



SEP
SECRETARÍA DE
EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO
Instituto Tecnológico de Torreón

TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TORREÓN

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADOS E INVESTIGACIÓN

**RIZOBACTERIAS PROMOTORAS DE CRECIMIENTO
VEGETAL EN PLANTÚLAS DE TOMATE**

Tesis que presenta:

MONTSERRAT IBARRA REYES

Como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN SUELOS

Director de tesis:

DR. MANUEL FORTIS HERNANDEZ



Torreón, Coahuila, México

Mayo, 2019

Tesis elaborada bajo la supervisión del comité particular de tesis, la cual ha sido aprobada y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS EN SUELOS
COMITÉ PARTICULAR**

DIRECTOR DE TESIS: _____
DR. MANUEL FORTIS HERNÁNDEZ

CO-DIRECTOR: _____
DR. JORGE SAENZ MATA

ASESOR: _____
DR. PABLO PRECIADO RANGEL

ASESOR: _____
DR. HÉCTOR ZERMEÑO GONZÁLEZ

Torreón, Coahuila, México

Mayo, 2019

DEDICATORIA

A mi esposo Luis Ángel Córdova Chavarría, por su apoyo y comprensión en todo lo que hago, a mis hijas Ivanna y Miranda, que son mi motor más grande para seguir día con día y que deseo ser un buen ejemplo para ellas.

A mis padres María Josefina Reyes Lozano y José Luis Ibarra Ortiz que con sus sabios consejos y apoyo he logrado superarme y seguir adelante en que en cada paso que doy.

A mis hermanas Marlen Ibarra Reyes y Maritza Ibarra Reyes por estar siempre ahí para mí, gracias por su apoyo incondicional.

A mis hermanos José Eduardo Ibarra Reyes y Juan Antonio Ibarra Reyes que espero ser un buen ejemplo para ellos.

A mis compañeros en el transcurso de la maestría por los momentos que juntos pasamos horas inolvidables, viajes, momentos de enojo y alegría.

AGRADECIMIENTOS

Principalmente a Dios, por haberme permitido culminar esta etapa de mi formación profesional.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Conacyt) por haberme otorgado la beca para poder realizar los estudios de Maestría.

Al Instituto Tecnológico de Torreón (ITT) por brindarme la oportunidad de desarrollarme académicamente.

Al Dr. Manuel Fortis Hernández, que me dio la oportunidad de trabajar con él y que siempre estuvo al pendiente de todas las actividades realizadas.

A la Dr. Jorge Sáenz Mata, profesor investigador de la Universidad Juárez del Estado de Durango (UJED) director de la Facultad de ciencias biológicas, por facilitarme las rizobacterias utilizadas en este trabajo y prestar sus instalaciones para la preparación de inoculos.

A los doctores Dr. Pablo Preciado Rangel y Dr. Héctor Zermeño González, quienes me proporcionaron un gran apoyo, asesoría, revisión y motivación para seguir siempre adelante con este trabajo de investigación.

Al Dr. Esteban Sánchez Chávez y al M.C. Ezequiel Muñoz Márquez del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. (CIAD) Unidad Delicias, por facilitar las instalaciones del Laboratorio de Fisiología y Nutrición Vegetal para realizar los análisis enzimáticos y minerales de tejido vegetal.

ÍNDICE DE CONTENIDO

Página

COMITÉ PARTICULAR	ii
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS.....	iv
ÍNDICE DE CONTENIDO.....	v
ÍNDICE DE CUADROS.....	viii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	ix
RESUMEN.....	xiii
SUMMARY	xiv
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Objetivos	4
1.1.1 Objetivo general.....	4
1.1.2 Objetivos específicos	4
1.2 Hipótesis.....	5
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	6
2.1 Biofertilización	6
2.2 Bacterias promotoras de crecimiento vegetal.....	7
2.2.1 Mecanismos de promoción de crecimiento.....	10
2.2.2 Interacción bacteria-planta.....	13
2.3 Rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal nativas.....	18
2.3.1 <i>Bacillus sp.</i>	20
2.3.2 <i>Acinetobacter sp.</i>	22
2.3.2 <i>Aeromonas sp.</i>	22
2.3.3 <i>Pseudomonas sp.</i>	23
2.4 Métodos de inoculación.....	24
2.5 Uso de PGPR en cultivos hortícolas.....	26
2.6 Inoculación foliar.....	27
2.7 Indicadores bioquímicos.....	32
2.7.1 Actividad enzimática nitrato reductasa (NR)	32
2.8 El tomate.....	34

2.8.1	Importancia del tomate.....	34
2.8.2	Producción de tomate en agricultura protegida.....	37
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	41
3.1	Localización del experimento.....	41
3.2	Material vegetal.....	42
3.2.1	Produccion de plántulas.....	42
3.3	Riegos.....	42
3.4	Tratamientos de estudio	43
3.4.1	Tipos de bacterias	44
3.4.2	Preparacion de buffer para los tratamientos.....	46
3.4.3	Preparacion de inoculos	47
3.4.4	Preparación de solucion nutritiva.....	48
3.5	Variables evaluadas en las plantulas de tomate producidas en invernadero.....	48
3.5.1	Altura de la planta.....	48
3.5.2	Diametro de tallo	49
3.5.3	Volumen desplazado de raíz.....	49
3.5.4	Peso fresco de hojas, tallo y raíz.....	49
3.5.5	Peso seco de hojas, tallo y raíz	49
3.5.6	Área foliar	50
3.5.7	Actividad enzimática nitrato reductasa in “vivo”	50
3.5.8	Análisis de tejido vegetal.....	52
3.5.8.1	Determinación de la concentración de nitrogeno total (Nt)	52
3.5.8.2	Cuantificación de la concentración de Sodio, Cobre, Hierro, Manganeso, Zinc y Níquel	53
3.5.8.3	Cuantificación de la concentración de Calcio, Potasio, Magnesio.....	54
3.5.8.4	Cuantificación de fósforo	55
3.5.9	Análisis microbiológico	55
3.6	Diseño Experimental	56
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	58
4.1	Altura de planta	58
4.2	Diametro de tallo	60
4.3	Área foliar	61
4.4	Volumen Desplazado de raíz	63
4.5	Peso fresco de planta	65

4.6 Materia seca de planta	67
4.7.1 Nitrato reductasa endógena.....	68
4.7.2 Nitrato reductasa con sustrato	71
4.7.3 Nitrato reductasa con cofactor Mo	72
4.7.4 Nitrato reductasa con sustrato y cofactor (NO ₃ + Mo)	74
4.8 Minerales	76
4.8.1 Nitrogeno	76
4.8.2 Fósforo	78
4.8.3 Potasio	80
4.8.4 Calcio	82
4.8.5 Magnesio	83
4.8.6 Sodio	85
4.8.7 Manganeseo	87
4.8.8 Níquel	89
4.8.9 Hierro	90
4.8.10 Zinc	92
4.8.11 Cobre	93
4.9 Ternas Fisiológicas	95
4.10 Comportamiento microbiológico	97
V. CONCLUSIONES	100
VI. RECOMENDACIONES	101
VII. LITERATURA CITADA	103
VIII. ANEXOS	111

INDICE DE CUADROS

		Página
		Pág.
Cuadro 2.8.1	Ranking de las principales entidades productoras de tomate	38
Cuadro 3.1	Rizobacterias y modos de aplicación	43
Cuadro 3.2	Concentraciones y bacterias utilizadas, así como el modo de aplicación y su volumen utilizado de cada uno de los tratamientos evaluados.	44
Cuadro 3.3	Identificación por análisis de 16s rRNA de bacterias aisladas de la rizosfera del zacate salado "Distichlis psicata".	45
Cuadro 3.4	Composición química de la solución steiner	48
Cuadro 4.9	Ternas Fisiológicas	124

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 2. 1.Atracción, adhesión y colonización bacteriana como determinantes para ejercer los mecanismos de estimulación de crecimiento vegetal.....	17
Figura 2. 2.Reducción del nitrato a amonio.....	34
Figura 2. 3.Exportaciones e importaciones de tomate en México.....	35
Figura 2. 4.Principales entidades con mayor porcentaje de agricultura protegida..	38
Figura 2. 5. Porcentaje de los principales cultivos en agricultura protegida.....	39
Figura 3. 1.Ubicación geográfica del área del experimento.....	41
Figura 3. 2.Localización del zacate salado “Distichlis psicata” en la poza salada en el valle del Sobaco de San Pedro Coahuila, México.....	45
Figura 3. 3.Equipo FLASH 2000 para la determinación de nitrógeno total.....	53
Figura 4. 1. Comparación de medias de altura de planta, a los 35 después de la siembra (dds), de plántulas de tomate producidas en invernadero con diferente modo de aplicación de cuatro rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal.....	59
Figura 4. 2.Comparación de medias de diametro de tallo, a los 35 días después de la siembra (dds), de plantulas de tomate producidas en invernadero con diferente modo de aplicacion de cuatro rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal.....	61
Figura 4. 3.Comparación de medias de área foliar a los 40 días después de la siembra (dds), de plantulas de tomate producidas en invernadero de manera asperjada de cuatro rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal.....	63
Figura 4. 4. Comparación de medias en volúmen desplazado de raíz, a los 41 días después de la siembra (dds), de plantulas de tomate producidas en	

ÍNDICE DE FIGURAS

- invernadero con aplicación inoculada más aspersion de cuatro rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal..... 65
- Figura 4. 5.Comparación de medias de peso fresco de raíz, hoja y tallo, a los 41 días después de la siembra (dds), de plantulas de tomate producidas en invernadero con aplicación de manera inoculada de cuatro rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal..... 66
- Figura 4. 6. Comparación de medias de peso seco de raíz, hoja y tallo, a los 41 días después de la siembra (dds), de plantulas de tomate producidas en invernadero con aplicación de manera mixta de las rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal..... 68
- Figura 4. 7.1.Comparación de medias de la reaccion endogena de la enzima nitrato reductasa, a los 36 días después de la siembra (dds), de plantulas de tomate producidas en invernadero de cuatro rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal..... 70
- Figura 4. 7.2.Comparación de medias de la reaccion con sustrato NO_3 de la enzima nitrato reductasa, a los 36 días después de la siembra (dds), de plantulas de tomate producidas en invernadero con forma de aplicación combinada de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal..... 72
- Figura 4. 7. 3. Comparación de medias de la reaccion con Mo como cofactor de la enzima nitrato reductasa, a los 36 días después de la siembra (dds), de plantulas de tomate producidas en invernadero con forma de aplicación combinada de rizobacterias promotoras de crecimiento vegeta..... 74
- Figura 4. 7. 4.Comparación de medias de la reaccion ($\text{NO}_3 + \text{Mo}$) de la enzima nitrato reductasa, a los 36 días después de la siembra (dds), de plantulas de tomate producidas en invernadero con forma de aplicación combinada de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal 75
- Figura 4.8. 1. Comparación de medias del nitrógeno (%), a los 36 días después de la siembra (dds), de plantulas de tomate producidas en invernadero con diferente forma de aplicación de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal..... 77

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 4. 8. 2.Comparación de medias del fosforo (%), a los 36 días después de la siembra (dds), de plantulas de tomate producidas en invernadero con diferente forma de aplicación de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal.....	79
Figura 4. 8.3.Comparación de medias del potasio en %, a los 36 días después de la siembra (dds), de plantulas de tomate producidas en invernadero con forma de aplicación combinada de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal.....	81
Figura 4. 8. 4.Comparación de medias del calcio en %, a los 36 días después de la siembra (dds), de plantulas de tomate producidas en invernadero con forma de aplicación inoculadas de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal.....	83
Figura 4. 8. 5. Comparación de medias del magnesio en %, a los 36 días después de la siembra (dds), de plantulas de tomate producidas en invernadero con forma de aplicación combinada de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal.....	85
Figura 4. 8. 6. Comparación de medias del sodio en %, a los 36 días después de la siembra (dds), de plantulas de tomate producidas en invernadero con forma de aplicación combinada de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal.....	87
Figura 4. 8. 7. Comparación de medias de manganeso ppm, a los 36 días después de la siembra (dds), de plantulas de tomate producidas en invernadero con forma de aplicación asperjada de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal.....	88
Figura 4. 8. 8. Comparación de medias de níquel ppm, a los 36 días después de la siembra (dds), de plantulas de tomate producidas en invernadero con diferente forma de aplicación de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal.....	90

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 4. 8. 9.Comparación de medias de fierro ppm, a los 36 días después de la siembra (dds), de plantulas de tomate producidas en invernadero con diferente forma de aplicación de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal..... 91
- Figura 4. 8.10.Comparación de medias de zinc ppm, a los 36 días después de la siembra (dds), de plantulas de tomate producidas en invernadero con forma de aplicación combinada de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal..... 93
- Figura 4. 8. 11.Comparación de medias de cobre (ppm), a los 36 días después de la siembra (dds), de plantulas de tomate producidas en invernadero con forma de aplicación inoculada de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal..... 94
- Figura 4. 9. Comparación de medias de unidades formadoras de colonias (UFC) en concentracion $\times 10^6$, a los 37 días después de la siembra (dds), de plantulas de tomate producidas en invernadero con diferente forma de aplicación de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal..... 99

RESUMEN

La fertilización química es el factor principal de incremento en costos de producción y de contaminación. Una alternativa es el uso de biofertilizantes, ya que ayudan a tener un manejo agrícola ecológico y sustentable. Las bacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPRs) actúan como bioestimulantes, incrementando la calidad de las plantas o cultivos, ayudan a asimilar mejor los nutrientes mediante diferentes mecanismos según la manera en que sean inoculadas, ya sea aspersión foliar, inmersión de la raíz o al suelo. En esta investigación se aplicaron cuatro cepas de los géneros, *Bacillus sp.*, *Acinetobacter sp.*, *Aeromona sp.* y *Pseudomona sp.* en diferentes modos de inoculación (inmersión de sustrato, asperjada y ambas) en plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum L.*). Se utilizó arreglo factorial (4x3) en un diseño experimental completamente al azar. Se realizaron contrastes ortogonales para la comparación de los tratamientos con los testigos correspondientes y prueba de separación de medias por Tukey ($P \leq 0.05$). Se evaluó la asimilación de nitrógeno por medio de la actividad enzimática nitrato reductasa, análisis mineral del tejido vegetal, análisis microbiológico y otras variables fenológicas. Los resultados obtenidos por el modo de inoculación mostraron que la combinación de la aspersión foliar y la inmersión del sustrato es la mejor manera de aplicación, las bacterias KB4 y LB1 fueron las que mostraron un mejor balance en el análisis mineral del tejido vegetal. La bacteria LB1 mostró un 9.87% más de actividad enzimática que el blanco y un 12% más a la solución nutritiva, un área foliar 57.23% mayor al blanco y 38.44% menor a la solución nutritiva, 61.34% más materia seca que el blanco y 5.67% mayor a la solución nutritiva. La bacteria KB4 mostró un 55.68% mayor volumen desplazado de raíz que el blanco y 10.51% menor a la solución nutritiva, una altura 27.8% mayor al blanco y un 18% menor a la solución nutritiva, un peso fresco 49.20% mayor al blanco y 14% menor a la solución nutritiva.

