

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“SOBREVIVENCIA DE DOS AISLADOS BACTERIANOS
PROMOTORES DEL CRECIMIENTO VEGETAL EN UN
SUELO ARCILLOSO”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO AGRÍCOLA

PRESENTA

ANA LUCÍA CORRO BECERRIL

DIRIGIDA POR

Dr. JUAN RAMIRO PACHECO AGUILAR

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2010.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“SOBREVIVENCIA DE DOS AISLADOS BACTERIANOS
PROMOTORES DEL CRECIMIENTO VEGETAL EN UN
SUELO ARCILLOSO”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO AGRÍCOLA

PRESENTA

ANA LUCÍA CORRO BECERRIL

DIRIGIDA POR

Dr. JUAN RAMIRO PACHECO AGUILAR

SINODALES

Dr. JUAN RAMIRO PACHECO AGUILAR
DIRECTOR

Dra. BLANCA GARCÍA ALMENDÁREZ
SINODAL

Dr. CARLOS REGALADO GONZÁLEZ
SINODAL

Q.A. LAURA LUNA MARTÍNEZ
SINODAL

AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIAS

Esta tesis esta dedicada a Dios y a todas las personas que confiaron en mí, que me apoyaron y que siempre han estado a mi lado, ¡Mil Gracias!

A mi mamá Lucía Becerril, a mi papá Juan Corro, a mis hermanos Gerardo y Brandon, a Denis, a mis amigos en especial a Julio y Eduardo.

Al Dr. Juan Ramiro Pacheco, quién fue mi maestro en la carrera, el director de mi tesis y un buen amigo en la vida.

A mí, que aquí reflejo todo mi esfuerzo, mi compromiso por seguir adelante, las ganas de triunfo y éxito.

A la vida que me brindo la oportunidad de estar aquí y ahora, de cumplir parte de mis sueños, y del impulso que me da para crecer y mejorar como persona, profesionista y mujer.

ÍNDICE GENERAL

| Contenido | Página |
|---|--------|
| ÍNDICE GENERAL | i |
| ÍNDICE DE CUADROS | iii |
| ÍNDICE DE FIGURAS | iv |
| RESUMEN | |
| I.INTRODUCCIÓN | 1 |
| II. ANTECEDENTES | 3 |
| II.1. El suelo como un hábitat. | 3 |
| II.2. pH. | 5 |
| II.3. Humedad. | 5 |
| II.4. Temperatura. | 6 |
| II.5. Fertilidad del suelo. | 7 |
| II.6. Microorganismos y ciclo de los nutrientes. | 7 |
| II.7. Uso de inoculantes microbianos en el suelo. | 7 |
| II.8. Colonización bacteriana. | 9 |
| II.9. Actinomicetos. | 9 |
| II.10. Bacterias. | 10 |
| II.11. Hongos. | 10 |
| III. HIPÓTESIS | 12 |
| IV. OBJETIVOS | 13 |
| IV.1. General. | 13 |
| IV.2. Específicos. | 13 |
| V. METODOLOGÍA | 14 |
| V.1. Origen de los aislados bacterianos empleados en este estudio. | 14 |
| V.2. Características de los aislados bacterianos seleccionados para este estudio. | 14 |
| V.3. Efecto promotor del crecimiento de las cepas MA04 y MA06 | 16 |

| | |
|--|----|
| sobre la germinación y producción de plántulas de jitomate (<i>Lycopersicum esculentum</i> , var. río grande) y pimiento morrón (<i>Capsicum annuum</i> L., var. California wonder). | |
| V.4. Características del suelo empleado en este estudio. | 17 |
| V.5. Inoculación del suelo y cuenta viable de microorganismos. | 17 |
| V.6. Determinación de las poblaciones microbianas del suelo. | 18 |
| VI. RESULTADOS | 20 |
| VI.1. Efecto de la inoculación de las cepas MA04 y MA06. | 20 |
| VI.1.1. Análisis estadístico de datos. | 21 |
| VI.1.1.1. Efecto de la inoculación sobre el porcentaje de la germinación. | 21 |
| VI.1.1.2. Efecto de la inoculación sobre la altura de las plántulas. | 22 |
| VI.1.1.3. Efecto de la inoculación sobre el diámetro del tallo. | 22 |
| VI.1.1.4. Efecto de la inoculación sobre el peso seco de las plántulas. | 24 |
| VI.2. Dinámica de las poblaciones microbianas en los suelos de estudio. | 24 |
| VI.2.1. Suelos estériles inoculados con MA04 y MA06. | 24 |
| VI.2.2. Dinámica de las poblaciones de bacterias, hongos y actinomicetos en suelos inoculados y suelo control. | 25 |
| VII. DISCUSIÓN | 32 |
| VIII. CONCLUSIONES | 37 |
| IX. BIBLIOGRAFÍA | 38 |

ÍNDICE DE CUADROS

| Cuadro | | Página |
|--------|--|--------|
| 1 | Clases texturales del suelo y constantes de humedad. | 6 |
| 2 | Clasificación de microorganismos de acuerdo a su temperatura óptima de crecimiento. | 6 |
| 3 | Resistencia de los aislados de estudio a antibióticos. | 14 |
| 4 | Solubilización de fósforo por los aislados bacterianos de estudio. | 15 |
| 5 | Producción de indoles totales por los aislados bacterianos de estudio. | 15 |
| 6 | Otras actividades relacionadas al efecto promotor del crecimiento detectadas en los aislados de estudio. | 15 |
| 7 | Composición del fertilizante empleado para la producción de plántula. | 17 |
| 8 | Análisis fisicoquímico del suelo del rancho “El Colmenar”. | 18 |
| 9 | Análisis de varianza del porcentaje de germinación de jitomate. | 21 |
| 10 | Análisis de varianza de la altura de las plántulas de jitomate. | 23 |
| 11 | Análisis de varianza del diámetro de las plántulas de jitomate. | 23 |
| 12 | Análisis de varianza del peso seco de las plántulas de jitomate. | 24 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| Figura | | Página |
|--------|--|--------|
| 1 | Disponibilidad de nutrientes en el suelo en función del pH. | 5 |
| 2 | Plántulas de jitomate control e inoculadas con los aislados MA04 y MA06 | 20 |
| 3 | Diferencias en la altura de las plántulas debido a los tratamientos con MA04 y MA06. | 22 |
| 4 | Dinámica poblacional de las cepas MA04 y MA06 inoculadas en un suelo arcilloso estéril. | 25 |
| 5 | Dinámica de las poblaciones totales de bacterias en los suelos de estudio. | 27 |
| 6 | Morfología colonial de las poblaciones bacterianas de la cepa MA06 de los suelos estéril y no estéril. | 28 |
| 7 | Morfología colonial de las poblaciones bacterianas de la cepa MA04 de los suelos estéril y no estéril. | 29 |
| 8 | Dinámica de las poblaciones microbianas en el suelo inoculado con la cepa MA04 y el suelo control. | 30 |
| 9 | Dinámica de las poblaciones microbianas en el suelo inoculado con la cepa MA06 y el suelo control. | 31 |

RESUMEN

En el sector agrícola existe cada vez una mayor necesidad de producir más alimentos y de mejor calidad. Ante el alza del precio de los fertilizantes químicos y en la búsqueda de alternativas se ha recurrido al uso de biofertilizantes, estos incluyen a las bacterias promotoras del crecimiento vegetal, las cuales mejoran el estatus nutricional de la planta huésped mediante actividades bioquímicas como la solubilización de fosfatos insolubles, la producción de ácido indolacético, la producción de sideróforos y la actividad ACC deaminasa entre otras. Sin embargo, el éxito de los inoculantes microbianos depende también de su capacidad para colonizar el suelo. En el presente trabajo evaluamos la actividad promotora del crecimiento vegetal de dos aislados bacterianos Gram-positivos (MA04 y MA06) sobre la germinación y desarrollo de plántulas de jitomate (*Lycopersicon esculentum*, var. Río grande) y pimiento morrón (*Capsicum annuum* L., var. California wonder). Encontrándose que para el jitomate, el aislado MA06 mejora la altura, el diámetro del tallo y el peso seco de la planta, mientras que el aislado MA04 mejora el porcentaje de germinación. No hubo efecto positivo alguno sobre pimiento morrón. Para determinar la sobrevivencia, los aislados fueron inoculados en un suelo arcilloso estéril y otro no estéril a una densidad de 10^6 células por gramo de suelo, cuantificando semanalmente las bacterias, hongos y actinomicetos durante 2 meses. Los resultados indican que la inoculación al suelo de estos aislados no afecta las poblaciones nativas, además su densidad se mantuvo a lo largo del experimento, indicando que poseen la capacidad de sobrevivir en un suelo arcilloso y ser empleados como inoculantes en la promoción del crecimiento vegetal.

I. INTRODUCCIÓN

El incremento en la demanda de la producción de alimentos ha generado una agricultura intensiva que ha traído consigo una disminución en la fertilidad de los suelos, por lo que ha incrementado el uso de fertilizantes para satisfacer las demandas nutricionales de los cultivos. Sin embargo, solo una fracción del fertilizante aplicado (entre el 10 y 60%) es absorbido por la planta y el restante se lixivia o es fijado por la fracción mineral del suelo, contribuyendo a la contaminación de los suelos y de los mantos acuíferos. El bajío es una de las zonas más productoras de granos y hortalizas, donde predominan suelos arcillosos tipo vertisoles, la producción intensiva de cereales y hortalizas requiere cada vez mayores dosis de fertilizantes químicos, para satisfacer los requerimientos nutricionales de los cultivos, esto es debido en gran parte a la disminución en el contenido de materia orgánica (MO) en los suelos.

Una de las alternativas para restablecer la MO es el uso de fertilizantes orgánicos, producto del composteo de residuos vegetales y animales, llevados a cabo por procesos microbianos o derivados de lombricomposteo. El costo del producto es aún relativamente alto para ser empleado en grandes extensiones, por lo que deriva la búsqueda de nuevas alternativas. Una opción es el empleo de biofertilizantes de origen microbiano, los cuales son microorganismos que cuando son aplicados a las semillas, al suelo o a las plantas, colonizan la raíz y/o rizosfera promoviendo el crecimiento de las plantas, por un incremento en la absorción y disponibilidad de nutrientes. El término “bacterias promotoras del crecimiento de plantas” (BPCP) también es empleado para designar a los biofertilizantes, sin embargo, las BPCP es un grupo más amplio que incluye agentes de control biológico. Ambos conceptos pueden ser empleados de manera indistinta (BPCP y biofertilizantes) cuando se habla de microorganismos rizosféricos que mejoran el estatus nutricional de la planta. Algunos de los mecanismos de las BPCP como biofertilizantes son los siguientes: (1) fijación biológica de N_2 , (2) incremento en la

disponibilidad de nutrientes en la rizósfera, (3) inducción en el crecimiento y morfología de la raíz, y (4) la combinación de los anteriores modos de acción.

