



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ingeniería
Maestría en Ingeniería de Biosistemas.

“Sinergismo entre microorganismos como fijadores de nitrógeno,
promotores de crecimiento vegetal y antipatogénicos”

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Maestra en Ciencias en Ingeniería de Biosistemas.

Presenta:
Betsie Martínez Cano

Dirigido por:
Dr. Genaro Martín Soto Zarazúa

Dr. Genaro Martín Soto Zarazúa.
Presidente

Dr. Juan Fernando García Trejo.
Secretario

Dra. Rosario Guzmán Cruz.
Vocal

Dr. Manuel Toledano Ayala.
Suplente

Dr. Gonzalo Macías Bobadilla.
Suplente

Centro Universitario, Querétaro, Qro.
Julio de 2019.
México.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, José Martínez Lara y Francisca Cano Zapien, por el apoyo brindado en esta etapa y a lo largo de mi vida. Por estar presentes en los buenos y malos momentos, por su cariño, comprensión y educación. Porque este logro es por y para ellos.

A mis hermanas, por siempre estar ahí y ser un sostén en los momentos difíciles. Por su compañía y buenos momentos.

A Pepe, por apoyarme en esta etapa difícil, por darme ánimos para continuar, por ayudarme siempre que lo necesito. Por su compañía, apoyo y amor.

Al Doctor Genaro Martín Soto Zarazúa, por su apoyo, ayuda y guía. Por orientarme a la obtención de resultados y por llevarme por el camino de la investigación, porque fue una parte importante en esta etapa.

Al comité sinodal, por sus aportaciones para el desarrollo y culminación de esta tesis. Agradezco por su tiempo, su disponibilidad y apoyo para la realización de mi investigación, en especial al Doctor Juan Fernando García Trejo y al Doctor Ramón Gerardo Guevara González.

A mis compañeros de la maestría y de la oficina, por su compañía, amistad y ayuda. Por hacerme más sencilla la estancia en el posgrado.

A CONACyT por el apoyo económico recibido por pertenecer a una maestría con PNPc con la beca número 481752.

A la Universidad Autónoma de Querétaro por la beca académica otorgada para cubrir los créditos de la maestría.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	1
ÍNDICE.....	2
ÍNDICE DE TABLAS	5
ÍNDICE DE ECUACIONES	10
ÍNDICE DE FIGURAS.....	11
ABREVIATURAS Y SIGLAS.....	18
RESUMEN	20
ABSTRACT	22
I. INTRODUCCIÓN	24
I.I Motivación.....	27
II. ANTECEDENTES	29
II.I Agricultura, situación actual.....	29
II.II La rizósfera y su importancia en la agricultura	30
II.III Ingeniería de la rizósfera y su aplicación en la agricultura.	31
II.IV Biofertilizantes.....	33
II.V Microorganismos fijadores de nitrógeno.....	34
II.VI Bacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPB)	36
II.VII Microorganismos antipatogénicos o agentes de biocontrol.....	38
II.VIII Sinergismo microbiano y su uso en la agricultura.....	40
II.IX Descripción de especies bacterianas y vegetales a utilizar en este trabajo. 43	
III. Hipótesis	55
Hipótesis nula	55

Hipótesis alternativa.....	55
IV. OBJETIVOS.....	56
Objetivo General	56
Objetivos Particulares	56
V. METODOLOGÍA	57
Aislamiento de cepas bacterianas.	57
Extracción de ADN e identificación de cepas bacterianas mediante secuenciación del gen 16S.	59
Evaluación de la coexistencia y compatibilidad de cepas bacterianas.	61
Evaluación de la actividad solubilizadora de fosfato.	62
Evaluación de la actividad antipatogénica.	64
Evaluación de actividad sobre germinación de semillas de lechuga y jitomate.	65
Comparación del efecto de la inoculación individual y de la mezcla de bacterias en plántulas de chile jalapeño, acelga, lechuga y jitomate.	69
Evaluación de los tratamientos.	73
VI. RESULTADOS Y DISCUSION	75
Aislamiento de cepas bacterianas.	75
Extracción de ADN e identificación de cepas bacterianas mediante secuenciación del gen 16S.	78
Evaluación de la coexistencia y compatibilidad de cepas bacterianas.	81
Evaluación de la actividad solubilizadora de fosfato.	82
Evaluación de la actividad antipatogénica.	88
Evaluación de la actividad sobre la germinación de semillas de lechuga y jitomate.	92

Comparación del efecto de la inoculación individual y de la mezcla de bacterias en plántulas de chile jalapeño, acelga, lechuga y jitomate y evaluación de los tratamientos.....	100
VII. CONCLUSIONES.....	130
VIII. BIBLIOGRAFÍA.....	131
IX. ANEXOS.....	148
ANEXO 1.	148
ANEXO 2.	150

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. DESCRIPCIÓN DE TRATAMIENTOS UTILIZADOS EN LAS PRUEBAS DE GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE LECHUGA Y JITOMATE.....	66
TABLA 2. DESCRIPCIÓN DE TRATAMIENTOS UTILIZADOS PARA LA REALIZACIÓN DE LAS PRUEBAS EN CHILE JALAPEÑO, ACELGA, LECHUGA Y JITOMATE.....	69
TABLA 3. CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS DE LAS COLONIAS Y MICROSCÓPICAS DE LAS BACTERIAS SELECCIONADAS, AISLADAS DE UNA COMPOSTA UBICADA EN EL CAMPUS AMAZCALA DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO EN 2018.....	75
TABLA 4. ÍNDICE DE SOLUBILIZACIÓN DE FOSFATOS Y EFICIENCIA RELATIVA DE SOLUBILIZACIÓN DE S. RHIZOPHILA, B. PUMILUS Y S. RHIZOPHILA 2. DIÁMETRO DE LA COLONIA Y DIÁMETRO DEL HALO DE SOLUBILIZACIÓN ($x \pm DE$). *LOS VALORES SON EL PROMEDIO DE TRES RÉPLICAS. ** IS = ÍNDICE DE SOLUBILIZACIÓN. ***ERS= EFICIENCIA RELATIVA DE SOLUBILIZACIÓN.....	82
TABLA 5. ANÁLISIS DE VARIANZA ANOVA DEL ÍNDICE DE SOLUBILIZACIÓN DE LAS BACTERIAS S. RHIZOPHILA, B. PUMILUS Y S. RHIZOPHILA 1. DE ACUERDO AL VALOR P DE 0,003 HAY UNA DIFERENCIA ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVA ENTRE EL IS PRESENTADO POR CADA UNA DE ELLAS. SS=SUMA DE CUADRADOS. MS=MEDIA CUADRADA.....	84
TABLA 6. PRUEBA DE TUKEY DONDE SE MUESTRA QUE LA BACTERIA BACILLUS PUMILUS (A) ES LA QUE MUESTRA DIFERENCIA SIGNIFICATIVA EN CUANTO AL ÍNDICE DE SOLUBILIZACIÓN, SIENDO MAYOR QUE EL PRESENTADO POR LOS AISLADOS DE LA CEPA STENOTROPHOMONAS RHIZOPHILA (B).	84
TABLA 7. ANÁLISIS DE VARIANZA ANOVA PARA LA EFICIENCIA RELATIVA DE SOLUBILIZACIÓN DE LAS BACTERIAS S. RHIZOPHILA, B. PUMILUS Y S. RHIZOPHILA 2. DE ACUERDO AL VALOR P DE 0,0027 HAY UNA DIFERENCIA ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVA ENTRE LA ERS DE CADA UNA DE LAS BACTERIAS. SS=SUMA DE CUADRADOS. MS=MEDIA CUADRADA.....	84
TABLA 8. PRUEBA DE TUKEY DONDE SE MUESTRA QUE LA BACTERIA BACILLUS PUMILUS (A) ES LA QUE MUESTRA DIFERENCIA SIGNIFICATIVA EN CUANTO A LA EFICIENCIA RELATIVA DE SOLUBILIZACIÓN, SIENDO MAYOR QUE EL PRESENTADO POR LOS AISLADOS DE LA CEPA STENOTROPHOMONAS RHIZOPHILA (B).....	85
TABLA 9. ÍNDICE DE SOLUBILIZACIÓN Y EFICIENCIA RELATIVA DE SOLUBILIZACIÓN DE MICROORGANISMOS QUE HAN PRESENTADO ACTIVIDAD SOLUBILIZADORA DE FOSFATO REPORTADOS EN BIBLIOGRAFÍA. N.R. = NO REPORTADO.....	87

TABLA 10. RESULTADOS DE LA PRUEBA DE ANTAGONISMO DIRECTO DE LAS BACTERIAS S. RHIZOPHILA, B. PUMILUS Y S. RHIZOPHILA 2 CONTRA F. OXYSPORUM. SE PRESENTA EL DIÁMETRO DEL MICELIO TESTIGO SIN TRATAMIENTO Y EL DIÁMETRO DEL MICELIO OBTENIDO PARA CADA UNA DE LAS BACTERIAS AISLADAS ($x \pm DE$), ADEMÁS SE MUESTRA EL % DE INHIBICIÓN QUE GENERA CADA BACTERIA CONTRA F. OXYSPORUM. *LOS VALORES SON EL PROMEDIO DE TRES RÉPLICAS. ^A = ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) INDICA QUE NO HAY DIFERENCIA ESTADÍSTICA SIGNIFICATIVA ENTRE LOS TRATAMIENTOS.....	89
TABLA 11. RESULTADOS DE LA PRUEBA DE ANTAGONISMO DIRECTO DE LAS BACTERIAS S. RHIZOPHILA, B. PUMILUS Y S. RHIZOPHILA 2 CONTRA S. CEPIVORUM. SE PRESENTA EL DIÁMETRO DEL MICELIO TESTIGO SIN TRATAMIENTO Y EL DIÁMETRO DEL MICELIO OBTENIDO PARA CADA UNA DE LAS BACTERIAS AISLADAS ($x \pm DE$), ADEMÁS, SE MUESTRA EL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN QUE GENERA CADA BACTERIA CONTRA S. CEPIVORUM. *LOS VALORES SON EL PROMEDIO DE TRES RÉPLICAS. ^A = ANÁLISIS DE VARIANZA ANOVA Y PRUEBA TUKEY INDICAN DIFERENCIA ESTADÍSTICA SIGNIFICATIVA ENTRE LOS TRATAMIENTOS Y CUÁLES SON DIFERENTES ENTRE SÍ..	91
TABLA 12. DATOS EMPLEADOS PARA OBTENER EL TAMAÑO DE MUESTRA DE SEMILLAS DE LECHUGA PARA PRUEBAS DE GERMINACIÓN OBTENIÉNDOSE UN TOTAL DE 44 SEMILLAS.	93
TABLA 13. TASA DE GERMINACIÓN Y TIEMPO DE LATENCIA DE SEMILLAS DE LECHUGA CON LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS, SIENDO EL TRATAMIENTO 1: S. RHIZOPHILA, TRATAMIENTO 2: B. PUMILUS, TRATAMIENTO 3: S. RHIZOPHILA 2, TRATAMIENTO 4: S. RHIZOPHILA + B. PUMILUS, TRATAMIENTO 5: S. RHIZOPHILA + S. RHIZOPHILA 2, TRATAMIENTO 6: B. PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2, TRATAMIENTO 7: S. RHIZOPHILA + B. PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2. *LOS VALORES MOSTRADOS SON EL PROMEDIO DE TRES RÉPLICAS. ^A : ANÁLISIS DE VARIANZA ANOVA Y PRUEBA TUKEY INDICAN DIFERENCIA ESTADÍSTICA SIGNIFICATIVA ENTRE LOS TRATAMIENTOS Y CUÁLES SON DIFERENTES ENTRE SÍ.	94
TABLA 14. DATOS EMPLEADOS PARA OBTENER EL TAMAÑO DE MUESTRA DE SEMILLAS DE JITOMATE PARA PRUEBAS DE GERMINACIÓN OBTENIÉNDOSE UN TOTAL DE 42 SEMILLAS.	97
TABLA 15. TASA DE GERMINACIÓN Y TIEMPO DE LATENCIA DE SEMILLAS DE LECHUGA CON LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS, SIENDO EL TRATAMIENTO 1: S. RHIZOPHILA, TRATAMIENTO 2: B. PUMILUS, TRATAMIENTO 3: S. RHIZOPHILA 2, TRATAMIENTO 4: S. RHIZOPHILA + B. PUMILUS, TRATAMIENTO 5: S. RHIZOPHILA + S. RHIZOPHILA 2, TRATAMIENTO 6: B. PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2, TRATAMIENTO 7: S. RHIZOPHILA + B.	

PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2. *LOS VALORES MOSTRADOS SON EL PROMEDIO DE TRES RÉPLICAS. ^A: ANÁLISIS DE VARIANZA ANOVA Y PRUEBA TUKEY INDICAN DIFERENCIA ESTADÍSTICA SIGNIFICATIVA ENTRE LOS TRATAMIENTOS Y CUÁLES SON DIFERENTES ENTRE SÍ.98

TABLA 16. ALTURA Y GROSOR DE TALLO, ÁREA FOLIAR Y CLOROFILA DE PLÁNTULAS DE CHILE JALAPEÑO EN CADA UNO DE LOS TRATAMIENTOS EVALUADOS, ASÍ COMO DEL CONTROL SIN INOCULAR. TRATAMIENTO 1: S. RHIZOPHILA. TRATAMIENTO 2: B. PUMILUS. TRATAMIENTO 3: S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 4: S. RHIZOPHILA + B. PUMILUS. TRATAMIENTO 5: S. RHIZOPHILA + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 6: B. PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 7: S. RHIZOPHILA + BACILUS PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2. * LOS VALORES MOSTRADOS SON EL PROMEDIO DE TRES RÉPLICAS, ES DECIR, 30 PLÁNTULAS. ^A: ANÁLISIS DE VARIANZA ANOVA Y PRUEBA DE MÚLTIPLES RANGOS INDICAN DIFERENCIA ESTADÍSTICA SIGNIFICATIVA ENTRE LOS TRATAMIENTOS. LAS LETRAS DISTINTAS SEÑALAN DIFERENCIAS ESTADÍSTICAS ENTRE LOS TRATAMIENTOS.101

TABLA 17. MODELO MATEMÁTICO DE LA FORMA $Y=(A+BX)^2$ PARA DESCRIBIR LA RELACIÓN ENTRE LA ALTURA Y EL GROSOR DE TALLO DE LAS PLÁNTULAS DE CHILE JALAPEÑO EN CADA UNO DE LOS TRATAMIENTOS. SIENDO TRATAMIENTO 1: S. RHIZOPHILA. TRATAMIENTO 2: B. PUMILUS. TRATAMIENTO 3: S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 4: S. RHIZOPHILA + B. PUMILUS. TRATAMIENTO 5: S. RHIZOPHILA + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 6: B. PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 7: S. RHIZOPHILA + BACILUS PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2. G=GROSOR DE TALLO. EXISTE UNA RELACIÓN ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVA ENTRE ALTURA Y GROSOR DE TALLO CON UN NIVEL DE CONFIANZA DEL 95.0%.105

TABLA 18. ALTURA Y GROSOR DE TALLO, ÁREA FOLIAR Y CLOROFILA DE PLÁNTULAS DE ACELGA EN CADA UNO DE LOS TRATAMIENTOS EVALUADOS, ASÍ COMO DEL CONTROL SIN INOCULAR. TRATAMIENTO 1: S. RHIZOPHILA. TRATAMIENTO 2: B. PUMILUS. TRATAMIENTO 3: S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 4: S. RHIZOPHILA + B. PUMILUS. TRATAMIENTO 5: S. RHIZOPHILA + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 6: B. PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 7: S. RHIZOPHILA + BACILUS PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2. * LOS VALORES MOSTRADOS SON EL PROMEDIO DE TRES RÉPLICAS, ES DECIR, 30 PLÁNTULAS. ^A: ANÁLISIS DE VARIANZA ANOVA Y PRUEBA DE MÚLTIPLES RANGOS INDICAN DIFERENCIA ESTADÍSTICA SIGNIFICATIVA ENTRE LOS TRATAMIENTOS. LAS LETRAS DISTINTAS SEÑALAN DIFERENCIAS ESTADÍSTICAS ENTRE LOS TRATAMIENTOS.109

TABLA 19. MODELO MATEMÁTICO DE LA FORMA $Y=(A+BX)^2$ PARA DESCRIBIR LA RELACIÓN ENTRE LA ALTURA Y EL GROSOR DE TALLO DE LAS PLÁNTULAS DE ACELGA EN CADA UNO DE LOS TRATAMIENTOS. SIENDO TRATAMIENTO 1: S. RHIZOPHILA. TRATAMIENTO 2: B. PUMILUS. TRATAMIENTO 3: S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 4: S. RHIZOPHILA + B. PUMILUS. TRATAMIENTO 5: S. RHIZOPHILA + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 6: B. PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 7: S. RHIZOPHILA + BACILUS PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2. G=GROSOR DE TALLO. EXISTE UNA RELACIÓN ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVA ENTRE ALTURA Y GROSOR DE TALLO CON UN NIVEL DE CONFIANZA DEL 95.0%.....112

TABLA 20. ALTURA Y GROSOR DE TALLO, ÁREA FOLIAR Y CLOROFILA DE PLÁNTULAS DE LECHUGA DE CADA TRATAMIENTO Y EL CONTROL SIN INOCULAR. TRATAMIENTO 1: S. RHIZOPHILA. TRATAMIENTO 2: B. PUMILUS. TRATAMIENTO 3: S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 4: S. RHIZOPHILA + B. PUMILUS. TRATAMIENTO 5: S. RHIZOPHILA + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 6: B. PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 7: S. RHIZOPHILA + BACILUS PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2. * LOS VALORES MOSTRADOS SON EL PROMEDIO DE TRES RÉPLICAS. ^A : ANÁLISIS DE VARIANZA ANOVA Y PRUEBA DE MÚLTIPLES RANGO, LAS LETRAS DISTINTAS INDICAN DIFERENCIA ESTADÍSTICA SIGNIFICATIVA.....115

TABLA 21. MODELO MATEMÁTICO DE LA FORMA $Y=(A+BX)^2$ PARA DESCRIBIR LA RELACIÓN ENTRE LA ALTURA Y EL GROSOR DE TALLO DE LAS PLÁNTULAS DE LECHUGA EN CADA UNO DE LOS TRATAMIENTOS. SIENDO TRATAMIENTO 1: S. RHIZOPHILA. TRATAMIENTO 2: B. PUMILUS. TRATAMIENTO 3: S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 4: S. RHIZOPHILA + B. PUMILUS. TRATAMIENTO 5: S. RHIZOPHILA + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 6: B. PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 7: S. RHIZOPHILA + BACILUS PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2. G=GROSOR DE TALLO. EXISTE UNA RELACIÓN ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVA ENTRE ALTURA Y GROSOR DE TALLO CON UN NIVEL DE CONFIANZA DEL 95.0%.....118

TABLA 22. ALTURA Y GROSOR DE TALLO, ÁREA FOLIAR Y CLOROFILA DE PLÁNTULAS DE JITOMATE EN CADA UNO DE LOS TRATAMIENTOS EVALUADOS, ASÍ COMO DEL CONTROL SIN INOCULAR. TRATAMIENTO 1: S. RHIZOPHILA. TRATAMIENTO 2: B. PUMILUS. TRATAMIENTO 3: S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 4: S. RHIZOPHILA + B. PUMILUS. TRATAMIENTO 5: S. RHIZOPHILA + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 6: B. PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 7: S. RHIZOPHILA + BACILUS PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2. * LOS VALORES MOSTRADOS SON EL PROMEDIO DE TRES RÉPLICAS, ES DECIR, 30 PLÁNTULAS. ^A : ANÁLISIS DE VARIANZA ANOVA Y PRUEBA DE MÚLTIPLES RANGOS INDICAN DIFERENCIA ESTADÍSTICA SIGNIFICATIVA ENTRE LOS

TRATAMIENTOS. LAS LETRAS DISTINTAS SEÑALAN DIFERENCIAS ESTADÍSTICAS ENTRE LOS TRATAMIENTOS.	121
TABLA 23. MODELO MATEMÁTICO DE LA FORMA $Y=(A+BX)^2$ PARA DESCRIBIR LA RELACIÓN ENTRE LA ALTURA Y EL GROSOR DE TALLO DE LAS PLÁNTULAS DE LECHUGA EN CADA UNO DE LOS TRATAMIENTOS. SIENDO TRATAMIENTO 1: S. RHIZOPHILA. TRATAMIENTO 2: B. PUMILUS. TRATAMIENTO 3: S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 4: S. RHIZOPHILA + B. PUMILUS. TRATAMIENTO 5: S. RHIZOPHILA + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 6: B. PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 7: S. RHIZOPHILA + BACILUS PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2. G=GROSOR DE TALLO. EXISTE UNA RELACIÓN ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVA ENTRE ALTURA Y GROSOR DE TALLO CON UN NIVEL DE CONFIANZA DEL 95.0%.	125
TABLA 24. RESUMEN DE RESULTADOS OBTENIDOS PARA CADA ESPECIE VEGETAL Y SUS VARIABLES. SE DESCRIBEN LOS TRATAMIENTOS QUE AUMENTARON O MEJORARON LA VARIABLE A MEDIR. TRATAMIENTO 1: S. RHIZOPHILA. TRATAMIENTO 2: B. PUMILUS. TRATAMIENTO 3: S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 4: S. RHIZOPHILA + B. PUMILUS. TRATAMIENTO 5: S. RHIZOPHILA + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 6: B. PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 7: S. RHIZOPHILA + BACILUS PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2. NA: LOS TRATAMIENTOS NO PRESENTARON DIFERENCIA SIGNIFICATIVA. T= TRATAMIENTO.	129

ÍNDICE DE ECUACIONES

ECUACIÓN 1. FENOTIPO DE CRECIMIENTO DE UNA PLANTA.....	54
ECUACIÓN 2. CRECIMIENTO CON INOCULACIÓN DE UNA BACTERIA.....	54
ECUACIÓN 3. CRECIMIENTO CON INOCULACIÓN DE UNA BACTERIA 2.....	54
ECUACIÓN 4. CRECIMIENTO DE UNA PLANTA CON LA INOCULACIÓN DE UN CONSORCIO BACTERIANO.....	55
ECUACIÓN 5. CÁLCULO DE SOLUBILIZACIÓN DE FOSFATO.....	63
ECUACIÓN 6. CÁLCULO DE EFICIENCIA RELATIVA DE SOLUBILIZACIÓN.....	63
ECUACIÓN 7. ÍNDICE DE INHIBICIÓN DE CRECIMIENTO.....	65
ECUACIÓN 8. ECUACIÓN PARA OBTENER TAMAÑO DE MUESTRA CON UNA POBLACIÓN FINITA Y SE CONOCE EL TOTAL DE UNIDADES DE OBSERVACIÓN QUE LA INTEGRAN.	65
ECUACIÓN 9. TASA DE GERMINACIÓN AL FINALIZAR LA PRUEBA.....	68
ECUACIÓN 10. CÁLCULO DEL ÁREA DE UNA HOJA EN MM ² , SE EMPLEA PARA ESTIMAR EL ÁREA FOLIAR DE HORTALIZAS.....	74

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. INGENIERÍA DE LA RIZÓSFERA. A) ECOSISTEMA NATURAL. B) ECOSISTEMA DEGRADADO POR LA AGRICULTURA INTENSIVA Y USO DE FERTILIZANTES. C) DISEÑO DE LA RIZÓSFERA MEDIANTE LA INOCULACIÓN DE COMUNIDADES MICROBIANAS. ...	32
FIGURA 2. MUESTRAS OBTENIDAS DE LA COMPOSTA COLOCADAS EN BOLSAS PLÁSTICAS ESTÉRILES ETIQUETADAS.....	57
FIGURA 3. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN MADRE DE CADA UNA DE LAS MUESTRAS TOMADAS DE LA COMPOSTA. AGITACIÓN CONSTANTE DURANTE 48 HORAS.	58
FIGURA 4. SIEMBRA DE LA SOLUCIÓN MADRE EN PDA CON LA FINALIDAD DE AISLAR LAS BACTERIAS PRESENTES EN LA COMPOSTA.	58
FIGURA 5. ACTIVACIÓN Y PROPAGACIÓN DE LAS CEPAS BACTERIANAS AISLADAS INOCULANDO EN CALDO DE CULTIVO LB E INCUBACIÓN CON ROTACIÓN CONSTANTE PARA SU ADECUADO CRECIMIENTO.	59
FIGURA 6. EXTRACCIÓN DE ADN DE CADA UNA DE LAS CEPAS BACTERIANAS AISLADAS. LA IMAGEN MUESTRA LAS BACTERIAS CRECIDAS EN MEDIO LB Y LOS REACTIVOS QUE SE UTILIZARON.....	60
FIGURA 7. GEL DE AGAROSA, EN LA IMAGEN SE MUESTRAN LOS POZOS QUE CONTIENEN EL ADN DE LAS BACTERIAS AISLADAS, SE HIZO POR DUPLICADO.	61
FIGURA 8. SIEMBRA DE LA BACTERIA DE PRUEBA, SE SEMBRÓ COMO UNA LÍNEA EN EL CENTRO DE LA CAJA Y SE INCUBÓ HASTA OBTENER UN CRECIMIENTO ROBUSTO....	62
FIGURA 9. SIEMBRA DE LAS OTRAS DOS BACTERIAS EXTENDIÉNDOLAS DE MANERA VERTICAL A LA BACTERIA DE PRUEBA.	62
FIGURA 10. SIEMBRA DE LAS BACTERIAS EN MEDIO PIKOVSKAYA CON LA FINALIDAD DE COMPROBAR QUE LAS BACTERIAS AISLADAS PRODUCEN ÁCIDOS ORGÁNICOS CAPACES DE SOLUBILIZAR FOSFATOS.....	63
FIGURA 11. HONGOS FITOPATÓGENOS UTILIZADOS, A LA IZQUIERDA SE MUESTRA FUSARIUM OXYSPORUM Y A LA DERECHA SCLEROTIUM CEPIVORUM.....	64
FIGURA 12. PRUEBA DE ANTAGONISMO DIRECTO	65
FIGURA 13. DESINFECCIÓN DE LAS SEMILLAS, SE COLOCARON EN VASOS DE PRECIPITADOS, PRIMERO CON ALCOHOL Y POSTERIORMENTE CON HIPOCLORITO DE SODIO.	66
FIGURA 14. A LA IZQUIERDA SE MUESTRA LA PREPARACIÓN DE LAS CAJAS PETRI CON EL PAPEL DESTILADO ESTÉRIL CUADRICULADO Y A LA DERECHA LA MANERA EN LA QUE SE DISTRIBUYERON LAS SEMILLAS DENTRO DE LAS CAJAS.	67

FIGURA 15. SE INDICA LA MANERA EN LA QUE SE HIZO LA INOCULACIÓN DE 0.1 ML DE LA SUSPENSIÓN BACTERIANA EN CADA SEMILLA CON UNA MICROPIPETA DENTRO DE LA CAMPANA DE EXTRACCIÓN.	67
FIGURA 16. SE MUESTRAN LAS SEMILLAS DENTRO DE LAS CAJAS PETRI, INOCULADAS CON LOS TRATAMIENTOS Y SELLADAS CON PARAFILM.	68
FIGURA 17. LIMPIEZA DE LOS SEMILLEROS, PRIMERAMENTE SE ELIMINARON LOS RASTROS DE SUSTRATO CON AGUA CORRIENTE PARA LUEGO PONERLOS EN UNA SOLUCIÓN DESINFECTANTE DE HIPOCLORITO DE SODIO. EN LA DERECHA SE MUESTRA EL LLENADO DE LOS SEMILLEROS CON EL SUSTRATO PREVIAMENTE ESTERILIZADO.	70
FIGURA 18. PROCEDIMIENTO PARA LA SIEMBRA DE LAS SEMILLAS.	71
FIGURA 19. LAS PLÁNTULAS SE MANTUVIERON EN CONDICIONES DE INVERNADERO CON RIEGO CADA TRES DÍAS DURANTE 5 SEMANAS.	73
FIGURA 20. CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS DE LA COLONIA CORRESPONDIENTE A LA BACTERIA IDENTIFICADA COMO BACTERIA 1. SE OBSERVA UNA COLONIA EN TONO AMARILLO CREMOSO.	76
FIGURA 21. CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS DE LA COLONIA CORRESPONDIENTE A LA BACTERIA IDENTIFICADA COMO BACTERIA 2. SE OBSERVA UNA COLONIA CIRCULAR, CON BORDES IRREGULARES BLANQUECINA.	76
FIGURA 22. CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS DE LA COLONIA CORRESPONDIENTE A LA BACTERIA IDENTIFICADA COMO BACTERIA 3. EN EL CENTRO DE LA IMAGEN SE OBSERVA LA COLONIA PEQUEÑA, PUNTIFORME, CREMOSA Y BLANQUECINA.	76
FIGURA 23. CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS DE LA BACTERIA IDENTIFICADA COMO BACTERIA 1. AL MICROSCOPIO SE OBSERVAN BACILOS GRAM NEGATIVOS.	LXXVIII
FIGURA 24. CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS DE LA BACTERIA IDENTIFICADA COMO BACTERIA 2. AL MICROSCOPIO SE OBSERVAN BACILOS GRAM POSITIVOS.	LXXVIII
FIGURA 25. CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS DE LA BACTERIA IDENTIFICADA COMO BACTERIA 3. AL MICROSCOPIO SE OBSERVAN BACILOS GRAM NEGATIVOS.	78
FIGURA 26. ELECTROFORESIS DE LA EXTRACCIÓN DE ADN DE LAS BACTERIAS AISLADAS, EL PRIMER Y SEGUNDO POZO PERTENECEN A LA BACTERIA 1, EL TERCER Y CUARTO POZO PERTENECEN A LA BACTERIA 2 Y EL QUINTO Y SEXTO POZO PERTENECEN A LA BACTERIA 3. EN LA IMAGEN SE MUESTRA LA PRESENCIA ABUNDANTE DE ADN EN EL PRIMERO, TERCERO, CUARTO Y SEXTO POZO, POR LO QUE SE TIENE EL ADN SUFICIENTE DE CADA UNA DE LAS BACTERIAS PARA REALIZAR SU SECUENCIACIÓN.	78

FIGURA 27. A LA IZQUIERDA SE MUESTRA LA BACTERIA S. RHIZOPHILA COMO UNA LÍNEA VERTICAL EN LA CAJA PETRI, MIENTRAS QUE LAS BACTERIAS B. PUMILUS Y S. RHIZOPHILA 2 SE MUESTRAN DE MANERA HORIZONTAL. EN LA CAJA PETRI DEL CENTRO SE MUESTRA A B. PUMILUS COMO UNA LÍNEA VERTICAL Y LOS DOS AISLADOS DE S. RHIZOPHILA HORIZONTALMENTE, FINALMENTE EN LA CAJA PETRI DE LA DERECHA SE MUESTRA A S. RHIZOPHILA 2 VERTICALMENTE Y B. PUMILUS Y S. RHIZOPHILA DE MANERA HORIZONTAL. EN TODOS LOS CASOS SE OBSERVA UN BUEN CRECIMIENTO BACTERIANO.81

FIGURA 28. PRUEBAS DE ANTAGONISMO DIRECTO CONTRA F. OXYSPORUM. A) TESTIGO, EL HONGO CRECIÓ SIN AGREGAR NINGÚN TRATAMIENTO. B) CRECIMIENTO DEL HONGO EN COMPETENCIA CON S. RHIZOPHILA. C) CRECIMIENTO DEL HONGO EN COMPETENCIA CON B. PUMILUS. D) CRECIMIENTO DEL HONGO EN COMPETENCIA CON S. RHIZOPHILA 2.91

FIGURA 29. PRUEBAS DE ANTAGONISMO DIRECTO CONTRA S. CEPIVORUM. A) TESTIGO, EL HONGO CRECIÓ SIN AGREGAR NINGÚN TRATAMIENTO. B) CRECIMIENTO DEL HONGO EN COMPETENCIA CON S. RHIZOPHILA. C) CRECIMIENTO DEL HONGO EN COMPETENCIA CON B. PUMILUS. D) CRECIMIENTO DEL HONGO EN COMPETENCIA CON S. RHIZOPHILA 2.92

FIGURA 30. TASA DE GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE LECHUGA, SE OBSERVA QUE EL TRATAMIENTO QUE TUVO UNA MAYOR TASA DE GERMINACIÓN FUE EL TRATAMIENTO 7, MIENTRAS QUE EL TRATAMIENTO 4 DISMINUYÓ LA TASA DE GERMINACIÓN. SIENDO TRATAMIENTO 1: S. RHIZOPHILA. TRATAMIENTO 2: B. PUMILUS. TRATAMIENTO 3: S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 4: S. RHIZOPHILA + B. PUMILUS. TRATAMIENTO 5: S. RHIZOPHILA + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 6: B. PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 7: S. RHIZOPHILA + BACILUS PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2.95

FIGURA 31. SE MUESTRA EN LA IMAGEN LA GERMINACIÓN AL DÍA 20 PRESENTADA POR EL TRATAMIENTO 7 (IZQUIERDA) Y EL CONTROL (DERECHA). SE OBSERVA CON CLARIDAD EL EFECTO DE LA INOCULACIÓN CON EL CONSORCIO BACTERIANO.96

FIGURA 32. GRÁFICA QUE MUESTRA LA TASA DE GERMINACIÓN DE CADA UNO DE LOS TRATAMIENTOS EVALUADOS. TRATAMIENTO 1: S. RHIZOPHILA. TRATAMIENTO 2: B. PUMILUS. TRATAMIENTO 3: S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 4: S. RHIZOPHILA + B. PUMILUS. TRATAMIENTO 5: S. RHIZOPHILA + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 6: B. PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 7: S. RHIZOPHILA + BACILUS PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2. SE OBSERVA QUE LOS TRATAMIENTOS 1 Y 7 SON LOS QUE PRESENTAN UN MAYOR PORCENTAJE DE GERMINACIÓN, MIENTRAS QUE EL RESTO DE LOS

TRATAMIENTOS LA DISMINUYEN EN COMPARACIÓN CON EL CONTROL SIN INOCULAR.

.....98

FIGURA 33. GRÁFICA QUE MUESTRA EL EFECTO SOBRE LA ALTURA DE TALLO EN PLÁNTULAS DE CHILE JALAPEÑO DE CADA UNO DE LOS TRATAMIENTOS A TRAVÉS DEL TIEMPO (SEMANAS). SIENDO TRATAMIENTO 1: S. RHIZOPHILA. TRATAMIENTO 2: B. PUMILUS. TRATAMIENTO 3: S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 4: S. RHIZOPHILA + B. PUMILUS. TRATAMIENTO 5: S. RHIZOPHILA + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 6: B. PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 7: S. RHIZOPHILA + BACILUS PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2. SE OBSERVA QUE A PARTIR DE LA SEMANA 3 LOS TRATAMIENTOS TIENEN UN EFECTO PROMOTOR EN LA ALTURA DE LAS PLÁNTULAS Y ASÍ HASTA LA ÚLTIMA SEMANA EVALUADA DONDE ES CLARO EL EFECTO DEL TRATAMIENTO 1....102

FIGURA 34. GRÁFICA QUE MUESTRA EL EFECTO SOBRE EL GROSOR DE TALLO EN PLÁNTULAS DE CHILE JALAPEÑO DE CADA UNO DE LOS TRATAMIENTOS A TRAVÉS DEL TIEMPO (SEMANAS). SIENDO TRATAMIENTO 1: S. RHIZOPHILA. TRATAMIENTO 2: B. PUMILUS. TRATAMIENTO 3: S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 4: S. RHIZOPHILA + B. PUMILUS. TRATAMIENTO 5: S. RHIZOPHILA + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 6: B. PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 7: S. RHIZOPHILA + BACILUS PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2. SE OBSERVA QUE A PARTIR DE LA SEMANA 3 LOS TRATAMIENTOS TIENEN UN EFECTO POSITIVO EN EL ENGROSAMIENTO DEL TALLO DE LAS PLÁNTULAS Y AL FINALIZAR EL EXPERIMENTO LAS PLÁNTULAS DEL TRATAMIENTO 3 MUESTRAN EL TALLO MÁS GRUESO.....103

FIGURA 35. GRÁFICA DE ÁREA FOLIAR CALCULADA AL TÉRMINO DE LA EXPERIMENTACIÓN PARA CADA UNO DE LOS TRATAMIENTOS. TRATAMIENTO 1: S. RHIZOPHILA. TRATAMIENTO 2: B. PUMILUS. TRATAMIENTO 3: S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 4: S. RHIZOPHILA + B. PUMILUS. TRATAMIENTO 5: S. RHIZOPHILA + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 6: B. PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 7: S. RHIZOPHILA + BACILUS PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2. EL TRATAMIENTO 2, 4 Y 6 PRESENTAN UNA MAYOR ÁREA FOLIAR SIN DIFERENCIAS ESTADÍSTICAS SIGNIFICATIVAS ENTRE ELLOS.

.....106

FIGURA 36. GRÁFICA DEL CONTENIDO DE CLOROFILA MEDIDA AL TÉRMINO DE LA EXPERIMENTACIÓN PARA CADA UNO DE LOS TRATAMIENTOS. TRATAMIENTO 1: S. RHIZOPHILA. TRATAMIENTO 2: B. PUMILUS. TRATAMIENTO 3: S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 4: S. RHIZOPHILA + B. PUMILUS. TRATAMIENTO 5: S. RHIZOPHILA + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 6: B. PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 7: S. RHIZOPHILA + BACILUS PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2. LAS HOJAS DE LAS PLÁNTULAS

DE CHILE INOCULADAS CON EL TRATAMIENTO 1 PRESENTAN MAYOR CONTENIDO DE CLOROFILA.....	108
FIGURA 37. GRÁFICA QUE MUESTRA EL EFECTO SOBRE LA ALTURA DE TALLO EN PLÁNTULAS DE ACELGA A TRAVÉS DEL TIEMPO (SEMANAS). SIENDO EL TRATAMIENTO 1: S. RHIZOPHILA. TRATAMIENTO 2: B. PUMILUS. TRATAMIENTO 3: S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 4: S. RHIZOPHILA + B. PUMILUS. TRATAMIENTO 5: S. RHIZOPHILA + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 6: B. PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 7: S. RHIZOPHILA + BACILUS PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2.	110
FIGURA 38. GRÁFICA QUE MUESTRA EL EFECTO SOBRE EL GROSOR DE TALLO EN PLÁNTULAS DE ACELGA DE CADA UNO DE LOS TRATAMIENTOS A TRAVÉS DEL TIEMPO (SEMANAS). SIENDO TRATAMIENTO 1: S. RHIZOPHILA. TRATAMIENTO 2: B. PUMILUS. TRATAMIENTO 3: S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 4: S. RHIZOPHILA + B. PUMILUS. TRATAMIENTO 5: S. RHIZOPHILA + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 6: B. PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 7: S. RHIZOPHILA + BACILUS PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2. SE OBSERVA QUE A PARTIR DE LA SEMANA 3 LOS TRATAMIENTOS TIENEN UN EFECTO POSITIVO EN EL ENGROSAMIENTO DEL TALLO DE LAS PLÁNTULAS Y AL FINALIZAR EL EXPERIMENTO LAS PLÁNTULAS DEL TRATAMIENTO 3, 4 Y 5 MUESTRAN EL TALLO MÁS GRUESO.....	111
FIGURA 39. GRÁFICA DE ÁREA FOLIAR CALCULADA AL TÉRMINO DE LA EXPERIMENTACIÓN PARA CADA UNO DE LOS TRATAMIENTOS. TRATAMIENTO 1: S. RHIZOPHILA. TRATAMIENTO 2: B. PUMILUS. TRATAMIENTO 3: S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 4: S. RHIZOPHILA + B. PUMILUS. TRATAMIENTO 5: S. RHIZOPHILA + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 6: B. PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 7: S. RHIZOPHILA + BACILUS PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2. LAS PLÁNTULAS DEL TRATAMIENTO 4 PRESENTAN UNA MAYOR ÁREA FOLIAR EN COMPARACIÓN CON EL CONTROL Y EL RESTO DE LOS TRATAMIENTOS.....	113
FIGURA 40. GRÁFICA DEL CONTENIDO DE CLOROFILA MEDIDA AL TÉRMINO DE LA EXPERIMENTACIÓN PARA CADA UNO DE LOS TRATAMIENTOS. TRATAMIENTO 1: S. RHIZOPHILA. TRATAMIENTO 2: B. PUMILUS. TRATAMIENTO 3: S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 4: S. RHIZOPHILA + B. PUMILUS. TRATAMIENTO 5: S. RHIZOPHILA + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 6: B. PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 7: S. RHIZOPHILA + BACILUS PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2. ANOVA: NO HAY DIFERENCIAS ESTADÍSTICAS SIGNIFICATIVAS.	114
FIGURA 41. GRÁFICA QUE MUESTRA EL EFECTO SOBRE LA ALTURA DE TALLO EN PLÁNTULAS DE LECHUGA CON CADA UNO DE LOS TRATAMIENTOS A TRAVÉS DEL TIEMPO. SIENDO EL TRATAMIENTO 1: S. RHIZOPHILA. TRATAMIENTO 2: B. PUMILUS.	

TRATAMIENTO 3: S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 4: S. RHIZOPHILA + B. PUMILUS.
 TRATAMIENTO 5: S. RHIZOPHILA + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 6: B. PUMILUS + S.
 RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 7: S. RHIZOPHILA + BACILUS PUMILUS + S. RHIZOPHILA
 2. SE OBSERVA QUE A PARTIR DE LA SEMANA 4 LOS TRATAMIENTOS TIENEN UN
 EFECTO PROMOTOR EN LA ALTURA DE LAS PLÁNTULAS Y ASÍ HASTA LA ÚLTIMA
 SEMANA EVALUADA DONDE ES CLARO EL EFECTO DEL TRATAMIENTO 4.....116

FIGURA 42. GRÁFICA QUE MUESTRA EL EFECTO SOBRE EL GROSOR DE TALLO EN
 PLÁNTULAS DE LECHUGA DE CADA UNO DE LOS TRATAMIENTOS A TRAVÉS DEL
 TIEMPO. SIENDO TRATAMIENTO 1: S. RHIZOPHILA. TRATAMIENTO 2: B. PUMILUS.
 TRATAMIENTO 3: S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 4: S. RHIZOPHILA + B. PUMILUS.
 TRATAMIENTO 5: S. RHIZOPHILA + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 6: B. PUMILUS + S.
 RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 7: S. RHIZOPHILA + BACILUS PUMILUS + S. RHIZOPHILA
 2. SE OBSERVA QUE A PARTIR DE LA SEMANA 3 LOS TRATAMIENTOS TIENEN UN
 EFECTO POSITIVO EN EL ENGROSAMIENTO DEL TALLO DE LAS PLÁNTULAS Y AL
 FINALIZAR EL EXPERIMENTO LAS PLÁNTULAS DEL TRATAMIENTO 6 MUESTRAN EL
 TALLO MÁS GRUESO.117

FIGURA 43. GRÁFICA DE ÁREA FOLIAR CALCULADA AL TÉRMINO DE LA EXPERIMENTACIÓN
 PARA CADA UNO DE LOS TRATAMIENTOS. TRATAMIENTO 1: S. RHIZOPHILA.
 TRATAMIENTO 2: B. PUMILUS. TRATAMIENTO 3: S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 4: S.
 RHIZOPHILA + B. PUMILUS. TRATAMIENTO 5: S. RHIZOPHILA + S. RHIZOPHILA 2.
 TRATAMIENTO 6: B. PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 7: S. RHIZOPHILA +
 BACILUS PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2. LAS PLÁNTULAS DEL TRATAMIENTO 2 Y 3
 PRESENTAN UNA MAYOR ÁREA FOLIAR EN COMPARACIÓN CON EL CONTROL Y EL
 RESTO DE LOS TRATAMIENTOS.119

FIGURA 44. GRÁFICA DEL CONTENIDO DE CLOROFILA MEDIDA AL TÉRMINO DE LA
 EXPERIMENTACIÓN PARA CADA UNO DE LOS TRATAMIENTOS. TRATAMIENTO 1: S.
 RHIZOPHILA. TRATAMIENTO 2: B. PUMILUS. TRATAMIENTO 3: S. RHIZOPHILA 2.
 TRATAMIENTO 4: S. RHIZOPHILA + B. PUMILUS. TRATAMIENTO 5: S. RHIZOPHILA + S.
 RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 6: B. PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 7: S.
 RHIZOPHILA + BACILUS PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2. ANOVA: NO HAY DIFERENCIAS
 ESTADÍSTICAS SIGNIFICATIVAS.120

FIGURA 45. GRÁFICA QUE MUESTRA EL EFECTO SOBRE LA ALTURA DE TALLO EN
 PLÁNTULAS DE JITOMATE CON CADA UNO DE LOS TRATAMIENTOS A TRAVÉS DEL
 TIEMPO. SIENDO EL TRATAMIENTO 1: S. RHIZOPHILA. TRATAMIENTO 2: B. PUMILUS.
 TRATAMIENTO 3: S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 4: S. RHIZOPHILA + B. PUMILUS.
 TRATAMIENTO 5: S. RHIZOPHILA + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 6: B. PUMILUS + S.

RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 7: S. RHIZOPHILA + BACILUS PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2. SE OBSERVA QUE A PARTIR DE LA SEMANA 3 LOS TRATAMIENTOS TIENEN UN EFECTO PROMOTOR EN LA ALTURA DE LAS PLÁNTULAS. SIN EMBARGO NO HAY DIFERENCIA ESTADÍSTICA SIGNIFICATIVA ENTRE LA ALTURA OBTENIDA AL FINALIZAR LA EXPERIMENTACIÓN ENTRE EL TRATAMIENTO 2 Y EL CONTROL.122

FIGURA 46. GRÁFICA QUE MUESTRA EL EFECTO SOBRE EL GROSOR DE TALLO EN PLÁNTULAS DE JITOMATE DE CADA UNO DE LOS TRATAMIENTOS A TRAVÉS DEL TIEMPO. SIENDO TRATAMIENTO 1: S. RHIZOPHILA. TRATAMIENTO 2: B. PUMILUS. TRATAMIENTO 3: S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 4: S. RHIZOPHILA + B. PUMILUS. TRATAMIENTO 5: S. RHIZOPHILA + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 6: B. PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 7: S. RHIZOPHILA + BACILUS PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2. SE OBSERVA QUE A PARTIR DE LA SEMANA 3 LOS TRATAMIENTOS TIENEN UN EFECTO POSITIVO EN EL ENGROSAMIENTO DEL TALLO DE LAS PLÁNTULAS Y AL FINALIZAR EL EXPERIMENTO LAS PLÁNTULAS DEL TRATAMIENTO 1 MUESTRAN EL TALLO MÁS GRUESO.124

FIGURA 47. GRÁFICA DE ÁREA FOLIAR CALCULADA AL TÉRMINO DE LA EXPERIMENTACIÓN PARA CADA UNO DE LOS TRATAMIENTOS. TRATAMIENTO 1: S. RHIZOPHILA. TRATAMIENTO 2: B. PUMILUS. TRATAMIENTO 3: S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 4: S. RHIZOPHILA + B. PUMILUS. TRATAMIENTO 5: S. RHIZOPHILA + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 6: B. PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 7: S. RHIZOPHILA + BACILUS PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2. LAS PLÁNTULAS DEL TRATAMIENTO 1 PRESENTAN UNA MAYOR ÁREA FOLIAR EN COMPARACIÓN CON EL CONTROL Y EL RESTO DE LOS TRATAMIENTOS.126

FIGURA 48. GRÁFICA DEL CONTENIDO DE CLOROFILA MEDIDA AL TÉRMINO DE LA EXPERIMENTACIÓN PARA CADA UNO DE LOS TRATAMIENTOS. TRATAMIENTO 1: S. RHIZOPHILA. TRATAMIENTO 2: B. PUMILUS. TRATAMIENTO 3: S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 4: S. RHIZOPHILA + B. PUMILUS. TRATAMIENTO 5: S. RHIZOPHILA + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 6: B. PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2. TRATAMIENTO 7: S. RHIZOPHILA + BACILUS PUMILUS + S. RHIZOPHILA 2.127

ABREVIATURAS Y SIGLAS.