Palabras clave

Solanum lycopersicum L., biofertilizantes, rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal, inoculación, nitrato reductasa.

Summary

Chemical fertilization is the main factor of increased production costs and pollution. An alternative is the use of biofertilizers, since they help to have an ecological and sustainable agricultural management. Plant growth promoting bacteria (PGPRs) act as biostimulants, increasing the quality of plants or crops, helping to better assimilate nutrients through different mechanisms according to the way they are inoculated, either leaf spraying, root immersion or ground. In this research four strains of the genera, *Bacillus* sp., *Acinetobacter* sp., *Aeromonas* sp. and *Pseudomonas* sp. in different modes of inoculation (substrate immersion, sprinkling and both) in tomato seedlings (*Solanum lycopersicum* L.). A completely randomized factorial experimental design was used. Orthogonal contrasts were performed for the comparison of the treatments with the corresponding controls, as well as analysis of variance (ANOVA) and the Tukey separation test ($P \leq 0.05$). The assimilation of nitrogen was evaluated through enzymatic activity nitrate reductase, mineral analysis of plant tissue, microbiological analysis and other phenological variables. The results obtained by the inoculation mode showed that the combination of the foliar spray and the immersion of the substrate is the best way of application, the bacteria KB4 and LB1 were the ones that showed a better balance in the mineral analysis of the vegetal tissue. The bacterium LB1 showed a 9.87% more enzymatic activity than the white and 12% more to the nutritive solution, a foliar area 57.23% greater than the white and 38.44% lower than the nutritive solution, 61.34% more dry matter than the white one and 5.67% greater than the nutrient solution. The bacterium KB4 showed a 55.68% greater volume displaced from the root than the white and 10.51% lower than the nutritive solution, a height 27.8% higher than the white and 18% lower than the nutritive solution, a fresh weight 49.20% higher than the white one and 14% lower than the nutritive solution.

Keywords

Solanum lycopersicum L., biofertilizers, rhizobacteria promoting plant growth, inoculation, nitrate reductase.

I.INTRODUCCIÓN

El tomate (*Solanum lycopersicum*) es la hortaliza más cultivada y consumida a nivel mundial en el año 2014 alcanzó una producción de 170 750 767 t (FAO, 2014). Para el año 2015 el principal productor fue China con 50 552 200 t y México ocupó el décimo lugar con una producción de 2 694 358 t teniendo un volumen de producción 1.5% mayor al año previo (SIAP, 2017).

A nivel estatal en el 2015 Coahuila obtuvo una producción de 93 591 t con un valor de \$ 617 millones de pesos (SIAP, 2017). Y en la región laguna se cuenta con 661.36 ha de invernaderos y casa sombras destinadas a la producción de tomate, de las cuales se cosechan 91 367.40 t con un rendimiento de 138.15 t ha⁻¹ con un valor de producción \$ 599 004.80 de miles de pesos (SAGARPA, 2015); sin embargo, las plagas, la fertilización y las pérdidas al trasplante son los principales problemas que se tienen para cultivarlo.

La necesidad de obtener plántulas de mejor calidad que permitan minimizar el estrés post trasplante por medio de alternativas orgánicas y sustentables, harían factible emplear la biofertilización como una herramienta ecológica y sustentable (Grageda y Diaz-Franco, 2012).

Algunas bacterias del suelo, como parte de su metabolismo incrementan la fertilidad y benefician a las plantas, por lo que se les ha denominado bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPRs). Entre sus mecanismos están la fijación del nitrógeno atmosférico, solubilización de fosfatos, producción de fitohormonas, antibióticos y otros compuestos bioestimulantes de importancia para el desarrollo de los cultivos (Escobar, 2011).

Algunas veces estos biofertilizantes constituidos con microorganismos no son efectivos debido a que proceden de condiciones edafoclimáticas totalmente diferentes, por lo que es importante el uso de microorganismos adaptados a las condiciones edafoclimáticas y puedan ser utilizados, compitiendo exitosamente con la biota nativa (Armenta, 2010).

En investigaciones realizadas por Lara (2011) explica la importancia de la aplicación de las cepas nativas, en semillas de pasto angleton (*Dichanthium aristatum Benth*), demostró que el material vegetal inoculado con la cepa nativa presento un mayor promedio de alturas, longitud de hojas y un notable desarrollo vegetativo de la planta.

No obstante, es importante tomar en cuenta que existen varios métodos para la introducción de bacterias en las plantas, entre ellas están la inoculación de la semilla, empapar el suelo, aspersión foliar e inmersión de la raíz, etc. Azfal (2012) sugiere que se mejora el proceso de la inoculación por aspersión del inóculo en el suelo o directamente en las plantas en crecimiento.

La presente investigación tiene como objetivo evaluar la inoculación de cuatro cepas de los géneros, *Bacillus sp.*, *Acinetobacter sp.*, *Aeromona sp.* y *Pseudomona sp.* en plantulas de tomate tipo saladette, aplicados foliarmente, inoculados a la raíz y su combinación.

1.1. Objetivos

1.1.1. Objetivo general

Evaluar la respuesta en la producción de plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) inoculadas con cuatro cepas promotoras de crecimiento vegetal (PGPR) aisladas de la rizósfera del zacate salado “*Distichlis spicata*”.

1.1.2. Objetivos específicos

Determinar el efecto de la aplicación de cuatro bacterias PGPR sobre el desarrollo vegetativo, área foliar, actividad enzimática nitrato reductasa (NR), y análisis de tejido vegetal en plántulas de tomate saladette en invernadero.

Determinar el mejor método de inoculación (inmersión de sustrato, asperjada y ambas), su interacción y la mejor bacteria PGPR sobre la calidad de plántulas de tomate en invernadero.

1.2 Hipótesis

La inoculación con rizobacterias PGPR en plántulas de tomate aumentan su vigor, follaje y contenido mineral de una manera sustentable que la fertilización química convencional.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Biofertilización

Debido al incremento en el costo de los fertilizantes y a la contaminación que algunos propician en el ambiente cuando se utilizan irracionalmente, es necesario encontrar nuevas alternativas de fertilización, económicas y más eficientes (Hernández-Flores, 2012).

El uso de microorganismos promotores de crecimiento en la agricultura se denomina inoculación o biofertilización, es considerada una biotecnología que contribuye al desarrollo sostenible ya que favorece el desarrollo de los cultivos agrícolas, beneficia al productor y se ha descrito como ambientalmente segura, económica y socialmente aceptable (Hernández-Flores, 2012).

Como una alternativa a los fertilizantes está la posibilidad de utilizar bacterias del suelo, que como parte de su metabolismo incrementan la fertilidad y benefician a las plantas, por lo que se les ha denominado promotoras del crecimiento de las plantas (PGPRs). Entre sus actividades están la fijación del nitrógeno,

solubilización de fosfatos, producción de hormonas, antibióticos y otros compuestos de importancia para el desarrollo de los cultivos (Escobar, 2011).

El empleo a gran escala de los biofertilizantes resulta atractivo a la práctica agrícola por el incremento en la producción de cultivos; además de ser una opción para cubrir la gran demanda actual de alimentos, así como por la reducción del uso de fertilizantes químicos y agroquímicos, impactando de forma directa en la reducción de la contaminación de los suelos agrícolas y mantos acuíferos (Guzmán *et al.*, 2012).

En México existen algunas empresas dedicadas a producir y comercializar biofertilizantes, la producción de inoculantes a nivel industrial ofrece al agricultor una alternativa ecológica para incrementar la producción de sus cultivos además de un impacto favorable a su economía, por los costos menores de estos productos en comparación con los fertilizantes químicos (Molina-Romero, 2015).

2.2. Bacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR)

Las bacterias rizosféricas desempeñan una función importante al establecer asociaciones con las plantas. En base al efecto que ejercen estos microorganismos sobre el crecimiento de las plantas, éstas pueden clasificarse en tres grupos: benéficas, neutras y patógenas (Beneduzi *et al.*, 2012).

El término "bacterias promotoras del crecimiento de plantas" por sus siglas en inglés PGPR (plant growth promoting rhizobacteria) se refiere a bacterias que colonizan las raíces y/o rizósfera que mejoran el crecimiento de las plantas. La rizósfera es el ambiente del suelo donde la raíz vegetal está disponible y es una zona de actividad microbiana máxima que da como resultado un lugar confinado del que se extraen macro y micronutrientes esenciales (Vejan y Abdullah, 2016).

Lynch (2003) define la rizosfera como toda aquella porción de suelo que está fuertemente influenciada por las raíces de las plantas, la cual a su vez se divide en tres partes: rizoplano (microorganismos pegados a la raíz), endorrizosfera (microorganismos dentro de la raíz) y ectorrizosfera (microorganismos que actúan de manera circundante a la raíz).

Dicha asociación se inicia como respuesta al llamado "efecto rizosférico", el cual sucede a través de un intercambio de señales que se disparan a partir de la interacción microbio-planta, con resultados claramente benéficos para los dos (Hernández Montiel y Escalona Aguilar, 2013).

Cerca del 40% del carbono fijado en la fotosíntesis, en la parte aérea de la planta, puede ser excretado a la rizósfera, lo que afecta positivamente a la mayoría de las bacterias que ahí habitan, las cuales se nutren de los exudados de las raíces que emiten las plantas, como azúcares, vitaminas, factores de crecimiento,

ácidos orgánicos, glúcidos y mucigel (Hernández Montiel y Escalona Aguilar, 2013).

La población microbiana presente en la rizósfera es relativamente diferente de la de su entorno debido a la presencia de exudados radiculares que funcionan como una fuente de nutrientes para el crecimiento microbiano en comparación con el suelo donde no hay plantas (Vejan y Abdullah, 2016).

Pertenecientes al grupo de bacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR) se encuentran los géneros *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Burkholderia*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Rhizobium*, *Erwinia*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Acinetobacter* y *Flavobacterium* entre otros (Sánchez-López, 2012).

Algunas bacterias de tipo PGPR con capacidad de solubilizar fosfatos están dentro de los géneros *Achromobacter* sp., *Acinetobacter* sp., *Azospirillum* sp., *Burkholderia* sp., *Flavobacterium* sp., *Micrococcus* sp., *Microbacterium* sp., *Serratia*, *Beijerinckia* sp., así como las especies: *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus circulans*, *Cladosporium harbarum*, *Bradyrhizobium japonicum*, *Enterobacter agglomerans*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas chlororaphis*, *Rhizobium leguminosarum* (Rodríguez y Fraga, 2006).

2.2.1. Mecanismos de promoción de crecimiento

Los mecanismos de acción de PGPR también pueden ser separados en directivos e indirectos. Los mecanismos directos son la biofertilización, la estimulación del crecimiento de las raíces y el control del estrés de las plantas (Vejan y Abdullah, 2016).

Por otro lado, el mecanismo de control biológico cuyas rizobacterias están implicadas como promoción del crecimiento de las plantas indirectamente es mediante la reducción del impacto de las enfermedades, que incluyen antibiosis, inducción de resistencia sistémica y competencia por nutrientes y nichos (Vejan y Abdullah, 2016).

Entre sus actividades están la fijación del nitrógeno, solubilización de fosfatos, producción de hormonas, antibióticos, sideróforos y otros compuestos de importancia para el desarrollo de los cultivos (Escobar, 2011).

La fijación de nitrógeno por PGPR es incorporada por fijación simbiótica que es la conversión del nitrógeno a la atmosfera en el amónico o amonio en la que participan bacterias benéficas o fijadoras de nitrógeno que pueden formar nódulos fijadores de N en las raíces de las leguminosas por medio de la enzima nitrogenada, esta puede alcanzar de 20 a 50 kg ha⁻¹ al año (Azconbieto y Talon, 2008).

El mecanismo más común para la solubilización de fosfatos minerales es la producción los ácidos orgánicos, mientras que el fosfato orgánico es mineralizado por enzimas fosfatasas, de esta forma el fósforo queda disponible en el suelo y finalmente es absorbido por las plantas y utilizado para su desarrollo (Sánchez-López, 2012).

Los reguladores del crecimiento de las plantas, también denominados hormonas exógenas de las plantas, son sustancias sintéticas que son similares a las hormonas vegetales naturales. Se utilizan para regular el crecimiento de las plantas y son medidas importantes para impulsar la producción agrícola (Lugtenberg, 2002).

Uno de los modos de acción para la promoción del crecimiento por PGPR es estimulador, o regulador del crecimiento de las plantas. Esto se define como microorganismos que tienen la capacidad de producir o alterar la concentración de reguladores de crecimiento tales como IAA, GA, citoquininas y etileno (Vejan y Abdullah, 2016).

Las fitohormonas tales como auxinas, citoquininas y giberelinas son sustancias orgánicas que se encuentran en cantidades extremadamente bajas que ejercen influencia en los procesos bioquímicos, fisiológicos y morfológicos en las plantas, las fitohormonas que no son naturalmente sintetizadas por las plantas pero que

se sintetizan exógenamente por medios naturales y sintéticos se conocen como reguladores del crecimiento de las plantas (Vejan y Abdullah, 2016).

Los siguientes ejemplos son fitohormonas que son sintetizadas directa e indirectamente por PGPR, que actúan como reguladores de crecimiento de plantas (Vejan y Abdullah, 2016).

1. La auxina es una de las moléculas cruciales, que regulan la mayoría de los procesos vegetales directa o indirectamente, las auxinas más activas y famosas de las plantas son Indol - 3 - acético (IAA). Según Vejan (2016), una amplia gama de procesos de desarrollo de plantas y el crecimiento de las plantas son controlados por el IAA exógeno en el que una baja cantidad de IAA puede estimular el alargamiento de la raíz primaria, mientras que los altos niveles de IAA disminuir la raíz primaria, también facilita la formación de pelos radicales y estimula la formación de raíces laterales. Por lo tanto, las plantas tienen un mayor acceso a los nutrientes del suelo como IAA bacteriano aumenta tanto la superficie de la raíz y la longitud, los procesos de germinación y emergencia de semillas, desarrollo de flores y frutos (Vejan y Abdullah, 2016).
2. La giberelina (GA), es una fitohormona y su efecto fisiológico más dominante es el alargamiento de los brotes (Camelo, 2011).