La colonización del suelo por nuevos aislados microbianos introducidos depende de factores físicos como: temperatura, humedad, y textura, entre otros, y de factores químicos como: materia orgánica, acidez y salinidad entre otros. Sin embargo, la interacción e integración con las poblaciones nativas del suelo es determinante para su sobrevivencia. En el presente trabajo evaluamos la capacidad promotora del crecimiento en jitomate y pimiento morrón de dos aislados bacterianos, así como su sobrevivencia e interacción con las comunidades microbianas nativas cuando son inoculados en un suelo arcilloso.

II. ANTECEDENTES

II.1 El suelo como un hábitat

El suelo resulta de la descomposición de la roca madre, por factores climáticos y la acción de los seres vivos, por lo cual está constituido por una fracción mineral y otra biológica. El suelo constituye junto con el agua, el aire y la luz solar, el fundamento de la vida en los sistemas ecológicos terrestres, ya que proporciona el hábitat para numerosos organismos, además de ser una reserva genética (Sánchez, 2007).

El suelo consiste de tres fases bien definidas: una fase sólida, constituida por materia mineral y orgánica, una fase líquida, y una fase gaseosa o atmósfera del suelo. El tipo y composición de la materia mineral viene dado por las características de las rocas del subsuelo, así como de los procesos edáficos que hayan tenido lugar en su formación (Bertolini y col., 2007). La porción inorgánica es muy importante por su influencia en la disponibilidad de nutrientes, aireación, retención de agua, entre otros factores. Por otro lado la materia orgánica procede de la actividad de los distintos organismos vivos del suelo. Su composición y cantidad es variable, principalmente en función del tipo de cubierta vegetal. El resto del volumen del suelo está prácticamente constituido por espacios porosos, que a su vez están ocupados por agua y gases que constituyen la atmósfera edáfica (Aguado y Moreno, 2008).

La porosidad de un suelo depende de la textura (determinada por la cantidad de arena, limo y arcilla), la estructura y el contenido en materia orgánica. Todos estos factores determinan a su vez el movimiento y capacidad de retención de agua del suelo y la composición gaseosa de su atmósfera (Nogales, 2005). De forma característica la atmósfera del suelo se encuentra enriquecida en dióxido de carbono y empobrecida en oxígeno, como resultado de la respiración aerobia de las raíces de las plantas, animales y microorganismos (Portilla y col., 2004). Sin embargo, cuando se producen condiciones de anaerobiosis (por acumulación de

agua en los poros del suelo) aparecen en la atmósfera del suelo otros gases como óxido nitroso, nitrógeno gaseoso y metano, resultantes de actividad respiratoria anaeróbica bacteriana. Tanto el contenido en agua como la composición de la atmósfera del suelo son factores que fluctúan ampliamente (Sánchez, 2007).

Este sistema complejo que constituye el suelo, característicamente heterogéneo espacial y temporalmente, alberga una gran riqueza de especies vegetales, animales y microbianas (Valencia-Cantero y Peña-Cabriales, 2007). El suelo es un ambiente muy apropiado para el desarrollo de los microorganismos tanto eucariotas (algas, hongos, protozoos) como procariotas (bacterias y arqueas). También encontramos virus y bacteriófagos. Todos estos organismos establecen relaciones entre ellos en formas muy variadas y complejas, contribuyendo a las características propias del suelo por su papel en la modificación de las fases sólida, líquida y gaseosa antes mencionadas (Bacilio-Jiménez y col., 2005).

Los microorganismos desempeñan funciones de gran importancia en relación con procesos de edafogénesis; ciclos biogeoquímicos de elementos como el carbono, el nitrógeno, el oxígeno, el azufre, el fósforo, el hierro y otros metales; también es reconocida su participación en la fertilidad de las plantas y en la protección frente a patógenos; así como en la degradación de compuestos xenobióticos (Valencia-Cantero y Peña-Cabriales, 2007).

Las bacterias es uno de los grupos más numerosos entre de los microorganismos del suelo. Las bacterias se organizan en microcolonias que pueden pertenecer a diferentes morfotipos. Factores como la presencia de raíces, pequeños agregados, nutrientes y poros parecen ser determinantes para la distribución de las bacterias en micro hábitats (Nogales, 2005). Algunos otros parámetros importantes que permiten el establecimiento de plantas y organismos en el suelo dependen de factores como el pH, la humedad, la temperatura, y la fertilidad entre otros (González-Parra, 2006).

II.2 pH

Es una propiedad que tiene influencia indirecta en los procesos químicos, disponibilidad de nutrientes, procesos biológicos y actividad microbiana (Shaxson, 2005). Es definido como el logaritmo inverso de la actividad de iones hidrógeno en la solución suelo. Normalmente el rango de pH de los suelos varía entre 3.5 a 9.0, la razón por la que no se alcanza valores extremos de 0 ó 14 se debe a que el suelo no es una solución verdadera, sino una solución coloidal (Galindo y col., 2006). El pH del suelo es importante porque las plantas sólo pueden absorber los minerales disueltos, y la variación del pH modifica el grado de solubilidad de los minerales (Figura 1) (Bolletta y Krüger 2005).



Figura 1. Disponibilidad de nutrientes en el suelo en función del pH.

II.3 Humedad

La capacidad de campo y el punto de marchitez determinan los límites máximo y mínimo de la humedad del suelo que puede ser utilizada por los cultivos respectivamente. La cantidad de agua comprendida entre estos dos valores se define como humedad disponible. Estos parámetros varían de acuerdo a la clase textural de suelo ya que la presencia de arcillas promueve una mayor retención de humedad (Cuadro 1) (Petrini y col., 2008).

II.4 Temperatura

La temperatura es un factor determinante ya que va ligada a la tasa de crecimiento de los microorganismos y estos pueden ser clasificados de acuerdo a su temperatura óptima como psicrófilos, mesófilos, termófilos y termófilos extremos (Cuadro 2) (Covarrubias, 2007).

Cuadro 1. Clases texturales del suelo y constantes de humedad.

| Textura de suelo | Capacidad de campo | Punto de marchitamiento | Humedad disponible |
|-----------------------------------|--------------------|-------------------------|--------------------|
| Arenoso | 9% | 2% | 7% |
| Arenoso-franco | 14% | 4% | 10% |
| Franco arenoso-limoso | 23% | 9% | 14% |
| Franco arenoso + materia orgánica | 29% | 10% | 19% |
| Franco | 34% | 12% | 22% |
| Franco-arcilloso | 30% | 16% | 14% |
| Arcilloso | 38% | 34% | 14% |

Cuadro 2. Clasificación de microorganismos de acuerdo a su temperatura óptima de crecimiento.

| Clasificación | Temperatura Mínima (°C) | Temperatura Óptima (°C) | Temperatura Máxima (°C) |
|---------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Psicrófilos | 0-5 | 20-35 | 25-40 |
| Mesófilos | 5-20 | 30-45 | 40-50 |
| Termófilos | 35-45 | 45-70 | 60-80 |
| Termófilos extremos | | >80 | |

II.5 Fertilidad del suelo

La fertilidad del suelo es una cualidad resultante de la interacción entre las características físicas, químicas y biológicas del mismo, y que consiste en la capacidad de poder suministrar las condiciones necesarias para el crecimiento y desarrollo de las plantas. Se vincula con los procesos biológicos del suelo, relacionados con sus organismos en todas sus formas (Sánchez, 2007; Aguado y Moreno, 2008).

II.6 Microorganismos y ciclo de los nutrientes

La actividad de los microorganismos es muy importante para la transformación de compuestos y la vida de los suelos, estos participan en los ciclos del carbono (C), nitrógeno (N), azufre (S), fósforo (P) y en la incorporación de potasio (K) y magnesio (Mg), entre otros, para su asimilación por las plantas (Dibut y col., 2004). Entre los procesos biológicos más importantes que se desarrollan en el suelo se encuentra la humificación (descomposición de la materia orgánica por hongos, bacterias, actinomicetos, lombrices y termitas) y las transformaciones del nitrógeno (amonificación, nitrificación y fijación) (Medrano-González y col., 2006). Estas transformaciones pueden llevarse a cabo tanto en presencia como en ausencia de oxígeno, por microorganismos aerobios, anaerobios estrictos y anaerobios facultativos (Toro y col., 2008).

II.7 Uso de inoculantes microbianos en el suelo

La agricultura sustentable consiste en el manejo exitoso de los recursos agrícolas para satisfacer las necesidades humanas, mientras se mantiene la calidad del ambiente y se conservan los recursos naturales (Oliveira y col., 2004). Los inoculantes microbianos, proveen beneficios tangibles a los destinatarios, son ambientalmente seguros y socioeconómica y culturalmente aceptables. (Dibut y col. 2004). Son capaces de poner a disposición de las plantas, mediante su actividad biológica, una parte importante de las sustancias nutritivas que necesitan para su desarrollo, así como suministrar sustancias hormonales o promotoras del

crecimiento (Staley y Brauer, 2006). Se agrupan en este concepto a todos los organismos vivos capaces de brindar algún beneficio a las plantas y los clasifican en dos grandes grupos: los de acción directa, entre los que se encuentran los microorganismos fijadores simbióticos de nitrógeno y las micorrizas vesícula arbuscular (MVA), y las de acción indirecta que incluyen los solubilizadores de fósforo, los fijadores de nitrógeno atmosférico de vida libre y los estimuladores de crecimiento vegetal, representados por varios géneros (Ferrer y Herrera, 2007).

La inoculación de microorganismos en las semillas produce efectos aditivos, de particular importancia, para el desarrollo de cultivos con mayor rendimiento, de mejor calidad fitosanitaria y para aumentar el contenido de materia orgánica del suelo (González y Carrillo, 2007). Estos microorganismos, aparte de mejorar el abastecimiento de nitrógeno y fósforo para la planta; también participan en otras funciones no menos importantes como promover el desarrollo radicular más abundante y el efecto protector contra enfermedades fúngicas de la raíz (Planes y col., 2004).

La importancia de los microorganismos promotores del crecimiento vegetal radica en su capacidad para suplementar o movilizar nutrientes con un mínimo uso de recursos no renovables; además, tiene las ventajas de que los procesos microbianos son rápidos y pueden aplicarse para solucionar problemas locales específicos, al mismo tiempo que se reducen los problemas económicos y ecológicos que se derivan de la aplicación

La biofertilización, consiste en aumentar el número de microorganismos de un suelo, para de esta forma, acelerar todos los procesos microbianos que involucran una mejora en la biodisponibilidad de nutrientes para la planta entre otros. Una biofertilización correcta, ayuda reduciendo el uso de energía de la planta en la absorción de los nutrientes, disminuye la degradación del agroecosistema y reduce la pérdida de nutrientes del suelo por lixiviación (Planes y col., 2004; Acuña y col., 2006).