ACC:	Ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico
ADN:	Ácido desoxirribonucleico
Ca:	Calcio
cm:	Centímetro
ERS:	Eficiencia Relativa de Solubilización
FAO:	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.
Fe:	Hierro
g:	Gramo
g/L:	Gramos por litros
HCN:	Cianuro de hidrógeno
IS:	Índice de solubilización
kg/ha:	Kilogramos por hectárea
kg/m²:	Kilogramos por metro cuadrado
LB:	Luria Bertani
M:	Metro
mg/mL:	Miligramos/mililitros
mm:	Milímetro
Mn:	Manganeso
N:	Nitrógeno
NaCl:	Cloruro de sodio
NPK:	Nitrógeno, Fósforo y Potasio.
OMS:	Organización Mundial de la Salud
P:	Fósforo
PDA:	Agar papa dextrosa
PGPB:	Bacteria promotora de crecimiento vegetal.
PGPR:	Rizobacteria promotora de crecimiento vegetal
pH:	Potencial de hidrógeno

RPBI:	Residuos peligrosos biológicos infecciosos.
rpm:	Revoluciones por minuto
s:	Segundo
SDS:	Dodecilsulfato sódico
sp. / spp.	Especie / especies
TE:	Buffer Tris EDTA
UFC:	Unidades formadoras de colonia
v/v:	Volumen/volumen
w/v:	Peso/volumen
µL:	Microlitros

Dirección General de Bibliotecas de la UAQ

RESUMEN

La agricultura se enfrenta al reto de producir más alimentos para satisfacer la demanda de la población, sin embargo, los sistemas agrícolas son inadecuados e insuficientes. Además, los recursos naturales base para la agricultura se encuentran bajo presión. Por lo que surge la necesidad de implementar tecnologías enfocadas a una explotación racional de los recursos naturales y preservación del medio ambiente, siendo una de ellas el uso de microorganismos del suelo con propiedades para promover el crecimiento vegetal y de biocontrol. Las PGPB's estimulan el desarrollo vegetal aumentando la disponibilidad de nutrientes y producción de proteínas y fitohormonas. Los antipatogénicos actúan antagónicamente con fitopatógenos minimizando su crecimiento. Sin embargo, las cepas microbianas con estas características deben ser cuidadosamente estudiadas, ya que su efectividad depende de las condiciones ambientales, características del suelo y las relaciones con la especie vegetal.

Se aislaron tres bacterias de una composta, caracterizaron e identificaron dos aislados de *Stenotrophomonas rhizophila* y *Bacillus pumilus*. Presentaron capacidad para solubilizar fosfato y para inhibir a *Fusarium oxysporum* y *Sclerotium cepivorum*.

El sinergismo entre las tres bacterias incrementan la tasa de germinación de semillas de lechuga y jitomate, 24.03% y 6.29%, respectivamente. Además, por la correlación entre la altura y el grosor de tallo de las plántulas, promueve un desarrollo saludable y plantas vigorosas. El sinergismo entre *B. pumilus* y *S. rhizophila*2 aumenta 41.2% el grosor de tallo en lechuga, el consorcio entre los dos aislados de *S. rhizophila* aumenta 43.74% la altura y 55.48% el grosor de tallo de la acelga. *S. rhizophila* y *B. pumilus* aumenta más de 100% el área foliar del chile jalapeño y acelga, además, 35.1% la altura de la lechuga. En el chile jalapeño, *S. rhizophila* aumenta 132.92% la altura y 61.34% el contenido de clorofila. Mientras que en jitomate aumenta el grosor de tallo y área foliar. *B. pumilus* aumenta 129.95%

el área foliar en lechuga y *S. rhizophila*2 aumenta 116.87% el grosor de tallo del chile jalapeño.

Mejoramiento vegetal, ingeniería de la rizósfera, consorcios bacterianos, solubilizadores de fosfato.

Dirección General de Bibliotecas de la UAQ

ABSTRACT

Agriculture has the challenge of producing more food to satisfy the demand of the population, however, agricultural systems are inadequate and insufficient. In addition, the basic natural resources for agriculture are under pressure. So the need arises to implement technologies focused on a rational exploitation of natural resources and preservation of the environment, one of them being the use of soil microorganisms with properties to promote plant growth and biocontrol. PGPB's stimulate plant development by increasing the availability of nutrients and the production of proteins and phytohormones. The antipathogenic agents act antagonistically with phytopathogens, minimizing their growth. However, microbial strains with these characteristics must be carefully studied, since their effectiveness depends on environmental conditions, soil characteristics and relationships with the plant species.

Three bacteria were isolated from a compost, characterized and identified two isolates of *Stenotrophomonas rhizophila* and *Bacillus pumilus*. They showed the ability to solubilize phosphate and to inhibit *Fusarium oxysporum* and *Sclerotium cepivorum*.

The synergism between the three bacteria increases the germination rate of lettuce and tomato seeds, 24.03% and 6.29%, respectively. In addition, by the correlation between the height and stem thickness of the seedlings, promotes healthy development and vigorous plants. The synergism between *B. pumilus* and *S. rhizophila* 2 increases 41.2% the stem thickness in lettuce, the consortium between the two isolates of *S. rhizophila* increases 43.74% the height and 55.48% the stem thickness of the Swiss chard. *S. rhizophila* and *B. pumilus* increases more than 100% the leaf area of jalapeño pepper and Swiss chard, in addition, 35.1% the height of the lettuce. In jalapeño pepper, *S. rhizophila* increases 132.92% height and 61.34% chlorophyll content. While in tomato increases the thickness of stem and

leaf area. *B. pumilus* increases the leaf area in lettuce by 129.95% and *S. rhizophila*2 increases the stem thickness of jalapeño pepper by 116.87%.

Plant breeding, rhizosphere engineering, bacterial consortiums, phosphate solubilizers.

Dirección General de Bibliotecas de la UAQ

I. INTRODUCCIÓN

Actualmente, la agricultura se enfrenta al reto de producir una mayor cantidad de alimentos para satisfacer la progresiva demanda de la población mediante el desarrollo de sistemas agrícolas productivos y sostenibles (FAO, 2017). Es por esto que el uso de nuevas tecnologías en este sector, están siendo enfocadas a una explotación racional de los recursos naturales, aplicando medidas para la preservación del medio ambiente (Grageda-Cabrera, Díaz-Franco, Peña-Cabriales, Vera-Nuñez, 2012).

Para contrarrestar el efecto de la rápida pérdida de la calidad ambiental a la que nos enfrentamos se han propuesto diferentes estrategias, una de ellas es la llamada agricultura sustentable (Creus, 2017), la cual tiene por objetivo lograr un alto rendimiento por unidad de superficie para satisfacer la demanda creciente de alimentos, con una disminución del uso de productos químicos tomando recursos biológicos como lo son los biofertilizantes, los cuales son preparaciones con células de cepas microbianas eficientes para la fijación de nitrógeno, solubilización de fosfato o promotoras de crecimiento (Nehra y Choudhary, 2015).

Las bacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPB) pertenecen a un grupo de microorganismos benéficos que pueden ser localizadas en la rizósfera, asociadas a las raíces de ciertas plantas. Estas bacterias tienen la capacidad de mejorar el crecimiento vegetal y brindan protección contra enfermedades y factores de estrés principalmente abiótico (Glick, 2012).

Los mecanismos mediante los cuales la PGPB estimula el crecimiento de las plantas son diversos, pero en la mayoría de los casos, involucran la disponibilidad de nutrientes, como la fijación biológica de nitrógeno y la solubilización de fosfato, brindando protección ante factores de estrés mediante la expresión de proteínas y la producción de fitohormonas, entre otros (de Souza, Ambrosini, y Passaglia, 2015). Las interacciones benéficas planta-microorganismo en la rizósfera, son

determinantes para la salud de la planta y la fertilidad del suelo (Glick, 1995; Hamza *et al.*, 1994; Hegazi y Fayez, 2003; Jeffries, Gianinazzi, Perotto, Turnau y Barea, 2003), además, satisface la necesidad de reducir el aporte de nitrógeno para lograr una mayor eficiencia en la producción de cultivos (Dal Cortivo *et al.*, 2017), ya que ofrece una alternativa para reemplazar los fertilizantes químicos y suplementos (Prasad y Babu, 2017).

Algunas de las bacterias estudiadas por sus cualidades para promover el crecimiento de las plantas son los géneros *Pseudomonas* spp. que se utiliza para mejorar el crecimiento y rendimiento de cultivos (Mohamed y Gomaa, 2012; Piromyou *et al.*, 2011), *Brevibacillus* sp., el cual, aumenta el crecimiento y biomasa de las plantas, así como su resistencia a metales pesados, participando activamente en la biorremediación del suelo contaminado (Ruiz-Lozano y Azco, 2011), *Bacillus* spp. que posee gran potencial para aumentar el crecimiento de las plantas y suprimir enfermedades, entre otras (Gowtham *et al.*, 2018).

Un antipatogénico es aquel microorganismo que interactúa antagónicamente con otro microorganismo causante de algún daño o enfermedad a la planta (Creus, 2017). La mayoría de los productos utilizados para el control biológico de fitopatógenos están elaborados a partir de bacterias, hongos, virus o nematodos, los cuales, son agregados a un agroecosistema para limitar las enfermedades de las plantas (Lazarovits, Turnbull y Johnston-Monje, 2014).

El uso de estos productos son una alternativa para dar solución a la aparición de enfermedades fúngicas o bacterianas que atacan a las plantas y disminuyen los rendimientos agrícolas (Pérez, Terrón y Muñoz-Rojas, 2014). Actualmente, se han utilizado bacterias como *Bacillus* spp. (Mansoori, Heydari, Hassanzadeh, Rezaee y Naraghi, 2013; Shen *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2014), *Enterobacter* spp. (Abbas *et al.*, 2014), *Burkholderia* sp. (Zaki, Misaghi, Heydari y Shatla, 1998) y *Pseudomonas* spp. (Byrne *et al.*, 2005; Erdogan y Benlioglu, 2010; Mansoori *et al.*, 2013) asimismo, actinomicetos y hongos como *Streptomyces* sp. (Yuan y Crawford, 1995) y

Trichoderma spp. (Bae *et al.*, 2016; Hanson, 2000; Howell, 2002) respectivamente, para funciones antipatogénicas.

El sinergismo se define como “asociación de varios órganos para realizar una función” (Émile Littré, 1878), según la Real Academia Española, se refiere a “la acción de dos o más causas cuyo efecto es superior a la suma de los efectos individuales”. De acuerdo a la Teoría General de Sistemas, concebida por el Biólogo Ludwig von Bertalanffy en 1984, “un objeto posee sinergia cuando el examen de una de sus partes o alguna en forma aislada no puede explicar o predecir la conducta del todo”.

En los ecosistemas naturales, el sinergismo tiene un papel clave ya que influyen en la productividad de las plantas, su nutrición y además proveen una mejor inhibición de los patógenos de las plantas (Abd-Alla, El-Enany, Nafady, Khalaf y Morsy, 2014). Sin embargo, la compatibilidad entre diferentes cepas necesita ser cuidadosamente determinada (Roberts *et al.*, 2005).

El estudio entre la sinergia de *Azotobacter* spp., *Bacillus* spp., *Enterobacter* spp. y *Pseudomonas* spp. muestra rendimientos más altos en comparación con los fertilizantes químicos (Ali *et al.*, 2005). La sinergia entre *Azotobacter* spp. y hongos micorrízicos mejoran la altura de las plantas, así como el número y peso de los frutos (Paul, Rathi, y Tyagi, 2011). Por su parte, *Azotobacter* spp. y *Bacillus* spp., en sinergia, mejoran el crecimiento y rendimiento de cultivos, al hacer una aplicación reducida de fertilizantes químicos (Yasmin, Hafeez, Schmid y Hartmann, 2013).

Por otro lado la sinergia entre *Rhizobium* sp. y *Trichoderma* sp. ha demostrado que se puede obtener una mayor producción del cultivo, así como un aumento en el soporte de las plantas (Hannan, Hasan, y Hossain, 2013). *Azospirillum* sp., *Azotobacter* sp., *Bacillus* sp., *Enterobacter* sp. y *Pseudomonas* sp., al convivir de manera sinérgica, se obtiene una recuperación significativa del nitrógeno fijado biológicamente, así como una menor incidencia de patógenos, lo cual se ve reflejado en una buena productividad (Abbas *et al.*, 2014). Además

Azospirillum sp. en sinergia con *Azotobacter* sp. han arrojado resultados benéficos en el crecimiento de las plantas cuando se agrega nitrógeno inorgánico (Bilal, Ayub, Tariq, Tahir y Nadeem, 2017). El consorcio de bacterias *Azospirillum* sp., *Azoarcus* sp. y *Azorhizobium* sp., mejora el crecimiento de raíces, aumenta la resistencia a la tensión ambiental y disminuye la pérdida de nitrógeno en el ecosistema agrícola (Dal Cortivo *et al.*, 2017).

La necesidad de implementar una agricultura sustentable ha llevado a realizar estudios sobre el efecto que generan distintos tipos de microorganismos en cultivos de importancia agrícola de acuerdo a las condiciones ambientales donde se siembran. Es importante analizar la compatibilidad entre las diferentes cepas que son utilizadas actualmente en cultivos agrícolas para garantizar mejoras en la movilización de nutrientes en el suelo, se estimule el crecimiento de los cultivos y que además se obtenga un efecto antipatogénico al ser implementadas en las prácticas agrícolas.

I.I Motivación.

Se estima que en el año 2050 el país tendrá alrededor de 150 millones de habitantes (Consejo Nacional de Población, 2014). Esta tendencia significa que la demanda de alimentos aumentará un 60% (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación, 2012). Por esta razón, la agricultura actual se enfrenta al reto de obtener una producción mayor de alimentos para satisfacer las necesidades de la población con menores costos en mano de obra (FAO, 2009).

Para mejorar los rendimientos de los cultivos, se han utilizado diversos productos, para aumentar la cantidad de nutrientes presentes en el suelo y el control de patógenos. Si bien es cierto que estos productos ayudan a incrementar los rendimientos, han traído consigo consecuencias no deseadas, como el aumento de la contaminación ambiental, la degradación del suelo (Grageda-Cabrera *et al.*, 2012) y además perjudica a la microbiota, la cual ayuda a mantener el equilibrio del suelo y, mediante su actividad metabólica, proporcionan metabolitos que pueden utilizarse

como fertilizantes (Creus, 2017). Esta situación ha traído consigo una disminución en la superficie apropiada para la agricultura ocasionada por el daño que sufre por este tipo de productos, dejando sin nutrientes suficientes para que sea cultivable, además de problemas ecológicos, económicos y sociales (Grageda-Cabrera *et al.*, 2012).

Se estima que el 10.92% de la tierra en el mundo es cultivable, no obstante, se está utilizando un 37.5% para fines agrícolas. En el caso de México estos porcentajes son aún mayores, con un 11.83% y 54.89% respectivamente (FAO, 2012). Una de las consecuencias de la sobreexplotación de las tierras cultivables, tanto para agricultura en campo abierto, como en agricultura protegida, es el deterioro del suelo, cerca del 33% de la tierra se encuentra de moderada a altamente degradada (FAOb, 2016).

En México se tiene registrado que cerca del 64% de la tierra presenta cierto grado de deterioro y sólo el 36% no lo presenta (Secretaría de agricultura y desarrollo rural, 2012), provocando afectación en la microbiota del suelo, una disminución en el crecimiento de los cultivos y en los niveles de fijación biológica del nitrógeno (Vargas, Esquivel, y García, 2002).

Por otra parte, se encuentran los agentes fitopatógenos, los cuales promueven enfermedades y deterioro en el crecimiento de los cultivos (Feijoo, 2016). Se estima que cada año se pierden rendimientos entre 20% y 40% en los cultivos internacionales por plagas y enfermedades de las plantas, representando costos a la economía mundial de alrededor de 220 000 millones de dólares anuales (FAO, 2019).

En base a esto se han planteado diferentes propuestas como la inoculación de ciertos microorganismos que ayudan al crecimiento y a la fijación de nitrógeno, sin embargo, los estudios sobre la sinergia entre dos o más microorganismos siguen siendo escasos. Lo que nos lleva a la necesidad de estudiar la sinergia entre microorganismos que cuenten con la capacidad de promover el crecimiento vegetal

mediante diferentes mecanismos y que además participen en la agricultura como agentes de biocontrol o antipatogénicos. Evaluando además su efectividad en las condiciones ambientales de la región.

II. ANTECEDENTES

II.I Agricultura, situación actual.

Actualmente, la agricultura y la seguridad alimentaria enfrentan grandes desafíos tales como el incremento de la población y el aumento de ingresos en los países desarrollados que acrecientan la demanda de productos agrícolas (FAOa, 2016). Se estima que para satisfacer las necesidades alimentarias de la población en el 2050 será necesario que el rendimiento de producción agrícola y ganadera mundial anual sea 60% mayor que en el 2006 (Alexandratos y Bruinsma, 2012), minimizando, a su vez, los costos de mano de obra e insumos con la finalidad de contribuir en la accesibilidad a los alimentos (FAOa, 2016). Además, la calidad de los cultivos es una preocupación creciente en la demanda de los consumidores, buscándose cultivos más ricos en nutrientes minerales, antioxidantes u otros metabolitos, ya que representan alta calidad y reducen el riesgo de enfermedades crónicas (Timmusk, Behers, Muthoni, Muraya y Aronsson, 2017). Los cultivos de alta calidad son más rentables para los agricultores comparados con los cultivos convencionales, sin embargo, los métodos existentes para mejorar la calidad de los cultivos agrícolas se limitan a la reproducción mediante un régimen de fertilización y prácticas agrícolas tradicionales (Kong, Hart, y Liu, 2018).

Las prácticas agrícolas convencionales como la labranza, el uso excesivo de fertilizantes químicos, pesticidas y el monocultivo, disminuyen la calidad de los ecosistemas agrícolas, del suelo y de la salud humana (Hartman *et al.*, 2018). Si bien es cierto, la intensificación agrícola ha dado lugar a un aumento en la producción de cultivos básicos como el trigo, arroz y maíz, dando lugar a una mayor seguridad alimentaria a la población creciente (Godfray *et al.*, 2012), también ha causado muchos efectos adversos en el medio ambiente tales como el aumento de

las emisiones de gases de efecto invernadero, lixiviación de nutrientes por el uso excesivo de fertilizantes (Matson, Parton, Power y Swift, 1997), mayor erosión del suelo (Pimental *et al.*, 1995), efectos perjudiciales sobre la biodiversidad (Vitousek, Mooney, Lubchenco y Melillo, 1997) y la sobreexplotación de mantos acuíferos (Zhong, Sun, Fischer, Tian y Liang, 2019), lo cual, disminuye la capacidad para el aumento de rendimiento agrícola que se necesita (FAO, 2017).

Para contrarrestar la pérdida de calidad ambiental se han propuesto diversas estrategias, una de ellas es la agricultura sustentable, cuyo objetivo es aumentar la producción agrícola, disminuir el uso de agroquímicos y aprovechar el potencial biológico de plantas y microorganismos presentes en el suelo (Creus, 2017), principalmente en la rizósfera, que es la porción del suelo donde se llevan a cabo las interacciones bioquímicas y biológicas de las raíces de las plantas con los microorganismos que ahí proliferan y compiten (Cano, 2011).

II.II La rizósfera y su importancia en la agricultura

El primer hábitat donde se relacionan las partículas del suelo y las raíces de las plantas es la rizósfera, la cual, constituye el primer contacto entre los microorganismos del suelo y las plantas. En esta zona de interacción entre la planta y el suelo hay una comunicación muy importante que ejerce un alto impacto en el flujo del carbono y su transformación, así como de otros componentes del suelo que son utilizados por las plantas como alimento (Ahkami, White III, Handakumbura y Janson, 2017). Así mismo, hay una relación muy estrecha entre la composición y abundancia de los exudados de las raíces de las plantas con las propiedades estructurales y funcionales de los microorganismos que lo habitan (White *et al.*, 2017). Por lo cual, más que considerarse una región, es catalogada como un gradiente de cualidades físicas, químicas y biológicas a través de la raíz (York, Carminati, Mooney, Ritz y Bennett, 2016).

La composición de la rizósfera es influenciada por el metabolismo de las plantas al excretar fotosintatos y algunas fitohormonas que pueden servir de

comunicación con los microorganismos que ahí habitan. Las interacciones benéficas de las plantas con dichos microorganismos traen consigo efectos favorables, como la supresión de enfermedades, un aumento en la disponibilidad y absorción de nutrientes, y una intensificación en la inmunidad de la planta ante factores de estrés bióticos y abióticos (Huang *et al.*, 2014). Así mismo, los microorganismos y su actividad en la rizósfera determina la disponibilidad de nutrientes e influyen significativamente en la salud y productividad de las plantas (Jeffries *et al.*, 2003; Singh *et al.*, 2016).

Entre los principales microorganismos presentes en la rizósfera se encuentran asociaciones de diazótrofos, que son bacterias que tienen la capacidad de fijar nitrógeno, las cuales influyen en el estado nutricional del sistema planta-suelo (Hegazi y Fayez, 2003). Además, microorganismos que estimulan el crecimiento vegetal mediante la producción de fitohormonas y compuestos que ocasionan estrés a la planta (Glick, 2014), así como mecanismos moleculares que le facilitan la adquisición de recursos a partir de los propios metabolismos microbianos (Creus, 2017). Por otro lado, ciertos microorganismos actúan como agentes de control de patógenos, debido a la síntesis de sideróforos, antibióticos o bactericidas, entre otros antagonicos (Kilian *et al.*, 2001).

Al conocer los microorganismos que habitan en cada región y benefician el crecimiento vegetal así como el control biológico, éstos pueden ser utilizados para mejorar las características de la rizósfera y aumentar rendimiento, calidad y características de los cultivos, no obstante, esto debe ser cuidadosamente estudiado.

II.III Ingeniería de la rizósfera y su aplicación en la agricultura.

La ingeniería de la rizósfera se basa en el diseño y manipulación del ambiente físico y químico en la rizósfera para lograr efectos que beneficien a las plantas y al medioambiente (Lambers, Mougél, Jaillard y Hinsinger, 2009). En la agricultura esto es utilizado como un medio para alcanzar mejoras en el rendimiento y calidad de

los cultivos (Orozco-Mosqueda, Rocha-Granados, Glick y Santoyo, 2018), así como optimizar la capacidad de retención de agua, el ciclo de nutrientes y la resistencia a patógenos (Shen *et al.*, 2015).

Una de las aplicaciones de la ingeniería de la rizósfera se centra en gestionar y manipular las comunidades microbianas para buscar la salud de las plantas, de acuerdo al papel que tienen los microorganismos en la formación de materia orgánica en el suelo, la mineralización y solubilización de nutrientes, así como la resistencia a ciertas plagas (Wallenstein, 2017).

Actualmente la capacidad que se tiene para administrar y manipular las comunidades microbianas en la rizósfera es reducido, siendo la inoculación la manera más directa de hacerlo. Sin embargo, estos inóculos, si bien muestran buenos resultados en condiciones de laboratorio e invernadero, no son reproducibles bajo condiciones naturales en el campo (Verbruggen, Heijden, Rilling y Kiers, 2013). Esto se debe a que la rizósfera es un sistema complejo de componentes biológicos, químicos y físicos que interactúan estrechamente.

La ingeniería de la rizósfera exitosa requiere una perspectiva de sistemas (Figura 1), requiere del diseño de una rizósfera interactiva, que mejore la eficiencia y sostenibilidad de la producción de cultivos mediante las interacciones simbióticas y sinérgicas entre las plantas, el suelo y los microorganismos presentes (Wallenstein, 2017).

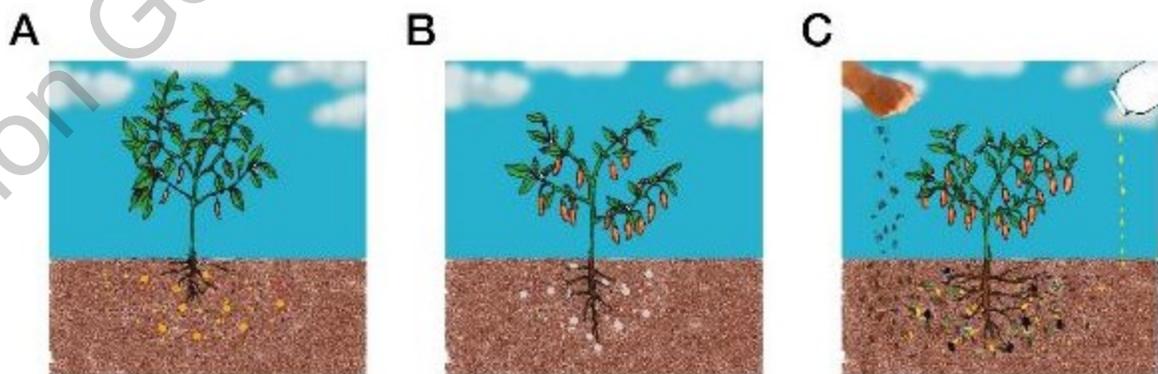


Figura 1. Ingeniería de la rizósfera. A) ecosistema natural. B) ecosistema degradado por la agricultura intensiva y uso de fertilizantes. C) diseño de la rizósfera mediante la inoculación de comunidades microbianas.

II.IV Biofertilizantes.

Una alternativa que surge para minimizar la problemática de la agricultura es el uso de biofertilizantes preparados con microorganismos, que son aplicados al suelo y/o planta, con la finalidad de sustituir parcial o totalmente la fertilización química (Bojórquez *et al.*, 2010). Además pueden ser utilizados por sus efectos sinérgicos como un medio para suprimir insectos y enfermedades de las plantas, para mejorar la calidad y rendimiento de los cultivos; así como reducir la mano de obra (Higa y Wididana, 1991; Higa y Parr, 1994).

Este tipo de biofertilizantes se han suministrado en forma de inóculos, los cuales, son preparaciones de microorganismos benéficos, ya sean fitoestimulantes, biofertilizantes o agentes de biocontrol utilizados en las prácticas agrícolas sustentables (Creus, 2017), que representan una herramienta biotecnológica sistémica (Glick, 1995; Zavala-Gonzalez *et al.*, 2015); y pueden ser de un solo microorganismo (Gravel, Antoun y Tweddell, 2007; Raj *et al.*, 2003) o de una combinación de éstos (Afzal y Bano, 2008; Aslam, Hussain y Qazi, 2016; Sharma, Kashyap, Srivastava, Bansal y Kaushik, 2019; Yasari y Patwardhan, 2007).

La inoculación de microorganismos en el suelo agrícola contribuye en la mejora de la microbiota y sus propiedades físicas, asimismo disminuye costos en producción y aumenta el rendimiento de los cultivos (Arias, 2010).

Se han encontrado y probado un número considerable de especies bacterianas asociadas a la rizósfera de la planta y que han sido benéficas para la vegetación, tales como *Acinetobacter* sp., *Alcaligenes* spp., *Arthrobacter* sp., *Azobacter* spp., *Azosprillum* spp., *Bacillus* spp, *Beijerinckia* sp., *Burkholderia* spp., *Chryseobacterium* sp, *Enterobacter* spp., *Erwinia* sp., *Flavobacterium* spp., *Frankia* sp., *Gluconacetobacter* spp., *Herbaspirillum* sp., *Klebsiella* spp, *Mycobacterium* spp., *Paenibacillus* spp., *Phyllobacterium* spp., *Pseudomonas* spp., *Rhizobia* sp., *Rhizobium* spp., *Serratia* spp., *Sinorhizobium* sp., *Sphingomonas* sp., *Streptomyces* sp., *Variovorax* sp., entre muchas otras conocidas por sus efectos benéficos para el

crecimiento y salud de las plantas (Bashan, Kloepper, de-Bashan y Nannipieri, 2016; Divi, Rahman y Krishna, 2016; Huang, de-Bashan, Crocker, Kloepper y Bashan, 2017; Li *et al.*, 2016; López-Gómez, Hidalgo-Castellanos, Lluch y Herrera-Cervera, 2016; Syranidou *et al.*, 2016; Teng, Wang, Li, Li y Luo, 2015; Zhou *et al.*, 2015).

Los microorganismos que comprenden el inóculo deben coexistir y ser fisiológicamente compatibles y mutuamente complementarios, para que de esta manera sus efectos benéficos individuales sean potenciados de manera sinérgica (Higa y Parr, 1994). Las especies son capaces de coexistir cuando conviven en un mismo ecosistema sin inhibirse debido a que hay una división de recursos entre ellos, por la existencia de una o más diferencias significativas en el total de recursos bióticos y abióticos utilizados por cada especie (Byrne *et al.*, 2005). Los microorganismos son mutuamente complementarios cuando sus funciones se ven beneficiadas o potenciadas al compartir un mismo medio (González y Roldán, 2003).

Es importante evaluar diferentes microorganismos de la rizósfera de cada región con distintas propiedades, que pueden beneficiar las características del suelo y el crecimiento vegetal, tales como, fijadores de nitrógeno o diazótrofos, bacterias promotoras de crecimiento y antipatogénicos.

II.V Microorganismos fijadores de nitrógeno.

La fijación biológica del nitrógeno, es la reacción en la que se reduce el nitrógeno atmosférico gaseoso a amonio, el cual puede ser aprovechado por las plantas como nutriente (Bellenger, Xu, Zhang, Morel y Kraepiel, 2014; Vitousek *et al.*, 2002; Wang *et al.*, 2018).

La fijación biológica del nitrógeno fue observada principalmente en las leguminosas debido a la presencia de “nudos” de la raíz inducidos por fermentos, más tarde, se encontró que eran microorganismos asociadas a las plantas capaces de realizar esta actividad como *Rhizobium* sp., *Azotobacter* sp., *Clostridium*

pasteurianum (Nutman, 1987), *Mesorhizobium* sp., *Bradyrhizobium* sp., *Azorhizobium* sp., *Allorhizobium* sp. y *Sinorhizobium* sp. (Bhattacharjee, Singh y Mukhopadhyay, 2008). Todos los microorganismos fijadores de nitrógeno poseen la enzima nitrogenasa, que es la encargada de llevar a cabo esta reacción (Betancourt, Loveless, Brown y Bishop, 2008).

Los microorganismos más eficientes son los que se asocian con las plantas por medio de “nódulos” presentes en la raíz, este tipo de simbiosis se da principalmente con leguminosas (Zahran, 1999). No obstante existen también diazótrofos de vida libre, o asimbióticos como *Azotobacter* (Kader, Mian y Hoque, 2002) que además es promotora de crecimiento (Remus, Ruppel, Jacob, Hecht-Buchholz y Merbach, 2000), sideróforo (Suneja, Lakshminarayana y Narula, 1994), fungicida (Lakshminarayana, 1993) y solubilizador de fosfato (Narula *et al.*, 2000). Así mismo cierto tipo de cianobacterias, que además de fijar nitrógeno potencia la producción de metabolitos secundarios, retienen humedad en el suelo y promueven la captación de nutrientes en las plantas (Al-Khiat, 2006; Capone *et al.*, 2005).

Principalmente, los fijadores de nitrógeno han sido utilizados como biofertilizantes en simbiosis con algunas leguminosas (Araujo, Díaz-Alcántara, Velázquez, Urbano y González-Andrés, 2015; Costa *et al.*, 2014; Fernandes, Fernandes y Hungria, 2003; Menna, Barcellos y Hungria, 2009; Ramsubhag, Umaharan y Donawa, 2002). Y se encuentran diversas investigaciones en las que, tras su inoculación en diferentes tipos de plantas, se observa un incremento de biomasa y rendimiento (Biswas, Ladha y Dazzo, 2010; Çakmakçi, Kantar y Sahin, 2001; Rodrigues *et al.*, 2008; Taylor, Dobbelaere, Vanderleyden y Okon, 2003).

Las bacterias fijadoras de nitrógeno han sido evaluadas en leguminosas (Simms *et al.*, 2006), no leguminosas (Muthukumarasamy, Revathi y Lakshminarasimhan, 1999; Yanni *et al.*, 2013; Zaheer *et al.*, 2016), plántulas de arroz estéril (Yanni, 1997; Prayitno *et al.*, 1999), como sustitutos de urea en el cultivo de arroz y otros cereales (Baldani, Baldani y Döberner, 2000; Govindarajan,

Balandreau, Muthukumarasamy, Revathi y Lakshminarasimhan , 2006), cafeto arábigo (Colina-Navarrete *et al.*, 2017), caña de azúcar (Pérez y Casas, 2005), mijo o *Echinochloa frumentacea* (Mathiyazhagan *et al.*, 2004), trigo (Cracogna, Iglesias, Díaz, González y Carbajal, 2003), mangle y sandía, incrementando la altura de las plantas, número de hojas y nodos (Galindo *et al.*, 2005), diferentes genotipos de sorgo (Yoon *et al.*, 2016), pasto varilla (Lowman, Kim-Dura, Mei y Nowak, 2016), haba de soya (Sanz-Sáez, Heath, Burke y Ainsworth, 2015), maíz (Fox *et al.*, 2016), pasto *Ray Grass* (Freire, Koch, y Salvador, 2016) y pepino (Hao y Chen, 2017). Además, se han utilizado para la rehabilitación agrícola de los suelos con deficiencia de nitrógeno (Biswas *et al.*, 2010; Ning *et al.*, 2017; Lowman *et al.*, 2016; Prayitno *et al.*, 1999) y contaminados, aumentando así, el rendimiento de los cultivos (Aslam *et al.*, 2016).

II.VI Bacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPB)

Las bacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPB's por sus siglas en inglés) colonizan las raíces de las plantas y promueven su crecimiento a través de diversas actividades, tal como la movilización de nutrientes insolubles permitiendo una mayor disponibilidad para las plantas (Adesemoye y Kloepper, 2009; Esitken *et al.*, 2010; Richardson, Barea, McNeill y Prigent-Combaret, 2009), aumento en la disponibilidad de hierro en la rizósfera mediante la producción de sideróforos (Kloepper, Lifshitz y Zablutowicz, 1989), los cuales, son compuestos quelantes de hierro secretados por PGPB's útiles para la nutrición vegetal (Carrillo-Castañeda *et al.*, 2002; de la Garza y Pacheco, 2010; Kraemer, Crowley y Kretzschmar, 2006); liberación de hormonas de crecimiento (Aslantaş, Çakmakçi y Şahin, 2007; Naiman, Latrónico y García de Salamone, 2009) y un aumento en la tasa de fotosíntesis (Zhang, Dashti, Hynes y Smith , 1997).

La promoción del crecimiento vegetal mediante PGPB's se encuentra bien documentada, este tipo de bacterias utilizan diferentes mecanismos para mejorar el crecimiento y desarrollo de las plantas bajo diferentes condiciones en todo el

mundo. Poseen mecanismos directos e indirectos que facilitan la absorción de nutrientes o aumentan su disponibilidad mediante la fijación de nitrógeno, la solubilización de nutrientes minerales, mineralizan compuestos orgánicos y la producción de fitohormonas. Además, algunas de ellas tienen la capacidad de suprimir el crecimiento de agentes patógenos. La formación de zonas de inhibición puede deberse a la acción de componentes biológicamente activos como enzimas quinolíticas, laminarinaasa, celulosa, HCN, antibióticos y sideróforos (Kumar, Maurya, Raghuwanshi, Meena y Tofazzal, 2017).

Las PGPB's son consideradas un enfoque prometedor y ecológico para lograr una fertilidad sostenible del suelo y el crecimiento de las plantas de manera indirecta, además del control biológico de los fitopatógenos, minimizando el uso de agroquímicos (Gupta, Parihar, Ahirwar, Snehi y Singh, 2015).

Han sido muchas las investigaciones que se han realizado para evaluar la actividad promotora de crecimiento de diversos microorganismos, tales como el realizado para *Pseudomonas putida* y *Bacillus megaterium* que aumentan la concentración de ácido indol-acético en el garbanzo obteniéndose un efecto positivo en la cantidad de biomasa de la planta (Pérez-Fernández y Alexander, 2017), *Paenibacillus polymyxa* mejora el contenido de aminoácidos en el repollo (Dursun *et al.*, 2017) y se le atribuye la capacidad de producir hormonas, tales como auxina, sideróforos y antibióticos, así como la solubilización y mineralización de nutrientes (Aeron, Kumar, Pandey y Maheshwari, 2011; Ahmad, Ahmad y Khan, 2008; Goswami, Dhandhukia y Thakker, 2016), por su parte *Serratia* spp. incrementa el rendimiento en el crecimiento de las cosechas en suelos con deficiencia de nutrientes (Zaheer *et al.*, 2016).

Bacillus spp. provoca efectos como la tolerancia a la sal, producción de fitohormonas, solubilización de fosfato, producción de sideróforos y producción de metabolitos antibióticos (Egamberdieva *et al.*, 2016), la inoculación de *Brevibacillus* spp. en semillas de algodón provoca un crecimiento significativo debido a su

actividad como solubilizador de fósforo, productor de ácido indol acético, reductor de acetileno y su actividad antifúngica (Nehra, Saharan y Choudhary, 2016) y bacterias como *Enterobacteriaceae* sp., *Klebsiella* sp., *Enterobacter* sp. y *Pantoea* sp. tienen la capacidad para fijar nitrógeno, solubilizar fosfato, producir ácido indol acético y quitinasa con lo cual promueven el crecimiento en plantas de maíz (Rodrigues *et al.*, 2016).

Asimismo, se ha encontrado que los microorganismos que producen la enzima ACC desaminasa promueven directamente el crecimiento de las plantas, ejercen protección ante inundaciones, sequía, sal, marchitamiento de las flores, metales, contaminantes orgánicos y patógenos bacterianos y fúngicos (Glick, 2014). Sin embargo, los efectos que producen este tipo de microorganismos dependen del tipo de suelo y las condiciones del cultivo (Inostroza, Barra, Wick, Mora, y Jorquera, 2017).

Las bacterias promotoras de crecimiento pueden convertirse en un pilar de la agricultura, al modificar las sustancias químicas en el suelo mejorando las condiciones de cultivo (Glick, 2012).

II.VII Microorganismos antipatogénicos o agentes de biocontrol.

Los microorganismos antipatogénicos son aquellos que interactúan antagónicamente con otro microorganismo que causa algún daño o enfermedad a la planta. Una de las causas principales de enfermedad en las plantas son los organismos patógenos, que provocan debilitamiento, alteración o inhibición del metabolismo por secreción de toxinas y bloqueo de translocación de nutrientes y agua hacia la planta (Agrios, 1995). Por otro lado existe un grupo importante de hongos y bacterias que presentan efectos antagónicos con otros microorganismos y esta acción es utilizada para el control biológico de patógenos en los cultivos (Fernández-Larrea, 2001). Éstos contribuyen a la atenuación de los daños que causan las enfermedades mediante diferentes modos de acción que les permiten

ejercer su efecto biorregulador o inhibitorio (Infante, Martínez, González y Reyes, 2009).

Entre los microorganismos antipatogénicos más utilizados se encuentran las bacterias de los géneros *Pseudomonas* spp. y *Bacillus* spp., así como hongos de los géneros *Gliocladium* sp. y *Trichoderma* sp., siendo éste último el más utilizado para el control de un grupo importante de patógenos del suelo (Fernández-Larrea, 2001). Los principales mecanismos de acción de estos microorganismos son la competencia por nutrientes y espacio (Armando *et al.*, 2013; Dal Bello, Mónaco y Simón, 2002; Khan, Schisler, Boehm, Slininger y Bothast, 2007; Popiel, Kwaśna y Chełkowski, 2008; Schisler, Khan, Boehm y Slininger, 2007), efectos antagónicos (Bujold, Paulitz y Carisse, 2007; Kosawang *et al.*, 2014), micoparasitismo (Lutz, Feichtinger, Défago y Duff, 2003; Naef, Senatore y Défago, 2006; Xue *et al.*, 2009; Xue *et al.*, 2014), y mediante la producción de metabolitos secundarios y antibiosis (Hajieghrari, Torabi-giglou y Mohammadi, 2008; Iulian y Dobre, 2015; Pal, Tilak, Saxena, Dey y Singh, 2001; Wang *et al.*, 2015).

Algunas investigaciones sugieren que *Aureobasidium pullulans* actúa como un potente agente de biocontrol contra *Phytophthora infestans* en tomate, debido a que produce metabolitos volátiles y no volátiles que disminuyen el crecimiento de patógenos (Di Francesco, Milella, Mari y Roberti, 2017). *Trichoderma* spp. actúa como antagonista de *Sclerotinia minor* y *S. sclerotiorum* en lechuga (Elias *et al.*, 2016); sin embargo, su actividad para el control de plagas en los cultivos depende de la cepa utilizada (Martínez, Infante y Reyes, 2013), *Paenibacillus* sp. estimula los mecanismos de defensa de las plantas a través de su elicitor: lipopolipéptido de paenimixina en contra de la mancha foliar de *Septoria* spp. (Samain, van Tuinen, Jeandet, Aussenac y Selim, 2017), mientras que microorganismos como *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp., *Paenibacillus* spp. tienen una actividad potencial contra *Fusarium verticillioides* debido a que tienen la capacidad de producir glucanasas, proteasas y quitinasas (Figuroa-López *et al.*, 2016).

La inoculación de *Bacillus thuringiensis* actúa como insecticida microbiano contra diferentes plagas de insectos en la agricultura (Jouzani, Valijanian y Sharafi, 2017), mientras que *Bacillus subtilis* contiene células y lipopolipéptidos específicos contra patógenos fúngicos que causan enfermedades en los cultivos (Arroyave-Toro, Mosquera y Villegas-Escobar, 2017). Por otro lado *Clonostachys rosea* ejerce una actividad de biocontrol del 80% contra *Fusarium circinatum* (Moraga-Suazo y Sanfuentes, 2017). *Pseudomonas putida* es utilizada como control biológico de *Rhizoctonia* en cultivos de pepino (Ohno *et al.*, 2011).

Streptomyces galilaeus ha sido estudiada para el control de la enfermedad del nudo de raíz y para suelos infestados por nematodos encontrándose que su inoculación aumenta la biomasa del cultivo y es un potente agente de biocontrol (Nimnoi, Pongsilp y Ruanpanun, 2017), asimismo se ha estudiado su eficacia en el control de *Fusarium* en cultivos de chile jalapeño (Robles-Hernandez *et al.*, 2015). Y, finalmente *Beauveria bassiana* ejerce un control biológico del 98% contra *Phthorimaea operculella* después de 10 días de su inoculación en plantíos de papa (Yuan, Lei, Rondon y Gao, 2017).

II.VIII Sinergismo microbiano y su uso en la agricultura.

En la agricultura, los microorganismos son utilizados por sus efectos sinérgicos, como inoculantes de leguminosas para potenciar la fijación y absorción de nitrógeno, como un medio para suprimir insectos y enfermedades de las plantas, para mejorar la calidad y rendimiento de los cultivos; así como reducir la mano de obra (Higa y Wididana, 1991; Higa y Parr, 1994).

El sinergismo se define como “asociación de varios órganos para realizar una función” (Émile Littré), no obstante, según la Real Academia Española, se refiere a “la acción de dos (o más) causas cuyo efecto es superior a la suma de los efectos individuales, llegando a la concepción aristotélica donde enfatiza la importancia del todo, que es más grande que la suma de las partes”. Sin embargo, en 1976, con la Teoría General de Sistemas, concebida por el Biólogo Ludwig von Bertalanffy, se

define que “un objeto posee sinergia cuando el examen de una de sus partes o alguna en forma aislada no puede explicar o predecir la conducta del todo”. Por su parte, Kurt Lewin, psicólogo, define sinergismo cuando la suma de las partes es diferente del todo.

La sinergia deriva de las conexiones entre las acciones y puede ser de influencia cuando acciones procedentes de causas distintas se refuerzan para provocar una distinta; y de dependencia o causalidad, cuando la aparición de una acción está condicionada por la aparición de otras. Se puede producir sinergia entre acciones de una misma actividad y entre actividades distintas (Orea y Villarino, 2013).

Las interacciones sinérgicas son de crucial importancia dentro del sistema sostenible de cultivo agrícola, ya que a través de ellas se mantiene la fertilidad del suelo y la salud de las plantas, utilizando inoculantes con microorganismos que conviven en sinergia (Artursson, Finlay y Jansson, 2006). Estas interacciones entre los microorganismos de la rizósfera beneficia el crecimiento vegetal debido al aumento de absorción de nitrógeno y fósforo, estimado en biomasa de las plantas, lo cual se traduce a un índice aumentado en la disponibilidad de nutrientes en el suelo, supervivencia de plantas, contenido de materia orgánica en el suelo y la capacidad de retención de agua (Matias *et al.*, 2009). Este efecto, se ve expresado además, en la potencialización de los efectos supresores de enfermedad y estimulación del crecimiento vegetal (Cano, 2011).

Las inoculaciones combinadas de microorganismos eficaces, que sean fisiológica y ecológicamente compatibles entre sí aumenta la probabilidad de cambiar el equilibrio microbiológico del suelo y controlarlo, para favorecer el crecimiento, el rendimiento y la salud de los cultivos. Una vez que estos inóculos se establecen, sus efectos beneficiosos individuales pueden verse potenciados de manera sinérgica (Higa y Parr, 1994). Se ha reportado que las inoculaciones combinadas de microorganismos fijadores de nitrógeno con bacterias

solubilizadoras de fosfato son más eficaces que la inoculación de un solo microorganismo para promover el crecimiento vegetal y proporcionar una nutrición más equilibrada en diversos tipos de cultivos (Çakmakçi *et al.*, 2001; Madhaiyan, Poonguzhali, y Kang, 2010; Valverde *et al.*, 2006).

Se han llevado a cabo varias investigaciones para el análisis de la sinergia entre las bacterias fijadoras de nitrógeno y los hongos micorrízicos en varias especies vegetales (Awasthi *et al.*, 2011; Geneva *et al.*, 2006; Siviero *et al.*, 2008). Asimismo, se ha encontrado que estos microorganismos tienen la capacidad de interactuar de manera sinérgica para estimular el crecimiento de las plantas a través de la adquisición mejorada de nutrientes y la inhibición de patógenos fúngicos (Artursson *et al.*, 2006).