3. Las citoquininas estimulan la división celular de una planta, la sensibilidad del cambium vascular y la diferenciación vascular e inducen la proliferación de pelos radiculares, inhiben la formación de raíces laterales y el alargamiento primario de la raíz (Vejan y Abdullah, 2016).

Otros de los compuestos de bajo peso molecular que producen las PGPR son llamados sideróforos, estos son compuestos que desempeñan la función de solubilizar específicamente el hierro e incorporarlo al metabolismo celular, se consideran compuestos ligantes a hierro que funcionan de forma general uniéndose covalentemente a hierro sin generar cambios en el estado de oxidación (Camelo, 2011).

El mecanismo bioquímico de los sideróforos, que implica el transporte y la liberación del hierro dentro de la célula, involucra una serie de reacciones de óxido-reducción mediadas por la diferencia en el potencial electroquímico de la membrana externa y el citoplasma (Camelo, 2011).

2.2.2. Interacción bacteria-planta

Dependiendo de su interacción con y / o en las partes de plantas, las PGPR se dividen en dos clases:

- a) Una es la promoción del crecimiento de plantas por rizobacterias extracelulares (ePGPR), es decir, que colonizan la rizósfera que comprende el suelo inmediato para las raíces y la superficie de las raíces, algunas de estas bacterias tienen la capacidad de establecerse entre las células de la corteza de la raíz por ejemplo, *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp., *Alcaligenes* spp., *Azospirillum* spp., *Azotobacter* spp., *Burkholderia* spp., *Caulobacter* spp., *Chromobacterium* spp., *Agrobacterium* spp., *Micrococcous* spp., *Serratia* spp., etc. (Bhattacharyya y Jha, 2012).
- b) Y otra las rizobacterias intracelulares que promueven el crecimiento de las plantas (iPGPR), donde la interacción se produce dentro de la planta, por lo general resulta en estructuras conocidas como nódulos de raíz (por ejemplo: *Rhizobium* spp., *Sinorhizobium* Spp., *Bradyrhizobium* spp., *Allorhizobium* spp., *Azorhizobium* spp., *Mesorhizobium* spp.) (Bhattacharyya y Jha, 2012).

Entonces la base de las interacciones con las plantas, PGPR se puede separar en bacterias simbióticas, por lo que viven dentro de las plantas e intercambian metabolitos directamente con ellas y rizobacterias de vida libre, que viven fuera de las células vegetales (Vejan y Abdullah, 2016).

Un estudio de microscopía electrónica de barrido (SEM) realizado para evaluar la colonización de la piña por *Herbaspirillum seropedicae*, se pudo observar

agregados bacterianos sobre tricomas y uniones de las paredes celulares de la epidermis, así como sobre la pared periclinal externa y los complejos estomáticos cercanos (Baldotto, 2011).

Evidenciando que la penetración bacteriana en la hoja pasó pasivamente a través de los estomas, y la colonización comenzó en la cámara sub-estomática y progresó a través de los espacios intercelulares del clorenquima esponjoso del mesófilo foliar (Baldotto, 2011).

Aun cuando las PGPR se han clasificado en función de su mecanismo para promover el crecimiento de plantas, en realidad éstas ejercen su efecto benéfico empleando una combinación de mecanismos que permiten estimular el crecimiento y el mantenimiento de su salud (Babaloba, 2010).

Para el buen desempeño de los mecanismos de estimulación del crecimiento vegetal, la mayoría de las rizobacterias establecen tres pasos indispensables (Figura 2.5) (Molina-Romero, 2015):

1. Atracción de la bacteria hacia la rizósfera de su hospedero, mediado por la quimiotaxis-específica bacteriana hacia exudados vegetales particulares, estos compuestos pueden servir como fuente de carbono y funcionar como moléculas de señalización (Molina-Romero, 2015).

2. Adhesión y colonización a la superficie de la raíz. Las bacterias deben tener la capacidad de adherirse a las semillas o raíces de plantas, para la posterior colonización; un proceso competitivo que es afectado por características genóticas de la rizobacteria y la variedad de planta hospedera (Oliveira *et al.*, 2009).

Además, se ha observado que la adhesión de algunas cepas bacterianas es sitio específico a la raíz, presentando un patrón de colonización particular en diferentes plantas (Molina-Romero, 2015).

3. Funcionalidad de la simbiosis asociativa: implica un establecimiento efectivo de la relación microorganismo-planta, lo que podría favorecer:
 - I) la modulación del balance hormonal de la planta mediante la producción de fitohormonas, compuestos orgánicos volátiles o por precursores del catabolismo de la planta.
 - II) El mejoramiento en la nutrición de la planta mediante fijación biológica de nitrógeno y la solubilización de fosfatos (Jha *et al.*, 2012) y
 - III) el mantenimiento de la salud de la planta (Molina-Romero, 2015).

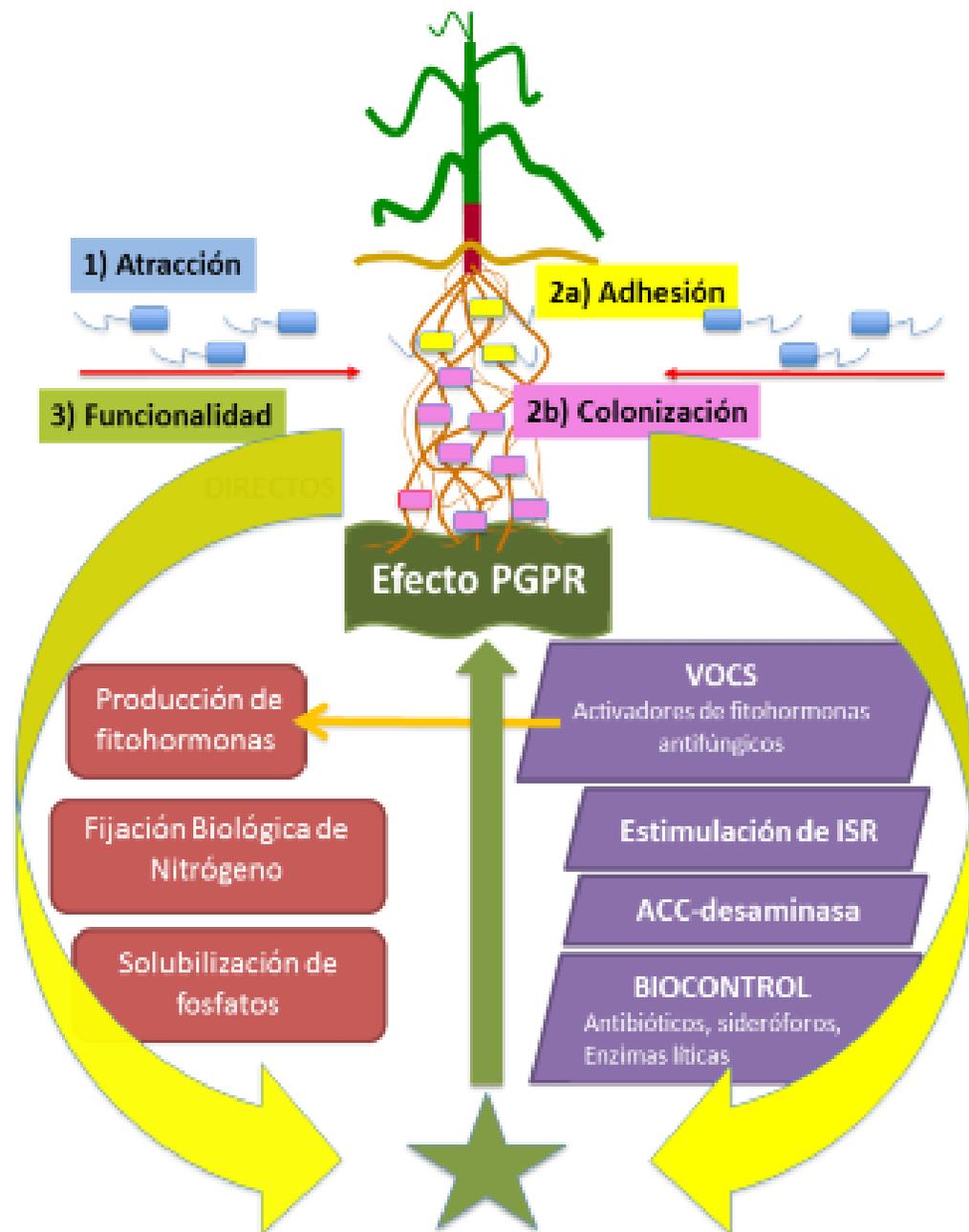


Figura 2.1 Atracción, adhesión y colonización bacteriana como determinantes para ejercer los mecanismos de estimulación de crecimiento vegetal (Molina-Romero, 2015).

2.3. Rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal nativas

Un aspecto importante a considerar es que a menudo, las cepas utilizadas como biofertilizantes son introducidas a regiones donde no pueden competir con la microbiota local o no se adaptan a las condiciones del clima y suelo, de ahí la importancia de los trabajos de investigación con microorganismos nativos, adaptados a las condiciones de la región donde se pretendan aplicar (Noh, 2014).

La búsqueda de bacterias con potencial biofertilizante se debe efectuar a partir de la población nativa del sitio donde se aplicarán, debido a que se favorece el aprovechamiento de la especificidad simbiótica y la capacidad de adaptación de las cepas de rhizobia para establecer una simbiosis efectiva a partir de cepas nativas (Hernández-Flores, 2012).

Estudios de las bacterias promotoras de crecimiento de plantas autóctonas de ambientes áridos salinos destacan que es importante aumentar el número de bacterias aisladas y reconocidas por sus características de promoción de crecimiento, que además sean tolerantes a la salinidad, para lograr una comprensión cada vez mayor de los mecanismos que operan en los ecosistemas naturales, de manera que las perturbaciones puedan ser manejadas para restaurar y estabilizar el medio ambiente que se ha ido dañando a través de los años con el exceso de fertilización química (Rueda-Puente, 2015).

Escobar (2011) indica que las cepas nativas de *Azotobacter* spp., productoras de ácido indolacético, fijadoras de nitrógeno y solubilizadoras de roca fosfórica influenciaron positivamente en el desarrollo vegetativo de tomate cv. Río Grande, disminuyendo el número de días a la floración e incrementando la altura, volumen radicular, materia seca total, aérea y radicular de las plantas de tomate.

La versatilidad metabólica de las PGPR aisladas de diversas regiones del mundo tienen potencial agrobiotecnológico para la producción de biofertilizantes, ya que, los inoculantes son una alternativa en favor de la agricultura sustentable, que incrementan el rendimiento, disminuyen la contaminación y los costos de producción en la práctica agrícola (Molina-Romero, 2015).

Sin embargo, aún falta conocimiento relacionado con las condiciones ambientales en que se lleva a cabo la inoculación y como afecta la interacción microorganismo-suelo-planta (Noh, 2014).

Los esfuerzos en la aplicación de las PGPR nativas de cada región para explotar sus beneficios potenciales son aún muy pocos en el mundo. En América a pesar de que existen empresas que fabrican inoculantes con bacterias benéficas, aún no existe una cultura de aplicación de los microorganismos nativos y se tendrán que convencer a los agricultores de que su uso es imprescindible para potenciar el crecimiento de plantas (Molina-Romero, 2015).

Gamalero (2003) encontró que la mayoría de los aislados de plantas con efectos promotores de crecimiento son de los géneros *Pseudomonas* y *Bacillus*. Buscando una mejor estrategia de selección de microorganismos beneficiosos para las plantas (PGPR), además de los experimentos de invernaderos, podría ser la evaluación de rasgos funcionales, centrándose en su capacidad para producir enzimas o compuestos que son directa o indirectamente responsables de la estimulación del crecimiento de las plantas que estos géneros producen.

2.3.1. *Bacillus* sp.

Los microorganismos del género *Bacillus* son bacilos de gran tamaño (4-10 μm), grampositivos, aerobios estrictos o anaerobios facultativos encapsulados. Una característica importante es que forman esporas extraordinariamente resistentes a condiciones desfavorables. Las especies del género están ampliamente difundidas y su hábitat principal es el suelo, producen diferentes enzimas hidrolíticos extracelulares, con las que degradan sustratos diversos, como polisacáridos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos; además, algunas especies producen antibióticos. Las especies del género *Bacillus* se clasifican en los subgrupos *B. polymyxa*, *B. subtilis* (que incluye a *B. cereus* y *B. licheniformis*), *B. brevis* y *B. anthracis* (Bartram, 2003).

Según su morfología, tienen forma de bastón alargado y presentan gran número de flagelos alrededor del cuerpo, aunque algunas especies son inmóviles. Responden positivamente a la tinción de GRAM. Sus esporas, endosporas, son refringentes y pueden aguantar grandes temperaturas gracias a su cubierta, por lo que es muy difícil deshacerse de ellas, pueden sobrevivir a la ebullición durante 20 minutos. De las 40 especies la mayoría son catalasa positiva. Sus condiciones óptimas de crecimiento en el laboratorio son 37°C y pH de 7 (Contreras,2014).

Ciertas especies del género *Bacillus* son de crecimiento frecuente en los suelos, en forma libre y también asociadas a las raíces. Aunque no constituyen la flora más abundante, numerosos estudios indican su presencia en la rizosfera de plantas tanto leñosas como herbáceas, lo que condujo a pensar que podrían jugar un papel clave en el mantenimiento de una microflora acompañante del sistema radical permitiendo el crecimiento vigoroso de las plantas y el mantenimiento de una fisiología saludable (Benintende, 2010).

Los primeros estudios de estas PGPR fueron localizados sobre algunas especies biocontroladoras, entre ellas *Bacillus subtilis*, un efectivo antagonista de patógenos del suelo (Kloepper et al., 1989).

2.3.2. Acinetobacter sp.

Acinetobacter es un género de bacterias Gram-negativas que pertenece al filo Proteobacteria. Las especies de Acinetobacter son bacilos estrictamente aerobios no fermentadores, no móviles, oxidasa-negativos que se presentan en pares al microscopio. Se distribuyen ampliamente en la naturaleza, son importantes en el suelo y contribuyen a su mineralización (Gerischer U, 2008).

Muchas de las características de Acinetobacter, ecología, taxonomía, fisiología y genética apuntan a la posibilidad de explotación de sus características únicas para aplicaciones biotecnológicas. Las cepas de Acinetobacter muestran una gran versatilidad metabólica y algunas son adecuadas para los sistemas de manipulación genética molecular.