II.8 Colonización Bacteriana

La colonización puede definirse como el proceso mediante el cual un sitio no habitado viene a ser ocupado por una o más especies que allí empiezan a vivir, crecer y reproducirse (Bacilio y col., 2005).

Las principales influencias sobre el crecimiento de las poblaciones están relacionadas con diversas interacciones, que son las que mantienen unida a la comunidad. Estas incluyen la competencia, tanto en el seno de las especies como entre especies diferentes (Portilla y col., 2004).

II.9 Actinomicetos

Los actinomicetos son abundantes y cosmopolitas en el ambiente, se han aislados de lagos, ríos, suelo y estiércol de animales y aves; son aerobios y en la superficie del suelo se ubican las mayores poblaciones, aunque también pueden encontrarse en los horizontes inferiores. Su aislamiento y cultivo a partir de suelo puede llevarse a cabo por cuenta viable en placa (CVP) en medios de cultivo para bacterias heterotróficas como el agar nutritivo, aunque es preferible emplear medios selectivos que contengan quitina como única fuente de carbono y antibióticos que inhiban el crecimiento de hongos, ya que tienen tiempo de generación mayor al de las bacterias nativas del suelo o de la rizosfera de plantas (Salinas y col., 2005).

La densidad de las poblaciones de actinomicetos al igual que su actividad, dependen de la cantidad de la materia orgánica, el pH, la humedad, la temperatura y el cultivo vegetal sembrado en un suelo específico (Castillo, 2005).

La actividad mineralizante de los actinomicetos en el suelo, está relacionada con la concentración de carbono disponible en especial con los que contienen altos niveles de materia orgánica como el humus, lo anterior es posible medirlo a través de las poblaciones microbianas y mediante parámetros del metabolismo como: la producción de dióxido de carbono, o amonio derivado de compuestos proteicos o de ácidos nucleicos provenientes de los sustratos de degradación los cuales pueden ser estiércol, o de restos de cultivos agrícolas (Quesada y Méndez, 2005).

Los actinomicetos poseen diversas funciones dentro del suelo, aparte de participar en la mineralización de la materia orgánica, actúan también como antagonistas microbianos, regulan la composición de la comunidad en el ecosistema del suelo, produciendo metabolitos para el control de insectos plaga, nematodos y otros fitopatógenos vegetales. Además se asocian con raíces vegetales para fijación del N_2 (Salinas y col., 2005).

II.10 Bacterias

Las bacterias en un suelo con suficiente oxígeno, son dominantes y responsables de las transformaciones de la materia orgánica ya que crecen rápidamente y mineralizan una amplia gama de compuestos orgánicos naturales, las bacterias se dividen en dos tipos: los géneros nativos o autóctonos que son residentes verdaderos del suelo y las invasoras o alógenas. Las bacterias nativas metabolizan nutrientes orgánicos complejos de restos vegetales o de células microbianas, lo que les permite subsistir en el suelo por largos periodos, crecen lentamente y su abundancia no está sujeta a fluctuaciones (López y col., 1998). Una característica en particular que poseen algunos géneros bacterianos como *Bacillus*, es la formación de endosporas, la cual es una estructura de sobrevivencia que puede permanecer en latencia en ausencia de alimento o de agua por largos periodos, esta endospora se forma ante condiciones adversas y cuando las condiciones favorables para el crecimiento bacteriano se restablece la espora germina y emerge una nueva bacteria (Toro y col., 2008).

II.11 Hongos

Los hongos son organismos heterótrofos, los cuales emplean carbono orgánico para la síntesis celular. Sus poblaciones dentro del suelo son capaces de degradar materia orgánica compleja y usar las fuentes de carbono orgánico como: azúcares, ácidos orgánicos, disacáridos, almidón, pectina, celulosa, grasas y lignina particularmente resistente a la degradación bacteriana, obtienen el nitrógeno del

amonio o nitratos también de proteínas, ácidos nucleicos y otros compuestos orgánicos nitrogenados (Valencia Cantero y Peña-Cabriales, 2007).

Al igual que los demás géneros microbianos, algunos factores edáficos que determinan las comunidades fúngicas dentro del suelo incluye la materia orgánica, el pH, la aplicación de fertilizantes orgánicos e inorgánicos, el grado de humedad, aireación, variación de la temperatura, posición en el perfil del suelo y composición de la vegetación nativa o cultivada (Shaxson y Barber, 2005).

La mayoría de los géneros de hongos del suelo son mesófilos, no son comunes los termófilos, sólo variantes que se seleccionan durante la mineralización de la materia orgánica o abono que genera el calor durante los procesos de fermentación, estos hongos se multiplican a 50 °C y 55 °C (Nogales, 2005).

III. HIPÓTESIS

Los aislados bacterianos Gram-positivos MA04 y MA06 caracterizados bioquímicamente como promotores del crecimiento vegetal pueden adaptarse y sobrevivir cuando son inoculados en un suelo arcilloso.

IV. OBJETIVOS

IV.1. General

Determinar la sobrevivencia de dos aislados bacterianos promotores del crecimiento vegetal en un suelo arcilloso y su efecto en las comunidades microbianas nativas.

IV.2. Específicos

- Evaluar la capacidad promotora del crecimiento vegetal de los aislados bacterianos Gram-positivos MA04 y MA06, cuando son inoculados en semillas de jitomate (*Lycopersicon esculentum*, var., río grande) y pimiento morrón (*Capsicum annuum* L., var. California wonder).
- Evaluar la sobrevivencia de los aislados bacterianos Gram-positivos MA04 y MA06 cuando son inoculados en un suelo arcilloso estéril.
- Determinar los cambios en las poblaciones nativas de bacterias, hongos y actinomicetos microbianas de un suelo arcilloso, cuando son inoculados los aislados MA04 y MA06.

V. METODOLOGÍA

V.1 Origen de los aislados bacterianos empleados en este estudio

Los aislados bacterianos MA04 y MA06 fueron obtenidos de un suelo orgánico proveniente de un invernadero dedicado a la producción de jitomate, dichos aislados fueron seleccionados por sus características bioquímicas promotoras del crecimiento vegetal cuantificadas en laboratorio. Para el ensayo de inoculación de semillas y del suelo fueron cultivados en caldo nutritivo. Para su conservación fueron mantenidos en glicerol al 50 % a -20 °C.

V.2 Características de los aislados bacterianos seleccionados para este estudio

Los aislados de estudio fueron identificados por su morfología (Mora, 2010) así, la cepa MA04 presenta colonias grandes, con bordes irregulares, de color blanco mate, textura seca y elevación plana, mientras que MA06 presenta colonias grandes, con bordes irregulares, dentados, de color blanco y translucidas. Estas cepas también presentan resistencia a antibióticos como lo muestra el Cuadro 3.

Cuadro 3. Resistencia de los aislados de estudio a antibióticos

| Cepa | Penicilina $10_{\mu\text{g mL}^{-1}}$ | Gentamicina $8_{\mu\text{g mL}^{-1}}$ | Clindamicina $15_{\mu\text{g mL}^{-1}}$ | Amikacina $30_{\mu\text{g mL}^{-1}}$ |
|------|--|--|--|---|
| MA04 | R | S | R | S |
| MA06 | R | S | R | S |

R = resistente, S = sensible

Las cepas de estudio fueron seleccionadas por su habilidad para solubilizar fosfato de calcio $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, en ensayos de solubilización su alta capacidad esta relacionada con una disminución en el pH de la solución (Cuadro 4).

Cuadro 4. Solubilización de fósforo por los aislados bacterianos de estudio.

| Cepa | Eficiencia de Solubilización % | [P] ^{mg L⁻¹} | pH |
|------|--------------------------------|----------------------------------|--------------|
| MA04 | 177.586 ± 31.698 | 22.363 ± 1.695 | 5.05 ± 0.057 |
| MA06 | 139.058 ± 0.844 | 55.817 ± 1.737 | 4.85 ± 0.057 |

± Desviación estándar

En cuanto a la producción de indoles, relacionados a ácido indolacético (AIA) se encontró que estos presentaban baja producción (Mora, 2010) (Cuadro 5).

Cuadro 5. Producción de indoles totales por los aislados bacterianos de estudio.

| Cepa | [Índoles] ^{mg L⁻¹} |
|------|--|
| MA04 | 2.33 ± 0.106 |
| MA06 | 4.216 ± 0.417 |

± = Desviación estándar

Algunas otras características relacionadas con el efecto promotor del crecimiento se muestran en el Cuadro 6 (Mora, 2010).

Cuadro 6. Otras actividades relacionadas al efecto promotor del crecimiento vegetal detectadas en los aislados de estudio.

| Cepa | Producción de Sideróforos | Producción de HCN | Actividad ACC-deaminasa | NFB |
|------|---------------------------|-------------------|-------------------------|-----|
| MA04 | - | - | + | + |
| MA06 | + | - | + | + |

NFB = Fijación biológica de Nitrógeno, ACC= Aminociclopropano

V.3 Efecto promotor del crecimiento de las cepas MA04 y MA06 sobre la germinación y producción de plántulas de jitomate (*Lycopersicon esculentum*, var. río grande) y pimiento morrón (*Capsicum annuum* L., var. California wonder).

Para determinar el efecto promotor de los aislados MA04 y MA06, se llevo a cabo un ensayo de inoculación en semillas de jitomate y pimiento morrón, observando el efecto sobre la germinación y en el desarrollo de la plántula, para ello los aislados fueron crecidos en 500 mL de caldo nutritivo por 16 horas a 30 °C en agitación, seguido de ello los cultivos fueron centrifugados a 5000 rpm por 10 min., las pastillas resultantes fueron lavadas dos veces con una solución salina estéril al 0.85%. Las pastillas bacterianas fueron redisueltas en el mínimo de volumen con la solución salina para realizar la cuenta en la cámara de Neubauer. Para contar las células en los campos de la cámara se realizo una dilución 1:10. Una vez obtenido el título de la solución bacteriana, se preparó una dilución en una solución de goma arábica al 5% (p/v) de tal manera que la concentración final fuera de 10^7 células ml^{-1} .