Se ha evaluado también el efecto de inocular *P. chlororaphis*, *B. megaterium* en diversos cultivos, siendo estas bacterias solubilizadoras de fosfato en combinación con *A. pascense* que es fijadora de nitrógeno en árbol de nuez, y se observa un aumento en la altura de la planta y en el peso seco (Yu, Liu, Zhu, Liu y Mao, 2012). Resultados experimentales han demostrado la compatibilidad y sinergia entre *G. mosseae* y *B. subtilis*, lo cual sugiere que este consorcio microbiano puede ser utilizado para aumentar el crecimiento, rendimiento y contenido de principios activos en *A. annua* (Awasthi *et al.*, 2011). Por otro lado, las cepas microbianas *Bacillus megaterium* y *Pseudomonas putida* inoculadas en sistemas agrícolas orgánicos indican compatibilidad cruzada y reducen la aplicación de fertilizantes inorgánicos (Rajeela, Gopal, Gupta, Bhat y Thomas, 2017).

El estudio de la sinergia en los inóculos combinados requieren especial atención, ya que, existe la probabilidad de que un antagonista fúngico lo sea también para hongos beneficiosos para la planta (Vázquez, César, Azcón y Barea, 2000). Asimismo, representa un desafío significativo, debido a que se deben tener en cuenta diversos factores, tales como: el comensalismo, la competencia, la depredación, la falta de interacción, la cooperación y el amensalismo (Ahkami *et al.*,

2017). Minimizando el parasitismo y la competencia, mientras se maximizan los efectos benéficos y la cooperación entre los microorganismos (Foster y Bell, 2012).

Los aislamientos dentro de una región geográfica delimitada bajo un proceso de selección natural pueden ser utilizados para desarrollar bioinoculantes específicos para cultivos y condiciones agroclimáticas de diferentes zonas del mundo (Kumar *et al.*, 2017). Esto significa que, las cepas a utilizar como inoculantes son específicas para cada región, es por ello que es importante hacer una selección de cepas nativas, adaptadas a las condiciones climatológicas y características del suelo, que presenten rasgos como promotoras de crecimiento y antagonismo bacteriano o biocontrol. No obstante, es necesario evaluar cada una de ellas para conocer sus alcances y propiedades para el tipo de suelo y tipo de cultivar.

II.IX Descripción de especies bacterianas y vegetales a utilizar en este trabajo.

Bacillus pumilus

Bacillus pumilus es una bacteria presente comúnmente en el suelo e interactúa específicamente con las raíces de las plantas en la rizósfera (Mañero, Acero, Lucas y Probanza, 1996). Es un bacilo aerobio Gram positivo formador de esporas (Priest, 1993)

La cepa *Bacillus pumilus* presenta actividad promotora de crecimiento vegetal cuyo cultivo acumula giberelinas bioactivas en cantidades relativamente altas y son fisiológicamente activas en especies vegetales hospederas, provocando elongación en el tallo de plántulas de aliso (Gutierrez-Mañero *et al.*, 2001).

Esta cepa puede ser utilizada como bio-inoculante para la producción de biofertilizantes con el fin de aumentar el rendimiento de cultivos de trigo (Yasmin *et al.*, 2013), tiene capacidad para proveer tolerancia a la salinidad en plantas de arroz (Khan *et al.*, 2016), confiere resistencia a plantas de tomate con estrés por boro a

través de actividad antioxidante inducida (Sirajuddin *et al.*, 2016), aumenta entre un 24% y 34% el rendimiento de maíz en pruebas de campo, además, solubiliza fosfato y produce ácido indol acético in vitro (Breedt, Labuschagne, y Coutinho, 2017), aumenta significativamente el crecimiento de plántulas de arroz de 21 días, aunado a un aumento en el contenido de clorofila, altura, número de macollos y biomasa cuando se usa en combinación con fertilizantes nitrogenados, además, promueve el crecimiento de raíces, lo que aumenta la absorción de nutrientes del suelo (Win, Ohkama-Ohtsu y Yokoyama, 2018).

En cultivos de amaranto a bajas temperaturas, el cebado de las semillas con un inóculo de *B. pumilus* aumenta el rendimiento de grano, aumenta significativamente la disponibilidad de nutrientes en el suelo y su absorción (Pandey, Negi, Maheshwari, Rawat y Prabha, 2018). Mejora el crecimiento de *Glycyrrhiza uralensis* en condiciones de sequía mediante el aumento de metabolitos y antioxidantes (Xie, Chu, Zhang, Lang y Zhang, 2019). Además, aislados bacterianos de *B. pumilus* son capaces de producir celulasas, amilasas, pectinas, lipasas, proteasas y sideróforos, lo que le confiere a las plantas de banano un aumento en altura, longitud de raíz, masa seca de la raíz y área de la hoja (da Silva *et al.*, 2018).

Por otra parte, *B. pumilus* posee la capacidad de tolerar altos niveles de sal, entre 8 y 10% de NaCl, forma endosporas y muestra una actividad antifúngica de amplio espectro, por lo cual, juega un papel importante para manejar patógenos en las plantas en condiciones salinas y exhibe rasgos de promoción de crecimiento vegetal in vitro (Sharma *et al.*, 2019).

Como agente de biocontrol, las esporas de *B. pumilus* presentan la enzima quitinasa activa, que es capaz de inhibir el crecimiento de los hongos *Rhizoctonia solani* y *Trichoderma harzianum* (Rostami *et al.*, 2017), la cepa bacteriana confiere resistencia al maíz contra daño causado por larvas de gusano de la raíz del maíz occidental (Disi, Kloepper, y Fadamiro, 2018), así mismo, un estudio mostró que el recubrimiento bacteriano de semillas de maíz con *B. pumilus* puede desempeñar un

papel importante en la configuración de las interacciones tritróficas subterráneas, siendo útil para el manejo del gusano de raíz del maíz (Disi, Mohammad, Lawrence, Kloepper y Fadamiro, 2019), finalmente, tiene buena eficacia de control biológico contra el marchitamiento bacteriano del tomate causado por *Ralstonia solanacearum* debido a la atenuación de virulencia por la secreción de pumilacidina, además, la liberación de otros metabolitos secundarios resistentes al calor inhiben la motilidad de contracción y enjambre, además de la expresión de genes típicos de virulencia de *R. solanacearum* (Shen, Xia, Yin, Zhao y Kang, 2018).

B. pumilus es capaz de metabolizar de manera efectiva el herbicida isoproturon fenilurea, utilizado ampliamente como pesticida en la agricultura convencional, por lo que podría emplearse para el desarrollo de tecnología de biorremediación en campos de cultivo (Giri *et al.*, 2017).

Por todo lo anterior, la cepa bacteriana de *B. pumilus* es una alternativa como bio-inoculante en diversos cultivos, con la finalidad de aumentar el crecimiento vegetal, aunado a la inhibición de patógenos.

Stenotrophomonas rhizophila.

Es un bacilo Gram negativo, puede encontrarse en la rizósfera o de manera endófito en las plantas, raíz, tallos y hojas de muchas especies vegetales (Alavi, Starcher, Zachow, Müller y Berg, 2013).

El género *Stenotrophomonas* se coloca filogenéticamente en la subclase y de las proteobacterias. Las especies de *Stenotrophomonas* tienen un papel ecológico importante en los ciclos de los elementos en la naturaleza (Wolf, Fritze, Hagemann y Berg, 2002). *S. rhizophila* no tiene patogenicidad, produce espermidina, enzimas degradadoras de la pared celular de las plantas y tiene una alta resistencia a la salinidad. Además, tiene la capacidad de formar biopelículas, produce flagelos y diferentes polisacáridos de superficie y adhesión (Alavi *et al.*, 2014).

S. rhizophila es un quimiorganoheterótrofo, puede oxidar la xilosa, D-trehalosa, ácido succinámico, ácido DL-láctico, presentes en las raíces de las plantas (Wolf et al., 2018). Además, como productos moleculares excreta glucosilglicerol que permite una alta retención de agua en el suelo, protegiendo a las plantas en condiciones de sequía y salinidad (Roder, Hoffmann, Hagemann y Berg, 2005). Finalmente, produce dodecanal, la cual, es una sustancia que inhibe el crecimiento de hongos (Ryan et al., 2009).

En la agricultura, las aplicaciones de la cepa *S. rhizophila* son principalmente como promotor de crecimiento vegetal y como control biológico de patógenos. En investigaciones anteriores se encontró que la cepa muestra un efecto estimulante sobre el crecimiento de plantas de pepino en comparación con plantas no bacterizadas, el cebado de semillas de pepino con la cepa bacteriana aumenta el rendimiento del fruto de pepino en invernadero dando así, un enfoque prometedor para la agricultura en suelos salinos (Egamberdieva et al., 2011). Se evaluó la actividad de la cepa en plantas de tomate, algodón y pimiento dulce, en cuanto a colonización y promoción del crecimiento en sistemas gnobióticos y en suelos no estériles, demostrando que *S. rhizophila* controla las enfermedades en la pimienta dulce y en el algodón, además, afectó fuertemente a las comunidades de hongos en la rizósfera del tomate y del pimiento dulce, teniendo un efecto promotor del crecimiento en las plantas, debido al antagonismo hacia microorganismos de la rizósfera deletéreos y patógenos (Schmidt, Alavi, Cardinale, Müller y Berg, 2012).

La sinergia entre *S. rhizophila* y *B. japonicum* en la rizósfera de la soja proporciona raíces mejoradas, mayor longitud de brotes, un aumento en peso seco, mejor captación de nitrógeno y fósforo, así como un aumento en número de nódulos en condiciones de estrés salino (Egamberdieva et al., 2016). Una cepa de *S. rhizophila* aislada de la rizósfera de la vid en China presenta actividad como solubilizadora de fosfato (Liu et al., 2016). Además, se encuentra reportado que produce auxinas y aumenta el crecimiento radial del hongo ectomicorrízico *Suillus* sp, además de que aumenta la masa seca de brotes y masa seca de raíz de *P.*

pseudostrobilus (Heredia-Acuña, Almaraz-Suarez, Arteaga-Garibay, Ferrera-Cerrato y Pineda-Mendoza, 2018).

En cuanto a funciones como control biológico se encuentra que, en suelos salinos, *S. rhizophila* produce sustancias osmoprotectoras como trehalosa y glucosilglicerol, permitiendo una relación simbiótica donde se forman biopelículas que permiten a la planta tolerar presiones osmóticas combatiendo microorganismos patógenos (Alavi *et al.*, 2013). In vitro, la cepa *S. rhizophila* presenta actividad fungistática contra *Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *Fusarium* sp. y *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Además tiene la capacidad de producir sideróforos y cianuro, por lo cual se consideran una alternativa prospectiva para su uso agrícola (Blagova *et al.*, 2015).

Al combinar *S. rhizophila* con ulvan, un polisacárido aislado de algas verdes del género *Ulva* utilizado como tratamiento alternativo para los fungicidas químicos, a una concentración de 5 g/L se obtiene un control más efectivo de la pudrición de la fruta en comparación con el fungicida benomyl (Rivas-García *et al.*, 2018). *S. rhizophila* en consorcio con *D. hansenii* es efectivo para el control biológico pos cosecha de la pudrición de la fruta en el melón, específicamente contra *Fusarium proliferatum*, posiblemente debido a parasitismo directo, competición de nutrientes, enzimas líticas, biosurfactantes y/o compuestos orgánicos volátiles (Rivas-García *et al.*, 2019). La cepa *S. rhizophila* endófito del pino muestra una reducción significativa de la gravedad de la enfermedad del marchitamiento del pino por inducción de resistencia sistémica (Kim *et al.*, 2019).

Chile jalapeño

El chile jalapeño es una de las variedades picantes de *Capsicum annuum* mayormente cultivado y consumido en América. En condiciones adecuadas la planta mide entre 30 y 80 cm de altura, se adapta a diferentes tipos de suelo, pero tiene un mejor desarrollo a profundidades de 30 a 60 cm en suelo franco arenoso, franco limoso o franco arcilloso, con abundante materia orgánica (SAGARPA, 1996).

En México se produce principalmente en los estados de Veracruz, Chihuahua, Jalisco, Nayarit, Sonora, Sinaloa y Chiapas, destinando más de 6000 hectáreas en su producción (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, 2010). Y su consumo per cápita es de 16 kg anuales aproximadamente (SAGARPA, 2017).

El chile jalapeño es una planta anual en zonas templadas y perennes en zonas tropicales, tiene tallos erectos, herbáceos y ramificados, de un color verde oscuro (Valadez, 2001). El fruto es carnoso y alargado, medianamente picante, entre 2500 a 5000 unidades Scoville (Servicio de Información Agroalimentaria y pesquera, 2010), debido a su contenido de capsaicina, alcaloide que provoca la pungencia o sensación de ardor agudo característicos de este tipo de alimentos (Aguirre-Mancilla *et al.*, 2017), dichos compuestos, además de proporcionar el sabor picante son utilizados en la industria farmacéutica, de armas, cosmética, en pinturas y como ingrediente activo de diversos productos (Saimbhi, Kaur y Nandpuri, 1977). Está demostrado que la fertilización nitrogenada incrementa el contenido de capsaicinoides, aunque la interacción con el ambiente es importante para determinar el nivel de pungencia (Reddy *et al.*, 2014). Requiere una dosis de fertilización de 180-80-80 kg/ha de NPK para obtener buenos rendimientos.

Actualmente existen algunos estudios del uso de microorganismos benéficos para el cultivo de chile jalapeño, tales como, la cepa nativa *Bacillus subtilis* aumenta la producción de biomasa en comparación con cepas de *B. subtilis* comerciales (Espinoza *et al.*, 2003). Tres diferentes cepas aisladas de *Trichoderma* spp producen plantas 30% más altas, 20% más hojas, área foliar un 30% más abundante, tallos 15% más gruesos, con un 60% más de biomasa en raíz y 38% más de biomasa aérea, además ofrecen una alternativa para el biocontrol de la marchitez del chile debido a *P. capsici* (Guigón-López y González-González, 2004). La cepa *Streptomyces* sp. muestra potencial como agente de biocontrol contra *Fusarium* spp. y como biofertilizante en plantas de chile jalapeño aumentando particularmente la altura de la planta, el área foliar, la longitud de raíz y biomasa

seca foliar y radical (Robles-Hernandez *et al.*, 2015). La inoculación individual de los microorganismos *Pseudomonas fluorescens* y *Azospirillum brasilense* incrementan el número de frutos así como la coinoculación de *R. intraradices* + *A. brasilense*, mientras que cuando las plantas de Chile son inoculadas con *R. intraradices* + *P. fluorescens* y *A. brasilense* se obtienen frutos más grandes (Aguirre-Medina y Espinosa, 2016).

Acelga

La acelga o *Beta vulgaris* var *cicla* es una subespecie de *Beta vulgaris*, cuyas hojas son aprovechadas para el consumo en cualquier etapa de su periodo vegetativo. Es nativa de Europa meridional, planta herbácea cultivada de manera anual. Tiene hojas grandes de color verde o rojizo nervadas cuyos pecíolos son blancos, amarillos o rojos según la variedad (Gao *et al.*, 2009)

Comúnmente se consume cruda en ensaladas o cocinada, aporta una gran cantidad de vitaminas, A, C y B, calcio, hierro y fósforo, además de carotenos, fibra, ácido fólico y sales minerales, su contenido de agua es de alrededor de 48% (Pyo, Lee, Logendra y Rosen, 2004). Se le han atribuido propiedades hipoglucemiantes (Yanardag y Tabakog, 2000) y se usan en medicina tradicional para enfermedades hepáticas y renales, estimulación de sistema inmunitario y hematopéyico, así como dieta especial para el cáncer (Kanner, Harel y Granit, 2001).

La acelga crece bien en toda estación y presenta alta tolerancia a la salinidad. Tiene un ciclo corto de crecimiento, entre 60 y 80 días. Se desarrolla en cualquier tipo de suelo con preferencia por los arcillosos-arenosos, es sensible a la acidez del suelo. La dosis recomendada de fertilizante para una mejor producción es de 120-160 kg/ha de nitrógeno, de 60 a 80 kg /ha de fósforo y 50 kg/ha de potasio (García y Magaña, 2014).

Se encuentran estudios sobre el uso y eficiencia de microorganismos en el cultivo de acelga, encontrándose que al inocular microorganismos de montaña

aislados de un sistema de potrero y cultivo de café dos veces por semana se obtienen plantas de mayor altura, mayor diámetro y vigor, así como una menor incidencia de plagas, además, mejoran la calidad del suelo, aumentan su fertilidad y evitan el deterioro de los ecosistemas agrícolas (Morales-Velasco y Prado, 2014). El uso de la bacteria *A. brasilensis* incrementa el área foliar de la acelga, lo que indica que puede ser una alternativa como fertilizante (Rosas *et al.*, 2018). Los microorganismos efectivos afectan de manera positiva las plantas de acelga en las variables de altura, número, longitud y peso de las hojas, así como el rendimiento en kg/m² (Fosado, 2018).

Lechuga

La lechuga (*Lactuca sativa* L.) es una hortaliza con gran importancia en el mercado internacional. Es una planta herbácea de regiones semitempladas cultivada para fines alimenticios. Es un cultivo anual, con savia lechosa, de 0.3 a 1 m de alto. Capitulescencias de densas panículas corimbosas, capítulos ligulados y erectos, filarias cilíndricas, con varias series de brácteas calculadas, imbricadas, las series exteriores más cortas, receptáculos planos y desnudos, flósculos de 10–20, perfectos, 5 dentados y amarillos. Aquenios angulados, fusiformes, rostrados, lenticular oblongos, vilano de numerosas cerdas finas y blancas (Davidse *et al.*, 2016)

La lechuga tolera temperaturas muy bajas, hasta -6 °C, tiene preferencia por suelo arenoso-limoso y con buen drenaje. Requiere altas dosis de potasio en su fertilización (Kader, 2002).

Han sido muchos los estudios que se han realizado en cuanto a inoculación de microorganismos promotores de crecimiento vegetal en este vegetal, debido a su corto ciclo de crecimiento. Kohler, Hernández, Caravaca y Roldán (2008) demostró los efectos de la bacteria *Pseudomonas mendocina* y los hongos *G. intraradices* y *G. mosseae* sobre la absorción de N, P, Fe, Ca y Mn en lechuga bajo diferentes niveles de estrés hídrico, encontrando que hay un aumento en la actividad

fosfatasa en las raíces de lechuga y acumulación de prolina en las hojas, lo que apoya el uso potencial de PGPR como estimulante para aliviar el daño oxidativo producido por estrés hídrico. De la misma manera, en el 2010, evaluó el crecimiento de la lechuga en condiciones de estrés salino y encontró que incrementa la biomasa y genera estabilidad en la planta tras su inoculación (Kohler, Caravaca y Roldán, 2010).

La bacteria *Azotobacter chroococum* evaluada a dos concentraciones distintas promueve el crecimiento vegetal, aumentando el rendimiento del cultivo, sin que la concentración sea un factor importante para la obtención del efecto (Vélez y Orellana, 2010). La bacteria *Bacillus methylotrophicus* aumenta el porcentaje de germinación de semillas de lechuga, lo cual, puede ser debido a la secreción de una gran variedad de giberelinas y ácido indol acético, mientras que en plántulas aumentó la longitud de brotes, peso fresco y ancho de las hojas, con una mayor concentración de proteínas, aminoácidos, ácido aminobutírico y fructosa, aumentando sus valores alimenticios (Radhakrishnan y Lee, 2016).

El consorcio entre *Microbacterium* sp. y *B. mycoides* inducen y aceleran la germinación de semillas de lechuga, mientras que *Azotobacter* sp., *T. harzianum* y *E. aerogenes* estimulan su crecimiento, desarrollo y rendimiento (Fuentes *et al.*, 2017). La asociación de *P. fluorescens* con *Azospirillum* aumentan el porcentaje de emergencia de plántulas de lechuga, además promueve el aumento del área foliar, mostrando un peso seco significativamente mayor en plantas de 40 días, comparados con un control sin inocular, además, la sinergia de estas cepas bacterianas desencadena un mecanismo de tolerancia a estrés a altas temperaturas (Aponte, Castillo, Cabrera, Pernia y Hernandez 2017).

Por otro lado, los compuestos orgánicos volátiles liberados por *Bacillus* sp. en bajas concentraciones aumentan la longitud de la raíz, mientras que altas concentraciones inducen la longitud del brote y la longitud de la raíz lateral, el peso seco y número de raíces laterales aumentan independientemente de la

concentración aplicada, lo que sugiere que los compuestos orgánicos volátiles liberados por la cepa *Bacillus* sp representa una estrategia alternativa para inducir el crecimiento de la lechuga (Fincheira, Parra, Mutis, Parada y Quiroz, 2017). Las micorrizas arbusculares mejoran la elongación de la raíz y desarrollo de plántulas de lechuga en suelos contaminados por mercurio, sin embargo, no evitan el daño celular en las raíces y el hipocotilo, por lo que se plantea que la mejor condición de las plántulas ocurre debido a los beneficios nutricionales que las micorrizas les proveen (Vargas Aguirre, Rivera Páez y Escobar Vargas, 2018).

Jitomate

El jitomate (*Solanum lycopersicum*) es uno de los principales cultivos en el mundo debido a su alto consumo (Ochoa-Velasco *et al.*, 2016). Es una planta herbácea nativa del Centro y Sudamérica, sin embargo, es cultivada en todo el mundo. Es una planta anual o perenne, tiene tallo erguido y cilíndrico, a medida que crece el tallo se cae y se vuelve anguloso, presenta vellosidades y puede medir hasta 2.5 m. Sus hojas son compuestas y se insertan sobre diversos nudos alternadamente. Presenta flores hermafroditas, su fruto es una baya de color rojo de tamaño variable, de 3 hasta 16 cm de diámetro, de forma redondeada, achatada o de pera con superficie lisa o asurcada (Curtis, 1996).

En una planta de clima cálido, de 20 a 24 °C, ya que detiene su crecimiento a los 8 °C. Requiere alta luminosidad y humedad relativa de 75%. Prefiere suelos profundos, mullidos, aireados con alta concentración de materia orgánica y pH ligeramente ácido. México es el principal productor de jitomate a nivel mundial con una producción de 25.11% del mercado internacional (SAGARPA, 2017).

El jitomate es un alimento rico en vitaminas A, C y E, carotenoides, especialmente licopeno y compuestos antioxidantes como los flavonoides, ácidos hidroxicinámicos y compuestos fenólicos (Santos-Sánchez *et al.*, 2013).

Las necesidades nutrimentales para el mejor crecimiento del cultivo de tomates son 597 kg/ha de nitrógeno, 177 kg/ha de fósforo y 1049 kg/ha de potasio (Bustamante *et al.*, 2013) . Sin embargo, existen diversos microorganismos que, al ser inoculados en cultivos de jitomate, mejoran su rendimiento y calidad.

La bacteria *Burkholderia unamae* es capaz de colonizar de forma endofítica a las plantas de tomate, además, presenta actividad desaminasa ACC que juega un papel importante en la promoción del crecimiento vegetal (Onofre-Lemus, Herna y Girard, 2009). La aplicación de un consorcio formado por *Pseudomonas* spp., *Azotobacter* spp., *Azospirillum* spp. y hongos micorrízicos arbusculares aumentan el contenido de licopeno, actividad antioxidante y contenido de potasio en plantas de jitomate (Ordookhani, Khavazi, Moezzi y Rejali , 2010). La cepa bacteriana *Stenotrophomonas rhizophila* en condiciones no estériles y humedad ambiental promueve su crecimiento vegetal (Schmidt *et al.*, 2012).

El tratamiento de las semillas con *Trichoderma* protege eficientemente a las plantas frente a *R. solani*, sin necesidad de aplicar ningún tratamiento al suelo (Martínez *et al.*, 2013). *Bacillus licheniformis* en combinación con fertilizante nitrogenado tiene un efecto neto positivo en la síntesis de flavonoides y otros compuestos antioxidantes en los frutos (Ochoa-Velasco *et al.*, 2016). La inoculación de *Bacillus pumilus* confiere tolerancia a las plantas estresadas con boro a través de actividad antioxidante inducida, así mismo, reduce la acumulación de B en el brote (Khan *et al.*, 2016). La inoculación de *R. irregularis* y *V. paradoxus* mejora el rendimiento de las plantas en condiciones de estrés por sequía, mejora la capacidad fotosintética neta, evita el daño oxidativo a los lípidos, mejora la acumulación de osmolitos, la conductividad hidráulica de la raíz y la abundancia de acuaporinas (Calvo-Polanco *et al.*, 2016).

Finalmente, la inoculación conjunta de las cepas *Bacillus toyonensis*, *B. cereus*, *B. aryabhattai*, *B. megaterium*, *B. aerius*, *B. stratosphericus* y *Paenibacillus barcinonensis* pueden controlar el marchitamiento por *Fusarium* en los tomates,

además de conferirle a las plantas un mejor crecimiento (Yuriko, Rocha, Maia, Oliveira y Renata, 2017).

Las bacterias a evaluar son nativas de la región por lo que, al presentar efectos como promotoras de crecimiento vegetal estas pueden ser utilizadas para mejorar el rendimiento y calidad de los cultivos, siempre y cuando sean correctamente evaluadas.

La expresión matemática que describe el fenotipo de crecimiento en una planta está dada por:

$$F = G + Ma + G(Ma)$$

Ecuación 1. Fenotipo de crecimiento de una planta

Dónde:

F = fenotipo

G = genotipo

Ma = medio ambiente

Al inocular una bacteria benéfica en un cultivo se tiene que:

$$F_1 = F + a_1$$

Ecuación 2. Crecimiento con inoculación de una bacteria.

$$F_2 = F + a_2$$

Ecuación 3. Crecimiento con inoculación de una bacteria 2.

Dónde:

F_n = fenotipo adquirido con la inoculación del microorganismo

F = fenotipo original del cultivo

a_n = actividad que ejerce el microorganismo inoculado

Cuando en un cultivo se inocula un consorcio bacteriano que actúa en sinergia se tendrá que:

$$F_t = F_1 + F_2 + F_3$$

Ecuación 4. Crecimiento de una planta con la inoculación de un consorcio bacteriano

III. Hipótesis

El sinergismo en una mezcla de bacterias promotoras de crecimiento y antipatogénicas incrementará significativamente el rendimiento de los cultivos en comparación con la actividad que realizan individualmente, debido a que sus efectos benéficos individuales se verán potenciados.

Hipótesis nula

$$R_1 = R_T$$

Donde:

R_1 = rendimiento obtenido con un solo microorganismo

R_T = rendimiento obtenido con un consorcio microbiano.

Hipótesis alternativa

$$R_1 < R_T$$

Donde:

R_1 = rendimiento obtenido con un solo microorganismo

R_T = rendimiento obtenido con un consorcio microbiano de tres especies.

IV. OBJETIVOS

Objetivo General

Aumentar significativamente el crecimiento vegetal mediante el sinergismo de bacterias promotoras de crecimiento vegetal y antipatogénicas provenientes de la rizósfera.

Objetivos Particulares

1. Aislar, caracterizar e identificar bacterias rizosféricas con características para promover el crecimiento vegetal y antipatogénicas.
2. Evaluar la actividad de las bacterias individuales y en consorcio sobre la germinación de semillas.
3. Analizar el efecto individual y en consorcio de las bacterias aisladas sobre plántulas de diferentes hortalizas bajo condiciones de invernadero.

V. METODOLOGÍA

Aislamiento de cepas bacterianas.

La recolección de las muestras se realizó mediante el método descrito por Molano (2004) de una composta de la Universidad Autónoma de Querétaro campus Amazcala, el Marqués, Querétaro. Se delimitaron cuatro zonas de la composta y se realizó la extracción manualmente. Las muestras fueron depositadas en bolsas plásticas estériles con sellado (Figura 2).



Figura 2. Muestras obtenidas de la composta colocadas en bolsas plásticas estériles etiquetadas.

Para el aislamiento de las cepas microbianas se preparó medio de cultivo de agar papa dextrosa, se esterilizó en una autoclave durante 15 minutos a 121 °C y se colocó en cajas Petri estériles. Las muestras de composta fueron homogenizadas y tamizadas. Y, de cada una de ellas se preparó una solución madre en un matraz de 125 ml. Donde se colocaron 10 gr de la muestra de tierra y 90 ml de agua destilada estéril con Tween 20 al 0.1% (Figura 3). La mezcla se mantuvo en agitación constante durante 48 horas. (Moya *et al.*, 2014).

Se hizo la siembra de cada una de las soluciones previamente preparadas en las cajas de agar papa dextrosa colocando 1 ml de la solución y se distribuyó sobre toda la superficie del medio. Las cajas sembradas se llevaron a la incubadora a una temperatura de 27 °C (Figura 4).



Figura 3. Preparación de la solución madre de cada una de las muestras tomadas de la composta. Agitación constante durante 48 horas.



Figura 4. Siembra de la solución madre en PDA con la finalidad de aislar las bacterias presentes en la composta.

Una vez desarrolladas las cepas bacterianas se extrajeron las más representativas, se inocularon en caldo nutritivo estéril y se realizó tinción Gram para su clasificación.

El caldo nutritivo se colocó en incubadora con agitación rotatoria a 250 rpm durante 4 días a 28 °C (Kimberley *et al.*, 2004).

La tinción Gram se realizó tomando una asada de la colonia del medio PDA y se colocó en un portaobjetos limpio. Se agregó una gota de colorante primario cristal violeta durante 1 minuto y se lavó con agua, posteriormente se colocó una gota de lugol durante 1 minuto. Luego, se agregó alcohol-acetona durante 20 segundos y se enjuagó con un poco de agua, finalmente se colocó una gota de safranina durante 1 minuto y se lavó con agua.

Una vez teñida la colonia se observó en el microscopio y se llevó a cabo la clasificación como Gram positivas (bacterias color azul oscuro o morado) o Gram negativas (color rosa a rojo) (López-Jácome *et al.*, 2014).

Activación y propagación de cepas bacterianas.

Se llevó a cabo mediante el método utilizado por Díaz Vargas, Ferrera-Cerrato, Almaraz-Suárez y González en 2001.

Se preparó agar nutritivo, se esterilizó en autoclave durante 15 minutos a 121 °C y se colocó en cajas Petri. Las bacterias aisladas fueron sembradas con un asa bacteriológica mediante estriado básico de acuerdo a las buenas prácticas de laboratorio de la OMS, haciendo el correcto uso de campanas de extracción, bata de laboratorio, guantes y cubrebocas. Así como una correcta limpieza y desinfección del área de trabajo (ver ANEXO 1).

Las cajas inoculadas se incubaron a 20 °C durante 3 días. Para su propagación, las cepas fueron inoculadas en caldo de cultivo LB y se colocaron en una incubadora con agitación rotatoria a 250 rpm durante 4 días a 28 °C (Figura 5), para obtener una concentración de 10^9 células/ml (Kimberley *et al.*, 2004).



Figura 5. Activación y propagación de las cepas bacterianas aisladas inoculando en caldo de cultivo LB e incubación con rotación constante para su adecuado crecimiento.

Extracción de ADN e identificación de cepas bacterianas mediante secuenciación del gen 16S.

Se preparó medio líquido LB y se colocó cada una de las bacterias en un matraz diferente. Se incubó a 25 °C toda la noche (Figura 6).

Una vez que se obtuvo el medio con la bacteria se tomó una alícuota y se centrifugó para obtener una pastilla de cada bacteria. Se resuspendió la pastilla formada en 60 μ l de buffer TE, se agregaron 30 μ l de SDS y 3 μ l de proteinasa K a una concentración de 20 mg/ml. Esta preparación se incubó por una hora. Una vez pasado el tiempo se adicionaron 400 μ l de cloroformo/alcohol isoamílico, se mezcló y se centrifugó a 12000 rpm por 5 minutos. Se transfirió el sobrenadante a un tubo nuevo sin tocar la interface. Se adicionaron 400 μ l de fenol/cloroformo/alcohol isoamílico, se mezcló y se centrifugó nuevamente a 12000 rpm durante 5 minutos. Se transfirió nuevamente el sobrenadante a un tubo nuevo sin tocar la interface, se le adicionaron 600 μ l de isopropanol, se mezcló por inversión, se centrifugó a 1000 rpm durante 3 minutos. Se tiró el sobrenadante y se le adicionó a la pastilla 600 μ l de etanol al 70% y se lavó la pastilla. Se colocaron los tubos con la pastilla en toallas absorbentes para secarlas y se diluyeron en 100 μ l de TE (Alejos *et al.*, 2008).



Figura 6. Extracción de ADN de cada una de las cepas bacterianas aisladas. La imagen muestra las bacterias crecidas en medio LB y los reactivos que se utilizaron.

Se realizó una electroforesis para comprobar presencia de ADN. Primeramente, el gel fue colocado en una cámara, el cual, de un extremo se conecta a un electrodo positivo y el otro a un electrodo negativo. El cuerpo de la cámara se llenó con solución amortiguadora con sales para facilitar la conducción de la corriente.

El extremo del gel que tiene los pozos fue colocado hacia el electrodo negativo, de manera que los fragmentos de ADN migraron hacia el electrodo positivo. Se cargaron 10 μ l de las muestras de ADN obtenidas en los pozos del gel

de poliacrilamida y se aplicó una corriente eléctrica para arrastrar los fragmentos de ADN a través del gel de acuerdo a su tamaño (Figura 7). Este procedimiento se hizo por duplicado.

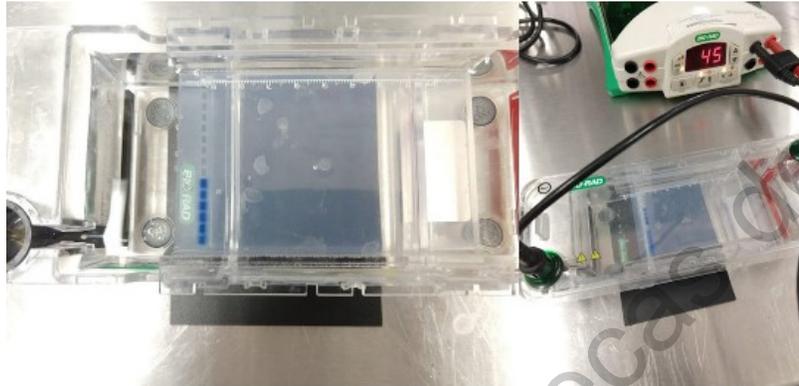


Figura 7. Gel de agarosa, en la imagen se muestran los pozos que contienen el ADN de las bacterias aisladas, se hizo por duplicado.

Las muestras de ADN obtenidas se enviaron al Laboratorio Nacional de Biotecnología Agrícola, Médica y Ambiental del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica (IPICYT) para la secuenciación del gen 16S de cada una de las bacterias seleccionadas.

Las muestras fueron secuenciadas con el método de didesoxinucleótidos marcados en el secuenciador 3130 Genetic Analyzer.

Evaluación de la coexistencia y compatibilidad de cepas bacterianas.

Se realizó el método estándar del ensayo de raya cruzada (Raja *et al.*, 2006). Se preparó agar nutritivo y se esterilizó en autoclave durante 15 minutos a 121 °C. Se colocó el medio de cultivo en placas. Una de las bacterias de prueba se sembró en un extremo como una veta paralela. Se incubaron las placas a 32 °C por 48 horas (Figura 8).

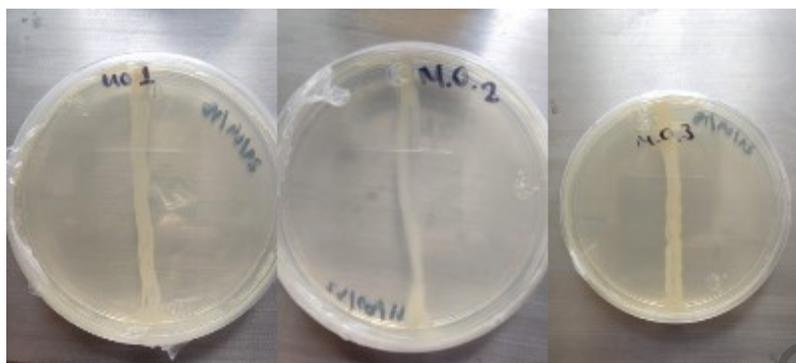


Figura 8. Siembra de la bacteria de prueba, se sembró como una línea en el centro de la caja y se incubó hasta obtener un crecimiento robusto.

Se realizaron observaciones diarias del desarrollo bacteriano sin destapar las cajas. Después de un crecimiento robusto de la bacteria de prueba, los otros cultivos se extendieron verticalmente a la bacteria de prueba y se incubaron las placas a 32 °C durante una semana (Figura 9).



Figura 9. Siembra de las otras dos bacterias extendiéndolas de manera vertical a la bacteria de prueba.

Se realizaron observaciones diarias del crecimiento bacteriano de cada una de las cepas sin destapar las cajas. Se realizaron por triplicado.

Evaluación de la actividad solubilizadora de fosfato.

Para determinar que las bacterias presentan actividad como solubilizadoras de fosfato se preparó medio de cultivo Pikovskaya, el cual se elaboró a partir de 10 g de dextrosa, 5 g de fosfato tricálcico, 0.5 g de extracto de levadura, 0.5 g de sulfato de amonio, 0.2 g de cloruro de potasio, 0.2 g de cloruro de sodio, 0.1 g de sulfato de magnesio, un rastro de sulfato ferroso, un rastro de sulfato de magnesio, 15 g de agar y 1 L de agua destilada. Se ajustó el pH a 7 ± 2 antes de la esterilización. Se

esterilizó el medio de cultivo a 121 °C durante 15 minutos y se vertió en cajas de Petri estériles (Pikovskaya, 1948).

Se sembraron las tres bacterias aisladas por triplicado, se incubaron durante 48 h a 28 ± 2 °C. Una vez pasado este tiempo se observó si mostraban zonas de halo (Figura 10).



Figura 10. Siembra de las bacterias en medio Pikovskaya con la finalidad de comprobar que las bacterias aisladas producen ácidos orgánicos capaces de solubilizar fosfatos.

Se midió el índice de solubilización (Kumar y Narula, 1999) y la eficiencia relativa de solubilización (Vera *et al.*, 2002) con las siguientes fórmulas:

$$\text{Solubilización de fosfato} = \frac{\text{Diámetro de la zona de halo}}{\text{Diámetro de colonia}}$$

Ecuación 5. Cálculo de solubilización de fosfato.

$$\text{Eficiencia Relativa de Solubilización} = \frac{\text{Diámetro promedio de solubilización (mm)}}{\text{Diámetro promedio de la colonia}} \times 100$$

Ecuación 6. Cálculo de eficiencia relativa de solubilización

Además, se aplicó un análisis estadístico de los datos que incluye un análisis de varianza ANOVA con un nivel de confianza del 95.0% para evaluar si existe diferencia significativa en el índice de solubilización de fosfato y eficiencia relativa de solubilización de cada una de las bacterias, así como una prueba TUKEY con un

nivel de confianza de 95.0% para identificar las bacterias que presentan diferencia significativa.

Evaluación de la actividad antipatogénica.

Se llevó a cabo una prueba de antagonismo directo por cultivos duales (Zamora-Natera *et al.*, 2005).

Se preparó medio PDA, se esterilizó y se colocó en cajas Petri estériles. Se pusieron a crecer los hongos fitopatógenos elegidos, *Fusarium oxysporum* y dos aislados de *Sclerotium cepivorum* (Figura 11).

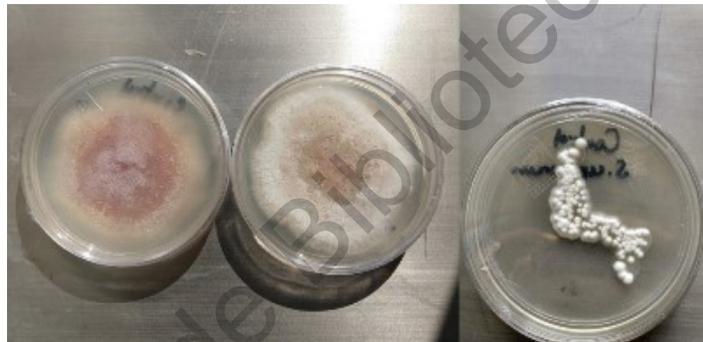


Figura 11. Hongos fitopatógenos utilizados, a la izquierda se muestra *Fusarium oxysporum* y a la derecha *Sclerotium cepivorum*.

Por otro lado, se prepararon inóculos de las tres bacterias aisladas con una concentración aproximada de 10^9 UFC en caldo LB, se incubaron durante 48 horas a 30 °C a rotación constante, 150 rpm.

Se preparó medio de cultivo PDA, se esterilizó y vertió en cajas Petri estériles. Se sembró un disco del hongo patógeno en el centro de la caja. Posteriormente se hicieron dos estrías con 25 μ l del inóculo preparado de la bacteria aislada a 15 mm de cada lado del disco (Figura 12). Los testigos se prepararon sembrando el patógeno únicamente. Las cajas se incubaron por 12 días a temperatura ambiente. Se hicieron por triplicado.

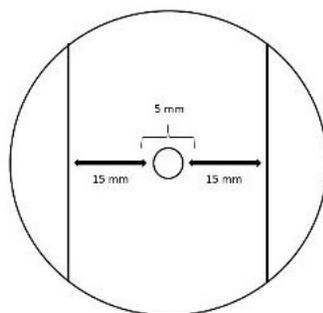


Figura 12. Prueba de antagonismo directo

Finalmente, se tomó la medida del crecimiento micelial de los hongos *Fusarium oxysporum* y *Sclerotium cepivorum* y se calculó el índice de inhibición con la fórmula siguiente:

$$I = \frac{\text{Diámetro del micelio del testigo}}{\text{Diámetro del micelio del tratamiento}} \times 100$$

Ecuación 7. Índice de inhibición de crecimiento.

Una vez que se tuvo el índice de inhibición de crecimiento se hizo una evaluación estadística de los datos mediante un análisis de varianza ANOVA con un nivel de confianza del 95.0% para determinar si hay diferencia significativa entre la inhibición presentada por cada una de la bacterias y una prueba de TUKEY con un nivel de confianza de 95.0% cuando fue necesario determinar cuál de las bacterias era diferente.

Evaluación de actividad sobre germinación de semillas de lechuga y jitomate.

Se obtuvo mediante métodos estadísticos (ecuación 8) el tamaño de muestra para las semillas de lechuga y jitomate con un 95% de confianza.

$$n = \frac{N \times Z_{\alpha}^2 \times p \times q}{d^2 \times (N - 1) + Z_{\alpha}^2 \times p \times q}$$

Ecuación 8. Ecuación para obtener tamaño de muestra con una población finita y se conoce el total de unidades de observación que la integran.

Se hicieron 7 tratamientos y dos controles, tal como se muestra en la tabla 1, todos por triplicado.

Tratamientos	
1	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i>
2	<i>Bacillus pumilus</i>
3	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i> 2
4	<i>S. rhizophila</i> + <i>B. pumilus</i>
5	<i>S. rhizophila</i> + <i>S. rhizophila</i> 2
6	<i>B. pumilus</i> + <i>S. rhizophila</i> 2
7	<i>S. rhizophila</i> + <i>B. pumilus</i> + <i>S. rhizophila</i> 2
Control 1	Agua destilada estéril

Tabla 1. Descripción de tratamientos utilizados en las pruebas de germinación de semillas de lechuga y jitomate.

Primeramente las semillas fueron desinfectadas y seleccionadas (Palacios, 2009).

Las semillas fueron colocadas en un vaso de precipitados. Se desinfectaron con etanol al 70% (v/v) durante 1 minuto, seguido de hipoclorito de sodio al 2.5% (w/v) durante 20 minutos. Se lavaron 3 veces consecutivas con agua destilada estéril descartando las semillas flotantes (Figura 13).



Figura 13. Desinfección de las semillas, se colocaron en vasos de precipitados, primero con alcohol y posteriormente con hipoclorito de sodio.

Por otro lado, se preparó el inoculo bacteriano. Se prepararon los tratamientos a utilizar en medio de cultivo LB. Se incubaron durante 16 horas con el

fin de obtener células bacterianas maduras. Se estandarizó el inóculo a 10^9 UFC/ml realizando la dilución en solución salina.

La inoculación en las semillas se hizo siguiendo la metodología utilizada por Díaz Vargas (2001). En una placa Petri se colocó papel filtro previamente cuadriculado y esterilizado, se humedeció con 5 ml de agua destilada estéril. Posteriormente se colocaron las semillas, de acuerdo al tamaño de muestra obtenida por métodos estadísticos, dejando un espacio suficiente entre las semillas (Figura 14).

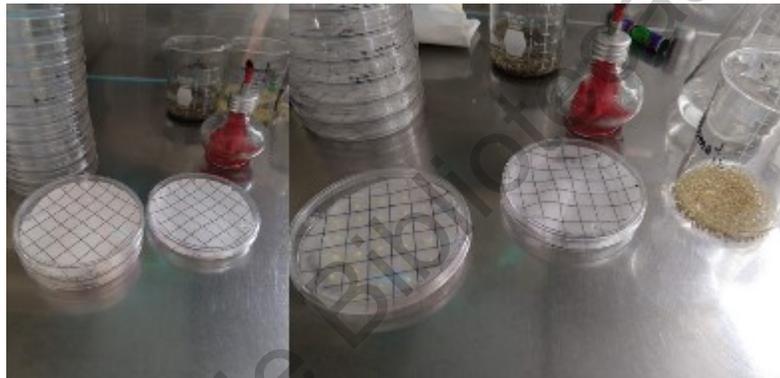


Figura 14. A la izquierda se muestra la preparación de las cajas Petri con el papel destilado estéril cuadriculado y a la derecha la manera en la que se distribuyeron las semillas dentro de las cajas.

Se inoculó 0.1 ml de la suspensión bacteriana por cada semilla con ayuda de una micropipeta (Figura 15).



Figura 15. Se indica la manera en la que se hizo la inoculación de 0.1 ml de la suspensión bacteriana en cada semilla con una micropipeta dentro de la campana de extracción.

Las cajas se sellaron con parafilm y se dejaron a temperatura ambiente (Figura 16). Se dejó un testigo sin inocular. Todo el procedimiento se llevó a cabo en la campana de flujo laminar en condiciones de asepsia.

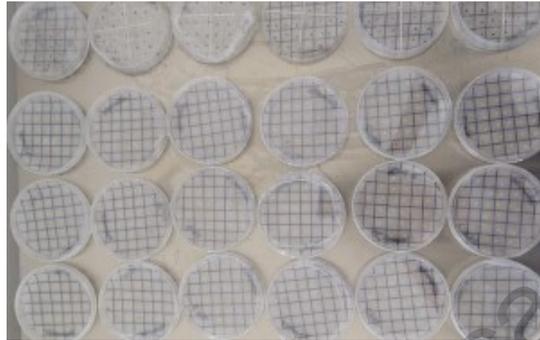


Figura 16. Se muestran las semillas dentro de las cajas Petri, inoculadas con los tratamientos y selladas con parafilm.

Se llevaron a cabo observaciones diarias sin destapar las cajas. Se registró el número de semillas germinadas hasta 20 días después de la siembra. Las pruebas de germinación se realizaron en triplicado.

Finalmente se obtuvieron los siguientes datos:

Tiempo de latencia: número de días hasta la primera germinación de cada placa.

Tasa de germinación:

$$\text{Tasa de germinación} = \frac{\text{Semillas germinadas}}{\text{Total de semillas}} \times 100$$

Ecuación 9. Tasa de germinación al finalizar la prueba.

Para su evaluación estadística se realizó un análisis de varianza ANOVA con un 5% de significancia y una prueba TUKEY con un 5% de significancia para determinar si hay diferencia significativa entre los tratamientos y de ser así encontrar cuál de los tratamientos lo fue.