Estas características son explotadas en diversas aplicaciones biotecnológicas incluyendo la biodegradación y biorremediación, la producción de lípidos y péptidos, ingeniería de enzimas, producción de biosurfactantes y biopolímeros y la ingeniería de nuevos productos derivados de estos (Gutnick D, 2008).

2.3.3. Aeromona sp.

Aeromonas es una bacteria con forma de bacilo, Gram-negativa, anaerobia facultativa que morfológicamente se asemeja a los miembros de la familia Enterobacteriaceae. Es un bacilo móvil, ubicuo, encontrándose en fuentes de

agua, suelo, artrópodos, moluscos, mamíferos, aves, peces e insectos (Janda J, 2010).

Becerra y Quintero (2011) al analizar la solubilización de fosfatos de distintas cepas aisladas, encontraron en la *aeromona hidropyla* una opción para utilizarse como biofertilizante.

2.3.4. Pseudomona sp.

Pseudomonas es un género de bacilos rectos o ligeramente curvados, Gram negativos, oxidasa positivos, aeróbicos estrictos, aunque en algunos casos pueden utilizar el nitrato como aceptor de electrones. El catabolismo de los glúcidos se realiza por la ruta de Etner-Doudoroff y el ciclo de los ácidos tricarbónicos. Algunos miembros del género son psicrófilos, mientras que otros sintetizan sideróforos fluorescentes de color amarillo-verdoso con gran valor taxonómico. Es común la presencia de plásmidos y no forman esporas (Madigan M, 2005).

El género demuestra una gran diversidad metabólica, y consecuentemente son capaces de colonizar un amplio rango de nichos.⁸ Son de fácil cultivo in vitro y ampliamente disponibles en número, por lo que ciertas cepas son excelentes para investigaciones científicas, por ejemplo, *P. aeruginosa* y su rol como

patógeno oportunista de humanos, el patógeno de plantas *P. syringae*, la bacteria de tierra *P. putida* y la *P. fluorescens* que promueve el crecimiento de plantas (Meyer JM, 2002).

La aplicación de inoculantes con base en las cepas: *Pseudomonas fluorescens* y *Pseudomonas sp.* dan resultados favorables ya que tienen la capacidad de producir índoles y sideróforos. En 2014 (Sánchez López B) evidenció que las cepas *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas sp.* incrementaron de manera significativa la biomasa y el desarrollo de las plantas en el cultivo de *Lactuca sativa* en invernadero.

2.4. Métodos de inoculación

Existen varios métodos para la introducción de bacterias en las plantas, están la inoculación de la semilla, empapar el suelo, aspersión foliar e inmersión de la raíz, etc. A (2012) sugiere que se mejora el proceso de la inoculación por aspersión del inóculo en el suelo o directamente en las plantas en crecimiento.

En la búsqueda de sistemas agrícolas más conservadores, la inoculación con PGPR se presenta como una estrategia prometedora para contribuir a una mayor sostenibilidad. Sin embargo, en tiempos en que se liberan más y más pesticidas para el tratamiento de las semillas, y se sabe muy poco sobre su toxicidad para

las bacterias inoculadas, la compatibilidad con inoculantes aplicados a la semilla puede limitar seriamente la contribución microbiana (Fukami, 2016).

Por lo que hay métodos alternativos de inoculación para evitar el contacto del inoculante con los pesticidas aplicados a las semillas, dándole una gran importancia a la aplicación foliar en el comienzo de la fase vegetativa. Estos métodos alternativos de inoculación pueden aumentar la utilización de bacterias en el campo agrícola y ayudar a reducir costos (Fukami, 2016).

La inoculación por aspersión foliar con la dosis más alta de inoculante promovió un aumento de 773 kg/ ha de rendimiento de grano de maíz sobre el tratamiento que recibió la dosis completa de fertilizante nitrogenado (100% N), sin inoculación (Hungría, 2013).

La inoculación por aspersión foliar y del suelo resultó en una mayor colonización interna de las partes aéreas de trigo por *Azospirillum*, lo que indica una alta movilidad bacteriana a través de las plantas. La colonización interna del maíz y las hojas de trigo también aumentaron en respuesta a la inoculación por aspersión foliar, lo que sugiere que en este caso los estomas actuaron como una puerta pasiva de bacterias, ya que para la aspersión el suelo estaba cubierto para evitar la contaminación cruzada y la colonización de las raíces por bacterias inoculantes (Fukami, 2016).

Varios autores han sugerido que la presencia de bacterias diazotróficas en los vasos del xilema puede indicar que ésta puede ser una vía de migración bacteriana a diferentes partes de la planta cuando se inocula por vía radicular (Souza, 2004).

2.5. Uso de PGPR en cultivos hortícolas

Si bien la mayoría de los inoculantes con PGPR han sido desarrollados inicialmente para cultivos extensivos, existe actualmente una demanda e interés creciente desde otros sectores productivos, tales como el hortícola y, especialmente, los sistemas de producción orgánicos e integrados en los cuales existen restricciones para el empleo de productos químicos (Malusá, 2012).

Las características intrínsecas de estos sistemas productivos, por ejemplo, el empleo de sustratos inertes y las condiciones de cultivo controladas, permitirían obtener respuestas a la inoculación más estables que en los sistemas extensivos (Quillehauquy, 2014).

Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal tienen un gran potencial en la agricultura moderna, porque en la actualidad el cultivo de la mayoría de las hortalizas como tomate y pimiento requiere de la producción de plántulas vigorosas, factor importante para la producción del fruto (Martinez, 2013).

Sánchez López (2012) establece que la inoculación de las plantas de tomate con las cepas *Enterobacter sp.* TVL-2 y *Pseudomonas putida* PSO14 exhibe un gran potencial para estimular el crecimiento y la producción de este cultivo. El uso de este tipo de bacterias, pueden ser una alternativa prometedora como biofertilizantes para el cultivo de tomate y la producción en la agricultura sostenible teniendo en cuenta que disminuiría el impacto sobre el medio ambiente al reducir el uso excesivo de fertilizantes de síntesis química.

El uso de los aislados KCH3 y TSACH2 inoculados a las semillas de tomate, y que solubilizaron fosfato *in vitro*, incrementaron significativamente la biomasa de la parte aérea de las plántulas de tomate (42 y 32 % respectivamente), permitiendo obtener plántulas más vigorosas que las plántulas sin inoculación de rizobacterias. Ambos aislados mostraron potencial para ser utilizados como biofertilizantes en la producción de plántulas de tomate (Noh, 2014).

2.6. Inoculación foliar

La inoculación foliar es una herramienta importante para el manejo sostenible y productivo de cultivos (Fernández *et al.*, 2015). Ya que la capacidad de las hojas de la planta para absorber agua y nutrientes fue reconocida hace aproximadamente tres siglos (Fernández y Eichert, 2009).

La fertilización foliar se ha desarrollado gracias a los esfuerzos de investigación que se enfocaron en tratar de caracterizar la naturaleza química y física de la hoja de la planta, la fisiología y la estructura celular de las hojas de las plantas, así como centrarse en los posibles mecanismos de penetración de las disoluciones foliares y la consiguiente translocación de los nutrientes dentro de las plantas luego de una aplicación foliar de soluciones nutritivas (Kannan, 2010).

La absorción foliar de nutrientes a través de la hoja se puede visualizar como un proceso compuesto de tres etapas (Murillo, 2013):

Etapa 1: Retención del producto en la hoja.

En esta etapa, el nutriente es aplicado por aspersion sobre la superficie de la hoja; es recomendable que el nutriente se mantenga en contacto con la hoja el mayor tiempo posible, preferiblemente de 3 a 4 horas, lo que aumenta la probabilidad de ser absorbido por esta (Fageria, 2009).

Generalmente, condiciones de alta humedad relativa favorecen la permeabilidad de la cutícula; la temperatura media (20 °C) y el uso de agentes tensoactivos ayuda a que la gota que contiene los nutrientes se mantenga por más tiempo en contacto con la superficie foliar (Murillo, 2013).

Etapa 2: Transporte del nutriente a las células.

En esta fase el nutriente es transportado a través de las diferentes capas de la hoja, donde supera una serie de barreras naturales, hasta llegar a las células epidermales.

Etapa 3: Movimiento del nutriente hasta los órganos.

En este paso los nutrientes son transportados desde las células epidermales hasta los órganos donde la planta los requiera, para lo cual atraviesan espacios intercelulares (apoplasto) o células de diferentes tejidos (simplasto). Una vez que los nutrientes llegan al tejido vascular (xilema y especialmente floema), se acelera dramáticamente su movilidad hasta los tejidos destino (Murillo, 2013).

Una vez que los solutos atraviesan la membrana plasmática, llegan al citoplasma y luego son translocados a través del floema o transportados con el movimiento del agua en el xilema hacia las regiones donde son utilizados para mantener el metabolismo y crecimiento de la planta (Frossard *et al.*, 2000).

Contrario a la creencia popular, la absorción de nutrientes a través de los estomas es poco probable, se le atribuye la mayoría de la absorción a la cutícula. Se considera que la absorción por estomas es difícil porque el contacto gota-estoma es mínimo, debido a que las gotas son más grandes que la apertura estomática, y porque el agua tiene alta tensión superficial (Brown, 2015).

Adicionalmente, la difusión del soluto tendría que ocurrir mayoritariamente de una fase líquida a una gaseosa, lo que es poco probable (Trejo-Téllez, 2007). La cutícula, por su mayor capacidad de intercepción de las gotas, su elevada superficie de contacto y su composición química, es considerada la ruta predominante en el proceso de absorción foliar.

Cuando los solutos se mueven a través de las distintas capas de la hoja, interactúan con las ceras epicuticulares, la cutícula, las capas de pectina, la pared celular y la membrana celular. Los solutos se difunden a través de las capas de la hoja, debido a un gradiente de concentración que se establece entre la disolución aplicada sobre la superficie de la hoja y la concentración de soluto en las células (Brown, 2015).

Se han propuesto dos posibles rutas de absorción de nutrientes. La primera ruta se denomina acuosa y en ella intervienen la cutina y la pectina, en tanto la segunda es considerada lipídica e involucra a las porciones no polares de la cutícula (Schönherr, 2006).

La aplicación foliar de nutrientes presenta una gran utilidad práctica bajo ciertas condiciones que se detallan a continuación (Brown, 2015):

- a) Cuando las condiciones del suelo limitan la disponibilidad de nutrientes aplicados al suelo.
- b) Cuando pueden ocurrir condiciones que conduzcan a altas pérdidas de nutrientes aplicados al suelo.
- c) Cuando interactúan las etapas de crecimiento del cultivo, la demanda interna de la planta y las condiciones ambientales para limitar la entrega de nutrientes a órganos críticos de la planta.
- d) Para que ayude a mantener la actividad fotosintética de las hojas.

Existen nuevas formulaciones y fuentes de fertilizantes con mayores eficiencias de absorción. Ejemplo de estos nuevos productos son las formas quelatadas de elementos menores, la combinación con adyuvantes como los órgano-silicones e inclusive la aplicación foliar de péptidos de cadena corta, aminoácidos libres y bioestimulantes (Murillo, 2013).

El desarrollar estos productos tomando en cuenta las diferentes etapas de la absorción y las barreras que el nutriente debe atravesar, incrementará la eficiencia de las aplicaciones y, además, reducirá el riesgo de fitotoxicidad en el cultivo (Murillo, 2013). Al aplicar bioestimulantes se sule a la planta con estos bloques estructurales (aminoácidos). Esto favorece el proceso de producción de proteínas con lo que se produce un ahorro de energía que la planta puede dirigir hacia otros procesos.

Este ahorro de energía tiene un valor especial cuando estos productos son aplicados en un momento en el cual el cultivo está debilitado por alguna condición extrema como un estrés hídrico, una helada, ataque de una plaga, un trasplante, el transporte de una localidad a otra, enfermedades y/o efectos fitotóxicos tales como la aplicación indebida de productos fitosanitarios, etc. (Saborio,2002).

2.7. Indicadores bioquímicos

Para conocer el nivel nutricional se utilizan los métodos bioquímicos que se basan en el empleo de metabolitos y enzimas específicas para iones. Estos métodos se fundamentan en la diferente actividad y ruta de producción de ciertas enzimas y metabolitos dependiendo del nivel nutricional (Córdova, 2016).

2.7.1. Actividad enzimática nitrato reductasa (NR)

La enzima nitrato reductasa se localiza en el citosol, aunque en algunas especies se ha descrito que parte de la enzima también se puede encontrar débilmente unida a plasmalema o a la membrana externa del cloroplasto (Azcon-Bieto y Talon, 2008).

La acción de la enzima nitrato reductasa consiste en reducir los nitratos (NO_3^-) a nitritos (NO_2^-). El NO_3^- es la forma predominante en que el N es absorbido y transportado hacia las hojas, en la mayoría de las especies cultivadas. Los tejidos

verdes de la planta poseen mucha más actividad de nitrato reductasa probablemente con el fin de asegurar que todo el nitrato producido por nitrato reductasa sea reducido evitando así su acumulación y los consiguientes efectos tóxicos (Weber, 2002).

Existen dos clases principales de NR que pueden ser: (a) una NR ferredoxina-dependiente, la cual es típica de cianobacterias y bacterias fotosintéticas, y (b) una NR nucleotido piridina dependiente que se encuentra en organismos eucariotas (Weber y Flugge, 2002).

En el citoplasma de las células foliares, el NADH (nicotinamida adenina dinucleótido deshidrogenasa) requerido para el funcionamiento normal de la NR es suministrado a través de dos mecanismos. Uno de ellos es incorporado por fijación simbiótica que es la conversión del nitrógeno a la atmósfera en el amónico o amonio en la que participan bacterias benéficas o fijadoras de nitrógeno que pueden formar nódulos fijadores de N en las raíces de las leguminosas por medio de la enzima nitrogenada, esta puede alcanzar de 20 a 50 kg ha⁻¹ al año. (Azconbieto y Talon, 2008).