Ciento cincuenta semillas de jitomate y pimiento morrón fueron embebidas en la solución bacteriana, y puestas en agitación a 140 rpm por 1 h. Al término de ello, las semillas fueron sembradas en charolas de germinación de 300 cavidades, considerando 150 semillas como control sin inocular. Las charolas fueron cubiertas con bolsas negras de plástico para mantener la humedad hasta su germinación, lo cual ocurrió al tercer día para el jitomate, mientras que para el pimiento fue de 5 días, después de la emergencia se dejo una semana más para registrar el porcentaje de germinación. Después de ello, se comenzó con la fertilización cuya composición se indica en el cuadro 7, y al término de un mes después de emerger las plántulas de jitomate, se procedió a cosechar la planta para determinar los parámetros de altura, diámetro del tallo, peso fresco total de la planta, peso seco de la raíz y parte aérea. Para el pimiento morrón las plantas fueron cosechadas hasta el segundo mes. Para evaluar estadísticamente el efecto de la inoculación se empleo el análisis de varianza (ANOVA), utilizando un diseño completamente al azar. Para el análisis de medias se utilizó la prueba t de student.

Cuadro 7. Componentes del fertilizante empleado en la producción de plántula.

| Nutrientes | g L⁻¹ |
|---------------------|-------------------------|
| Nitrato de potasio | 0.75 |
| Fosfato monoamónico | 0.175 |
| Nitrato de calcio | 0.675 |
| Sulfato de magnesio | 0.3 |
| Sulfato ferroso | 0.05 |

V.4 Características del suelo empleado en este estudio

Para realizar los ensayos de inoculación en suelo se obtuvieron muestras del rancho “El Colmenar”, el cual presenta las características fisicoquímicas que se muestran en el cuadro 8. Este suelo está clasificado como arcilloso, esta clase textural predomina en los suelos agrícolas de Querétaro.

V.5 Inoculación del suelo y cuenta viable de microorganismos

Para realizar los ensayos en microcosmos, 10 g. de suelo fueron colocados en frascos ámbar de 100 mL, con un tapón de poliuretano y esterilizados a 121 °C y 15 psi de presión por 15 minutos, en tres ocasiones. Los cultivos bacterianos fueron preparados siguiendo el mismo procedimiento que para inocular la semilla, exceptuando la goma arábica. La inoculación se realizó de tal manera que el título fuera a una densidad de 10^7 células por gramo de suelo estéril (SE), esta inoculación también se llevó a cabo para un suelo no estéril (SNE), y como control para conocer los cambios naturales en las poblaciones nativas se empleó un suelo no estéril (SC).

Las poblaciones de bacterias, hongos y actinomicetos, fueron monitoreadas semanalmente en el transcurso de dos meses (8 semanas), determinando así la sobrevivencia y los cambios en las poblaciones nativas por efecto de la introducción de una cepa externa. Una determinación final fue llevada a cabo después de 19 semanas.

Cuadro 8. Análisis fisicoquímico del suelo del rancho “El colmenar”.

| Parámetro | Valor encontrado | Unidades | Interpretación |
|--|------------------|-----------------------|---------------------------------------|
| pH (En relación 1:2) | 6.7 | unidades | Neutro |
| Conductividad eléctrica (CE) | 0.67 | dS m ⁻¹ | Efectos despreciables de la salinidad |
| Textura | % arena= 14.6 | % | Arcilloso (R) |
| | % arcilla= 58.1 | | |
| | % limo= 27.2 | | |
| Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC) | 33.9 | Cmol Kg ⁻¹ | Alta |
| Materia Orgánica | 2.32 | % | Medio |
| Calcio (Ca) | 6382 | mg Kg ⁻¹ | Alto |
| Mg (Mg) | 112 | mg Kg ⁻¹ | Bajo |
| Fósforo aprovechable (P) | 23.8 | mg Kg ⁻¹ | Alto |
| Nitrógeno inorgánico | 8.9 | mg Kg ⁻¹ | Muy bajo |

V.6 Determinación de las poblaciones microbianas del suelo

Para cuantificar las poblaciones microbianas del suelo se realizaron diluciones decimales del suelo y se sembraron alícuotas en placas con medio agar nutritivo para la cuantificación de bacterias el cual contiene por litro: 3 g de extracto de carne, 5 g de peptona de carne y 15 g de agar. El pH fue ajustado a 7.0. Las placas sembradas fueron incubadas por 72 h a 30 °C. Para la cuantificación de hongos se empleo el medio agar rosa de bengala, el cual contiene por litro: 10 g de glucosa, 5 g de peptona, 1 g de KH₂PO₄, 0.5 g de MgSO₄·7 H₂O, 33 mg de rosa de bengala y 15 g de agar, ajustando el pH a 5.8. Las placas sembradas fueron incubadas por 96 hrs. a 30 °C. Y finalmente para los actinomicetos se empleo el

agar caseína almidón, el cual contiene por litro por 10 g de almidón, 0.3 g de caseína, 2 g de KNO_3 , 2 g de NaCl , 2 g de K_2HPO_4 , 0.05 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, 0.02 g de CaCO_3 , trazas de $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ y 18 g de agar, se ajusto el pH a 7.2. Las placas sembradas se incubaron por 216 hrs. a $30 \text{ }^\circ\text{C}$ (Luna y Sánchez, 1991).

VI. RESULTADOS

VI.1 Efecto de la inoculación de las cepas MA04 y MA06 sobre la germinación y plántulas de jitomate y pimiento morrón.

Las semillas de jitomate comenzaron su germinación al tercer día después de la siembra en charolas, mientras que para el pimiento morrón ocurrió al quinto día. Transcurrida una semana después de la germinación, se registro el porcentaje de germinación, evaluando estadísticamente los tratamientos mediante el análisis de varianza. Al término de un mes se pudieron apreciar diferencias en las plántulas de jitomate en cuanto a su crecimiento y desarrollo de follaje, tal como se muestra en la figura 2. Para determinar el efecto de la inoculación a cada planta se le midió la altura y diámetro del tallo, formando 6 grupos de 10 plantas cada. De cada grupo se registro el peso fresco, posteriormente se separo la raíz y parte aérea, para ponerse a secar a 80°C por 24 horas, obteniend o la materia seca. El mismo procedimiento se llevo a cabo hasta el segundo mes para pimiento morrón, sin embargo, no se presento diferencia alguna sobre el control.

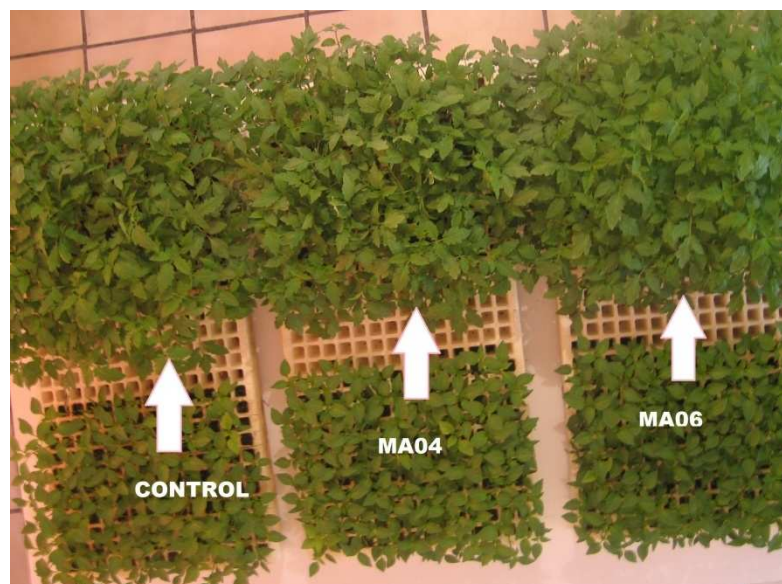


Figura 2. Plántulas de jitomate control e inoculadas con los aislados MA04 y M406.

VI. 1.1 Análisis estadístico de datos

Para analizar los datos obtenidos de la germinación y el crecimiento de las plántulas se utilizó un análisis de varianza completamente al azar, empleando además una prueba de student, para aquellas variables que mostraron diferencia significativa entre los tratamientos.

VI.1.1.1 Efecto de la inoculación sobre el porcentaje de la germinación

Los datos de la germinación de 5 grupos (repeticiones) de 10 plantas, fueron expresados como porcentajes y posteriormente transformados a grados angulares para poder realizar el análisis de varianza (ANOVA). En una primera instancia encontramos diferencia significativa (95%) entre los tratamientos. La prueba de student mostro además que la inoculación con la cepa MA04 tuvo un efecto positivo sobre la germinación de semillas de jitomate (Cuadro 9). Este efecto positivo de la inoculación no fue observado sobre las semillas de pimiento morrón. El análisis estadístico no arrojó diferencias sobre los tratamientos.

Cuadro 9. Análisis de varianza del porcentaje de germinación de jitomate

| % Germinación | | | | | |
|------------------|----|-------------|-------|---------|--------|
| FV | gl | SC | CM | Fcal | Ft 95% |
| Tratamientos | 2 | 81.77 | 40.88 | 4.61* | 3.88 |
| Error | 12 | 106.29 | 8.85 | | |
| Total | 14 | 188.07 | | | |
| Prueba de medias | | Tratamiento | Media | DMS 95% | |
| | | MA04 | 78.57 | A | |
| | | MA06 | 74.72 | AB | |
| | | Control | 72.94 | B | |

FV=fuente de variación, **gl**=grados de libertad, **SC**=suma de cuadrados, **CM**=cuadrados medios, **Fcal**=Fcalculada, **Ft**=F de tablas, **DMS**=Diferencia mínima significativa.* Diferencia significativa.

VI.1.1.2 Efecto de la inoculación sobre la altura de las plántulas

Los datos de la altura de las plantas fueron registrados en 6 grupos (repeticiones) de 10 plantas cada uno, obteniendo la media para cada grupo, con las cuales se realizó el ANOVA. Los resultados indican que existió una diferencia significativa entre los tratamientos (99%), indicando posteriormente con la prueba t de student que la inoculación con la cepa MA04 tuvo un efecto promotor de crecimiento altamente significativo sobre las plántulas de jitomate (Figura 3 y cuadro 10).



Figura 3. Diferencias en la altura de las plántulas debido a los tratamientos con MA04 y MA06

VI.1.1.3 Efecto de la inoculación sobre el diámetro del tallo

El vigor de las plantas está relacionado directamente con el desarrollo vegetativo, que involucra la biomasa, la altura y el diámetro del tallo, para este último parámetro se realizó el análisis de varianza encontrando que existía diferencia altamente significativa entre los tratamientos (99%), la prueba de t student corroboró que la inoculación con la cepa MA06 también tuvo un efecto positivo en las plántulas de jitomate (Cuadro 11).

Cuadro 10. Análisis de varianza de la altura de las plántulas de jitomate.

| Altura | | | | | | |
|-------------------------|--------------------|--------------|----------------|----------------|---------------|---------------|
| FV | gl | SC | CM | Fcal | Ft 95% | Ft 99% |
| Tratamientos | 2 | 9.73 | 4.865 | 37.42** | 3.68 | 6.36 |
| Error | 15 | 2 | 0.13 | | | |
| Total | 17 | 11.73 | | | | |
| Prueba de medias | Tratamiento | Media | DMS 95% | DMS 99% | | |
| | MA06 | 12.37 | A | A | | |
| | Control | 11.05 | B | B | | |
| | MA04 | 10.65 | B | B | | |

FV=fuente de variación, **gl**=grados de libertad, **SC**=suma de cuadrados, **CM**=cuadrados medios, **Fcal**=Fcalculada, **Ft**=F de tablas, **DMS**=Diferencia mínima significativa. ** Diferencia altamente significativa.