Comparación del efecto de la inoculación individual y de la mezcla de bacterias en plántulas de chile jalapeño, acelga, lechuga y jitomate.

Se hizo la evaluación de cada una de las bacterias aisladas y sus combinaciones haciendo un total de 7 tratamientos y un control donde se utilizó agua destilada estéril. (Tabla 2).

Se sembraron 30 semillas de chile jalapeño, acelga, lechuga y jitomate en un diseño al azar de 10 semillas con tres réplicas por tratamiento.

Tratamientos	
1	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i>
2	<i>Bacillus pumilus</i>
3	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i> 2
4	<i>S. rhizophila</i> + <i>B. pumilus</i>
5	<i>S. rhizophila</i> + <i>S. rhizophila</i> 2
6	<i>B. pumilus</i> + <i>S. rhizophila</i> 2
7	<i>S. rhizophila</i> + <i>B. pumilus</i> + <i>S. rhizophila</i> 2
Control 1	Agua destilada estéril

Tabla 2. Descripción de tratamientos utilizados para la realización de las pruebas en chile jalapeño, acelga, lechuga y jitomate.

Preparación y estandarización del inóculo.

Para la preparación del inóculo se incubaron las cepas bacterianas en caldo de cultivo LB a una temperatura de 30 ± 1 °C durante 36 horas en agitación rotatoria constante, hasta la fase de crecimiento exponencial media (Yu *et al.*, 2012b).

La estandarización del inóculo se realizó mediante la dilución con agua destilada estéril en un volumen de 100 ml hasta llegar a una concentración cercana a 10^9 UFC/ml.

Posteriormente se realizaron las diluciones correspondientes, se tomó un mililitro de cada una y se sembró en cajas de agar nutritivo, se incubaron durante 24 horas a 37 ± 1 °C. Una vez que hubo crecimiento bacteriano se procedió a contar las colonias presentes y así obtener la cantidad de UFC del inóculo (Camacho, 2009).

Para la inoculación doble se mezclaron volúmenes iguales de dos cultivos bacterianos con una concentración de 10^9 UFC/ml (Madhaiyan *et al.*, 2010).

Preparación del sustrato.

Se utilizó sustrato Peat Moss, se tamizó y esterilizó en autoclave a 121 °C por 30 minutos. Por otro lado, se desinfectaron los semilleros sumergiéndolos en una solución de hipoclorito de sodio a razón de 5 ml/L, con agitación durante 30 s.

En condiciones de asepsia, se llenaron los semilleros con el sustrato estéril haciendo una distribución homogénea y uniforme en toda la bandeja, sin dejar cámaras de aire dentro de las cavidades (Figura 17).

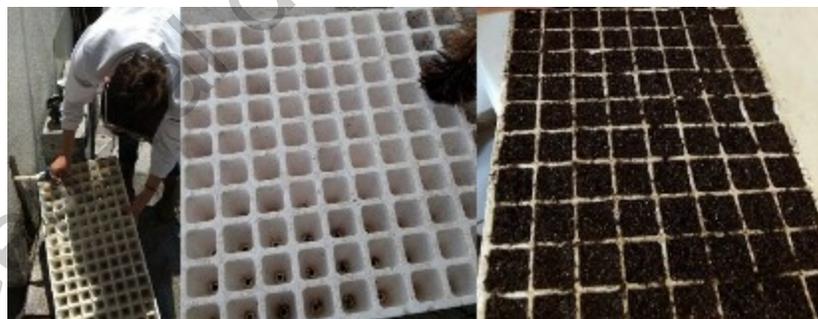


Figura 17. Limpieza de los semilleros, primeramente se eliminaron los rastros de sustrato con agua corriente para luego ponerlos en una solución desinfectante de hipoclorito de sodio. En la derecha se muestra el llenado de los semilleros con el sustrato previamente esterilizado.

Siembra de semillas.

Las semillas fueron colocadas en un vaso de precipitados. Se desinfectaron con etanol al 70% (v/v) durante 1 minuto, seguido de hipoclorito de sodio al 2.5% (w/v) durante 20 minutos. Se lavaron 3 veces consecutivas con agua destilada estéril descartando las semillas flotantes.

Para ubicar las semillas en el semillero se hizo un orificio en el centro del cono de alrededor de 0.5 cm de diámetro y de 2 o 3 mm de profundidad con una leve presión. Se colocó una semilla por sitio y se tapó con una capa fina del sustrato (Figura 18).

Los semilleros fueron cubiertos con bolsas desinfectadas oscuras. Manteniendo un riego diario con agua estéril (FAO).



Figura 18. Procedimiento para la siembra de las semillas

Tratamiento de las plántulas.

El diseño experimental para el tratamiento de los cultivos se hizo de manera aleatoria con tres repeticiones (Awasthi *et al.*, 2011) de acuerdo a lo descrito en la Tabla 2. La inoculación comenzó a partir de la primera semana después de la siembra, y así, cada semana durante 5 semanas.

- Tratamiento 1.

A cada cavidad correspondiente del semillero se agregó 1 ml del inóculo previamente estandarizado que contenía a la bacteria descrita como bacteria 1 (*Stenotrophomonas rhizophila*).

- Tratamiento 2.

A cada cavidad correspondiente del semillero se agregó 1 ml del inóculo previamente estandarizado que contenía a la bacteria descrita como bacteria 2 (*Bacillus pumilus*).

- Tratamiento 3.

A cada cavidad correspondiente del semillero se agregó 1 ml del inóculo previamente estandarizado que contenía a la bacteria descrita como bacteria 3 (*Stenotrophomonas rhizophila* 2).

- Tratamiento 4.

A cada cavidad correspondiente del semillero se agregó 0.5 ml del inóculo previamente estandarizado que contenía a la bacteria 1 (*Stenotrophomonas rhizophila*) y 0.5 ml del inóculo previamente estandarizado que contenía a la bacteria 2 (*Bacillus pumilus*).

- Tratamiento 5.

A cada cavidad correspondiente del semillero se agregó 0.5 ml del inóculo previamente estandarizado que contenía a la bacteria 1 (*Stenotrophomonas rhizophila*) y 0.5 ml del inóculo previamente estandarizado que contenía a la bacteria 3 (*Stenotrophomonas rhizophila* 2).

- Tratamiento 6.

A cada cavidad correspondiente del semillero se agregó 0.5 ml del inóculo previamente estandarizado que contenía a la bacteria 2 (*Bacillus pumilus*) y 0.5 ml del inóculo previamente estandarizado que contenía a la bacteria 3 (*Stenotrophomonas rhizophila* 2)

- Tratamiento 7.

A cada cavidad correspondiente del semillero se agregó 0.33 ml del inóculo previamente estandarizado que contenía a la bacteria 1 (*Stenotrophomonas rhizophila*), 0.33 ml del inóculo previamente estandarizado que contenía a la

bacteria 2 (*Bacillus pumilus*) y 0.33 ml del inóculo previamente estandarizado que contenía a la bacteria 3 (*Stenotrophomonas rhizophila* 2)

- Control sin ningún tratamiento bacteriano.

Se inoculó agua destilada previamente esterilizada en autoclave a 121 °C durante 20 minutos.

El cuidado de los cultivos se realizó conforme a lo establecido por Díaz Vargas (2001). Las plántulas se regaron con agua estéril cada tres días a capacidad de campo con la finalidad de que las plántulas tuvieran la humedad adecuada, durante 5 semanas posteriores a la siembra.



Figura 19. Las plántulas se mantuvieron en condiciones de invernadero con riego cada tres días durante 5 semanas.

El experimento se estableció en invernadero y se realizaron observaciones cada semana durante 5 semanas.

Se realizaron mediciones semanales de altura y grosor de tallo.

En la quinta semana se realizó la medición del área foliar y clorofila.

Evaluación de los tratamientos.

Las plantas de chile jalapeño, acelga, lechuga y jitomate fueron medidas cada semana en altura y grosor de tallo con ayuda de un vernier digital.

El área foliar fue calculada en la quinta semana después de la siembra, para lo cual, se midió la longitud y anchura de cada una de las hojas de las plantas, se

aplicó la ecuación 9 para obtener el área y finalmente se sumó el área de cada hoja para obtener el área foliar total de cada planta (Turner, Acker, Means y Garman, 2000).

$$\text{Área de la hoja} = (\text{Longitud}) (\text{Anchura})(0.8)$$

Ecuación 10. Cálculo del área de una hoja en mm², se emplea para estimar el área foliar de hortalizas.

La clorofila fue medida con el equipo SPAD-502 Plus y se llevó a cabo por triplicado para cada planta.

Al finalizar la experimentación con cepas bacterianas, en cada una de las etapas, éstas fueron desechadas como RPBI de acuerdo a lo descrito por la NOM-087-ECOL-SSA1-2002, la cual indica como debe ser el manejo de residuos biológico-infecciosos, desde su identificación, manejo, almacenamiento y recolección (ver ANEXO 2).

Análisis estadístico.

El experimento se realizó en un diseño completamente al azar. Los datos experimentales fueron analizados estadísticamente por análisis de varianza ANOVA, análisis de múltiples rangos para la determinación de diferencias entre los tratamientos empleados y evaluar su efecto sobre las variables medidas a través del tiempo, dichas pruebas se hicieron con un nivel del 95.0% de confianza (Khadeejath Rajeela *et al.*, 2017).

Regresión lineal para obtener la relación entre la altura y grosor de tallo de cada planta con la finalidad de evaluar el efecto de cada tratamiento sobre la salud general de las plantas y estimar su vigor.

Modelo para predecir la altura de las plantas a un diámetro de tallo conocido de cada tratamiento.

La correlación se hizo con un nivel de confianza del 95.0%.

VI. RESULTADOS Y DISCUSION

Aislamiento de cepas bacterianas.

De una composta ubicada en el Campus Amazcala de la Universidad Autónoma de Querétaro se aislaron tres cepas bacterianas en medio de cultivo sólido agar papa dextrosa, la selección de las cepas se hizo completamente al azar por diferencias en las características físicas de las colonias en el medio sólido, además, se evaluaron las características microscópicas de cada aislado con tinción Gram y vistas en el microscopio, descritas a detalle en la Tabla 3.

Las bacterias seleccionadas presentan diferencias en las características macroscópicas de la colonia en PDA, sin embargo, al microscopio las tres presentan formas bacilares.

Aislado bacteriano	Características macroscópicas de la colonia	Características microscópicas de las bacterias.
Bacteria 1	Colonia mediana, fusiforme, convexa, con borde entero, lisa, cremosa y amarilla. (Figura 20)	Bacilo Gram negativo. (Figura 23)
Bacteria 2	Colonia mediana, circular, convexa, blanquecina, fusiforme con bordes redondeados. (Figura 21)	Bacilo Gram positivo. (Figura 24)
Bacteria 3	Colonia pequeña, puntiforme, convexa, con borde entero, lisa, cremosa y blanquecina. (Figura 22)	Bacilo Gram negativo. (Figura 25)

Tabla 3. Características macroscópicas de las colonias y microscópicas de las bacterias seleccionadas, aisladas de una composta ubicada en el campus Amazcala de la Universidad Autónoma de Querétaro en 2018.

En las compostas se encuentra una gran cantidad de microorganismos que intervienen en el proceso de compostaje y estos varían de acuerdo a la evolución de la temperatura, oxígeno, contenido de agua y pH, siendo las bacterias el grupo más abundante, representando entre el 80 a 90% de los microorganismos presentes (Camacho, Martínez, y Saad, 2014). La bacteria 1 es la única de las cepas que presenta un tono amarilloso (Figura 20), mientras que las otras dos (Figura 21 y Figura 22) son de un tono blanquecino, sin embargo, la forma de la colonia es distinta en tamaño y forma.



Figura 20. Características macroscópicas de la colonia correspondiente a la bacteria identificada como bacteria 1. Se observa una colonia en tono amarillo cremoso.

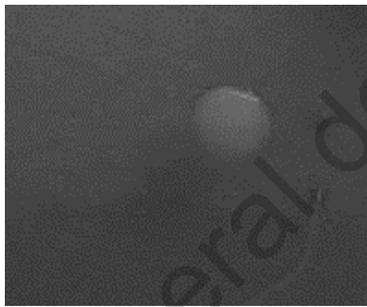


Figura 21. Características macroscópicas de la colonia correspondiente a la bacteria identificada como bacteria 2. Se observa una colonia circular, con bordes irregulares blanquecina.



Figura 22. Características macroscópicas de la colonia correspondiente a la bacteria identificada como bacteria 3. En el centro de la imagen se observa la colonia pequeña, puntiforme, cremosa y blanquecina.

En cuanto a las características micro morfológicas de las bacterias, los tres aislados presentan formas bacilares, en un estudio realizado por Adegunloye, Adetuyi, Akinyosoye y Doyeni (2007), para identificar los microorganismos presentes en una composta, se encontró que las poblaciones bacterianas que se encuentran con mayor frecuencia son *Micrococcus luteus*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus macerans*, *Bacillus spaericus*, *Bacillus laterosporus*, *Pseudomona aeruginosa*, *Enterobacter aerogenes* y *Proteus mirabilis*, siendo los bacilos un grupo abundante.

La bacteria 1 y la bacteria 3 presentaron una tinción rosa (Figura 23 y Figura 25), lo que indica que son Gram negativas, debido a las características que presenta su pared celular y toma el colorante de contraste (Tórtora *et al.*, 2007). Por otro lado la bacteria 2, al observarse en el microscopio presenta un tono color violeta (Figura 24), indicando que es una bacteria Gram positiva.

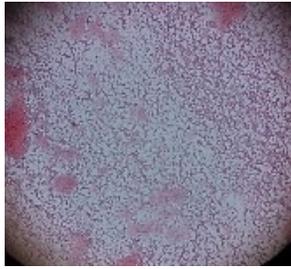


Figura 23. Características microscópicas de la bacteria identificada como bacteria 1. Al microscopio se observan bacilos Gram negativos.

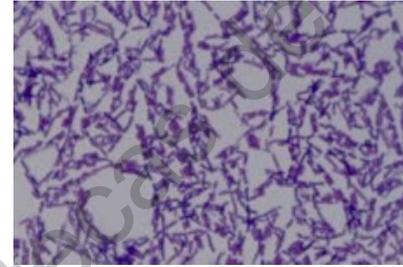


Figura 24. Características microscópicas de la bacteria identificada como bacteria 2. Al microscopio se observan bacilos Gram positivos.

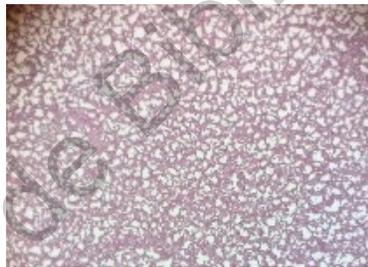


Figura 25. Características microscópicas de la bacteria identificada como bacteria 3. Al microscopio se observan bacilos Gram negativos.

Extracción de ADN e identificación de cepas bacterianas mediante secuenciación del gen 16S.

Se extrajo el ADN presente en cada una de las bacterias aisladas, para su comprobación se llevó a cabo una electroforesis (Figura 26) donde se muestra la presencia de ADN. La bacteria 1 fue depositada en el primero y segundo pozo, la bacteria 2 fue depositada en el tercero y cuarto pozo y la bacteria 3 fue colocada en el quinto y sexto pozo.

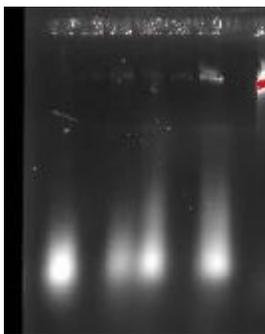


Figura 26. Electroforesis de la extracción de ADN de las bacterias aisladas, el primer y segundo pozo pertenecen a la bacteria 1, el tercer y cuarto pozo pertenecen a la bacteria 2 y el quinto y sexto pozo pertenecen a la bacteria 3. En la imagen se muestra la presencia abundante de ADN en el primero, tercero, cuarto y sexto pozo, por lo que se tiene el ADN suficiente de cada una de las bacterias para realizar su secuenciación.

La electroforesis en gel es utilizada para separar fragmentos de ADN por su tamaño y carga, al aplicar una corriente a través de un gel donde se encuentran contenidas las moléculas de interés, éstas se desplazan por el gel en diferentes direcciones y velocidades (García, 2000). Lo que nos permite observar la cantidad de fragmentos diferentes de ADN presentes en la muestra.

En la figura 26 se muestra la electroforesis obtenida a partir de la extracción de ADN de las tres bacterias aisladas, presentando una cantidad suficiente de ADN para su posterior secuenciación. Los pozos 1, 3, 4 y 6 presentan una banda del mismo tamaño que viajó en la misma dirección a través del gel, comprobando así la presencia de ADN en las muestras extraídas. Sabiendo esto, las muestras fueron enviadas para su secuenciación y posterior identificación.

Las secuencias obtenidas con el método de dideoxinucleótidos marcados en el secuenciador 3130 Genetic Analyzer de cada una de las bacterias fueron:

Bacteria 1.

```
CGGTGCGAGAATCGGATACTGGGCGTAAGCGTGCGTAGGTGGTTGTTTAAGT
CTGTTGTGAAAGCCCTGGGCTCAACCTGGGAATTGCAGTGGATACTGGGCGA
CTAGAGTGTGGTAGAGGGTAGTGGAATCCCGGTGTAGCAGTGAAATGCGTA
GAGATCGGGAGGAACATCCATGGCGAAGGCAGCTACCTGGACCAACACTGA
CACTGAGGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATAACCCTGGTAGTC
CACGCCCTAAACGATGCGAACTGGATGTTGGGTGCAATTTGGCACGCAGTAT
```

CGAAGCTAACGCGTTAAGTTCGCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAA
ACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGTATGTGGTTTAAT
TCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGTCTTGACATGTGAGAACTTTCCAG
AGATGGATTGGTGCCTTCGGGAACTCGAACACAGGTGCTGCATGGCTGTCGT
CAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTG
TCCTTAGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACTCTAAGGAGACCGCCGGTGAC
AAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGACCAG
GGCTACACACGTACTIONACAATGGTAGGGACAGAGGGCTGCAAACCCGCGAGG
GCAAGCCAATCCCAGAAACCCTATCTCAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCG
ACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCAGATCAGCATTGCTGCGGTGA
ATACGTTCCCGGGCCTTGTACAACCCGCCCCCGTCAAAA.

Bacteria 2.

AGGAAAGGATGTCGGATATGGGCGTAAGGGCTCGCAGGCGGTTTCTTAAGTC
TGATGTGAAAGCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAACTGGGAAA
CTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTA
GAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTCTCTGGTCTGTAACCTGAC
GCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTC
CACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTCCGCCCTTAGTGC
TGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAA
ACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAT
TCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAACCCTA
GAGATAGGGCTTTCCCTTCGGGGACAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTGCG
TCAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTT
GATCTTAGTTGCCAGCATTTATTTGGGCACTCTAAGGTGACTGCCGGTGACAA
ACCGGAGGAAGGTGGAGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGG
CTACACACGTGCTACAATGGACAGAACAAAGGGCTGCGAGACCGCAAGGTTT
AGCCAATCCCATAGATCTGTTCTCAGTTCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTG
CGTGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACG
TTCCACGGGCCTTGTACACCCCGCCCCGTCAAAA

Bacteria 3.

CAGATGGCAGCTGACCATCATATGCGATCGTACCGCGACATCCGGTGCCAGT
TTCGGTGTGCAGAGTCGTTACGGCGACAACCTGGGAGCTTCGGCAGATTGCCT
TGCCCCCGCGGCTTTGCAGCCCTCTGTCCCTACCATTGTAGTACGTGTGTAG
CCCTGGTTCGTAAGGGCCATGATGACTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGT
TTGTCACCGGCGGTCTCCTTAGAGTTCCCACCATTACGTGCTGGCAACTAAG
GACAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGC
TGACGACAGCCATGCAGCACCTGTGTTTCGAGTTCCCGAAGGCACCAATCCAT
CTCTGGAAAGTTCTCGACATGTCAAGACCAGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCATC
GAATTAACCACATACTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAG
TTTCAGTCTTGCGACCGTACTCCCCAGGCGGCGAACTTAACGCGTTAGCTTC
GATACTGCGTGCCAAATTGCACCCAACATCCAGTTTCGCATCGTTTAGGGCGT
GGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTCCCCACGCTTTCGTGCCTCAGTG
TCAGTGTTGGTCCAGGTAGCTGCCTTCGCCATGGATGTTCCCTCCCGATCTCTA
CGCATTTCACTGCTACACCGGGAATTCCACTACCCTCTACCACACTCTAGTCG
CCCAGTATCCACTGCAATTCCCAGGTTGAGCCCAGGGCTTTCACAACAGACTT
AAACAACCACCTACGCACGCTTTACGCCAGTAATTCCGAGTAACGCTTGCAC
CCTTCGTATTACCGCGGCTGCTGGCACAGA

De acuerdo a un análisis bioinformático de las secuencias bacterianas se determinó que las bacterias aisladas son *Stenotrophomonas rhizophila* (bacteria 1 y 3) y *Bacillus pumilus* (bacteria 2). No obstante, la bacteria *Stenotrophomonas rhizophila* se consideró como un aislado diferente de la misma cepa bacteriana, con características de colonia distintas y se evaluaron sus propiedades como promotora de crecimiento de manera independiente, por lo cual fueron consideradas tres cepas bacterianas aisladas: *Stenotrophomonas rhizophila*, *Bacillus pumilus* y *Stenotrophomonas rhizophila 2*.

Las secuencias de nucleótidos obtenidas fueron registradas en GenBank con números de acceso:

Stenotrophomonas rhizophila: SUB5832921 Seq1 MN067216

Bacillus pumilus: SUB5832921 Seq2 MN067217

Stenotrophomonas rhizophila 2: SUB5832921 Seq3 MN067218

Evaluación de la coexistencia y compatibilidad de cepas bacterianas.

Los resultados obtenidos en el método estándar del ensayo de raya cruzada sugieren que las cepas bacterianas *Stenotrophomonas rhizophila*, *Bacillus pumilus* y *Stenotrophomonas rhizophila* 2 son capaces de coexistir en un mismo medio, al crecer las tres de manera simultánea, sin inhibir o disminuir su crecimiento, tal como se observa en la figura 27.



Figura 27. A la izquierda se muestra la bacteria *S. rhizophila* como una línea vertical en la caja Petri, mientras que las bacterias *B. pumilus* y *S. rhizophila* 2 se muestran de manera horizontal. En la caja petri del centro se muestra a *B. pumilus* como una línea vertical y los dos aislados de *S. rhizophila* horizontalmente, finalmente en la caja Petri de la derecha se muestra a *S. rhizophila* 2 verticalmente y *B. pumilus* y *S. rhizophila* de manera horizontal. En todos los casos se observa un buen crecimiento bacteriano.

Se empató a la bacteria *S. rhizophila* con las bacterias *B. pumilus* y *S. rhizophila* 2, se muestra un buen crecimiento de las tres bacterias, no hay espacios de inhibición o menor crecimiento en el área donde se encuentran, manteniendo un crecimiento normal. La bacteria *B. pumilus* se empató con las bacterias *S. rhizophila* y *S. rhizophila* 2, se observó un buen crecimiento de las tres bacterias en el punto donde se encuentran, no hay inhibición o disminución del crecimiento.

Finalmente, y de la misma manera, al empatar la bacteria *S. rhizophila* 2 con *B. pumilus* y *S. rhizophila* muestran un buen crecimiento sin inhibición. Lo que sugiere que pueden crecer en las mismas condiciones sin inhibirse o minimizar su

crecimiento, Raja (2006) comprueba la compatibilidad de cepas bacterianas con este método y describe que al no existir una zona de inhibición alrededor de las colonias de cada inoculante estas son compatibles y pueden coexistir en un mismo medio, lo que las convierte en candidatas para formar un consorcio bacteriano.

Evaluación de la actividad solubilizadora de fosfato.

En medio Pikovskaya *Stenotrophomonas rhizophila*, *Bacillus pumilus* y *Stenotrophomonas rhizophila 2* muestran un halo traslúcido desde el segundo día después de su inoculación. Al cabo de 48 horas se midió el diámetro de la colonia bacteriana y el diámetro del halo de solubilización.

Con ayuda de la ecuación 5 se obtuvo el índice de solubilización y con la ecuación 6 la eficiencia relativa de solubilización. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 4.

De acuerdo a Sanclemente y Yacumal (2017), un halo de solubilización mayor a 10 mm indica un alto potencial de capacidad solubilizadora. De acuerdo a las mediciones realizadas las cepas bacterianas aisladas presentan un halo de solubilización de entre 21 y 35 mm, lo que indica que tienen un alto potencial como solubilizadoras de fosfato.

Bacteria	Diámetro de colonia* (mm)	Diámetro de halo de solubilización* (mm)	IS** (mm)	ERS*** (%)
<i>S. rhizophila</i>	3.5 ± 0.5	21.167 ± 1.26	7.05	604.76
<i>Bacillus pumilus</i>	3.167 ± 0.57	34.667 ± 0.58	11.95	1094.74
<i>S. rhizophila 2</i>	4.967 ± 0.25	22.6 ± 0.53	5.55	455.03

Tabla 4. Índice de solubilización de fosfatos y eficiencia relativa de solubilización de *S. rhizophila*, *B. pumilus* y *S. rhizophila 2*. Diámetro de la colonia y diámetro del halo de solubilización ($\bar{x} \pm DE$). *Los valores son el promedio de tres réplicas. ** IS = índice de solubilización. ***ERS= eficiencia relativa de solubilización.

Las tres bacterias presentan la capacidad para solubilizar fosfatos, la importancia de esta actividad radica en que, luego del nitrógeno, el fósforo es un elemento esencial para el desarrollo de las plantas, cuya función principal se da en

el metabolismo celular (Coyne *et al.*, 2000). No obstante, el fósforo soluble es un nutriente que se encuentra limitado en los ecosistemas naturales (Hameeda, Harini, Rupela, Wani y Reddy, 2008). Las plantas, absorben el fósforo en forma inorgánica, sin embargo, cuando este elemento se introduce al suelo como fertilizante más del 90% no es utilizado por las plantas, sino que es almacenado en el suelo (Fernández *et al.*, 2005). El fósforo insoluble puede ser tomado por bacterias solubilizadoras de fósforo, y lo liberan como fosfatos di y monobásicos, que son formas asimilables para las plantas (Díaz Vargas *et al.*, 2001).

La solubilización de fósforo por acción microbiana ocurre principalmente por la producción y excreción de ácidos orgánicos que actúan sobre los compuestos insolubles de fosfato inorgánico, fosfato tricálcico, fosfato dicálcico, hidroxiapatita y roca fosfórica (Halder, 1993).

En el medio de cultivo Pikovskaya se observa la liberación de ácidos orgánicos por parte de las bacterias y se muestra como un halo de solubilización de los compuestos fosfatados presentes en el medio. Siendo *Bacillus pumilus* la que presenta un índice de solubilización mayor en comparación con las cepas de *S. rhizophila*. Se realizó un análisis de varianza ANOVA para comparar la diferencia estadística del índice de solubilización y eficiencia relativa de solubilización para las bacterias aisladas y una prueba TUKEY con un nivel de significancia de $p \leq 0.05$ y con esta comprobar la bacteria que genera un mayor índice de solubilización.

Los resultados obtenidos del análisis de varianza para el índice de solubilización (Tabla 5) muestran que sí existe diferencia significativa entre las bacterias *Stenotrophomonas rhizophila*, *Bacillus pumilus* y *Stenotrophomonas rhizophila* 2. Mientras que la prueba de TUKEY (Tabla 6) indica que la bacteria que tiene un mayor índice de solubilización es *Bacillus pumilus* (11.95 mm), y muestra diferencias significativas en comparación con los aislados de la cepa *Stenotrophomonas rhizophila*, que estadísticamente tienen un índice de solubilización igual.

	SS	Grados de libertad	MS	F	p-valor
Bacteria	71.9035	2	35.9517	18.57	0.003
error	11.6156	6	1.9359		
total	83.519	8			

Tabla 5. Análisis de varianza ANOVA del índice de solubilización de las bacterias *S. rhizophila*, *B. pumilus* y *S. rhizophila 1*. De acuerdo al valor *p* de 0,003 hay una diferencia estadísticamente significativa entre el IS presentado por cada una de ellas. SS=suma de cuadrados. MS=media cuadrada.

Bacteria		Media	q*	α
<i>B. pumilus</i>	A	11.95	4.3341	0.05
<i>S. rhizophila</i>	B	7.05		
<i>S. rhizophila 2</i>	B	5.55		

Tabla 6. Prueba de TUKEY donde se muestra que la bacteria *Bacillus pumilus* (A) es la que muestra diferencia significativa en cuanto al índice de solubilización, siendo mayor que el presentado por los aislados de la cepa *Stenotrophomonas rhizophila* (B).

Por otro lado, el análisis de varianza de la eficiencia relativa de solubilización (Tabla 7) mostró que existe diferencia significativa entre las tres bacterias estudiadas y la prueba de TUKEY (Tabla 8) señala que *B. pumilus* muestra un ERS mayor en comparación con los aislados de *S. rhizophila* con un valor de 1094.74%.

	SS	Grados de libertad	MS	F	p-valor
Bacteria	719064.105	2	359532.052	18.571	0.0027
error	116135.523	6	19355.921		
total	835199.628	8			

Tabla 7. Análisis de varianza ANOVA para la eficiencia relativa de solubilización de las bacterias *S. rhizophila*, *B. pumilus* y *S. rhizophila 2*. De acuerdo al valor *p* de 0,0027 hay una diferencia estadísticamente significativa entre la ERS de cada una de las bacterias. SS=suma de cuadrados. MS=media cuadrada.

Bacteria		Media	q*	α
<i>B. pumilus</i>	A	1094.74	4.3341	0.05
<i>S. rhizophila</i>	B	604.76		
<i>S. rizophila 2</i>	B	455.03		

Tabla 8. Prueba de TUKEY donde se muestra que la bacteria *Bacillus pumilus* (A) es la que muestra diferencia significativa en cuanto a la eficiencia relativa de solubilización, siendo mayor que el presentado por los aislados de la cepa *Stenotrophomonas rhizophila* (B).

Las tres bacterias presentan la capacidad de solubilizar fosfatos, sin embargo, en la naturaleza se encuentran una gran cantidad de microorganismos que lo hacen y se han estudiado con anterioridad. En la tabla 9 se muestran algunos de los microorganismos estudiados que presentan la capacidad de solubilizar fosfatos así como su índice de solubilización y/o su eficiencia relativa de solubilización, la cual, sirve como referencia para comparar la actividad que presentan las bacterias *S. rhizophila*, *B. pumilus* y *S. rhizophila 2* aisladas.

En la tabla se observan microorganismos cuyo índice de solubilización se encuentra entre 0.35 mm y 6.22 mm, mientras que *B. pumilus* presenta un IS de 11.95 mm, siendo 5.73 mm mayor que el de *Pseudomonas aeruginosa* (Verma, Yadav, Tiwari y Jaiswal, 2014), que presenta el IS mayor de los encontrados en literatura. Además, el porcentaje de eficiencia relativa está entre 165% y 340%, siendo el de *Bacillus pumilus* 754.74% más alto que el de *Trichoderma aureoviride*.

Microorganismo	Índice de solubilización (mm)	Eficiencia relativa de solubilización (%)	Referencia
<i>Aspergillus aculeatus</i>	N.R.	250	Vera et al., 2002
<i>Aspergillus aculeatus</i>	N.R.	250	Vera et al., 2002

<i>Azotobacter chroococcum</i>	2.1	N.R.	Kumar y Nerula, 1999
<i>Azotobacter chroococcum</i>	1.54	N.R.	Verma <i>et al.</i> , 2014
<i>Bacillus aryabhatai</i>	3.62	262.3	Mumtaz <i>et al.</i> , 2017
<i>Bacillus aryabhatai</i>	3.13	239.3	Mumtaz <i>et al.</i> , 2017
<i>Bacillus cereus</i>	3.3	N.R.	Hussain <i>et al.</i> , 2016
<i>Bacillus licheniformis</i>	N.R.	222	Kumar <i>et al.</i> , 2018
<i>Bacillus polymixa</i>	2.3	N.R.	Kumar y Nerula, 1999
<i>Bacillus pumilus</i>	N.R.	175	Pandey y Negi, 2018
<i>Bacillus</i> sp	3	N.R.	Tripti <i>et al.</i> , 2012
<i>Bacillus</i> sp	3.55	255.0	Mumtaz <i>et al.</i> , 2017
<i>Bacillus subtilis</i>	4.03	303.3	Mumtaz <i>et al.</i> , 2017
<i>Bacillus subtilis</i>	N.R.	165	Pandey y Negi, 2018
<i>Bacillus thuringiensis</i>	1.56	N.R.	Armada <i>et al.</i> , 2016
<i>Burkholderia</i> sp.	3.5	N.R.	Hussain <i>et al.</i> , 2016
<i>Clostridium</i>	1.94	N.R.	Álvarez y García, 2012

<i>Mesorhizobium</i> sp	1.85	N.R.	Verma <i>et al.</i> , 2014
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	N.R.	305	Hernández-Leal, 2011
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6.22	N.R.	Verma <i>et al.</i> , 2014
<i>Pseudomonas</i> sp	3.1	N.R.	Tripti <i>et al.</i> , 2012
<i>Pseudomonas</i> sp.	3.05	N.R.	Álvarez y García, 2012
<i>Pseudomonas</i> sp.	4.1	N.R.	Afzal, 2014
<i>Rhizobium leguminosarum</i>	2.5	N.R.	Afzal, 2014
<i>Serratia marcescens</i>	3.1	N.R.	Hussain <i>et al.</i> , 2016
<i>Tibouchina multiflora</i> (AMF)	4.33	N.R.	Matias <i>et al.</i> , 2009
<i>Trichoderma aureoviride</i>	N.R.	340	Vera <i>et al.</i> , 2002
<i>Trichoderma harzianum</i>	0.35	N.R.	Verma <i>et al.</i> , 2014

Tabla 9. Índice de solubilización y eficiencia relativa de solubilización de microorganismos que han presentado actividad solubilizadora de fosfato reportados en bibliografía. N.R. = no reportado.

Con estos resultados obtenidos, índice de solubilización y eficiencia relativa de solubilización, se puede comprobar que las bacterias aisladas presentan cualidades prometedoras para ser utilizadas como promotoras de crecimiento

vegetal proveyendo de fósforo a las plantas sin utilizar fertilizantes químicos elaborados a base de fosfatos.

Evaluación de la actividad antipatogénica.

Con la prueba de antagonismo directo se evaluó la capacidad de las bacterias *S. rhizophila*, *B. pumilus* y *S. rhizophila* 2 de inhibir o minimizar el crecimiento de los hongos fitopatógenos *Sclerotium cepivorum* y *Fusarium oxysporum*.

S. cepivorum es el hongo causante de la pudrición blanca en cebollas y en ajos (Berk, 1960), el primer síntoma se presenta como un amarillamiento general, posteriormente hay muerte descendente de las hojas externas y retardo del crecimiento. En las raíces crece abundantemente el micelio del hongo, el cual, es de un color blanquecino y lanoso. Finalmente, hay un colapso de las hojas y una pudrición basal seca o semiacuosa (Granados, 2005).

Para combatir esta infección se utiliza cloruro de mercurio, dicloran, pentacloronitrobenzeno, bencimidazoles y dicarboximidias (Coley-Smith, 1990). Además, se han buscado otras alternativas como, la rotación de cultivos, inundación (Leggett y Rahe, 1985), altas temperaturas con baja humedad (Adams, 1987) y el combate biológico, mediante el uso de diferentes microorganismos como *Teratosperma oligocladum* (Ayers y Adams, 1981), *Trichoderma* y *Penicillium italicum* (Mesén, 1997), *Gliocladium catenulatum* (Tsigbey y Nutsugah, 1999) y *Paecilomyces* sp (Granados, 2012).

Por otro lado, *F. oxysporum* es un hongo saprófito que crece y sobrevive en la materia orgánica del suelo y en la rizósfera de muchas especies de plantas. Algunas cepas son patógenas, penetran en la raíz de las plantas e invaden el sistema vascular, causando enfermedades. El hongo muestra un alto nivel de especificidad de hospedaje e induce el marchitamiento, lo que causa daños muy severos a especies de plantas económicamente importantes.

El manejo del marchitamiento por *Fusarium* es realizado principalmente con fumigación química del suelo, con bromuro de metilo, sin embargo, este químico es muy perjudicial para el medio ambiente. Así mismo, se utilizan diferentes tipos de cultivares resistentes a *F. oxysporum*, sin embargo, la disponibilidad no es muy amplia y los patógenos han superado la resistencia del huésped (Fravel *et al.*, 2003), es por esto que la investigación se ha enfocado en la búsqueda de un control biológico capaz de erradicar a este hongo, siendo algunos de ellos *Pseudomonas* (Van Peer *et al.*, 1991), *Glomus intraradices* (Akköprü *et al.*, 2005) y *Pseudomonas putida* (Bora *et al.*, 2004).

El porcentaje de inhibición se obtuvo con la ecuación 7, tomando medidas del diámetro del micelio del hongo fitopatógeno del testigo sin ningún tratamiento y el diámetro del micelio del hongo fitopatógeno del tratamiento. Los resultados obtenidos de la inhibición de *F. oxysporum* se muestran en la tabla 10, mientras que los resultados para la inhibición de *S. cepivorum* se encuentran en la tabla 11. Se realizó, también, un análisis de varianza, ANOVA, para comprobar diferencias estadísticas significativas para el porcentaje de inhibición de cada bacteria.

Bacteria	D. micelio <i>F. oxysporum</i> testigo (cm)*	D. micelio <i>F. oxysporum</i> (cm)*	% inhibición
<i>S. rhizophila</i>		5.8 ± 0.17	20.18 ^a
<i>B. pumilus</i>	7.267 ± 0.45	5.134 ± 1.03	29.36 ^a
<i>S. rhizophila 2</i>		5.367 ± 0.61	26.15 ^a

Tabla 10. Resultados de la prueba de antagonismo directo de las bacterias *S. rhizophila*, *B. pumilus* y *S. rhizophila 2* contra *F. oxysporum*. Se presenta el diámetro del micelio testigo sin tratamiento y el diámetro del micelio obtenido para cada una de las bacterias aisladas ($\bar{x} \pm DE$), además se muestra el % de inhibición que genera cada bacteria contra *F. oxysporum*. *Los valores son el promedio de tres réplicas. ^a= análisis de varianza (ANOVA) indica que no hay diferencia estadística significativa entre los tratamientos.

De acuerdo a los datos de la tabla 10, la bacteria que presentó el mayor porcentaje de inhibición fue *B. pumilus* con un 29.36%, sin embargo, al haber crecimiento del hongo fitopatógeno significa que solamente minimiza su crecimiento. De acuerdo a los resultados obtenidos con el análisis de varianza

ANOVA no se encontraron diferencias estadísticas significativas entre las bacterias. De acuerdo a estudios previos cepas de *Bacillus* inhiben el crecimiento de diferentes especies de *Fusarium*, entre 55% y 65% (Majaw, Khonglah, Kayang y Rao *et al.*, 2016; Muhammad *et al.*, 2016). Un ejemplo de esto es la cepa *B. subtilis*, que es capaz de inhibir en un 71.7% al hongo *Fusarium equiseti* (Mejía-Bautista *et al.*, 2016). Por su parte, Heidarzadhe y Baghaee-Ravari (2015) demostraron que *Bacillus pumilus* minimiza en un 73% la incidencia de la enfermedad causada por *F. oxysporum* in vivo, en este estudio se utilizaron las mismas cepas microbianas, sin embargo, el ambiente en que se realizó no fue el mismo, por lo que hay diferencias entre los resultados obtenidos. Así mismo, en pruebas in vitro realizadas por Rodríguez *et al.* (2017), una cepa de *Bacillus pumilus* inhibe en un 63.87% a *F. oxysporum* f. sp. *cubense*. Estos estudios sugieren que la cepa *B. pumilus* puede ser utilizada para inhibir el crecimiento de diferentes especies de *Fusarium*, incluido *F. oxysporum*, tal como se encontró en las pruebas realizadas, sin embargo, esta actividad depende de las cepas microbianas y, al hacerlas in vivo, también depende del ambiente donde se evalúan.

Por otro lado, Hernández *et al.* (2018), mediante pruebas in vitro, comprueban que dos aislados distintos de la cepa *Stenotrophomonas rhizophila* inhibe en un 91.1% y 90.9% el crecimiento radical de una cepa de *F. oxysporum*, sin embargo, las cepas utilizadas por Hernández son marinas, a ello puede deberse la diferencia en el porcentaje de inhibición, además, las sustancias que liberan pueden ser distintas y afectar el efecto antagonista, sin embargo, las cepas de *S. rhizophila* inhiben en cierta medida al hongo.

De acuerdo a los resultados obtenidos, las tres cepas pueden ser utilizadas para inhibir parcialmente el crecimiento de *F. oxysporum* (Figura 28), no obstante, si se requiere inhibir el crecimiento del hongo en su totalidad es necesario utilizar un tratamiento alternativo.

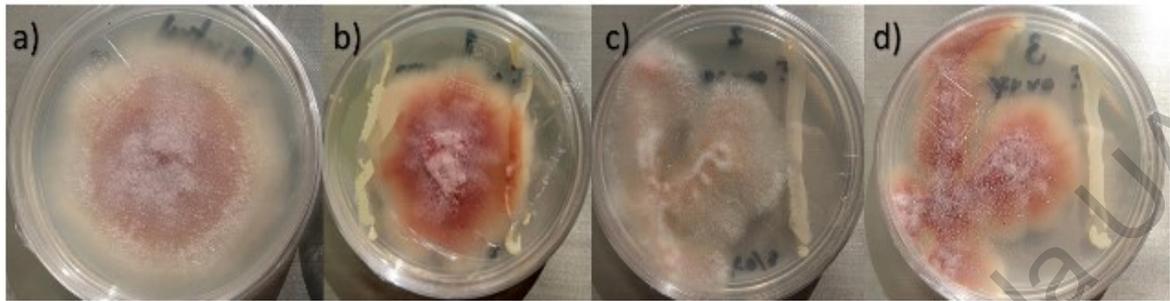


Figura 28. Pruebas de antagonismo directo contra *F. oxysporum*. a) Testigo, el hongo creció sin agregar ningún tratamiento. b) Crecimiento del hongo en competencia con *S. rhizophila*. c) Crecimiento del hongo en competencia con *B. pumilus*. d) Crecimiento del hongo en competencia con *S. rhizophila 2*.

En la tabla 11, se muestra que el hongo *S. cepivorum* presenta un aumento en su crecimiento en presencia de las bacterias *B. pumilus* y *S. rhizophila 2* lo que indica que cuando se encuentran en el mismo medio dichas bacterias promueven el crecimiento del hongo. De acuerdo al análisis de varianza hay diferencia estadística significativa entre los tratamientos, y con la prueba de TUKEY se encontró que la bacteria *S. rhizophila* es el tratamiento diferente con un porcentaje de inhibición del 44.45%, por lo que, esta bacteria minimiza el crecimiento del hongo fitopatógeno, pero no lo elimina por completo.

Bacteria	D. micelio <i>S. cepivorum</i> testigo (cm)*	D. micelio <i>S. cepivorum</i> (cm)*	% inhibición
<i>S. rhizophila</i>		1.667 ± 0.28	44.45 ^a
<i>B. pumilus</i>	3 ± 0.5	3.067 ± 1.21	-2.23 ^b
<i>S. rhizophila 2</i>		3.5 ± 1.32	-16.67 ^b

Tabla 11. Resultados de la prueba de antagonismo directo de las bacterias *S. rhizophila*, *B. pumilus* y *S. rhizophila 2* contra *S. cepivorum*. Se presenta el diámetro del micelio testigo sin tratamiento y el diámetro del micelio obtenido para cada una de las bacterias aisladas ($\bar{x} \pm DE$), además, se muestra el porcentaje de inhibición que genera cada bacteria contra *S. cepivorum*. *Los valores son el promedio de tres réplicas. ^a= análisis de varianza ANOVA y prueba TUKEY indican diferencia estadística significativa entre los tratamientos y cuáles son diferentes entre sí.

De acuerdo a la bibliografía consultada no se ha evaluado con anterioridad el antagonismo entre estos microorganismos, sin embargo, en pruebas in vivo, se encontró que el hongo *Trichoderma* es una alternativa viable para el control del hongo *S. cepivorum* ya que se obtiene una eficacia similar a los controles químicos (Rivera-Mendez *et al.*, 2016). Por otro lado el hongo *Gliocladium* sp es capaz de

inhibirlo en casi un 50% (Castillo, Rojas y Villalta, 2016), la bacteria *S. rhizophila* presenta resultados similares por lo cual, se considera una alternativa viable para combatir la enfermedad causada por *S. cepivorum*. Además, no se recomienda utilizar la cepa *B. pumilus* y *S. rhizophila 2* para combatir dicho hongo ya que estas cepas bacterianas promueven su crecimiento (Figura 29).



Figura 29. Pruebas de antagonismo directo contra *S. cepivorum*. a) Testigo, el hongo creció sin agregar ningún tratamiento. b) Crecimiento del hongo en competencia con *S. rhizophila*. c) Crecimiento del hongo en competencia con *B. pumilus*. d) Crecimiento del hongo en competencia con *S. rhizophila 2*.

Evaluación de la actividad sobre la germinación de semillas de lechuga y jitomate.

La germinación es el proceso mediante el cual un embrión se desarrolla para convertirse en una planta, la importancia de este proceso es vital, ya que sin germinación no hay planta y sin planta no hay cosecha (Samperio, 2005). Sin embargo, existen ciertas limitantes para obtener un potencial completo en el rendimiento de las plantas y hortalizas, tales como, la pérdida de la viabilidad de la semilla, la latencia de la semilla y los factores ambientales inadecuadas para la germinación (FAO, 2016).

Para aumentar la tasa de germinación en las semillas se han utilizado diferentes métodos, tales como, tratamientos pre-germinativos de hidratación parcial de las semillas en soluciones osmóticas o tratamientos de quimio- acondicionamiento con aditivos bioactivos, que tienen como finalidad revigorar semillas envejecidas, acelerar y uniformar la germinación o robustecer semillas para incrementar la resistencia de las plantas a las tensiones ambientales (Padrón y Torres, 2010).

Lechuga

Se ha evaluado mediante diferentes tratamientos la tasa de germinación de semillas de lechuga con la finalidad de aumentarla y obtener una mayor productividad agrícola. En la Tabla 12 se muestran los datos utilizados para obtener el tamaño de muestra para las semillas de lechuga.

Lechuga	
N	2000
Z	1,96
p	97%
q	3%
d	5%
Tamaño de muestra (n)	43.75

Tabla 12. Datos empleados para obtener el tamaño de muestra de semillas de lechuga para pruebas de germinación obteniéndose un total de 44 semillas.

En esta prueba se emplearon 44 semillas comerciales para cada réplica, las cuales, indican un porcentaje de germinación del 88%, y de acuerdo a un estudio elaborado por Nascimento *et al.* (2012) el porcentaje de germinación de las semillas de lechuga comerciales bajo condiciones de control in vitro es de 80%, sin embargo, de acuerdo a los resultados obtenidos en la prueba de germinación (Tabla 2), en el control, donde solo se utilizó agua destilada estéril, la tasa de germinación fue del 69%. De la prueba de germinación se obtuvieron los resultados presentados en la tabla 13 en cuanto a tasa de germinación y tiempo de latencia.