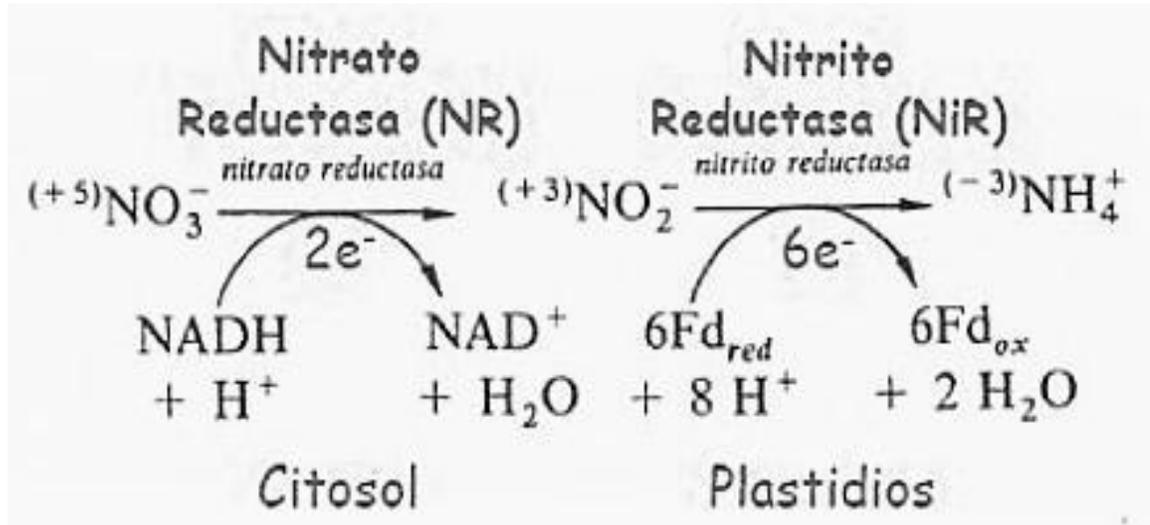


Figura 2.2 Reducción del nitrato a amonio.

La NR es la enzima limitante de la tasa de asimilación de N y es un punto clave de la regulación metabólica en los cultivos, la NR está asociado con el crecimiento de la planta y las plantas sometidas al estrés disminuyen su síntesis proteica y produce una caída en la reducción de nitratos actividad utilizada por el flujo de nitrato (Márquez - Quiroz, 2015).

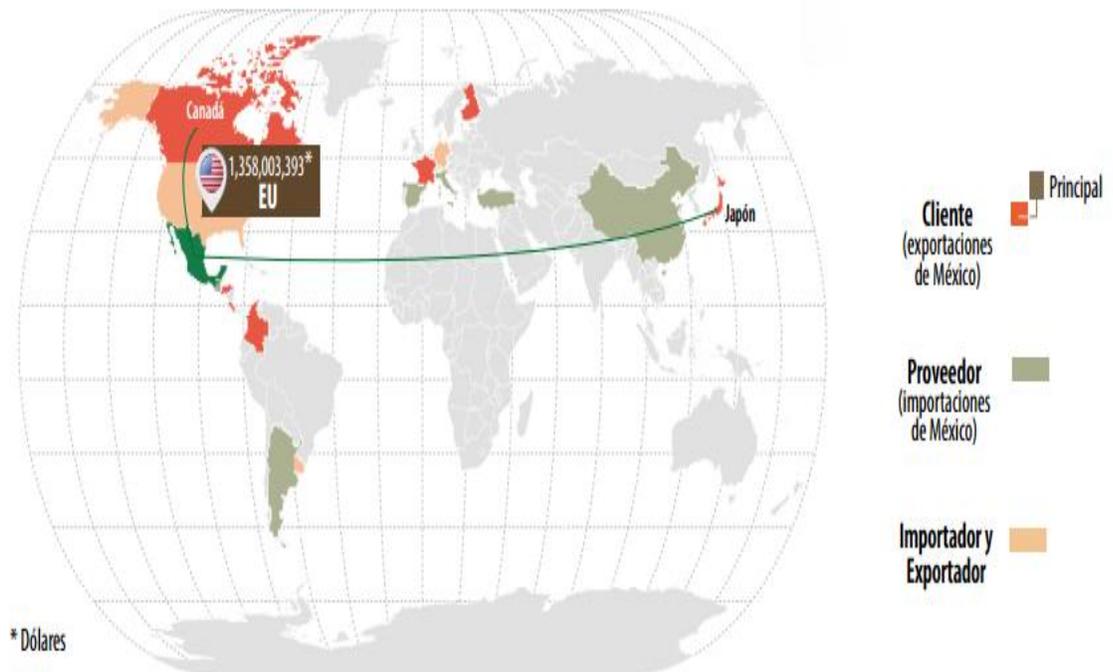
2.8. El Tomate

2.8.1 Importancia del tomate

El tomate es la hortaliza más cultivada y consumida en el mundo, en los últimos años la producción mundial de tomate se ha incrementado notablemente en el año 2014 se obtuvo una producción de 170 750 767 t (FAO, 2016).

El principal productor de tomate es China con 50 552 200 t. En el año 2015 México ocupa el décimo lugar con una producción de 2 694 358 t teniendo un volumen de producción 1.5% mayor al de un año previo (SIAP, 2017).

En México, el tomate es el cultivo hortícola de mayor importancia económica y social, su exportación representa para el país una importante fuente de ingresos, al ser ubicado como el tercer país exportador de tomate en el mundo. El 99% del tomate que se exporta en México se destina a Estados Unidos con un valor de \$1 358 003 393 de dólares (Figura 2.1), uno de cada dos tomates que se consumen en ese país, proviene de México (SIAP, 2017).



Tan sólo en 2015 se exportaron 1 432 864 t con un valor de 1 370.3 millones de dólares. Así mismo, este intercambio comercial genera alrededor de 350 mil empleos en nuestro país (SIAP, 2017).

En 2015 Coahuila obtuvo una producción de 93 591 t con un valor de 617 millones de pesos (SIAP, 2017), siendo el décimo estado a nivel nacional en producción de tomate (Cuadro 2.1).

Cuadro 2.1. Ranking de las principales entidades productoras de tomate en México

Rank	Entidad federativa	Volumen	Variación 2014-2015
		toneladas	%
1	Sinaloa	849 342	-2.1
2	Michoacán	223.678	31.8
3	San Luis Potosí	221 561	13.0
4	Baja California	220 848	62.7
5	Jalisco	161 805	2.0
6	Zacatecas	145 234	-4.3
7	Sonora	136 045	12.1
8	Baja California Sur	123 032	-12.9
9	Puebla	113 720	51.2
10	Coahuila	93 591	-2.6
	Resto	809 474	6.3

Total nacional	3 098 329	7.8
----------------	-----------	-----

Fuente: SIAP (2017).

La región laguna cuenta con 661.36 hectáreas de invernaderos y casa sombras destinadas a la producción de tomate, de las cuales se cosechan 91 367.40 t de esta hortaliza con un rendimiento de 138.15 tha^{-1} con un valor de producción \$599 004.80 de miles de pesos (SAGARPA, 2015).

2.8.2 Producción de tomate en agricultura protegida

Se le llama agricultura protegida a los sistemas en que se desarrollan los cultivos como invernaderos, malla sombre, macro túnel y micro túnel, controlando diversos factores ambientales.

En México existen 25 mil ha bajo agricultura protegida de las cuales el 71.5% se concentra en seis estados: Sinaloa 35.5 %, Baja California 10.7 %, Sonora 9.8 %, Jalisco 5.5 %, Estado de México 5.3% y Guanajuato 4.6% (Figura2.2). Esto contribuye con 5.1% del valor de la producción agrícola y emplea el 0.1% nacional de la superficie sembrada (SIAP,2017).



Figura 2.4. Principales entidades con mayor porcentaje de agricultura protegida (SIAP,2017).

Los principales cultivos que se producen bajo agricultura protegida son el tomate rojo 54 %, pepino 15.9 %, chile 15.4 % y berenjena 4.4% (Figura 2.3). El rendimiento por ha de tomate rojo es 2.9 veces mayor que en la agricultura convencional, además de que el ingreso por unidad de superficie es 4.2 veces mayor comparado con la agricultura normal (SIAP,2017).

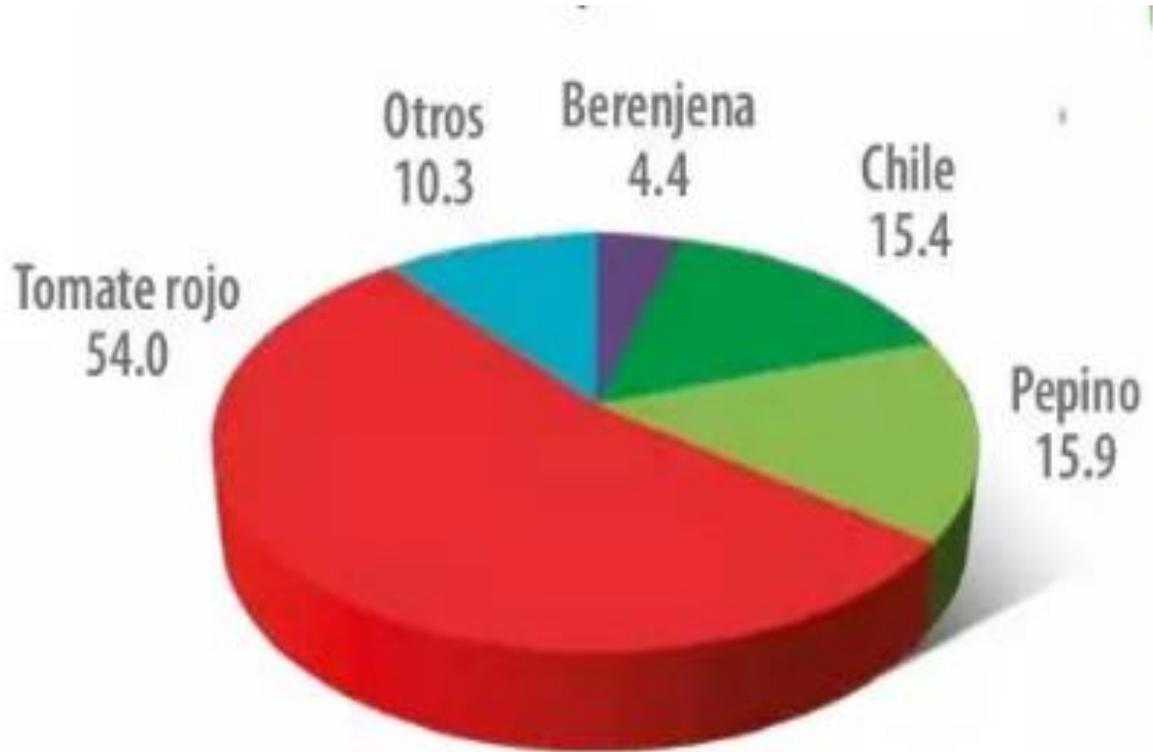


Figura 2.5. Porcentaje de los principales cultivos en agricultura protegida (SIAP, 2017).

La ventaja de cultivar bajo agricultura protegida hace posible producir durante todo el año, independientemente de las condiciones climáticas externas. Además, hay una adaptación de la producción al mercado, a los requerimientos locales y de exportación (Jaramillo, 2007).

La alta productividad, asociada a la posibilidad de producción y comercialización en la época más oportuna, compensa la inversión inicial, con ganancias adicionales para el productor (Jaramillo, 2007).

La fertilización es uno de los factores más importantes de la producción en agricultura protegida, lo que ha provocado su aplicación excesiva, el costo de los fertilizantes dentro de un ciclo agrícola representa más del 25% del total de los costos de la producción (Salgado y Nuñez, 2010).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Localización geográfica del área experimental

El estudio se realizó bajo condiciones de invernadero en el Instituto Tecnológico de Torreón, localizado entre las coordenadas $24^{\circ}30'$ y $27^{\circ}N$, $102^{\circ}00'$ y $104^{\circ}40'O$, a una altitud de 1120 m s. n. m. Ubicado en el Km 7.5 de la antigua carretera Torreón- San Pedro, Municipio de Torreón, Coahuila (Figura 3.1).



Fig. 3.1. Ubicación geográfica del área del experimento (GOOGLE MAPS).

3.2. Material Vegetal

La semilla de tomate utilizada fue del tipo saladette híbrido cv. Sahel. Es un híbrido indeterminado con una planta robusta que produce altos rendimientos. Los frutos muy uniformes de buena calidad, de hombros suaves, brillo y firmeza durante toda la temporada, aún en condiciones adversas. Con respecto al Fruto extra grande a grande son de maduración intermedia, ideal para el mercado nacional y de exportación. (Jasso, 2012).

3.2.1. Producción de Plántulas

La siembra de semilla de tomate se efectuó en trece charolas de polietileno de 200 cavidades utilizando peat moss marca PRO-MIX GTX (base de turba sphagnum de granulación fina de origen canadiense) como medio de germinación, se colocó una semilla en cada cavidad, cubriendo con un plástico negro hasta la germinación, teniendo como fecha de siembra el día nueve de noviembre del 2016.

3.3 Riego

Se aplicó riego con agua tridestilada a cada charola para así poder atribuirle los resultados a los tratamientos evaluados, la mitad del volumen se aplicó por la mañana y el resto por la tarde para mantener en condiciones de humedad óptima las plántulas.

3.4. Tratamientos de estudio

Se evaluaron cuatro cepas bacterianas con tres maneras diferentes de aplicación (Cuadro 3.1) más tres testigos dando lugar a un total de 15 tratamientos como se describe en el Cuadro 3.2. Para la inoculación de los tratamientos se basó en trabajos anteriores utilizándose una concentración de 1×10^8 UFC en PBS al 0.5%, para su aplicación (Palacio-Rodríguez *et al.* 2017). La Solución Salina Amortiguada por Fosfatos (PBS) constituye una solución amortiguadora de pH comúnmente empleada para procedimientos bioquímicos.

Cuadro 3.1. Rizobacterias y manera de aplicación

Modo de aplicación	Cepa LB1	Cepa NFB2	Cepa KB3	Cepa KB4
Asperjado	LB1 Asperjada	NFB2 Asperjada	KB3 Asperjada	KB4 Asperjada
Inoculado	LB1 Inoculada	NFB2 Inoculada	KB3 Inoculada	KB4 Inoculada
Combinado	LB1 Combinada	NFB2 Combinada	KB3 Combinada	KB4 Combinada

Cuadro 3.2. Concentraciones y bacterias utilizadas, modo de aplicación y volumen utilizado de cada uno de los tratamientos en la producción de plantulas de tomate.

Tratamientos	Bacterias 1x10⁸ UFC	Aplicación	Volumen mL
1	LBendo1	Asperjado	50
2	LBendo1	Inoculado	240
3	LBendo1	Asperjado e inoculado	290
4	NFBendo2	Asperjado	50
5	NFBendo2	Inoculado	240
6	NFBendo2	Asperjado e inoculado	290
7	KBendo3	Asperjado	50
8	KBendo3	Inoculado	240
9	KBendo3	Asperjado e inoculado	290
10	KBecto4	Asperjado	50
11	KBecto4	Inoculado	240
12	KBecto4	Asperjado e inoculado	290
13	Control absoluto	-----	---
14	Solucion nutritiva	Asperjado y en riego	290
15	Buffer PBS 0.5%	Asperjado y en riego	290

*UFC son las unidades formadoras de colonias de bacterias y en volumen ml son los mililitros aplicados en total por tratamiento, se inocularon tres mililitros por plantula, el PBS al 0.5% es una solución salina amortiguada por fosfatos.