Cuadro 11. Análisis de varianza del diámetro de las plántulas de jitomate.

| Diámetro | | | | | | |
|-------------------------|--------------------|--------------|----------------|----------------|---------------|---------------|
| FV | gl | SC | CM | Fcal | Ft 95% | Ft 99% |
| Tratamientos | 2 | 0.4545 | 0.2272 | 19.75** | 3.68 | 6.36 |
| Error | 15 | 0.1725 | 0.0115 | | | |
| Total | 17 | 0.627 | | | | |
| Prueba de medias | Tratamiento | Media | DMS 95% | DMS 99% | | |
| | MA06 | 3.17 | A | A | | |
| | Control | 2.88 | B | B | | |
| | MA04 | 2.8 | B | B | | |

FV=fuente de variación, **gl**=grados de libertad, **SC**=suma de cuadrados, **CM**=cuadrados medios, **Fcal**=Fcalculada, **Ft**=F de tablas, **DMS**=Diferencia mínima significativa. ** Diferencia altamente significativa.

VI.1.1.4 Efecto de la inoculación sobre el peso seco de las plántulas

La producción de biomasa se encuentra relacionada con la tasa fotosintética, originando un aumento en el peso seco de la planta. Al realizar el análisis de varianza y la prueba de student para el peso seco de la parte aérea de la planta se encontró que la inoculación de MA06 tuvo un efecto positivo altamente significativo (99%) (Cuadro 12), este efecto no fue registrado en el peso seco de la raíz.

Cuadro 12. Análisis de varianza del peso seco de las plántulas de jitomate.

| Peso seco | | | | | | |
|-------------------------|-----------|--------------------|--------------|----------------|---------------|---------------|
| FV | gl | SC | CM | Fcal | Ft 95% | Ft 99% |
| Tratamientos | 2 | 0.7275 | 0.36375 | 12.54** | 4.26 | 8.02 |
| Error | 9 | 0.2625 | 0.029 | | | |
| Total | 11 | 0.99 | | | | |
| Prueba de medias | | Tratamiento | Media | DMS 95% | | |
| | | MA06 | 1.975 | A | | |
| | | Blco. | 1.625 | B | | |
| | | MA04 | 1.375 | B | | |

FV=fuente de variación, **gl**=grados de libertad, **SC**=suma de cuadrados, **CM**=cuadrados medios, **Fcal**=Fcalculada, **Ft**=F de tablas, **DMS**=Diferencia mínima significativa. ** Diferencia altamente significativa.

VI.2 Dinámica de las poblaciones microbianas en los suelos de estudio

VI.2.1 Suelos estériles inoculados con MA04 y MA06

Una vez que los aislados MA04 y MA06 fueron inoculados de manera independiente en suelos arcillosos estériles, se determinaron los cambios en cada una de las poblaciones semanalmente. En la figura 4 podemos observar que ambas cepas después de la segunda semana se mantuvieron en el orden de 7 (log ufc/ g de suelo), aun hasta la semana 20, donde los logaritmos de la ufc para

MA04 y MA06 fueron de 7.16 y 7.44, respectivamente (datos no mostrados en la figura).

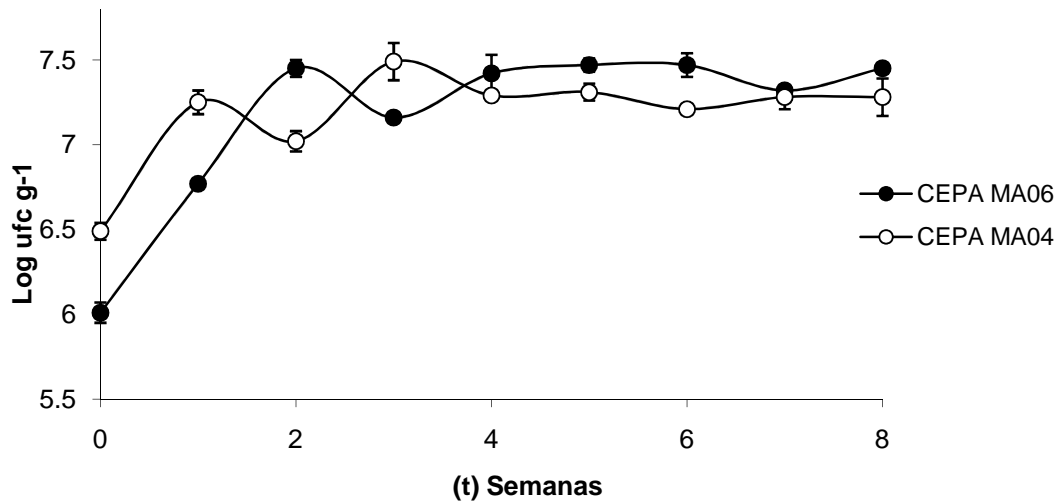


Figura 4. Dinámica poblacional de las cepas MA04 Y MA06 inoculadas en un suelo arcilloso estéril.

VI.2.2 Dinámica de las poblaciones de bacterias, hongos y actinomicetos en suelos inoculados y suelo control.

Cuando un organismo nuevo es introducido a un hábitat distinto al de origen, se producen interacciones con los microorganismos nativos. En presente trabajo en primera instancia se determinaron las poblaciones totales de bacterias, en los tres suelos: suelo estéril (inoculado solo con el aislado), suelo no estéril (inoculado con el aislado pero sin esterilizar) y suelo control (suelo no estéril sin inocular). En la figura 5 podemos observar que las poblaciones de bacterias totales en suelo control se encuentran en el mismo orden que para el suelo no estéril, indicando una posible integración positiva de la cepa MA04 y MA06 a las poblaciones bacterianas del suelo. Puede observarse en ambas graficas que entre la semana 5 y 7, existieron diferencias entre las poblaciones bacterianas para ambos suelos

inoculados, encontrando un aumento en la densidad de poblaciones bacterianas en el suelo no estéril, tal vez producto de la adaptación inicial de las bacterias introducidas al nuevo hábitat. Esta diferencia posteriormente se diluyó pues al término de 8 semanas las poblaciones de bacterias totales se mantuvieron sin diferencia alguna de los tratamientos. Aun después en la semana 20 se encontró que las poblaciones de bacterias totales para el suelo estéril (inoculado con la cepa MA06), suelo no estéril (inoculado con la cepa MA06) y suelo control (no inoculado) eran de 7.4, 7.6 y 7.4 respectivamente, mientras que para los ensayos con la cepa MA04 fueron de 7.1, 7.0 y 7.4, respectivamente. Esto indica una estabilidad de las poblaciones, después de haber introducido un microorganismo exógeno. Al no existir un marcador de selección cuando se cuantificaron las poblaciones totales de bacterias en el suelo no estéril y poder comprobar que la cepa se había integrado a la comunidad bacteriana, se tomaron fotografías del crecimiento bacteriano. En las figuras 6 y 7, podemos observar la presencia de colonias con morfología semejante a las cepas introducidas (MA04 y MA06) en el suelo no estéril. Dichas figuras muestran el crecimiento bacteriano en placa para el orden de dilución 10^{-4} para todos los suelos, indicando que la cepa se encuentra representada dentro de las poblaciones más abundantes. En la figura 6, la fotografía superior corresponde al suelo estéril inoculado con la cepa MA06 y la fotografía inferior, el suelo no estéril inoculado con MA06. En la figura 7 de la misma manera podemos observar en la fotografía inferior, colonias bacterianas con la característica morfológica de las colonias que aparecen en el suelo estéril.

Las poblaciones microbianas de hongos y actinomicetos, no presentaron cambios durante el experimento. En las figuras 8 y 9 puede observarse que para ambas cepas las fluctuaciones en las poblaciones de hongos se mantuvieron en el orden de 4, y para los actinomicetos en el orden de 6. Esto implica que la inoculación de bacterias al suelo no provoco cambio en la abundancia de las poblaciones nativas, al menos de manera general.

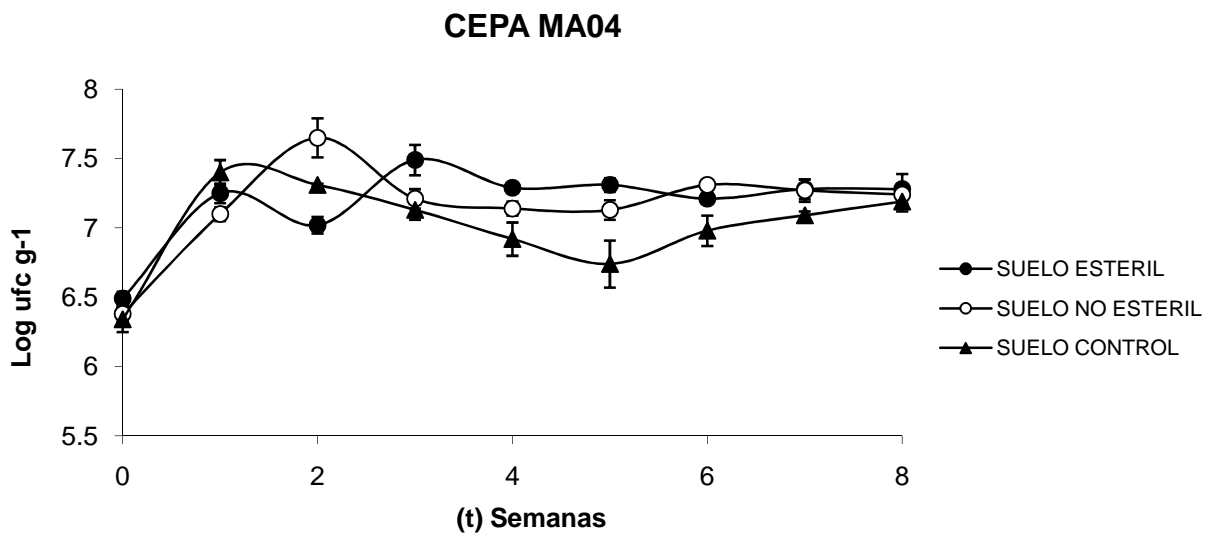
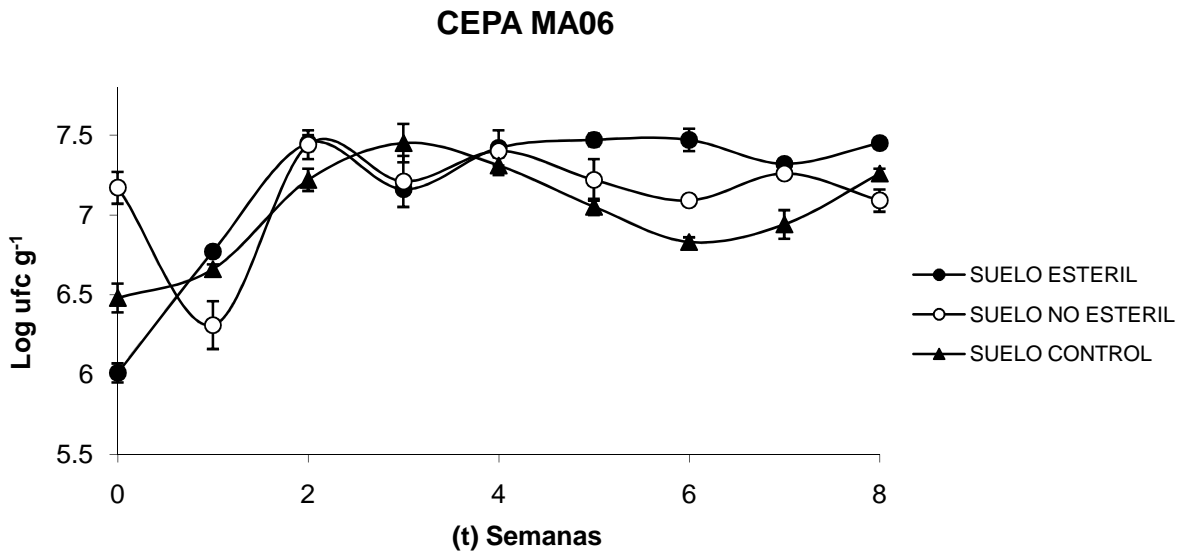


