPCV aisladas de la rizosfera de tomate y seleccionadas por características deseables (solubilización de fosfatos, producción de auxinas, fijación de nitrógeno y producción de sideroforos) tienen un efecto positivo en el crecimiento de plántulas de la misma especie de donde fueron obtenidas.

2.2.1 Hipótesis Específicas

- En el área de cultivo de tomate en la localidad la Bajada, Tierra Caliente, Guerrero, existe un reservorio de cepas de RPCV que pueden aislarse a través de medios convencionales.
- Las cepas de RPCV aisladas de la localidad la Bajada poseen al menos uno de los atributos de promoción de crecimiento vegetal (solubilización de fosfatos, producción de auxinas, fijación de nitrógeno y producción de sideroforos).
- Las cepas seleccionadas por sus características de promover crecimiento pertenecen al menos a cuatro especies de RPCV.

Las cepas de RPCV seleccionadas en el laboratorio incrementan el crecimiento de plántulas de tomate en más del 30 %.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1 Rizosfera

El concepto de rizosfera fue introducido por Lorentz Hiltner en 1904 y la define como una capa de suelo que rodea las raíces de las plantas donde hay mayor actividad de los microorganismos, es un área importante y activa por la acción y el metabolismo de las raíces (Hiltner, 1904; Foster, 1998). Siendo una pequeña región milimétrica con tan solo 3 a 5 cm de capa de suelo, sin embargo es una de las regiones con mayor actividad y es de suma importancia por ser el espacio con una intensa actividad biológica, donde habitan miles de microorganismos con distintas funciones (Lugtenberg y kamilova, 2009; Bakker *et al.*, 2013; Lugtenberg, 2015).

La comunidad microbiana presente en esta área es relativamente diferente a la de su entorno debido a la liberación de exudados radicales (metabolitos primarios y secundarios) por parte de la planta que sirven como fuente de nutrición y adhesión (Burdman *et al.*, 2000; Venturi y Keel, 2016). Los metabolitos que exudan las raíces del tomate son: ácidos orgánicos, como el cítrico, ácidos málico, láctico, succínico, oxálico y pirúvico. Otros compuestos del exudado de la raíz incluyen azúcares (como glucosa, xilosa, fructosa, maltosa, sacarosa y ribosa), aminoácidos, ácidos grasos, nucleótidos, putrescina y vitaminas (Lugtenberg, 2015).

Entre los grupos más comunes que habitan en la rizosfera están las bacterias, hongos, protozoos y algas, siendo las bacterias los microorganismos más abundantes, las cuales tienen la capacidad de influir en mayor medida en la fisiología de las plantas, especialmente por su competitividad en la colonización de raíces (Barriuso *et al.*, 2008; Kaymak, 2010; Antoun, 2013).

Cabe mencionar que existen diversos grupos microbianos, entre los que se encuentran las rizobacterias que habitan en la rizosfera del suelo (Dodd *et al.*, 2010). Actualmente, el término

Rizobacteria Promotora de Crecimiento Vegetal (RPCV) se usa para mencionar a todas aquellas bacterias que mejoran el crecimiento de las plantas (Brencic y Winans. 2005; Tarkka *et al.*, 2008).

3.2 Rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal

Las rizobacterias juegan un papel importante en la rizosfera debido a que interaccionan con las plantas favoreciendo su crecimiento y supervivencia, además controlan las poblaciones de fitopatógenos. Las RPCV influyen positivamente en las plantas debido a que hacen disponibles los nutrientes que las plantas necesitan a través de diferentes mecanismos, los cuales pueden ser directos e indirectos (Ortíz-Castro *et al.*, 2009; Malik y Sindhu, 2011; Samar *et al.*, 2019). Los mecanismos que utilizan estas bacterias para promover el crecimiento son numerosos y variados, estos difieren de un microorganismo a otro, al igual que de una cepa a otra (Bashan y Dubrovsky, 1996; García *et al.*, 2012).

Estas bacterias se han clasificado en grupos de acuerdo al efecto benéfico que ejercen sobre las plantas (Fibach-Paldi *et al.*, 2012). Entre las RPCV que tienen un efecto directo se ubican las rizobacterias que participan en los ciclos biogeoquímicos o aportan nutrientes esenciales como las fijadoras de nitrógeno y las solubilizadoras de fosfatos (Saleem *et al.*, 2007), y las otras son fitoestimuladoras (producción de fitohormonas de tipo auxinas, citocininas y giberelinas o regulación de la producción de hormonas por parte de la planta) (Malik y Sindhu, 2011; Camelo *et al.*, 2011). También pueden eliminar fitopatógenos a través de la producción de sustancias inhibitorias como antibióticos, sideróforos o bactericinas, mecanismo conocido como biocontrol (Van-Loon, 2007). Los procesos de colonización y estimulación del crecimiento por parte de las rizobacterias se llevan a cabo por los mecanismos de reconocimiento del hospedero y procesos de señalización molecular entre la bacteria y la planta (Kamilova *et al.*, 2006; Bömke y Tudzynski, 2009).

Entre las bacterias promotoras de crecimiento se encuentran especies de los géneros *Rhizobium*, *Pseudomonas* y *Azospirillum*, *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Azoarcus*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Caulobacter*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, *Micrococcus*, *Pantoea*, y *Herbaspirillum* (Glick 1995; Restrepo-Franco *et al.*, 2015).

3.2.1 Producción de fitohormonas

Las hormonas vegetales o fitohormonas se clasifican principalmente en cinco clases: auxinas, citoquininas, giberelinas, ácido abscísico y etileno (Spaepen, 2015); dichas hormonas son compuestos químicos que actúan en las plantas en cantidades muy pequeñas. Por lo general, se sintetizan en los tejidos de las plantas y se transportan a un sitio específico de acción controlando y regulando diversas funciones relacionadas con el crecimiento, metabolismo y reproducción en el tejido receptivo (Tsavkelova *et al.*, 2006; Javid *et al.*, 2011; Spaepen, 2015).

Cabe mencionar que las plantas, cuando se encuentran en condiciones adversas, son capaces de ajustar los niveles de sus fitohormonas con el objetivo de disminuir los efectos negativos que le puedan ocasionar dichas condiciones (Glick, 2012). Los microorganismos rizosféricos pueden producir o metabolizar estos compuestos alterando el balance hormonal de la planta, impactando directamente su crecimiento y respuesta al estrés (Dodd *et al.*, 2010; Glick, 2012). Las plantas responden a fitohormonas de la rizosfera que hayan sido suplementadas externamente, o producidas por los microorganismos que habitan en esta zona (Höfte *et al.*, 1991).

Las fitohormonas derivadas de bacterias facilitan el crecimiento de las plantas al promover la división celular en diversas condiciones ambientales, promoviendo la morfogénesis radical que conduce la sobreproducción de pelos radicales y raíces laterales y posteriormente aumentando la absorción. Sin embargo, también hay efectos negativos, por ejemplo, cuando se presenta alguna

situación de estrés abiótico, como salinidad, sequía y metales pesados, se provoca la producción de etileno, y este inhibe el crecimiento de las plantas (Mayak *et al.*, 2004; Glick, 2005).

La capacidad de producir fitohormonas ha sido descubierta en muchos microorganismos promotores de crecimiento vegetal, entre ellos están: *Pseudomonas aeruginosa*, *Azotobacter vinelandii*, *Pantoea agglomerans*, *Bacillus subtilis*, *Azospirillum brasilense*, *Bacillus pumilus*, *Achromobacter xylosoxidans*, *Rhizopogon roseolus* y *Trichoderma* (Kudoyarova *et al.*, 2015).

3.2.1.1 Auxinas

Las auxinas son fitohormonas que participan a lo largo del ciclo de vida de las plantas en procesos de desarrollo, tales como la elongación del tallo y raíz, estimulación de la división celular, iniciación de la raíces laterales y adventicias, dominancia apical, diferenciación del tejido vascular, gravitropismo y fototropismo (Davies, 2010; Ljung, 2013; Sauer *et al.*, 2013; Garay-Arroyo *et al.*, 2014). Una de las características más destacadas de esta hormona es que esta distribuida diferencialmente entre células y tejidos vegetales (Vanneste y Friml, 2009; Normanly, 2010), siendo los tejidos más jóvenes, los de mayor actividad (Tanaka *et al.*, 2006; Ljung, 2013; Sauer *et al.*, 2013).

Además de las plantas existen algunos microorganismos, como bacterias, actinomicetos, hongos filamentosos y levaduras que son capaces de producir auxinas como el ácido indol acético (AIA) (Ruanpanun *et al.* 2010; Limtong y Koowadjanakul, 2012; Keswani, *et al.*, 2020). Esta hormona es producida y secretada por más del 80 % de las bacterias de la rizosfera, por ejemplo, *Azospirillum* spp, *Azotobacter* spp, *Enterobacter* spp, *Pseudomonas* spp. y *Staphylococcus* spp. (Rajkumar *et al.*, 2012; Park *et al.*, 2017).

En las plantas, las vías de indol-3-acetamida (IAM), ácido indol-3-pirúvico (IPyA), triptamina (TRA) e indol-3-acetaldoxima son las vías de biosíntesis de AIA dependientes de triptófano (Trp),

mientras que, en las bacterias, el triptófano se ha identificado como un precursor principal de las vías de biosíntesis de AIA. Con el análisis de especies bacterianas adicionales, se han identificado cinco diferentes vías bacterianas para sintetizar AIA (Figura 1) (Spaepen *et al.*, 2007).

La primera ruta es la de la vía de indol-3-acetamida (IAM), presente en plantas y en varios microorganismos como en el caso de *Agrobacterium tumefaciens*, *Pseudomonas syringae*, *Pantoea agglomerans*, *Rhizobium* y *Bradyrhizobium* (Sekine *et al.*, 1989; Clark *et al.*, 1993; Theunis *et al.*, 2004). La segunda ruta, la formación indol-3-piruvato (IPyA), se ha descrito en una amplia gama de bacterias, tanto en bacterias patógenas como *P. Agglomerans* y en bacterias beneficiosas como *Bradyrhizobium*, *Azospirillum*, *Rhizobium* y *Enterobacter cloacae* y *cianobacterias* (Singh *et al.*, 2019; Singh *et al.* 2017). La tercera corresponde a la vía de la triptamina (TAM), esta se ha identificado en *Bacillus cereus* mediante la actividad triptófano descarboxilasa (Perley y Stowe, 1966) y en *Azospirillum* (Hartmann *et al.*, 1983). La cuarta es la vía de la oxidasa de la cadena lateral del triptófano y solo se ha demostrado en *Pseudomonas fluorescens*. Por último, está la vía independiente del triptófano (Spaepen *et al.*, 2007; Spaepen, 2015).

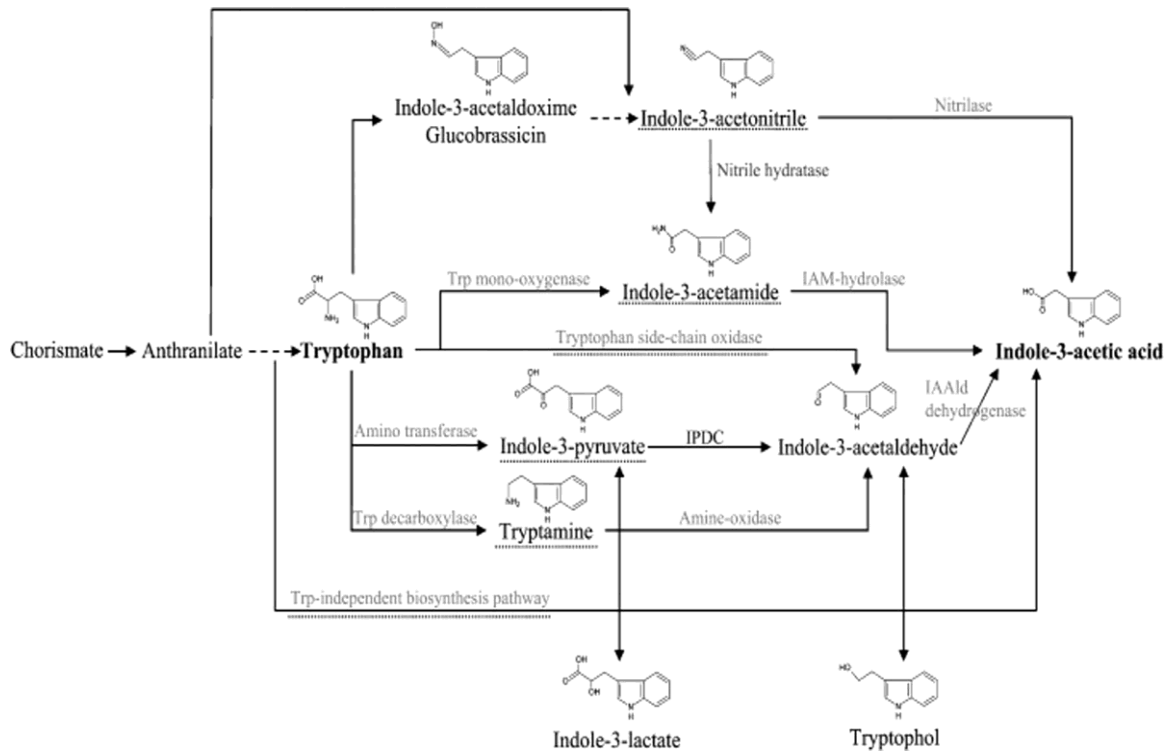


Figura 1. Descripción general de las diferentes vías para sintetizar ácido indol acético en bacterias. El intermedio que hace referencia al nombre de la vía o la vía en sí está subrayado con una línea discontinua. IAALd, indol-3-acetaldehído; IAM, indol-3-acetamida; IPDC, indol-3-piruvato descarboxilasa; Trp, triptófano (Spaepen et al., 2007).

3.2.1.2 Giberelinas

Las giberelinas (GA) son fitohormonas vegetales esenciales en muchos procesos de desarrollo en las plantas, incluida la germinación de semillas, elongación del tallo, alargamiento y expansión de órganos a través del crecimiento celular, la expansión de las hojas, el desarrollo de tricomas, la maduración del polen, inducción de la floración, en procesos fisiológicos como la maduración de los frutos, la promoción del crecimiento de las raíces y la abundancia de pelos radicales (Kang *et al.*, 2014; Hedden y Sponse, 2015; Halo *et al.*, 2015; Binenbaum *et al.*, 2018).

La giberelina ácido indol acético se identificó por primera vez en el hongo patógeno *Gibberella fujikuroi*, que causa una enfermedad en el arroz llamada “plántula tonta” (Yabuta, 1938; Seilaniantz *et al.*, 2007).

Desde su descubrimiento, se han identificado más de 130 giberelinas (GA) en plantas, hongos y bacterias (Yamaguchi, 2008).

Las principales GA bioactivas, que incluyen GA, GA3, GA4 y GA7, se derivan de un esqueleto de ácido carboxílico diterpenoide básico y comúnmente tienen un grupo hidroxilo C3 (Yamaguchi, 2008; Davière y Achard, 2013).

Se ha demostrado que algunas RPCV sintetizan giberelinas (GA) en pequeñas cantidades (Karadeniz *et al.* 2006; Kang *et al.*, 2014), y esto explica por qué estas promueven el crecimiento y rendimiento de los cultivos. Las RPCV regulan el nivel de este grupo de hormonas vegetales de tres formas, ya sea mediante la síntesis directa de la propia GA, la desconjugación de las glucosil giberelinas y el cambio del estado inactivo de las giberelinas a GA activa (Cassán *et al.*, 2001; Kang *et al.*, 2014).

Se han identificado y aislado GA de plantas superiores, hongos y bacterias. Hasta ahora, se han identificado 136 GA de plantas superiores, 28 GA de hongos y solo 4 GA (GA 1, GA 3, GA 4 y GA 20) de bacterias (Hedden y Thomas, 2012).

3.2.1.3 Citoquininas

Las citoquininas son fitohormonas que se derivan principalmente de la adenina (Davies, 2010; Kieber y Schaller, 2014). Además, constituyen un grupo de compuestos estructuralmente similares, que pueden clasificarse como citoquininas isoprenoides o aromáticas (Kudo *et al.*, 2010).

Las citoquininas juegan un papel crucial en muchos aspectos del crecimiento y desarrollo de las plantas, incluida la embriogénesis, el mantenimiento de la actividad de los meristemos de las raíces, los brotes, el desarrollo vascular, alargamiento de las raíces, expansión de las hojas,

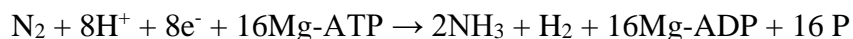
formación de nódulos, raíces laterales y el dominio apical en respuesta a los estímulos ambientales (Argueso *et al.*, 2009; Davies, 2010; Frébort *et al.*, 2011; Osugi y Sakakibara, 2015).

Las RPCV producen citoquininas, aumentando el contenido de estas en el suelo y las plantas (Arkhipova *et al.* 2005; Arkhipova *et al.*, 2007; Keyur *et al.*, 2015). De las cuales se encuentran las siguientes especies: *Streptomyces flavous*, *Azospirillum tumefaciens*, *Pseudomona syringae*, *P. fluorescens* y *P. putida*, *Erwinia herbicola* y *Bacillus*. Además promueven la resistencia de las plantas al estrés biótico y abiótico, induciendo resistencia a la sequía (Lichter *et al.*, 1995; Liu *et al.*, 2013). En resumen, la capacidad de producir citoquininas por las RPCV es de vital importancia para la realización de los mecanismos de estimulación del crecimiento (Tsukanova *et al.*, 2017).

3.2.2 Fijación de nitrógeno

El nitrógeno es un elemento necesario para el desarrollo de las plantas, es un componente esencial de biomoléculas, enzimas, proteínas estructurales, ácidos nucleicos, porfirinas, alcaloides y N⁻ glucósidos, además, desempeña un papel crucial en varios procesos fisiológicos de las plantas (Baca y Elmerich, 2007; Leghari *et al.*, 2016). Sin embargo, el nitrógeno puede ser un factor limitante para el crecimiento de las plantas si está en baja disponibilidad en el suelo (Santi *et al.*, 2013).

Las plantas utilizan principalmente el nitrógeno en forma de nitrato (NO₃⁻) y amonio (NH₄⁺) y en ocasiones, en formas orgánicas, incluidos aminoácidos, oligopéptidos, nucleótidos o urea, como fuentes de nitrógeno. Es un proceso que requiere mucha energía en forma de ATP y la presencia de Mg²⁺ que actúa como puente de unión entre uno de los componentes de la enzima y el ATP (Rosenblueth *et al.*, 2018). Mahmud *et al.* (2020), reportan que la vía para la reducción biológica del N₂ inerte en el compuesto reactivo NH₃ (amoníaco) en condiciones microaeróbicas es:



El nitrógeno atmosférico (N_2) comprende casi el 78 % de la atmósfera, puede transformarse en amoníaco debido a eventos naturales (por ejemplo, rayos, incendios). Normalmente, las formas no disponibles para las plantas pueden convertirse en formas asimilables mediante actividades microbianas a través de la mineralización, nitrificación y fijación (Subba *et al.*, 2017; Smercina *et al.*, 2019; Moreau *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2019).

La fijación biológica del nitrógeno (FBN) se refiere a la capacidad que tienen algunas bacterias para captar el nitrógeno atmosférico (N_2) y transformarlo a nitrógeno combinado, generalmente en la forma de amonio (NH_4^+) que es útil y está disponible para la mayoría de los organismos, utilizando el complejo enzimático nitrogenasa que consta de dos componentes, dinitrogenasa y nitrogenasa reductasa (Santi *et al.*, 2013; Mahmud *et al.*, 2020). El nitrógeno fijado es donado hacia las plantas y éstas a cambio proporcionan fuente de carbono a las bacterias implicadas.

La FBN es llevada a cabo por de vida libre perteneciente a varios generos como *Acetobacter*, *Arthrobacter*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Citrobacter*, *Clostridium* spp., *Enterobacter*, *Erwinia*, *Klebsiella*, *Kluyvera*, *Phyllobacterium*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Streptomyces*, *Herbaspirillum* (Fibach-Paldi *et al.*, 2012; Vivanco-Calixto *et al.*, 2016) y microorganismos simbióticos como *Frankia* spp, asociada con ciertas especies dicotiledóneas (plantas actinorrícicas) y rizobios en simbiosis con plantas leguminosas (Mahmud *et al.*, 2020). Uno de los modelos más ampliamente estudiados es la interacción de diferentes especies de *Rhizobium* con leguminosas (Liu *et al.*, 2011). Esta interacción es altamente específica y ambas parejas de la interacción son altamente favorecidas, razón por la que se considera como simbiosis mutualista (Simms y Taylor, 2002). Aunque la FBN es altamente efectiva en leguminosas por la interacción con los rizobios, esta función no ha resultado tan significativo en plantas no

leguminosas como el caso de gramíneas con bacterias de vida libre (Sevilla *et al.*, 2001; Muñoz-Rojas y Caballero-Mellado, 2003).

3.2.3 Solubilización de fosfato

El fósforo (P) es el segundo nutriente más importante después del nitrógeno para el crecimiento de las plantas, es esencial en la floración, formación y maduración de las semillas. Mejora la resistencia a las enfermedades, aumenta la rigidez de los brotes y estimula el desarrollo del sistema radical (Razaq *et al.*, 2017). A pesar de que se encuentra en abundancia en los suelos tanto en forma orgánica como inorgánica y representa de 50 a 3000 mg kg⁻¹ en la capa superior del suelo, solo el 0.1 % está disponible para la absorción de las plantas (Khan *et al.*, 2007; Rawat *et al.*, 2020).

Esta baja disponibilidad se debe a que la mayoría del P se encuentra en formas insolubles, mientras que las plantas lo absorben solo en dos formas solubles, iones monobásicos (H₂PO₄⁻¹) y dibásicos (HPO₄⁻²) (Banerjee *et al.*, 2010; Jha y Saraf, 2012). También se encuentra en el suelo en forma de ortofosfatos, que son las formas inorgánicas, y en su forma orgánica en la materia orgánica, que se origina por la degradación microbiana de restos de animales y vegetales representando cerca de 50 % del fósforo total insoluble (Gyaneshwar *et al.*, 2002; Oliviera *et al.*, 2008). Una gran porción del fósforo orgánico está representada por los fosfatos de inositol y en una menor cantidad por otros ésteres de fosfato como fosfolípidos (Richardson, 2001; Oliviera, 2008).

Los microorganismos solubilizadores de fosfato, pueden proporcionar las formas disponibles de P a las plantas y por lo tanto ser un sustituto de los fertilizantes químicos (Khan y *et al.*, 2007). Algunas bacterias son consideradas como biofertilizantes, esto se debe a que pueden suministrar a las plantas P de manera simple a través de la solubilización. Estos microorganismos tiene la capacidad de solubilizar fosfato, debido a la producción de ácidos orgánicos los cuales son

compuestos de bajo peso molecular, tales como: ácido butírico, oxálico, succínico, málico, glucónico, acético, láctico, cítrico, fumárico, 2-cetoglucónico, los cuales actúan sobre compuestos insolubles de fosfato inorgánico como: fosfato dicálcico, fosfato tricálcico, y roca fosfórica (hidroxiapatita, apatitas, fluorapatita, cloroapatita). Los ácidos orgánicos acidifican el medio del suelo facilitando la absorción de este elemento y reaccionan con compuestos que poseen carga negativa que se encuentran asociados con fósforo insoluble liberando fosfato soluble (Jha y Saraf 2012; Ramírez *et al.*, 2014).

Esta actividad debe tomarse en cuenta para reducir las dosis de fertilizantes fosfatados en los suelos agrícolas (Hafeez *et al.*, 2019). Es por ello que la utilización de microorganismos benéficos como biofertilizantes es un método sostenible y amigable con el ambiente dado que mejorara la fertilidad del suelo sin provocar daños al ecosistema (Rajwar *et al.*, 2018; Gu *et al.*, 2019).

Las bacterias pertenecientes a los géneros *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Bacillus Serratia*, *Pantoea*, *Rhizobium*, *Arthrobacter*, *Burkholderia*, *Agrobacterium*, *Azotobacter*, *Bradyrhizobium*, *Salmonella* son solubilizadoras de fosfato (Jahan *et al.*, 2013; David *et al.*, 2014; Biswas *et al.* 2018; Liu *et al.* 2019; Zhang *et al.* 2019).

3.2.4 Producción de sideróforos

El hierro es un nutriente esencial para las plantas porque actúa como un cofactor en varias enzimas esenciales de procesos fisiológicos importantes, como la respiración, la fotosíntesis y la fijación de nitrógeno. El hierro es bastante abundante en los suelos, pero con frecuencia no está disponible para las plantas o los microorganismos del suelo (Feng, 2005; Glick, 2012).

Las bacterias desempeñan un papel importante en las plantas, debido a que se involucran en la reducción y oxidación del Fe en presencia de oxígeno y con un pH neutro el Fe puede quedar capturado en hidróxidos y hierro u oxihidroxidos por las reacciones químicas y la acción de

bacterias neutrofilicas. Las plantas adsorben el Fe reducido (Férrico Fe^{2+}) y oxidado (Ferroso Fe^{3+}) (Colombo *et al.*, 2014).

Las bacterias de la rizosfera liberan sideróforos para aumentar su potencial competitivo, ya que estas sustancias quelatan el hierro y mejoran la nutrición de este elemento para la planta. Las rizobacterias productoras de sideróforos tienen efectos positivos en las plantas en varios niveles: mejoran la nutrición del hierro e inhiben el crecimiento de otros microorganismos al limitar el hierro disponible para el patógeno, generalmente hongos, que no pueden absorber el complejo sideróforo de hierro (Kobayashi y Nishizawa, 2015; Abbaspoura *et al.*, 2015; Sah *et al.*, 2017).

Los sideróforos son un grupo de 500 compuestos diferentes, alrededor de 270 caracterizados estructuralmente por el momento (Kramer *et al.*, 2020). Se distinguen tres categorías principales de sideróforos: catecolatos, hidroxamatos y (α -hidroxi) -carboxilatos (Hider y Kong, 2010). Las estructuras bioquímicas de los miembros importantes elegidos de estos compuestos se muestran en la Figura 2 (Oleńska *et al.*, 2020).