Tratamiento	Tasa de germinación (%) [*]	Tiempo de latencia [*]
Tratamiento 1	80.62 ± 5.85 ^d	2
Tratamiento 2	62.02 ± 4.84 ^{ab}	2
Tratamiento 3	72.09 ± 8.38 ^{cd}	2
Tratamiento 4	60.47 ± 4.65 ^a	2
Tratamiento 5	72.09 ± 2.33 ^{cd}	2
Tratamiento 6	76.74 ± 6.15 ^{cd}	2
Tratamiento 7	93.02 ± 2.33 ^e	2
Control	68.99 ± 13.63 ^{bc}	3

*Tabla 13. Tasa de germinación y tiempo de latencia de semillas de lechuga con los diferentes tratamientos, siendo el tratamiento 1: S. rhizophila, tratamiento 2: B. pumilus, tratamiento 3: S. rhizophila 2, tratamiento 4: S. rhizophila + B. pumilus, tratamiento 5: S. rhizophila + S. rhizophila 2, tratamiento 6: B. pumilus + S. rhizophila 2, tratamiento 7: S. rhizophila + B. pumilus + S. rhizophila 2. *Los valores mostrados son el promedio de tres réplicas. ^a : análisis de varianza ANOVA y prueba TUKEY indican diferencia estadística significativa entre los tratamientos y cuáles son diferentes entre sí.*

Para evaluar estadísticamente los resultados se realizó un análisis de varianza ANOVA con un 5% de significancia, el cual, muestra que existe una diferencia estadística significativa en la tasa de germinación y mediante la prueba TUKEY es posible comprobar que el tratamiento 7 presenta la mayor tasa de germinación y es diferente al resto de los tratamientos utilizados, además, el tratamiento que presentó la menor tasa de germinación fue el tratamiento 4, un consorcio entre *B. pumilus* y *S. rhizophila*, por lo cual no se recomienda utilizar este consorcio para promover la tasa de germinación de la lechuga.

Además, los resultados se presentan de manera gráfica (Figura 30), para observar las diferencias significativas de cada tratamiento. Se observa que el tratamiento que tuvo una mayor tasa de germinación fue el tratamiento 7, mostrando una pequeña desviación entre sus datos, siendo este el mejor tratamiento para aumentar la tasa de germinación de semillas de lechuga. Este resultado puede ser debido a la liberación de hormonas por parte de las tres cepas bacterianas, tales como giberelinas y auxinas, que promueven la germinación de las semillas.

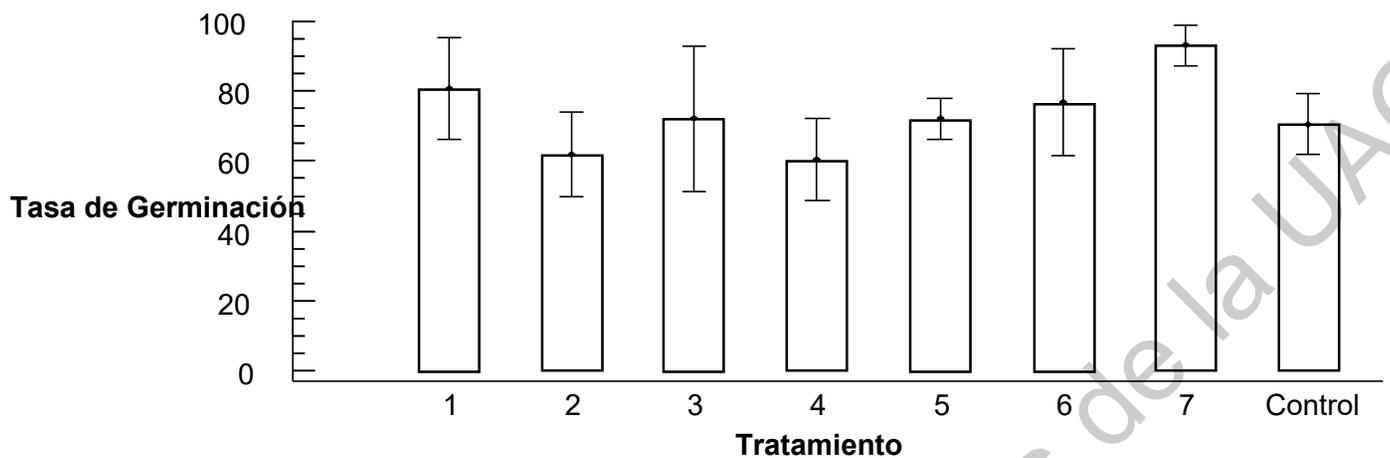


Figura 30. Tasa de germinación de semillas de lechuga, se observa que el tratamiento que tuvo una mayor tasa de germinación fue el tratamiento 7, mientras que el tratamiento 4 disminuyó la tasa de germinación. Siendo Tratamiento 1: *S. rhizophila*. Tratamiento 2: *B. pumilus*. Tratamiento 3: *S. rhizophila* 2. Tratamiento 4: *S. rhizophila* + *B. pumilus*. Tratamiento 5: *S. rhizophila* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 6: *B. pumilus* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 7: *S. rhizophila* + *Bacillus pumilus* + *S. rhizophila* 2.

De acuerdo a los datos, el consorcio de las tres bacterias aisladas aumenta en un 24.03% la germinación de semillas de lechuga (Figura 31), sin embargo, Díaz Vargas *et al.* (2001) encontraron que la inoculación con un aislado de *Hafnia alvei* puede aumentar en un 57.4% la tasa de germinación con respecto a un testigo sin inocular, no obstante, dicha cepa presenta un 73.3% de germinación, siendo este valor mucho menor que el obtenido con el consorcio bacteriano entre *B. pumilus* y las dos cepas de *S. rhizophila*. Por otro lado, Castro (2013), evaluó la tasa de germinación de semillas de lechuga al aplicar diferentes aislados de *Rhizobium* y encontró que uno de los aislados presentó un 86.66%, siendo mayor el presentado en esta evaluación. A pesar de ello, una cepa de *Azotobacter chroococcum* presentó una tasa de germinación del 100% (Ato, 2015), situación que no se logró con ninguno de los tratamientos empleados, siendo la tasa de germinación mayor de 93.02%.

Malkoclu *et al.* (2017), por su parte, evaluaron el efecto de la inoculación de *B. subtilis* y un consorcio *B. subtilis* y *Pseudomonas fluorescens*, tratamientos que tuvieron una tasa de germinación del 92% y 89.3% respectivamente. Mientras que en otro estudio se encontró que *P. fluorescens* de manera individual presenta un 86.3% de germinación (Aponte *et al.*, 2017).

El estado de latencia es definido como la incapacidad de una semilla intacta y viable de germinar bajo condiciones de temperatura, humedad y concentración de gases adecuados para la germinación, por lo que, el tiempo de latencia es el tiempo que requiere una semilla para brotar la radícula. En los resultados de las pruebas de germinación (Tabla 13) se observa que todos los tratamientos evaluados presentan un tiempo de latencia de 2 días, mientras que el control es de 3, lo cual, indica que la inoculación con las bacterias *S. rhizophila* y *B. pumilus* acelera en un día el tiempo de germinación, la bacteria *S. rhizophila* tiene la capacidad de liberar auxinas, lo cual, permite que haya un crecimiento acelerado de la radícula (Heredia-Acuña et al., 2018).

Existen reportadas diversas cepas bacterianas que promueven la germinación de semillas de lechuga, sin embargo, la única que tiene una tasa de germinación mayor a la obtenida con el consorcio bacteriano entre *B. pumilus* y las cepas de *S. rhizophila* es *Azotobacter chroococcum*, razón por la cual, puede atribuirse una promoción del porcentaje de germinación al consorcio bacteriano propuesto, debido a la sinergia que hay entre las bacterias que lo componen y la lechuga.



Figura 31. Se muestra en la imagen la germinación al día 20 presentada por el tratamiento 7 (izquierda) y el control (derecha). Se observa con claridad el efecto de la inoculación con el consorcio bacteriano.

Jitomate.

El jitomate es una planta de gran importancia económica y alimentaria en México, siendo México el principal proveedor mundial de jitomate con una participación en el mercado internacional del 25.11% del valor de las exportaciones mundiales. Es por esta razón, que asegurar la germinación de sus semillas es una parte importante para mantener una producción suficiente.

Se obtuvo estadísticamente el tamaño de muestra de semillas de jitomate de acuerdo a los datos presentados en la tabla 14.

Jitomate	
N	610
Z	1,96
p	97%
q	3%
d	5%
Tamaño de muestra (n)	41.72

Tabla 14. Datos empleados para obtener el tamaño de muestra de semillas de jitomate para pruebas de germinación obteniéndose un total de 42 semillas.

Se utilizaron 42 semillas comerciales de jitomate, las cuales, reportan un porcentaje de germinación del 92%.

En la prueba de germinación que se realizó se encontró que la inoculación de semillas de jitomate con bacterias como *B. pumillus*, *S. rhizophila* y *S. rhizophila* 2 aumenta la tasa de germinación, tal como se muestra en los resultados presentados en la tabla 15.

En la tabla se observa que, mediante el análisis de varianza ANOVA con un 5% de significancia, existe una diferencia estadística significativa entre los tratamientos utilizados, siendo el tratamiento 1 y 7 los que presentan una mayor tasa de germinación, mientras que el tratamiento 4 es el más bajo, incluso más bajo que el control.

Tratamiento	Tasa de germinación (%) [*]	Tiempo de latencia [*]
Tratamiento 1	96.29 ± 3.7 ^d	2
Tratamiento 2	87.65 ± 2.14 ^c	2
Tratamiento 3	82.72 ± 2.14 ^{bc}	2
Tratamiento 4	65.43 ± 5.66 ^a	2
Tratamiento 5	81.48 ± 3.7 ^{bc}	2
Tratamiento 6	85.18 ± 3.7 ^c	2
Tratamiento 7	96.29 ± 3.7 ^d	2
Control	90.12 ± 2.14 ^b	2

Tabla 15. Tasa de germinación y tiempo de latencia de semillas de lechuga con los diferentes tratamientos, siendo el tratamiento 1: *S. rhizophila*, tratamiento 2: *B. pumilus*, tratamiento 3: *S. rhizophila* 2, tratamiento 4: *S. rhizophila* + *B. pumilus*, tratamiento 5: *S. rhizophila* + *S. rhizophila* 2, tratamiento 6: *B. pumilus* + *S. rhizophila* 2, tratamiento 7: *S. rhizophila* + *B. pumilus* + *S. rhizophila* 2. *Los valores mostrados son el promedio de tres réplicas. ^a: análisis de varianza ANOVA y prueba TUKEY indican diferencia estadística significativa entre los tratamientos y cuáles son diferentes entre sí.

El tratamiento 1, que es la bacteria *S. rhizophila*, aumenta la tasa de germinación en un 6.29%, al igual que el tratamiento 7, conformado por el consorcio de las tres bacterias *S. rhizophila*, *B. pumilus* y *S. rhizophila*. Es importante mencionar que los tratamientos 2, 3, 4, 5 y 6 minimizan en cierto porcentaje la tasa de germinación comparando con el control sin inocular (Figura 32).

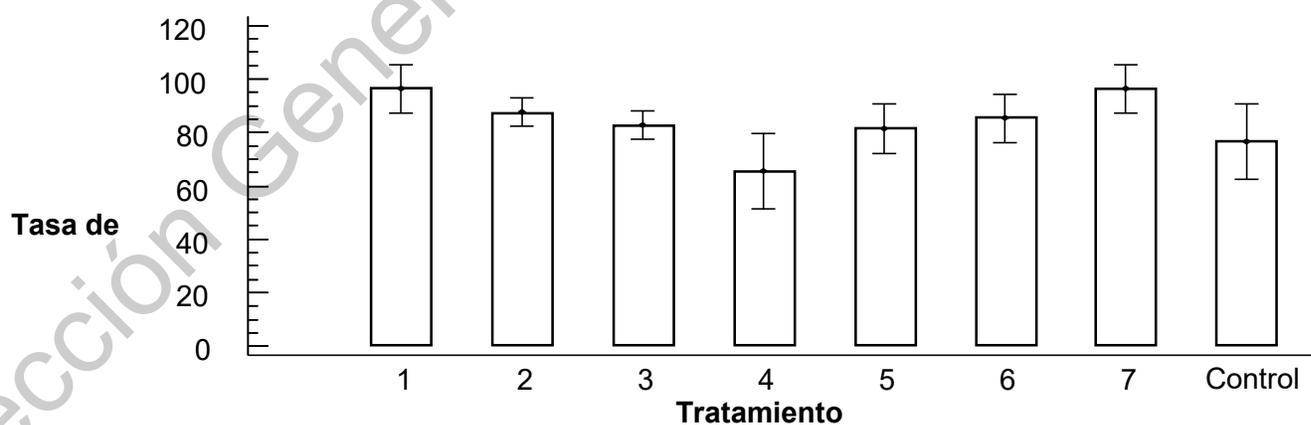


Figura 32. Gráfica que muestra la tasa de germinación de cada uno de los tratamientos evaluados. Tratamiento 1: *S. rhizophila*. Tratamiento 2: *B. pumilus*. Tratamiento 3: *S. rhizophila* 2. Tratamiento 4: *S. rhizophila* + *B. pumilus*. Tratamiento 5: *S. rhizophila* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 6: *B. pumilus* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 7: *S. rhizophila* + *Bacillus pumilus* + *S. rhizophila* 2. Se observa que los tratamientos 1 y 7 son los que presentan un mayor porcentaje de germinación, mientras que el resto de los tratamientos la disminuyen en comparación con el control sin inocular.

En la bibliografía consultada se encontró que hay diversas investigaciones donde se realiza la inoculación de bacterias a semillas de jitomate, con la finalidad de aumentar su tasa de germinación. Siqueira *et al.* (1993) evaluaron un consorcio de microorganismos efectivos y obtuvieron un 66% de germinación mientras que el control sin inocular fue del 6%, con lo cual, lograron aumentar en un 60% la tasa de germinación. Por otro lado, la inoculación de semillas con un inóculo de *Rhodopseudomonas* tiene una germinación del 96.8%, aumentando la tasa de germinación en un 23.4% con respecto a su control (Koh y Song, 2007), este valor de germinación es 0.5% mayor que el presentado por los tratamientos 1 y 7 que fueron los más altos obtenidos en estas pruebas. Mahato, Badoni y Chauhan (2009) obtuvieron un 90% de germinación con un inóculo de *Azotobacter* mientras que su control fue de 60%, este valor lo que indica que el uso de la bacteria *S. rhizophila* de manera individual y un consorcio de dos aislados de *S. rhizophila* y *B. pumilus* son más efectivos para aumentar la tasa de germinación que la inoculación de *Azotobacter*.

El género *Bacillus* es muy utilizado para aumentar la tasa de germinación en diferentes tipos de semillas, tal es el caso de *B. megaterium*, que presenta una tasa de germinación de semillas de jitomate del 97.27%, 6.1% más alta que su control (Luna Martínez *et al.*, 2013), *B. subtilis* de 82.83%, la cual, con un efecto contrario, disminuye la tasa de germinación en un 0.93% comparado con el control (Xu *et al.*, 2014) y *B. circulans*, que presenta una germinación del 80.33%, 14.56% mayor que el control (Mehta, Walia, Kulshrestha, Chauhan y Shirkot, 2015). En el caso de esta evaluación, la cepa de *B. pumilus* presenta una germinación del 87.65% siendo mayor que la presentada por *B. subtilis* y *B. circulans*, sin embargo, al igual que *B. subtilis* disminuye la tasa de germinación con respecto al control. La cepa de *B. megaterium* es la que presenta un mayor porcentaje de germinación entre las cepas evaluadas y revisadas en bibliografía. Finalmente, las cepas de *Pseudomonas* y *P. putida* tienen altos índices de germinación, 91.67% (Widnyana y Javandira, 2016) y 95.9% (Conde, Ocampo, Castañeda, Hernández y Aguilar, 2018) respectivamente.

Con estos resultados se puede observar que los tratamientos 1 y 7 evaluados en este trabajo tienen la propiedad de promover la tasa de germinación de las semillas de jitomate, por la liberación de hormonas giberelinas y auxinas, lo cual, probablemente se incrementa por la sinergia bacteriana.

Por otro lado, el tiempo de latencia no fue afectado por ninguno de los tratamientos, siendo de dos días para todos los tratamientos y el control.

Con base en los resultados obtenidos en estas pruebas, puede decirse que el consorcio bacteriano formado entre los dos aislados de *Stenotrophomonas rhizophila* y *Bacillus pumilus* promueve la tasa de germinación de las semillas de lechuga y jitomate, comprobando que hay sinergia entre las actividades que realiza cada una de ellas. Además, el consorcio resulto ser recomendable para aumentar la germinación en semillas comparado con el control.

Comparación del efecto de la inoculación individual y de la mezcla de bacterias en plántulas de chile jalapeño, acelga, lechuga y jitomate y evaluación de los tratamientos.

Chile jalapeño

Las respuestas que se midieron para el chile jalapeño a través del tiempo fueron la altura y grosor de tallo. Mientras que, al finalizar el experimento se evaluaron, además, el área foliar y la clorofila con la finalidad de observar el efecto de cada tratamiento sobre dichas variables.

Con las medidas tomadas se llevó a cabo un análisis de varianza ANOVA con un 5% de significancia y una prueba de múltiples rangos con un nivel de 95% de significancia para determinar los tratamientos distintos y conocer el efecto de cada uno sobre plántulas de chile jalapeño. En la Tabla 16 se observan los resultados obtenidos al finalizar la experimentación, es decir al tiempo 5, que corresponde a 5 semanas después de la siembra de las semillas.

Tratamiento	Altura de tallo (mm)*	Grosor de tallo (mm)*	Área foliar (mm ²)*	Clorofila*
Tratamiento 1	72.23 ^f	1.41 ^d	308.266 ^{bc}	37.27 ^e
Tratamiento 2	59.36 ^e	1.66 ^e	435.522 ^d	24.06 ^a
Tratamiento 3	32.39 ^{bc}	1.80 ^f	343.901 ^c	31.04 ^{cd}
Tratamiento 4	33.97 ^c	1.42 ^d	440.322 ^d	31.4 ^d
Tratamiento 5	28.33 ^{ab}	1.22 ^{bc}	290.04 ^b	28.01 ^b
Tratamiento 6	50.11 ^d	1.26 ^c	404.499 ^d	22.1 ^a
Tratamiento 7	27.82 ^a	1.10 ^b	172.481 ^a	28.11 ^{bc}
Control	31.44 ^{abc}	0.83 ^a	141.832 ^a	23.1 ^a

Tabla 16. Altura y grosor de tallo, área foliar y clorofila de plántulas de chile jalapeño en cada uno de los tratamientos evaluados, así como del control sin inocular. Tratamiento 1: *S. rhizophila*. Tratamiento 2: *B. pumilus*. Tratamiento 3: *S. rhizophila* 2. Tratamiento 4: *S. rhizophila* + *B. pumilus*. Tratamiento 5: *S. rhizophila* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 6: *B. pumilus* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 7: *S. rhizophila* + *Bacillus pumilus* + *S. rhizophila* 2. * Los valores mostrados son el promedio de tres réplicas, es decir, 30 plántulas. ^a : análisis de varianza ANOVA y prueba de múltiples rangos indican diferencia estadística significativa entre los tratamientos. Las letras distintas señalan diferencias estadísticas entre los tratamientos.

Para la altura de tallo (Figura 33) se observa que los tratamientos comienzan a tener un mayor efecto a partir de la semana 3 después de la siembra, sin embargo, en la semana 5, el tratamiento 1 alcanza la mejor altura, 73.23 mm, mientras que el control presenta una altura de 31.44 mm. De acuerdo al análisis de varianzas ANOVA en la semana 5 existe una diferencia estadística significativa entre los tratamientos, siendo el tratamiento 1 el que presenta una mayor altura, mientras que el tratamiento 7 es el menos efectivo para aumentar la altura de las plántulas. Resultados condensados en la tabla 14. Además, en la figura 33, puede observarse que la manera en la que aumentan la altura de tallo los tratamientos 1 y 2 de la semana 4 a la 5 es mayor en comparación con el crecimiento del control.

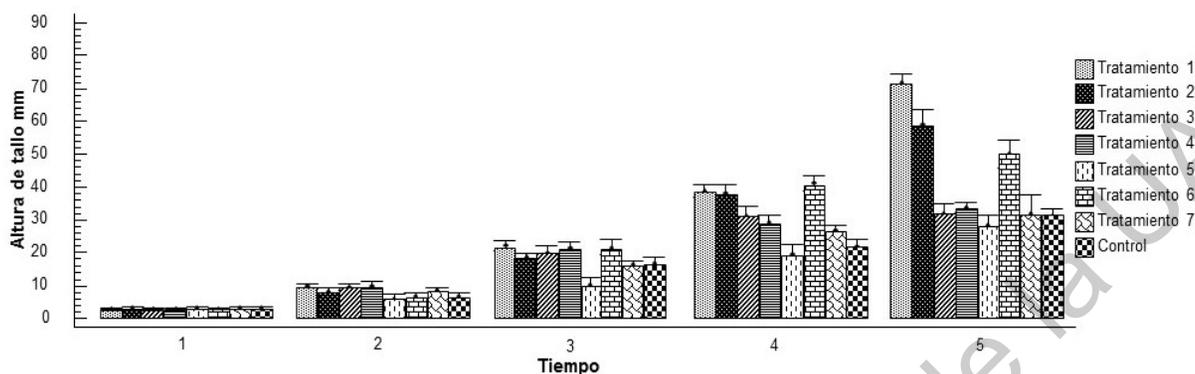


Figura 33. Gráfica que muestra el efecto sobre la altura de tallo en plántulas de chile jalapeño de cada uno de los tratamientos a través del tiempo (semanas). Siendo Tratamiento 1: *S. rhizophila*. Tratamiento 2: *B. pumilus*. Tratamiento 3: *S. rhizophila* 2. Tratamiento 4: *S. rhizophila* + *B. pumilus*. Tratamiento 5: *S. rhizophila* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 6: *B. pumilus* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 7: *S. rhizophila* + *Bacillus pumilus* + *S. rhizophila* 2. Se observa que a partir de la semana 3 los tratamientos tienen un efecto promotor en la altura de las plántulas y así hasta la última semana evaluada donde es claro el efecto del tratamiento 1.

De acuerdo a los resultados obtenidos en el tratamiento estadístico de los datos (Tabla 16) el consorcio formado por tres bacterias aisladas es poco adecuado para el aumento de altura de las plántulas de chile jalapeño. Sin embargo, como se observa en la gráfica de la figura 33 al tiempo 5 (semana 5), la inoculación de la bacteria *S. rhizophila* (tratamiento 1) y *Bacillus pumilus* (Tratamiento 2) de manera individual tienen la capacidad de aumentar la altura de tallo de las plántulas de chile jalapeño. *S. rhizophila* aumenta la altura de tallo en un 132.92%, mientras que *B. pumilus* lo hace en un 88.8%, dicha bacteria produce giberelinas, hormonas que participan en la elongación de las plantas (Gutierrez et al., 2001).

Aguirre-Medina Y Espinosa (2016) encontraron que al inocular plantas de chile jalapeño con *A. brasilense* su altura es un 56.44% mayor comparado con el control, mientras que con un consorcio formado por *R. intraradices* y *A. brasilense* aumenta solo un 27.61%. Por otro lado, Reyes-Ramírez et al. (2014) lograron aumentar un 6.35% la altura de plantas de chile habanero en comparación con un control sin inocular, además evaluaron el efecto de *Pseudomonas* y *R. irregularis*, las cuales la aumentan en un 8% y 3.76%, respectivamente. Diferentes tipos de *Bacillus* también han sido empleados para aumentar la altura de plantas de chile, logrando incrementos del 33.38% comparados con un control (Guillén-Cruz, 2006). Con esto, se puede observar que la bacteria aislada *S. rhizophila* tiene una

capacidad muy fuerte para aumentar la altura del tallo en este tipo de hortaliza, puede ser debido a la interacción que tiene con las raíces, ya que cuenta con varios genes que intervienen en la colonización de la raíz como los que codifican para el antígeno O, síntesis de polisacáridos y proteínas de adhesión (Bais, Weir, Perry, Gilroy y Vivanco, 2006). Además, se ha demostrado que produce la hormona de crecimiento vegetal ácido indolacético, la cual, controla diversos procesos fisiológicos como la elongación y división celular, situación que comprueba los resultados obtenidos (Egamberdieva *et al.*, 2011).

En cuanto al grosor de tallo, de acuerdo a la figura 34, los tratamientos comienzan a tener un efecto a partir de la semana 3, al igual que en la altura, donde se observa con facilidad la diferencia entre los tratamientos 2 y 3 con el control. Al finalizar el experimento, mediante el análisis de varianza y la prueba de múltiples rangos, se encontró que el tratamiento que presenta el tallo con mayor grosor es el 3, *S. rhizophila* 2, de 1.8 mm, seguido del tratamiento 2, *B. pumilus*, de 1.66 mm, mientras que el control tiene un tallo promedio de 0.83 mm de grosor. De acuerdo a estos resultados, el tratamiento 3 aumenta en un 116.87% el grosor del tallo en plántulas de chile después de la semana 3 de aplicación.

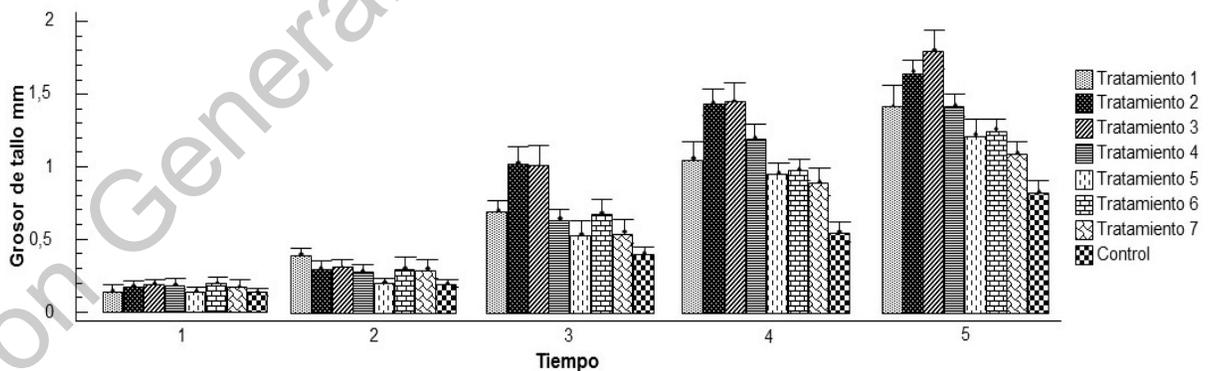


Figura 34. Gráfica que muestra el efecto sobre el grosor de tallo en plántulas de chile jalapeño de cada uno de los tratamientos a través del tiempo (semanas). Siendo Tratamiento 1: *S. rhizophila*. Tratamiento 2: *B. pumilus*. Tratamiento 3: *S. rhizophila* 2. Tratamiento 4: *S. rhizophila* + *B. pumilus*. Tratamiento 5: *S. rhizophila* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 6: *B. pumilus* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 7: *S. rhizophila* + *Bacillus pumilus* + *S. rhizophila* 2. Se observa que a partir de la semana 3 los tratamientos tienen un efecto positivo en el engrosamiento del tallo de las plántulas y al finalizar el experimento las plántulas del tratamiento 3 muestran el tallo más grueso.

En bibliografía se encuentran diferentes microorganismos empleados para mejorar el crecimiento de plantas de chile, y los efectos que presentan sobre el grosor de tallo son muy diversas. Aguirre-Medina *et al.* (2016) evaluaron el efecto de la inoculación de *Azotobacter brasilense* y *Pseudomonas fluorescens* sobre plantas de chile jalapeño, y encontraron que dichas cepas pueden aumentar el grosor de tallo en un 40% y 48.89% respectivamente. Por otro lado, se ha encontrado que la cepa *Bacillus subtilis* aumenta un 16.23% el grosor de tallo en plantas de chile jalapeño (Peña-Yam *et al.*, 2016), sin embargo, este dato es menor al 100% obtenido con la inoculación de *B. pumilus* bacteria del mismo género.

Reyes-Ramírez *et al.* (2014) reportaron que la inoculación a plantas de chile habanero con *Pseudomonas* aumenta un 13.32% el grosor del tallo en comparación con el control, *Azospirillum brasilense*, por su parte, lo aumenta en un 8.41% y finalmente *Rhizophagus irregularis*, lo hace en un 5.61%. El porcentaje más alto presentado es el de *Pseudomonas*, sin embargo, es mucho menor que el obtenido con la cepa *S. rhizophila*.

Al analizar los resultados obtenidos, puede observarse que los tratamientos que aumentan el grosor y altura de tallo son cepas bacterianas individuales, con mejores resultados *S. rhizophila*. Sin embargo, la mayor altura o el mayor grosor no son sinónimo de una planta saludable, y para evaluar esto se realizó una regresión lineal para observar la relación entre ambas respuestas y definir el tratamiento que arroja plantas con mejores características.

En la tabla 17 se observa la relación que tiene la altura y el grosor de tallo para cada tratamiento utilizado, además, se propone una ecuación para determinar la altura de la planta. Mediante la pendiente se pueden discriminar los tratamientos en los que las plantas están elongadas y muy delgadas, así como las que están muy bajitas y con tallos gruesos, para así discutir con mayor facilidad el efecto que genera cada tratamiento a las plántulas de chile jalapeño.

Tratamiento	Pendiente	Correlación	R ² (%)	Ecuación
				$y = (a + bx)^2$
1	4.13693	0.902753	81.4963	$y = (1.73133 + 4.13693G)^2$
2	3.21519	0.919509	84.5497	$y = (1.57469 + 3.21519G)^2$
3	1.92911	0.859129	73.8102	$y = (2.29527 + 1.92911G)^2$
4	2.72986	0.906208	82.1212	$y = (2.09677 + 2.72986G)^2$
5	2.84594	0.917035	84.0953	$y = (1.66213 + 2.84594G)^2$
6	4.74657	0.931855	86.8353	$y = (1.17311 + 4.74657G)^2$
7	3.05808	0.87312	76.2338	$y = (1.96719 + 3.05808G)^2$
Control	4.97949	0.903821	81.6892	$y = (1.72667 + 4.97949G)^2$

Tabla 17. Modelo matemático de la forma $y=(a+bx)^2$ para describir la relación entre la altura y el grosor de tallo de las plántulas de chile jalapeño en cada uno de los tratamientos. Siendo Tratamiento 1: *S. rhizophila*. Tratamiento 2: *B. pumilus*. Tratamiento 3: *S. rhizophila* 2. Tratamiento 4: *S. rhizophila* + *B. pumilus*. Tratamiento 5: *S. rhizophila* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 6: *B. pumilus* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 7: *S. rhizophila* + *Bacillus pumilus* + *S. rhizophila* 2. G=grosor de tallo. Existe una relación estadísticamente significativa entre altura y grosor de tallo con un nivel de confianza del 95.0%.

El tratamiento que tiene una mejor correlación y r^2 es el tratamiento 6, ya que se ajusta adecuadamente la manera en la que aumenta la altura con respecto al grosor del tallo.

La relación entre la altura y el grosor del tallo se ha utilizado como una estimación de vigor en árboles y plantas (Mariano, 1966), las plantas que presentan proporciones intermedias entre la altura y el grosor de tallo tienen un mayor crecimiento en campo, mientras que las muy achaparradas o muy delgadas o muy anchas presentan un menor desarrollo (Salvador, 2003).

Con base a esto y a los datos de la tabla 17, el tratamiento 3 muestra una pendiente muy baja, 1.92911, lo que indica que las plántulas tienden a ser bajas y anchas, mientras que las plántulas del tratamiento 6, con pendiente 4.74657, tienden a ser muy altas y delgadas, de acuerdo a la bibliografía, estas plantas tienen un menor desarrollo en campo. Por otro lado, se encuentran las plántulas del tratamiento 7, las cuales tienen una relación intermedia entre altura y grosor de tallo, las cuales presentan mayor vigor y por lo tanto un mayor crecimiento en campo.

Por lo tanto, aunque las plántulas del tratamiento 1 tienen una mayor altura y las del tratamiento 3 un mayor diámetro de tallo, no significa que estas son más viables o más vigorosas, sino más bien, las del tratamiento 7, son las que tienen una mejor relación entre su altura y su diámetro de tallo.

El área foliar define la capacidad que tiene la cubierta de una planta para interceptar la radiación fotosintética activa, siendo esta, la fuente primaria de energía utilizada por las plantas para la elaboración de compuestos y tejidos. Esta variable fue medida únicamente al finalizar el experimento (Tabla 16) y, con el análisis de varianza y prueba de múltiples rangos, se encontró que los tratamientos que presentan una mayor área foliar son el 2, 4 y 6, siendo el 4 y 6 consorcios microbianos. Entre ellos no hay una diferencia estadística significativa. El tratamiento 4, que corresponde a un consorcio entre *S. rhizophila* y *B. pumilus* logra aumentar un 210.453% el área foliar de las plántulas de chile jalapeño en comparación con el control sin inocular.

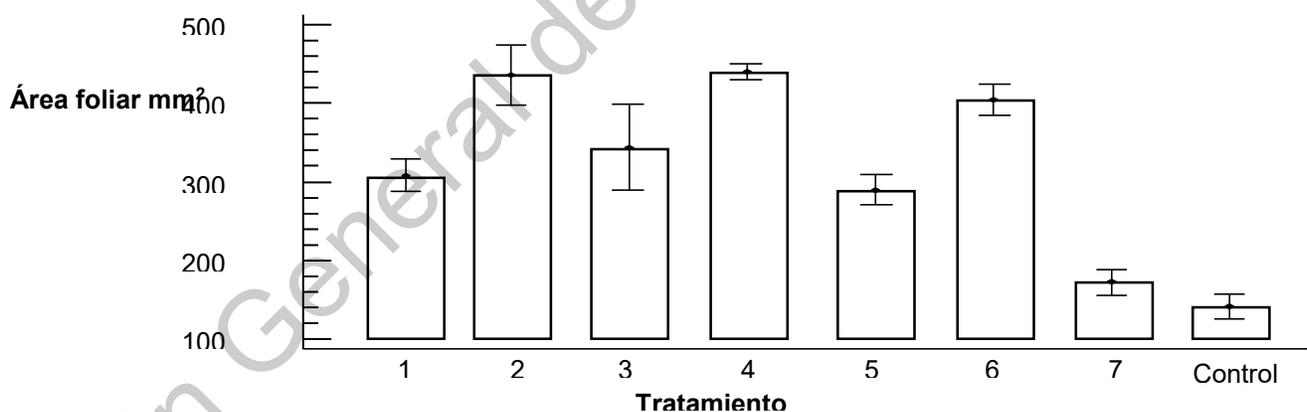


Figura 35. Gráfica de área foliar calculada al término de la experimentación para cada uno de los tratamientos. Tratamiento 1: *S. rhizophila*. Tratamiento 2: *B. pumilus*. Tratamiento 3: *S. rhizophila* 2. Tratamiento 4: *S. rhizophila* + *B. pumilus*. Tratamiento 5: *S. rhizophila* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 6: *B. pumilus* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 7: *S. rhizophila* + *Bacillus pumilus* + *S. rhizophila* 2. El tratamiento 2, 4 y 6 presentan una mayor área foliar sin diferencias estadísticas significativas entre ellos.

Robles-Hernández *et al.* (2015) estudiaron el efecto de la inoculación de diferentes aislados de *Streptomyces* en plantas de chile jalapeño y encontraron que la inoculación aumenta 12% el área foliar con respecto a las plantas no inoculadas.

Por otro lado, la cepa *Serratia plymuthica* tiene la capacidad de aumentar en un 34% el área foliar en plantas de chile poblano (González *et al.*, 2017), ambas cepas bacterianas reportadas tienen capacidades como promotoras de crecimiento tales como la liberación de hormonas que promueven el crecimiento vegetal, producción de sideróforos y solubilización de fosfatos. En esta investigación, la inoculación de la bacteria *Bacillus pumilus* de manera individual aumenta 207.07% el área foliar de las plántulas de chile jalapeño, lo cual, puede deberse a que tiende a acumular giberelinas bioactivas (Gutiérrez *et al.*, 2001), solubiliza fósforo y produce grandes cantidades de ácido indol acético, compuestos que afectan directamente el crecimiento de las plantas (Breedt *et al.*, 2017). El consorcio del tratamiento 4 tiene la propiedad de aumentar el área foliar, sin embargo, no puede decirse que hay una actividad sinérgica entre las bacterias que lo componen, debido a que no hay diferencia estadística significativa entre los tratamientos donde se inocularon las bacterias de manera individual.

La importancia de la clorofila radica en que es la sustancia que le permite a la planta absorber la luz del sol y convertirla en energía química (Godínez y Gutiérrez, 2017). Con los datos obtenidos y el análisis estadístico de los mismos (Tabla 16), se comprueba que hay diferencia estadística entre los tratamientos utilizados y el tratamiento 1 es que el presenta mayor nivel de clorofila en las hojas de las plántulas de chile jalapeño, aumentándola un 61.34% con respecto al control sin inocular.

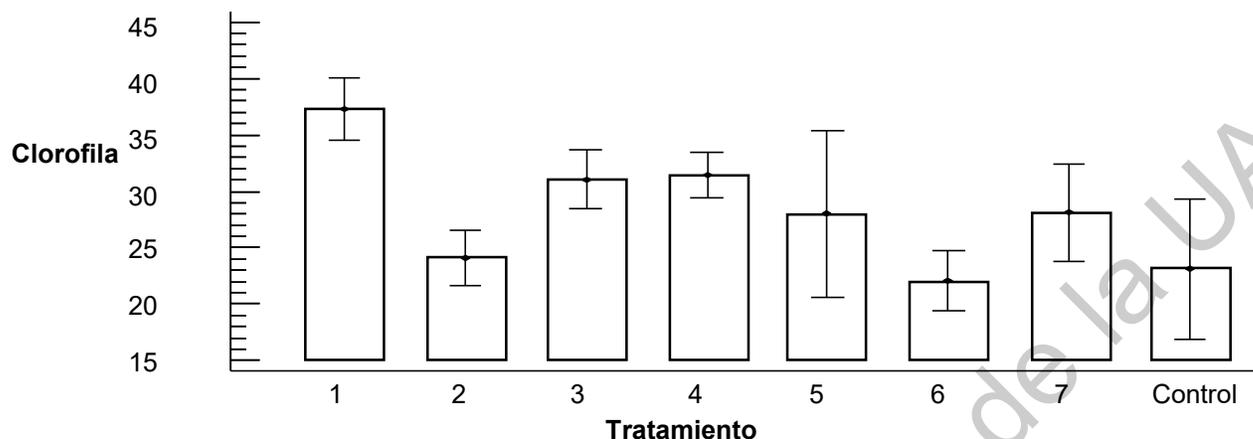


Figura 36. Gráfica del contenido de clorofila medida al término de la experimentación para cada uno de los tratamientos. Tratamiento 1: *S. rhizophila*. Tratamiento 2: *B. pumilus*. Tratamiento 3: *S. rhizophila* 2. Tratamiento 4: *S. rhizophila* + *B. pumilus*. Tratamiento 5: *S. rhizophila* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 6: *B. pumilus* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 7: *S. rhizophila* + *Bacillus pumilus* + *S. rhizophila* 2. Las hojas de las plántulas de chile inoculadas con el tratamiento 1 presentan mayor contenido de clorofila.

En bibliografía se encuentran microorganismos que aumentan el contenido de clorofila, lo cual, es bueno para proveer un mejor crecimiento vegetal, la inoculación de plantas de pimiento con el hongo *R. intraradices* aumenta el contenido de clorofila en un 11.95% comparado con un control sin inocular (Díaz, Alvarado, Ortíz y Grageda-Cabrera, 2013). En el caso de chile jalapeño, el uso de *Streptomyces* aumenta en un 6.73% el contenido de clorofila en comparación con el control (Robles-Hernández *et al.*, 2015), finalmente, en un estudio realizado por Irabor (2017) en el chile campana, el uso de *B. vallismortis* tiende a aumentar en un 29.97% el contenido de clorofila, siendo este resultado aún menor que el presentado por *S. rhizophila* en este estudio.

De acuerdo a los resultados obtenidos se encuentra que para el chile jalapeño, los consorcios bacterianos propuestos son poco efectivos para obtener aumentos en las variables agronómicas evaluadas, siendo en algunos casos menores comparados con el control, sin embargo, se encontró que la bacteria *S. rhizophila* tiende a aumentar la altura, grosor de tallo y el contenido de clorofila en las plántulas, mientras que *Bacillus pumilus* y los consorcios entre las cepas de *S. rhizophila* y *B. pumilus* tienen la capacidad de aumentar el área foliar de las mismas. Resultados que son altos en comparación con los encontrados en bibliografía de

diferentes microorganismos sobre el mismo tipo de plantas. Además, al evaluar la relación entre la altura y el grosor de tallo, las plántulas del tratamiento 7 presentaron mejores resultados, lo que significa que las plantas inoculadas con el consorcio de las tres bacterias aisladas tienen una mejor viabilidad y desarrollo en campo.

Acelga

La altura y el grosor de tallo fueron respuestas medidas a través del tiempo, mientras que, al finalizar el experimento, se evaluaron el área foliar y la clorofila, para observar el efecto de cada tratamiento sobre dichas variables. Con las medidas tomadas se llevó a cabo un análisis de varianza ANOVA con un 5% de significancia y una prueba de múltiples rangos con un nivel de 95% de significancia para determinar los tratamientos distintos y conocer el efecto de cada uno sobre las plántulas (Tabla 18).

Se muestran los resultados completos obtenidos al finalizar la experimentación, es decir, en la semana 5.

Tratamiento	Altura de tallo (mm)*	Grosor de tallo (mm)*	Área foliar (mm²)*	Clorofila*
Tratamiento 1	50.25 ^a	1.70 ^b	687.231 ^b	31.87 ^b
Tratamiento 2	55.81 ^b	1.81 ^b	935.618 ^c	30.15 ^{ab}
Tratamiento 3	65.03 ^c	2.26 ^c	714.696 ^b	27.11 ^a
Tratamiento 4	64.73 ^c	2.37 ^c	1403.220 ^d	28.96 ^{ab}
Tratamiento 5	70.33 ^d	2.41 ^c	962.475 ^b	28.55 ^{ab}
Tratamiento 6	62.39 ^c	1.77 ^b	573.863 ^b	28.55 ^{ab}
Tratamiento 7	58.42 ^b	1.82 ^b	300.479 ^a	28.55 ^{ab}
Control	48.93 ^a	1.55 ^a	669.001 ^b	30.85 ^{ab}

Tabla 18. Altura y grosor de tallo, área foliar y clorofila de plántulas de acelga en cada uno de los tratamientos evaluados, así como del control sin inocular. Tratamiento 1: *S. rhizophila*. Tratamiento 2: *B. pumilus*. Tratamiento 3: *S. rhizophila* 2. Tratamiento 4: *S. rhizophila* + *B. pumilus*. Tratamiento 5: *S. rhizophila* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 6: *B. pumilus* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 7: *S. rhizophila* + *Bacillus pumilus* + *S. rhizophila* 2. * Los valores mostrados son el promedio de tres réplicas, es decir, 30 plántulas. ^a : análisis de varianza ANOVA y prueba de múltiples rangos indican diferencia estadística significativa entre los tratamientos. Las letras distintas señalan diferencias estadísticas entre los tratamientos.

La altura de tallo de la acelga (Figura 37), en presencia de los tratamientos evaluados, comienza a tener un efecto positivo a partir de la semana 4, comparado con la semana 1, donde no se observa ninguna diferencia entre los tratamientos y el control. Así mismo, se observa que el control tiene un crecimiento poco acelerado al paso de las semanas al compararlo con algunos tratamientos, como lo es el tratamiento 5.

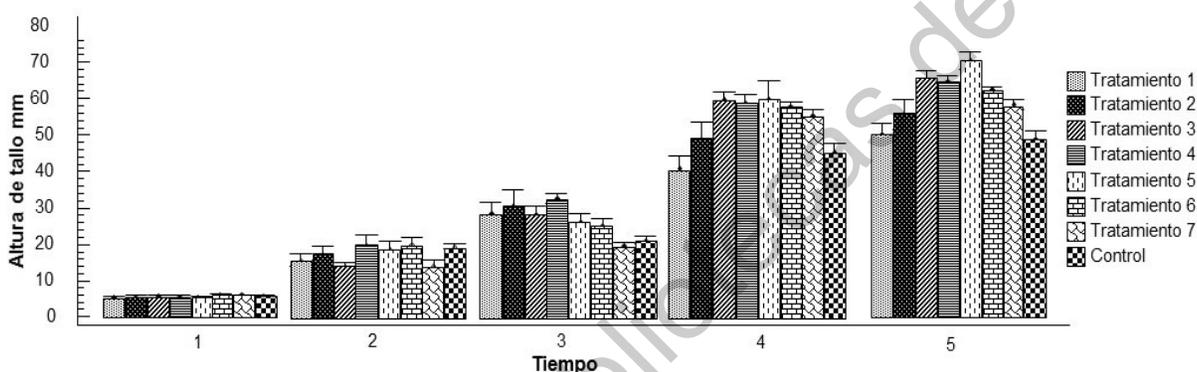


Figura 37. Gráfica que muestra el efecto sobre la altura de tallo en plántulas de acelga a través del tiempo (semanas). Siendo el Tratamiento 1: *S. rhizophila*. Tratamiento 2: *B. pumilus*. Tratamiento 3: *S. rhizophila* 2. Tratamiento 4: *S. rhizophila* + *B. pumilus*. Tratamiento 5: *S. rhizophila* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 6: *B. pumilus* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 7: *S. rhizophila* + *Bacillus pumilus* + *S. rhizophila* 2.

De acuerdo a los resultados obtenidos en el tratamiento estadístico de los datos (Tabla 18) el consorcio formado por las tres bacterias aisladas, en comparación con el control, es bueno, ya que aumenta la altura del tallo de las plántulas, sin embargo, como se observa en la gráfica de la figura 37 al tiempo 5, la inoculación del tratamiento 5, que consiste en el consorcio entre los dos aislados de *S. rhizophila*, es el que presenta un mayor aumento en la altura, promoviendo su crecimiento en un 43.74% en comparación con el control sin inocular.

Martínez, Sánchez, Velasco y Prado (2014) realizaron una evaluación de la inoculación de microorganismos eficientes sobre plantas de acelga y encontraron que se puede aumentar un 68% la altura de la planta mediante la aplicación de ciertos microorganismos provenientes de un potrero comparados con las plantas sin inocular, este dato es mayor al obtenido en este estudio, sin embargo, ellos no determinaron el consorcio de microorganismos que participaban para que se

obtuviera dicho efecto. Así mismo, la inoculación de microorganismos con características como promotores de crecimiento aumentan en 6.66% la altura de las acelgas en comparación con el control (Aguilar, García, Bravo, Muñoz, J. M., y Fosado, 2016). De acuerdo a estos datos, se puede observar que el uso de un consorcio de aislados de *S. rhizophila* aumenta la altura en plantas de acelga debido, posiblemente, a su producción de ácido indolacético, la cual, controla diversos procesos fisiológicos como la elongación y división celular, situación que comprueba los resultados obtenidos (Egamberdieva *et al.*, 2011).