3.4.1. Tipos de bacterias

Las bacterias fueron identificadas por análisis del RNA de las cepas (Cuadro 3.2), aisladas de la rizosfera del zacate salado “*Distichlis psicata*” localizado en la poza salada del valle del Sobaco de San Pedro, Coahuila (Figura 3.2), sus características las hacen pertenecer al grupo de PGPR, las cuales fueron

proporcionadas por el laboratorio de Biología Agrícola de la Facultad de Biología de la Universidad Juárez del Estado de Durango (UJED), así como el cuadro 3.3 y la figura 3.2.

Cuadro 3.3. Identificación por análisis de 16s rRNA de bacterias aisladas de la rizosfera del zacate salado “*Distichlis psicata*”.

ID	Species	Pb	Identify %	#access
LBEndo1	<i>Bacillus paralicheniformis</i>	563pb	96	NR_137421.1
NFBEndo2	<i>Acinetobacter guillouiae</i>	1322pb	99	NR_117626.1
KBendo3	<i>Aeromona caviae</i>	918pb	96	KT_757522.1
KBecto4	<i>Pseudomonas lini</i>	1387pb	99	NR_099042.2

Fuente: laboratorio de Biología Agrícola de la Facultad de Biología de la UJED

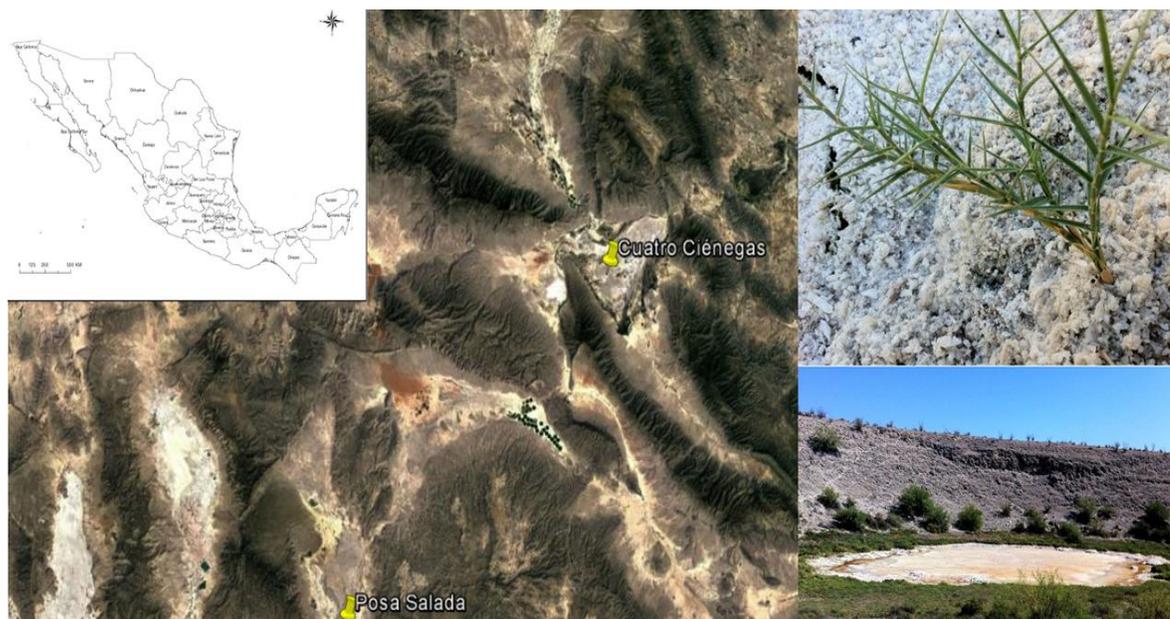


Figura 3.2. Localización del zacate salado “*Distichlis psicata*” en la poza salada en el valle del Sobaco de San Pedro Coahuila, México.

3.4.2. Preparación de buffer para los tratamientos

La solución salina amortiguada por fosfatos (PBS) constituye una solución amortiguadora de pH comúnmente empleada para procedimientos bioquímicos, su osmolaridad y concentración de iones (Cl^- , Na^+ y K^+).

Esta solución es isotónica y no-tóxica para las células, se prepara a partir de cloruro de sodio, fosfato de sodio y, en algunas formulaciones, con fosfato de potasio.

El PBS se emplea como vehículo neutro para células, ya que no modifica el perfil de expresión y funcionamiento celular normal, puede ser empleado como diluyente para métodos de desecación de biomoléculas, ya que las moléculas de agua presentes en el PBS se adhieren alrededor de la biomolécula permitiendo inmovilizarla a una superficie sólida.

Esta monocapa de agua evita que la biomolécula sea desnaturalizada (o sufra modificaciones conformacionales) en el proceso de desecación (Protocolo y Metodos de laboratorio de Genomica Viral, 2008).

Se preparó una solución de PBS al 0.5%, utilizando 50 mL de PBS al 10 % aforando con 950 mL de agua tridestilada.

3.4.3. Preparación de inóculos

Se preparó un medio de crecimiento bacteriológico LB en caldo con un volumen de 240 mL por frasco y 10 mL en tubo falcón para cada una de las cuatro cepas bacterianas dando un total de 250 mL de medio LB a preparar (formula proporcionada por el laboratorio de Biología Agrícola, UJED).

-peptona 2.5 g

-extracto de levadura 1.25 g

-cloruro de sodio 2.5 g

-agua tridestilada 250 mL

Posteriormente, se esterilizó el medio en autoclave, al enfriarse el medio se inoculó cada tubo falcón y se incubaron por 24 h para activar las bacterias, luego de activarse se vaciaron los tubos falcón en cada frasco con cada una de las cepas bacterianas, para seguir su crecimiento por otras 24 h de incubación, después se prosiguió a realizar el conteo correspondiente para determinar su concentración de 1×10^8 UFC.

3.4.4. Preparación de solución nutritiva

Para el testigo de fertilización química, se aplicó una solución nutritiva Steiner en un volumen de 1 L por día para todas las plántulas testigo durante todo el experimento.

Cuadro 3.4 Composición química de solución Steiner

	NO_3^-	H_2PO_4^-	K^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}	SO_4^-
Solución Steiner	12	1	7	9	4	7
Agua			0.17	1.36	0.24	0.23

3.5. Variables evaluadas en las plántulas de tomate producidas en invernadero.

3.5.1. Altura de plántula

Esta variable se midió cada siete días antes de cada aplicación de los tratamientos. Considerando ocho repeticiones por tratamiento. Se utilizó una cinta métrica *STANLEY* 8m/26', los datos referidos a esta variable se expresan en centímetros (cm).

3.5.2. Diámetro de tallo

El tallo es el soporte de la planta y el sistema distribuidor principal de agua y nutrientes. Esta variable se midió cada siete días antes de cada aplicación de los tratamientos. Considerando ocho repeticiones por tratamiento. Se utilizó un vernier análogo *Metric and Imperial Scales* modelo 1223, los datos referidos a esta variable se expresan en milímetros (mm).

3.5.3. Volumen desplazado de la raíz

Se utilizó una probeta graduada a un nivel posteriormente se sumergía la raíz y se cuantificaba el volumen con la raíz dentro de la probeta, los datos referidos para esta variable son expresados en mililitros (mL).

3.5.4. Peso fresco de hojas, tallo y raíz

Se cuantificó solo una vez, al finalizar el trabajo experimental. Se utilizó una balanza analítica digital VE-500. Los resultados obtenidos se expresan en gramos (g).

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

Se cuantificó al finalizar el trabajo experimental. Se dejó el material vegetativo previamente pesado durante 72 horas en una estufa de secado a una temperatura de 80 °C, posteriormente se pesó en una balanza analítica digital VE-500, los resultados para esta variable se expresan en gramos (g).

3.5.6. Área foliar

Se obtuvo solo una vez, al finalizar el experimento. Se utiliza un integrador de área foliar marca LI-COR modelo LI-3100, los resultados referidos para esta variable se expresaron en cm².

3.5.7. Actividad enzimática nitrato reductasa “*in vivo*”

Se determinó al finalizar. Se recolectaron las muestras de plántulas de tomate que posteriormente se llevaron en contenedores con hielo para evitar un pronto marchitamiento al Laboratorio de Fisiología y Nutrición Vegetal del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD) Unidad Delicias, Chihuahua, para hacer la determinación.

El procedimiento utilizado es una adaptación de los métodos propuestos por Joworski (1957) y Mauriño (1986). El ensayo se llevó a cabo tanto en el limbo foliar como en la raíz de la planta.

Para la cuantificación de la actividad NR “*in vivo*” se pesaron 0.15 g de taleolas de hojas con un diámetro de 7 mm. Los discos foliares se introdujeron en 10 mL de medio infiltración, que fue distinto dependiendo de la actividad NR determinada:

- En el caso de la actividad NR endógena se pusieron 10 mL del Buffer de fosfato potásico 100 mM pH 7.5 + 1 % de propanol.
- Actividad NR inducida con NO_3^- se pusieron 10 mL Buffer de fosfato potásico 100 mM pH 7.5 que contiene nitrato potásico 50 mM + 1 % de propanol.
- Actividad NR inducida con Molibdato se aplicaron 10 mL del Buffer de fosfato potásico 100 mM pH 7.5 que contiene molibdato sódico dihidrato 50 mM más 1 % de propanol.
- Actividad NR inducida con Molibdato y NO_3^- se pusieron 10 mL de Buffer de fosfato potásico 100 mM pH 7.5 que contiene nitrato potásico 50 mM y Molibdato sódico dihidrato más 1 % de propanol.

En seguida las muestras se sometieron a un proceso de vacío (aproximadamente 8 bar) durante 10 minutos y en la oscuridad. Posteriormente, las muestras se incubaron a 30° C en la oscuridad durante 60 minutos. Tras ese tiempo los tubos se introdujeron en el baño de agua caliente a 100° C durante 15 minutos.

Para la determinación de la actividad NR "*in vivo*" se toma: 1 mL de la alícuota (Metra), 2 mL de sulfanilamida al 1 % disuelta en HCl 1.5 normal, (1 g de sulfanilamida más 20 mL de HCl al 35 %, todo ello disuelto en 100 mL de agua), 2 mL de NNEDA (N-1- naftil- etilendiamida) al 0.02%, disuelta en HCl 0.2 normal (20 mg de NNEDA disueltos en 100 ml de HCl en este caso "agua").

Tras 20 minutos, se procede a la lectura de la absorbancia en el espectrofotómetro JENWAY UV/Vis, Spectrophotometer a una longitud de onda de 540 nm, frente a una curva patrón de NO_2^- entre 0.25 - 2 $\mu\text{g ml}^{-1}$, siguiendo el método propuesto por Hageman y Hcklesby (1971).

La actividad nitrato reductasa “*in vivo*” se expresó en: $\mu\text{mol de NO}_2^-$ formados por g^{-1} p. f. h^{-1} (micro moles de nitritos formados por gramos de peso fresco en una hora).

3.5.8. Análisis de tejido vegetal

Se recolectaron las muestras de plántulas de tomate frescas y se llevaron al Laboratorio de Fisiología y Nutrición Vegetal del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD) Unidad Delicias, Chihuahua, donde posteriormente se lavaron y secaron para hacer las determinaciones minerales, las cuales son Nitrógeno (N), Fósforo (P), Potasio (K), Calcio (Ca), Magnesio (Mg), Manganeso (Mn), Sodio (Na), Cobre (Cu), Níquel (Ni), Zinc (Zn), Hierro (Fe).

3.5.8.1 Determinación de la concentración de nitrógeno total (Nt)

Para esta determinación se pesó 3 mg de muestra (seca y molida) de cada tratamiento por triplicado añadiendo 11 mg de pentóxido, en un recipiente de

aluminio, se procedió a analizar en el FLASH 2000 tal como se muestra en la figura 3.3.



Figura 3.3. Equipo FLASH 2000 para la determinación de nitrógeno total

3.5.8.2. Cuantificación de la concentración de Sodio (Na), Cobre (Cu), Hierro (Fe), Manganeso (Mn), Zinc (Zn) y Níquel (Ni), por el método de la mezcla digestora y espectrofotometría de absorción atómica.

Se colocó 1 g de muestra en vasos de precipitado de 250 mL, se añadieron 25 mL de mezcla triácida (1000 mL de HNO₃ concentrado, 100 mL de HCl concentrado, 25 mL de H₂SO₄ concentrado) se colocó en la parrilla digestora de

la campana de extracción de humos hasta tomar un color blanco lechoso, después se filtró en matraces volumétricos de 50 mL (solución madre) se aforo con agua desionizada y se agito. Después se coloca la solución en tubos graduados de 50 mL para posteriormente ser leídos en el espectrofotómetro de absorción atómica (Thermo Scientific iCE 3000 Series AA Spectrometer) y realizar el cálculo de la siguiente forma.

$$\% \text{ Na} = \text{Lectura del aparato ppm} * 0.005$$

$$\text{Ppm Cu, Fe, Mn, Zn y Ni} = \text{Lectura del aparato en ppm} * 50$$

3.5.8.3 Determinación de la concentración de calcio (Ca), Potasio (K), Magnesio (Mg) (Método de la mezcla digestora y absorción atómica)

De la solución madre que quedo en el matraz volumétrico de 50 mL, se tomó 1 mL y se colocó en matraces volumétricos de 100 mL, se aforo, se agito y se procedió a leer en el espectrofotómetro de absorción atómica realizándose los cálculos de la siguiente manera.

$$\% \text{ Ca, K, Mg} = \text{Lectura del aparato en ppm} * 0.5$$

3.5.8.4. Cuantificación del fósforo (P) (Método de la mezcla triácida y metavanadato molibdato de amonio y colorimetría)

De la solución madre la primera determinación, se tomó una alícuota de 0.5 mL se vació en un tubo de ensaye de 10 mL, se le agregaron 1 mL de solución de nitro-venadato-molibdato de amonio, 3.5 mL de agua desionizada y se agitó, después de una hora se procedió a leer en el espectrofotómetro marca JENWAY 6405 UV/Vis. Spectrophotometer a 430 nm de absorbancia frente a una curva de 34 estándar (0-100 ppm de P), simultáneamente se preparó un blanco. El cálculo fue de la siguiente manera:

$$\% P = \text{Concentración de la muestra en ppm} * 50 / 10,000 * \text{Peso de la muestra en (g)}$$

3.5.9. Análisis microbiológico (UFC)

Se realizó análisis microbiológico de la plántula dividiéndola en parte aérea y parte radical, se lavaron con agua destilada, luego se procedió a pesar 1 g de cada una de las partes, después se realizaron diluciones con agua tridestilada para pasar a la siembra en caja Petri con medio LB. Los testigos se sembraron con diluciones de -3 y -4, en cambio los tratamientos de bacterias se sembraron las diluciones -4 y -5. Después de la siembra se incubaron por 72 horas.