Las bacterias productoras de sideróforos pertenecen al género *Pseudomonas*, donde los organismos más estudiados son *Pseudomonas fluorescens* y *Pseudomonas aeruginosa*, que liberan pirocelina y un tipo de sideróforos denominado piriformina. Entre los hidroxamatos, la ferribactina es sintetizada por *Pseudomonas fluorescens*, mientras que la deferrioxamina es producida por *Streptomyces coelicolor* (Ali y Vidhale, 2013; Pahari *et al.*, 2017).

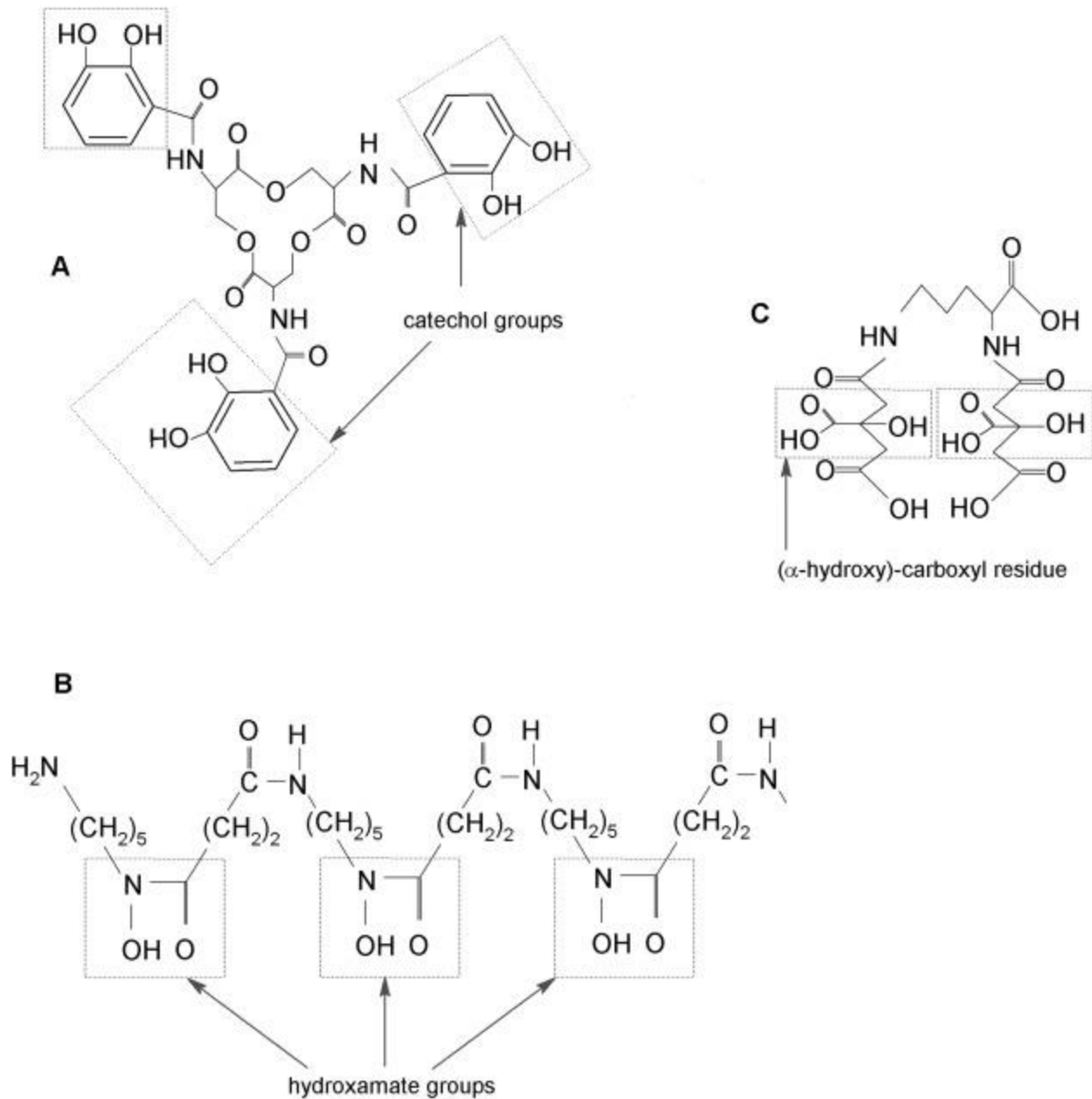


Figura 2. Ejemplos de categorías principales de sideróforos: (A) enterobactina como catecolato, (B) desferrioxamina B como hidroxamato y (C) estafiloferrina A como (α-hidroxi) –carboxilato.

3.3 Biofertilizantes

Por los beneficios y mecanismos que realizan las rizobacterias son consideradas útiles para la elaboración de biofertilizantes los cuales mejoran el crecimiento y rendimiento de las plantas (Malusá y Vassilev, 2014; Basu *et al.*, 2017).

Con el creciente interés en temas relacionados con el medio ambiente y el aumento de los esfuerzos para promover prácticas agrícolas más respetuosas con el ambiente, el uso de biofertilizantes está ganando aceptación a nivel mundial. A diferencia de los fertilizantes convencionales sintetizados químicamente que contienen N, P y K, los biofertilizantes han provocado el interés en los agricultores debido a que son productos orgánicos que contienen células vivas o latentes de microorganismos que tienen la capacidad de aumentar la disponibilidad de los nutrientes para la asimilación de las plantas (Lugtenberg y Kamilova, 2009; Ahemad y Kibret, 2014; Owen *et al.*, 2014). La aplicación de biofertilizantes a las semillas y al suelo, ha ayudado a aumentar el nivel de la disponibilidad de nutrientes para la planta y aumentado el crecimiento y rendimiento de los cultivos hasta hasta en mas de 20 % sin ningún efecto adverso sobre el ambiente (Bhattacharjee y Dey 2014).

3.4 Perspectivas de las rizobacterias en el cultivo de tomate

El interés de los consumidores por tener vegetales de calidad ha aumentado en los últimos tiempos a nivel mundial, debido a que se han utilizado RPCV solas o en consorcios y han dado resultados positivos en la producción hortícola. Sin embargo, aún se siguen discutiendo y considerando los efectos que se han obtenido en algunos estudios realizados sobre el impacto de las RPCV en cultivos hortícolas, bajo diferentes sistemas de producción (Zaidi *et al.*, 2015). De acuerdo a la investigación de Gül *et al.*, (2016), las rizobacterias promueven el crecimiento y el rendimiento de

las plantas de tomate y controlan hongos fitopatógenos. El uso de este tipo de bacterias como biofertilizantes puede ser una alternativa prometedora para el cultivo de tomate en la agricultura sostenible teniendo en cuenta que disminuiría el impacto sobre el medio ambiente al reducir el uso excesivo de fertilizantes y los costos de producción, al requerirse menores dosis, que al ser suplementado con las RPCV permite obtener resultados similares. Por tanto, la inoculación con estos microorganismos promotores de crecimiento vegetal representa una alternativa limpia y segura.

3.6 Características del tomate

La especie *Solanum lycopersicum* L. es originario de la región Andina (Perú, Bolivia y Ecuador). Posiblemente desde allí migró a América Central y México, donde se piensa se realizó su domesticación (Monardes, 2009).

S. lycopersicum, pertenece a la familia de las Solanáceas, del grupo de las hortalizas las cuales se definen como cultivos herbáceos o semileñosos, tienen un sistema radical pivotante, profundo y poco ramificado. Con un tallo largo y grueso la planta no puede sostenerse por sí sola. Por ello, es necesario el empleo de tutores para lograr su sostén (Escobar y Lee 2009; López, 2016). Las hojas son compuestas, alternas, imparipinadas, con los folíolos dentados o lisos y con pelos glandulares (Álvarez, 2018). Las flores se encuentran agrupadas en inflorescencia de racimo o cimas racimosas (SAGARPA, 2017). Se cultiva en forma anual para el consumo de sus frutos (López, 2016).

El fruto está constituido por el tejido placentario, pericarpio y las semillas. Se caracteriza por tener un color verde en su estado inmaduro y rojo en su estado adulto. Debido a su sabor tan original sirven para consumo humano principalmente en su estado natural, sin embargo, también pueden utilizarse en otras presentaciones ya procesadas (Ochida *et al.*, 2019).

3.6.1 Manejo del cultivo

El cultivo de tomate cuenta con una gran variedad de frutos, los cuales se cultivan desde los 20 a los 2000 msnm, con temperaturas que oscilan entre los 30 °C para el día y 16 °C durante la noche.

El tomate tiene varias etapas de desarrollo en su ciclo de crecimiento: establecimiento de planta joven, crecimiento vegetativo, floración, desarrollo de frutos y maduración.

La fase inicial: comienza con la germinación de la semilla, a partir del primero hasta los 21 días.

Fase vegetativa: esta etapa termina con la floración entre los 50 y 55 días. Requiere de grandes cantidades de nutrientes para cubrir las necesidades de las hojas, ramas y flores que están en crecimiento.

Fase reproductiva: se inicia a partir de la formación del fruto y dura entre 30 a 40 días (Álvarez, 2018). El enfoque de la presente investigación contempla solo la fase inicial del desarrollo del cultivo.

3.6.2. Siembra en bandejas (almacigo)

Debido a que el cultivo de tomate es muy susceptible a plagas y enfermedades es por ello, que no es recomendable ser sembrado de forma directa. Es mejor sembrarlo en charolas de polipropileno, asegurando la producción de las plantas, las cuales deberán estar protegidas bajo condiciones de invernadero. Las charolas deben colocarse sobre lugares nivelados para evitar el hundimiento de las mismas al momento de aplicarles agua. En esta etapa las condiciones deben ser las óptimas lograr la germinación y crecimiento de la semilla y para reducir la aparición de plagas y enfermedades, principalmente virales transmitidas por la mosquita blanca, con la finalidad de obtener plántulas de calidad, listas para su trasplante (Jiménez *et al.*, 2011; Télles y Garza, 2012; Álvarez, 2018).

La producción del tomate a nivel almacigo reduce los costos, evitando las pérdidas, por el buen control de la germinación (Baudoin, 2017). Una vez realizada la siembra, las charolas se mantienen bajo oscuridad con buena humedad por unos cuatro o cinco días, para que la semilla germine de forma homogénea. Para ello se pueden cubrir las charolas con un plástico negro para conservar la humedad mejorando la emergencia (López, 2016).

3.6.2.1 Sustratos utilizados en la producción de semilleros

Los sustratos sirven de soporte a la planta, para ello deben ser livianos, tener un alto porcentaje de espacio poroso (80 %), una elevada capacidad de retención de humedad, buena aireación, un drenaje apropiado, baja compactación y ser libres de patógenos, semillas y malezas. Entre los sustratos sólidos más utilizados en el país se encuentran el compost, el humus o lombricompost, la cascarilla de arroz, la fibra de coco, el aserrín, la turba o peat moss, perlita, vermiculita y arena (Urrestarazu, 2015; López, 2016). La composición correcta depende del cultivo y de su fenología (Beltrano y Gimenez, 2015).

3.6.2.2 Turba

El peat-moss (turba) es un sustrato orgánico natural, es el resultado de la descomposición de musgos del género *Sphagnum*, tienen un buen equilibrio entre agua y aire después del riego (López, 2016).

El peat-moss es uno de los materiales que más se utiliza como sustrato en la producción de almácigos de hortalizas, esto se debe a que es un material hecho de fuentes naturales con un lento proceso de renovación (Picken *et al.*, 2008). Entre las características idóneas de este sustrato destacan sus excelentes propiedades físicas densidad aparente (0,3-0,5 gr/cm³), porosidad (80-84%) y capacidad de retención de agua (287 gr/100) y contenido de materia orgánica de 95%.

(Fernández *et al.*, 1998; Schellekens *et al.*, 2011; Delgado *et al.*, 2016; Jaramillo *et al.*, 2016). El pH oscila entre 3.5 a 8, su CIC es (250 o más meq/100 g) (Fernández *et al.*, 1998).

3.6.2.3 Perlita

La perlita es un sustrato mineral elaborado a base de un tipo de arena volcánica de sílice, está compuesta principalmente por óxido de silicio (73-75 %) y óxido de aluminio (11-13 %). La roca es transformada en gránulos blancos vitrificados, con gran porosidad interna, livianos, con dimensiones entre 1.5 y 6 mm. La perlita es químicamente inerte y de muy fácil lavado. El pH inicial es de 7 a 7.5 y se puede descender saturando el sustrato con una solución ácida (Hanna, 2005; Giuffrida *et al.*, 2007; López, 2016). Posee una capacidad de retención de agua de hasta cinco veces su peso y una elevada porosidad; su CIC es prácticamente nula (1.5-2.5 meq/100 g); su durabilidad está limitada al tipo de cultivo, pudiendo llegar a los 5-6 años. Se utiliza a veces mezclada con otros sustratos como turba, arena, etc. Ventajas de la perlita: buena aireación, no se descompone ni biológica ni químicamente, mantiene un perfil de humedad casi constante en la zona radical (Beltrano y Gimenez, 2015).

3.6.3 Requerimiento nutricional

El cultivo de tomate requiere una alta disponibilidad de macronutrientes como N, P, K, Ca, Mg, S, de los cuales nitrógeno fósforo y potasio se requieren en mayor cantidad y micronutrientes como Fe, Mn, Cu, B, Zn. (Jaramillo *et al.*, 2013; Guzmán *et al.*, 2017).

3.6.3.1 Nitrógeno

El nitrógeno es el macronutriente que más afecta el crecimiento y la producción del tomate, ya que es fundamental en algunos procesos fisiológicos de la planta. Promoviendo la formación de flores, frutos y regula la maduración de la planta (Jaramillo *et al.*, 2013; Mondragón, 2005).

La disponibilidad de este nutrientes en el suelo estará en función de las propiedades físicas, química y biológicas tales como el pH, C.E., contenido de materia orgánica, capacidad de intercambio catiónico, humedad etc. Mientras que la extracción de este dependerá de las condiciones de desarrollo del cultivo (suelo, clima y técnicas de cultivo) y la variedad sembrada (Jaramillo *et al.*, 2013; Haifa, 2014).

3.6.3.2 Fósforo

El fósforo es considerado como parte importante de compuestos orgánicos esenciales como las proteínas, los ácidos nucleicos, la pared celular, los citocromos, las enzimas o es un cofactor enzimático y es absorbido en forma dibásica y monobásica. Es importante señalar que el nivel más bajo que este elemento se debe encontrar en el análisis foliar es de 0,1 % y el nivel óptimo es de 0,4 % a 0,8 % (Banerjee *et al.*, 2010; López, 2016).

3.6.3.3 Potasio

Este nutriente es caracterizado por intervenir en la regulación del potencial hídrico u osmótico de las células. Mejorando la resistencia a la marchitez, aumentando la resistencia a enfermedades, elevando el contenido de sólidos, el sabor y el contenido de licopeno en el fruto.

En la etapa inicial el potasio se absorbe en forma lenta y se aumenta en la etapa de floración y durante el desarrollo del fruto. El contenido de K en el análisis foliar debe encontrarse entre el 2,8 % y el 4,5 %. El potasio es el nutriente que la planta consume más; el 73,8 % de este es absorbido durante el proceso de fructificación (López, 2016).

3.7 Importancia del cultivo de tomate en el mundo

Estimaciones de la FAO indican que el tomate es la hortaliza más cultivada e importante en el mundo, siendo el consumo fresco e industrial los dos principales destinos de producción. En el año 2013 alcanzó una superficie cultivada de 4,7 millones de hectáreas (ha) y una producción de 164 millones de toneladas (t) (Guzmán *et al.*, 2017).

Actualmente es el fruto más cultivado y consumido en todo el mundo por su gran variedad de usos desde la alimentación hasta su uso medicinal (Viskelis *et al.*, 2015). Por su alto contenido de vitaminas, minerales, licopeno y β -caroteno, que actúan como antioxidantes y eliminadores de radicales libres, siendo beneficioso para la salud ya que, disminuye el riesgo de cáncer y enfermedades cardiovasculares (Fraser *et al.*, 2009; Pérez *et al.*, 2019; Ochida *et al.*, 2019). La FAO (2011) indica que China es el principal y consumidor a nivel mundial, ocupando casi el 40 % de la producción, precedido por Estados Unidos con el 12 % y la India con el 11 % (FIRA, 2017).

3.8 Importancia del cultivo de tomate en México

El tomate es una de las hortalizas más importantes de nuestro país debido al valor de su producción y a la demanda de mano de obra que genera, además es de gran interés por la cantidad de divisas que aporta, cerca de 30 % de la producción nacional se exporta, principalmente a los Estados Unidos (EE.UU.), por lo que el cultivo depende significativamente de la demanda del mercado internacional. La importancia de este cultivo en el mercado estadounidense se relaciona con la cercanía geográfica, competitividad en precio y calidad, buen sabor, larga vida de anaquel (Hernández *et al.*, 2004; Medina *et al.*, 2017). Según los datos de SAGARPA (2017) y FAO, (2011), durante varios años México ocupó el segundo lugar como exportador y Estados Unidos como importador. Sin embargo, durante el 2016 México comenzó a ocupar el primer lugar

cubriendo el 90.67 % de las importaciones de ese país y el 65.31 % de Canadá (SAGARPA, 2017). Esto se debe a que el país cuenta con una amplia gama de climas a lo largo de su territorio permitiendo la producción de hortalizas durante todo el año (CONABIO, 2006; Financiera Rural, 2008).

En la Figura 3 se presenta la producción de tomate de las doce entidades federativas con mayor producción. Para poder determinar la producción total se hizo la sumatoria de los doce principales productores de tomate en el país, y en su conjunto suman el 80.54 %.

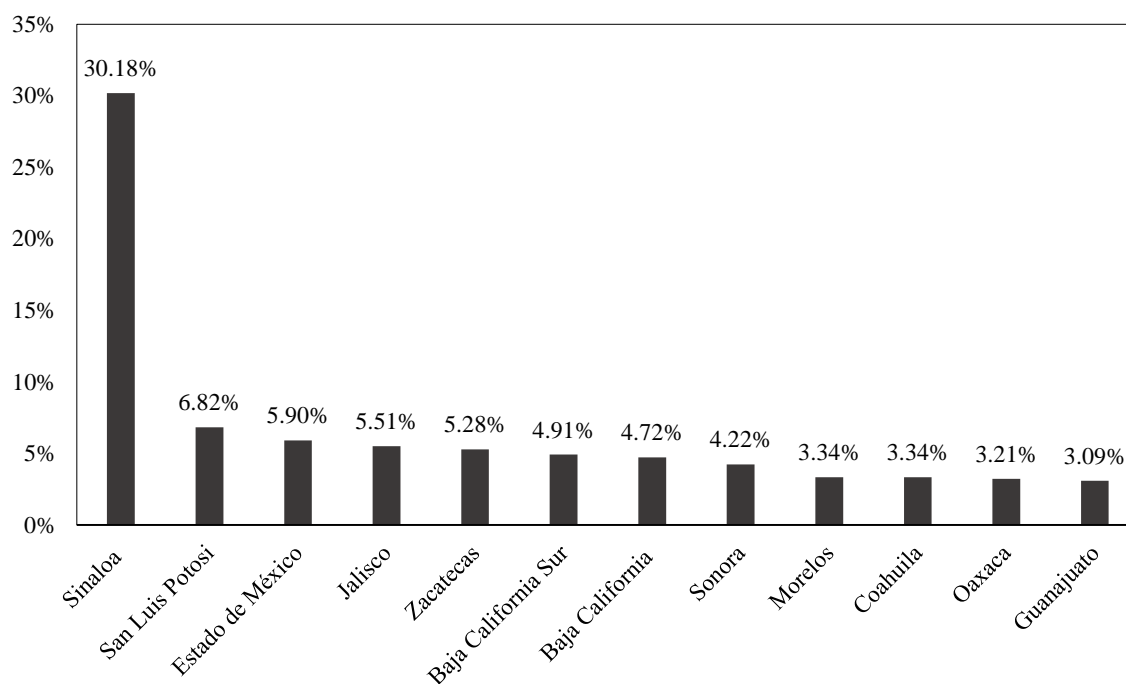


Figura 3. Producción en México de tomate por entidad federativa para el año 2014 (SIAP, 2015).

Uno de los principales problemas que enfrenta la producción de tomate en nuestro país es el excesivo uso de agroquímicos para combatir plagas y enfermedades, incrementando los costos de producción (SAGARPA, 2017).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Ubicación del experimento

La investigación se realizó en el laboratorio de microbiología del Postgrado de Edafología y en el de invernadero en el Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, estado de México, ubicado en las coordenadas 19° 29' 05" latitud norte y 98° 54' 09" longitud oeste, a una altitud de 2,242 msnm.

4.2 Sitios de muestreo

En la localidad la Bajada del Municipio de Coyuca de Catalán, Región de Tierra Caliente, Guerrero (Figura 4), se recolectaron muestras de suelo rizosférico en un área de cultivo de tomate que estaba en fase reproductiva. El área de muestreo está ubicada entre coordenadas las 100° 40' 22" longitud oeste y 18° 18' 56" latitud norte, a una altitud entre 220 y 240 metros sobre el nivel del mar (msnm), la temperatura media-mínima es de 25 °C y la media-máxima de 32°C. Se recolectaron dos muestras compuestas de suelo de la rizosfera de tomate conformado por seis submuestras las cuales se tomaron a una profundidad de 0-15 cm, estas se conservaron en una hielera para su traslado al laboratorio de microbiología del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo.

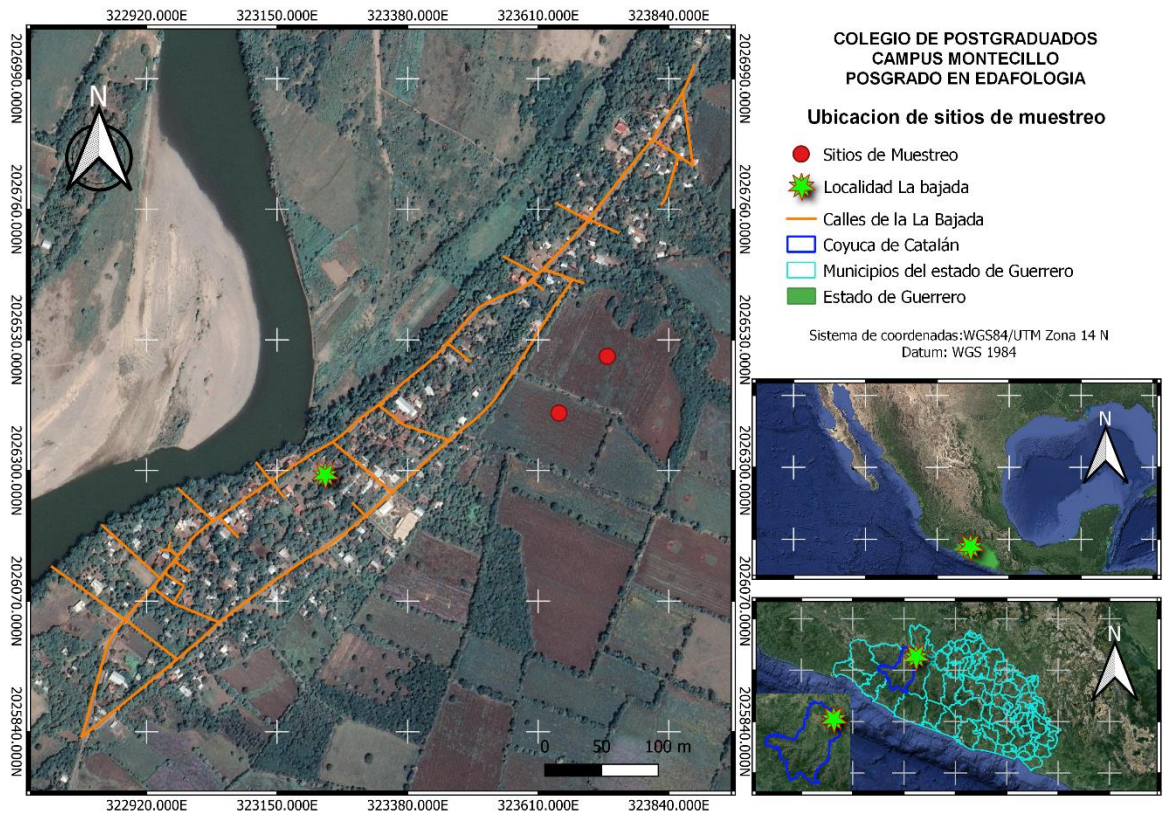


Figura 4. Sitio de muestreo en la comunidad la Bajada del Municipio de Coyuca de catalán, Región de Tierra Caliente, Guerrero.

4.2.1 Análisis de suelo

Las muestras de suelo que se obtuvieron se secaron al aire y bajo sombra, una vez secas se tamizaron con una malla de 0.850 mm, después cada una de las muestras se colocaron en bolsas ziploc y se enviaron al laboratorio de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Sinaloa para el análisis fisicoquímico que se indica en el Cuadro 1.

El nitrógeno total del suelo se determinó por el método semi-micro Kjeldahl (Etchevers, 1987). El fósforo por la metodología de Olsen, la textura del suelo se realizó a través del método de Bouyoucus. Con el objeto de conocer la fertilidad del suelo, se determinaron las bases intercambiables (Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^{+} y Na^{+}), para lo cual, se utilizó una solución extractante de amonio al 1.0N, pH 7.0. (Rodríguez y Rodríguez, 2015). El pH se determinó considerando una relación 1:1 (agua/suelo) y la conductividad eléctrica en el extracto de pasta saturada.

Cuadro 1. Características físicoquímicas de suelo rizosferico de tomate muestreado en la Bajada del Municipio de Coyuca de Catalán, región de Tierra Caliente, Guerrero.