El grosor de tallo de los tratamientos comenzó a ser efectivo tras la tercer semana después de la siembra, observándose mejores efectos en los tratamientos 3 y 5, no obstante, al finalizar la experimentación no se observa una diferencia estadística significativa entre dichos tratamientos y el tratamiento 4, el cual, mostró un engrosamiento acelerado de la semana 4 a la 5 (Figura 38).

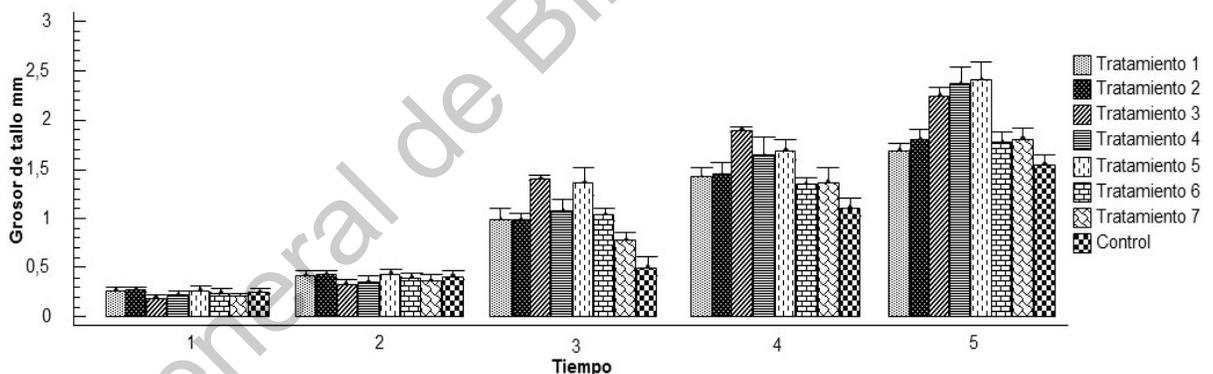


Figura 38. Gráfica que muestra el efecto sobre el grosor de tallo en plántulas de acelga de cada uno de los tratamientos a través del tiempo (semanas). Siendo Tratamiento 1: *S. rhizophila*. Tratamiento 2: *B. pumilus*. Tratamiento 3: *S. rhizophila* 2. Tratamiento 4: *S. rhizophila* + *B. pumilus*. Tratamiento 5: *S. rhizophila* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 6: *B. pumilus* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 7: *S. rhizophila* + *Bacillus pumilus* + *S. rhizophila* 2. Se observa que a partir de la semana 3 los tratamientos tienen un efecto positivo en el engrosamiento del tallo de las plántulas y al finalizar el experimento las plántulas del tratamiento 3, 4 y 5 muestran el tallo más grueso.

De acuerdo a los resultados de la tabla 18, el tratamiento 5 mostró un aumento del 55.48% en el grosor de tallo de las plántulas de acelga comparado con un control. Son pocos los estudios donde se reporta el grosor de tallo alcanzado con el uso de microorganismos, sin embargo, Martínez *et al.* (2014) describe que la inoculación de microorganismos presentes en la tierra de cultivo de café aumenta

en un 52.56% el grosor de tallo de las plantas de acelga comparado con plantas no inoculadas, debido a la gran población microbiana y a la descomposición de materia orgánica que realizan.

En el caso de la acelga, es importante observar que, al finalizar el experimento, el tratamiento 5, es decir, el consorcio entre *S. rhizophila* y *S. rhizophila* 2, fue el que mejoró la altura y el grosor de tallo de las plántulas de acelga, siendo estas bacterias una buena alternativa para mejorar y aumentar estas características en las plántulas.

Para conocer la viabilidad y hacer una estimación del vigor de las plántulas de acelga se hizo una relación entre la altura y el grosor del tallo con lo que se obtuvieron los datos de la Tabla 19. Donde se observa que el tratamiento 3 es el que mantiene una mayor relación entre la altura y el grosor de tallo con una correlación de 0.962103 y una r^2 de 92.5642%.

Tratamiento	Pendiente	Correlación	R^2 (%)	Ecuación $y = (a + bx)^2$
1	2.80807	0.898381	80.7088	$y = (2.18645 + 2.80807G)^2$
2	2.92578	0.90298	81.5356	$y = (2.23711 + 2.92578G)^2$
3	2.66437	0.962103	92.5642	$y = (2.1562 + 2.66437G)^2$
4	2.32424	0.900731	81.1316	$y = (2.81102 + 2.32424G)^2$
5	2.52126	0.922896	85.1736	$y = (2.35915 + 2.52126G)^2$
6	3.27916	0.919533	84.5541	$y = (2.25819 + 3.27916G)^2$
7	3.07347	0.944108	89.1341	$y = (2.2074 + 3.07347G)^2$
Control	2.99791	0.880146	77.4658	$y = (2.69745 + 2.99791G)^2$

Tabla 19. Modelo matemático de la forma $y=(a+bx)^2$ para describir la relación entre la altura y el grosor de tallo de las plántulas de acelga en cada uno de los tratamientos. Siendo Tratamiento 1: *S. rhizophila*. Tratamiento 2: *B. pumilus*. Tratamiento 3: *S. rhizophila* 2. Tratamiento 4: *S. rhizophila* + *B. pumilus*. Tratamiento 5: *S. rhizophila* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 6: *B. pumilus* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 7: *S. rhizophila* + *Bacilus pumilus* + *S. rhizophila* 2. G=grosor de tallo. Existe una relación estadísticamente significativa entre altura y grosor de tallo con un nivel de confianza del 95.0%.

Las plántulas presentaron pendientes muy homogéneas e intermedias, es decir, en ninguno de los tratamientos las plantas se elongaron o se engrosaron en demasía, siendo las del tratamiento 7 las que presentaron una relación más intermedia, por lo tanto son las de mayor viabilidad y vigor, al igual que en el caso del chile jalapeño.

El área foliar de la acelga es una de las características agronómicas más importantes, debido a que es la parte que se utiliza para el consumo. Esta variable fue medida únicamente al finalizar el experimento y con base en lo reportado en la tabla 18, se observa que el tratamiento 4 promueve en mayor medida el crecimiento del área foliar con respecto a los otros tratamientos y al control, con un aumento de 109.75%. En la figura 39 se observa, de manera gráfica, el efecto sobre el área foliar de los tratamientos evaluados.

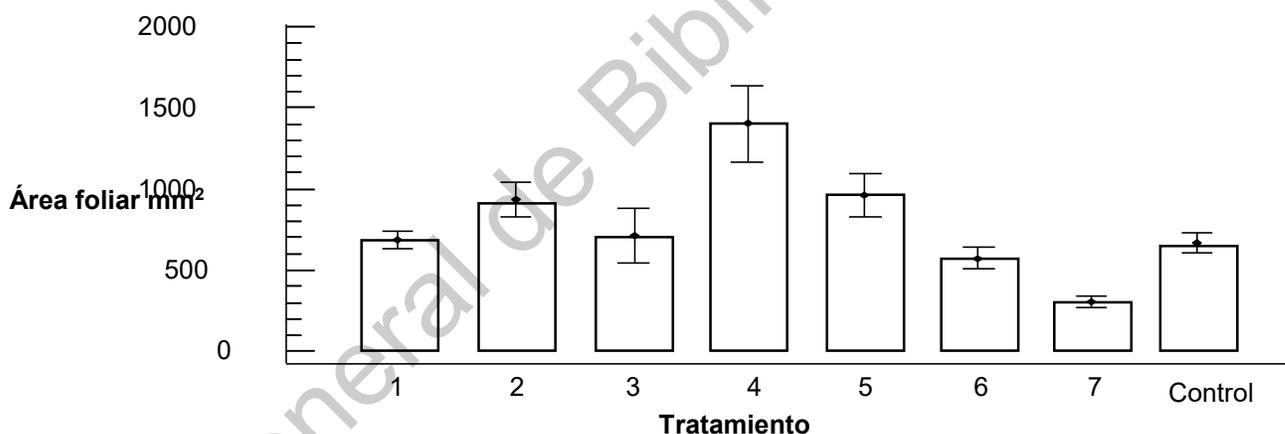


Figura 39. Gráfica de área foliar calculada al término de la experimentación para cada uno de los tratamientos. Tratamiento 1: *S. rhizophila*. Tratamiento 2: *B. pumilus*. Tratamiento 3: *S. rhizophila* 2. Tratamiento 4: *S. rhizophila* + *B. pumilus*. Tratamiento 5: *S. rhizophila* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 6: *B. pumilus* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 7: *S. rhizophila* + *Bacillus pumilus* + *S. rhizophila* 2. Las plántulas del tratamiento 4 presentan una mayor área foliar en comparación con el control y el resto de los tratamientos.

Se encuentra reportado que la inoculación de *Azospirillum brasilensis* de un biofertilizante comercial aumenta en un 5.89% el área foliar de la acelga comparado con un control sin inocular, esto, puede ocurrir debido a la poca viabilidad celular de algunos biofertilizantes, sin embargo, al inocular las plantas con microorganismos de suelo de montaña se aumenta en un 27.45% el área foliar (Medina-Saavedra, Arroyo-Figueroa, García-Viera y Dzul-Cauich, 2017). Datos que se encuentran muy

por debajo de lo obtenido con el consorcio entre *S. rhizophila* y *B. pumilus*, bacterias aisladas de una composta. Un estudio realizado por Guerra *et al.* (2016) comprueban que las plantas de acelga pueden aumentar hasta un 33.34% el área foliar al agregar composta como abono.

Al comparar los resultados de estos estudios con los obtenidos se puede observar que el aumento en el área foliar que tiene el consorcio es alto y pueden ser utilizados como una estrategia para mejorar la producción agrícola de la acelga.

Finalmente, la cantidad de clorofila no fue afectada por la inoculación de las bacterias ni sus consorcios (Figura 40), ya que, de acuerdo al ANOVA no existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos y el control.

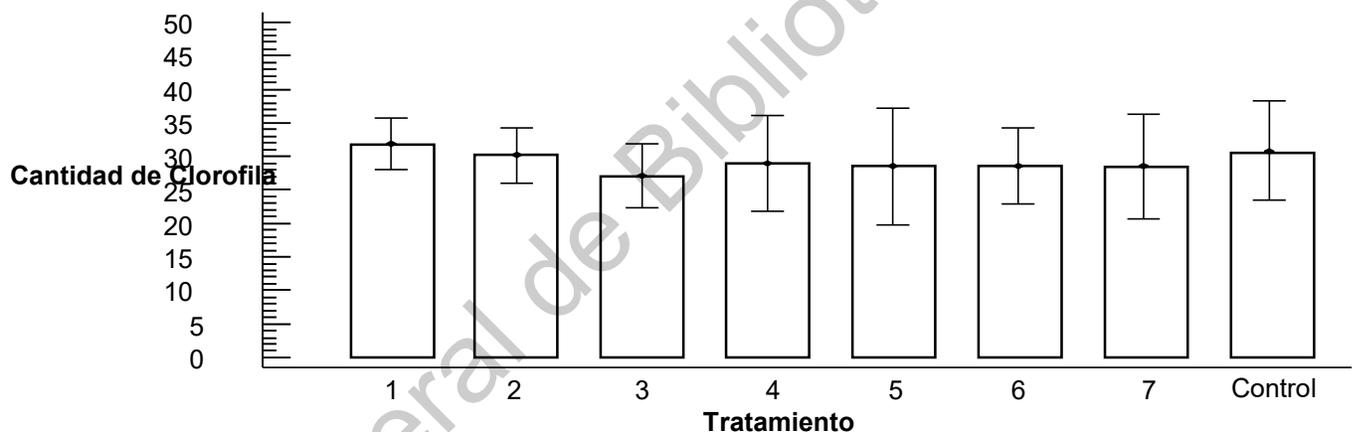


Figura 40. Gráfica del contenido de clorofila medida al término de la experimentación para cada uno de los tratamientos. Tratamiento 1: *S. rhizophila*. Tratamiento 2: *B. pumilus*. Tratamiento 3: *S. rhizophila* 2. Tratamiento 4: *S. rhizophila* + *B. pumilus*. Tratamiento 5: *S. rhizophila* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 6: *B. pumilus* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 7: *S. rhizophila* + *Bacillus pumilus* + *S. rhizophila* 2. ANOVA: no hay diferencias estadísticas significativas.

Las características morfológicas de la acelga se ven modificadas tras la aplicación de consorcios bacterianos que incluyen las cepas *S. rhizophila* y *B. pumilus*. La altura y grosor de tallo aumentan un 43.74% y 55.48%, respectivamente, tras la inoculación de un consorcio entre dos aislados de *S. rhizophila*. Mientras que el área foliar incrementa un 109.75% al inocular un consorcio entre *S. rhizophila* y *B. pumilus*. Con lo que se comprueba que los consorcios bacterianos tienen un efecto mayor en el crecimiento de plántulas de

acelga. Además, de acuerdo a la relación existente entre la altura y el grosor de tallo, las plántulas más viables y vigorosas fueron obtenidas con el tratamiento 7, es decir, con el consorcio de las tres bacterias aisladas.

Lechuga

Las variables medidas en las plántulas de lechuga a través del tiempo, altura y grosor de tallo, presentaron un efecto de crecimiento positivo tras la inoculación bacteriana, al igual que el área foliar medida al finalizar las pruebas. Por otro lado, la clorofila no presenta diferencia significativa entre el control y los tratamientos con inoculación bacteriana, de acuerdo a lo reportado en la Tabla 20.

Tratamiento	Altura de tallo (mm)*	Grosor de tallo (mm)*	Área foliar (mm²)*	Clorofila*
Tratamiento 1	36.30 ^a	1.10 ^a	431.093 ^a	29.81 ^{ab}
Tratamiento 2	49.77 ^{cd}	2.17 ^d	1990.700 ^d	28.21 ^a
Tratamiento 3	56.82 ^f	2.07 ^d	1912.46 ^d	32.32 ^{ab}
Tratamiento 4	67.53 ^g	1.44 ^b	1490.440 ^c	33.41 ^b
Tratamiento 5	52.94 ^e	1.68 ^c	1367.100 ^c	33.12 ^b
Tratamiento 6	47.81 ^c	2.57 ^e	1517.730 ^c	33.46 ^b
Tratamiento 7	45.26 ^b	1.76 ^c	775.582 ^b	31.41 ^{ab}
Control	49.99 ^d	1.82 ^c	865.693 ^b	31.95 ^{ab}

*Tabla 20. Altura y grosor de tallo, área foliar y clorofila de plántulas de lechuga de cada tratamiento y el control sin inocular. Tratamiento 1: S. rhizophila. Tratamiento 2: B. pumilus. Tratamiento 3: S. rhizophila 2. Tratamiento 4: S. rhizophila + B. pumilus. Tratamiento 5: S. rhizophila + S. rhizophila 2. Tratamiento 6: B. pumilus + S. rhizophila 2. Tratamiento 7: S. rhizophila + Bacillus pumilus + S. rhizophila 2. * Los valores mostrados son el promedio de tres réplicas. ^a : análisis de varianza ANOVA y prueba de múltiples rango, las letras distintas indican diferencia estadística significativa.*

La altura de las plántulas de lechuga en la semana 1 y 2 no muestran diferencias entre los tratamientos y el control, sin embargo, en la semana 3, se observa un efecto positivo en la altura de las plántulas inoculadas con los tratamientos. En la semana 4 el tratamiento 4 muestra un efecto mayor, el cual, se mantiene hasta la última semana de evaluación de los tratamientos (Figura 41). De

acuerdo a los resultados de la tabla 20 la altura de tallo de las lechugas inoculadas con el tratamiento 4 aumentan en un 35.1% con respecto al control. Por lo que, para incrementar la altura de plántulas de lechuga es recomendable inocular un consorcio de *S. rhizophila* y *B. pumilus*.

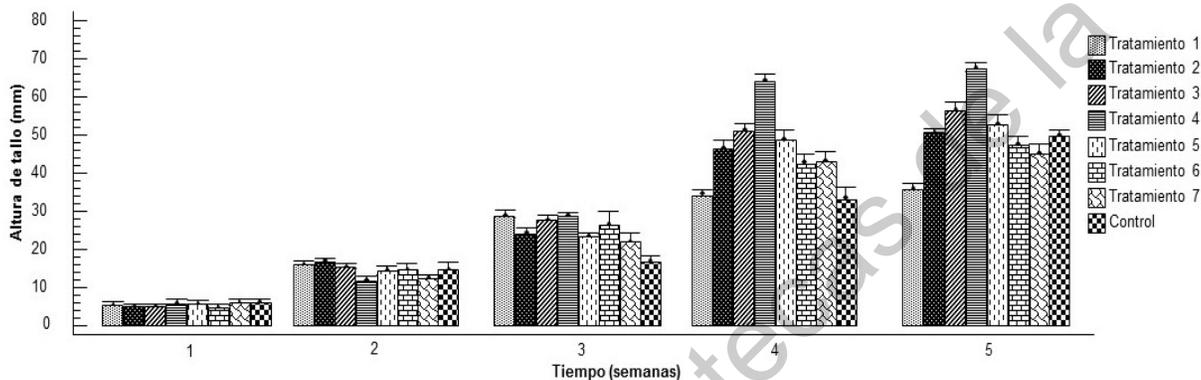


Figura 41. Gráfica que muestra el efecto sobre la altura de tallo en plántulas de lechuga con cada uno de los tratamientos a través del tiempo. Siendo el Tratamiento 1: *S. rhizophila*. Tratamiento 2: *B. pumilus*. Tratamiento 3: *S. rhizophila* 2. Tratamiento 4: *S. rhizophila* + *B. pumilus*. Tratamiento 5: *S. rhizophila* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 6: *B. pumilus* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 7: *S. rhizophila* + *Bacillus pumilus* + *S. rhizophila* 2. Se observa que a partir de la semana 4 los tratamientos tienen un efecto promotor en la altura de las plántulas y así hasta la última semana evaluada donde es claro el efecto del tratamiento 4.

La lechuga es una hortaliza que se utiliza con frecuencia para evaluar el efecto de la inoculación microbiana, debido a su corto ciclo de desarrollo. Colla, Rouphael, Di Mattia, El-Nakhel y Cardarelli, (2015) evaluaron el efecto de la inoculación combinada de *T. atroviridae* y *G. intraradices* y lograron aumentar un 31.76% la altura de plantas de lechuga en comparación con el control sin inocular. La inoculación de un consorcio entre *A. chroococcum* y *B. yuanmingense* a un cultivo de lechuga permitió incrementar un 42.73% la altura del tallo al compararlo con un control donde solo se agregó agua destilada estéril (Cerna-Yamali, Salinas-Aranda y Soriano-Bernilla, 2018). Mossot, Estefania, Shagñay y Giomayra (2019) lograron aumentar un 36.43% la altura de tallo de plantas de lechuga tras la inoculación de una cepa de *Bacillus*. Estos datos son cercanos a los resultados obtenidos con el consorcio evaluado en este trabajo, por lo que se comprueba que el efecto de *S. rhizophila* y *B. pumilus* como promotores de crecimiento de la altura de tallo también es útil para plántulas de lechuga.

Para el grosor de tallo de plántulas de lechuga se observó que los efectos positivos de los tratamientos 2, 3 y 6 comienzan a observarse de la semana 2 a la semana 3. Mientras que los tratamientos 4, 5 y 7 tienen un engrosamiento de tallo más lento, sin embargo, mantienen una tendencia parecida a la del control. Las plantas que presentaron un mayor diámetro de tallo fueron las inoculadas con el tratamiento 6 (Figura 42).

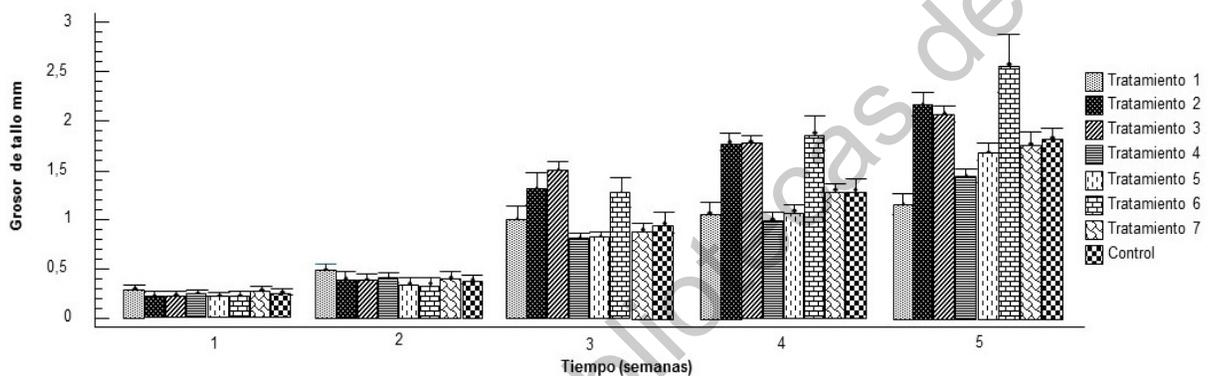


Figura 42. Gráfica que muestra el efecto sobre el grosor de tallo en plántulas de lechuga de cada uno de los tratamientos a través del tiempo. Siendo Tratamiento 1: *S. rhizophila*. Tratamiento 2: *B. pumilus*. Tratamiento 3: *S. rhizophila* 2. Tratamiento 4: *S. rhizophila* + *B. pumilus*. Tratamiento 5: *S. rhizophila* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 6: *B. pumilus* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 7: *S. rhizophila* + *Bacillus pumilus* + *S. rhizophila* 2. Se observa que a partir de la semana 3 los tratamientos tienen un efecto positivo en el engrosamiento del tallo de las plántulas y al finalizar el experimento las plántulas del tratamiento 6 muestran el tallo más grueso.

El aumento que genera la inoculación de *B. pumilus* y *S. rhizophila* 2 es de alrededor de 41.2% con respecto al control sin inocular. Estos datos pueden relacionarse con el empleo de otras cepas microbianas para la producción de lechuga, tales como, *Glomus* sp. que incrementa el diámetro del tallo de lechuga en un 66.21%, *R. clarum* un 71.62% y la inoculación del consorcio de ambas cepas un 74.32%, lo que comprueba que el uso de inóculos combinados genera un efecto mayor que el de una sola cepa microbiana o la no inoculación (Ley-Rivas, Nápoles, Sánchez, Furrázola y Ricardo, 2016). Mientras que, Mossot *et al.* (2019) encontraron que la inoculación de *Bacillus* sp no tiene ningún efecto sobre el grosor de tallo de plantas de lechuga, contrario a lo que se encontró en esta evaluación con *B. pumilus*, que mediante la inoculación individual lo incrementa en un 19.23%, viéndose mejorada al estar en el mismo medio con *S. rhizophila* 2.

La relación entre la altura y el grosor de tallo permiten hacer una estimación del vigor de las plantas y, de esta manera, definir las plantas que presentan una mayor viabilidad y desarrollo en el campo. Se propuso un modelo matemático del tipo raíz cuadrada de y, el cual, tiene una relación estadísticamente significativa entre la altura y el grosor de tallo con un nivel de confianza de 95% (Tabla 21).

Tratamiento	Pendiente	Correlación	R ² (%)	Ecuación $y = (a + bx)^2$
1	3.78186	0.916539	84.0043	$y = (1.85421 + 3.78186G)^2$
2	2.26224	0.944439	89.1965	$y = (2.39768 + 2.26224G)^2$
3	2.41385	0.931959	86.8547	$y = (2.36722 + 2.41385G)^2$
4	5.17045	0.950473	90.3398	$y = (1.42982 + 5.17045G)^2$
5	3.35519	0.927623	86.0484	$y = (2.20178 + 3.35519G)^2$
6	1.83757	0.905778	82.0433	$y = (2.72669 + 1.83757G)^2$
7	2.7099	0.929591	86.4139	$y = (2.28139 + 2.7099G)^2$
Control	2.39097	0.910753	82.9471	$y = (2.3589 + 2.39097G)^2$

Tabla 21. Modelo matemático de la forma $y=(a+bx)^2$ para describir la relación entre la altura y el grosor de tallo de las plántulas de lechuga en cada uno de los tratamientos. Siendo Tratamiento 1: *S. rhizophila*. Tratamiento 2: *B. pumilus*. Tratamiento 3: *S. rhizophila* 2. Tratamiento 4: *S. rhizophila* + *B. pumilus*. Tratamiento 5: *S. rhizophila* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 6: *B. pumilus* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 7: *S. rhizophila* + *Bacilus pumilus* + *S. rhizophila* 2. G=grosor de tallo. Existe una relación estadísticamente significativa entre altura y grosor de tallo con un nivel de confianza del 95.0%.

El tratamiento que presenta una mejor relación entre la altura y el grosor del tallo es el tratamiento 4, con una r² de 90.3398 mientras que el tratamiento 6 presenta una mayor dispersión entre los datos, con una r² de 82.0433. El tratamiento 4 hace que las plantas aumenten la longitud del tallo, mientras que el tratamiento 6 incrementa el diámetro. Sin embargo, los tratamientos que tienen una relación más adecuada entre la altura y el grosor del tallo son el 7 y el 5, es decir, estos tratamientos otorgan a la planta un mayor vigor y tienen un mejor desarrollo en campo. Siendo aún mejor el tratamiento 7.

El tratamiento 4, aumenta la longitud del tallo, lo cual, puede ser debido a que la sinergia entre las bacterias *S. rhizophila* y *B. pumilus* incrementa el contenido de

auxinas en la planta, lo que aumenta la altura y la planta tiende a elongarse. El tratamiento 6, por el contrario, genera plantas más cortas y anchas, estos tratamientos no son viables, ya que tienen un menor desarrollo en campo.

El área foliar de la lechuga, al igual que en la acelga, es importante debido a que es la parte que se utiliza para consumo. En la Figura 43 se observa la gráfica del área foliar de los tratamientos al finalizar la experimentación, en la cual, se observa que los tratamientos 2 y 3 obtuvieron la mayor área foliar sin tener diferencias significativas entre ellos con respecto al control.

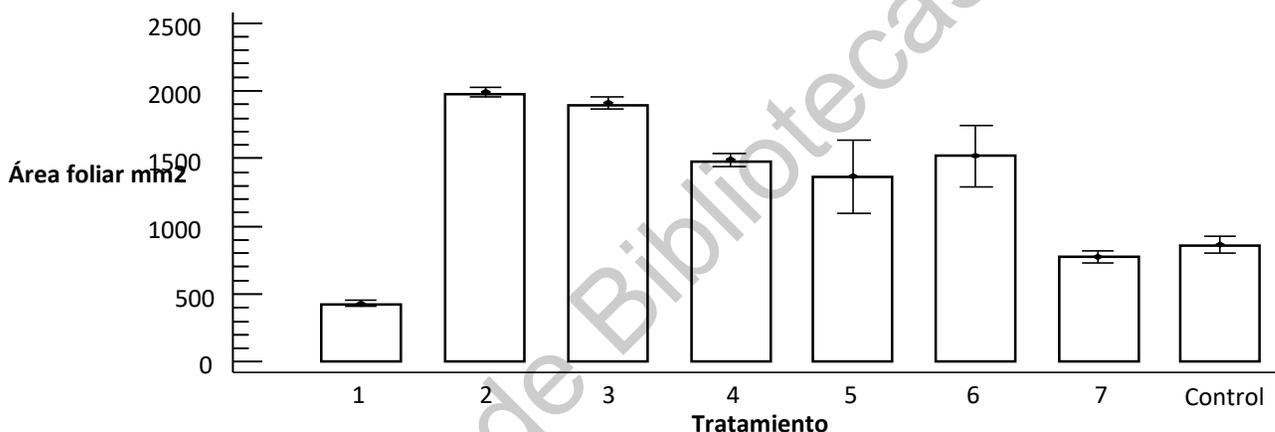


Figura 43. Gráfica de área foliar calculada al término de la experimentación para cada uno de los tratamientos. Tratamiento 1: *S. rhizophila*. Tratamiento 2: *B. pumilus*. Tratamiento 3: *S. rhizophila* 2. Tratamiento 4: *S. rhizophila* + *B. pumilus*. Tratamiento 5: *S. rhizophila* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 6: *B. pumilus* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 7: *S. rhizophila* + *Bacillus pumilus* + *S. rhizophila* 2. Las plántulas del tratamiento 2 y 3 presentan una mayor área foliar en comparación con el control y el resto de los tratamientos.

De acuerdo a los datos de la tabla 20, la inoculación de plántulas de lechuga con *B. pumilus* aumenta en un 129.95% su área foliar con respecto al control. Colla *et al.* (2015) logró aumentar el área foliar de plantas de lechuga en un 168.98% al inocular un consorcio entre *T. atroviride* y *G. intraradices* comparado con el control, este dato es alto con respecto al obtenido en estas pruebas y puede deberse a la relación que existe entre los microorganismos presentes en el consorcio y su relación con las raíces de la lechuga. Por otro lado, se ha encontrado que la inoculación de una mezcla de microorganismos efectivos incrementa más de un 100% el área foliar de la lechuga (Kleiber, Starzyk y Bosiacki, 2013). Mientras que

Díaz-Vargas *et al.* (2001) demostraron que la aplicación de *A. brasilense* aumenta 115.58%.

En el caso de la clorofila se encontró que la aplicación de las bacterias *S. rhizophila* y *B. pumilus* y sus consorcios no afectan la cantidad de clorofila de las plantas de lechuga, tal como se observa en la gráfica de la Figura 44.

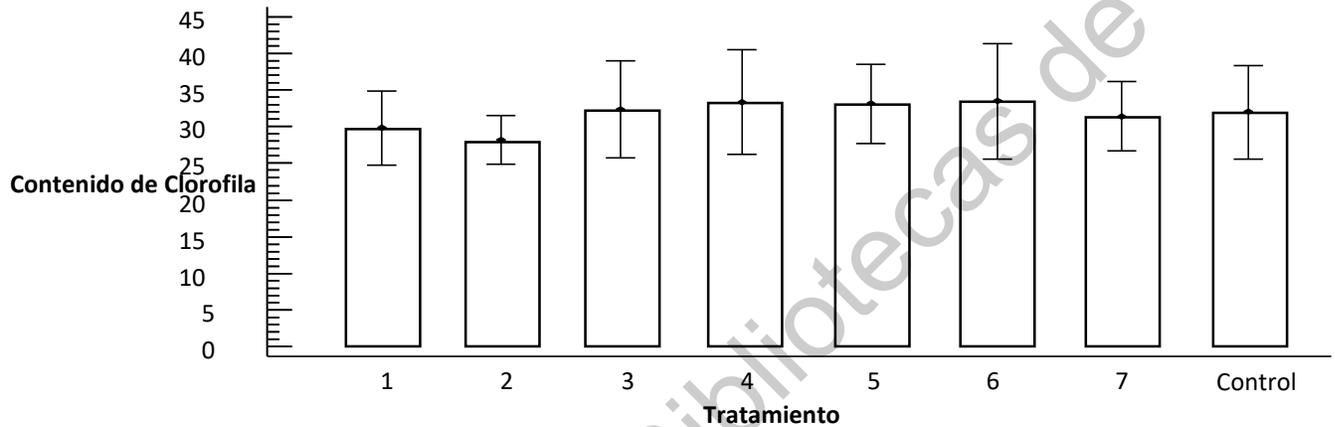


Figura 44. Gráfica del contenido de clorofila medida al término de la experimentación para cada uno de los tratamientos. Tratamiento 1: *S. rhizophila*. Tratamiento 2: *B. pumilus*. Tratamiento 3: *S. rhizophila* 2. Tratamiento 4: *S. rhizophila* + *B. pumilus*. Tratamiento 5: *S. rhizophila* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 6: *B. pumilus* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 7: *S. rhizophila* + *Bacillus pumilus* + *S. rhizophila* 2. ANOVA: no hay diferencias estadísticas significativas.

En la bibliografía se encuentra que son pocos los microorganismos que aumentan el contenido de clorofila en la lechuga, tal como *Bacillus subtilis*, el cual, al ser aplicado en combinación con humus lo incrementa en un 15%, puede ser debido al contenido del humus que mejora la actividad promotora de crecimiento de dicha bacteria (Pishchik, Vorobyov, Walsh, Surin y Khomyakov, 2016). *Bacillus* sp. tiene la capacidad de aumentar un 180% el contenido de clorofila de acuerdo a los estudios realizados por Stoll, Olalde y Bravo (2018). Por otro lado y al igual que en la evaluación que se realizó en el presente trabajo, la inoculación de microorganismos efectivos (Kleiber *et al.*, 2013) y un consorcio entre *T. atroviride* y *G. intraradices* (Colla *et al.*, 2015) a un cultivo de lechuga no tuvieron ningún efecto sobre el contenido de clorofila.

Para mejorar el cultivo de lechuga en altura y grosor de tallo se recomienda el uso de consorcios microbianos, *S. rhizophila* + *B. pumilus* y *B. pumilus* + *S. rhizophila* 2, respectivamente, mientras que para aumentar el área foliar es mejor hacer uso de la bacteria *B. pumillus* de manera individual. No obstante, de acuerdo a la relación entre la altura y grosor de tallo, para obtener plántulas con mejor desarrollo en campo, es recomendable inocularlas con un consorcio formado entre las tres cepas bacterianas aisladas.

Jitomate

Los resultados de la evaluación de plántulas de jitomate se encuentran resumidos en la Tabla 22. La altura de tallo no se ve beneficiada con ninguno de los tratamientos, siendo el control el que presenta una mayor altura al finalizar la experimentación, el grosor de tallo y el área foliar mejoran su crecimiento al aplicar la cepa *S. rhizophila* individualmente. Mientras que la clorofila de las plántulas de jitomate aumenta su contenido al ser inoculada por la bacteria *B. pumilus*.

Tratamiento	Altura de tallo (mm)*	Grosor de tallo (mm)*	Área foliar (mm²)*	Clorofila*
Tratamiento 1	106.10 ^b	2.45 ^d	2188.58 ^f	26.6 ^a
Tratamiento 2	119.84 ^{cd}	2.43 ^{cd}	1443.77 ^d	38.47 ^d
Tratamiento 3	95.70 ^a	2.05 ^a	885.95 ^a	24.60 ^a
Tratamiento 4	107.76 ^b	2.03 ^a	1365.22 ^{cd}	34.47 ^{bc}
Tratamiento 5	106.06 ^b	2.28 ^{bcd}	1242.41 ^c	36.93 ^{cd}
Tratamiento 6	121.29 ^d	2.25 ^b	1634.23 ^e	35.70 ^{bcd}
Tratamiento 7	114.05 ^c	2.18 ^{ab}	1064.58 ^b	32.45 ^b
Control	122.43 ^d	2.26 ^{bc}	1721.52 ^e	37.16 ^{cd}

Tabla 22. Altura y grosor de tallo, área foliar y clorofila de plántulas de jitomate en cada uno de los tratamientos evaluados, así como del control sin inocular. Tratamiento 1: *S. rhizophila*. Tratamiento 2: *B. pumilus*. Tratamiento 3: *S. rhizophila* 2. Tratamiento 4: *S. rhizophila* + *B. pumilus*. Tratamiento 5: *S. rhizophila* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 6: *B. pumilus* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 7: *S. rhizophila* + *Bacillus pumilus* + *S. rhizophila* 2. * Los valores mostrados son el promedio de tres réplicas, es decir, 30 plántulas. ^a : análisis de varianza ANOVA y prueba de múltiples rangos indican diferencia estadística significativa entre los tratamientos. Las letras distintas señalan diferencias estadísticas entre los tratamientos.

La inoculación de los tratamientos no tiene un aumento significativo en la longitud del tallo, al contrario la disminuyen, siendo el tratamiento 3 en el que se observa el menor tamaño de las plántulas (Figura 45). El efecto de los tratamientos 2, 4 y 7 comienzan a observarse a partir de la tercera semana de inoculación, sin embargo, al finalizar las pruebas, no se observa diferencia significativa entre el tratamiento 2 y el control, siendo estos los que arrojaron plántulas de mayor altura. El tratamiento 3, por el contrario, minimiza el tamaño de las plántulas de jitomate en un 21.83%. De acuerdo a los datos de la Tabla 22, los tratamientos que arrojan plantas con mayor tamaño son el tratamiento 6 y el control, siendo estos tratamientos iguales estadísticamente.

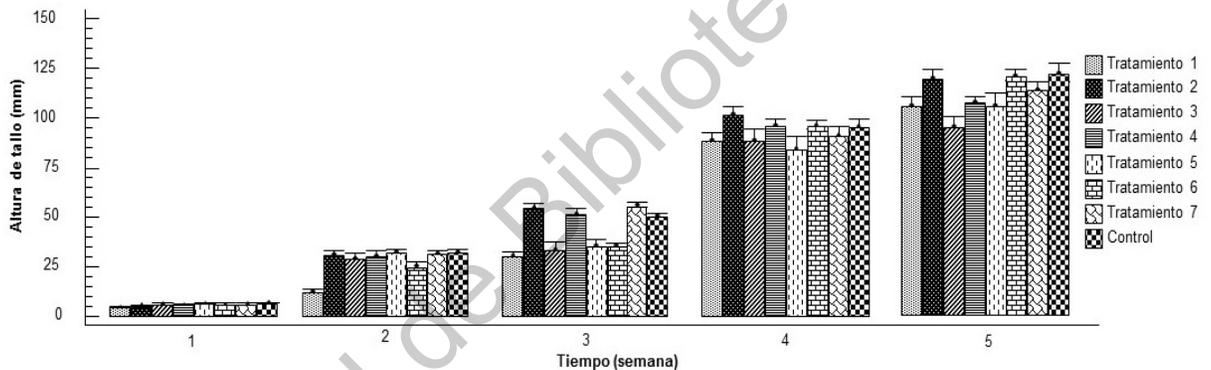


Figura 45. Gráfica que muestra el efecto sobre la altura de tallo en plántulas de jitomate con cada uno de los tratamientos a través del tiempo. Siendo el Tratamiento 1: *S. rhizophila*. Tratamiento 2: *B. pumilus*. Tratamiento 3: *S. rhizophila* 2. Tratamiento 4: *S. rhizophila* + *B. pumilus*. Tratamiento 5: *S. rhizophila* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 6: *B. pumilus* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 7: *S. rhizophila* + *Bacillus pumilus* + *S. rhizophila* 2. Se observa que a partir de la semana 3 los tratamientos tienen un efecto promotor en la altura de las plántulas. Sin embargo no hay diferencia estadística significativa entre la altura obtenida al finalizar la experimentación entre el tratamiento 2 y el control.

Comprobando los resultados que se obtuvieron en este estudio, se encuentra el realizado por Ramírez, Ulloa y Medina (2013) donde describen que la inoculación de hongos micorrízicos arbusculares, *P. putida* y nematodos de manera individual o en consorcio no afecta la altura de plantas de jitomate, siendo los nematodos los únicos que provocan una disminución en la altura de las mismas. Así mismo, Xiaohui *et al.* (2017), al inocular una mezcla de *B. pumilus* y *B. amyloliquefaciens* no observaron diferencias significativas en la altura de las plantas de jitomate al compararlas con el control sin inocular, sin embargo, al agregar un fertilizante de liberación controlada y la mezcla de bacterias en un suelo con nitrógeno bajo se

observa un efecto positivo en la altura de las plantas en comparación con las no inoculadas.

Por otro lado, Ojha, Benjamin y Singh (2018) comprobaron que el mejor tratamiento para aumentar la altura de plántulas de jitomate es una dosis recomendada de NPK, 1 kg de composta y un inóculo de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR) a las semillas, el cual, puede aumentar casi un 50% la altura de las plantas respecto al control.

La aplicación de las bacterias *P. putida*, *B. pumilus*, *B. mojavensis* y *B. amyloliquefaciens* solas o en varias combinaciones no aumenta significativamente la altura de plantas de tomate en comparación con controles no tratados (He *et al.*, 2019). Estos estudios muestran que la inoculación de algunas bacterias, aunque sean efectivas para aumentar la altura de algunos cultivos, no lo son para las plantas de jitomate, sin embargo, pueden ser utilizadas en combinación con fertilizantes y mejorar su rendimiento agrícola.

El efecto de los tratamientos en el grosor de tallo de las plántulas comenzó a tener un efecto benéfico a partir de la semana 3 después de la siembra, principalmente por parte de los tratamientos 3, 5 y 6. Sin embargo, el tratamiento 1, que obtuvo las plántulas con mayor diámetro, su efecto más visible se observó de la semana 4 a la 5, ya que en la semana 4 era el tratamiento con plántulas más delgadas (Figura 46). De acuerdo a los resultados de la tabla 22, la inoculación con *S. rhizophila* aumenta en un 8.41% el grosor de tallo de las plántulas con respecto al control.

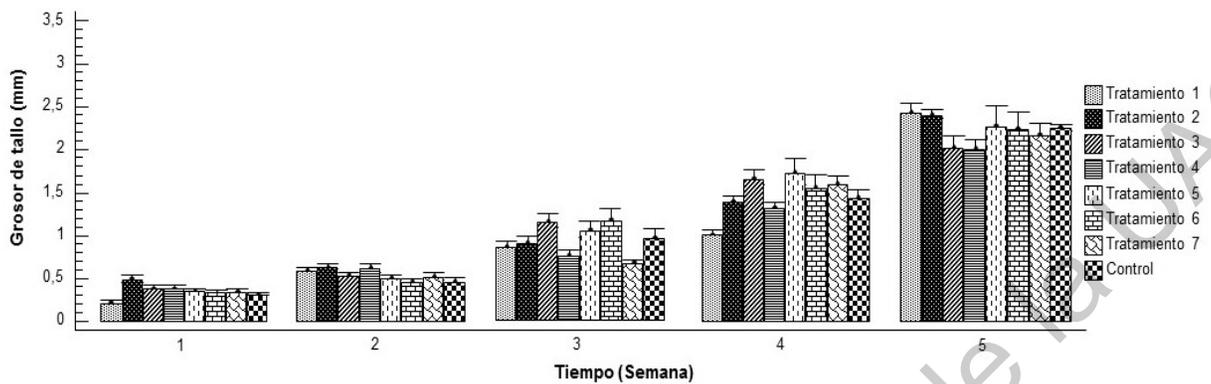


Figura 46. Gráfica que muestra el efecto sobre el grosor de tallo en plántulas de jitomate de cada uno de los tratamientos a través del tiempo. Siendo Tratamiento 1: *S. rhizophila*. Tratamiento 2: *B. pumilus*. Tratamiento 3: *S. rhizophila* 2. Tratamiento 4: *S. rhizophila* + *B. pumilus*. Tratamiento 5: *S. rhizophila* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 6: *B. pumilus* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 7: *S. rhizophila* + *Bacillus pumilus* + *S. rhizophila* 2. Se observa que a partir de la semana 3 los tratamientos tienen un efecto positivo en el engrosamiento del tallo de las plántulas y al finalizar el experimento las plántulas del tratamiento 1 muestran el tallo más grueso.

Ramírez et al. (2013) encontraron que al inocular plantas de jitomate con hongos micorrízicos arbusculares se logra aumentar el diámetro del tallo en un 7.18% al compararlo con un control sin inocular. Por su parte, la cepa *Arthrobacter* sp. tiene la capacidad de aumentarlo en un 7.69% (Cordero, Balaguer, Rincón y Pueyo, 2018), siendo más efectiva la cepa *S. rhizophila*, esta bacteria mejora la captación de nitrógeno y fósforo, lo cual, provee mayor nutrición a la planta y puede verse reflejado en el diámetro de su tallo, haciéndola más fuerte (Egamberdieva et al., 2016). Sin embargo, un estudio realizado por Moustaine, Elkahkahi, Benbouazza, Benkirane y Achbani (2017) demuestran que la inoculación de *Bacillus cereus* a cultivos de tomate aumenta en un 40.74% el grosor del tallo con respecto al control sin inocular debido a que esta bacteria libera hormonas que afectan directamente el crecimiento de los tejidos vegetales.

La relación entre la altura y el grosor de tallo de las plántulas de jitomate (Tabla 23) indican que el tratamiento 1 fue donde se relacionó de una mejor manera la altura con el grosor obtenido. Además, se encontraron proporciones intermedias entre los tratamientos, es decir, ninguno de los tratamientos utilizados provoca que las plantas se elonguen demasiado o que presenten un tallo muy grueso y corto.

Tratamiento	Pendiente	Correlación	R ² (%)	Ecuación
				$y = (a + bx)^2$
1	3.62885	0.960056	92.1707	$y = (1.47043 + 3.62885G)^2$
2	3.71577	0.861843	74.2773	$y = (2.89979 + 3.71577G)^2$
3	3.83905	0.912815	83.3231	$y = (2.06565 + 3.83905G)^2$
4	4.07218	0.861241	74.1736	$y = (2.93383 + 4.07218G)^2$
5	3.60837	0.918334	64.3334	$y = (2.4961 + 3.60837G)^2$
6	3.71172	0.9304	86.5644	$y = (2.24998 + 3.71172G)^2$
7	3.47352	0.88691	78.6609	$y = (3.52182 + 3.47352G)^2$
Control	3.75624	0.931288	86.7296	$y = (3.1424 + 3.75624G)^2$

Tabla 23. Modelo matemático de la forma $y=(a+bx)^2$ para describir la relación entre la altura y el grosor de tallo de las plántulas de lechuga en cada uno de los tratamientos. Siendo Tratamiento 1: *S. rhizophila*. Tratamiento 2: *B. pumilus*. Tratamiento 3: *S. rhizophila* 2. Tratamiento 4: *S. rhizophila* + *B. pumilus*. Tratamiento 5: *S. rhizophila* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 6: *B. pumilus* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 7: *S. rhizophila* + *Bacillus pumilus* + *S. rhizophila* 2. G=grosor de tallo. Existe una relación estadísticamente significativa entre altura y grosor de tallo con un nivel de confianza del 95.0%.

Las plántulas del tratamiento 4 son las más largas y de tallo más delgado, siendo las menos viables para un buen desarrollo, mientras que las que presentan una proporción adecuada o intermedia son las del tratamiento 7, siendo estas, las más vigorosas con base a su altura y grosor de tallo. La sinergia que presentan las tres cepas bacterianas es adecuada para que las plantas crezcan proporcionalmente y tengan un desarrollo viable en campo.

El área foliar en la semana 5 se observa más abundante en las plántulas del tratamiento 1, seguido por el control. En la figura 47 es claro el efecto negativo que tiene el tratamiento 3 y el tratamiento 7 para el área foliar, siendo estos dos los menos recomendable si lo que se desea es aumentar dicha variable. De acuerdo a los resultados de la Tabla 22, el aumento que genera la inoculación de la bacteria *S. rhizophila* con respecto al control es de 27.10%, este efecto puede atribuirse a la liberación de hormonas y compuestos que mejoran el crecimiento vegetal, así como el aumento en la absorción de nutrientes (Heredia-Acuña et al., 2018).