Figura 5. Dinámica de las poblaciones totales de bacterias en los suelos de estudio.

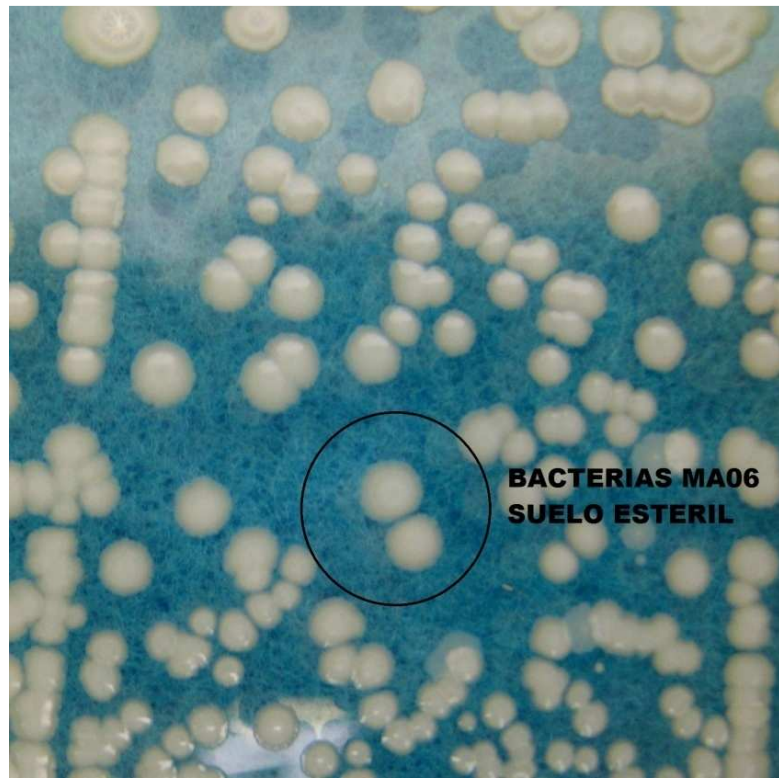


Figura 6. Morfología colonial de las poblaciones bacterianas de la cepa MA06 de los suelos estéril y no estéril

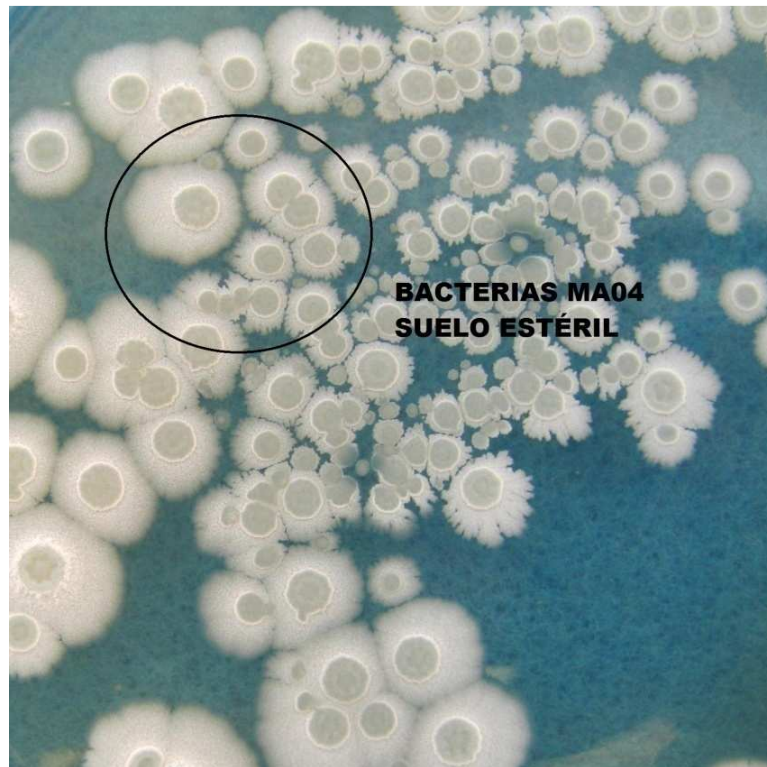


Figura 7. Morfología colonial de las poblaciones bacterianas de la cepa MA04 de los suelos estéril y no estéril

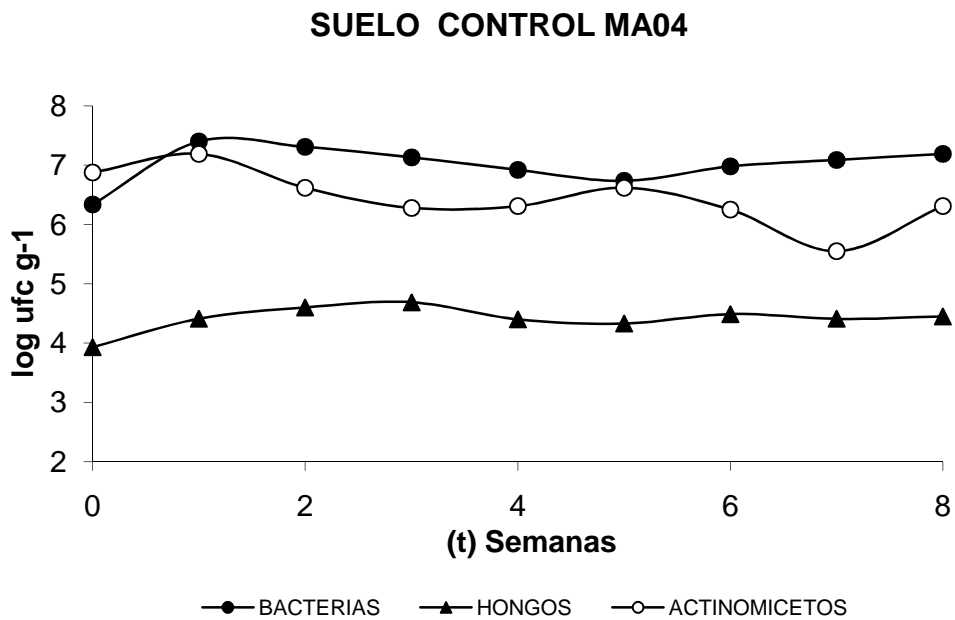
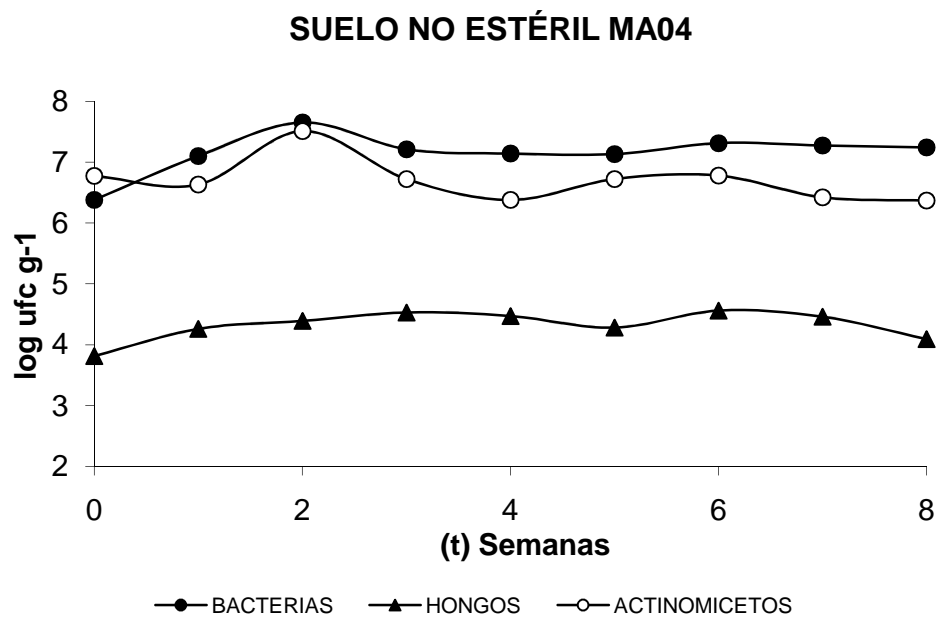


Figura 8. Dinámica de las poblaciones microbianas en el suelo inoculado con la cepa MA04 y el suelo control.