Propiedades físicoquímicas	Muestra 1	Muestra 2
C.E. (mS/cm)	0.748	0.836
pH	7.1	7.24
N (%)	0.105	0.112
P (ppm)	23.5	28.3
K+ (Cmol(+) Kg ⁻¹)	0.77	0.78
Ca ++ (Cmol(+) Kg ⁻¹)	11.72	11.63
Mg++ (Cmol(+) Kg ⁻¹)	4.27	4.10
Na+ (Cmol(+) Kg ⁻¹)	0.29	0.17
S - SO ₄ (ppm)	52	70
Textura	Franco limoso	Franco
CIC (Cmol (+) Kg ⁻¹)	17.05	16.68

4.3 Aislamiento de cepas de bacterianas

De las muestras de suelo colectadas se tomó una submuestra de 10 g y se depositó en una botella que contenía 90 mL de agua destilada estéril, la botella se agitó por 20 minutos en un agitador rotatorio (Thermo scientific® modelo MAXQ 400), esta fue la primera dilución (10^{-1}) luego se transfirió una alícuota de 1 mL de esta dilución a un tubo con 9 mL de agua y se agitó con esto se obtuvo la dilución 10^{-2} , el proceso se repitió para obtener las diluciones 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} y 10^{-7} , de las cuales 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5} se usaron para aislar bacterias fijadoras de nitrógeno y bacterias solubilizadoras de fosfato y 10^{-5} , 10^{-6} y 10^{-7} para aislar productoras de indoles de estas diluciones se tomó una alícuota de 100 μ l y se depositó por triplicado en cajas petri con medio de cultivo y se distribuyó homogéneamente con una varilla de vidrio. Los medios utilizados fueron: Luria bertani (LB) para bacterias productoras de indoles (BPI), Pikovskaya para solubilizadoras de

fosfato (BSP), Rennie (Rennie 1981) y NFB (Mantilla-Paredes *et al.*, 2009) para fijadoras de nitrógeno (BFN). Una vez sembradas las cajas Petri, se incubaron a 28 °C; el tiempo de incubación varió de acuerdo al grupo microbiano, el medio para bacterias productoras de indoles se incubó por 2-3 días, el medio de fijadoras de nitrógeno por 2-4 días y el medio de solubilizadores de fosfato por 7-10 días. Una vez crecidas las colonias se eligieron de 5 a 10 de estas en las diluciones 10^{-4} y 10^{-5} de cada medio, las cuales presentaron características fenotípicas diferentes (color, forma, tamaño y apariencia). Las colonias elegidas se sembraron por estría cruzada en el medio agar nutritivo y LB hasta su evaluación.

Posteriormente se hizo la descripción morfológica de las colonias y se les realizó la tinción de Gram. El proceso de tinción consistió en colocar una gota de agua destilada sobre el portaobjetos y una pequeña muestra de la colonia con el asa bacteriológica, se dejó secar y después se fijó la muestra al fuego. El frotis bacteriano se cubrió con unas gotas de cristal violeta durante 1 minuto, retirando el exceso de colorante con agua destilada. Se añadió en seguida lugol y se dejó durante 1 minuto, igualmente, al final del tiempo se desechó el exceso y se lavó con agua destilada. Se procedió a cubrir el frotis con alcohol-cetona durante 1 minuto y se eliminó con agua destilada. Se cubrió después con el colorante safranina durante 1 minuto y finalmente se retiró el exceso con agua destilada, se dejó secar a temperatura ambiente. Para la observación al microscopio con el objetivo de 100 x se añadió una gota de aceite de inmersión.

4.4 Pruebas cualitativas de las cepas de rizobacterias

A las cepas aisladas, se les realizaron pruebas cualitativas en relación a la producción de indoles, solubilización de fosfato y producción de sideróforos.

Para el caso de BPI, las cepas se sembraron en microplacas de 96 pozos que contenían 150 μ L de medio líquido LB, las microplacas se incubaron por 48 horas y posteriormente se le agregaron 150

μL de reactivo Salkowski (2 % 0.5 M FeCl_3 en 35 % de ácido perclórico) a cada pozo y se incubó en la oscuridad por 30 min. El cambio de color a rosa de diferente intensidad fue indicativo de la producción de indoles.

Para las bacterias solubilizadoras de fosfato, las cepas bacterianas se sembraron en caldo Luria-Bertani y se incubaron a 28 °C en un agitador rotatorio (Thermo scientific® modelo MAXQ 400) a 180 rpm durante 48 horas. Posteriormente, en cajas con medio Pikovskaya se colocó un 1 μL de inóculo por cepa con tres repeticiones y se incubaron por 24 y 48 horas. Finalmente se preseleccionaron cepas con colonias que presentaron un halo transparente alrededor de ellas.

Para la producción de sideróforos, las cepas se sembraron en tubos con 1 mL de medio de caldo nutritivo y se incubaron a 28 °C a 180 rpm por 24 horas. Posteriormente, en cajas con medio cromo azurol-S (CAS) descrito por (Louden *et al.*, 2011), se agregó un 1 μL de inóculo por cepa con tres repeticiones y se incubaron por 24 y 48 horas. Finalmente se seleccionaron las cepas con colonias que presentaron un halo color amarillo alrededor de ellas.

4.5 Caracterización de las cepas de rizobacterias

4.5.1 Capacidad de solubilizar fosfato

La cuantificación de fosfatos en el medio se llevó a cabo por el método descrito por Almaraz-Suarez *et al.* (2020). Las cepas se cultivaron en medio líquido Pikovskaya (Pikovskaya 1948) el cual contenía fosfato tricálcico y se incubaron por siete días a 28 °C en agitación por 180 rpm. Transcurrido el tiempo de incubación se midió el pH de cada uno de los cultivos bacterianos con un medidor de pH (OAKTON® Instruments). Posteriormente se centrifugó el inóculo a 7000 rpm durante 10 min. El sobrenadante se filtró con una membrana (Millex 0.22- μm Durapore), se tomaron alícuotas de 150 μL de cada filtrado y se depositaron en microplacas de 96 pozos

(microplates Costar 3591, Corning, NY), a cada pozo se le adicionó 50 μL de vanadato (NH_4VO_3 0.25 % en 35 % HNO_3) y 50 μL de molibdato [$(\text{NH}_4)_6\text{MO}_7\text{O}_{24}$ al 5 %]. Se dejó reaccionar durante cinco minutos. Las muestras se leyeron en un espectrofotómetro (Synergy 2 microplate reader, Biotek Instruments, Inc.) a 420 nm.

La cantidad de fosfato soluble se determinó por medio de una curva estándar (Figura 5), la cual fue elaborada con diferentes concentraciones de fosfato soluble (0, 50, 100, 150, 200, 250, 300 $\mu\text{g mL}^{-1}$).

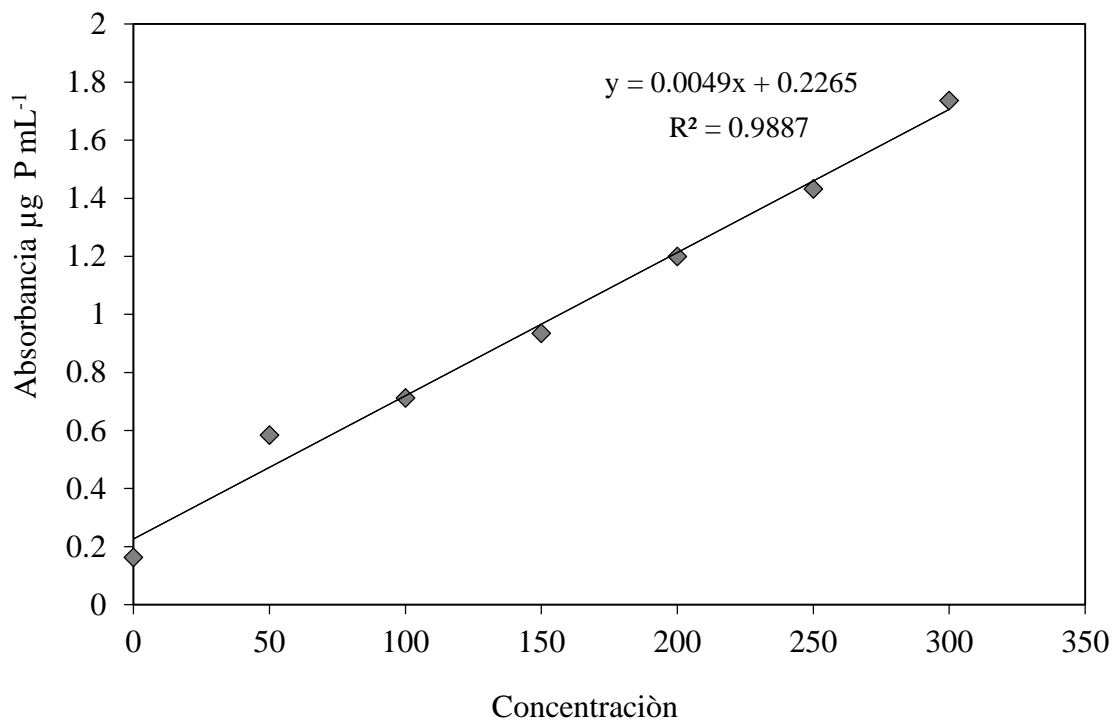


Figura 5. Curva estándar de diferentes concentraciones de fosfato soluble en medio líquido.

4.5.2 Producción de indoles totales

Para la cuantificación de producción de indoles se utilizó la técnica descrita por Almaraz-Suarez *et al.* (2020). Las cepas bacterianas se sembraron en tubos con 1 mL de medio de cultivo Luria-Bertani y se incubaron a 28 °C a 150 rpm por 24 y 48 h. Trascurrido este tiempo los cultivos se centrifugaron a 7000 rpm durante 15 min. En microplacas de 96 pozos (Microplates Costar 3591, Corning, NY) se depositaron 150 µL del sobrenadante de cada muestra, adicionando también 150 µL de solución Salkowski. Las placas se incubaron por 30 min en oscuridad, para posteriormente leerse en un espectrofotómetro (Synergy 2 microplate reader, Biotek instruments, Inc.) a 530 nm. La concentración de indoles se estimó a partir de una curva estándar de concentraciones conocidas de ácido indol acético (0, 10, 20, 30, 40, 50, 60 µg mL⁻¹) (Figura 6), que se procesaron de la misma forma que las muestras.

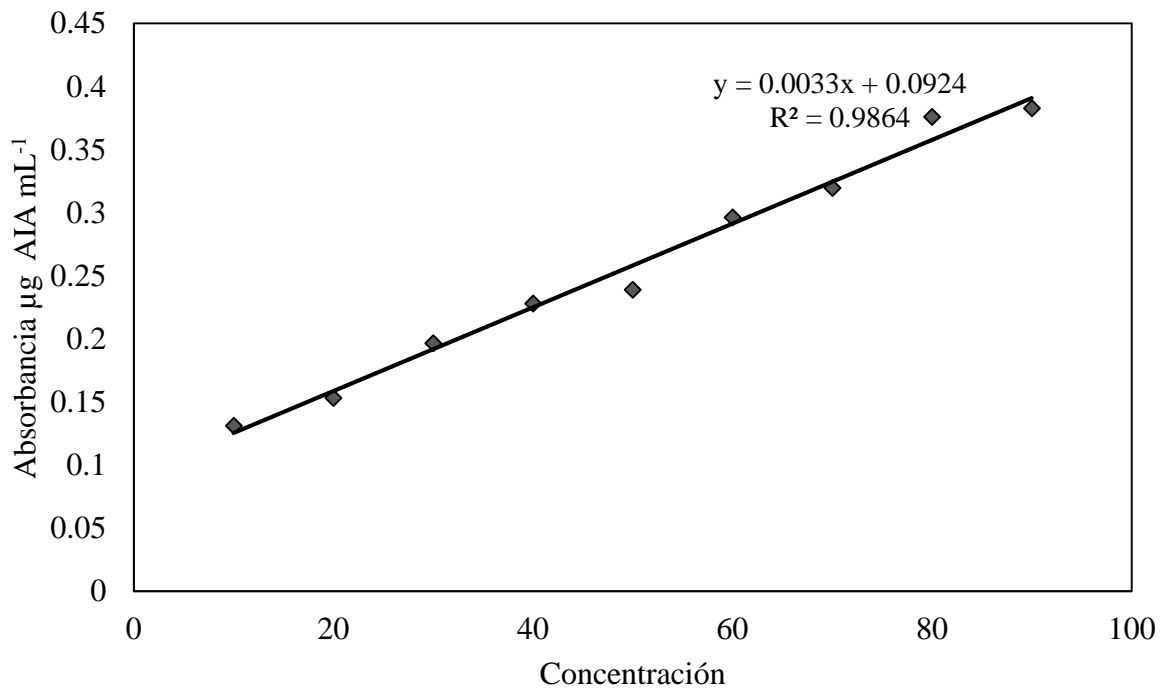


Figura 6. Curva estándar de diferentes concentraciones de Ácido indol acético en medio líquido.

4.5.3 Determinación de actividad antagónica de RPCV

Para determinar la actividad de antagonismo contra hongos fitopatógenos, se utilizaron dos hongos (*Fusarium* sp. y *Rhizotonia solani*). De cada hongo por separado se sembró una porción circular de 4 mm de diámetro del micelio en el centro de la caja de Petri con medio de cultivo PDA. Los cultivos se dejaron en crecimiento por 4 días y posteriormente se sembraron las cepas de bacterias a una distancia de 2.5 cm del hongo con la ayuda de una asa microbiológica. Los cultivos se incubaron por 5 días y se midió el crecimiento del micelio; se incluyó un control sin la presencia de cepas bacterianas.

El porcentaje de inhibición de los hongos fitopatógenos por las cepas bacterianas se realizó mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{\text{crecimiento testigo} - \text{crecimiento del hongo en interacción con la cepa}}{\text{crecimiento testigo}}$$

4.5.4 Conservación de cepas

A partir del cultivo activo en medio sólido se tomó una asada de la colonia y se colocó en tubos tipo eppendorf estériles de 1.5 mL de capacidad, los cuales contenían 1 mL de agua destilada estéril, también se realizó en tubos de ensayo con tapa de rosca con medio de cultivo agar nutritivo, colocando una asada de la colonia de interés, posteriormente se incubaron por 48 horas; una vez transcurrido ese tiempo se sacaron y colocaron en un racks para tubos y en bolsas de plástico y finalmente se metieron a refrigeración a 4° C para su conservación.

4.5.5 Identificación molecular

El material genético de biomasa de las 12 cepas seleccionadas fue a partir de cultivos jóvenes de menos de 24 h. Para ello se siguió el protocolo de extracción de DNA para bacterias método CTAB (Tris-HCl 100 mM, pH 8,0; EDTA 2H₂O mM, CTAB 2 %; NaCl 1,4 M) del laboratorio de Biotecnología de semillas del Colegio de Postgraduados.

Se tomó una asada por cepa y se colocó en tubos Eppendorf con 250 µL de agua grado HPLC, posteriormente se le agregó 1000 µL de CTAB al 2 % previamente precalentado a 95 °C, se mezcló vigorosamente y se incubó a 95 °C por 90 minutos mezclando con un vortex cada 10 min. Posteriormente, a cada tubo se le agregó 500 µL de cloroformo-alcohol isoamílico (24: 1 v / v) y se mezcló por inversión durante 10 min a temperatura ambiente. Cada tubo se centrifugó a 11,500 revoluciones por minuto (rpm) por 10 min, para formar la fase acuosa y la fase orgánica. A partir de la fase acuosa se recuperaron aproximadamente 600 µL y se colocaron en un nuevo tubo Eppendorf estéril de 1.5 mL. Posteriormente, en cada tubo nuevo se colocaron 950 µL de etanol al 100 % frío, se mezcló suavemente para favorecer la precipitación, y se incubó a -20 °C por toda la noche.

A continuación, se centrifugó a 11 500 rpm por 30 minutos, se decantó evitando perder la pastilla y se le agregó a cada tubo 400 µL de agua HPLC y se incubó a 65 °C por 15 min. Después se añadió 34 µL de NaOAC 3 M y 1 mL de etanol al 95 % almacenado a -20 °C, se colocaron los tubos a -20 °C durante 1 h, se centrifugó por 10 min y se decantó evitando perder la pastilla. La pastilla se lavó con 600 µL de isopropanol al 70 % se centrifugó por 10 min a las mismas condiciones (2 lavados). Después del segundo lavado se decantó y se dejó secar por al menos 2-3 horas, pasado ese tiempo y con la pastilla seca, se resuspendió en 100 µL de agua HPLC y se colocó en baño María a 65 y 70 °C por 15 min y se dio un spin con una microcentrifuga (marca

biosan®). La calidad y la concentración del ADN se verificaron mediante el espectrofotómetro NanoDrop 2000 UV-Vis (Thermo Scientific, USA), los valores de las relaciones A 260/ A 280 y A 260/230 estuvieron en un Rango de 1.8 a 2.0. Para amplificar el fragmento ribosomal 16S ADN_r se usaron los iniciadores 8F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') y 1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3'). La mezcla de reacción consistió en: buffer 5X, dNTP's 2.5 mM, *vaya Taq* ADN polimerasa (5U), ADN 100 ng. La PCR se llevó a cabo en un termociclador C100 Touch (Bio-Rad, USA) con las siguientes condiciones de amplificación: una desnaturalización inicial de 95 °C por 2 min; seguido de 30 ciclos de desnaturalización a 95 °C por 1 min, alineamiento a 59 °C por 30 s y la extensión a 72 °C por 2 min, y finalmente una extensión de un ciclo a 72 °C por 10 min. El fragmento amplificado se verificó en un gel de agarosa al 1.5 % teñido con colorante verde de ADN (Green-DNA dye, Bio Basic Inc., Canada). El producto final de PCR se purificó con ExoSAP-IT (Affymetrix, USA) de acuerdo a las instrucciones del fabricante. La secuenciación se realizó en ambas direcciones con el Genetic Analyzer modelo 3130 (Applied Biosystem, EE.UU). Las secuencias correspondientes a la región 16S ADN_r, se ensamblaron y editaron con la opción CAP (Contig Assembly Program) del Software BioEdit v7.0.9.1 (Hall, 1999) para la creación de las secuencias de cada uno de los aislamientos. Con la Herramienta Básica de Búsqueda de Alineación Local (BLAST) del Centro Nacional de Biotecnología Information (NCBI) se encuentran regiones de similitud local entre secuencias con alineamientos significantes, las secuencias consensuadas de cada aislamiento obtenido para la región 16S ADN_r se compararon con la opción BLAST_nucleotide 2.2.19 (Zhang *et al.*, 2000). Las secuencias de las bacterias se depositaron en la base de datos de GenBank del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI).

4.6 Pruebas de germinación

Para esta prueba se utilizaron semillas de tomate, chile y pepino las cuales fueron esterilizadas superficialmente con una solución de hipoclorito de sodio al 10 % durante 1 min, posteriormente fueron enjuagadas tres veces con agua destilada estéril. Después se colocaron 10 semillas en cajas Petri con el fondo recubierto con papel filtro previamente humedecido con 2 mL de agua destilada, una vez colocada la semilla se les aplicó 2 mL de inóculo bacteriano y se colocaron en la incubadora a una temperatura de 28 °C, cada tratamiento tuvo cuatro repeticiones.

Después de cuatro días se revisó el número de semillas germinadas.

4.7 Experimento de inoculación en plántulas de tomate

Las 12 cepas de bacterias seleccionadas por producir indoles, producir auxinas, sideróforos, fijar nitrógeno y actividad antagonista, fueron evaluadas en su capacidad de promover el crecimiento en plántulas de tomate utilizando como cepa de referencia *Pseudomonas tolaasii* P61, bacteria de la colección microbiana del Area de Microbiología de suelos del Colegio de Postgraduados. Esta cepa fue aislada de la rizosfera de papa del Valle de Toluca, Estado de México tiene la capacidad de solubilizar fosfatos, producir auxinas y sideróforos además, controla *Rhizoctonia solani* (Pineda-Mendoza *et al.*, 2019).

Para evaluar el efecto de inoculación en el crecimiento de las plántulas las cepas bacterianas se cultivaron en caldo nutritivo en agitación constante por 48 horas a 28 °C. Posteriormente fueron centrifugadas a 7000 rpm por 15 minutos para separar el concentrado microbiano del medio de cultivo. Este concentrado se resuspendió en agua destilada estéril y se centrifugó en dos ocasiones con el propósito de eliminar los nutrientes residuales. La concentración de células bacterianas fue de $1 \times 10^8 \text{ mL}^{-1}$.

Se utilizaron semillas de tomate “hybrid OptimMax” (Sakata[®]) con germinación mayor del 99 %. La siembra de las semillas se realizó en charolas de poliestireno de 200 cavidades, las cuales se cortaron en secciones de 12 cavidades cada una (una sección por tratamiento). Se sembraron tres semillas por cavidad en un sustrato conformado por turba y perlita (2:1), previamente esterilizado (3 días no consecutivos durante 3 h, a 18 libras de presión).

La inoculación de la cepa bacteriana se llevó a cabo a los 5 días después de la emergencia, aplicando 2 mL de inóculo directamente en la base del tallo y la zona de la raíz. A los dos días de la inoculación se realizó el clareo dejando una planta por cavidad. Las plantas permanecieron 35 días bajo condiciones de almácigo en invernadero.

4.7.1 Aplicación de solución nutritiva y manejo agronómico

La fertilización fue de dos concentraciones, cuando las plántulas tuvieron un par de hojas se comenzo la fertilización con solución Steiner al 10 % y después de 10 días con solución al 20 % (Steiner, 1961). La solución nutritiva fue aplicada con jeringas para que de manera dosificada se proporcionara el riego en la cantidad necesaria y de esa forma no salpicar el agua y evitar alguna contaminación.

La frecuencia y duración de los riegos estuvo dada en función de los factores ambientales, manteniendo siempre una humedad constante. Durante el experimento se tuvo un promedio de humedad relativa de 54.1%, y una temperatura promedio de 25.7 °C, la máxima fue de 44.36 °C y la mínima de 7.2 °C.

4.7.2 Variables de crecimiento

A los 35 días después de emergencia se llevaron a cabo las siguientes determinaciones:

4.7.2.1 Altura de plántula. Se midió a los 35 días después de la emergencia y antes de la cosecha con una regla graduada, esta variable se expresó en centímetros (cm).

4.7.2.2 Diámetro de tallo. El diámetro de tallo se midió con un vernier digital marca Truper®, el valor se dio en mm.

4.7.2.3 Número de hojas. El número de hojas totales por planta se cuantifico de forma manual.

4.7.2.4 El contenido relativo de clorofila (Unidades SPAD)

Para el contenido relativo de clorofila (Unidades SPAD), se realizo una lectura en la parte superior de la hoja más recientemente madura, fue medido con un SPAD-502 plus marca KONICA® previo a la cosecha.

4.7.2.5 Volumen radical desplazado de la raíz

Volumen radical se midió utilizando la técnica de desplazamiento de agua sumergiendo la raíz completa en una probeta graduada con un determinado volumen de agua desplazado por la raíz, los datos referidos para esta variable son expresados en mililitros (mL).

4.7.2.6 Peso fresco de la planta

Al corte, se determino el peso de parte aérea con una balanza analítica digital VE-500. Los resultados obtenidos se expresaron en gramos (g).

4.7.2.7 Área foliar

Al finalizar el experimento se separaron las hojas de cada planta para medir el área foliar utilizando un medidor marca LI-3100C Área meter®, los resultados se expresaron en cm².

4.7.2.8 Peso seco de hojas, tallo y raíz (Materia seca)

El material vegetativo, previamente secado durante 72 horas en una estufa de secado a una temperatura de 72 °C, se pesó en una balanza analítica digital VE-500, los resultados para esta variable se expresaron en gramos (g).

4.8 Tratamiento y diseño experimental

El experimento fue establecido utilizando un diseño experimental completamente al azar con 14 tratamientos. Los cuales consistieron en 12 cepas de rizobacterias aisladas de la rizosfera de tomate, una cepa de referencia del cepario de Microbiología del Postgrado de Edafología y un testigo sin inocular con 4 repeticiones cada tratamiento. Cada repetición tuvo 12 plantas.

4.9 Análisis nutrimental de NPK

Una vez secas las muestras de las plántulas de tomate se molieron y se enviaron al laboratorio de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Sinaloa. Donde se determinó nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K) en tejido vegetal.

Para la realización de estos análisis se utilizaron los siguientes métodos: El N se determinó por el procedimiento semi-micro Kjeldahl (Etchevers, 1987). El P por colorimetría de complejos molibdofosfóricos reducidos con ácido ascórbico (AOAC, 1980). El K por fotometría de llama, según Rodríguez y Rodríguez (2015). Para K y P se utilizaron extractos provenientes de digestión seca. Para la estimación de los contenidos totales, se consideró las concentraciones de cada elemento en el tejido vegetal, así como el peso de la biomasa seca de la parte aérea.

Los datos fueron analizados mediante el paquete estadístico SAS para Windows realizando un análisis de varianza y prueba de comparación de medias (Tukey, $\alpha=0.05$).

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Aislamiento y caracterización

De un total de 70 cepas de rizobacterias aisladas y purificadas, de acuerdo con las pruebas cualitativas 30 fijaban nitrógeno, 20 solubilizaban fosfato y 30 producían indoles (Anexo 1). Sin embargo, solo se seleccionaron 12 cepas que incluyeron aquellas que tenían una o más características de promoción del crecimiento (capacidad para producir indoles, solubilizar fosfato y fijar nitrógeno), las cuales fueron: JC3, JP4, JP5, JP6, JP8, JPS5, JLB4, JN24, JLB2, JP13, JC5 y JLB6) (Cuadro 2).


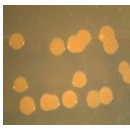
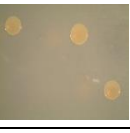
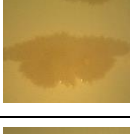
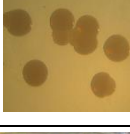
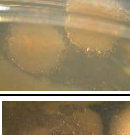
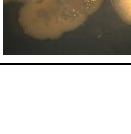
Cuadro 2. Caracterización cualitativa por sus propiedades para solubilizar fosfato, producir indoles y fijar nitrógeno de cepas de RPCV aisladas de rizosfera de tomate.