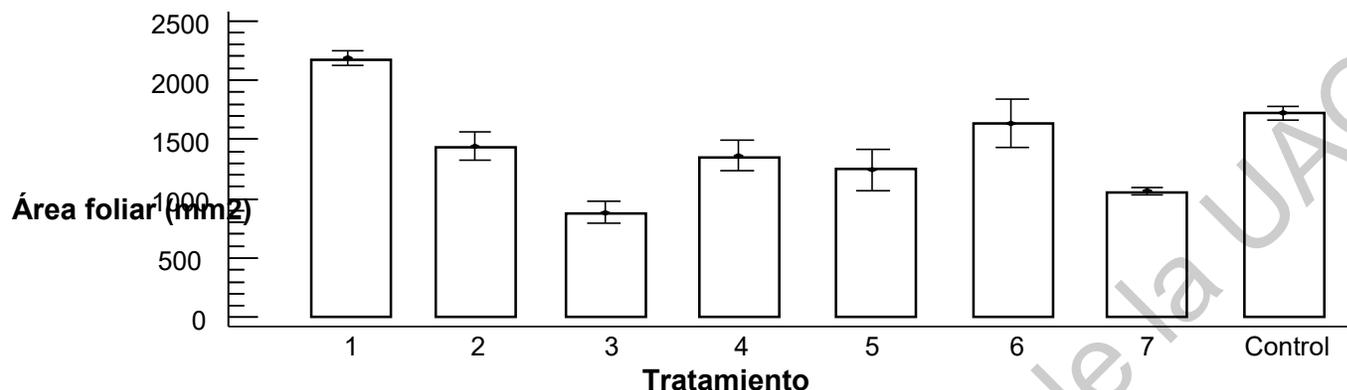


Figura 47. Gráfica de área foliar calculada al término de la experimentación para cada uno de los tratamientos. Tratamiento 1: *S. rhizophila*. Tratamiento 2: *B. pumilus*. Tratamiento 3: *S. rhizophila* 2. Tratamiento 4: *S. rhizophila* + *B. pumilus*. Tratamiento 5: *S. rhizophila* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 6: *B. pumilus* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 7: *S. rhizophila* + *Bacilus pumilus* + *S. rhizophila* 2. Las plántulas del tratamiento 1 presentan una mayor área foliar en comparación con el control y el resto de los tratamientos.

La co-inoculación de hongos micorrízicos arbusculares y *Pseudomonas putida* promueve un aumento en el área foliar de plantas de jitomate en un 70.44%, debido al efecto que tienen los hongos sobre la raíz de la planta que le permite una mejor absorción de nutrientes (Ramírez *et al.*, 2013). Además, la inoculación del hongo micorrízico *G. intraradices* en combinación con *A. brasilense* mediante una aplicación a las semillas y dos posteriores a la siembra, incrementa el área foliar un 9% comparado con un control tratado con nitrógeno, fósforo y potasio (Lira-Saldivar *et al.*, 2014). Ojha *et al.* (2018) lograron incrementar el área foliar de plantas de chile un 42.83% mediante un tratamiento de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal, 1 kg de composta y una dosis recomendada de NPK.

Finalmente, la clorofila presentó un aumento con el tratamiento 2, en comparación con los otros tratamientos, sin embargo, no existe diferencia estadística significativa con el control, lo que indica que la inoculación de *B. pumilus* no afecta la cantidad de clorofila con respecto al control sin inocular. Mientras que el tratamiento 3 afecta de manera negativa (Figura 48).

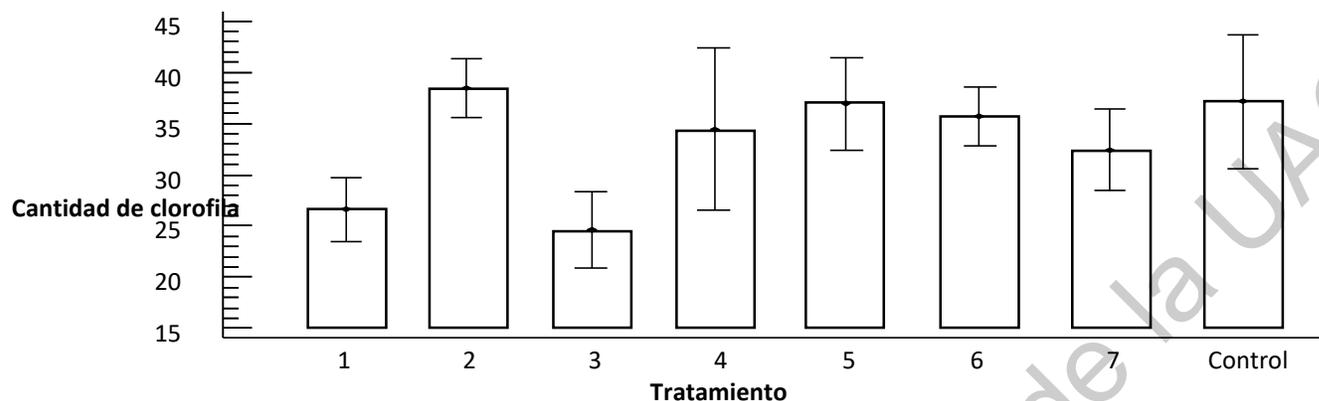


Figura 48. Gráfica del contenido de clorofila medida al término de la experimentación para cada uno de los tratamientos. Tratamiento 1: *S. rhizophila*. Tratamiento 2: *B. pumilus*. Tratamiento 3: *S. rhizophila* 2. Tratamiento 4: *S. rhizophila* + *B. pumilus*. Tratamiento 5: *S. rhizophila* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 6: *B. pumilus* + *S. rhizophila* 2. Tratamiento 7: *S. rhizophila* + *Bacillus pumilus* + *S. rhizophila* 2.

En los estudios realizados con anterioridad no se han enfocado en la cantidad de clorofila que presentan las hojas de las plantas de tomate tras ser inoculadas, ni cómo afecta la presencia de bacterias promotoras de crecimiento vegetal en dicha variable, sin embargo, en un estudio realizado por Moustaine *et al.* (2017) midieron la cantidad de clorofila presente en las hojas de tomate al inocular las plantas con *Serratia proteamaculans*, los resultados obtenidos demuestran que dicha bacteria aumenta en un 92% el contenido de clorofila con respecto a un control sin inocular, esto, debido a que la bacteria tiene la capacidad de solubilizar fosfato, producir ácido indol acético, producir amoníaco (NH_3), fijar nitrógeno atmosférico y producir compuestos como celulasa, quitinasa y proteasa, lo que mejora la salud y nutrición de las plantas.

Para aumentar el crecimiento de las variables medidas en las plántulas de jitomate, no se recomienda hacer uso de los consorcios bacterianos propuestos, siendo que para la altura ningún tratamiento fue efectivo, el tratamiento 1 genera plántulas con un mayor diámetro y mayor área foliar, mientras que el tratamiento 2 aumentó el contenido de clorofila. Sin embargo, al relacionar la altura y el grosor de tallo, los mejores resultados se obtuvieron con el consorcio entre las tres bacterias. Es importante evaluar lo que se quiere obtener para hacer una elección correcta del inóculo a aplicar.

Las diferencias presentadas entre las respuestas de las semillas de lechuga y jitomate en la germinación y las plántulas de chile jalapeño, acelga, lechuga y jitomate inoculadas con diferentes cepas bacterianas se dan principalmente por las interacciones generadas entre la bacteria o bacterias y la planta. Cada cepa después de ser inoculada libera distintas sustancias que pueden ser benéficas para un cultivo, siempre y cuando se encuentren en cantidades suficientes para mejorar el crecimiento y desarrollo de la planta. A su vez, las plantas producen compuestos químicos que atraen a determinados microorganismos y se generan condiciones adecuadas para su establecimiento en la rizósfera de la planta (Carrillo-Castañeda, Juárez-Muñoz, Ruiz-Landac y Müller-García, 2000).

Para que exista una respuesta favorable debe existir afinidad entre los compuestos producidos por ambos organismos, es por esto, que en cada especie vegetal se observan respuestas distintas ante los diferentes tratamientos aplicados. Por esto se recomienda realizar estudios especializados en la interacción microorganismo-planta para elucidar los cambios bioquímicos que puede estar generando la bacteria en la planta.

A manera de resumen se presenta una tabla donde se condensan todos los resultados, se muestran las variables medidas a cada planta, así como el tratamiento que benefició o aumentó la variable señalada, con la finalidad de compararlos y encontrar el tratamiento más adecuado para cada especie vegetal (Tabla 24).

Planta	Germinación	Altura	Grosor	Relación altura-grosor	Área foliar	Clorofila
Chile jalapeño	N.A.	T. 1	T. 3	T. 7	T. 6, 2 y 4	T. 1
Acelga	N.A.	T. 5	T. 3, 4 y 5	T. 7	T. 4	NA
Lechuga	T. 7	T. 4	T. 6	T. 7	T. 2 y 3	NA
Jitomate	T. 7 y 1	T. 8 y 6	T. 1	T. 7	T. 1	NA

Tabla 24. Resumen de resultados obtenidos para cada especie vegetal y sus variables. Se describen los tratamientos que aumentaron o mejoraron la variable a medir. Tratamiento 1: S. rhizophila. Tratamiento 2: B. pumilus. Tratamiento 3: S. rhizophila 2. Tratamiento 4: S. rhizophila + B. pumilus. Tratamiento 5: S. rhizophila + S. rhizophila 2. Tratamiento 6: B. pumilus + S. rhizophila 2. Tratamiento 7: S. rhizophila + Bacillus pumilus + S. rhizophila 2. NA: los tratamientos no presentaron diferencia significativa. T= tratamiento.

Para elegir un tratamiento en específico es importante definir qué es lo que se busca mejorar. En el caso del chile jalapeño, el área foliar no es lo más importante en la planta, por lo que el mejor tratamiento es el 7, que asegura que las plantas son vigorosas y tendrán un buen desarrollo, mientras que la acelga y la lechuga, tiende a ser más importante el área foliar, ya que es la que se utiliza para consumo, por lo que es recomendable utilizar el tratamiento 4 en la acelga y el 2 o 3 en la lechuga, sin embargo, el tratamiento 7 mejorará la germinación y asegurará que las plantas tendrán un desarrollo óptimo por su relación altura-grosor de tallo. Finalmente en las plántulas de jitomate, el tratamiento 7, al igual que en la lechuga, mejorará el porcentaje de germinación y las plantas tendrán un mejor desarrollo que con el resto de los tratamientos.

VII. CONCLUSIONES.

Se aislaron tres bacterias presentes en una composta y se identificaron como *Stenotrophomonas rhizophila*, *Bacillus pumilus* y *Stenotrophomas rhizophila 2*. Son compatibles, presentan alta capacidad de solubilizar fosfato e inhiben a *Fusarium oxysporum*.

El sinergismo entre las bacterias *S. rhizophila*, *B. pumilus* y *S. rhizophila 2* incrementa la tasa de germinación de semillas de lechuga en un 24.03% y un 6.29% en las de jitomate.

El sinergismo entre las tres bacterias genera plántulas de chile jalapeño, acelga, lechuga y jitomate con relación altura-grosor de tallo adecuada, lo que les permite un buen desarrollo en campo.

El sinergismo entre *B. pumilus* y *S. rhizophila 2* aumenta en un 41.21% el grosor de tallo de plántulas de lechuga. El sinergismo entre los dos aislados de *S. rhizophila* aumenta 43.74% la altura y 55.48% el grosor de tallo de la acelga. Mientras que el sinergismo entre *S. rhizophila* y *B. pumilus* aumenta el área foliar del chile jalapeño en un 210.45% y 109.75% en la acelga, así como un 35.1% en la altura de la lechuga.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- Abbas, M. T., Hamza, M. A., Youssef, H. H., Youssef, G. H., Fayed, M., Monib, M., y Hegazi, N. A. (2014). Bio-preparates support the productivity of potato plants grown under desert farming conditions of north Sinai: Five years of field trials. *Journal of Advanced Research*, 5(1), 41–48.
- Abd-Alla, M. H., El-Enany, A.-W. E., Nafady, N. A., Khalaf, D. M., y Morsy, F. M. (2014). Synergistic interaction of *Rhizobium leguminosarum* bv. viciae and arbuscular mycorrhizal fungi as a plant growth promoting biofertilizers for faba bean (*Vicia faba* L.) in alkaline soil. *Microbiological Research*, 169(1), 49–58.
- Adegunloye, D. V., Adetuyi, F. C., Akinyosoye, F. A., & Doyeni, M. O. (2007). Microbial Analysis of Compost Using Cowdung as Booster, 6(5), 506–510.
- Adesemoye, A. O., y Kloepper, J. W. (2009). Plant-microbes interactions in enhanced fertilizer-use efficiency. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85(1), 1–12.
- Aeron, A., Kumar, S., Pandey, P., y Maheshwari, D. K. (2011). *Bacteria in Agrobiolgy: Crop Ecosystems. Bacteria in Agrobiolgy: Crop Ecosystems*.
- Afzal, A., y Bano, A. (2008). *Rhizobium* and phosphate solubilizing bacteria improve the yield and phosphorus uptake in wheat (*Triticum aestivum*). *Int J Agric Biol*, 10(1), 85-88.
- Aguilar, R. L., García, A. T., Bravo, S. P., Muñoz, J. M., y Fosado, O. (2016). Efecto de la materia orgánica y microorganismos eficientes en el comportamiento productivo de la acelga. Effect of organic matter and efficient soil microorganisms on the yield of swiss chard.
- Aguirre-Mancilla, C.L., Iturriaga de la Fuente, G., Ramírez-Pimentel, J.G., Covarrubias-Prieto, J., Chablé-Moreno, F., Raya-Pérez, J.C. (2017). El chile (*C. Annuum* L.), cultivo y producción de semilla, 5, 19–31.
- Aguirre-Medina, J. F., y Espinosa Moreno, J. A. (2016). Crecimiento y rendimiento de *Capsicum annum* L. inoculado con endomicorriza y rizobacterias. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 7(7), 1539-1550.
- Agrios, G. N. (1995). Fitopatología. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 838.
- Ahkami, A. H., White III, R. A., Handakumbura, P. P., y Jansson, C. (2017). Rhizosphere engineering: Enhancing sustainable plant ecosystem productivity. *Rhizosphere*, 3, 233-243.
- Ahmad, F., Ahmad, I., y Khan, M. S. (2008). Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbiological Research*, 163(2), 173–181.
- Al-Khiat, S. H. A. (2006). Effect of cyanobacteria as a soil conditioner and biofertilizer on growth and some biochemical characteristics of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) seedlings. *Praca doktorska, King Saud University, Faculty of Science*, 1-190.
- Alavi, P., Starcher, M. R., Thallinger, G. G., Zachow, C., Müller, H., y Berg, G. (2014). Stenotrophomonas comparative genomics reveals genes and functions that differentiate beneficial and pathogenic bacteria. *BMC Genomics*, 15(1), 1–15.
- Alavi, P., Starcher, M. R., Zachow, C., Müller, H., y Berg, G. (2013). Root-microbe systems: the effect and mode of interaction of Stress Protecting Agent (SPA) *Stenotrophomonas rhizophila* DSM14405T. *Frontiers in Plant Science*, 4(May), 1–10. <http://doi.org/10.3389/fpls.2013.00141>
- Alexandratos, N., y Bruinsma, J. (2012). *World agriculture towards 2030/2050: the 2012 revision*, 12(3). FAO, Rome: ESA Working paper.
- Ali, S. M., Hamza, M. A., Amin, G., Fayed, M., El-Tahan, M., Monib, M., y Hegazi, N. A. (2005). Production of biofertilizers using baker's yeast effluent and their application to wheat and barley grown in north Sinai deserts. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 51(6), 589–604.
- Aponte, A., Castillo, O., Cabrera, G., Pernia, M., y Hernandez, Y. (2017). Rhizobacteria *Pseudomonas fluorescens* and *Azospirillum* sp. association enhances growth of *Lactuca sativa* L. under tropical conditions. *Journal of Central European Agriculture*, 18(2), 424–440.
- Araujo, J., Díaz-Alcántara, C. A., Velázquez, E., Urbano, B., y González-Andrés, F. (2015). Bradyrhizobium yuanmingense related strains form nitrogen-fixing symbiosis with *Cajanus cajan* L. in Dominican Republic and are efficient biofertilizers to replace N fertilization. *Scientia Horticulturae*, 192, 421–428.
- Arias, A. (2010). Microorganismos eficientes y su beneficio para la agricultura y el medio ambiente.

- Journal de Ciencia e Ingeniería*, 2(02), 42-45.
- Armada, E., Probanza, A., Roldán, A., y Azcón, R. (2016). Native plant growth promoting bacteria *Bacillus thuringiensis* and mixed or individual mycorrhizal species improved drought tolerance and oxidative metabolism in *Lavandula dentata* plants, 192, 1–12.
- Armando, M. R., Dogi, C. A., Poloni, V., Rosa, C. A. R., Dalcerro, A. M., y Cavaglieri, L. R. (2013). In vitro study on the effect of *Saccharomyces cerevisiae* strains on growth and mycotoxin production by *Aspergillus carbonarius* and *Fusarium graminearum*. *International Journal of Food Microbiology*, 161(3), 182–188.
- Arroyave-Toro, J. J., Mosquera, S., y Villegas-Escobar, V. (2017). Biocontrol activity of *Bacillus subtilis* EA-CB0015 cells and lipopeptides against postharvest fungal pathogens. *Biological Control*, 114(7), 195–200.
- Artursson, V., Finlay, R. D., y Jansson, J. K. (2006). Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria and their potential for stimulating plant growth. *Environmental Microbiology*, 8(1), 1–10.
- Aslam, S., Hussain, A., y Qazi, J. I. (2016). Dual action of chromium-reducing and nitrogen-fixing *Bacillus megaterium*-ASN3 for improved agro-rehabilitation of chromium-stressed soils. 3 *Biotech*, 6(2), 1–11.
- Aslantaş, R., Çakmakçı, R., y Şahin, F. (2007). Effect of plant promoting rhizobacteria on young apple tree growth and fruit yield under orchard conditions. *Scientia Horticulturae*, 111(4), 371–377.
- Ato Sánchez, V. (2015). Efecto de los tratamientos con *Azotobacter chroococcum* sobre el desarrollo y producción de lechugas y escarolas en cultivo ecológico y tradicional.
- Awasthi, A., Bharti, N., Nair, P., Singh, R., Shukla, A. K., Gupta, M. M. y Kalra, A. (2011). Synergistic effect of *Glomus mosseae* and nitrogen fixing *Bacillus subtilis* strain Daz26 on artemisinin content in *Artemisia annua* L. *Applied Soil Ecology*, 49(1), 125–130. <http://doi.org/10.1016/j.apsoil.2011.06.005>
- Bae, S. J., Mohanta, T. K., Chung, J. Y., Ryu, M., Park, G., Shim, S., y Bae, H. (2016). *Trichoderma* metabolites as biological control agents against *Phytophthora* pathogens. *Biological Control*, 92, 128–138.
- Bais, H.P., Weir, T.L., Perry, L.G., Gilroy, S., y Vivanco, J.M. (2006). The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annu. Rev. Plant Biol.* 57, 233–266.
- Baldani, D., Baldani, J. I., y Döberner, J. (2000). Inoculation of rice plants with the endophytic diazotrophs *Herbaspirillum seropedicae* and *Burkholderia* spp. *Biology and Fertility of Soils*, 30, 485–491.
- Bashan, Y., Kloepper, J. W., de-Bashan, L. E., y Nannipieri, P. (2016). A need for disclosure of the identity of microorganisms, constituents, and application methods when reporting tests with microbe-based or pesticide-based products. *Biology and Fertility of Soils*, 52(3), 283-284.
- Bellenger, J. P., Xu, Y., Zhang, X., Morel, F. M., y Kraepiel, A. M. (2014). Possible contribution of alternative nitrogenases to nitrogen fixation by asymbiotic N₂-fixing bacteria in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 69, 413-420.
- Berk, C. (1960). Studies of the biology of *Sclerotium*, 48, 8–18.
- Betancourt, D. A., Loveless, T. M., Brown, J. W., y Bishop, P. E. (2008). Characterization of diazotrophs containing Mo-independent nitrogenases, isolated from diverse natural environments. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(11), 3471–3480.
- Bhattacharjee, R. B., Singh, A., y Mukhopadhyay, S. N. (2008). Use of nitrogen-fixing bacteria as biofertiliser for non-legumes: Prospects and challenges. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 80(2), 199–209.
- Bilal, M., Ayub, M., Tariq, M., Tahir, M., y Nadeem, M. A. (2017). Dry matter yield and forage quality traits of oat (*Avena sativa* L.) under integrative use of microbial and synthetic source of nitrogen. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 16(3), 236–241.
- Biswas, J. C., Ladha, J. K., y Dazzo, F. B. (2010). Rhizobia Inoculation Improves Nutrient Uptake and Growth of Lowland Rice. *Soil Science Society of America Journal*, 64(5), 1644.
- Blagova, D. K., Vershinina, Z. R., Nigmatullina, L. R., Lavina, A. M., Baimiev, A. K., y Baimiev, A. K. (2015). Artificial associative symbioses between tomato plants and fungistatic *Rhizobium*.

- Sельскохозяйственная биология, (1 (eng)).
- Bojórquez, A. D., Gutiérrez, C. G., Báez, J. R., Sánchez, M. Á., Montoya, L. G., y Pérez, E. N. (2010). Biofertilizantes en el desarrollo agrícola de México. *Ra Ximhai: revista científica de sociedad, cultura y desarrollo sostenible*, 6(1), 51-56.
- Breedt, G., Labuschagne, N., y Coutinho, T. A. (2017). Seed treatment with selected plant growth-promoting rhizobacteria increases maize yield in the field. *Annals of Applied Biology*, 171(2), 229–236.
- Bujold, I., Paulitz, T. C., y Carisse, O. (2007). Effect of *Microsphaeropsis* sp. on the Production of Perithecia and Ascospores of *Gibberella zeae*. *Plant Disease*, 85(9), 977–984.
- Byrne, J. M., Dianese, A. C., Ji, P., Campbell, H. L., Cuppels, D. A., Louws, F. J., y Wilson, M. (2005). Biological control of bacterial spot of tomato under field conditions at several locations in North America. *Biological Control*, 32(3), 408–418.
- Çakmakçı, R., Kantar, F., y Sahin, F. (2001). Effect of N₂-fixing bacterial inoculations on yield of sugar beet and barley. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 164(5), 527–531.
- Calvo-Polanco, M., Sánchez-Romera, B., Aroca, R., Asins, M. J., Declerck, S., Dodd, I. C. y Ruiz-Lozano, J. M. (2016). Exploring the use of recombinant inbred lines in combination with beneficial microbial inoculants (AM fungus and PGPR) to improve drought stress tolerance in tomato. *Environmental and Experimental Botany*, 131, 47–57.
- Camacho, A. D., Martínez, L., y Saad, H. R. (2014). EN EL COMPOSTAJE DE RESIDUOS SÓLIDOS Potential of Different Microorganisms for Solid Waste Composting, 291–300.
- Cano, M. A. (2011). Interacción de microorganismos benéficos en plantas: micorrizas, *Trichoderma* spp. y *Pseudomonas* spp. Una revisión. *Revista UDCA Actu. & Div. Cient.*, 14(2), 15-31.
- Capone, D. G., Burns, J. A., Montoya, J. P., Subramaniam, A., Mahaffey, C., Gunderson, T. y Carpenter, E. J. (2005). Nitrogen fixation by *Trichodesmium* spp.: An important source of new nitrogen to the tropical and subtropical North Atlantic Ocean. *Global Biogeochemical Cycles*, 19(2), 1–17.
- Carrillo-Castañeda, G., Juárez Muos, J., Peralta-Videa, J. R., Gomez, E., Tiemannb, K. J., Duarte-Gardea, M., y Gardea-Torresdey, J. L. (2002). Alfalfa growth promotion by bacteria grown under iron limiting conditions. *Advances in Environmental Research*, 6(3), 391–399.
- Carrillo-Castañeda, G., Juárez-Muñoz, J., Ruiz-Landa, D., y Müller-García, R. (2000). Aumento del rendimiento de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) cuando la raíz se desarrolla colonizada por microorganismos. *Biotecnología aplicada*, 17(3), 171-176.
- Castillo, H., Rojas, R., y Villalta, M. (2016). Actividad antagonista de *Gliocladium* sp. contra *Sclerotium cepivorum*. *Revista Tecnología en Marcha*, 57-64.
- Castro Gil, H. C. (2013). Selección in vitro de cultivos rizobianos que promueven la germinación de semillas de *Lactuca sativa* "lechuga".
- Cerna-Yamali, T., Salinas-Aranda, E., y Soriano-Bernilla, B. (2018). Sinergismo entre *Azotobacter chroococcum* y *Bradyrhizobium yuanmingense* en el crecimiento de *Lactuca sativa* "lechuga". *Scientia Agropecuaria*, 9(4), 519-526.
- Colina-Navarrete, E., Castro-Arteaga, C., Cadena-Piedrahita, D., Sotomayor-Morán, A., Galarza-Centeno, E., y López-Villacrés, M. (2017). Microorganismos Fijadores De Nitrógeno Y Su Acción Complementaria A La Fertilización Química En El Cultivos De *Coffea arabica* L., 13(3), 211–222.
- Colla, G., Roupshael, Y., Di Mattia, E., El-Nakhel, C., y Cardarelli, M. (2015). Co-inoculation of *Glomus intraradices* and *Trichoderma atroviride* acts as a biostimulant to promote growth, yield and nutrient uptake of vegetable crops. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(8), 1706-1715.
- CONAPO (2014). Proyecciones de la población de México 2010-2050. Prospectiva Demográfica. México.
- Conde, M. I. R., Ocampo, S. A., Castañeda, G. C., Hernández, A. R. G., y Aguilar, G. M. B. (2018). Effect of fluorescent *Pseudomonas* on tomato seed germination and seedling vigor. *REVISTA CHAPINGO SERIE HORTICULTURA*, 24(2), 121-131.
- Cordero, I., Balaguer, L., Rincón, A., y Pueyo, J. J. (2018). Inoculation of tomato plants with selected PGPR represents a feasible alternative to chemical fertilization under salt stress. *Journal of*

Plant Nutrition and Soil Science.

- Costa, F. M., Schiavo, J. A., Brasil, M. S., Leite, J., Xavier, G. R., y Fernandes, P. I. (2014). Phenotypic and molecular fingerprinting of fast growing rhizobia of field-grown pigeonpea from the eastern edge of the Brazilian Pantanal. *Genetics and Molecular Research*, 13(1), 469–482.
- Cracogna, M., Iglesias, M., Diaz, I., Gonzáles, N., y Carbajal, M. (2003). Utilización de *Azospirillum* y bacterias solubilizadoras de fósforo en el cultivo de trigo. *Comunicaciones Científicas y Tecnológicas. Argentina. Universidad Nacional del Nordeste*.
- Creus, C. M. (2017). Inoculantes microbianos: piezas de un rompecabezas que aún requiere ser ensamblado. *Revista Argentina de Microbiología*, 49(3), 207–209.
- Cuando, G., & La, F. (2009). Cuenta en placa de bacterias, 1–10.
- da Silva, C. D. F., Brito, T. L. D., Taniguchi, C. A., Lopes, L. A., Pinto, G. A., y de Carvalho, A. C. (2018). Growth-promoting potential of bacterial biomass in the banana micropropagated plants. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 22(11), 782-787.
- Dal Bello, G. M., Mónaco, C. I., y Simón, M. R. (2002). Biological control of seedling blight of wheat caused by *Fusarium graminearum* with beneficial rhizosphere microorganisms. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 18(7), 627–636. <http://doi.org/10.1023/A:1016898020810>
- Dal Cortivo, C., Barion, G., Visioli, G., Mattarozzi, M., Mosca, G., y Vamerli, T. (2017). Increased root growth and nitrogen accumulation in common wheat following PGPR inoculation: Assessment of plant-microbe interactions by ESEM. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 247(November 2016), 396–408.
- De la Garza M. y Pacheco S. (2010). La lucha por el hierro (Primera edición). México, CDMX: Cinvestav. ISBN 978-607-9023-01-0.
- de Souza, R., Ambrosini, A., y Passaglia, L. M. P. (2015). Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. *Genetics and Molecular Biology*, 38(4), 401–419.
- Di Francesco, A., Milella, F., Mari, M., y Roberti, R. (2017). A preliminary investigation into *Aureobasidium pullulans* as a potential biocontrol agent against *Phytophthora infestans* of tomato. *Biological Control*, 114(August), 144–149.
- Díaz Franco, A., Alvarado Carrillo, M., Ortiz Chairez, F., y Grageda Cabrera, O. (2013). Nutrición de la planta y calidad de fruto de pimiento asociado con micorriza arbuscular en invernadero. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 4(2), 315-321.
- Díaz Vargas, P., Ferrera-Cerrato, R., Almaraz-Suárez, J. J., y González, G. A. (2001). Inoculation of Plant Growth-promoting Bacteria in Lettuce. *Terra*. 19(4).
- Disi, J. O., Kloepper, J. W., y Fadamiro, H. Y. (2018). Seed treatment of maize with *Bacillus pumilus* strain INR-7 affects host location and feeding by Western corn rootworm, *Diabrotica virgifera virgifera*. *Journal of Pest Science*, 91(2), 515–522.
- Disi, J. O., Mohammad, H. K., Lawrence, K., Kloepper, J., y Fadamiro, H. (2019). A soil bacterium can shape belowground interactions between maize, herbivores and entomopathogenic nematodes. *Plant and Soil*, 83–92.
- Divi, U. K., Rahman, T., y Krishna, P. (2016). Gene expression and functional analyses in brassinosteroid-mediated stress tolerance. *Plant biotechnology journal*, 14(1), 419-432.
- Dursun, A., Yildirim, E., Ekinci, M., Turan, M., Kul, R., y Karagöz, F. P. (2017). Nitrogen fertilization and plant growth promoting rhizobacteria treatments affected amino acid content of cabbage. *AIP Conference Proceedings*, 1833.
- Egamberdieva, D., Jabborova, D., & Berg, G. (2016). Synergistic interactions between *Bradyrhizobium japonicum* and the endophyte *Stenotrophomonas rhizophila* and their effects on growth, and nodulation of soybean under salt stress. *Plant and Soil*, 405(1-2), 35–45.
- Egamberdieva, D., Kucharova, Z., Davranov, K., Berg, G., Makarova, N., Azarova, T. y Lugtenberg, B. (2011). Bacteria able to control foot and root rot and to promote growth of cucumber in salinated soils. *Biology and Fertility of Soils*, 47(2), 197–205.
- Elias, L. M., Victor, M., Domingues, P. F., Elaine De Moura, K., Harakava, R., Rodrigues, F. y Patrício, A. (2016). Selection of *Trichoderma* isolates for biological control of *Sclerotinia minor* and *S. sclerotiorum* in lettuce. *Summa Phytopathologica*, 42(3), 216–221.
- Erdogan, O., y Benlioglu, K. (2010). Biological control of *Verticillium* wilt on cotton by the use of fluorescent *Pseudomonas* spp. under field conditions. *Biological Control*, 53(1), 39–45.

- Esitken, A., Yildiz, H. E., Ercisli, S., Figen Donmez, M., Turan, M., y Gunes, A. (2010). Effects of plant growth promoting bacteria (PGPB) on yield, growth and nutrient contents of organically grown strawberry. *Scientia Horticulturae*, 124(1), 62–66.
- FAO. (2009). La agricultura mundial en la perspectiva del año 2050. Foro de alto nivel de expertos. *Como alimentar al mundo 2050*. Roma.
- FAO. (2012). La agricultura urbana y su contribución a la seguridad alimentaria. *Sistematización del Proyecto Piloto AUP en Honduras*, 32. Retrieved from <http://www.fao.org/docrep/019/as174s/as174s.pdf>
- FAOa. (2016). El estado Mundial de la Agricultura y la Alimentación. *Cambio Climático , Agricultura y Seguridad Alimentaria*. Retrieved from <http://www.fao.org/3/a-i6132s.pdf>
- FAOb. (2016). Alianza Mundial Por El Suelo. Retrieved from <http://www.fao.org/3/a-i5126s.pdf>
- FAO. (2017). El estado mundial de la agricultura y alimentación. *Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura*. <http://doi.org/0251-1371>
- Feijoo, M. A. L. (2016). Microorganismos eficientes y sus beneficios para los agricultores. *Revista Científica Agroecosistemas*, 4(2), 31-40.
- Fernandes, M. F., Fernandes, R. P. M., y Hungria, M. (2003). Caracterização genética de rizóbios nativos dos tabuleiros costeiros eficientes em culturas do guandu e caupi. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 38(8), 911–920.
- Fernández, L. A., Zalba, P., Gómez, M. A., Sagardoy, A., Agronomía, D. De, Nacional, U., y E-mail, B. B. (2005). BACTERIAS SOLUBILIZADORAS DE FOSFATO INORGÁNICO AISLADAS DE SUELOS DE LA REGIÓN SOJERA PHOSPHATE INORGANIC SOLUBILIZING BACTERIA ISOLATED FROM, 23(1), 31–37.
- Fernández-Larrea, O. (2001). Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. *Manejo Integrado De Plagas (Costa Rica)*, (62), 96–100.
- Ferreira do Nascimento, D., dos Santos Leles, P. S., Nolasco de Oliveira Neto, S., Teixeira Soares Moreira, R., y Makhoulta Alonso, J. (2012). Crescimento inicial de seis espécies florestais em diferentes espaçamentos. *Cerne*, 18(1).
- Figueroa-López, A. M., Cordero-Ramírez, J. D., Martínez-Álvarez, J. C., López-Meyer, M., Lizárraga-Sánchez, G. J., Félix-Gastélum, R. y Maldonado-Mendoza, I. E. (2016). Rhizospheric bacteria of maize with potential for biocontrol of *Fusarium verticillioides*. *SpringerPlus*, 5(1).
- Fincheira, P., Parra, L., Mutis, A., Parada, M., y Quiroz, A. (2017). Volatiles emitted by *Bacillus* sp. BCT9 act as growth modulating agents on *Lactuca sativa* seedlings. *Microbiological Research*, 203(February), 47–56.
- Fosado, O. (2018). ACELGA EFFECT OF ORGANIC MATTER AND EFFICIENT SOIL MICROORGANISMS ON THE YIELD OF SWISS CHARD, (October).
- Foster, K. R., y Bell, T. (2012). Competition, not cooperation, dominates interactions among culturable microbial species. *Current Biology*, 22(19), 1845–1850.
- Fox, A. R., Soto, G., Valverde, C., Russo, D., Lagares, A., Zorreguieta, Á. y Ayub, N. D. (2016). Major cereal crops benefit from biological nitrogen fixation when inoculated with the nitrogen-fixing bacterium *Pseudomonas protegens* Pf-5 X940. *Environmental Microbiology*, 18(10), 3522–3534.
- Freire, E., Koch, A., y Salvador, L. (2016). Evaluación del potencial biofertilizante de consorcios de cianobacterias en pasto raygrass. *Revista Científica Ecuatoriana*, 13–19.
- Galindo-Castañeda, T., Polanía, J., Sánchez, J., Moreno, N., Vanegas, J., y Holguín, G. (2005). Efecto de inoculantes microbianos sobre la promoción de crecimiento de plántulas de mangle y plantas de *Citrullus vulgaris* San Andrés Isla, Colombia. *Acta Biológica Colombiana*, 10(2), 141.
- Gao, Z., Han, X., y Xiao, X. (2009). Purification and characterisation of polyphenol oxidase from red Swiss chard (*Beta vulgaris* subspecies *cicla*) leaves. *Food Chemistry*, 117(2), 342–348.
- Geneva, M., Zehirov, G., Djonova, E., Kaloyanova, N., Georgiev, G., y Stancheva, I. (2006). The effect of inoculation of pea plants with mycorrhizal fungi and *Rhizobium* on nitrogen and phosphorus assimilation. *Plant, Soil and Environment*, 52(10), 435–440.
- Giri, K., Suyal, D. C., Mishra, G., Pandey, S., Kumar, R., Meena, D. K., y Rai, J. P. N. (2017). Biodegradation of Isoproturon by *Bacillus pumilus* K1 Isolated from Foothill Agroecosystem of

- North West Himalaya. *Proceedings of the National Academy of Sciences India Section B - Biological Sciences*, 87(3), 839–848.
- Glick, B. R. (1995). The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Canadian Journal of Microbiology*, 41(2), 109–117.
- Glick, B. R. (2012). Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications. *Scientifica*, 2012, 1–15.
- Glick, B. R. (2014). Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiological Research*, 169(1), 30–39.
- Godfray H.C., Beddington J.R., Crute I.R., Haddad L., Lawrence D., Muir J.F. (2012). The challenge of food security. *Science*, 327,812–8
- Godínez, J. R., y Gutiérrez, A. D. R. (2017). Importancia de los carbohidratos en la industria alimentaria. *Pädi Boletín Científico de Ciencias Básicas e Ingenierías del ICBI*, 4(8).
- González Mancilla, A., Almaraz Suárez, J. J., Ferrera Cerrato, R., Rodríguez Guzmán, M. D. P., Gaytán, T., Rey, O., y Arteaga Garibay, 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.
- González, E. y Roldán, J. (2003). La aproximación causal y usual frente al problema interpretativo de la Teoría Cuántica. *Bosque*, 4, 155–174.
- González, H., y Molina, N. F. (2017). Mecanismo de acción de cinco microorganismos promotores de crecimiento vegetal. *Revista de Ciencias Agrícolas*, 34(1), 17-31.
- Goswami, D., Dhandhukia, P., y Thakker, J. N. (2016). Expanding the Horizons for the Use of *Paenibacillus* Species as PGPR for Sustainable Agriculture. In *Bacilli and Agrobiotechnology*, 281-307. Springer, Cham.
- Govindarajan, M., Balandreau, J., Muthukumarasamy, R., Revathi, G., y Lakshminarasimhan, C. (2006). Improved yield of micropropagated sugarcane following inoculation by endophytic *Burkholderia vietnamiensis*. *Plant and Soil*, 280(1-2), 239–252.
- Gowtham, H. G., Murali, M., Singh, S. B., Lakshmeesha, T. R., Narasimha Murthy, K., Amruthesh, K. N., y Niranjana, S. R. (2018). Plant growth promoting rhizobacteria- *Bacillus amyloliquefaciens* improves plant growth and induces resistance in chilli against anthracnose disease. *Biological Control*, 126(January), 209–217.
- Granados, M. (2005). PUDRICIÓN BLANCA DE LA CEBOLLA :, 29(2), 143–156.
- Grageda-Cabrera, O. A., Díaz-Franco, A., Peña-Cabriales, J. J., y Vera-Núñez, J. A. (2012). Impacto de los biofertilizantes en la agricultura. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 3(6), 1261-1274.
- Gravel, V., Antoun, H., y Tweddell, R. J. (2007). Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: Possible role of indole acetic acid (IAA). *Soil Biology and Biochemistry*, 39(8), 1968–1977.
- Guerra, Y. R., Alemán, R., Domínguez, J., Soria, S., Ramos, H. H., Gaibor, C. S., y Jara, M. (2016). Efecto de dos abonos orgánicos (compost y biol) sobre el desarrollo morfológico de *Beta vulgaris* L. var. cicla bajo condiciones de invernadero. *Revista Amazónica Ciencia y Tecnología*, 5(2), 103-117.
- Guillén-Cruz, R., Hernández-Castillo, F.D., Gallegos-Morales, G., Rodríguez-Herrera, R., Aguilar-González, C.N., Padrón-Corral, E. y Reyes-Valdés, M.H. (2006). *Bacillus* spp. como biocontrol en un suelo infestado con *Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani* Kühn y *Phytophthora capsici* Leonian y su efecto en el desarrollo y rendimiento del cultivo de chile (*Capsicum annuum* L.). *Revista Mexicana de Fitopatología*. 24-105-114
- Guigón López, C., y González González, P. A. (2004). Selección de cepas nativas de *Trichoderma* spp. con actividad antagónica sobre *Phytophthora capsici* Leonian y promotoras de crecimiento en el cultivo de chile (*Capsicum annuum* L.). *Revista Mexicana de Fitopatología*, 22(1).
- Gupta, G., Parihar, S. S., Ahirwar, N. K., Snehi, S. K., y Singh, V. (2015). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): current and future prospects for development of sustainable agriculture. *J Microb Biochem Technol*, 7(2), 096-102.
- Gutiérrez-Mañero, F. J., Ramos-Solano, B., Probanza, A. N., Mehouchi, J., R. Tadeo, F., y Talon, M. (2001). The plant-growth-promoting rhizobacteria *Bacillus pumilus* and *Bacillus licheniformis*

- produce high amounts of physiologically active gibberellins. *Physiologia Plantarum*, 111(2), 206-211
- Hajieghrari, B., Torabi-giglou, M., y Mohammadi, M. R. (2008). Biological potential of some Iranian *Trichoderma* isolates in the control of soil borne plant pathogenic fungi, 7(8), 967–972.
- Halder, A. K. (1993). Solubilization of Inorganic Phosphate by *Rhizobium*, 38(4), 325–330.
- Hameeda, B., Harini, G., Rupela, O. P., Wani, S. P., y Reddy, G. (2008). Growth promotion of maize by phosphate-solubilizing bacteria isolated from composts and macrofauna, 163, 234–242.
- Hamza, M. A., Youssef, H., Helmy, A., Amin, G. A., Fayez, M., Higazy, A., y Hegazi, N. A. (1994). Mixed cultivation and inoculation of various genera of associative diazotrophs. *Nitrogen Fixation with Non-Legumes. The American University in Cairo Press, Cairo, Egypt*, 319-326.
- Hannan, A., Hasan, M., y Hossain, I. (2013). Impact of Dual Inoculations with *Rhizobium* and *Trichoderma* on Root Rot Disease and Plant Growth Parameters of *Grasspea* under Field Conditions. *International Research Journal of Agricultural Sciences and Soil Sciences*, 2(May), 1–9.
- Hanson, L. E. (2000). Plant Pathology & Nematology Reduction of *Verticillium* Wilt Symptoms in Cotton Following Seed Treatment with *Trichoderma virens*. *The Journal of Cotton Science*, 4, 224–231.
- Hao, T., y Chen, S. (2017). Colonization of wheat, maize and cucumber by *Paenibacillus polymyxa* WLY78. *PLoS ONE*, 12(1), 1–10.
- Hartman, K., van der Heijden, M. G., Wittwer, R. A., Banerjee, S., Walsler, J. C., y Schlaeppli, K. (2018). Cropping practices manipulate abundance patterns of root and soil microbiome members paving the way to smart farming. *Microbiome*, 6(1), 14.
- He, Y., Pantigoso, H. A., Zhansheng, W., y Vivanco, J. M. (2019). Co-inoculation of *Bacillus* spp. and *Pseudomonas putida* at different development stages acts as a biostimulant to promote growth, yield and nutrient uptake of tomato. *Journal of Applied Microbiology*.
- Hegazi, N., y Fayez, M. (2003). Biodiversity and endophytic nature of diazotrophs other than rhizobia associated to non-leguminous plants of semi-arid environments. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 49(2), 213–235.
- Heidarzadeh, N., y Baghaee-Ravari, S. (2015). Application of *Bacillus pumilus* as a potential biocontrol agent of *Fusarium* wilt of tomato. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 48(13-16), 841-849.
- Heredia-Acuña, C., Almaraz-Suarez, J. J., Arteaga-Garibay, R., Ferrera-Cerrato, R., y Pineda-Mendoza, D. Y. (2018). Isolation, characterization and effect of plant-growth-promoting rhizobacteria on pine seedlings (*Pinus pseudostrobus* Lindl.). *Journal of Forestry Research*, 1–8.
- Hernández Montiel, L. G., Rivas García, T., Romero Bastidas, M., Chiquito Contreras, C. J., Ruiz Espinoza, F. H., Contreras, C., y Gregorio, R. (2018). Potencial antagónico de bacterias y levaduras marinas para el control de hongos fitopatógenos. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 9(SPE20), 4311-4321.
- Higa, T., y Wididana, G. N. (1991). The concept and theories of effective microorganisms. In *Proceedings of the first international conference on Kyusei nature farming. US Department of Agriculture, Washington, DC, USA*, 118-124.
- Higa, T., y Parr, J. F. (1994). Beneficial and effective microorganisms for a sustainable agriculture and environment. *International Nature Farming Research Center*, (808), 1–16.
- Hilda, D., y García, M. (2000). Electroforesis en geles de poli(acrilamida) : fundamentos , actualidad e importancia, 1(2), 31–41.
- Howell, C. R. (2002). Cotton seedling preemergence damping-off incited by *Rhizopus oryzae* and *Pythium* spp. and its biological control with *Trichoderma* spp. *Phytopathology*, 92(2), 177–180.
- Huang, P., de-Bashan, L., Crocker, T., Kloepper, J. W., y Bashan, Y. (2017). Evidence that fresh weight measurement is imprecise for reporting the effect of plant growth-promoting (rhizo) bacteria on growth promotion of crop plants. *Biology and fertility of soils*, 53(2), 199-208.
- Huang, X.-F., Chaparro, J. M., Reardon, K. F., Zhang, R., Shen, Q., y Vivanco, J. M. (2014). Rhizosphere interactions: root exudates, microbes, and microbial communities. *Botany*, 92(4), 267–275.

- Hussain, N., Singh, A., Saha, S., Venkata Satish Kumar, M., Bhattacharyya, P., y Bhattacharya, S. S. (2016). Excellent N-fixing and P-solubilizing traits in earthworm gut-isolated bacteria: A vermicompost based assessment with vegetable market waste and rice straw feed mixtures. *Bioresource Technology*, 222, 165–174.
- Infante D., Martínez B., González N. y Reyes Y. (2009). Mecanismos de acción de Trichoderma frente a hongos fitopatógenos. *Revista de protección vegetal*, 24(1), 14-21.
- Inostroza, N. G., Barra, P. J., Wick, L. Y., Mora, M. L., y Jorquera, M. A. (2017). Effect of rhizobacterial consortia from undisturbed arid- and agro-ecosystems on wheat growth under different conditions. *Letters in Applied Microbiology*, 64(2), 158–163.
- Irabor, A. (2017). Biological Control of Soilborne Diseases of Bell Pepper (*Capsicum annuum* L.) and Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) Using Selected Bacterial Endophytes (Doctoral dissertation, Tennessee State University).
- Iulian, A., Siciua, O., y Dobre, A. (2015). Evaluation of Some Bacillus spp. Strains for the Biocontrol of Fusarium graminearum and F. culmorum in Wheat, 6, 559–566.
- Jeffries, P., Gianinazzi, S., Perotto, S., Turnau, K., y Barea, J. M. (2003). The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. *Biology and Fertility of Soils*, 37(1), 1–16.
- Jouzani, G. S., Valijanian, E., y Sharafi, R. (2017). Bacillus thuringiensis: a successful insecticide with new environmental features and tidings. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101(7), 2691–2711.
- Kader, M. A., Mian, M. H., y Hoque, M. S. (2002). Effects of Azotobacter inoculant on the yield and nitrogen uptake by wheat. *Journal of Biological science*, 2(4), 259-261.
- Kanner, J., Harel, S., y Granit, R. (2001). Betalains s A New Class of Dietary Cationized Antioxidants, (Lc), 5178–5185.
- Khan, A., Sirajuddin, Zhao, X. Q., Javed, M. T., Khan, K. S., Bano, A., y Masood, S. (2016). Bacillus pumilus enhances tolerance in rice (Oryza sativa L.) to combined stresses of NaCl and high boron due to limited uptake of Na⁺. *Environmental and Experimental Botany*, 124, 120–129.
- Khan, N. I., Schisler, D. A., Boehm, M. J., Slininger, P. J., y Bothast, R. J. (2007). Selection and Evaluation of Microorganisms for Biocontrol of Fusarium Head Blight of Wheat Incited by Gibberella zeae. *Plant Disease*, 85(12), 1253–1258.
- Kilian, M., Steiner, U., Krebs, B., Junge, H., Schmiedeknecht, G., y Hain, R. (2001). Bacillus subtilis – mode of action of a microbial agent enhancing plant vitality. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer*, (August), 72–93.
- Kim, N., Jeon, H. W., Mannaa, M., Jeong, S. I., Kim, J., Kim, J. y Seo, Y. S. (2019). Induction of resistance against pine wilt disease caused by Bursaphelenchus xylophilus using selected pine endophytic bacteria. *Plant Pathology*, 68(3), 434–444.
- Kleiber, T., Starzyk, J., y Bosiacki, M. (2013). Effect of nutrient solution, effective microorganisms (EM-A), and assimilation illumination of plants on the induction of the growth of lettuce (Lactuca sativa L.) in hydroponic cultivation. *Acta Agrobotanica*, 66(1).
- Kloepper, J. W., Lifshitz, R., y Zablotowicz, R. M. (1989). Free-living bacteria inocula for enhancing crop productivity. *Trends in Biotechnology*, 7(2), 39–45.
- Koh, R., y Song, H. G. (2007). Effects of application of Rhodospseudomonas sp. on seed germination and growth of tomato under axenic conditions. *Journal of microbiology and biotechnology*, 17(11), 1805.
- Kohler, J., Caravaca, F., y Roldán, A. (2010). An AM fungus and a PGPR intensify the adverse effects of salinity on the stability of rhizosphere soil aggregates of Lactuca sativa. *Soil Biology and Biochemistry*, 42(3), 429–434.
- Kohler, J., Hernández, J. A., Caravaca, F., y Roldán, A. (2008). Plant-growth-promoting rhizobacteria and arbuscular mycorrhizal fungi modify alleviation biochemical mechanisms in water-stressed plants. *Functional Plant Biology*, 35(2), 141.
- Kong, Z., Hart, M., y Liu, H. (2018). Paving the Way From the Lab to the Field: Using Synthetic Microbial Consortia to Produce High-Quality Crops. *Frontiers in Plant Science*, 9(October), 1–5.
- Kosawang, C., Karlsson, M., Véléz, H., Rasmussen, P. H., Collinge, D. B., Jensen, B., y Jensen, D.