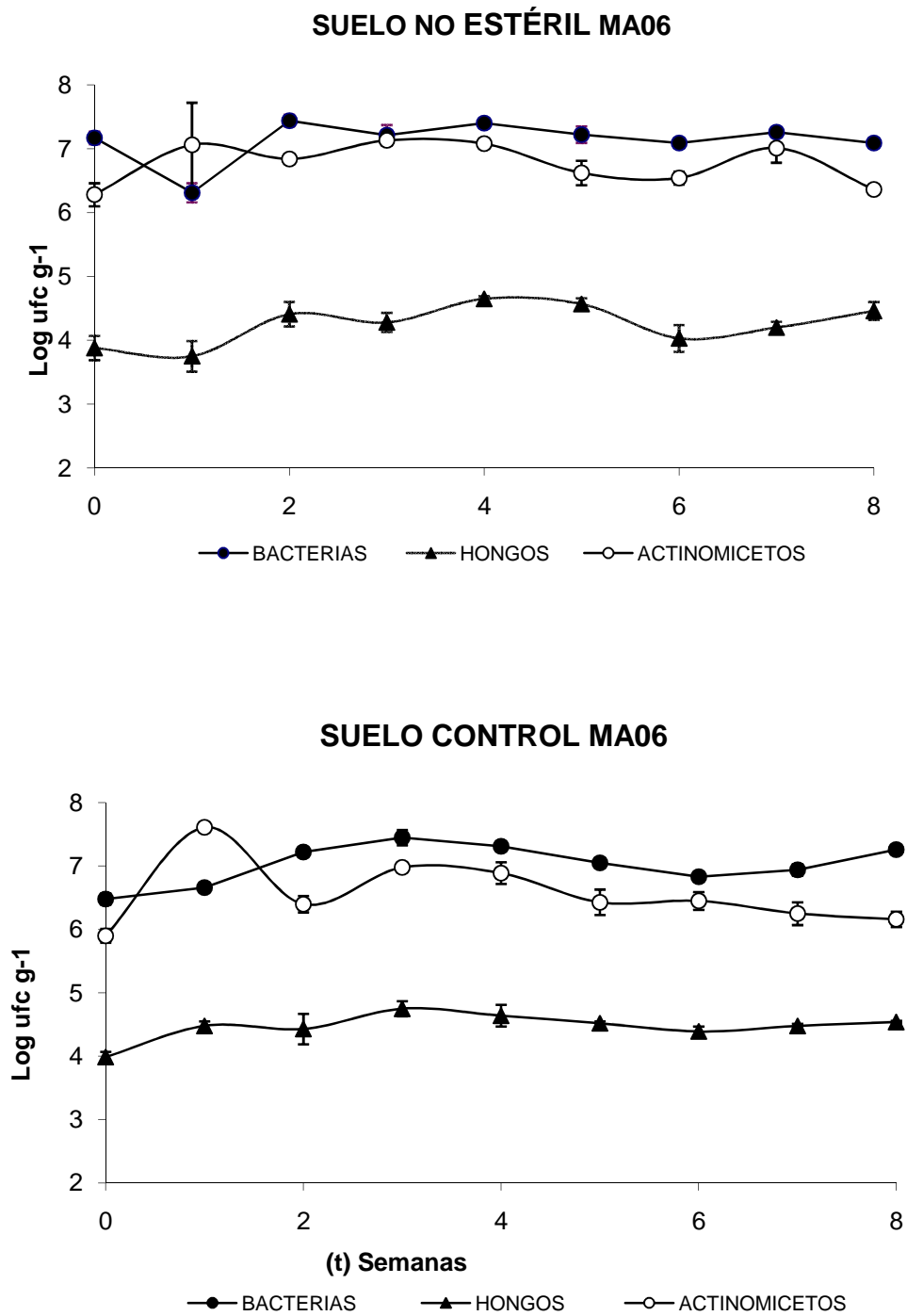


Figura 9. Dinámica de las poblaciones microbianas en el suelo inoculado con la cepa MA06 y el suelo control.

VII. DISCUSIÓN

La producción agrícola actual presenta grandes retos, pues el uso de insumos y recursos como el agua, fertilizantes y pesticidas, requiere de un uso más eficiente, asegurando el rendimiento vegetal sin el deterioro de la fertilidad del suelo. La búsqueda de alternativas como las bacterias promotoras del crecimiento representa una alternativa. Esta clase de bacterias permite una mejor adquisición de nutrientes para las plantas, reduciendo en ocasiones la fertilización química del suelo (Jiménez y col., 2001).

La mayoría de las investigaciones realizadas en este ámbito se han enfocado en la acción de los biofertilizantes aplicados en plantas y/o cultivos ya establecidos. Algunos casos exitosos indican que es una opción viable, económica y rentable. Santillana y col. (2005), evaluaron el efecto de 19 cepas de *Rhizobium* en la germinación y en el crecimiento de plantas de jitomate (*Lycopersicon esculentum*, var. Río grande). Al inicio de la floración, se evaluó la altura de la planta, el peso de la materia seca de la parte aérea, el peso de la materia seca de la raíz, peso de la materia seca total de la planta y el índice de efectividad de la inoculación (IEI) expresado en porcentaje. El 47 % de las cepas de *Rhizobium* presentaron efecto estimulante sobre las semillas de jitomate, resultando en una mejor germinación, posiblemente debido a la habilidad de los rizobios para producir hormonas como el ácido indol acético, ácido giberélico y citoquininas, sustancias reguladoras del crecimiento de las plantas. El 37 % de las cepas evaluadas estimularon el crecimiento de las plantas de jitomate, observándose mayores incrementos de la materia seca de la raíz con relación a la materia seca de la parte aérea, incrementos que superaron a la fertilización química.

En el trabajo de Gül y col. (2008), se investigaron los efectos de dos cepas comerciales de *Bacillus amyloliquefaciens* sobre la producción de jitomate a campo abierto y bajo invernadero, empleando diferentes dosis de fertilización. Los

tratamientos con *Bacillus* a campo abierto incrementaron el rendimiento total (en un 8-9%) a comparación con el testigo. No hubo diferencias significativas entre el tratamiento con *Bacillus* y el tratamiento de control bajo invernadero.

En el 2009, Madrigal y col. evaluaron el efecto de la inoculación de aislados de rizobacterias provenientes de alfalfa sobre semillas de jitomate “Bola” y “Río Grande”, pero no obtuvieron cambios significativos en el crecimiento, habiendo evaluado altura y número de hojas.

En el presente trabajo, al evaluar la acción de las cepas inoculadas en el porcentaje de germinación de las plántulas de jitomate, se observó que la cepa MA04 tuvo un efecto positivo en el porcentaje de germinación. En cuanto al crecimiento, desarrollo y biomasa de las plántulas de jitomate, se obtuvo que la cepa MA06 reportó mejores resultados, con lo que se puede decir, que esta cepa tiene mayores cualidades como promotora del crecimiento. Aunque las plántulas no fueron llevadas hasta producción de fruto, el buen desarrollo de la planta es un indicio del posible efecto que pudiera tener la inoculación de la cepa MA06 en la producción del fruto de jitomate.

Una característica importante para el éxito de cualquier inoculante empleado en la agricultura, es su persistencia y colonización en el suelo, así como su interacción con la planta huésped y con los microorganismos nativos. En el 2004, Sánchez-Yañez y Peña-Cabriales analizaron la persistencia de esporas de *Bacillus thuringiensis*-JM (*B. th*-JM) en hojas de maíz, hojas de frijol y suelo. Los resultados mostraron una limitada persistencia de las esporas de *B. th*-JM en las hojas de maíz y frijol, su sobrevivencia fluctuó entre las 48 y 72 h, después de su aspersión debido a la sensibilidad de las esporas a la radiación solar y la desecación. En el suelo no esterilizado, como en el suelo esterilizado, las esporas de *B. th*-JM tampoco fueron viables después de 48 h de su inoculación, mientras que en el

suelo no esterilizado, la competencia y depredación nativa causaron la rápida pérdida de viabilidad de las esporas.

El pH puede llegar a ser un parámetro importante del suelo que influya en la sobrevivencia de cepas introducidas. Petras y Casida en el 2004, inocularon esporas de *Bacillus thuringiensis* en tres suelos con diferentes pHs (4.2, 5 y 6), estos ensayos fueron realizados a campo abierto y a nivel de laboratorio en microcosmos. Al realizar el conteo de las unidades formadoras de colonias, las variaciones en el pH del suelo tuvieron poco efecto sobre la supervivencia de las esporas. En el suelo natural, durante las primeras dos semanas, el recuento de esporas disminuyó en aproximadamente en un orden de 1 (log ufc). Posteriormente, el número de ufc se mantuvo constante durante al menos 8 meses. Este comportamiento fue similar para las esporas cultivadas en laboratorio. Con respecto a las demás poblaciones de suelo, después de este tiempo, el número de bacterias, actinomicetos, hongos, protozoos y nematodos fueron determinados, encontrando que todos ellos, excepto los protozoos, tuvieron un moderado aumento en su densidad poblacional en respuesta a las esporas inoculadas

Sin embargo, en algunas cepas el pH ejerce una fuerte influencia, en estudios realizados por Staley y Brauer en el 2006, quienes inocularon cepas de *Pseudomonas putida* y *Rhizobium leguminosamm* en suelos ácidos (pH = 4.7, 4.8 y 4.92), encontraron una rápida disminución en la viabilidad para ambas cepas en todos los suelos, disminuyendo hasta el rango de 0.1 al 1% las ufc por gramo de suelo en 35 hrs para *P. putida* y en 68 hrs para *R. leguminosarum*.

En otros trabajos donde los inoculantes son empleados para el control biológico de plagas que atacan el sistema radical de las plantas, es necesario conocer el comportamiento de las células vegetativas de las bacterias en la espermósfera-rizósfera de las plantas. Medrano y col. en el 2006, analizaron la sobrevivencia de células vegetativas de *Bacillus thuringiensis* cepa GM-2 subespecie *coahuilense*

en la espermósfera-rizósfera de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), variedad Negro Jamapa, sembrado en diferentes suelos; en cuatro etapas fisiológicas: germinación, plántula, floración y senectud. Las plantas se sembraron en suelo agrícola esterilizado y no esterilizado. Se incluyó la inoculación de las células vegetativas en un suelo virgen sin y con esterilización. Los resultados mostraron que 15 días después de la siembra en la espermósfera-rizósfera del frijol, en el suelo agrícola esterilizado, las células vegetativas disminuyeron en 38 %, lo que indicó que los exudados de la raíz no estimularon su crecimiento, aunque sobrevivieron más de 30 días. En el mismo período en la rizósfera de frijol, sembrado en el suelo agrícola no esterilizado, las células vegetativas de *B. thuringiensis* decrecieron en 49%, debido a la competencia y depredación de los microorganismos autóctonos del suelo. En contraste, en el suelo virgen esterilizado y sin raíces, las células vegetativas de *B. thuringiensis* disminuyeron en 93 % a causa de su incapacidad para utilizar, como fuente de carbono y energía, a la materia orgánica del suelo; mientras que en el mismo suelo sin esterilizar, las células no se detectaron después de 48 h, debido a su falta de competencia y por la depredación de los microorganismos nativos del suelo. Lo anterior se opone a la idea de considerar a *B. th* como un miembro activo de la comunidad del suelo.