Cepa	Solubilización de fosfato	Producción de indoles	Fijación de nitrógeno
JLB4	-	+	-
JN24	+	+	+
JPS5	+	+	-
JP5	+	-	-
JC5	-	+	-
JLB2	-	+	-
JLB6	-	+	-
JP13	+	-	-
JC3	-	+	-
JP4	+	-	-
P61	+	+	+
JP8	+	-	-
JP6	+	-	-

También se realizó la descripción de la morfología de las colonias de las cepas seleccionadas (Cuadro 3). Se observó que más de la mitad de las cepas presentan colonias de color crema, cinco colonias de color blanco y una cepa presenta colonias de color amarillo. La forma de las colonias varió entre circular, rizoide y amiboide, las elevaciones de las colonias fueron planas, elevadas,

umbonada y convexa y los bordes fueron desde entero, lobuloso hasta ondulado. Algunas colonias fueron muy viscosas. Misma descripción realizó Calvo y Zúñiga, (2010) en colonias de *Bacillus*, las cuales fueron de forma irregular, color crema, bordes entre aserrada, lobulada, digitiforme y ondulada; las elevaciones de las colonias suelen ser planas o acuminadas. En relación a la morfología microscópica, la mayoría correspondió a bacilos cortos y largos gram negativos, sin embargo, las cepas JP13 se observaron bacilos cortos gram positivos y JC5 y JN24 fueron cocos gram negativos (Anexo 2).

Cuadro 3. Características morfológicas de colonias en agar nutritivo de cepas de RPCV aisladas de rizosfera de tomate.

Características Cepas	Forma	Elevación	Color	Borde	Superficie	Foto
JPS5	Circular	Elevada	Crema	Entero	Liso	
JC5	Circular	Convexa	Crema	Entero	Liso	
JLB4	Circular	Convexa	Crema	Entero	Liso	
JP6	Rizoide	Rugosa	Crema	Filamentoso	Rugoso	
JN24	Circular	Pulvinada	Crema	Entero	Liso	
JP5	Rizoide	Rugosa	Amarilla	Crenado	Papilar	
JP4	Amiboide	Plana	Crema	Lobulada	Rugosa	

JLB2	Circular	Elevada	Blanca	Entero	Lisa	
JP8	Amiboide	Plana	Crema	Ondulada	Lisa	
JLB6	Puntiforme	Elevada	Blanca	Entero	Lisa	
JP13	Amiboide	Umbonada	Blanca	Lobulosa	Rugosa	
JC3	Circular	Elevada	Blanca	Entero	Lisa	

5.1.2 Determinación cualitativa de la capacidad de solubilizar fosfato en medio sólido por las cepas aisladas

Las cepas seleccionadas fueron (JP4, JP5, JP6, JP13 y JP8) en base a la formación de halos alrededor de las colonias (Cuadro 4). En base a estos resultados se decidió seleccionar estas cepas para caracterizar y aplicarlas a nivel ensayo en plántulas de tomate. Bashan *et al.* (2013) mencionan que la formación de halos en medio sólido no debe considerarse como la única prueba para la solubilización de fosfato ya que las colonias pueden perder su halo después de varias resiembras, para ello se debe realizar un ensayo confirmatorio de la capacidad de solubilizar P en medio líquido para cuantificar el fosfato soluble. Por esta razón se realizó dicho ensayo, el cual incluyó a las 12 cepas seleccionadas y la cepa de referencia (P61) para conocer su potencial de solubilizar fosfato en medio líquido.

Cuadro 4. Capacidad de solubilizar fosfato de cepas de RPCV, medida por la formación de halos alrededor de las colonias en medio sólido Pikovskaya.

Cepas	Diámetro de halo (mm)
JP4	0.5
JP5	0.5
JP6	0.5
JP8	0.5
JP13	0.5
JLB4	0.1
JN24	0.1
JPS5	0.1
JC5	0.1
JLB2	0.1
JLB6	0.1
JC3	0.1

Se observó que las cepas JP13, JC3, JP8, JPS5, JLB6 y JP6 presentaron los valores más altos de fosfato solubilizado que fueron de 118.9 y 300 $\mu\text{g mL}^{-1}$ y los valores bajos se obtuvieron en las cepas JLB4, JC5, JLB2, JN24 y P61 que fueron de 22.5 y 38.7 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (Figura 7). García *et al.* (2015) mencionan que las bacterias solubilizadoras de fosfatos desempeñan un papel importante en el suplemento de fósforo para las plantas. Los géneros bacterianos con mayores potencialidades de uso son *Pseudomonas* y *Bacillus* (Restrepo-Franco *et al.*, 2015). Para el caso del pH, todas las cepas utilizadas en esta investigación acidificaron el medio de cultivo, ya que el pH inicial fue de 7.3 y este bajó a valores entre 6.1 y 4.2 (Figura 8) siendo la cepa de referencia P61 la que más acidificó el medio, por lo tanto, se puede concluir que el 100 % de las cepas seleccionadas son capaces de solubilizar el fósforo insoluble. Estos resultados coinciden con los de Ramírez *et al.* (2014) quienes mencionan que esta capacidad de solubilizar fosfato se debe a que las bacterias liberan ácidos orgánicos como el oxálico y el glucónico, lo que permite la acidificación del medio. Los ácidos orgánicos producidos por las bacterias reaccionan con los compuestos del fósforo

liberando fosfato soluble, el cual depende del tipo y fuerza de estos ácidos (Gamalero y Glick, 2011).

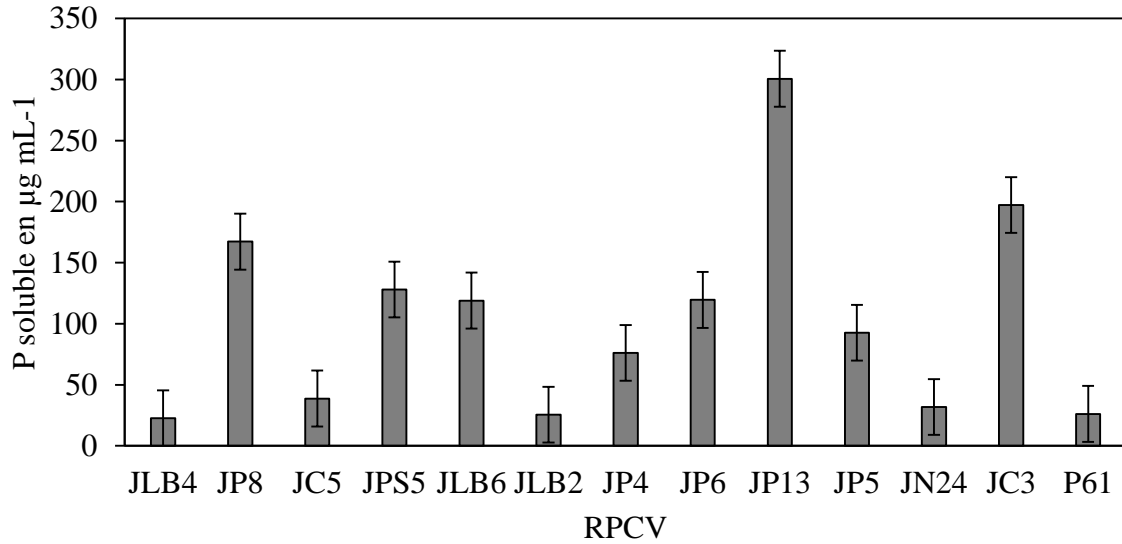


Figura 7. Fosfato soluble en medio líquido pikovskaya después de cultivar por 72 h cepas de RPCV aisladas de rizosfera de tomate. Las barras verticales indican el error estándar.

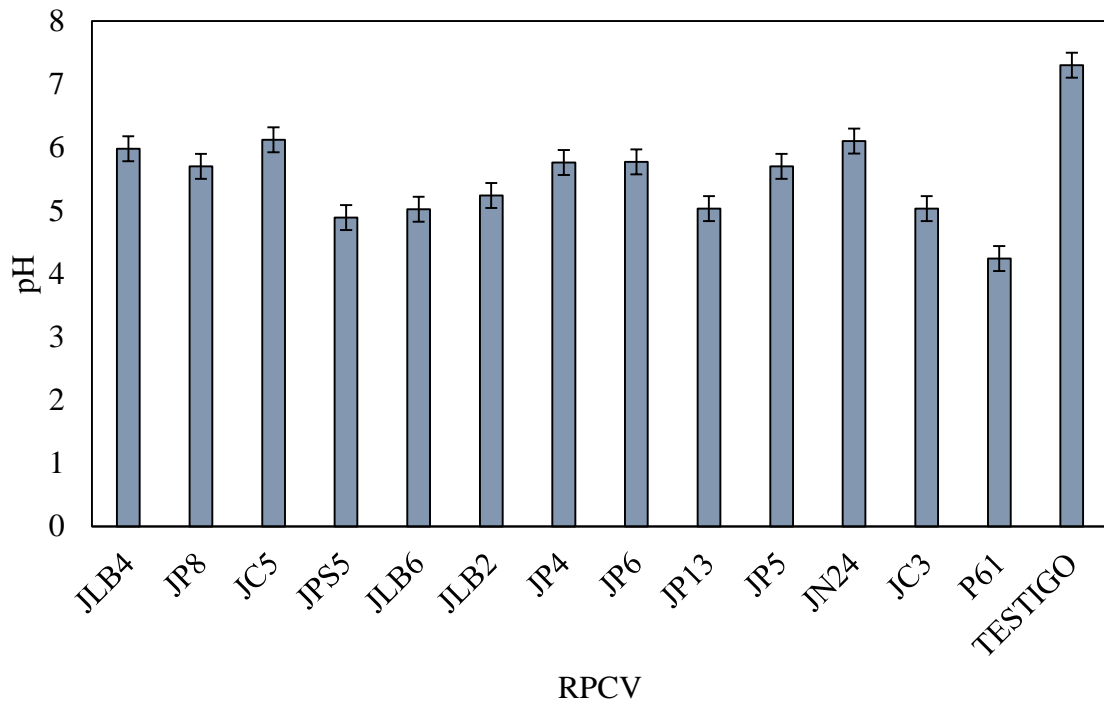


Figura 8. Valor del pH final del medio de cultivo Pikovskaya después de cultivar por 72 h cepas de RPCV aisladas de rizosfera de tomate. Las barras verticales indican el error estándar.

5.1.4 Producción de indoles

Para el caso de la producción de ácido indolacético se probaron 64 cepas y se realizó una preselección de 20 cepas con base en el cambio de color a rosa cuando al cultivo bacteriano se le adicionó el reactivo de Salkowski; en la evaluación cuantitativa se observó que las 12 cepas seleccionadas y la cepa de referencia fueron capaces de sintetizar indoles. La cepa JPS5 presentó la mayor concentración de indoles ($10.4 \mu\text{g mL}^{-1}$). Por otra parte, las cepas JP8, JP4, JLB2, JLB4 y JN24 presentaron concentraciones mayores a $1.52 \mu\text{g mL}^{-1}$. Sin embargo, las cepas JC5, JP6, JP13, JP5, JC3, JLB6 y P61 produjeron muy bajas concentraciones de indoles de ($0.85\text{-}1.52 \mu\text{g mL}^{-1}$) (Figura 9). González *et al.* (2017) Caracterizaron un total de 215 cepas aisladas de la rizosfera de la región de la Sierra Nevada, Puebla, México y encontraron 71 cepas que producían AIA en concentraciones desde 20 hasta 27 mg L^{-1} ; en el caso de la presente investigación las cepas no produjeron niveles de AIA tan altos como en el estudio de González *et al* (2017), se ubicaron en un rango medio.

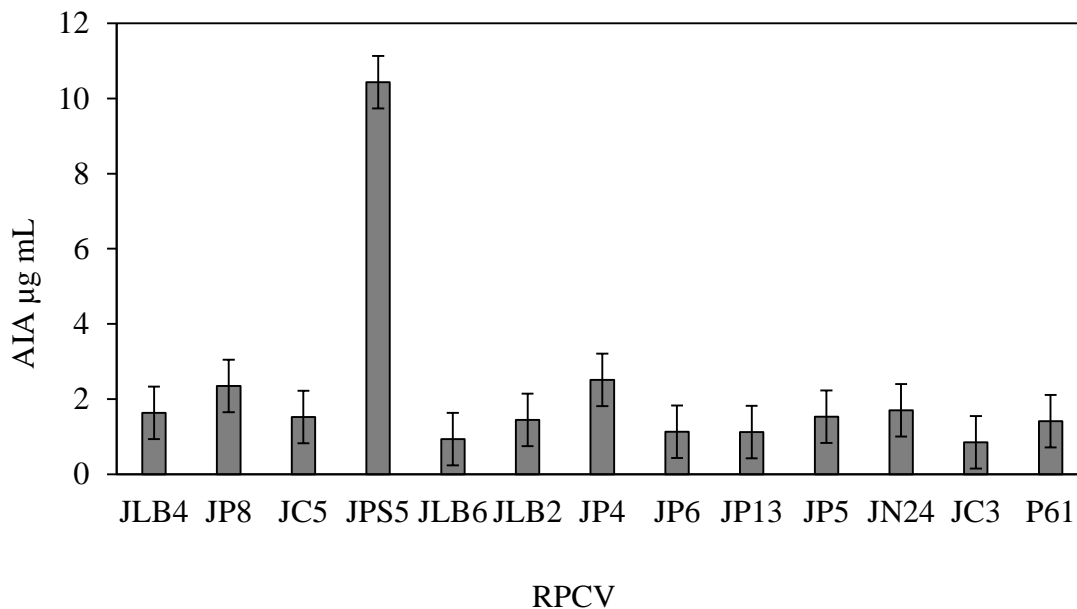


Figura 9. Producción de AIA en medio LB después de cultivar por 72 h cepas de RPCV aisladas de rizosfera de tomate. Las barras verticales indican el error estándar.

5.1.5 Fijación de nitrógeno y producción de sideróforos

La capacidad de las bacterias para fijar nitrógeno fue registrada en una de las doce cepas estudiadas (JN24). Esta actividad se ha estudiado ampliamente en el género *Bacillus*. Por ejemplo, Kifle y Laing (2011) encontraron que la inoculación de cepas de *Bacillus* en lechuga incrementó el contenido de nitrógeno en las plantas, lo cual se debió a la capacidad de fijar nitrógeno de las cepas estudiadas y a la densidad de inóculo aplicado, siendo la mejor la dosis de 10^8 unidades formadoras de colonias.

De las 12 cepas seleccionadas solo 4 produjeron sideróforos (JP4, JP5, JP6, JP8 y P61) (Cuadro 5), las colonias de estas cepas tuvieron un halo con un diámetro de (0.40-0.46 mm) lo que indica que producen sideróforos removiendo el hierro del medio, creando un halo color amarillo (García *et al.*, 2012). Aguado-Santacruz *et al.* (2012) mencionan que los sideróforos bacterianos han generado un gran interés en los últimos años debido al potencial que tienen para el control biológico de hongos y bacterias fitopatógenas, inhibiendo el crecimiento de micelio a través de la captación de hierro, haciéndolo no disponible para los patógenos.

Cuadro 5. Producción de sideróforos en medio CAS por cepas de RPCV aisladas de la rizosfera de tomate.

Cepa	Producción de sideróforos (diámetro de halo mm)
JLB4	-
JN24	-
JPS5	-
JP5	0.45
JC5	-
JLB2	-
JLB6	-
JP13	-
JC3	-
JP4	0.45
*P61	0.40
JP8	0.45
JP6	0.46

*cepa de referencia P61.

5.1.6 Actividad antagónica sobre hongos fitopatógenos

De los microorganismos evaluados solo las cepas bacterianas JP5 y JP8 mostraron un efecto antagónico contra *Rhizoctonia solani* con un porcentaje de inhibición de 46.6 % y 52.3 %, respectivamente y contra *Fusarium* con inhibición de 51.3 % y 41.7 %, respectivamente (Figura 9). Estos porcentajes fueron bajos comparados con los obtenidos en la investigación de Velasco-Belalcázar *et al.* (2019), quienes reportaron porcentajes de inhibición de *Fusarium* por *Pseudomonas aeruginosa*, mayores a 62 y 89 %. En un estudio realizado por Uzair *et al.* (2018), se aislaron cuatro cepas de *Pseudomonas* con actividad de biocontrol frente a hongos fitopatógenos como *Rhizopus microsporus*, *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger*, *Alternaria alternata*, y *Penicillium digitatum* y se demostró que, *Pseudomonas aeruginosa* produjo diferentes antibióticos como Pirrolnitrina. Es necesario resaltar que la producción de sideróforos tiene un efecto inhibitorio de hongos fitopatógenos debido a la captación de hierro (Izzeddin y Medina, 2011; García *et al.*, 2012; Adam *et al.*, 2014). Dicha característica se puede constatar con los resultados de esta investigación puesto que las cepas JP5 y JP8 produjeron sideróforos, lo que comprueba su actividad antagónica como se puede ver en la Figura 10.

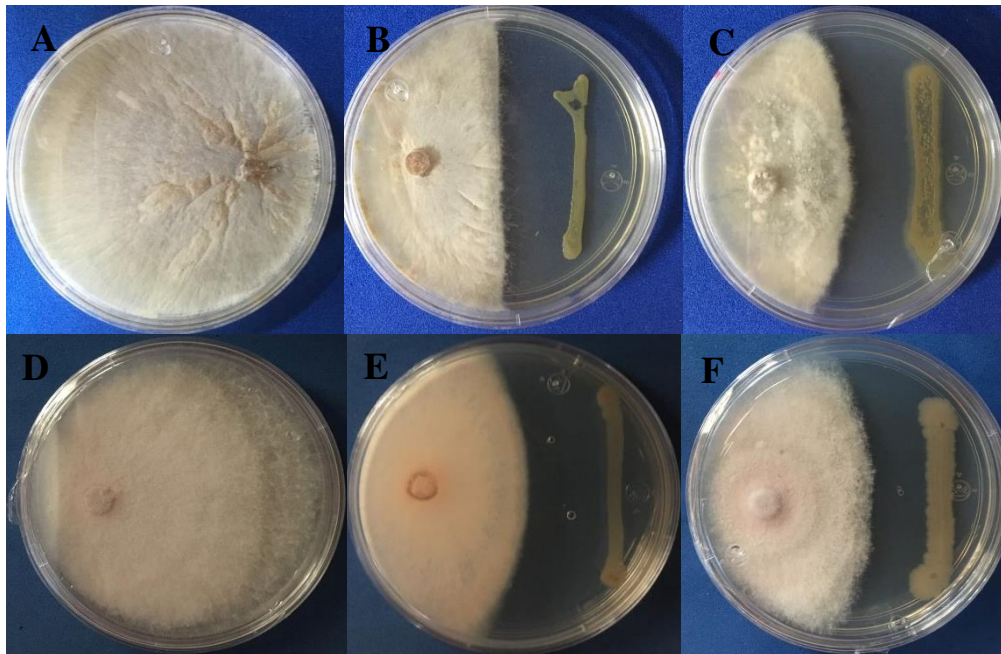


Figura 10. Imágenes representativas del antagonismo de cepas de RPCV contra dos hongos fitopatógenos en medio PDA. A, B y C son cajas Petri con *Rhizoctonia Solani*; D, E y F son cajas con *Fusarium sp.* A y D testigo, B y C son la cepa JP5 en confrontación con el hongo, E y F son la cepa JP8 contra el hongo.

5.2 Identificación molecular de las cepas bacterianas

El análisis de las secuencias de ADNr 16S amplificadas demostró una alta similitud de las secuencias de los aislados JP4, JP5, JP6 Y JP8 con las secuencias de ADNr 16s de *Pseudomonas aeruginosa* (100 %). Mientras que JLB2 y JLB6 tienen una alta similitud con *Staphylococcus equorum* (100 %); la cepa JC3 presentó un alto porcentaje de similitud con especies de *Pseudarthrobacter sp.* (99.65 %) y dos cepas (JC5 y JN24) con *Arthrobacter enclensis* (100 %), y la cepa JP13 tuvo similitud con *Bacillus licheniformis* (100 %). Para el caso de la cepa JPS5 se encontró una alta similitud con *Bacillus drentensis* (99.93 %) y por último la cepa JLB4 mostró una alta similitud con *Arthrobacter pokkalii* (100 %) (Cuadro 6). Misra *et al.* (2012) Mencionan que las cepas de *Pseudomonas aeruginosas* son capaces de solubilizar más de 450 mg.ml⁻¹ de fosfato en suelos con altas concentraciones de metales pesados y en condiciones de alta humedad y temperatura, además ha resultado ser un microorganismo de gran aplicación, porque no solo

solubiliza fosfato, sino también tiene la capacidad de producir sideróforos para la quelación del hierro (Kumar *et al.* 2005; Restrepo-Correa *et al.*, 2017). Mientras que *Staphylococcus equorum* es una bacteria patógena y se ha utilizado en investigaciones para determinar la actividad antimicrobiana de extractos de plantas (Carvajal-Tesorero *et al.*, 2013). Esta bacteria también contribuye a la formación de compuestos aromáticos durante la maduración de alimentos fermentados, especialmente quesos y embutidos (Irlinger *et al.*, 2012). La cepa de *Pseudarthrobacter sp* es considerada como productora de auxinas y contiene genes de resistencia a metales pesados (Park *et al.*, 2019). Además, se ha encontrado que contiene genes relacionados con la desnitrificación de nitritos y nitratos (Park *et al.*, 2020). En investigaciones recientes se encontró que cepas de la especie *Arthrobacter enclensis* pueden producir 134,6 mg L⁻¹ de AIA a las 12 horas después de la incubación en caldo nutritivo con triptófano (Zeng *et al.*, 2016; Seo-Jin y Min-ho, 2019). Vásquez *et al.* (2020), mencionan que *Bacillus licheniformis* es una cepa bacteriana que cuenta con la capacidad para fijar nitrógeno, producir auxinas y solubilizar fosfato. *Bacillus drentensis* se menciona que pueden producir AIA, solubilizar de fosfato y liberar exopolisacárido (Mahmood *et al.*, 2016). Para el caso de *Arthobacter pokkali*, Krishnan *et al.* (2016) mencionan que dicha bacteria posee características beneficiosas para el crecimiento de las plantas, dado que puede producir ácido indol acético (AIA) y sideróforos. Además, también tiene importantes caracteres fenotípicos como la capacidad para formar biopelículas y la utilización de varios componentes de los exudados de las raíces de las plantas (azúcares, aminoácidos y ácidos orgánicos), destacando que es una bacteria que está asociada a la rizosfera vegetal.

Cuadro 6. Identificación molecular de las cepas de rizobacterias promotoras crecimiento vegetal según las secuencias de amplificación del gen 16S ADNr.

Nombre de la cepa	Identidad	% de identidad
JLB4	<i>Arthrobacter pokkalii</i>	100
JP8	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100
JP4	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	99.93
JP5	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100
JP6	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100
JC5	<i>Arthrobacter enclensis</i>	100
JN24	<i>Arthrobacter enclensis</i>	100
JP13	<i>Bacillus licheniformis</i>	100
JPS5	<i>Bacillus drentensis</i>	99.93
JLB2	<i>Staphylococcus equorum</i>	100
JLB6	<i>Staphylococcus equorum</i>	100
JC3	<i>Pseudarthrobacter sp.</i>	99.65

5.2.1 Caracterización filogenética al gen del ARNr 16S

El análisis filogenético del gen ARNr 16S generó dos grupos. En la Figura 10 se observa que el primer grupo tiene ocho aislados nativos, donde cuatro de ellas corresponden a *P. aeruginosa* (JP4, JP5, JP6 y JP8). Así mismo se obtuvo el agrupamiento de dos cepas de rizobacterias nativas (JP13 y JPS5) que corresponden a *Bacillus* con homología para este género. Además, dentro de este grupo también se encuentran las cepas JLB2 y JLB6 del género *Staphylococcus*. En el grupo dos se encuentran tres cepas nativas (JC5, JN24 y JC3) cercamente agrupadas con *Pseudarthrobacter enclensis* esto se debe a que es la misma especie debido y a que hay recombinación (did find), demostrándose con la prueba Phi ya que se encontró diferencia significativa de recombinación ($p = 7.571E-8$), además se verificó el distanciamiento de *Arthrobacter pokkalii* (JLB4) (Figura 11). Los resultados de este análisis señalan la existencia de una relación filogenética de algunas cepas que podrían ser candidatas para funcionar como RPCV (Martínez *et al.*, 2018).

5.3 Efecto de las cepas de RPCV sobre la germinación de semillas de tres especies de plantas

Se observaron diferencias significativas entre cepas y el control (Cuadro 7). Las semillas de tomate inoculadas con la cepa JP8 presentaron 95 % de germinación, superando numéricamente al testigo que presentó 80 % de germinación. El resto de cepas no fueron estadísticamente diferentes frente al testigo, mismo resultado se encontró en la germinación de las semillas de chile y pepino. Sin embargo, la mayoría de las muestras inoculadas resultaron satisfactorias ya que hubo un gran un porcentaje de germinación entre el 80 y 100 %; resultados similares se encontraron en la investigación de Campos y Gómez (2015), donde después de 24 horas se obtuvo un 100 % de germinación en las semillas de pepino inoculadas con la cepa UG-V-01, donde el control solo obtuvo un 80 % de germinación.

Para el caso del largo de la radícula en las semillas de las diferentes hortalizas se observó que los tratamientos JPS5 y JP8 mostraron mayor longitud en la radícula en semillas de chile, estadísticamente superiores (≥ 0.05) a los demás tratamientos incluyendo el testigo. Sin embargo, las semillas inoculadas con JC5 mostraron significativamente ($P \leq 0.05$) menor diámetro con respecto a JLB4 y el testigo (Cuadro 7).

En cuanto a la longitud de la radícula de semillas de pepino se observaron diferencias significativas entre las cepas evaluadas, el tratamiento con JLB6 fue estadísticamente superior a los demás tratamientos incluyendo el testigo; las semillas inoculadas con las cepas P61, JP8, JN24 y JC3 presentaron valores entre 51.8 y 46.5 cm de longitud de la radícula. Además, hubo valores inferiores a los del testigo en las cepas JP5, JPS5 y JP6 con valores entre 34.2 y 8.2 cm. En cuanto a la inoculación con cepas de bacterias en semillas de tomate, se encontró que las cepas JLB2, JC5, JP5, JPS5, JLB6, JLB4, JP13, JC3, JP6 y JN24 mostraron significativamente ($P \leq 0.05$) menor

longitud de radícula con respecto al testigo y a los tratamientos inoculados con JP4, P61, JP8 y JLB2 (Cuadro 7).