Se monitoreó y cuantifico unidades formadoras de colonias (UFC) cada 24 horas por las 72 horas.

3.6. Diseño Experimental

Se utilizó un arreglo factorial (4x3) (bacterias x modos de aplicación) con un diseño completamente al azar dando un total de doce tratamientos con tres testigos y ocho repeticiones. Obteniendo 120 unidades experimentales. Se realizaron contrastes ortogonales para la comparación de los tratamientos con los testigos correspondientes, análisis de varianza (ANOVA) y prueba de separación de medias por Tukey ($P \leq 0.05$) del paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System; SAS ver. 9.1, 1998). Statistical Analysis System.

El modelo matemático asociado al diseño de dos factores-tratamiento con interacción y replicado es el siguiente:

Para cada $i = 1, \dots, I$, $j = 1, \dots, J$, $k = 1, \dots, K$ se tiene el siguiente modelo:

$$\underbrace{Y_{ijk}}_{\text{aleatorio}} = \overbrace{\mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij}}^{\text{determinista}} + \underbrace{\varepsilon_{ijk}}_{\text{aleatorio}}, \quad \forall i, j, k.$$

con ε_{ijk} v.a. independientes con distribución $N(0, \sigma^2)$.

Donde,

- Y_{ijk} es el resultado del tratamiento i-ésimo, $i = 1, 2, \dots, I$ del factor T^α y del tratamiento j-ésimo, $j = 1, 2, \dots, n_i$ del factor T^β , en la replicación t-ésima, $t = 1, \dots, K$.
- μ es el efecto global que mide el nivel medio de todos los resultados,
- α_i es el efecto (positivo o negativo) sobre la respuesta debido a que se observa el nivel i del factor T^α . Se verifica que $\sum_{i=1}^I \alpha_i = 0$,
- β_j es el efecto (positivo o negativo) sobre la respuesta debido a que se observa el nivel j del factor T^β . Se verifica que $\sum_{j=1}^J \beta_j = 0$,
- $(\alpha\beta)_{ij}$ representa la interacción y es el efecto extra (positivo o negativo) sobre la respuesta debido a que se observan conjuntamente los niveles i y j de los factores T^α y T^β respectivamente. Mide la desviación de las medias de la hipótesis de aditividad de los efectos y viene definida por:

$$(\alpha\beta)_{ij} = E(y_{ij}) - \mu - \alpha_i - \beta_j$$

Se verifica que $\sum_{i=1}^I (\alpha\beta)_{ij} = \sum_{j=1}^J (\alpha\beta)_{ij} = 0$, para $i = 1, \dots, I$; $j = 1, \dots, J$.

- ε_{ijk} es el error experimental o perturbación, son variables aleatorias independientes idénticamente distribuidas (i.i.d.) con distribución $N(0, \sigma^2)$.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Altura de planta

El análisis estadístico para la variable altura de plántulas de tomate producidas en invernadero a los 35 dds obtuvo diferencia significativa por diferentes cepas como el modo de aplicación, realizando contrastes ortogonales para realizar la comparación con los testigos siendo altamente significativo, con respecto a las cepas la bacteria KB4 fue la que mostró mayor efecto 30.91 % mayor que el testigo de solución buffer, un 27.8 % mayor que el blanco y solo un 18.01 % menor que la aplicación de solución nutritiva (Figura 4.1).

En el caso de la forma de aplicación las plántulas inoculadas y combinadas fueron estadísticamente iguales entre sí y diferentes a los tratamientos asperjados, sin embargo, son mayores la inoculación mixta mostró una altura 6.75 % mayor que los asperjados.

De modo que, aunque en no se llega a igualar la aplicación de solución nutritiva se observa un efecto similar al obtenido por Noh (2014) donde obtuvieron diferencias significativas hasta de un 36 % en la altura de plántulas de tomate inoculadas con PGPR comparado con el testigo sin inocular.

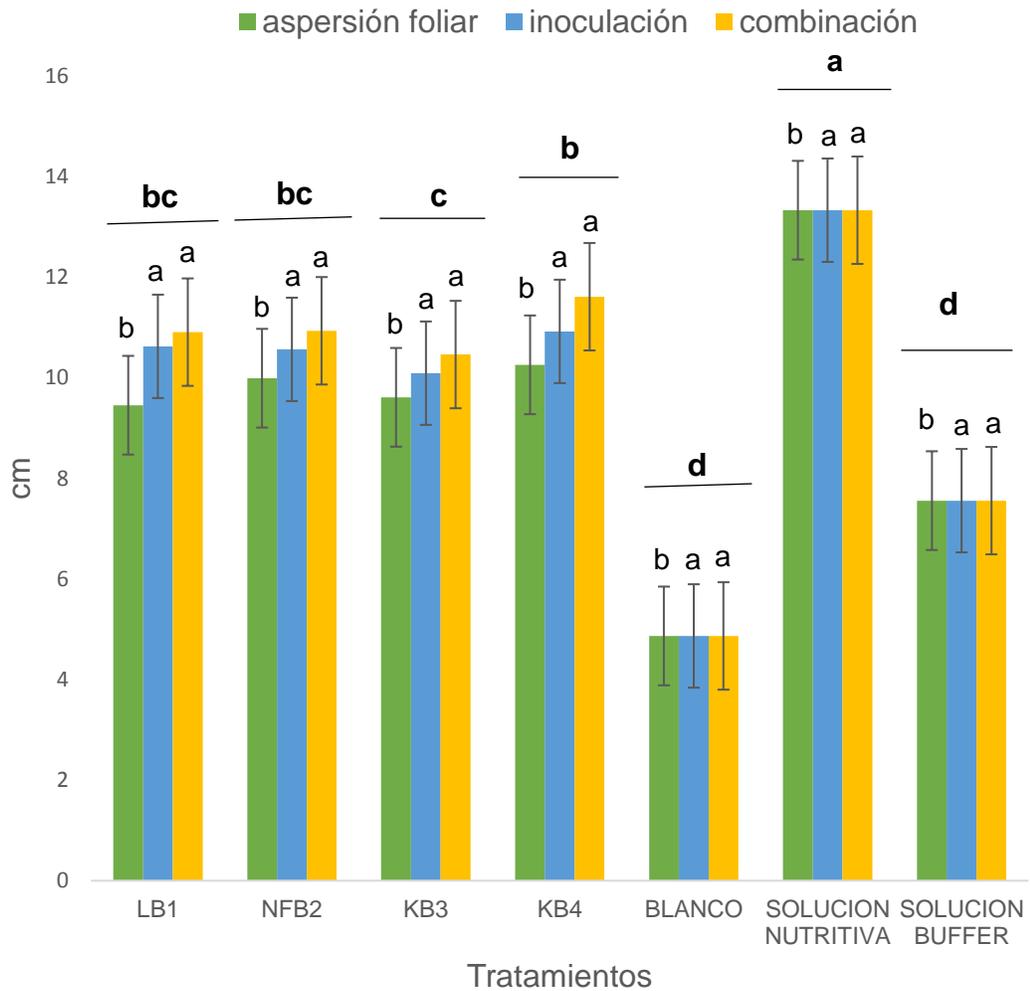


Figura 4.1. Comparación de medias de altura de planta, a los 35 después de la siembra (dds), de plántulas de tomate producidas en invernadero con diferente modo de aplicación de cuatro rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal. Letras distintas dentro de cada columna indican diferencia estadística significativa entre el modo de aplicación y letras entre cada grupo de columnas indican diferencia estadística significativa entre tratamientos (Tukey; $P \leq 0.05$).

4.2. Diámetro de tallo

El análisis estadístico para la variable diámetro de tallo a los 35 dds se obtuvo diferencia altamente significativa en las bacterias y las diferentes formas de inoculación y diferencia significativa en la interacción de ambos factores, realizando contrastes ortogonales para la comparación con los testigos, mostrando un mayor efecto la bacteria KB4 aplicándose de manera combinada siendo 22.46 % mayor que el testigo de solución buffer, un 21.28 % mayor que el blanco y solo un 8.76 % menor que la aplicación de solución nutritiva (Figura 4.2).

Zulueta-Rodríguez (2015) inoculando *pseudomona fluorenses* en diferente cultivo encontró diferencias significativas en diámetro de tallo siendo un 20.6 % mayor al testigo sin inocular. Obteniendo resultados similares, en la presente investigación la cepa KB4 fue mayor al blanco un 21.8 %.

Por tal motivo se puede inferir que aplicar la cepa KB4 (*pseudomona spp.*) aumentará el diámetro de tallo de una manera significativa y mayor a los resultados obtenidos por Zulueta-Rodríguez (2015).

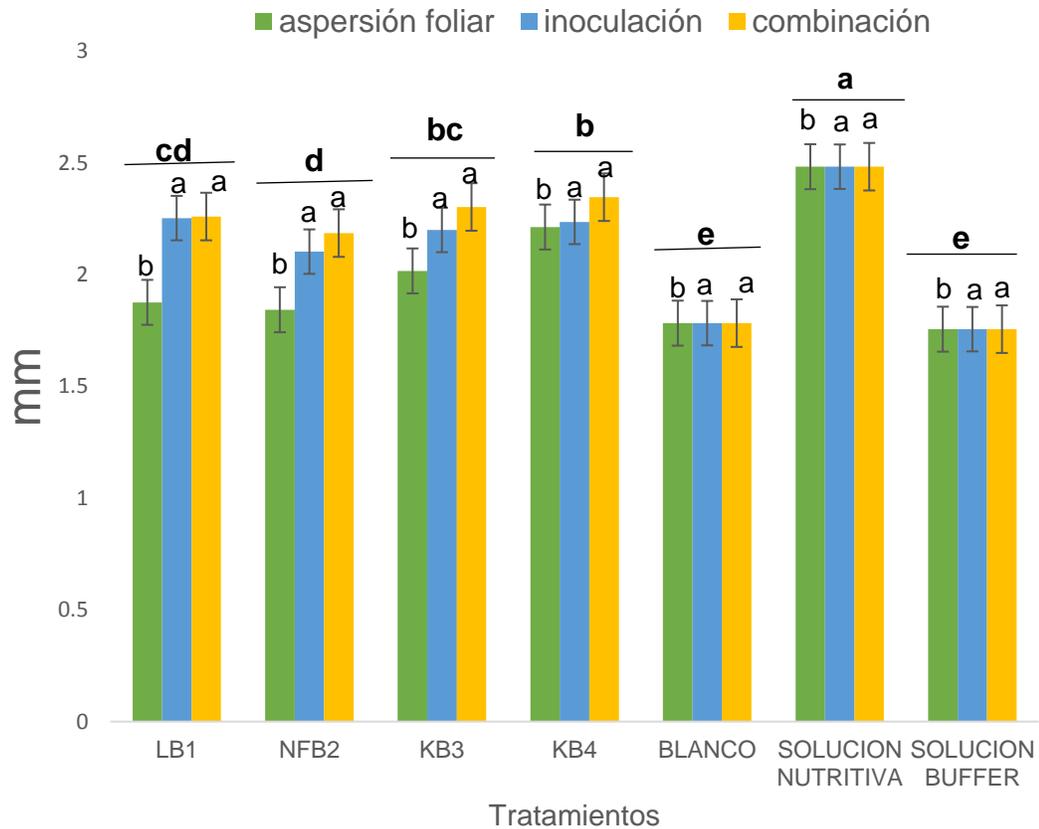


Figura 4.2. Comparación de medias de diámetro de tallo, a los 35 días después de la siembra (dds), de plantulas de tomate producidas en invernadero con diferente modo de aplicación de cuatro rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal. Letras distintas dentro de cada columna indican diferencia estadística significativa entre el modo de aplicación y letras entre cada grupo de columnas indican diferencia estadística significativa entre tratamientos (Tukey; $P \leq 0.05$).

4.3. Área foliar

El análisis estadístico para la variable área foliar a los 40 días después de siembra, mostró diferencia altamente significativa entre cepas, teniendo la LB1 (*Bacillus spp.*) un mejor desarrollo de área foliar con un 57.23 % mayor al blanco,

un 29.85 % mayor a la solución buffer y 38.44 % menor que la aplicación de solución nutritiva. Entre las distintas formas de aplicación no se tuvo diferencia significativa y la interacción de las mismas con las bacterias mostraron diferencia significativa teniendo mejor interacción la cepa LB1 de manera asperjada como se muestra en la Figura 4.3.

Espinosa *et al.* (2017) señalan que la aplicación de la cepa *Bacillus sp.*, más la utilización del sustrato a base de compost, es una buena alternativa de fertilización, para la producción de tomate en invernadero con calidad comercial aceptable. Así como también Rojas-Solís *et al.* (2016) muestran resultados más favorables con la cepa *Bacillus sp.* al compararla con la cepa *Pseudomonas sp.*, en la promoción de crecimiento de plantas de tomate en invernadero.