A comparación del estudio realizado por Petras y Casida (2004) donde la población de la cepa inoculada disminuyó en las dos primeras semanas, en nuestro caso hubo un aumento de la población en un orden de 1 (log ufc), en el mismo trabajo la adición de esporas tuvo un efecto positivo para poblaciones de microorganismos como bacterias, hongos y actinomicetos, pero en nuestro caso no ocurrió lo mismo para la inoculación de MA04 y MA06.

Aunque las cepas inoculadas no fueron cuantificadas en el suelo no estéril, al realizar una comparación entre las poblaciones de hongos y actinomicetos de los suelos no estéril y suelo control, encontramos que no tuvo efecto positivo ni negativo al menos para conservar las densidad de poblaciones, tal vez hubo

cambios en las poblaciones pero no en el número total, sino en especie, lo cual no fue perceptible de haber sucedido por los métodos empleados. El empleo de marcadores de selección y el análisis genético de las poblaciones son herramientas que pudieran ser empleadas para conocer el impacto de la introducción de una cepa a un suelo. A pesar de ello, los resultados indican que MA04 y MA06 pueden emplearse para ensayos posteriores para verificar su efecto en la producción del jitomate a nivel invernadero.

VIII. CONCLUSIONES

1. El aislado Gram-positivo MA04 caracterizado como promotor del crecimiento cuando es inoculado en semillas de jitomate var. Río grande tiene un efecto positivo sobre la germinación.
2. La inoculación del aislado Gram-positivo MA06 sobre semillas de jitomate var. "Río grande" tiene un efecto positivo en el vigor de la plántula durante el primer mes, mejorando la altura, el diámetro del tallo y el peso seco de la planta.
3. El efecto promotor de crecimiento de los aislados MA04 y MA06, no fue observado cuando fueron inoculados pimiento morrón, lo que indica que las relaciones planta-microorganismo son específicas para cada tipo de plantas.
4. La densidad de población de los aislados MA06 y MA04 en el suelo estéril, se mantuvo constante desde de la segunda semana de la inoculación hasta la semana diecinueve, lo que indicaría su posible la persistencia durante al menos un ciclo de cultivo en un suelo arcilloso.
5. La introducción de MA04 y MA06 no tuvo efecto negativo en la densidad de las poblaciones totales cultivables de hongos y actinomicetos en el suelo de estudio, indicando que puede adaptarse a la ecología microbiana del sitio sin generar competencia o deterioro de las comunidades microbianas.

IX. BIBLIOGRAFÍA

Acuña, O., Peña, W., Serrano, E., Pocasangre, L., Rosales, F., Delgado, E., Trejos, J., Segura, A. 2006. La importancia de los microorganismos en la calidad y salud de suelos. Investigaciones Agronómicas Corbana. Vol.39: 222-233.

Aguado Santacruz, A., Moreno Gómez, B. 2008. Potencial de bioinoculantes microbianos como una alternativa para reducir costos de fertilización en maíz de temporal. 1er Premio a la Innovación Tecnológica Guanajuato 2008. Memorias: 3-7.

Bacilio-Jiménez, M., Aguilar-Flores, S., Del Valle, M.V., Pérez, A., Zepeda, A., Zenteno, E. 2005. Endophytic bacteria in rice seeds inhibit early colonization of roots by *Azospirillum brasilense*. Soil Biology & Biochemistry. Vol.33: 167-172.

Bertolini, V., Carrillo Castañeda, G., Gonzales Camacho, J.M. 2007. Biofertilización y hormonas vegetales en la sobrevivencia y crecimiento de plántulas de *phalaenopsis (orchidaceae)* producidas in vitro. Revista científica de ingeniería forestal. Vol.66: 12-26.

Bolletta, A., Krüger, H. 2005. Influencia del ambiente sobre micorrizas en agroecosistemas de la región semiárida pampeana. Estación experimental agropecuaria Bordenave. Vol. 44:81-87.

Castillo, C. 2005. Efectividad de actinomicetos aislados de la rizosfera de papa sobre *rhizoctonia solani kühn* in vitro. Revista Mexicana de Fitopatología. Vol. 22: 203-207.

Covarrubias, O. 2007. Sistema interactivo de apoyo al riego. Guías y manuales de terreno. www.siar.cl

Dibut, B., Martínez, R., González, H. 2004. Evaluación de cepas de *Azotobacter chroococcum* aislada de suelos de Cuba. Actividad estimuladora del crecimiento de plántulas de tomate". Ciencias de la Agricultura. Vol. 40: 11- 16.

Ferrer, R., Herrera, H. 2007. Breve reseña de los biofertilizantes. Jornada Científica INIFAT. Vol.18: 4-6.

Galindo, T., Polanía, J., Sánchez, J., Moreno, N., Venegas, J., Holguín, G. 2006. Efecto de inoculantes microbianos sobre la promoción de crecimiento de plántulas de mangle y plantas de *citrullus vulgaris*. Acta Biológica Colombiana. Vol. 11 No.1: 83 – 97.

González Camacho, J.M., Carrillo Castañeda G. 2007. Biofertilización y hormonas vegetales en la sobrevivencia y crecimiento de plántulas de *Phalaenopsis (orchidaceae)* producidas *in vitro*. Revista científica eletrônica de engenharia florestal. Vol. 10: 67-78.

González Parra, M. 2006. Efecto de un inoculante microbiano a partir de cepas nativas de *Azotobacter chroococcum* sobre el rendimiento en secuencias de cultivos hortícolas. Camagüey, Cuba. Universidad de Camagüey Instituto de suelos. Tesis para obtener el título de Maestría en Fertilidad del Suelo. Pp. 3-9.

Gül, A., Kıdoglu, F., Tüzel, Y.. 2008. Effects of nutrition and *Bacillus amyloliquefaciens* on tomato (*Solanum lycopersicum* L.) Growing in perlite. Spanish Journal of Agricultural Research. Vol. 6: 422-429.

Jiménez B. M., Aguilar-Flores S., del Valle M. V., Zepeda A., Zenteno E. 2001. Endophytic bacteria in rice seeds inhibit early colonization of roots by *Azospirillum brasilense*. 2001. Soil Biology and Biochemistry. Vol. 33: 167-172.

López, N.I., Ruiz, J.A., Méndez, B.S. 1998. Survival of poly-3-hydroxybutyrate-producing bacteria in soil microcosms. World Journal of Microbiology and Biotechnology. Vol. 14: 681-684.

Luna O.H.A., Sánchez, J.M. 1991. Manual de microbiología del suelo. Cd. Universitaria, Monterrey, N.L. 3ra edición. Pp. 194-195.

Madrigal C., E., Rivas Valdez, I., Garcidueñas Piña, C., Guerrero Barrera, A., Morales Dominguez, J. 2009. Efecto de aislados bacterianos de la familia de las

rizobacterias provenientes de alfalfa (*Medicago sativa*) en la mejora del crecimiento de plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris*) y nodulación en jitomate (*Solanum lycopersicon*). Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes. Vol. 43: 10-15.

Medrano González, M.A., Luna-Olvera, H.A., Peña-Cabriales, J.J., Sánchez-Yáñez, J.M. **2006**. Sobrevivencia de células vegetativas de *Bacillus thuringiensis* en la esfermosfera/rizosfera de frijol. Terra. Vol.18 No.4: 333-337.

Mora, M. **2010**. Aislamiento y caracterización de rizobacterias de suelos agrícolas con potencial de ser empleadas como “biofertilizantes” en la producción de hortalizas. Querétaro, Qro. Universidad Autónoma de Querétaro. Tesis para obtener el título de Licenciatura en Biología. Pp.13-16.

Nogales, B. **2005**. La microbiología del suelo en la era de la biología molecular: descubriendo la punta del iceberg. Ecosistemas. Vol. 14: 41-51.

Oliveira, A., Canuto, E.L., Silva, E.E., Reis, V.M., Baldani, J.I. **2004**. Survival of endophytic diazotrophic bacteria in soil under different moisture levels. Brazilian Journal of Microbiology. Vol. 35: 295-299.

Petrás, S. F., Casida L. E. JR. **2004**. Survival of *Bacillus Thuringiensis* Spores in Soil. Dec. Applied and Environmental Microbiology. Vol. 50, No. 6: 1496-1501.

Petrini, R., Baglione, V., Robles, J.L. **2008**. Depredación sobre nidos en el suelo: un experimento con nidos artificiales en agrosistemas cerealistas. www.dipalme.org

Planes Leyva, M., Utria-Borges, E., Calderón-Agüero, J.O., Terry-Lamothe, A.O., Figueroa-Santana, L., Lores, A. **2004**. La biofertilización como herramienta biotecnológica de la agricultura sostenible. Revista Chapingo Serie Horticultura. Vol.10: 5-10.

Portilla Cruz, I., Molina Gayosso, E., Cruz-Flores, G., Ortiz Monasterio, I., Manske, G.G.B. **2004**. Colonización micorrízica Arbuscular, actividad fosfatasa y longitud

radical como respuesta a estrés de fósforo en Trigo y triticale cultivados en un andisol. Terra. Vol. 16 no.1: 57-61.

Quesada R., Méndez S. C. 2005. Evaluación de sustratos para almácigos de hortalizas. Agronomía Mesoamericana. Vol. 16:171-183.

Salinas García, J.R., Díaz-Franco, A., Garza-Cano, E. 2005. Efectos de labranza y biofertilización en propiedades del suelo que afectan a la sostenibilidad de la producción de frijol. Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Vol.5: 30-34.

Sánchez V, J. 2007. Fertilidad del suelo y nutrición mineral de plantas. www.fertitec.com

Sánchez Yáñez, J.M., Peña-Cabriales, J.J. 2004. Persistencia de esporas de *bacillus thuringiensis* en hojas de maíz, de frijol y en el suelo. Terra. Vol. 18, No.4: 325-331.

Santillana, N., Arellano, C., Zuñiga, D. 2005. Capacidad del rhizobium de promover el crecimiento en plantas de tomate (*lycopersicon esculentum* Miller). Ecología Aplicada. Vol. 4: 47-51.

Shaxson, F., Barber, R. 2005. Optimización de la humedad del suelo para la producción vegetal. www.fao.or

Staley, T., Brauer, D. 2006. Survival of a Genetically Modified Root-Colonizing Pseudomonad and Rhizobium Strain in an Acidic Soil. Soil Science Society of America Journal. Vol. 70:1906-1912.

Toro, M., Bazó, I., López, M. 2008. Micorrizas arbusculares y bacterias promotoras de crecimiento vegetal, biofertilizantes nativos de sistemas agrícolas bajo manejo conservacionista. Agronomía Tropical. Vol. 58: 215-221.

Valencia Cantero, E., Peña Cabriales, J. 2007. El suelo y sus habitantes microbianos: consideraciones ecológicas. Avance y Perspectiva. Vol. 20: 401-406.