Es importante resaltar que las semillas de chile y pepino inoculadas con las cepas JC5, JP5 y las semillas de tomate inoculadas con la cepa JP6, presentaron radículas de longitud muy pequeña e incluso menor que la del testigo (Anexo 3). Espinosa *et al.* (2005) y Marquina *et al.* (2018) mencionan que las auxinas son un grupo de fitohormonas que funcionan como reguladoras del crecimiento, provocando el crecimiento por división o elongación de las células, participan activamente en el desarrollo de la raíz embrionaria y postembrionaria, sin embargo, un exceso de auxina puede suprimir la división celular y el crecimiento celular. Por otra parte, Jordán y Casaretto (2006), indican que las semillas en desarrollo son una fuente importante de auxinas. Por ejemplo, las semillas de maíz contienen niveles altos de AIA antes de entrar en la etapa de maduración. No obstante, las auxinas también promueven la síntesis de la hormona etileno que inhibe el crecimiento radical.

Es importante destacar que las semillas, pueden tener una germinación reducida por pérdida de viabilidad asociada a cierto grado de deterioro o envejecimiento celular, esta puede aumentarse al ser inoculadas con rizobacterias que producen hormonas, brindando beneficios a las plantas en etapas posteriores a la germinación. Por esta razón, se estudió el efecto de las cepas de RPCV en la germinación y longitud de radícula de tres especies de hortalizas. La germinación fue muy buena en los testigos, superior al 90 %, por lo que no se detectaron incrementos significativos en la germinación con la inoculación de las RPCV.

Cuadro 7. Longitud de las radículas de plántulas de tomate, chile y pepino, inoculadas con las cepas de RPCV aisladas de la rizosfera de tomate.

Cepa	Logitud de radícula (cm)		
	Pepino	Chile	Tomate
JLB4	47.39 bc	18.79 b	14.27 c
JP8	49.86 cb	27.24 a	42.88 a
JC5	34.23 d	11.39 c	32.38 b
JPS5	16.61 e	27.73 a	30.64 b
JLB6	58.19 a	20.90 ab	29.27 b
JLB2	49.06 bc	24.83 ab	42.16 a
JP4	32.01 d	19.91 b	48.13 a
JP6	8.20 f	17.99 bc	11.11 c
JP13	42.90 c	25.08 ab	13.94 c
JP5	20.10 e	19.74 b	32.19 b
JN24	49.26 bc	25.15 ab	11.03 c
JC3	46.50 bc	25.27 ab	12.83 c
P61	51.80 ab	22.08 ab	45.91 a
TESTIGO	43.27 c	25.09 ab	49.54 a

Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas (Tukey, $\alpha=0.05$).

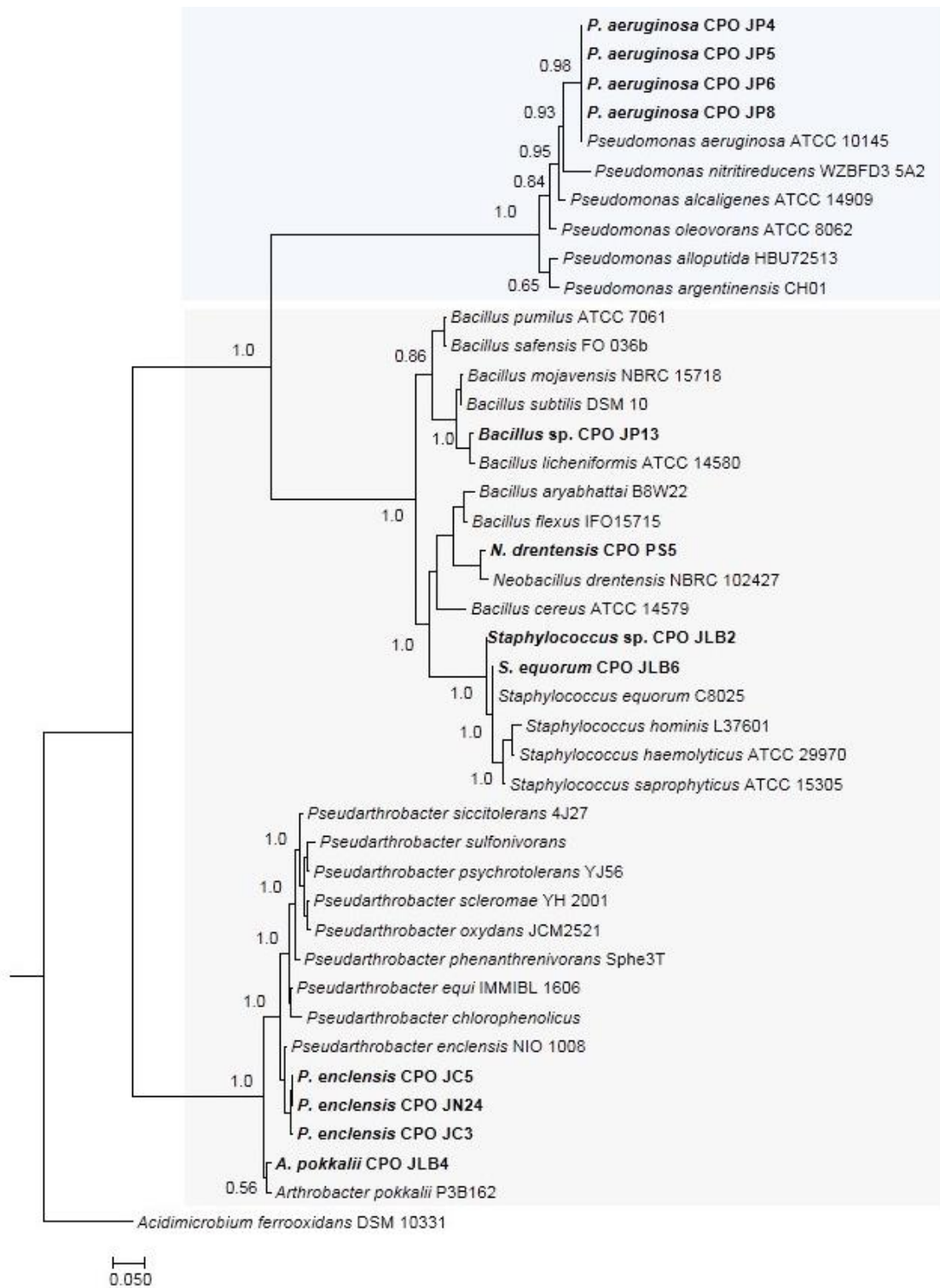


Figura 11. Árbol filogenético de los aislados bacterianos basados en la secuenciación del gen ARNr 16S, las cepas aisladas identificadas se muestran en letras negra.

5.4 Efectividad de las rizobacterias en la promoción del crecimiento en plántulas de tomate

Los resultados mostraron que la inoculación con las cepas JN24 y JLB4 fueron los mejores tratamientos debido a que hubo incrementos significativos ($P \leq 0.05$) en la altura y volumen radical con respecto al testigo y la cepa de referencia P61 (Figuras 12 y 13). En el Anexo 4 se observan fotografías del incremento de la altura en las plántulas inoculadas con JN24 con respecto al testigo. El mayor volumen radical encontrado en el tratamiento con la cepa JLB4 sugiere que hay un efecto directo y positivo en el crecimiento de la raíz, lo cual posiblemente sea por producción de hormonas vegetales. Resultados similares se obtuvieron en la investigación de Noh *et al.*, 2014, donde utilizaron dos cepas de rizobacterias solubilizadoras de fosfatos, identificadas como KCH3 y TSACH2 (*Paenibacillus polymyxa* y *Bacillus megaterium*); las cepas se inocularon en semillas de tomate, permitiendo obtener plántulas más vigorosas que las plántulas sin inoculación, esto también lo obtuvo González *et al.* (2017), pero en chile poblano. Amaresan *et al.* (2012) inoculó 5 cepas en plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum L.*) y chile (*Capsicum annuum*) y logró un aumento significativo en la longitud de las raíces y brotes.

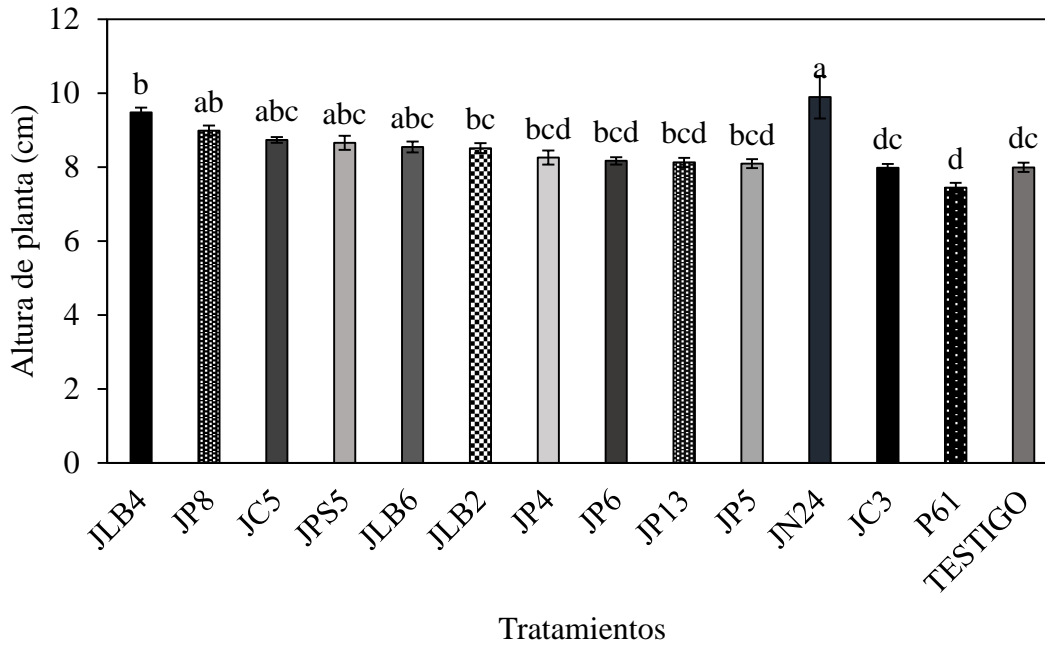


Figura 12. Altura de plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum*) inoculadas con diferentes cepas de RPCV. Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas (Tukey, $\alpha=0.05$).

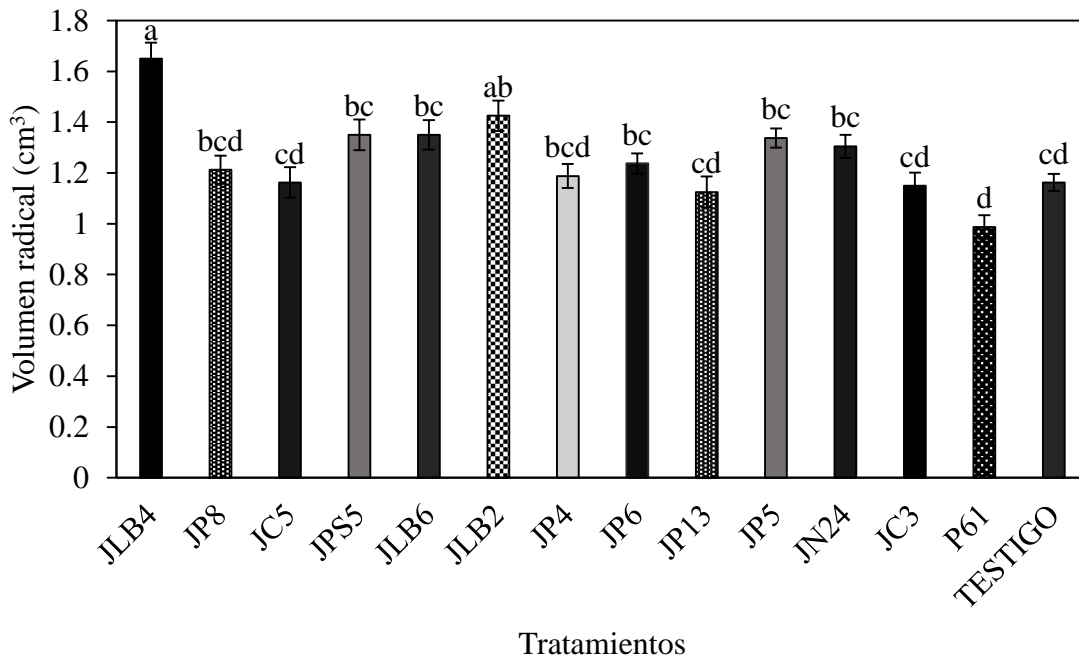


Figura 13. Volumen radical de plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum*), inoculadas con diferentes cepas de RPCV. Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas (Tukey, $\alpha=0.05$).

Los tallos de plántulas inoculadas con JN24 y JLB4 presentaron mayor grosor en un 122.7 % y un 114% en comparación con el testigo y (Figura 14). En la investigación de Luna *et al.* (2013), las cepas de rizobacterias denominadas MA06 y MA12 aumentaron de manera significativa ($P \leq 0.05$) el diámetro del tallo en plántulas de tomate.

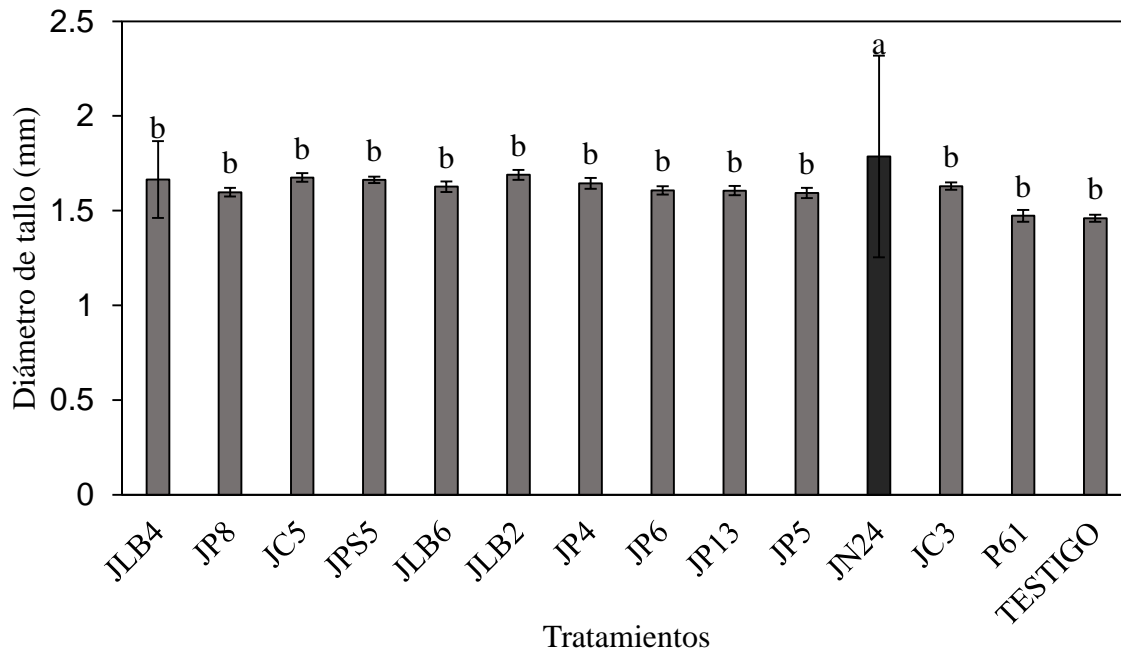


Figura 14. Diámetro de tallo de plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum*), inoculadas con diferentes cepas de RPCV. Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas (Tukey, $\alpha=0.05$).

Los tratamientos no presentaron diferencias significativas para el número de hojas y el contenido relativo de clorofila (Unidades SPAD) (Figura 15). Esto fue contrario a lo obtenido por Ramakrishnan y Selvakumar (2012) quienes sí encontraron efectos significativos en el contenido de clorofila del cultivo de tomate con la inoculación de *Azotobacter* respecto al testigo sin inocular.

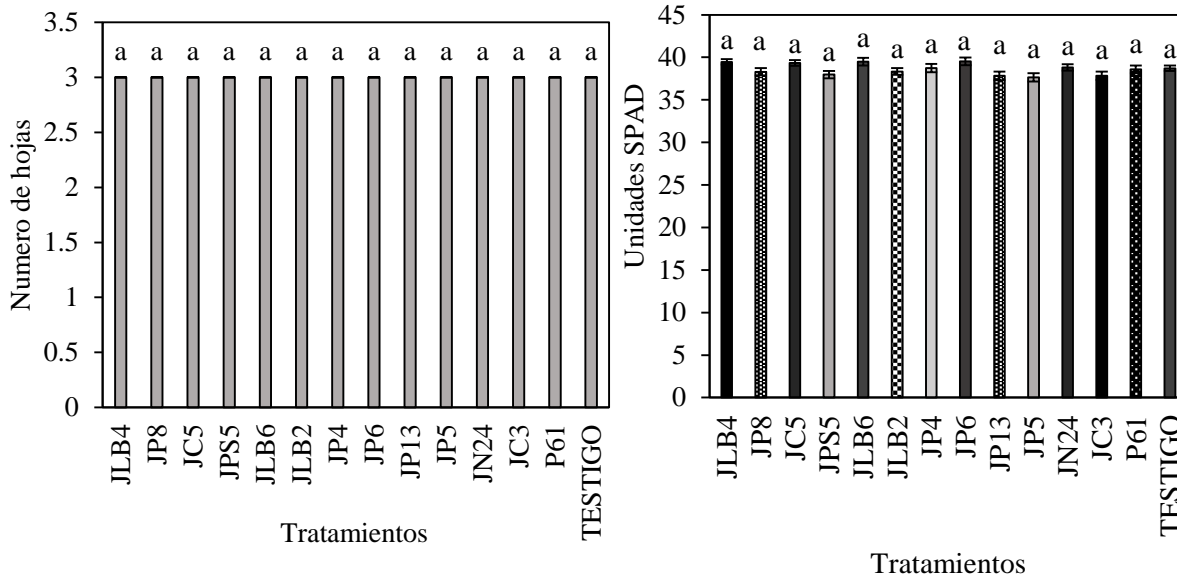


Figura 15. Efecto de inoculación de RPCV en el número de hojas y unidades SPAD de plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum*). Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas (Tukey, $\alpha=0.05$).

Con respecto a el área foliar se observaron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre tratamientos. Diez cepas fueron significativamente superiores al testigo, la más sobresaliente fue JLB2 con 1,65 cm^3 (Cuadro 8). Para el caso del área foliar específica, se observó que las plantas de tomate inoculadas con la rizobacteria JP4 mostraron significativamente ($P \leq 0.05$) mayor área foliar específica con 289.6 $\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$ en comparación con los demás tratamientos (Cuadro 8). Conocer el área foliar y principalmente el área foliar específica nos permite saber como el ambiente o una práctica de manejo del cultivo afecta la eficiencia fotosintética, ya que en las plantas ocurren varios procesos como la senescencia de hojas, maduración del fruto, elongación de entrenudos, dormancia, cierre y apertura de estomas etc, los cuales son reguladas por sustancias fitohormonas como: auxinas, giberelinas, citoquininas, ácido abscísico y etileno. La expansión de las hojas es una indicativo del aumento del área foliar esto se puede deber a que las auxinas y giberelinas participan en el desarrollo de las hojas estimulando el crecimiento y la división celular de estas

(Davies, 2010), esto concide con los resultados obtenidos ya que, la cepa JP4 fue una de las que mas sintetizo AIA como se puede ver en la Figura 9.

Para las variables peso fresco de hojas y tallo de plántulas de tomate, la inoculación con RPCV mostró diferencias altamente significativas. Los tratamientos inoculados con las cepas JLB4 (*Arthobacter pokkalii*) y JN24 (*Arthrobacter enclensis*) fueron estadísticamente superiores al resto de los tratamientos para estas variables con valores entre 0.424 y 0.395 g (Figura 16). La inoculación de las cepas JN24 y JLB4 incrementó la biomasa total en 26 y 78%, respectivamente, en relación al testigo (Cuadro 8). En la investigación de Luna *et al.* (2013), se observó que la inoculación de plántulas de tomate y pimiento con la cepa MA12 del género *Bacillus* incrementó la biomasa en 20% y 37%, respectivamente. Esto indica que el efecto positivo con la cepa JLB4 de la especie *Arthobacter pokkalii* fue superior a lo que reportaron esos autores cuya cepa sobresaliente perteneció al género *Bacillus*.

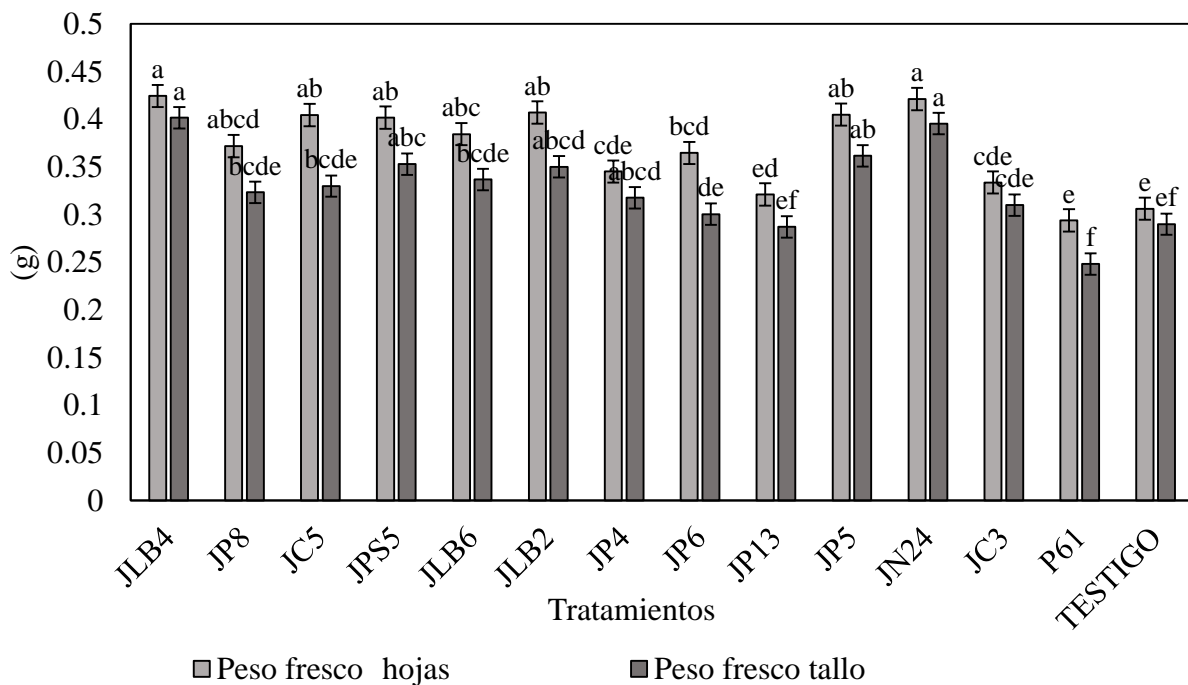


Figura 16. Efecto de inoculación de RPCV en peso fresco de hojas y tallo de plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum*). Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas (Tukey, $\alpha=0.05$).

El análisis estadístico de la variable de peso seco de hoja, tallo, raíz y total presentó diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre tratamientos, siendo JLB4 la cepa que obtuvo el mayor peso seco en las cuatro variables evaluadas en comparación con las otras cepas y el testigo (Cuadro 8). En un estudio, Amaresan *et al.* (2012) encontraron que la inoculación de *Bacillus* sp., *Serratia* sp., *Arthrobacter* sp. y *Serratia marcescens* incrementaron la calidad de plántulas de tomate (*S. lycopersicum*) y chile (*C. annuum*) al haber incrementos en la longitud radical y número de raíces secundarias, mayor altura y producción de biomasa seca.

La cepa JLB4, presentó efectos sobresalientes en el crecimiento de las plántulas de tomate a pesar de que produjeron bajos valores en la subilización fosfato, producción de AIA, y no produjeron sideróforos. Sin embargo, en la búsqueda de información, se encontró que la especie *Arthrobacter pokkali*, al cual pertenece la cepa JLB4, posee características benéficas para el crecimiento de las plantas, dado que puede producir ácido indol acético (AIA) y sideróforos. Además, esta especie forma biopelículas y utiliza varios componentes de los exudados de las raíces de las plantas (azúcares, aminoácidos y ácidos orgánicos) (Krishnan *et al.* 2016), esto podría explicar su efecto positivo en esta investigación.

Cuadro 8. Efecto de las RPCV en volumen radical, área foliar, área foliar específica y peso seco de distintos órganos de las plántulas de tomate.

Cepas	Volumen radical (cm ³)	Área foliar (cm ²)	Área foliar específica (cm ² g ⁻¹).	Peso seco hojas (mg)	Peso seco tallo (mg)	Peso seco raíz (mg)	Peso seco total (mg)
JLB4	1.65 a	18.90 ab	168.3 e	113.53 c	58.90 a	87.17 a	259.6 a
JP8	1.21 bcd	18.35 abc	275.2 ab	69.40 cde	37.82 bc	42.26 cd	149 de
JC5	1.16 cd	19.32 ab	277.2 ab	72.10 cde	35.74 c	56.62 b	164 bcde
JPS5	1.35 bc	18.18 abc	229.9 bcd	81.98 bc	39.83 bc	57.58 b	179 bc
JLB6	1.35 bc	17.00 bcd	236.3 abcd	73.68 cde	37.19 bc	44.55 bcd	155 cde
JLB2	1.42 ab	19.95 a	263.5 abc	77.85bcde	37.58 bc	47.44 bc	162 bcde
JP4	1.18 bcd	16.23 cde	289.6 a	65.85 e	35.93 c	46.93 bc	149 de
JP6	1.23 bc	17.26 bc	268.6 abc	66.62 e	33.67 c	40.86 cd	141 e
JP13	1.12 cd	14.68 def	223.7bcde	67.69 de	36.04 c	46.84 bc	150 de
JP5	1.33 bc	18.73 ab	245.1 abcd	80.51 bcd	39.95 bc	50.03 bc	170 bcd
JN24	1.30 bc	18.47 abc	217.9 cde	87.04 b	43.19 b	56.27 b	186 b
JC3	1.15 cd	14.50 ef	202.0 de	75.44 bcde	37.40 bc	37.40 cd	150 de
P61	0.98 d	12.61 f	255.5 abcd	50.65 f	25.83 d	32.43 d	108 f
TESTIGO	1.16 cd	13.69 f	213.8 cde	65.51 e	34.023 c	46.45 bc	145 de

Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas (Tukey, $\alpha=0.05$).