- F. (2014). Zearalenone detoxification by zearalenone hydrolase is important for the antagonistic ability of *Clonostachys rosea* against mycotoxigenic *Fusarium graminearum*. *Fungal Biology*, 118(4), 364–373.
- Kraemer, S. M., Crowley, D. E., y Kretzschmar, R. (2006). Geochemical Aspects of Phytosiderophore-Promoted Iron Acquisition by Plants. *Advances in Agronomy*, 91(06), 1–46.
- Kumar, A., Maurya, B. R., Raghuwanshi, R., Meena, V. S., y Tofazzal Islam, M. (2017). Co-inoculation with *Enterobacter* and *Rhizobacteria* on Yield and Nutrient Uptake by Wheat (*Triticum aestivum* L.) in the Alluvial Soil Under Indo-Gangetic Plain of India. *Journal of Plant Growth Regulation*, 36(3), 608–617.
- Kumar, J., Banerjee, A., Rai, M., Naidu, R., Biswas, B., Vithanage, M., y Meers, E. (2018). Geoderma Potential application of selected metal resistant phosphate solubilizing bacteria isolated from the gut of earthworm (*Metaphire posthuma*) in plant growth promotion, 330(May), 117–124.
- Kumar, V., y Narula, N. (1999). Solubilization of inorganic phosphates and growth emergence of wheat as affected by *Azotobacter chroococcum* mutants. *Biology and Fertility of Soils*, 28(3), 301-305.
- Lakshminarayana K. (1993) Influence of *Azotobacter* on nutrition of plants and crop productivity. *Indian Nat Sci Acad Proc*, 59, 303–308.
- Lambers, H., Mougel, C., Jaillard, B., y Hinsinger, P. (2009). Plant-microbe-soil interactions in the rhizosphere: An evolutionary perspective. *Plant and Soil*, 321(1-2), 83–115.
- Lazarovits, G., Turnbull, A., y Johnston-Monje, D. (2014). Plant health management: biological control of plant pathogens. *Encyclopedia of Agriculture and Food Systems*, 4.
- Ley-Rivas, J. F., Nápoles, N. E. R., Sánchez, J. A., Furrázola, E., y Ricardo, O. G. (2016). Efectividad en el cultivo de lechuga de cuatro cepas de hongos micorrizógenos arbusculares Effectiveness in lettuce cultivation of four strains of arbuscular mycorrhizal fungi. *Acta Botánica Cubana*, 215(3), 345-351.
- Li, M., Ahammed, G. J., Li, C., Bao, X., Yu, J., Huang, C. y Zhou, J. (2016). Brassinosteroid ameliorates zinc oxide nanoparticles-induced oxidative stress by improving antioxidant potential and redox homeostasis in tomato seedling. *Frontiers in plant science*, 7, 615.
- Lira-Saldivar, R. H., Hernández, A., Valdez, L. A., Cárdenas, A., Ibarra, L., Hernández, M., y Ruiz, N. (2016). *Azospirillum brasilense* and *Glomus intraradices* co-inoculation stimulates growth and yield of cherry tomato under shadehouse conditions. *Phyton, International Journal of Experimental Botany*, 83(1), 133-138.
- Liu, M., Liu, X., Cheng, B.-S., Ma, X.-L., Lyu, X.-T., Zhao, X.-F., y Fang, Y.-L. (2016). Selection and evaluation of phosphate-solubilizing bacteria from grapevine rhizospheres for use as biofertilizers. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 14(4), e1106.
- López-Gómez, M., Hidalgo-Castellanos, J., Lluch, C., y Herrera-Cervera, J. A. (2016). 24-Epibrassinolide ameliorates salt stress effects in the symbiosis *Medicago truncatula*-*Sinorhizobium meliloti* and regulates the nodulation in cross-talk with polyamines. *Plant physiology and biochemistry*, 108, 212-221.
- Lowman, S., Kim-Dura, S., Mei, C., y Nowak, J. (2016). Strategies for enhancement of switchgrass (*Panicum virgatum* L.) performance under limited nitrogen supply based on utilization of N-fixing bacterial endophytes. *Plant and Soil*, 405(1-2), 47–63.
- Luna Martínez, L., Martínez Peniche, R. A., Hernández Iturriaga, M., Arvizu Medrano, S. M., y Pacheco Aguilar, 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.
- Lutz, M. P., Feichtinger, G., Défago, G., y Duffy, B. (2003). Mycotoxigenic *Fusarium* and deoxynivalenol production repress chitinase gene expression in the biocontrol agent *Trichoderma atroviride* P1. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(6), 3077–84.
- Madhaiyan, M., Poonguzhali, S., y Kang, B. (2010). Effect of co-inoculation of methylotrophic *Methylobacterium oryzae* with *Azospirillum brasilense* and *Burkholderia pyrrocinia* on the growth and nutrient uptake of tomato, red pepper and rice, 71–82.
- Mahato, P., Badoni, A., y Chauhan, J. S. (2009). Effect of *Azotobacter* and nitrogen on seed germination and early seedling growth in tomato. *Researcher*, 1(4), 62-66.
- Majaw, S., Khonglah, D., Kayang, H., y Rao, M. (2016). Isolation and identification of indigenous

- microbial bioagents strains from Meghalaya and in vitro evaluation of the antagonistic properties against common fungal phytopathogens. *J Agric Technol*, 12(4), 743-752.
- Mañero, F. J. G., Acero, N., Lucas, J. A., y Probanza, A. (2004). The influence of native rhizobacteria on European alder (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.) growth. *Plant and Soil*, 182(1), 67–74.
- Mansoori, M., Heydari, A., Hassanzadeh, N., Rezaee, S., y Naraghi, L. (2013). Evaluation of *Pseudomonas* and *Bacillus* bacterial antagonists for biological control of cotton verticillium wilt disease. *Journal of Plant Protection Research*, 53(2), 154–157.
- Mariano, A. H. (1966). Relaciones entre algunas medidas de vigor y producción en cacao (No. Thesis M333). IICA, Turrialba (Costa Rica).
- Martinez, A. D. P. C., Sanchez, R. L. A., Velasco, S. M., y Prado, F. A. (2014). Evaluación de microorganismos de montaña (mm) en la producción de acelga en la meseta de Popayán. *Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial: BSAA*, 12(1), 79-87.
- Martínez, B., Infante, D., y Reyes li, Y. (2013). *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. *Rev. Protección Veg*, 28(1), 1–11.
- Mathiyazhagan, S., Kavitha, K., Nakkeeran, S., Chandrasekar, G., Manian, K., Renukadevi, P. y Fernando, W. (2004). PGPR mediated management of stem blight of *Phyllanthus amarus* (Schum and Thonn) caused by *Corynespora cassiicola* (Berk and Curt) Wei . *Archives Of Phytopathology And Plant Protection*, 37(3), 183–199.
- Matias, S. R., Pagano, M. C., Muzzi, F. C., Oliveira, C. A., Carneiro, A. A., Horta, S. N., y Scotti, M. R. (2009). Effect of rhizobia, mycorrhizal fungi and phosphate-solubilizing microorganisms in the rhizosphere of native plants used to recover an iron ore area in Brazil. *European Journal of Soil Biology*, 45(3), 259–266.
- Matson, P. A., Parton, W. J., Power, A. G., y Swift, M. J. (1997). Agricultural intensification and ecosystem properties. *Science*, 277(5325), 504-509.
- Medina-Saavedra, T., Arroyo-Figueroa G., García-Viera M.I., Dzul-Cauich J.G. (2017). Producción de acelgas (*Beta vulgaris* var. *cycla*) mediante el uso de microorganismos de montaña y *Azospirillum brasilensis*. *Revista de Ciencias Naturales y Agropecuarias*. 3(10), 36-42.
- Mehta, P., Walia, A., Kulshrestha, S., Chauhan, A., y Shirkot, C. K. (2015). Efficiency of plant growth-promoting P-solubilizing *Bacillus circulans* CB7 for enhancement of tomato growth under net house conditions. *Journal of basic microbiology*, 55(1), 33-44.
- Mejía-Bautista, M. Á., Reyes-Ramírez, A., Cristóbal-Alejo, J., Tun-Suárez, J. M., Borges-Gómez, L. D. C., y Pacheco-Aguilar, J. R. (2016). *Bacillus* spp. en el Control de la Marchitez Causada por *Fusarium* spp. en *Capsicum chinense*. *Revista mexicana de fitopatología*, 34(3), 208-222.
- Menna, P., Barcellos, F. G., y Hungria, M. (2009). Phylogeny and taxonomy of a diverse collection of Bradyrhizobium strains based on multilocus sequence analysis of the 16S rRNA gene, ITS region and *glnII*, *recA*, *atpD* and *dnaK* genes. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59(12), 2934–2950.
- Mohamed, H. I., y Gomaa, E. Z. (2012). Effect of plant growth promoting *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas fluorescens* on growth and pigment composition of radish plants (*Raphanus sativus*) under NaCl stress, 50(2), 263–272.
- Moraga-Suazo, P., y Sanfuentes, E. (2017). Growth promotion of *Pinus radiata* seedlings by soil inoculation and seed pretreatment with the biological control agent *Clonostachys rosea*. *Gayana. Botanica*, 74(1).
- Morales-Velasco, S., y Prado, F. A. (2014). Evaluation of microorganisms of mountain (mm) in the production of chard on the plateau of Popayán. 12(1), 79–87.
- Mossot, M., Estefania, J., Shagñay, O., y Giomayra, A. (2019). Evaluación de cepas de *Bacillus* spp. como microorganismos promotores del crecimiento vegetal (PGPR) en brócoli (*Brassica oleracea*) y lechuga (*Lactuca sativa*) (Bachelor's thesis).
- Moustaine, M., Elkahkahi, R., Benbouazza, A., Benkirane, R., y Achbani, E. H. (2017). Effect of plant growth promoting rhizobacterial (PGPR) inoculation on growth in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) and characterization for direct PGP abilities in Morocco. *International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology*, 2(2).
- Muhammad, A., Fatema, T., Shamima, N., Sanzida, M., Anwar, H., y Rashed, N. (2016). Isolation of

- a potential antifungal *Bacillus subtilis* 37-JM07 strain from straw and its biocontrol efficacy to combat greenmold disease of commercial mushroom, *Pleurotus ostreatus*. *Environm Sci Indian J*, 12(1), 1-14.
- Mumtaz, M. Z., Ahmad, M., Jamil, M., y Hussain, T. (2017). Zinc solubilizing Bacillus spp. potential candidates for biofortification in maize. *Microbiological Research*, 202(January), 51–60.
- Muthukumarasamy, R., Revathi, G., y Lakshminarasimhan, C. (1999). Diazotrophic associations in sugar cane cultivation in South India. *Tropical Agriculture*, 76(3), 171–178.
- Naef, A., Senatore, M., y Défago, G. (2006). A microsatellite based method for quantification of fungi in decomposing plant material elucidates the role of *Fusarium graminearum* DON production in the saprophytic competition with *Trichoderma atroviride* in maize tissue microcosms. *FEMS Microbiology Ecology*, 55(2), 211–220.
- Naiman, A. D., Latrónico, A., y García de Salamone, I. E. (2009). Inoculation of wheat with *Azospirillum brasilense* and *Pseudomonas fluorescens*: Impact on the production and culturable rhizosphere microflora. *European Journal of Soil Biology*, 45(1), 44–51.
- Narula, N., Kumar, V., Behl, R. K., Deubel, A., Gransee, A., y Merbach, W. (2000). Effect of P-solubilizing *Azotobacter chroococcum* on N, P, K uptake in P-responsive wheat genotypes grown under greenhouse conditions. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 163(4), 393–398.
- Nehra, V., y Choudhary, M. (2015). A review on plant growth promoting rhizobacteria acting as bioinoculants and their biological approach towards the production of sustainable agriculture. *Journal of Applied and Natural Science*, 7(1), 540–556.
- Nehra, V., Saharan, B. S., y Choudhary, M. (2016). Evaluation of *Brevibacillus brevis* as a potential plant growth promoting rhizobacteria for cotton (*Gossypium hirsutum*) crop. *SpringerPlus*, 5(1).
- Nimnoi, P., Pongsilp, N., y Ruanpanun, P. (2017). Monitoring the efficiency of *Streptomyces galilaeus* strain KPS-C004 against root knot disease and the promotion of plant growth in the plant-parasitic nematode infested soils. *Biological Control*, 114(August), 158–166.
- Ning, C. C., Gao, P. D., Wang, B. Q., Lin, W. P., Jiang, N. H., y Cai, K. Z. (2017). Impacts of chemical fertilizer reduction and organic amendments supplementation on soil nutrient, enzyme activity and heavy metal content. *Journal of integrative agriculture*, 16(8), 1819-1831.
- Nutman, P. S. (1987). Centenary lecture. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences*, 317(1184), 69-106.
- Ochoa-Velasco, C. E., Valadez-Blanco, R., Salas-Coronado, R., Sustaita-Rivera, F., Hernández-Carlos, B., García-Ortega, S., y Santos-Sánchez, N. F. (2016). Scientia Horticulturae Effect of nitrogen fertilization and *Bacillus licheniformis* biofertilizer addition on the antioxidants compounds and antioxidant activity of greenhouse cultivated tomato fruits (*Solanum lycopersicum* L . var . Sheva). *Scientia Horticulturae*, 201, 338–345.
- Ohno, M., Kataoka, S., Numata, S., Yamamoto-Tamura, K., Fujii, T., Nakajima, M., y Hasebe, A. (2011). Biological control of *Rhizoctonia damping-off* of cucumber by a transformed *Pseudomonas putida* strain expressing a chitinase from a marine bacterium. *Japan Agricultural Research Quarterly*, 45(1), 91–98.
- Ojha, S. K., Benjamin, J. C., y Singh, A. K. (2018). Effect of compost in combination with PGPR on growth of tomato (*Lycopersicon esculentum*) plant. *The Allahabad Farmer*, 74(2).
- Onofre-Lemus, J., Herna, I., y Girard, L. (2009). ACC (1-Aminocyclopropane-1-Carboxylate) Deaminase Activity , a Widespread Trait in Burkholderia Species , and Its Growth-Promoting Effect on Tomato Plants □, 75(20), 6581–6590.
- Ordookhani, K., Khavazi, K., Moezzi, a, y Rejali, F. (2010). Influence of PGPR and AMF on antioxidant activity, lycopene and potassium contents in tomato. *African Journal of Agricultural Research*, 5(10), 1108–1116.
- Orea, D. G., Villarino, M. T. G. (2013). Evaluación de impacto ambiental. Mundi-Prensa Libros
- Orozco-Mosqueda, M. del C., Rocha-Granados, M. del C., Glick, B. R., y Santoyo, G. (2018). Microbiome engineering to improve biocontrol and plant growth-promoting mechanisms. *Microbiological Research*, 208, 25–31.
- Pal, K. K., Tilak, K. V. B. R., Saxena, A. K., Dey, R., y Singh, C. S. (2001). Suppression of maize root diseases caused by *Macrophomina phaseolina* , *Fusarium moniliforme* and *Fusarium*

- graminearum by plant growth promoting rhizobacteria, 156, 209–223.
- Pandey, C., Negi, Y. K., Maheshwari, D. K., Rawat, D., y Prabha, D. (2018). Potential of native cold tolerant plant growth promoting bacilli to enhance nutrient use efficiency and yield of *Amaranthus hypochondriacus*. *Plant and soil*, 428(1-2), 307-320.
- Paul, S., Rathi, M. S., y Tyagi, S. P. (2011). Interactive effect with AM fungi and *Azotobacter* inoculated seed on germination, plant growth and yield in cotton (*Gossypium hirsutum*). *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 81(11), 1041–1045.
- Pena-Yam, L. P., Ruíz-Sánchez, E., Barboza-Corona, J. E., y Reyes-Ramírez, A. (2016). Isolation of mexican *Bacillus* species and their effects in promoting growth of chili pepper (*Capsicum annuum* L. cv Jalapeño). *Indian journal of microbiology*, 56(3), 375-378.
- Pérez, J., y Casas, M. (2005). Estudio de la interacción planta-*Azospirillum* en el cultivo cana de azúcar (*Saccharum* sp.). *Cultivos tropicales*, 26(4).
- Pérez-Fernández, M., y Alexander, V. (2017). Enhanced Plant Performance in *Cicer arietinum* L. Due to the Addition of a Combination of Plant Growth-Promoting Bacteria. *Agriculture*, 7(5), 40.
- Pérez, R., Terrón, T. S., y Muñoz-Rojas, J. (2014). Antagonismo microbiano asociado a cepas bacterianas provenientes de jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) y maíz (*Zea Mays*). *Revista Iberoamericana de Ciencias*, 1(3), 53-60.
- Pimental, D., Resosudarmo, S. K., Kurz, D., McNair, C. S., Shpritz, L., Fitton, L., Blair, R. (1995). Environmental and Economic Costs of Soil Erosion and Conservation Benefits. *Science*, 267(2502), 1117–1122.
- Piromyoo, P., Buranabanyat, B., Tantasawat, P., Tittabutr, P., Boonkerd, N., y Teaumroong, N. (2011). Effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) inoculation on microbial community structure in rhizosphere of forage corn cultivated in Thailand. *European Journal of Soil Biology*, 47(1), 44–54.
- Pishchik, V. N., Vorobyov, N. I., Walsh, O. S., Surin, V. G., y Khomyakov, Y. V. (2016). Estimation of synergistic effect of humic fertilizer and *Bacillus subtilis* on lettuce plants by reflectance measurements. *Journal of Plant Nutrition*, 39(8), 1074–1086.
- Popiel, D., Kwaśna, H., y Chełkowski, J. (2008). POPIEL,2008.pdf, 43(1), 29–40.
- Prasad, A. A., y Babu, S. (2017). Compatibility of *Azospirillum brasilense* and *Pseudomonas fluorescens* in growth promotion of groundnut (*Arachis hypogea* L.). *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 89(2), 1027-1040.
- Prayitno, J., Stefaniak, J., McIver, J., Weinman, J. J., Dazzo, F. B., Ladha, J. K. y Rolfe, B. G. (1999). Interactions of rice seedlings with bacteria isolated from rice roots. *Australian Journal of Plant Physiology*, 26(6), 521–535.
- Priest, F. G. (1993). I. gram-positive bacteria.
- Pyo, Y., Lee, T., Logendra, L., y Rosen, R. T. (2004). Antioxidant activity and phenolic compounds of Swiss chard (*Beta vulgaris* subspecies *cycla*) extracts, 85, 19–26.
- Radhakrishnan, R., y Lee, I. J. (2016). Gibberellins producing *Bacillus methylotrophicus* KE2 supports plant growth and enhances nutritional metabolites and food values of lettuce. *Plant Physiology and Biochemistry*, 109, 181–189.
- Raj, S. N., Deepak, S. A., Basavaraju, P., Shetty, H. S., Reddy, M. S., y Kloepper, J. W. (2003). Comparative performance of formulations of plant growth promoting rhizobacteria in growth promotion and suppression of downy mildew in pearl millet. *Crop Protection*, 22(4), 579-588.
- Rajeela, T. K., Gopal, M., Gupta, A., Bhat, R., y Thomas, G. V. (2017). Cross-compatibility evaluation of plant growth promoting rhizobacteria of coconut and cocoa on yield and rhizosphere properties of vegetable crops. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 9, 67-73.
- Ramírez I.F., Ulloa S. M. y Medina M.E. (2013). Efecto de la inoculación combinada de hongos micorrízicos arbusculares y *Pseudomonas putida* en plantas de tomate de árbol (*Solanum betaceum*) infectadas con *Meloidogyne* spp. *Comité editorial*, 15(1), 75-86.
- Ramsubhag, A., Umaharan, P., y Donawa, A. (2002). Partial 16S rRNA gene sequence diversity and numerical taxonomy of slow growing pigeonpea (*Cajanus cajan* L. Millsp) nodulating rhizobia. *FEMS Microbiology Letters*, 216(2), 139–144.
- Reddy, U. K., Almeida, A., Abburi, V. L., Alaparathi, S. B., Unselt, D., Hankins, G., y Nimmakayala, P. (2014). Identification of Gene-Specific Polymorphisms and Association with Capsaicin Pathway

- Metabolites in *Capsicum annum* L. Collections, 9(1), 1–10.
- Remus, R., Ruppel, S., Jacob, H. J., Hecht-Buchholz, C., y Merbach, W. (2000). Colonization behaviour of two enterobacterial strains on cereals. *Biology and Fertility of Soils*, 30(5-6), 550–557.
- Reyes-Ramírez A., López-Arcos M., Ruíz-Sánchez E., Latournerie-Moreno L., Pérez-Gutiérrez A., Lozano-Contreras M.G., Zavala-León M.J. (2014). Efectividad de inoculantes microbianos en el crecimiento y productividad de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.). *Agrociencia* 48: 285-294.
- Richardson, A. E., Barea, J. M., McNeill, A. M., y Prigent-Combaret, C. (2009). Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. *Plant and Soil*, 321(1-2), 305–339.
- Rivas-García, T., Murillo-Amador, B., Nieto-Garibay, A., Chiquito-Contreras, R., Rincon-Enriquez, G., y Hernandez-Montiel, L. (2018). Effect of Ulvan on the Biocontrol Activity of *Debaryomyces hansenii* and *Stenotrophomonas rhizophila* against Fruit Rot of *Cucumis melo* L. *Agronomy*, 8(12), 273.
- Rivas-García, T., Murillo-Amador, B., Nieto-Garibay, A., Rincon-Enriquez, G., Chiquito-Contreras, R. G., y Hernandez-Montiel, L. G. (2019). Enhanced biocontrol of fruit rot on muskmelon by combination treatment with marine *Debaryomyces hansenii* and *Stenotrophomonas rhizophila* and their potential modes of action. *Postharvest Biology and Technology*, 151(February), 61–67.
- Roberts, D. P., Lohrke, S. M., Meyer, S. L. F., Buyer, J. S., Bowers, J. H., Baker, C. J., y Chung, S. (2005). Biocontrol agents applied individually and in combination for suppression of soilborne diseases of cucumber. *Crop Protection*, 24(2), 141–155.
- Robles-Hernandez, L., Hernandez-Huerta, J., Gonzalez-Franco, A. C., Hernandez-Rodriguez, O. A., Nunez-Barrios, A., y Perez-Leal, R. (2015). *Streptomyces* PRIO41 como promotor de crecimiento en plantas de chile jalapeño y agente de control biológico de *Fusarium*. *Phyton*, 84(2), 253–261.
- Roder, A., Hoffmann, E., Hagemann, M., y Berg, G. (2005). Synthesis of the compatible solutes glucosylglycerol and trehalose by salt-stressed cells of *Stenotrophomonas* strains. *FEMS Microbiology Letters*, 243(1), 219–226.
- Rodrigues, A. A., Forzani, M. V., Soares, R. D. S., Sibov, S. T., Daniel, J., y Vieira, G. (2016). Isolation and selection of plant growth-promoting bacteria associated with sugarcane 1. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 46(2), 149–158.
- Rodrigues, E. P., Rodrigues, L. S., De Oliveira, A. L. M., Baldani, V. L. D., Teixeira, K. R. D. S., Urquiaga, S., y Reis, V. M. (2008). *Azospirillum amazonense* inoculation: Effects on growth, yield and N₂ fixation of rice (*Oryza sativa* L.). *Plant and Soil*, 302(1-2), 249–261.
- Rodríguez, L. L., Cruz-Martín, M., Acosta-Suárez, M., Pichardo, T., Bermúdez-Caraballoso, I., y Alvarado-Capó, Y. (2017). Antagonismo in vitro de cepas de *Bacillus* spp. frente a *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *Bioteología Vegetal*, 17(4).
- Rostami, A., Hinc, K., Goshadrou, F., Shali, A., Bayat, M., Hassanzadeh, M. y Ahmadian, G. (2017). Display of *B. pumilus* chitinase on the surface of *B. subtilis* spore as a potential biopesticide. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 140, 17–23.
- Ruiz-Lozano, J. M., y Azcón, R. (2011). *Brevibacillus*, arbuscular mycorrhizae and remediation of metal toxicity in agricultural soils. In *Endospore-forming Soil Bacteria*, 235-258.
- Ryan, R. P., Monchy, S., Cardinale, M., Taghavi, S., Crossman, L., Avison, M. B. y Dow, J. M. (2009). The versatility and adaptation of bacteria from the genus *Stenotrophomonas*. *Nature Reviews Microbiology*, 7(7), 514–525.
- SAGARPA. (1996).
- SAGARPA. (2012). Programa Nacional Pecuario 2007-2012, 38.
- SAGARPA (2014). Componente de Agricultura Familiar Periurbana y de Traspasio Carta Tecnológica del Cultivo de Acelga, 1–2.
- SAGARPA. (2017). Jitomate.
- Saimbhi, M. S., Kaur, G., y Nandpuri, K. S. (1977). Chemical constituents in mature green and (*Capsicum annum* L.), (Jackson), 171–175.

- Salvador, P. V. (2003). Importancia de la calidad de planta en los proyectos de revegetación. In *Restauración de ecosistemas mediterráneos* (pp. 65-86). Universidad de Alcalá.
- Samain, E., van Tuinen, D., Jeandet, P., Aussenac, T., y Selim, S. (2017). Biological control of septoria leaf blotch and growth promotion in wheat by *Paenibacillus* sp. strain B2 and *Curtobacterium plantarum* strain EDS. *Biological Control*, 114(July), 87–96.
- Sanclemente, O. E., y Yacumal, V. (2017). Solubilización de fosfatos por bacterias nativas aisladas en tres agroecosistemas del Valle del Cauca (Colombia).
- Sanz-Sáez, Á., Heath, K. D., Burke, P. V., y Ainsworth, E. A. (2015). Inoculation with an enhanced N₂-fixing *Bradyrhizobium japonicum* strain (USDA110) does not alter soybean (*Glycine max* Merr.) response to elevated [CO₂]. *Plant Cell and Environment*, 38(12), 2589–2602.
- Schisler, D. A., Khan, N. I., Boehm, M. J., y Slininger, P. J. (2007). Greenhouse and Field Evaluation of Biological Control of Fusarium Head Blight on Durum Wheat. *Plant Disease*, 86(12), 1350–1356.
- Schmidt, C. S., Alavi, M., Cardinale, M., Müller, H., y Berg, G. (2012). *Stenotrophomonas rhizophila* DSM14405 T promotes plant growth probably by altering fungal communities in the rhizosphere. *Biology and Fertility of Soils*, 48(8), 947–960
- Sharma, A., Kashyap, P. L., Srivastava, A. K., Bansal, Y. K., y Kaushik, R. (2019). Isolation and characterization of halotolerant bacilli from chickpea (*Cicer arietinum* L.) rhizosphere for plant growth promotion and biocontrol traits. *European Journal of Plant Pathology*, 153(3), 787–800.
- Shen, M., Xia, D., Yin, Z., Zhao, Q., y Kang, Y. (2018). *Bacillus pumilus* WP8 exhibits biocontrol efficacy against tomato bacterial wilt via attenuation of the virulence of the pathogenic bacterium. *Acta Agriculturae Scandinavica Section B: Soil and Plant Science*, 68(5), 379–387.
- Shen, Z., Ruan, Y., Wang, B., Zhong, S., Su, L., Li, R., y Shen, Q. (2015). Effect of biofertilizer for suppressing *Fusarium* wilt disease of banana as well as enhancing microbial and chemical properties of soil under greenhouse trial. *Applied Soil Ecology*, 93, 111–119.
- Simms, E. L., Taylor, D. L., Povich, J., Shefferson, R. P., Sachs, J. L., Urbina, M., y Tausczik, Y. (2006). An empirical test of partner choice mechanisms in a wild legume-rhizobium interaction. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 273(1582), 77–81.
- Singh, M., Dotaniya, M. L., Mishra, A., Dotaniya, C. K., Regar, K. L., y Lata, M. (2016). Role of biofertilizers in conservation agriculture. In *Conservation Agriculture*, 113-134. Springer, Singapore.
- Siqueira, M. F. B., Sudre, C. P., Almeida, L. H., Pegorerl, A. P. R., Akiba, F., Foundation, M. O., y de Janeiro, R. (199). Influence of Effective Microorganisms on seed germination and plantlet vigor of selected crops. In *Proceedings of the Third Intern. Conf. on Nature Farming*, eds. JF Parr, SB Hornick, ME Simpson. Washington, DC: US Department of Agriculture (pp. 22-45).
- Sirajuddin, Khan, A., Ali, L., Chaudhary, H. J., Hussain Munis, M. F., Bano, A., y Masood, S. (2016). *Bacillus pumilus* alleviates boron toxicity in tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) due to enhanced antioxidant enzymatic activity. *Scientia Horticulturae*, 200, 178–185.
- Siviero, M. A., Motta, A. M., Lima, D. dos S., Birolli, R. R., Huh, S. Y., Santinoni, I. A. y Andrade, G. (2008). Interaction among N-fixing bacteria and AM fungi in Amazonian legume tree (*Schizolobium amazonicum*) in field conditions. *Applied Soil Ecology*, 39(2), 144–152.
- Stoll, A., Olalde, V., y Bravo, J. (2018). Efecto de bacterias promotoras del crecimiento vegetal andinas sobre el crecimiento de plántulas de lechuga bajo condiciones industriales. *Biotecnología y Sustentabilidad*, 1(1).
- Suneja, S., Lakshminarayana, K., y Narula, N. (1994). Optimization of cultural conditions for hydroxamate type of siderophore production by *Azotobacter chroococcum*. *Microbiological Research*, 149(4).
- Syranidou, E., Christofilopoulos, S., Gkavrou, G., Thijs, S., Weyens, N., Vangronsveld, J., y Kalogerakis, N. (2016). Exploitation of endophytic bacteria to enhance the phytoremediation potential of the wetland helophyte *Juncus acutus*. *Frontiers in microbiology*, 7, 1016.
- Taylor, P., Dobbelaere, S., Vanderleyden, J., y Okon, Y. (2003). Critical Reviews in Plant Sciences Plant Growth-Promoting Effects of Diazotrophs in the Rhizosphere Plant Growth. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 22(2), 107–149.
- Teng, Y., Wang, X., Li, L., Li, Z., y Luo, Y. (2015). Rhizobia and their bio-partners as novel drivers for

- functional remediation in contaminated soils. *Frontiers in plant science*, 6, 32.
- Timmusk, S., Behers, L., Muthoni, J., Muraya, A., y Aronsson, A.C. (2017). Perspectives and Challenges of Microbial Application for Crop Improvement. *Frontiers in Plant Science*, 8(February), 1–10.
- Turner, D. P., Acker, S. A., Means, J. E., y Garman, S. L. (2000). Assessing alternative allometric algorithms for estimating leaf area of Douglas-[®] r trees and stands, 126.
- Valverde, A., Burgos, A., Fiscella, T., Vela, E., Cervantes, E., y Chamber, M. (2006). Differential effects of coinoculations with *Pseudomonas jessenii* PS06 (a phosphate-solubilizing bacterium) and *Mesorhizobium ciceri* C-2 / 2 strains on the growth and seed yield of chickpea under greenhouse and field conditions, 06, 3–4.
- Vargas Aguirre, C. F., Rivera Páez, F. A., y Escobar Vargas, S. (2018). Effect of arbuscular mycorrhizae and mercury on *Lactuca sativa* (Asteraceae) seedling morpho—histology. *Environmental and Experimental Botany*, 156(26), 197–202.
- Vargas, J. P., Esquivel, G. G., y García, F. E. (2002). Papel ecológico de la flora rizosférica en fitorremediación. *Av Perspect*, 21, 297-300.
- Vázquez, M. M., César, S., Azcón, R., y Barea, J. M. (2000). Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and other microbial inoculants (*Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Trichoderma*) and their effects. 15, 261–272.
- Verbruggen, E., van der Heijden, M. G., Rillig, M. C., y Kiers, E. T. (2013). Mycorrhizal fungal establishment in agricultural soils: factors determining inoculation success. *New Phytologist*, 197(4), 1104-1109.
- Verma, J. P., Yadav, J., Tiwari, K. N., y Jaiswal, D. K. (2014). Evaluation of plant growth promoting activities of microbial strains and their effect on growth and yield of chickpea (*Cicer arietinum* L.) in India. *Soil Biology and Biochemistry*, 70, 33–37.
- Villagómez, A. R., Saavedra, T. M., y Figueroa, G. A. (2018). Medición del área foliar de la producción de acelgas (*Beta vulgaris* var. *cycla*) mediante el uso de microorganismos de montaña y *Azospirillum brasilensis*. *JÓVENES EN LA CIENCIA*, 4(1), 1-5.
- Vitousek, P. M., Mooney, H. A., Lubchenco, J., y Melillo, J. M. (1997). Human domination of Earth's ecosystems. *Science*, 277(5325), 494-499.
- Wallenstein, M. D. (2017). Managing and manipulating the rhizosphere microbiome for plant health: A systems approach. *Rhizosphere*, 3(April), 230–232.
- Wang, L., Xie, Y., Cui, Y., Xu, J., He, W., Chen, H., y Guo, J. (2015). Conjunctively screening of biocontrol agents (BCAs) against fusarium root rot and fusarium head blight caused by *Fusarium graminearum*. *Microbiological Research*, 177, 34–42.
- Wang, X., Xu, S., Wu, S., Feng, S., Bai, Z., Zhuang, G., y Zhuang, X. (2018). Effect of *Trichoderma viride* biofertilizer on ammonia volatilization from an alkaline soil in Northern China. *Journal of Environmental Sciences*, 66, 199-207.
- White, R. A., Borkum, M. I., Rivas-Ubach, A., Bilbao, A., Wendler, J. P., Colby, S. M., y Jansson, C. (2017). From data to knowledge: The future of multi-omics data analysis for the rhizosphere. *Rhizosphere*, 3, 222-229.
- Widnyana, I. K., y Javandira, C. (2016). Activities *Pseudomonas* spp. and *Bacillus* sp. to stimulate germination and seedling growth of tomato plants. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 9, 419-423.
- Win, K., Oo, A., Ohkama-Ohtsu, N., y Yokoyama, T. (2018). *Bacillus Pumilus* Strain TUAT-1 and Nitrogen Application in Nursery Phase Promote Growth of Rice Plants under Field Conditions. *Agronomy*, 8(10), 216.
- Wolf, A., Fritze, A., Hagemann, M., y Berg, G. (2018). *Stenotrophomonas rhizophila* sp. nov., a novel plant-associated bacterium with antifungal, (2002), 1937–1944.
- Xiaohui, F. A. N., Zhang, S., Xiaodan, M. O., Yuncong, L. I., Yuqing, F. U., y Zhiguang, L. I. U. (2017). Effects of plant growth-promoting rhizobacteria and N source on plant growth and N and P uptake by tomato grown on calcareous soils. *Pedosphere*, 27(6), 1027-1036.
- Xie, Z., Chu, Y., Zhang, W., Lang, D., y Zhang, X. (2019). *Bacillus pumilus* alleviates drought stress and increases metabolite accumulation in *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. *Environmental and Experimental Botany*, 158(November 2018), 99–106.

- Xu, M., Sheng, J., Chen, L., Men, Y., Gan, L., Guo, S., y Shen, L. (2014). Bacterial community compositions of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seeds and plant growth promoting activity of ACC deaminase producing *Bacillus subtilis* (HYT-12-1) on tomato seedlings. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30(3), 835-845.
- Xue, A. G., Chen, Y., Voldeng, H. D., Fedak, G., Savard, M. E., Längle, T. y Harman, G. E. (2014). Concentration and cultivar effects on efficacy of CLO-1 biofungicide in controlling *Fusarium* head blight of wheat. *Biological Control*, 73, 2–7.
- Xue, A. G., Voldeng, H. D., Savard, M. E., Fedak, G., Tian, X., y Hsiang, T. (2009). Biological control of fusarium head blight of wheat with *Clonostachys rosea* strain ACM941. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 31(2), 169–179.
- Yanardag, R., y Tabakog, A. (2000). Effects of chard (*Beta vulgaris* L . var . cicla) extract on pancreatic B cells in streptozotocin-diabetic rats : a morphological and biochemical study, 73, 251–259.
- Yanni, Y. G., Rizk, R. Y., Corich, V., Squartini, A., Ninke, K., Philip-Hollingsworth, S. y Dazzo, F. B. (2013). Natural endophytic association between *Rhizobium leguminosarum* bv. trifolii and rice roots and assessment of its potential to promote rice growth. *Opportunities for Biological Nitrogen Fixation in Rice and Other Non-Legumes*, 99–114.
- Yanni, Y. G., Rizk, R. Y., Corich, V., Squartini, A., Ninke, K., Philip-Hollingsworth, S. y Schmidt, T. M. (1997). Natural endophytic association between *Rhizobium leguminosarum* bv. trifolii and rice roots and assessment of its potential to promote rice growth. In *Opportunities for Biological Nitrogen Fixation in Rice and Other Non-Legumes*, 99-114. Springer, Dordrecht.
- Yasari, E., y Patwardhan, A. M. (2007). Effects of (*Azotobacter* and *Azospirillum*) inoculants and chemical fertilizers on growth and productivity of canola (*Brassica napus* L.). *Asian J. Plant Sci*, 6(1), 77-82.
- Yasmin, S., Hafeez, F. Y., Schmid, M., y Hartmann, A. (2013). Plant-beneficial rhizobacteria for sustainable increased yield of cotton with reduced level of chemical fertilizers. *Pakistan Journal of Botany*, 45(2), 655–662.
- Yoon, V., Tian, G., Vessey, J. K., Macfie, S. M., Dangi, O. P., Kumer, A. K., y Tian, L. (2016). Colonization efficiency of different sorghum genotypes by *Gluconacetobacter diazotrophicus*. *Plant and Soil*, 398(1-2), 243–256.
- York, L. M., Carminati, A., Mooney, S. J., Ritz, K., y Bennett, M. J. (2016). The holistic rhizosphere: integrating zones, processes, and semantics in the soil influenced by roots. *Journal of Experimental Botany*, 67(12), 3629–3643.
- Yu, X., Liu, X., Zhu, T. H., Liu, G. H., y Mao, C. (2012). Co-inoculation with phosphate-solubilizing and nitrogen-fixing bacteria on solubilization of rock phosphate and their effect on growth promotion and nutrient uptake by walnut. *European Journal of Soil Biology*, 50, 112–117.
- Yuan, H., Lei, Z., Rondon, S. I., y Gao, Y. (2017). Potential of a strain of *Beauveria bassiana* (Hypocreales: Cordycipitaceae) for the control of the potato tuberworm, *Phthorimaea operculella* (Zeller). *International Journal of Pest Management*, 63(4), 352–354.
- Yuan, W. M., y Crawford, D. L. (1995). Characterization of *Streptomyces lydicus* WYEC108 as a potential biocontrol agent against fungal root and seed rots. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(8), 3119–3128.
- Yuriko, F., Rocha, O., Maia, C., Oliveira, D., y Renata, P. (2017). Taxonomical and functional characterization of *Bacillus* strains isolated from tomato plants and their biocontrol activity against races 1 , 2 and 3 of *Fusarium oxysporum* f . sp . *Lycopersici*. *Applied Soil Ecology*, 120(July), 8–19.
- Zaheer, A., Mirza, B. S., Mclean, J. E., Yasmin, S., Shah, T. M., Malik, K. A., y Mirza, M. S. (2016). Association of plant growth-promoting *Serratia* spp. with the root nodules of chickpea. *Research in Microbiology*, 167(6), 510–520.
- Zahrán, H. H. (1999). Rhizobium-legume symbiosis and nitrogen fixation under severe conditions and in an arid climate. *Microbiology and Molecular Biology Reviews : MMBR*, 63(4), 968–89.
- Zaki, K., Misaghi, I. J., Heydari, A., y Shatla, M. N. (1998). Control of cotton seedling damping-off in the field by *Burkholderia* (*Pseudomonas*) *cepacia*. *Plant Disease*, 82(D), 291–293.
- Zamora-Natera, J. F., Bernal-Alcocer, A., Ruiz-López, M., Soto-Hernández, M., Escalante-Estrada,

- A., y Vibrans-Lindemann, H. (2005). Perfil de alcaloides de semillas de *Lupinus exaltatus* Zucc.(Fabaceae) y la evaluación antifúngica del extracto alcaloideo y lupanina contra fitopatógenos. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 23(2).
- Zavala-Gonzalez, E. A., Escudero, N., Lopez-Moya, F., Aranda-Martinez, A., Exposito, A., Ricaño-Rodríguez, J., y Lopez-Llorca, L. V. (2015). Some isolates of the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia* promote root growth and reduce flowering time of tomato. *Annals of Applied Biology*, 166(3), 472–483.
- Zhang, F., Dashti, N., Hynes, R. K., y Smith, D. L. (1997). Plant growth-promoting rhizobacteria and soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] growth and physiology at suboptimal root zone temperatures. *Annals of Botany*, 79(3), 243–249.
- Zhang, Q., Zhang, J., Yang, L., Zhang, L., Jiang, D., Chen, W., y Li, G. (2014). Diversity and biocontrol potential of endophytic fungi in *Brassica napus*. *Biological Control*, 72, 98–108.
- Zhong, H., Sun, L., Fischer, G., Tian, Z., y Liang, Z. (2019). Optimizing regional cropping systems with a dynamic adaptation strategy for water sustainable agriculture in the Hebei Plain. *Agricultural Systems*, 173(February), 94–106.
- Zhou, Y., Xia, X., Yu, G., Wang, J., Wu, J., Wang, M., y Gan, J. (2015). Brassinosteroids play a critical role in the regulation of pesticide metabolism in crop plants. *Scientific reports*, 5, 9018.

IX. ANEXOS

ANEXO 1.

Buenas prácticas de laboratorio.

• Personal y medio ambiente.

Los ensayos deberán ser realizados y supervisados por una persona capacitada en microbiología o su equivalente.

El laboratorio deberá contar con requisitos regulatorios y tecnológicos necesarios para llevar a cabo prácticas de microbiología.

Las actividades dentro del laboratorio deberán estar segregadas en espacios diferentes o al menos por tiempos, con la finalidad de minimizar el riesgo de contaminación cruzada y los falsos resultados. Asimismo el ensayo de esterilidad siempre deberá realizarse en un área de dedicación exclusiva.

Se contará con un programa de limpieza y desinfección antes, durante y después de realizar los ensayos microbiológicos. Además se dispondrá de instalaciones adecuadas para lavado y desinfección de manos.

Se tendrán medidas de seguridad para las personas que realicen los ensayos microbiológicos, tales como: el uso obligatorio de guantes, cubre bocas, bata de laboratorio. Y equipos como: campana de extracción, regadera de emergencia y reactivos necesarios para realizar limpieza y desinfección.

• Reactivos y medios de cultivo

Los medios se prepararán en el laboratorio mediante estándares de calidad e inocuidad, se usará agua destilada libre de bactericidas. Y serán manejados con medidas de inocuidad y seguridad dentro del laboratorio para evitar contaminaciones tanto del medio de cultivo como de los involucrados en el ensayo.

El transporte y almacenamiento de las muestras se realizará en condiciones que mantengan la integridad de las mismas así como la integridad de la persona que las maneja.

- **Limpieza de material utilizado durante el ensayo**

Se esterilizarán en autoclave a 121 °C por 30 minutos.

Se colocarán en la tarja con solución de hipoclorito de sodio a 1% por 30 minutos.

Se decanta el hipoclorito y se dejará correr bastante agua, posteriormente se lava con solución jabonosa y se enjuaga.

Bibliografía.

OMS. (2012). Buenas Prácticas de la OMS para laboratorio de microbiología. Washington, DC: OPS, 2012. (Red PARF Documento Técnico N° 11).

WHO. (2011). WHO good practices for pharmaceutical microbiology laboratories. WHO Technical Report Series, No. 961, 2011.

ANEXO 2.

NORMA Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo.

El personal que lleve a cabo los ensayos microbiológicos deberá conocer el manejo y desecho de los residuos peligrosos biológico-infecciosos de acuerdo a la NOM NOM-087-ECOL-SSA1-2002, la cual, indica los siguientes puntos:

- 1.- Identificación de los residuos: en este caso serán microbiológicos que incluyen cultivos, cepas y productos biológicos.
- 2.- Manejo inicial: Esterilizar en autoclave a 121 °C por 30 minutos para su inactivación.
- 3.- Manejo final: Desechar restos en bolsa roja. El material debe colocarse en hipoclorito de sodio al 1%, para posteriormente lavarse en solución jabonosa y enjuagar.
- 4.- Almacenamiento temporal: Los RPBI deberán almacenarse en contenedores con tapa y permanecer cerrados todo el tiempo, cuidando que no se tiren desechos en los alrededores ni se mezclen con basura común.
- 5.- Recolección y transporte externo: se debe contar con recolección externa que maneje los residuos y sacarlos de la Institución.

Es importante tener en cuenta que las bolsas no deben llenarse a más de 80% de su capacidad, no se deben comprimir y deben cerrarse de una manera segura.

Bibliografía.

De la Federación, O. (2002). NORMA Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental-Salud ambiental-Residuos peligrosos biológico-infecciosos.