5.5 Contenido nutrimental

El N es considerado como el nutriente más demandado para el crecimiento de las plantas. En esta investigación el contenido de nitrógeno en los diferentes tratamientos fluctuó entre 1.84 a 0.85 mg planta⁻¹, sobresaliendo el tratamiento inoculado con la cepa JLB4 (*Arthobacter pokkali*), mientras que el valor más bajo se obtuvo en el testigo (Figura 17 A). Por otra parte, el potasio es un nutriente esencial para las plantas debido a que es absorbido en cantidades mayores que cualquier otro nutriente excepto el nitrógeno y tiene las funciones de procesos de osmorregulación, movimiento estomático, elongación celular y participan en el equilibrio iónico etc., (Roy *et al.*, 2006; Njira y Nabwami, 2015; Gómez-Merino *et al.*, 2016). La inoculación de las diferentes cepas tuvo efectos altamente significativas ($P \leq 0.05$) en el contenido de potasio, siendo JLB4 la cepa que obtuvo el mayor aumento en la absorción de potasio con 3,85 mg⁻¹ planta, en comparación con el resto de los demás tratamientos y el testigo; la cepa de referencia (P61) presentó el valor más bajo en el

contenido de potasio (Figura 17 B). El aumento significativo en el crecimiento y el nivel de N y P tanto en el brote como en la raíz tras la inoculación de los aislamientos es una clara indicación de que las cepas bacterianas pueden proporcionar un mejor flujo de nutrientes a la planta y dar como resultado una mayor biomasa. El aumento de la longitud y la masa de las raíces debido a los aislados aplicados también puede ser un factor que contribuya al aumento de la concentración de N y P en el brote y la raíz de la planta. Estos son algunos de los beneficios que mencionan Raklami *et al.* (2019) y que se comprueban en esta investigación. Las rizobacterias también se han aplicado a cultivos de trigo y se han obtenidos buenos resultados como en la investigación de Abbasi *et al.* (2011), quien encontró en trigo que el contenido de N del testigo fue de 1.2 %, y aumentó significativamente a 1.7-2.43 % por la aplicación de diferentes cepas de RPCV.

El fósforo es un macro elemento esencial para el crecimiento de las plantas dado que participa en los procesos metabólicos, tales como la fotosíntesis, la transferencia de energía y la transferencia genética, la síntesis y degradación de los carbohidratos (Njira y Nabwami, 2015). Las diferentes cepas de RPCV presentaron efectos altamente significativos ($P \leq 0.05$) en el contenido de fósforo, siendo JLB4 la cepa que obtuvo el mayor aumento en la absorción de P con 3.85 mg^{-1} planta, en comparación con el resto de los tratamientos y el testigo sin inocular, el tratamiento inoculado con la cepa JP8 presentó el valor más bajo (Figura 18). Todas las cepas seleccionadas incluyendo la de referencia solubilizaron fosfato en medio de cultivo, aunque la cepa JLB4 fue de las que solubilizaron bajas cantidades, en un rango de 22.5 a $38.7 \mu\text{L mL}^{-1}$. Probablemente el mayor contenido de fósforo en las plantas inoculadas con esa cepa se debió a varios mecanismos que afectaron positivamente la raíz, lo que condujo a un incremento en el volumen radical y por lo tanto un aumento en la asimilación de nutrientes (Amaresan *et al.* 2012; Sánchez-López *et al.*, 2012). De acuerdo con Coutinho *et al.* (2012) el aumento en la concentración de P de la planta se

atribuye al hecho de que las RPCV tienen la capacidad de solubilizar fosfatos insolubles, lo que los hace disponibles para las plantas a través de diferentes mecanismos como la acidificación, la quelación y las reacciones de intercambio iónico. Los resultados mostraron efectos positivos de la inoculación con rizobacterias principalmente con la cepa *Arthobacter pokkalii* (JLB4), la cual aumentó el contenido de N, P y K en el material vegetal de las plántulas en 130 %, 100 % y 86 %, respectivamente. Así mismo, Shen *et al.* (2016) aisló bacterias y en las pruebas de caracterización las cepas mostraron tener actividades de RPCV, mejoraron el crecimiento y desarrollo de las plantas de kiwi (*Actinidia chinensis*) al proporcionar nutrientes esenciales como nitrógeno, fósforo y potasio.

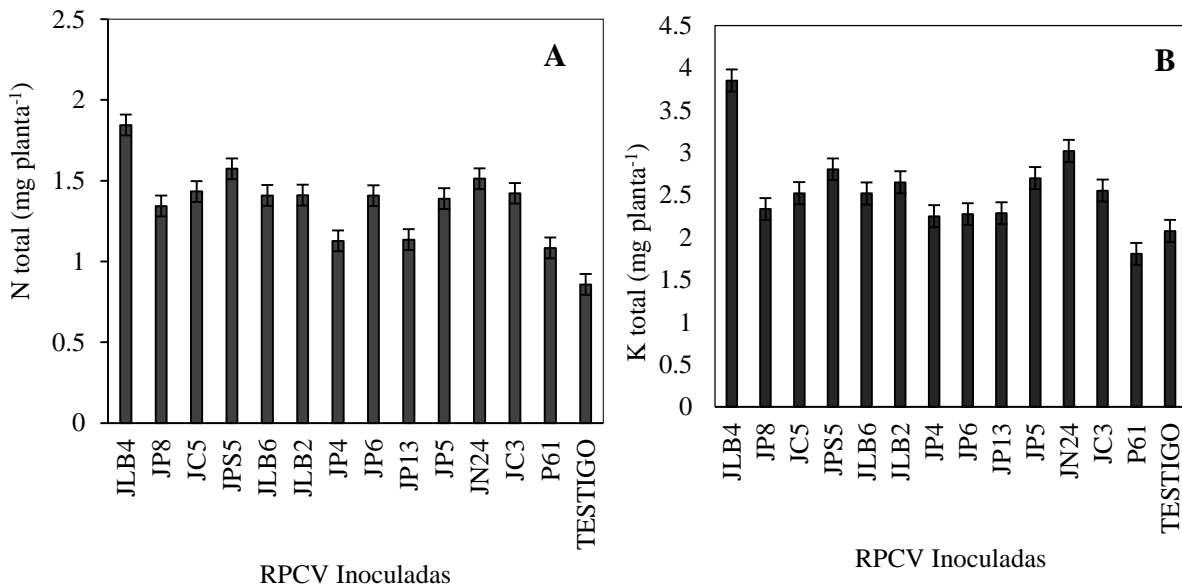


Figura 17. Contenido total de nitrógeno (A) y potasio (B), de plantulas de tomate (*Solanum lycopersicum*), por efecto de la inoculación de cepas de rizobacterias promotora del crecimiento vegetal. ± Error estándar.

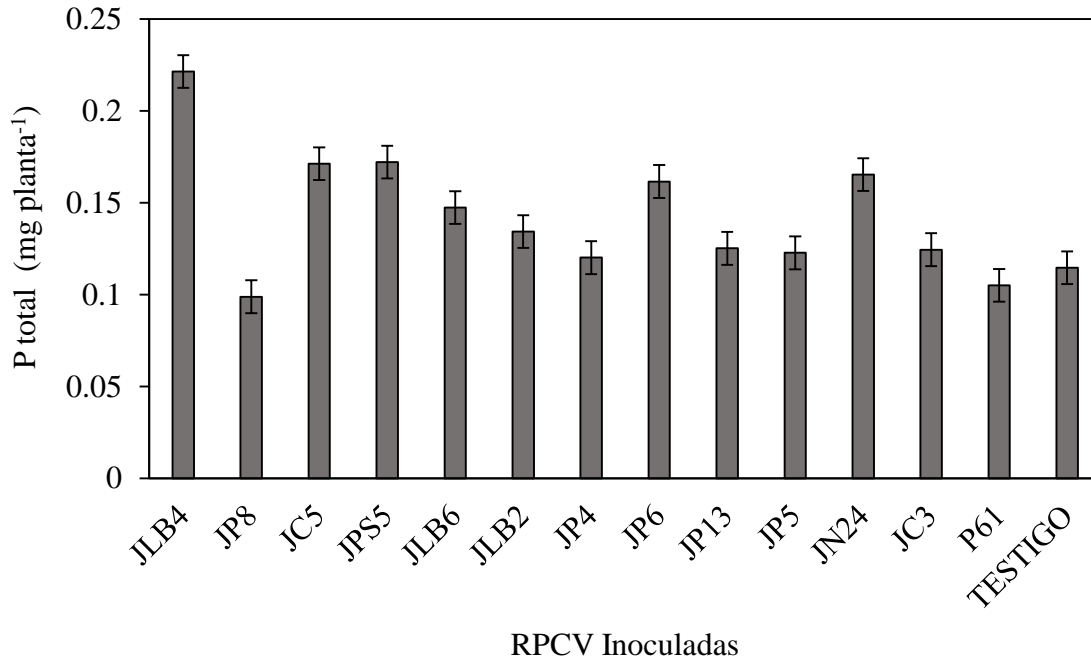


Figura 18. Contenido de fósforo de plantulas de tomate (*Solanum lycopersicum*), por efecto de la inoculación de cepas de rizobacterias promotora del crecimiento vegetal. ± Error estándar.

VI. CONCLUSIONES

Las 12 cepas de RPCV seleccionadas pertenecieron a siete especies: *Arthobacter pokkalii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Arthrobacter enclensis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus drentensis*, *Staphylococcus equorum* y *Pseudarthrobacter* sp.

Seis cepas exhibieron una fuerte capacidad de solubilizar P con valores que van de 118.9 y hasta 300 $\mu\text{g mL}^{-1}$ y solo una cepa produjo la mayor cantidad de AIA con un valor de 10.4 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Las cepas JP5 y JP8 (*Pseudomonas aeruginosa*) presentaron capacidad antagónica contra *Rhizoctonia solani* y contra *Fusarium*.

Los resultados del experimento con plántulas de tomate mostraron efectos positivos de la inoculación con rizobacterias principalmente con la cepa *Arthobacter pokkalii* (JLB4), la cual aumento el contenido de N, P y K en el material vegetal de las plántulas en 130%, 100% y 86%, respectivamente. En consecuencia, estos efectos dieron como resultado una mayor altura, biomasa vegetal, volumen radical y peso seco total. Los resultados del presente estudio indicaron que esta cepa bacteriana podría tener potencial para ser utilizado como biofertilizante para mejorar la fertilidad del suelo y el crecimiento de las plantas en invernadero.

VII. LITERATURA CITADA

- Abbasi, M.K., Sharif, S., Kazmi, M., Sultan, T., y Aslam, M. 2011. Isolation of plant growth promoting rhizobacteria from wheat rhizosphere and their effect on improving growth, yield and nutrient uptake of plants. *Plant Biosyst.* 145(1): 159-168. <https://doi.org/10.1080/11263504.2010.542318>.
- Abbaspoura, K., Rouholahnejada, E., Vaghefia, S., Srinivasan, B., Yanga, H., y Kloved, B. 2015. Continental-scale hydrology and water quality model for Europe: calibration and uncertainty of a high-resolution large-scale SWAT model. *J Hydrol.* 524: 733–752. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2015.03.027>.
- Adam, M., Heuer, H., y Hallmann, J. 2014. Bacterial antagonists of fungal pathogens also control root-knot nematodes by induced systemic resistance of tomato plants. *Plos One.* 9:1–9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0090402>.
- Aguado-Santacruz, G.A., Moreno-Gómez, B., Jiménez-Francisco, B., García-Moya, E., y Preciado-Ortiz, R.E. 2012. Impacto de los sideróforos microbianos y fitosidéforos en la asimilación de hierro por las plantas: una síntesis. *Revista fitotecnia Mexicana.* 35(1): 9-21.
- Ahemad, M., y Kibret, M. 2014. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspectives. *J King Saud University-science.* 26(1): 1-20. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2013.05.001>.
- Alfonso, E.T., Leyva, Á., y Hernández, A. 2005. Microorganismos benéficos como biofertilizantes eficientes para el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill). *Revista colombiana de Biotecnología.* 7(2): 47-54.
- Ali, S.S., y Vidhale, N.N. 2013. Bacterial siderophore and their application: a review. *Int J Curr Microbiol App Sci.* 2(12): 303-312.
- Almaraz-Suárez, J.J., Pineda-Mendoza, D.Y., Heredia-Acuña, C. 2020. Métodos prácticos para el estudio de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. En: *Microbiología aplicada a la Agricultura y Agroecosistemas, Principios y Técnicas para su Investigación.* (Ed. Ferrera CR, Delgadillo MJ, Alarcón A, Alvarado LJ, Pérez MJ, Almaraz SJJ), pp. 227-240. Primera edición. Editorial del Colegio de Postgraduados.
- Álvarez, E.C. 2018. Centro Nacional De Tecnología Agropecuaria y Forestal. Disponible en: http://centa.gob.sv/docs/guias/hortalizas/Guia%20Centa_Tomate%202019.pdf. (Consultado el 24 de febrero de 2020).

- Amareesan, N., Jayakumar, V., Kumar, K., y Thajuddin, N. 2012. Isolation and characterization of plant growth promoting endophytic bacteria and their effect on tomato (*Lycopersicon esculentum*) and chilli (*Capsicum annuum*) seedling growth. *Annals of microbiology*. 62(2): 805-810. 10.1007/s13213-011-0321-7.
- Antoun, H. 2013. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR). In *Encyclopedia of Genetics*. Academic Press, New York. 2(5): 1477–1480. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374984-0.01169-4>.
- Argueso, C.T., Ferreira, F.J., y Kieber, J.J. 2009. Environmental perception avenues: the interaction of cytokinin and environmental response pathways. *Plant Cell y Environment*. 32(9): 1147-1160. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2009.01940.x>
- Arkhipova, T.N., Prinsen, E., Veselov, S.U., Martinenko, E.V., Melentiev, A.I., y Kudoyarova G.R. 2007. Cytokinin producing bacteria enhance plant growth in drying soil. *Plant Soil*. 292:(1) 305-315. 10.1007/s11104-007-9233-5.
- Arkhipova, T.N., Veselov, S.U., Melentiev, A.I., Martynenko, E.V., y Kudoyarova, G.R. 2005. Ability of bacterium *Bacillus subtilis* to produce cytokinins and to influence the growth and endogenous hormone content of lettuce plants. *Plant Soil*. 272: (1) 201-209. 10.1007/s11104-004-5047-x.
- Baca, B.E., y Elmerich, C. 2007. Microbial production of plant hormones. en: elmerich c, newton We, editores. *Associative and endophytic nitrogen-fixing bacteria and cyanobacterial associations*. Dordrecht, netherlands: Kluwer Academic Publishers. 5:113-143. https://doi.org/10.1007/1-4020-3546-2_6.
- Banerjee, S., Palit, R., Sengupta, C., y Standing, D. 2010. Stress induced phosphate solubilization by *Arthrobacter* sp. and *Bacillus* sp. Isolated from tomato rhizosphere. *Australian Journal of crop science*. 4(6): 378-383. <https://search.informit.org/doi/10.3316/informit.414789554792811>.
- Barriuso, J., Solano, B.R., Lucas, J.A., Lobo, A.P., Villaraco, A.G., y Mañero, F.J.G. 2008. *Ecology, Genetic Diversity and Screening Strategies of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)*. Wiley-Vch Verlag GmbH and Co. KGaA, Weinheim, Edited by Ahmad I, Pichtel J, Hayat S. 1-17 p. 10.1002 / 9783527621989.
- Bashan, Y., Kamnev, A.A., de-Bashan, L.E. 2013. Tricalcium phosphate is inappropriate as a universal selection factor for isolating and testing phosphate-solubilizing bacteria that enhance plant growth: a proposal for an alternative procedure. *Biology and Fertility of Soils*. 49(4): 465-479. Doi 10.1007/s00374-012-0737-7.

- Bashan, Y., y Dubrovsky, J. G. 1996. *Azospirillum* spp. participation in dry matter partitioning in grasses at the whole plant level. *Biology and fertility of soils*. 23(4): 435-440.
- Basu, S., Rabara, R., y Negi, S. 2017. Towards a better greener future an alternative strategy using biofertilizers. I: Plant growth promoting bacteria. *Plant Gene*. 12: 43–49. <https://doi.org/10.1016/j.plgene.2017.07.004>.
- Baudoin, A. 2017. Manual Técnico de Producción de Tomate con Enfoque de Buenas Prácticas Agrícolas Ministerio de Desarrollo Rural y Tierras (MDRyT). Viceministerio de Desarrollo Rural y Agropecuario (VDRA). Disponible en: <https://www.bivica.org/files/tomate-manual-tecnico.pdf>. (Consultado el 15 de febrero de 2020).
- Beltrano, J., y Gimenez, D. 2015. Cultivo en hidroponía. Editorial de la Universidad Nacional de La Plata (EDULP).
- Bakker, P. A., Berendsen, R. L., Doornbos, R. F., Wintermans, P. C., y Pieterse, C. M. 2013. The rhizosphere revisited: root microbiomics. *Frontiers in plant science*. 4; 165.
- Bhattacharjee, R., y Dey, U. 2014. Biofertilizer, a way towards organic agriculture: a review. *African Journal of Microbiology Research*. 8(24): 2332-2343. 10.5897/AJMR2013.6374.
- Bhattacharyya, R., Kundu, S., Srivastva, A.K., Gupta, H.S., Prakash, V., y Bhatt, J.C. 2011. Long term fertilization effects on soil organic carbon pools in a sandy loam soil of the Indian sub-Himalayas. *Plant Soil*. 341(1): 109–124. 10.1007/s11104-010-0627-4.
- Binenbaum, J., Weinstain, R., Shani, E. 2018. Gibberellin localization and transport in plants. *Trends Plant Sci*. 23(5): 410-421. 10.1016/j.tplants.2018.02.005.
- Biswas, J.K., Banerjee, A., Rai, M., Naidu, R., Biswas, B., Vithanage, M., Dash, M.C., Sarkar, S.K., Meers, E. 2018. Potential application of selected metal resistant phosphate solubilizing bacteria isolated from the gut of earthworm (*Metaphire posthuma*) in plant growth promotion. *Geoderma*. 330: 117-124. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2018.05.034>.
- Bömke, C., y Tudzynski, B. 2009. Diversity, regulation and evolution of the gibberellin biosynthetic pathway in fungi compared to plants and bacteria. *Phytochemistry* 70: (15-16) 1876–1893.
- Brencic, A., y Winans, C. 2005. Detection of and response to signals involved in host-microbe interactions by plant-associated bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 69(1): 155-194.

- Burdman, S., Jurkevitch, S., y Okon, Y. 2000. Recent advances in the use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in agriculture. En: Microbial interactions in agriculture and forestry. (Ed. Subba NS, y Dommergues YR). University of Jerusalem, Rehovot 76100, Israel. 2: 229-250.
- Calvo, P., y Zúñiga, D. 2010. Caracterización fisiológica de cepas de *Bacillus* spp. aisladas de la rizósfera de papa (*Solanum tuberosum*). Ecología aplicada. 9(1): 31-39.
- Camelo, M., Vera, S.P., y Bonilla, R.R. 2011. Mecanismos de acción de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. Ciencia y Tecnología Agropecuaria. 12(2): 159-166.
- Campos, C.M.R., y Gómez, L.B.E. 2015. Estudio de bacterias promotoras de crecimiento de plantas aisladas de zonas naturales protegidas del estado de Guanajuato (visión de conservación). Universidad de Guanajuato. 1:(2) 1-4.
- Carvajal, T.Z., Ramírez, Z.L., Ducurú, M., Gómez, V., Cabrera, G., Méndez, J., y Rodríguez Ortega, M. 2013. Actividad biológica de extractos de tres plantas sobre bacterias patógenas para el humano. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología. 33(1): 35-39.
- Cassán, F., Bottini, R., Schneider, G., y Piccoli, P. 2001. *Azospirillum brasilense* and *Azospirillum lipoferum* hydrolyze conjugates of GA20 and metabolize the resultant aglycones to GA1 in seedlings of rice dwarf mutants. Plant Physiology. 125(4): 2053-2058.
- Clark, M.S., Ophir, Y., Barash, I., y Gafni, Y. 1993. Cloning and characterization of *iaaM* and *iaaH* from *Erwinia herbicola* pathovar *gypsophilae*. Phytopathology. 83(2): 234-240.
- Colombo, C., Palumbo, G., He, J. Z., Pinton, R., y Cesco, S. 2014. Review on iron availability in soil: interaction of Fe minerals, plants, and microbes. Journal of soils and sediments, 14(3); 538-548.
- CONABIO (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad). 2006. Capital natural y bienestar social. 18.
- Coutinho, F.P., Felix, W.P., y Yano, M.A.M. 2012. Solubilization of phosphates in vitro by *Aspergillus* spp. and *Penicillium* spp. Ecological Engineering. 42: 85-89. 10.1016/j.ecoleng.2012.02.002.
- David, E.M. 2020. Aspectos principales de éxito en el cultivo de pepino. Estación experimental de cajamar. 1-36 p.
- David, P., Raj, R.S., Linda, R., y Rhema, S.B. 2014. Molecular characterization of phosphate solubilizing bacteria (PSB) and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) from pristine

- soils. *International Journal of Innovative Science, Engineering yTechnology*. 1(7): 317-324.
- Davière, J.M., y Achard, P. 2013. Gibberellin signaling in plants. *Development*. 140(6): 1147-1151.
- Davies, P. J. 2010. The plant hormones: their nature, occurrence, and functions. In *Plant hormones*. Springer, Dordrecht. 1-15 p.
- Delgado, A.M.M., Miralles, I.H.R., Masaguer, R.A., y Martín, S.V. 2016. Estudio de turbas y residuos avícolas procedentes de pollo de engorde como componente de sustratos de cultivo. *Revista internacional de contaminación ambiental*. 32(4): 455-462.
- Dodd, I.C., Zinovkina, N.Y., Safronova, V.I., y Belimov, A.A. 2010. Rhizobacterial mediation of plant hormone status. *Annals of Applied Biology*. 157(3): 361-379.
- Escobar, H., y Lee, R. 2009. Manual de producción de tomate bajo invernadero. Universidad Jorge Tadeo Lozano. Disponible en: https://www.utadeo.edu.co/files/node/publication/field_attached_file/pdf-manual_produccion_de_tomate_-_pag.-_web-11-15.pdf. (Consultado el 24 de febrero de 2020).
- Espinosa, O.J., Trillos, G.O.; Hoyos, S.A., Afanador, K.L., y Correa, L.C. 2005. Potencial de propagación in vitro para el tomate de árbol partenocárpico *Cyphomandra betacea* Cav. (Sendt). *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*. 58: 1-12.
- Etchevers, J.D. 1987. Determinación de nitrógeno en suelos. In: Aguilar, S.A.; Etchevers, J.D. y Castellanos, R.J. Z. (Eds.). *Análisis químico para evaluar la fertilidad del suelo*. Publicación Especial Núm. 1. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo. 45-83 p.
- FAO. (Food and Agriculture Organization of the United Nations Trade). 2011. Producción de hortalizas. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-as972s.pdf>. (Consultado el 21 de septiembre del 2019).
- Feng, M.J.F. 2005. Plant root responses to three abundant soil minerals: silicon, aluminum and iron. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 24(4): 267-281.
- Fernández, M.M.; Aguilar, M.I.; Carrique J.R.; Tortosa, J.; García, C.; López, M.; Pérez, J.M. 1998. *Suelo y medio ambiente en invernaderos*. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía. Sevilla.

- Fibach-Paldi, S., Burdman, S., Okon, Y. 2012. Key physiological properties contributing to rhizosphere adaptation and plant growth promotion abilities of *Azospirillum brasilense*. FEMS Microbiology Letters. 326(2): 99-108.
- 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. Disponible en: <https://es.slideshare.net/gcamachob/produccion-de-hortalizas-en-mexico>. (Consultado el 20 de septiembre del 2019).
- FIRA. (Fideicomisos instituidos en relación con la agricultura). 2017. Panorama Agroalimentario tomate rojo. 1-9 p.
- Foster, R.C. (1998). Microenvironments of soil microorganisms. Biology and fertility of soils. 6(3): 189-203.
- Fraser, P., Enfissi, M., y Bramley, P. 2009. Genetic engineering of carotenoid formation in tomato fruit and the potential application of systems and synthetic biology approaches. Archives of Biochemistry and Biophysics. 483(2): 196-204.
- Frébort, I., Kowalska, M., Hluska, T., Frébortová, J., y Galuszka, P. 2011. Evolution of cytokinin biosynthesis and degradation. Journal of Experimental Botany. 62(8): 2431-2452.
- Gamalero, E., y Glick, B.R. 2011. Mechanisms used by plant growth promoting bacteria. In: D.K. Maheshwari (Ed.). Bacteria in agrobiología: Plant nutrient management. Springer-Verlag. Heidelberg, Germany. 1-30 p.
- Garay-Arroyo A, de la Paz Sánchez M, García-Ponce B, Álvarez-Buylla ER, y Gutiérrez C. 2014. La Homeostasis de las Auxinas y su Importancia en el Desarrollo de *Arabidopsis Thaliana*. Revista de Educación Bioquímica. 33(1): 13-22.
- García, C., Passerini, De Rossi, B., Alcaraz, E., Vay, C., y Franco, M. 2012. Siderophores of *Stenotrophomonas maltophilia*: detection and determination of their chemical nature. Revista Argentina de Microbiología. 44(3): 150-154.
- García, S.I.E., Vázquez, S., Penna, C., y Cassán, F. 2012. Rizosfera, biodiversidad y agricultura sustentable. Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Buenos Aires. Argentina. Asociación Argentina de Microbiología. 1-340 p.
- Giuffrida, F., Leonardi, C., y Marfà, O. 2007. Substrate reuse in tomato soilless cultivation. In International Symposium on High Technology for Greenhouse System Management: Greensys. 1577-1582. 10.17660/ActaHortic.2008.801.195.

- Glick, B.R. 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Canadian journal of microbiology*. 41(2): 109-117. <https://doi.org/10.1139/m95-015>.
- Glick, B.R. 2005. Modulation of plant ethylene levels by the bacterial enzyme ACC deaminase. *FEMS Microbiol Lett*. 251: 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.femsle.2005.07.030>.
- Glick, B.R. 2012. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica*. <https://doi.org/10.6064/2012/963401>.
- Gómez-Merino, F.C., Trejo-Téllez, L.I., Alcántar-González, G.L. 2016. Nutrición molecular de N, P y K en plantas. En: *Nutrición de cultivos* (Ed. Alcántar-González, L. I. Trejo-Téllez y F.C. Gómez-Merino), pp. 394-419. Segunda edición. México.
- González, M.A., Almaraz, S.J.J., Ferrera, C.R., Rodríguez, G.M.D.P., Taboada, G.O.R., Trinidad, S.A., y Arteaga, G.R.I. 2017. Caracterización y selección de rizobacterias promotoras de crecimiento en plántulas de chile poblano (*Capsicum annuum* L.). *Revista internacional de contaminación ambiental*. 33(3): 463-474. <https://doi.org/10.20937/rica.2017.33.03.09>.
- Gu, Y., Meng, D., Yang, S., Xiao, N., Li, Z., Liu, Z., y Yin, H. 2019. Invader-resident community similarity contribute to the invasion process and regulate biofertilizer effectiveness. *Journal of Cleaner Production*. 241: 118278. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.118278>.
- Gül, A., Özaktan, H., Yolageldi, L., y Çakır, B. 2016. Rhizobacteria promoted growth and yield of tomato plants and control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. In III International Symposium on Organic Greenhouse Horticulture. 1164: 345-352. [10.17660/ActaHortic.2017.1164.44](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2017.1164.44).
- Guzmán, A., Antúnez, A., Corradini, F., Riquelme, J., Raihuén, J., Martínez, C., Allende, M., Olivares, N., Abarca, P., Sepúlveda, P., Rayentué, y Felmer, E. 2017. Manual de cultivo del tomate al aire libre. Instituto de Desarrollo Agropecuario. Instituto de Investigaciones Agropecuario. Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA).
- Gyaneshwar, P., Naresh, G., Kumar, L., Parekh, J., y Poole, P. 2002. Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. *Plant and Soil*. 245: 83-93.
- Hafeez, F., Amin, B.A., Akbar, U., Iqbal, A., Faridullah, B.M., y Nazir, R. 2019. Assessment of phosphorus availability in soil by introducing P-solubilizing novel bacterial and fungal strains of Lower Himalaya. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 50(13): 1541-1549. <https://doi.org/10.1080/00103624.2019.1626872>.
- Haifa. 2014. Recomendaciones nutricionales para el tomate en campo abierto, acolchado o túnel e invernadero. Disponible en:

- http://www.haifagroup.com/spanish/search_results/?searchq=TOMATE#search_results.
(Consultado el 15 de diciembre de 2020).
- Hall, T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98 / NT. Nucl Acids Symp Ser 41: 95-98.
- Halo, B.A., Khan, A.L., Waqas, M., Al-Harrasi, A., Hussain, J., Ali, L., Adnan, .M., Lee, I.-J. 2015. Endophytic bacteria (*Sphingomonas* sp. LK11) and gibberellin can improve *Solanum lycopersicum* growth and oxidative stress under salinity. J. Plant Int. 10: 117-125, 10.1080/17429145.2015.1033659.
- Hanna, H.Y. 2005. Properly recycled perlite saves money, does not reduce greenhouse tomato yield, and can be reused for many years. HortTechnology. 15(2): 342-345. <https://doi.org/10.21273/HORTTECH.15.2.0342>.
- Hartmann, A., Singh, M., y Klingmüller. W. 1983. Isolation and characterization of *Azospirillum mutants* excreting high amounts of indoleacetic acid. Can J Microbiol. 29(8): 916-923. <https://doi.org/10.1139/m83-147>.
- Hedden, P., y Sponsel, V. 2015. A century of gibberellin research. Journal of plant growth regulation 34(4): 740-760.
- Hernández, J., García, R., Valdivia, R., y Omaña, S. 2004. Evolución de la competitividad y rentabilidad del cultivo del tomate rojo (*Lycopersicon esculentum* L.). Instituto de Socioeconomía. Estadística e Informática. Colegio de Postgraduados.
- Hider, R.C., y Kong, X. 2010. Chemistry and biology of siderophores. Natural product reports. 27(5): 637-657.
- Hiltner, L. 1904. Über neuerer erfahrungern und problem auf dem gebiet der bodenbakteriologie und unter besonderer berucksichtigung der grundung und brache. Arbeiten Deutscher Landwirtschafts Gesellschaft. 98: 59-78.
- Höfte, M., Seong, K.Y., Jurkevitch, E., y Verstraete, W. 1991. Pyoverdinin production by the plant growth beneficial *Pseudomonas* strain 7NSK 2: Ecological significance in soil. Plant and soil 130(1): 249-257.
- Irlinger, F., Loux, V., Bento, P., Gibrat, J.F., Straub, C., Bonnarne, P., y Monnet, C. 2012. Genome sequence of *Staphylococcus equorum* subsp. *equorum* Mu2, isolated from a French smear-ripened cheese. Journal of Bacteriology. 194(18): 5141–5142. 10.1128/JB.01038-12.

- Izzeddin, N., y Medina, L. 2011. Efecto del control biológico por antagonistas sobre fitopatógenos en vegetales de consumo humano. *Salus*. 15(3): 8-12.
- Jahan, M., Mahallati, M.N., Amiri, M.B., y Ehyayi, H.R. 2013. Radiation absorption and use efficiency of sesame as affected by biofertilizers inoculation in a low input cropping system. *Ind. Crops Prod.* 43: 606-611. 10.1016/j.indcrop.2012.08.012.
- Jaramillo, N.J, Rodríguez., V.P., Guzmán, A.M., Zapata, C.M., y Rengifo, M.T. 2007. Buenas prácticas agrícolas (BPA) en la producción de tomate bajo condiciones protegidas. Manual técnico. Primera edición. CTP Print Ltda. Colombia. 314 p. Disponible en: https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/20.500.12324/13469/43123_50544.pdf?squence=1&isAllowed=y. (consultado el 15 de diciembre de 2020).
- Javid, M. G., Sorooshzadeh, A., Moradi, F., Modarres Sanavy, S. A. M., y Allahdadi, I. 2011. The role of phytohormones in alleviating salt stress in crop plants. *Australian Journal of Crop Science*. 5(6): 726-734.
- Jha, C.K., y Saraf, M. 2012. Evaluation of multispecies plantgrowth-promoting consortia for the growth promotion of *Jatropha curcas* L. *J. Plant Growth Regul.* 31: 588-598. 10.1007/s00344-012-9269-5.
- Jiménez, M.E., Chavarría, A., y Rizo, Á. 2011. Manejo de mosca blanca (*Bemisia tabaci* Gennadius.) y geminivirus en semilleros de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) bajo protección física y química y su efecto en la producción. *La Calera*. 11(17): 5-13. <https://doi.org/10.5377/calera.v11i17.772>.
- Jordán, M., y Casaretto, J. 2006. Hormonas y reguladores del crecimiento: auxinas, giberelinas y citocininas. En: *Fisiología Vegetal*. (Ed. Squeo FA, Cardemil L). Ediciones Universidad de La Serena, Chile. 15: 1-28.
- Kamilova, F., Kravchenko, L.V., Shaposhnikov, A.I., Azarova, T., Makarova, N., Lugtenberg, B. 2006. Organic acids, sugars, and L-tryptophane in exudates of vegetables growing on stonewool and their effects on activities of rhizosphere bacteria. *Mol Plant Microbe Interact.* 19(3): 250-256. <https://doi.org/10.1094/MPMI-19-0250>.
- Kang, S.M., Waqas, M., Khan, A.L., y Lee. I.J. 2014. Plant-growth-promoting rhizobacteria: potential candidates for gibberellins production and crop growth promotion. Springer, New York, NY. 1-19 P.
- Karadeniz. A., Topcuoglu, S.F, Inan, S. 2006. Auxin, gibberellin, cytokinin and abscisic acid production in some bacteria. *World J Microbiol Biotechnol.* 22:1061-1064.

- Kaymak, H.C., 2010. Potential of PGPR in agricultural innovations. En: Plant growth and health promoting bacteria. (Ed. Mohammad M). Springer, New York, NY. 45-79 p.
- Keswani, C., Singh, S.P., Cueto, L., García-Estrada, C., Mezaache-Aichour, S., Glare, T.R., y Sansinenea, E. 2020. Auxins of microbial origin and their use in agriculture. Applied Microbiology and Biotechnology. 1-17 p. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10890-8>.
- Keyur, P., Dweipayan, G., Pinakin, D., y Janki, T. 2015. Techniques to Study Microbial Phytohormones. En: Bacterial metabolites in sustainable agroecosystem. (Ed. Maheshwari DK). Springer International Publishing Switzerland. 1-27 p.
- Khan, M.S., Zaidi, A., y Wani, P.A. 2007. Role of phosphate-solubilizing microorganisms in sustainable agriculture a review. Agronomy for sustainable development. 27(1): 29-43. 10.1051/agro:2006011.
- Kıdo, G., Gül, A., Tüzel, Y., y Özaktan, H. 2009. Yield enhancement of hydroponically grown tomatoes by rhizobacteria. Acta Horticulturae. 807: 475-480. 10.17660/ActaHortic.2009.807.68.
- Kieber, J.J., y Schaller, G.E. 2014. Cytokinins. The Arabidopsis Book/American Society of Plant Biologists. 12. 10.1199/tab.0168.
- Kifle, M.H., Laing, M.D. 2011. Determination of optimum dose and frequency of application of free-living diazotrophs (FLD) on lettuce. African Journal of Agricultural Research. 6(3): 671-675.
- Kobayashi, T., y Nishizawa, N. 2015. Intracellular iron sensing by the direct binding of iron to regulators. Front Plant Sci. 6:155. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00155>.
- Kramer, J., Özkaya, Ö., y Kümmerli, R. 2020. Bacterial siderophores in community and host interactions. Nature Reviews Microbiology. 18(3): 152-163. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0284-4>.
- Krishnan, R., Menon, R.R., Tanaka, N., Busse, H.J., Krishnamurthi, S., y Rameshkumar, N. 2016. *Arthrobacter pokkali* sp nov, a novel plant associated actinobacterium with plant beneficial properties, isolated from saline tolerant pokkali rice, Kerala, India. PLoS one. 11(3). e0150322. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0150322>.
- Kudo, T., Kiba, T., y Sakakibara, H. 2010. Metabolism and long-distance translocation of cytokinins. Journal of Integrative Plant Biology. 52(1): 53-60. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2010.00898.x>.

- Kudoyarova, G. R., Arkhipova, T. N., y Melent'ev, A. I. 2015. Role of bacterial phytohormones in plant growth regulation and their development. In *Bacterial metabolites in sustainable agroecosystem*. Springer, Cham. 69-86 p.
- Kumar, R.S, Ayyadurai, N., Pandiaraja, P., Reddy, A.V., Venkateswarlu, Y., Prakash, O., y Sakthivel, N. 2005. Characterization of antifungal metabolite produced by a new strain *Pseudomonas aeruginosa* PUPa3 that exhibits broad-spectrum antifungal activity and biofertilizing traits. *Journal of applied Microbiology*. 98(1): 145-154. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02435.x>.
- Lee, S., Ahn, S., Sim, S., Lee, M., Seo. S., Kim, S., Park, Y., y Kang. S. 2010. *Pseudomonas* sp. LSW25R, antagonistic to plant pathogens, promoted plant growth, and reduced blossom-end rot of tomato fruits in a hydroponic system. *Eur. J. Plant Pathol*. 126(1):1-11. 10.1007/s10658-009-9514-3.
- Leghari, S.J., Wahocho, N.A., Laghari, G.M., Hafeez, L.A., Mustafa, B.G., Hussain, T.K., y Lashari, A.A. 2016. Role of nitrogen for plant growth and development: A review. *Advances in Environmental Biology*. 10(9): 209-219.
- Lichter, A., Barash, I., Valinsky, L., y Manulis, S. 1995. The genes involved in cytokinin biosynthesis in *Erwinia herbicola* pv. gypsophilae: Characterization and role in gall formation. *J Bacteriol*. 177(15):4457-4465. 10.1128/jb.177.15.4457-4465.1995.
- Limtong, S., y Koowadjanakul, N. 2012. Yeasts from phylloplane and their capability to produce indole-3-acetic acid. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 28(12): 3323-3335. 10.1007/s11274-012-1144-9.
- Liu, C., Mou, L., Yi, J., Wang, J., Liu, A., y Yu, J. 2019. The eno gene of *Burkholderia cenocepacia* strain 71-2 is involved in phosphate solubilization. *Curr Microbiol*. 76: 495-502. <https://doi.org/10.1007/s00284-019-01642-7>.
- Liu, F., Xing, S., Ma, H., y Du, Z.B. 2013. Cytokinin-producing, plant growth-promoting rhizobacteria that confer resistance to drought stress in *Platycladus orientalis* container seedlings. *Applied microbiology and biotechnology*. 97(20): 9155-9164. 10.1007/s00253-013-5193-2.
- Liu, Y., Wu, L., Baddeley, J.A., y Watson, C.A. 2011. Models of biological nitrogen fixation of legumes. En: *Sustainable Agriculture 2* (Ed. Lichtfouse E, Marjolaine HMN, y Philippe D). Springer Dordrecht Heidelberg London New York. 883-905 p.
- Ljung, K. 2013. Auxin metabolism and homeostasis during plant development. *Development*. 140: 943-950. 10.1242/dev.086363.

- López, M.L. 2016. Manual técnico del cultivo de tomate *Solanum lycopersicum* (No. IICA F01). Programa Regional de Investigación e Innovación por Cadenas de Valor Agrícola IICA, San José (Costa Rica) Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria Unión Europea, Madrid (España). Disponible en: <http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/F01-10921.pdf>. (Consultado el 15 de febrero de 2020).
- López-Elías J, Rodríguez JC, Huez MA, Garza S, Jiménez J, y Leyva EI. 2011. Producción y calidad de pepino (*Cucumis sativus* L.) bajo condiciones de invernadero usando dos sistemas de poda. *Idesia (Arica)* 29(2): 21-27. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292011000200003>.
- Louden, B.C., Haarmann, D., y Lynne, A.M. 2011. Use of blue agar CAS assay for siderophore detection. *Journal of microbiology and biology education*. 12(1): 51.
- Lugtenberg, B., Kamilova, F. 2009. Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annual review of Microbiology*. 63: 541-56.
- Lugtenberg, B. 2015. Life of microbes in the rhizosphere. In *Principles of plant-microbe interactions*. Springer, Cham. 7-15 p.
- Luna, M.L., Martínez, P.R.A., Hernández, I.M., Arvizu, M.S.M., y Pacheco, A.J.R. 2013. Caracterización de rizobacterias aisladas de tomate y su efecto en el crecimiento de tomate y pimiento. *Revista fitotecnia mexicana*. 36(1): 63-69.
- Mahmood, S.I., Daur, S.G., Al-Solaimani, S., Ahmad, M.H., Madkour, M., Yasir, H., Hirt, S.A., y Ali, Z. 2016. Plant growth promoting rhizobac and silicon synergistically enhance salinity tolerance of mung bean. *Front Plant Sci*. 7: 1-14. doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00876>.
- Mahmud, K., Makaju, S., Ibrahim, R., y Missaoui, A. 2020. Current progress in nitrogen fixing plants and microbiome research. *Plants*. 9(1): 97. <https://doi.org/10.3390/plants9010097>.
- Malik, D.K., Sindhu, S.S. 2011. Production of indole acetic acid by *Pseudomonas* sp: effect of coinoculation with *Mesorhizobium* sp. Cicer on nodulation and plant growth of chickpea (*Cicer arietinum*). *Physiol. Mol. Biol. Plants*. 17: 25-32. 10.1007/s12298-010-0041-7.
- Malusá, E., y Vassilev, N. 2014. A contribution to set a legal framework for biofertilisers. *Appl Microbiol Biot*. 98: 6599-6607. 10.1007/s00253-014-5828-y.
- Mantilla-Paredes, A.J., Cardona, G.P., Murcia, U., Rodríguez, M., y Zambrano, M.M. 2009. Distribución de bacterias potencialmente fijadoras de nitrógeno y su relación con

- parámetros fisicoquímicos en suelos con tres coberturas vegetales en el sur de la Amazonia colombiana. *Revista de biología tropical* 57(4): 915-927.
- Marquina, M.E., Ramírez, Y., y Castro, Y. 2018. Efecto de bacterias rizosféricas en la germinación y crecimiento del pimentón *Capsicum annuum* L. Var. c acique gigante. *Bioagro*. 30(1): 3-16.
- Martínez, H.F., Chávez-Arteaga, K., Guato-Molina, J., Peñafiel-Jaramillo, M., y Metanza-Uquillas, C. 2018. Bacterias fluorescentes productoras de metabolitos antagónicos de cultivares nativos de *Musa* sp. y su diversidad filogenética al gen ARNr 16S. *Ciencia y Tecnología*. 11(2): 17-29. <https://doi.org/10.18779/cyt.v11i2.232>.
- Mayak, S., Tirosh, T., y Glick, B. 2004. Plant growth-promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress. *Plant Physiol Biochem*. 42(6): 565-572. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2004.05.009>.
- Medina, M., Ramírez, M., y Amezaga, T. 2017. Caracterización de la cadena de valor del tomate rojo fresco en México. *Revista Global de Negocios*. 5(3): 45-58.
- Misra, N., Gupta, G., y Jha, P.N. 2012. Assessment of mineral phosphate-solubilizing properties and molecular characterization of zinc-tolerant bacteria. *Journal of basic microbiology*. 52(5): 549-558. <https://doi.org/10.1002/jobm.201100257>.
- Monardes, H. 2009. Importancia económica del cultivo en la región, país y el mundo. *Manual de cultivo de tomate (Lycopersicon esculentum Mill.)*. 5.
- Mondragón, S.L. 2005. Producción de jitomate en invernadero. ICAMEX. 627.
- Moreau, D., Bardgett, R.D., Finlay, R.D., Jones, D.L., y Philippot, L. 2019. A plant perspective on nitrogen cycling in the rhizosphere. *Functional Ecology*. 33: 540-552. [10.1111/1365-2435.13303](https://doi.org/10.1111/1365-2435.13303).
- Muñoz-Rojas, J., y Caballero-Mellado, J. 2003. Population dynamics of *Gluconacetobacter diazotrophicus* in sugarcane cultivars and its effect on plant growth. *Microbial ecology*. 46(4): 454-464. [10.1007/s00248-003-0110-3](https://doi.org/10.1007/s00248-003-0110-3).
- Mustafa, S., Kabir, S., Shabbir, U., y Batool, R. 2019. Plant growth promoting rhizobacteria in sustainable agriculture: from theoretical to pragmatic approach. *Symbiosis*. 78(2): 115-123. <https://doi.org/10.1007/s13199-019-00602-w>.

- Njira, K.O., y Nabwami, J. 2015. A review of effects of nutrient elements on crop quality. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*. 15(1): 9777-9793.
- Noh, M.J., Yam, C.C., Borges, G.L., Zúñiga, A.J.J., Godoy, H.G. 2014. Aislados bacterianos con potencial biofertilizante para plántulas de tomate. *Terra Latinoamericana*. 32(4): 273-281.
- Normanly, J. 2010. Approaching cellular and molecular resolution of auxin biosynthesis and metabolism. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2:1-19. [10.1101/cshperspect.a001594](https://doi.org/10.1101/cshperspect.a001594).
- Ochida, C., Itodo, A., y Nwanganga, P. 2019. A Review on Postharvest Storage, Processing and Preservation of Tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill). *Asian Food Science Journal* 6(2): 1-10. <https://doi.org/10.9734/AFSJ/2019/44518>.
- Oleńska, E., Małek, W., Wójcik, M., Swiecicka, I., Thijs, S., y Vangronsveld, J. 2020. Beneficial features of plant growth-promoting rhizobacteria for improving plant growth and health in challenging conditions: A methodical review. *Science of The Total Environment*. 140682. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140682>.
- Oliviera, C., Alves, V., Marriel, I., Gómez, E., Scotti, M., Carneiro, M., Guimaraes, M., Schaffert, R., Sa, N. 2008. Phosphate solubilizing microorganisms isolated from rhizosphere of maize cultivated in an oxisol of the Brazilian Cerrado Biome Soil. *Biol. Biochem*. 41: 1782-1787. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.01.012>.
- Ortíz-Castro, R., Contreras-Cornejo, H.A., Macías-Rodríguez, L., López-Bucio, J. 2009. The role of microbial signals in plant growth and development. *Plant Signal Behav*. 4(8): 701-12. <https://doi.org/10.4161/psb.4.8.9047>.
- Osugi, A., y Sakakibara, H. 2015. How do plants respond to cytokinins and what is their importance? *BMC Biology*. 13:1010.1186/s12915-015-0214-5.
- Owen, D., Williams, A., Griffith, G., y Withers, P. 2014. Use of commercial bio-inoculants to increase agricultural production through improved phosphorus acquisition. *Applied Soil Ecology*. 86: 41-54. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2014.09.012>.
- Pahari, A., Pradhan, A., Nayak, S.K., y Mishra, B.B. 2017. Bacterial siderophore as a plant growth promoter. En: *Microbial Biotechnology* (Ed. Jayanta K, Patra CN, Vishnuprasad GD). Springer, Singapore. 163-180 p.
- Park, M.K., Park, Y.J., Kim, M.C., Kang, G.U., Kim, M.J., y Shin, J.H. 2019. Complete genome sequence of *Pseudarthrobacter* sp. NIBRBAC000502771 isolated from shooting range soil in Republic of Korea. *The Microbiological Society of Korea*. 55(4): 419-421. <https://doi.org/10.7845/kjm.2019.9094>.

- Park, M.K., Park, Y.J., Kim, M., Kim, M.C., Ibal, J.C., Kang, G.U., y Shin, J.H. 2020. Complete genome sequence of a plant growth-promoting bacterium *Pseudarthrobacter* sp. NIBRBAC000502772, isolated from shooting range soil in the Republic of Korea. The Microbiological Society of Korea. 56(4): 390-393. <https://doi.org/10.7845/kjm.2020.0066>.
- Park, M.K., Park, Y.J., Kim, M.C., Kang, G.U., Kim, M., Jo, Y., y Shin, J.H. 2019. Complete genome sequence of *Pseudarthrobacter* sp. NIBRBAC000502771 isolated from shooting range soil in Republic of Korea. The Microbiological Society of Korea. 55(4): 419-421. <https://doi.org/10.7845/kjm.2019.9094>.
- Park, S.H., Elhit. M.H., Wang, A., Xu, D., Brown, A., y Wang. 2017. Adventitious root formation of in vitro peach shoots is regulated by auxin and ethylene. *Sci. Hortic* 226: 250-260. 10.1016/j.scienta.2017.08.053
- Pérez, J., Hurtado, G., Aparicio, V., Argueta, Q., y Larín, M. 2019. Cultivo de tomate. Guía técnica. 8.
- Perley, J.W., y Stowe, B.B. 1966. On the ability of *Taphrina deformans* to produce indoleacetic acid from tryptophan by way of tryptamine. *Plant Physiol.* 41(2): 234-237. <https://doi.org/10.1104/pp.41.2.234>.
- Picken, P., Reinikainen, O., y Herranen, M. 2008. Horticultural peat raw material and its chemical and physico-chemical characteristics in Western Finland and Western Estonia. *Acta Hort. (ISHS)*. 779: 415-422. 10.17660/ActaHortic.2008.779.52
- Pikovskaya, R.I. 1948. Mobilization of phosphorus in soil in connection with the vital activity of some microbial species. *Mikrobiologiya*. 17: 362-370.
- Pineda-Mendoza, D.Y., Almaraz-Suárez, J.J., Hernandez, M.L., Garibay, R.A., y Rojas, H.V.S. 2019. Cepas de bacterias aisladas de esporomas de hongos ectomicorrízicos promueven el crecimiento vegetal. *ITEA, información técnica económica agraria: revista de la Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario (AIDA)*. 115(1): 4-17. <https://doi.org/10.12706/itea.2018.027>.
- Pírez, M., y Mota, M. 2006. Morfología y estructura bacteriana. *Temas de bacteriología y virología médica*. 23-42 p.
- Rajkumar, M.S, Sandhya, M.N., Prasad H, y Freitas. 2012. Perspectives of plant-associated microbes in heavy metal phytoremediation. *Biotechnol. Adv.* 30(6): 1562-1574. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2012.04.011>.

- Rajwar, J., Chandra, R., Suyal, D.C., Tomer, S., Kumar, S., y Goel, R. 2018. Comparative phosphate solubilizing efficiency of psychrotolerant *Pseudomonas jessenii* MP1 and *Acinetobacter* sp. ST02 against chickpea for sustainable hill agriculture. *Biologia*. 73: 793-802. <https://doi.org/10.2478/s11756-018-0089-3>.
- Raklami, A., Bechtaoui, N., Tahiri, AI., Anli, M., Meddich, A., y Oufdou, K. 2019. Use of rhizobacteria and mycorrhizae consortium in the open field as a strategy for improving crop nutrition, productivity and soil fertility. *Frontiers in microbiology*. 10: 1106. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01106>.
- Ramakrishnan, K., y Selvakumar, G. 2012. Effect of biofertilizers on enhancement of growth and yield on Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *International Journal of Research in Botany*. 2(4): 20-23.
- Ramírez, L.C.C., Leal, L.C.S., Galvez, Z.Y.A., y Burbano, V.E.M. 2014. *Bacillus*: género bacteriano que demuestra ser un importante solubilizador de fosfato. *Nova*. 12(22): 165-177. <https://doi.org/10.22490/24629448.1041>.
- Rawat, P., Das, S., Shankhdhar, D., y Shankhdhar, S.C. 2020. Phosphate-Solubilizing Microorganisms: Mechanism and Their Role in Phosphate Solubilization and Uptake. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 21:49-68. <https://doi.org/10.1007/s42729-020-00342-7>.
- Razaq, M., Zhang, P., y Shen, H.L. 2017. Influence of nitrogen and phosphorous on the growth and root morphology of Acer mono. *PloS one*. 12(2): e0171321. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171321>.
- Rennie, R.J. 1981. A single medium for the isolation of acetylenereducing (dinitrogen-fixing) bacteria from soils. *Can. J. Microbiol.* 27: 8-14. <https://doi.org/10.1139/m81-00239/m81-002>.
- Restrepo-Correa, S.P., Pineda-Meneses, E.C., y Ríos-Osorio, L.A. 2017. Mecanismos de acción de hongos y bacterias empleados como biofertilizantes en suelos agrícolas: una revisión sistemática. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*. 18(2): 335-351. I: http://dx.doi.org/10.21930/rcta.vol18_num2_art:635.
- Restrepo-Franco, G.M., Marulanda-Moreno, S., de la Fe-Pérez, Y., Díaz-de la Osa, A., Lucia-Baldani, V., y Hernández-Rodríguez, A. 2015. Bacterias solubilizadoras de fosfato y sus potencialidades de uso en la promoción del crecimiento de cultivos de importancia económica. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*. 46(1): 63-76.

- Riah, W., Laval, K., Laroche-Ajzenberg, E., Mougín, C., Latour, X., y Trinsoutrot-Gattin, I. 2014. Effects of pesticides on soil enzymes: a review. *Environmental chemistry letters*. 12(2): 257-273. 10.1007/s10311-014-0458-2.
- Richardson, A. 2001. Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. *Functional Plant Biology*. 28(9): 897-906.
- Rodríguez, F. H., y Rodríguez, A. F. 2015. Métodos de análisis de suelos y plantas: criterios de interpretación. 3ª ed. México: trillas: UANL. 288 p.
- Rosenblueth, M., Ormeño-Orrillo, E., López-López, A., Rogel, M.Z., Reyes-Hernández, B.J., Martínez-Romero, J.C., Reddy, P.M., Martínez-Romero, E. 2018. Nitrogen Fixation in Cereals. *Frontiers in Microbiology*. 9: 1794. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01794>.
- Roy, R.N., Finck, A., Blair, G.J., y Tandon, H.L.S. 2006. Plant nutrition for food security a guide for integrated nutrient management. *FAO Fertilizer and Plant Nutrition Bulletin* 1-368 p.
- Ruanpanun, P., Tangchitsomkid, N., Hyde, K., y Lumyong, S. 2010. Actinomycetes and fungi isolated from plant-parasitic nematode infested soils: Screening of the effective biocontrol potential, indole-3-acetic acid and siderophore production. *World J Microbiol Biotechnol*. 26: 1569-1578. 10.1007/s11274-010-0332-8.
- SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación). 2017. Planeación Agrícola Nacional. Jitomate Mexicano. Disponible en: <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/257077/Potencial-Jitomate.pdf>. (Consultado el 10 de febrero del 2019).
- Sah, S., Singh, N., y Singh, R. 2017. Iron acquisition in maize (*Zea mays* L.) using *Pseudomonas* siderophore. *3 Biotech*. 7(2): 1-7. 10.1007/s13205-017-0772-z.
- Saleem, M., Arshad, M., Hussain, S., y Bhatti, A.S. 2007. Perspective of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) containing ACC deaminase in stress agriculture. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 34(10): 635-48. <https://doi.org/10.1007/s10295-007-0240-6>.
- Samar, M.S., Kabir, S., Shabbir, U., y Batool, R. 2019. Plant growth promoting rhizobacteria in sustainable agriculture: from theoretical to pragmatic approach. *Symbiosis*. 78(2): 115-123. <https://doi.org/10.1007/s13199-019-00602-w>.
- Sánchez-López, D.B., Gómez-Vargas, R.M., Garrido-Rubiano, M.F., Bonilla-Buitrago, R.R. 2012. Inoculación con bacterias promotoras de crecimiento vegetal en tomate bajo condiciones de invernadero. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 3(7): 1401-1415.

- Santi, C., Bogusz, D., y Franche, C. 2013. Biological nitrogen fixation in non-legume plants. *Annals of botany*. 111(5): 743-767. <https://doi.org/10.1093/aob/mct048>.
- Sauer, M., Robert, S., y Kleine, V. J. 2013. Auxin: simply complicated. *Journal of experimental botany*. 64(9): 2565-2577. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert139>.
- Schellekens, J., Buurman, P., Fraga, I., y Martínez, C.A. 2011. Holocene vegetation and hydrologic changes inferred from molecular vegetation markers in peat, Penido Vello (Galicia, Spain). *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*. 299(1-2): 56-69.
- Seilaniantz, R.A., Navarro, L., Bari, R., Jones, J.D. 2007. Pathological hormone imbalances. *Curr Opin Plant Biol*. 10(4): 372-379. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2007.06.003>.
- Sekine, M., Watanabe, K., y Syono, K. 1989. Molecular cloning of a gene for indole-3-acetamide hydrolase from *Bradyrhizobium japonicum*. *J Bacteriol*. 171: 1718-1724. [10.1128/jb.171.3.1718-1724.1989](https://doi.org/10.1128/jb.171.3.1718-1724.1989).
- Seo-Jin, y Min-ho, Y. 2019. Plant Growth Promotion Effect of *Arthrobacter enclensis* Yangsong-1 Isolated from Mushroom Medium. *Journal of the Korean Mushroom Society*. 17(1): 12-18. <https://doi.org/10.14480/JM.2019.17.1.12>.
- Sevilla, M., Burris, R.H., Gunapala, N., y Kennedy, C. 2001. Comparison of benefit to sugarcane plant growth and $^{15}\text{N}_2$ incorporation following inoculation of sterile plants with *Acetobacter diazotrophicus* wild-type and nif mutant strains. *Molecular plant-microbe interactions* 14(3): 358-366. <https://doi.org/10.1094/MPMI.2001.14.3.358>.
- Shen, H., He, X., Liu, Y., Chen, Y., Tan, J., y Guo, T. 2016. A complex inoculant of N_2 -fixing, P- and K-solubilizing bacteria from a purple soil improves the growth of kiwifruit (*Actinidia chinensis*) plantlets. *Frontier. Microbiology*. 7: 841. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00841>.
- Simms, E.L., y Taylor, D.L. 2002. Partner choice in nitrogen-fixation mutualisms of legumes and rhizobia. *Integrative and Comparative Biology*. 42(2): 369-380. <https://doi.org/10.1093/icb/42.2.369>.
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2015. Producción de tomate en México. Disponible en: www.siap.gob.mx. (Consultado el 20 de agosto de 2020).
- Singh, H.B., Keswani, C., Reddy, M.S., Sansinenea, E., García-Estrada, C. 2019. Secondary Metabolites of Plant Growth Promoting Rhizomicroorganisms Discovery and Applications. Springer-Nature, Singapore. 1-410 p.

- Singh, H.B., Sarma, B.K., y Keswani, C. 2017. Advances in PGPR Research. CABI, UK. 408 p.
- Smercina, D.N., Evans, S.E., Friesen, M.L., y Tiemann, L.K. 2019. To fix or not to fix: controls on free-living nitrogen fixation in the rhizosphere. *Applied and Environmental Microbiology*. 85(6): 1-15. 10.1128/AEM.02546-18
- Soto, G.O. 2008. Agricultura sustentable una alternativa de alto rendimiento. *Ciencia UANL*. 11(1): 78-81.
- Spaepen, S. 2015. Plant hormones produced by microbes. En: Principles of plant-microbe interactions. (Ed Lugtenberg B). Springer Cham Heidelberg New York Dordrecht London. 247-256 p.
- Spaepen, S., Vanderleyden, J., y Remans, R. 2007. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS microbiology reviews*. 31(4): 425-448. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2007.00072.x>.
- Subba, R.A.S., Jha, P., Meena, B.P., Biswas, A.K., Lakaria, B.L., y Patra, A.K. 2017. Nitrogen processes in agroecosystems of India. In the Indian Nitrogen Assessment. Elsevier. 59-76 p.
- Tanaka, H., Dhonukshe, P., Brewer, P.B., Friml, J. 2006. Spatiotemporal asymmetric auxin distribution: a means to coordinate plant development. *Cell Mol Life Sci*. 63(23): 2738-2754. 10.1007/s00018-006-6116-5.
- Tarkka, M., Schrey, S., y Hampp, R. 2008. Plant associated micro-organisms. En: Molecular mechanisms of plant and microbe coexistence. (Ed. Chandra SN, y Patrice D). Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 1-51 p.
- Télles, J.A., y Garza, E. 2012. Guía para cultivar jitomate en condiciones de malla sombra en San Luis Potosí. Disponible en: <http://www.inifapcirne.gob.mx/Biblioteca/Publicaciones/905.pdf>. (Consultado el 18 de febrero de 2020).
- Theunis, M., Kobayashi, H., Broughton, W.J., y Prinsen, E. 2004. Flavonoids, NodD1, NodD2, and nod-box NB15 modulate expression of the y4wEFG locus that is required for indole-3-acetic acid synthesis in *Rhizobium* sp. strain NGR234. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 17(10): 1153-1161. <https://doi.org/10.1094/MPMI.2004.17.10.1153>.
- Tsavkelova, E.A., Klimova, S.Y., Cherdyntseva, T.A., y Netrusov, A.I. 2006. Microbial producers of plant growth stimulators and their practical use: a review. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 42(2): 117-126. : 10.1134/S0003683806020013.

- Tsukanova, K.A., Meyer, J.J.M., y Bibikova, T.N. 2017. Effect of plant growth-promoting Rhizobacteria on plant hormone homeostasis. *South African journal of botany*. 113; 91-102.
- Urrestarazu, G.M. 2015. Manual práctico del cultivo sin suelo e hidroponía. Ediciones Paraninfo, SA.
- Uzair, B.R., Kausar, S.A., Bano, S.F., Badshah, M., Habiba, U., y Fasim, F. 2018. Isolation and molecular characterization of a model antagonistic *Pseudomonas aeruginosa* divulging in vitro plant growth promoting characteristics. *BioMed research international*. 1-8 p. <https://doi.org/10.1155/2018/6147380>.
- Van-Loon, L.C. 2007. Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria. En: *New Perspectives and Approaches in Plant Growth-Promoting*
- Vanneste, S., y Friml, J. 2009. Auxin: a trigger for change in plant development. *Cell*. 136(6): 1005-1016. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.03.001>.
- Vásconez, R.D., Mossot, J.E., Shagñay, A.G., Tenorio, E.M., Utreras, V.P., y Suquillo, I.D. 2020. Evaluación de *Bacillus* spp. como rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV) en brócoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) y lechuga (*Lactuca sativa*). *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*. 21(3): 1-16. https://doi.org/10.21930/rcta.vol21_num3_art:1465.
- Velasco-Belalcázar, M.L., Hernández-Medina, C.A., Gómez-López, E.D., Torres-Gonzales, C., y Hernández, P.A. 2019. Bacterias endófitas de *Capsicum frutescens* antagónicas a *Fusarium* spp. *Agronomía Mesoamericana*. 30(2): 367-380.
- Venturi, V., y Keel, C. 2016. Signaling in the rhizosphere. *Trends in plant science*, 21(3): 187-198.
- Viskelis, P., Radzevicius, A., Urbonaviciene, D., Viskelis, J., Karkleliene, R., y Bobinas, C. 2015. Biochemical parameters in tomato fruits from different cultivars as functional foods for agricultural, industrial, and pharmaceutical uses. In: *Plants for the future*. H. ElShemy (Ed.). InTech Open. 10.5772/60873.
- Vivanco-Calixto, R., Molina-Romero, D., Morales-García, Y.E., Quintero-Hernández, V., Munive-Hernández, A., Baez-Rogelio, A., y Muñoz-Rojas, J. 2016. Reto agrobiotecnológico: inoculantes bacterianos de segunda generación. *Alianzas y Tendencias*. 1(1): 9-19.

- Yabuta, T. 1938. On the crystal of gibberellin, a substance to promote plant growth. *Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan*. 14: 1526.
- Yamaguchi, S. 2008. Gibberellin metabolism and its regulation. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59: 225-251.
- Zahid, M., Kaleem, M.A., Sohail, H., y Nasir, Rahim. 2015. Isolation and identification of indigenous plant growth promoting rhizobacteria from Himalayan region of Kashmir and their effect on improving growth and nutrient contents of maize (*Zea mays* L.). *Frontiers in Microbiology*. 6: 207. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00207>.
- Zaidi, A., Ahmad, E., Khan, M., y Rizvi, A. 2015. Role of plant growth promoting rhizobacteria in sustainable production of vegetables: Current perspective. *Scientia horticultrae*. 193: 231-239. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.07.020>.
- Zeng, Y., Guo, Y., y Chen, H. 2016. The multifunctional feather decomposition characteristics of Actinomycetes *Arthrobacter enclensis* TCC-2 and the research on promoting the growth of organic lettuce. Research report of Taichung District Agricultural Improvement Center. (131): 57-68.
- Zhang, A., Zheng, Q., Noll, L., Hu, Y., y Waneka, W. 2019. Environmental effects on soil microbial nitrogen use efficiency are controlled by allocation of organic nitrogen to microbial growth and regulate gross N mineralization. *Soil Biol. Biochem.* 135: 304-315. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2019.05.019>.
- Zhang, L., Fan, J., Feng, G., y Declerck, S. 2019. The arbuscular mycorrhizal fungus *Rhizophagus irregularis* MUCL 43194 induces the gene expression of citrate synthase in the tricarboxylic acid cycle of the phosphate-solubilizing bacterium *Rahnella aquatilis* HX2. *Mycorrhiza*. 29: 69-75. <https://doi.org/10.1007/s00572-018-0871-7>.
- Zhang, Z., Schwartz, S., Wagner, L., Miller, W. 2000. A greedy algorithm for aligning DNA sequences. *J. Comput Biol.* 7: 203-214.

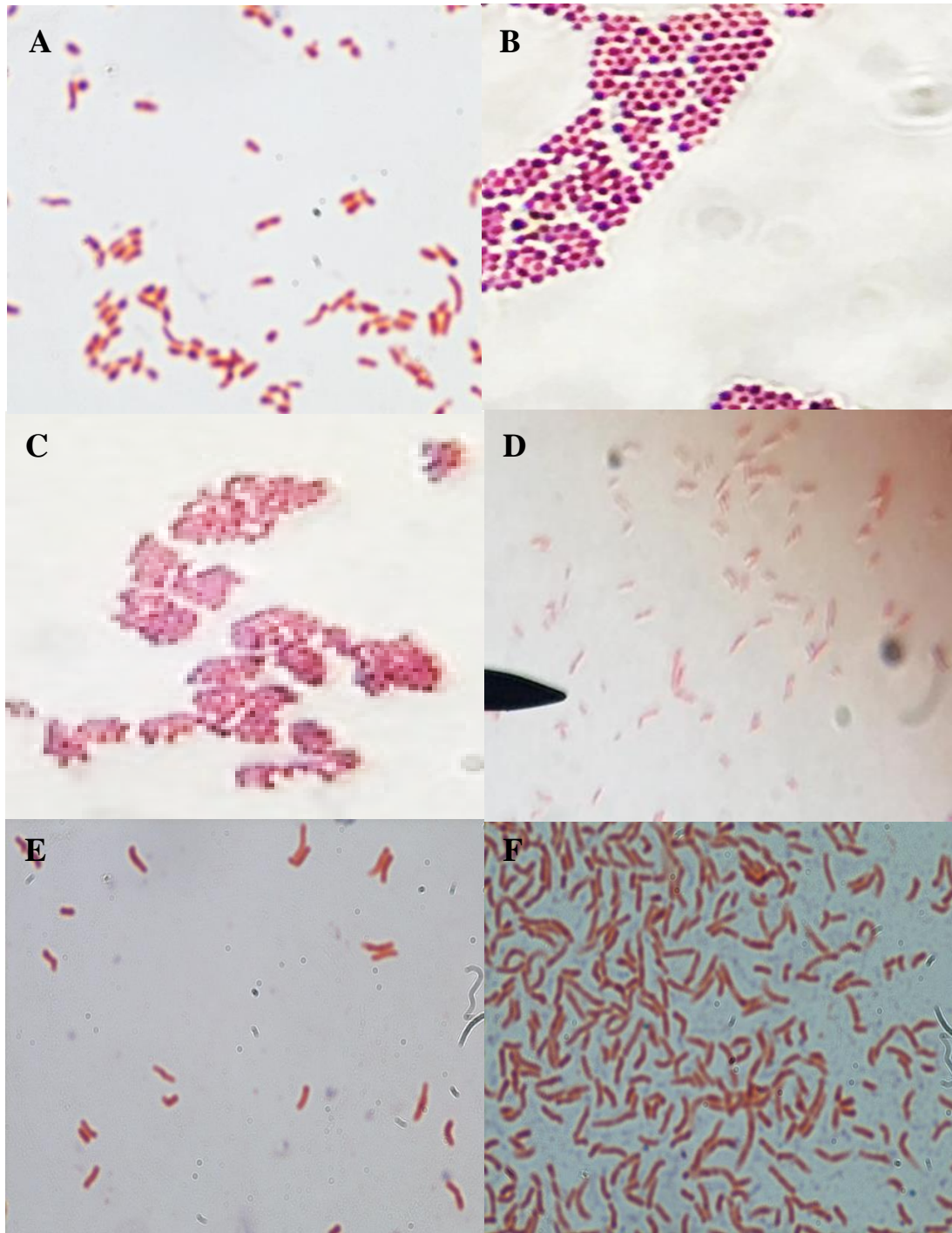
ANEXOS

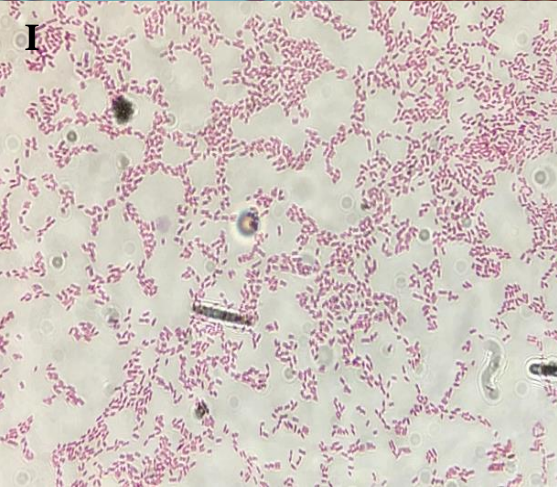
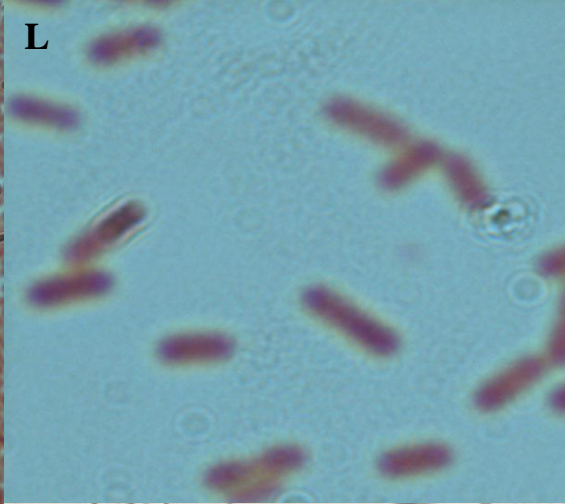
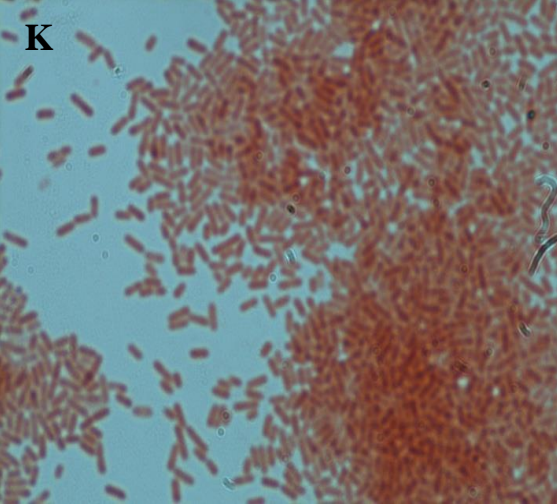
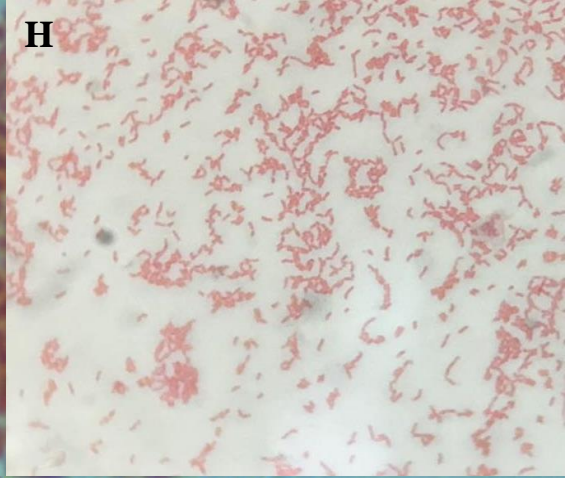
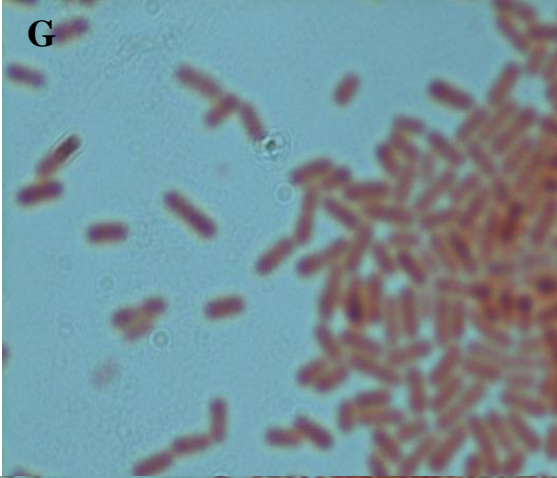
Anexo 1. Cepas con características de promoción de crecimiento.

CEPA	SOLUBILIZACIÓN DE FOSFATO	PRODUCCIÓN DE INDOLES	FIJACIÓN DE NITRÓGENO
JP4	++		
JP5	++		
JP13	++		
JP6	++		
JP8	++		
LB13		+	
JC2	+		
JC1	+		
JN24	++	++	+
JLB6		++	
JPS5	++	++	
JLB4		++	
JLB2		++	
JC5		++	
JC3		++	
NF8		+	+
JP9	+	+	
NF9		+	+
JN15		+	+
JN5		+	+
JP3	+	+	
JN4		+	+
JC1		+	
LB8		+	
LB20		+	
JN20			+
JN11			+
JN0			+
JC4		+	
NF19			+
JP12	+		
JLB3		+	
JP1	+		
JP14	+		
JN7			+
JLB1		+	
JN29			+
JN23			+
JP0	+		
LB8		+	
JN2			+
JLB17		+	
LB16		+	
JLB7		+	
NF17			+
LB11			+
JLB5			+
JLB7			+
JP4	+		
JP1	+		
JP9	+		

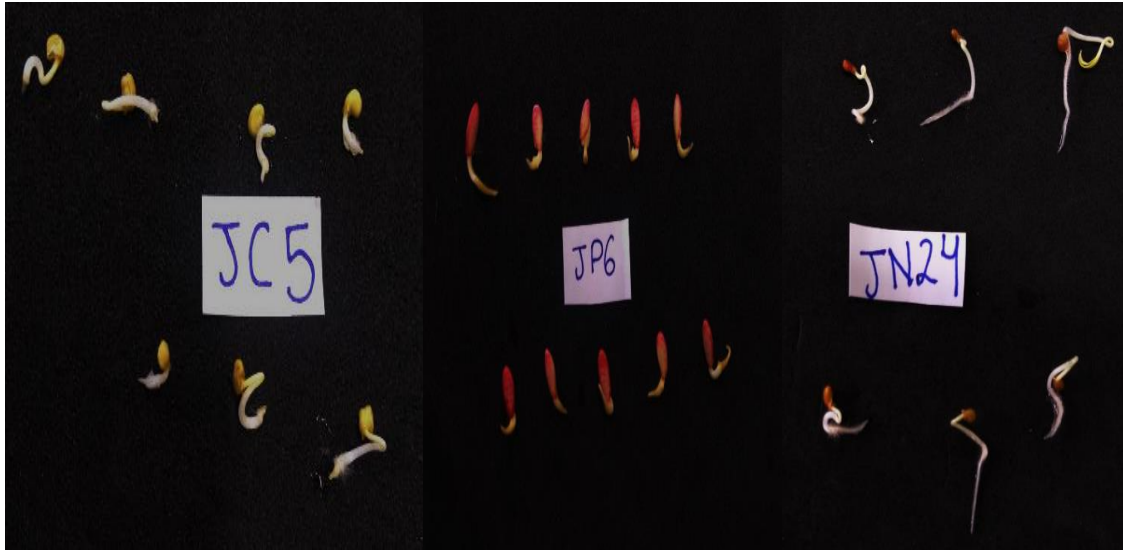
JP10	+	
JP2	+	
JN15		+
JN16		+
JN18		+
JN19		+
JN20		+
JN21		+
JN22		+
JN21		+
JN25		+
JN26		+
JN27		+
JN28		+
JN29		+
JN30		+
JN31		+
JB8		+
NJ1		+

Anexo 2. Morfología microscópica de A) JLB4 (*Arthrobacter pokkalii*), B y C) JN24 y JC5 (*Arthrobacter enclensis*), D) JPS5 (*Bacillus drentensis*), E y F) JLB6 y JLB2 (*Staphylococcus equorum*), G, H, I y J) JP8, JP4, JP6, y JP5 (*Pseudomonas aeruginosa*), K) JC3 (*Pseudarthrobacter* sp.), y L) JP13 (*Bacillus licheniformis*). Tinción de gram.





Anexo 3. Prueba de germinación semillas de: A) chile B) pepino y C) tomate.



Anexo 4. Comparación del efecto en la altura de la cepa JLB4 con respecto a la cepa de referencia (P61) y el testigo.