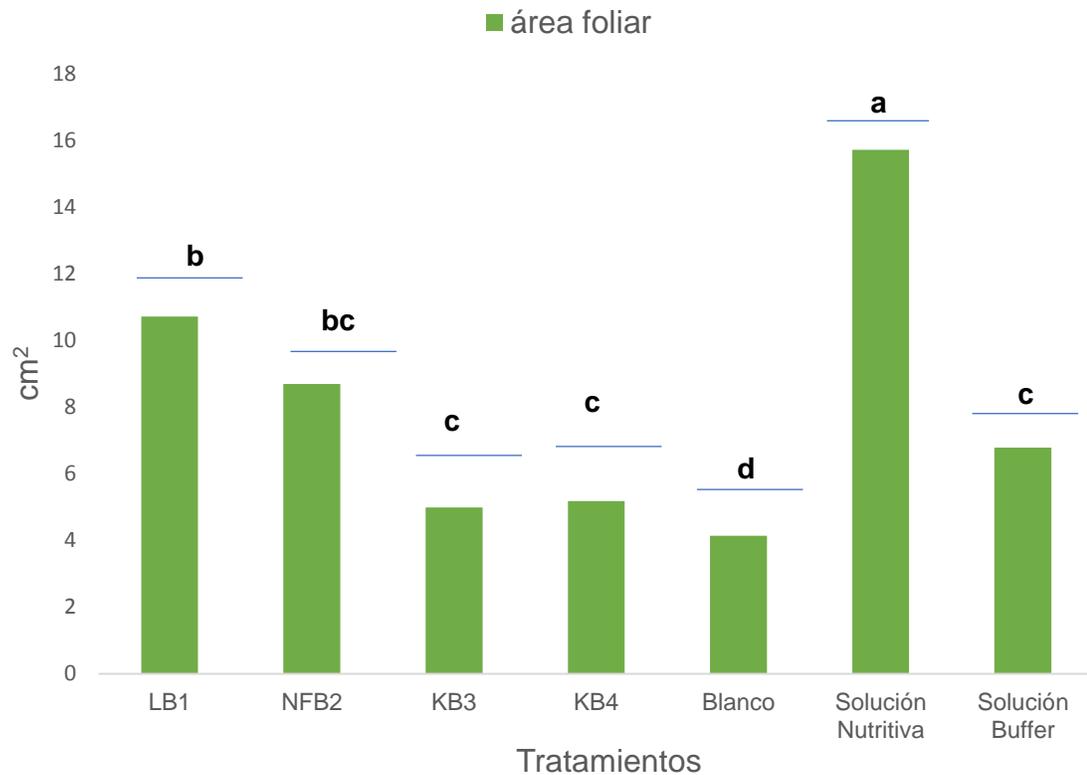


Figura 4.3. Comparación de medias de área foliar a los 40 días después de la siembra (dds), de plantulas de tomate producidas en invernadero de manera asperjada de cuatro rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal. Letras distintas dentro de cada columna indican diferencia estadística significativa (Tukey; $P \leq 0.05$).

4.4. Volumen desplazado de raíz (VDR)

El análisis estadístico para volumen desplazado de raíz a los 41 días después de siembra muestra diferencia altamente significativa en los factores así como la interacción de ambos, se realizó contrastes ortogonales para la comparación con

los testigos; la cepa KB4 (*Pseudomonas*) destacó de manera combinada con un mayor efecto que las demás cepas teniendo un 55.68 % más que el blanco, 51.83 % más que la solución buffer y tan sólo 10.51 % menor a la solución nutritiva (Figura 4.4).

Noh (2014) encontró diferencia significativa con la inoculación de rizobacterias en plántulas de tomate teniendo 42.2 % mayor volumen radical que el testigo sin inocular, por tanto, se puede concluir que la inoculación de la cepa KB4 supera los resultados obtenidos por Noh (2014).

Aguado-Santacruz (2012) menciona que algunas especies del género *Pseudomonas* producen una enzima llamada ACC desaminasa, que al aumentar la actividad de esta enzima en la planta se disminuye inmediatamente la producción de etileno y por tanto aumenta notoriamente el crecimiento de la raíz.

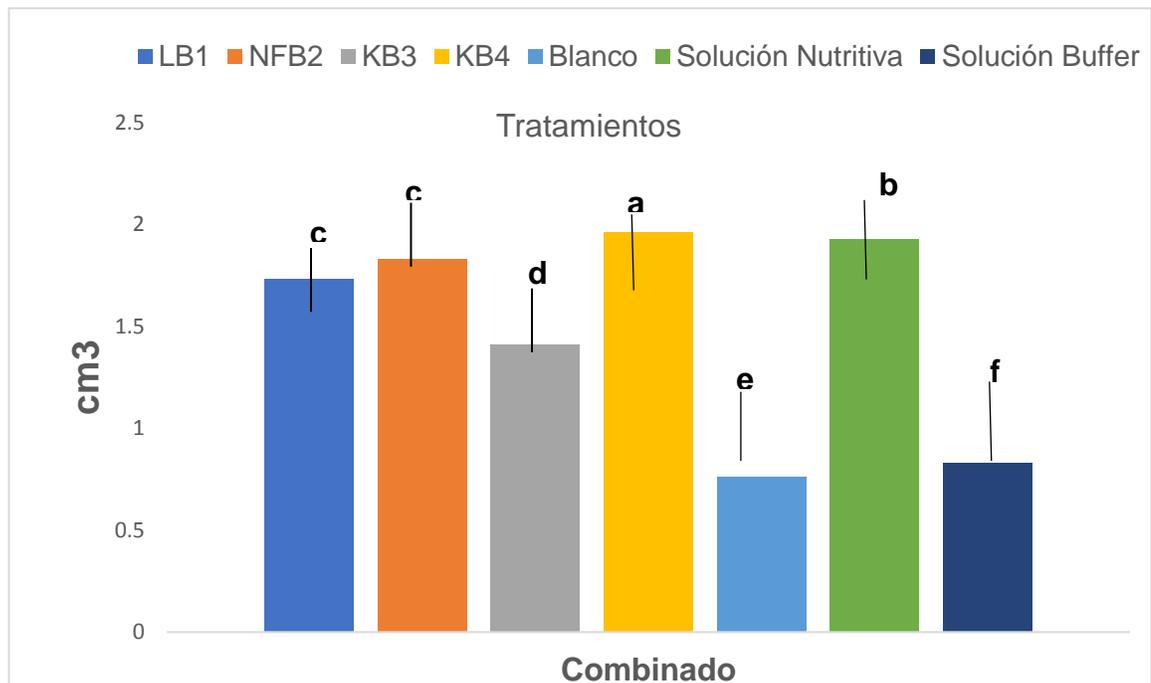


Figura 4.4. Comparación de medias en volúmen desplazado de raíz, a los 41 días después de la siembra (dds), de plántulas de tomate producidas en invernadero con aplicación inoculada más aspersión de cuatro rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal. Letras distintas dentro de cada columna indican diferencia estadística significativa entre tratamientos (Tukey; $P \leq 0.05$).

4.5. Peso fresco de planta

El análisis de varianza de la variable peso fresco de raíz, hoja y tallo a los 41 días después de la siembra (dds) en plántulas de tomate inoculadas con PGPRs y en tres maneras distintas de inoculación, mostró diferencia altamente significativa en los dos factores y en la interacción de ambos.

Haciendo también una comparación con los testigos por contrastes ortogonales, teniendo la interacción de KB4 aplicada de manera inoculada con un 60.85 % mayor que el blanco, 42 % más que la solución buffer y 10.20 % mayor a la aplicación de solución nutritiva (Figura 4.5).

Zulueta-Rodríguez (2015) obtuvo valores inferiores para el peso fresco con *pseudomona putida* siendo un 49.56 % mayor al testigo sin inocular, por tanto, podemos inferir que las cepas de genero *pseudomona* elevan el peso fresco de plántula.

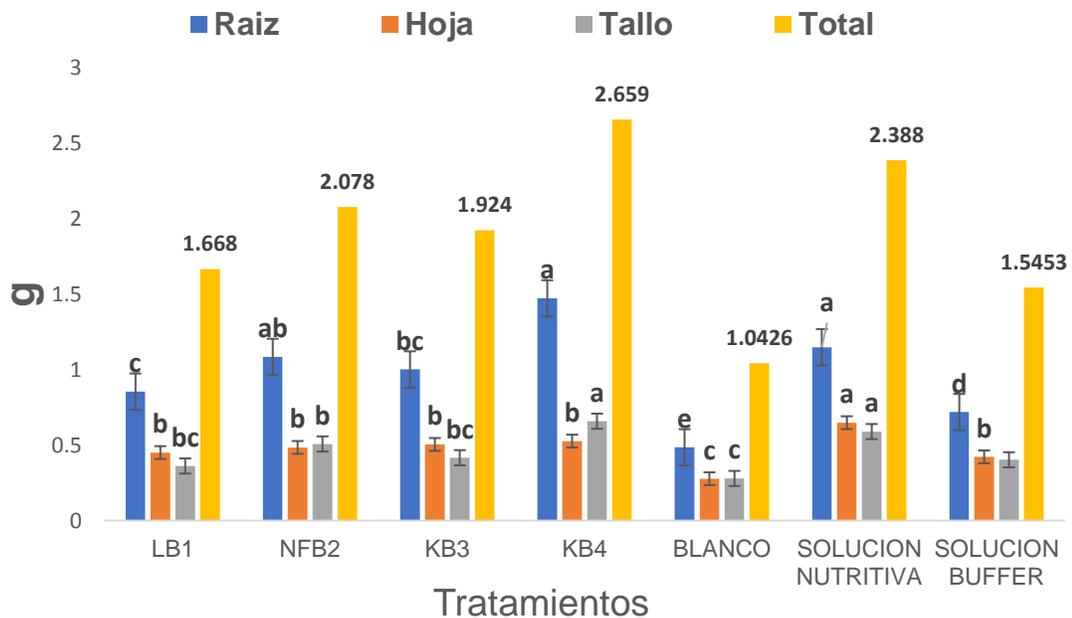


Figura 4.5. Comparación de medias de peso fresco de raíz, hoja y tallo, a los 41 días después de la siembra (dds), de plántulas de tomate producidas en invernadero con aplicación de manera inoculada de cuatro rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal. Letras distintas dentro de cada columna indican diferencia estadística significativa (Tukey; $P \leq 0.05$).

4.6. Materia seca de planta

El análisis estadístico de la variable peso seco de raíz, hoja y tallo presenta diferencia altamente significativa en las cepas y en la interacción de ambos factores, no se tuvo diferencia significativa en el modo de aplicación, haciendo también contrastes ortogonales para la comparación de testigos.

Teniendo interacción la cepa LB1 de manera de aplicación mixta (inoculada y asperjada) siendo 61.73 % mayor al blanco, 45.40 % mayor a la solución buffer y 16.7 % menor a la aplicación de solución nutritiva (Figura 4.6.1).

Cisneros Rojas (2017) encontró valores similares siendo la cepa Bacillus un 59.70 % mayor al testigo sin inocular en plántulas de café, realizando tres aplicaciones con la concentración de 1×10^8 , teniendo sus mejores resultados con esta cepa y atribuyéndolos a la capacidad que tiene la bacteria Bacillus de solubilizar fosfatos y crear sinergias con otras bacterias.

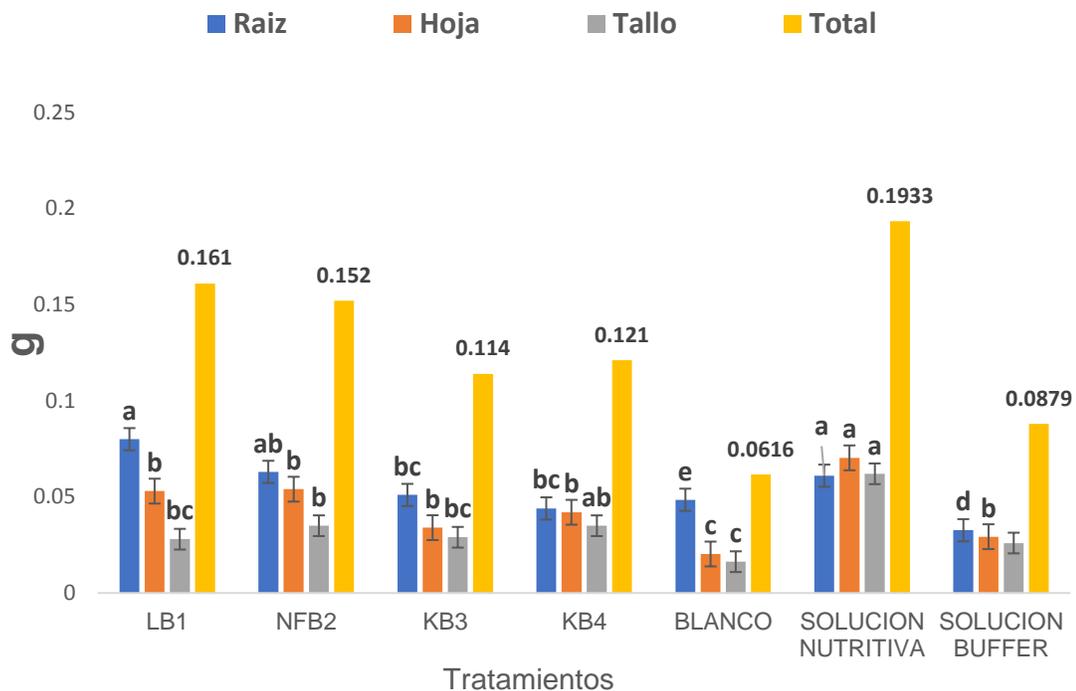


Figura 4.6. Comparación de medias de peso seco de raíz, hoja y tallo, a los 41 días después de la siembra (dds), de plántulas de tomate producidas en invernadero con aplicación de manera mixta de las rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal. Letras distintas dentro de cada columna indican diferencia estadística significativa (Tukey; $P \leq 0.05$).

4.7 Nitrato reductasa

4.7.1. Nitrato reductasa reacción endógena

En la variable nitrato reductasa, la reacción endógena es la que cuantifica el aporte del nitrato que asimila la planta de manera natural para posteriormente reducirlo a nitrito.

Se obtuvo diferencia altamente significativa entre las bacterias, la cepa de mayor efecto fue la LB1 con un 9.87 % más que el blanco, un 10.31 % más que la solución buffer y un 12 % mayor a la aplicación de solución nutritiva (Figura 4.7.1).

Se obtuvo diferencia significativa entre formas de aplicación siendo mejor la aspersión y no hubo diferencia significativa en su interacción, se realizaron contrastes ortogonales para la comparación con los testigos teniendo diferencia altamente significativa.

Méndez Gómez *et al.* (2014) indica que existe una relación entre el óxido nítrico y las auxinas en el inicio del desarrollo radical de las plántulas y en vías metabólicas importantes para el crecimiento de esta, en diversas bacterias promotoras de crecimiento el óxido nítrico puede ser producido bajo condiciones aérobicas y se puede catalizar por dos vías, la enzima nitrato reductasa y la enzima óxido nítrico sintetasa.

Por lo que podemos inferir la cepa LB1 (*Bacillus*) al ser una bacteria aerobia y siendo aplicada de manera asperjada induce el crecimiento de las plántulas de manera natural.

Córdova (2016) obtuvo un valor de $.14 \mu\text{Moles de NO}_2 \text{ g p f h}^{-1}$ en aplicación de microalgas de manera foliar en plántulas de tomate en invernadero mientras que

con la aplicación de la cepa de LB1 de manera asperjada se obtuvo un valor de $6.59 \mu\text{Moles de NO}_2 \text{ g p f h}^{-1}$, por tanto, podemos inferir que la aplicación de la cepa LB1 es mejor que la aplicación de microalgas.

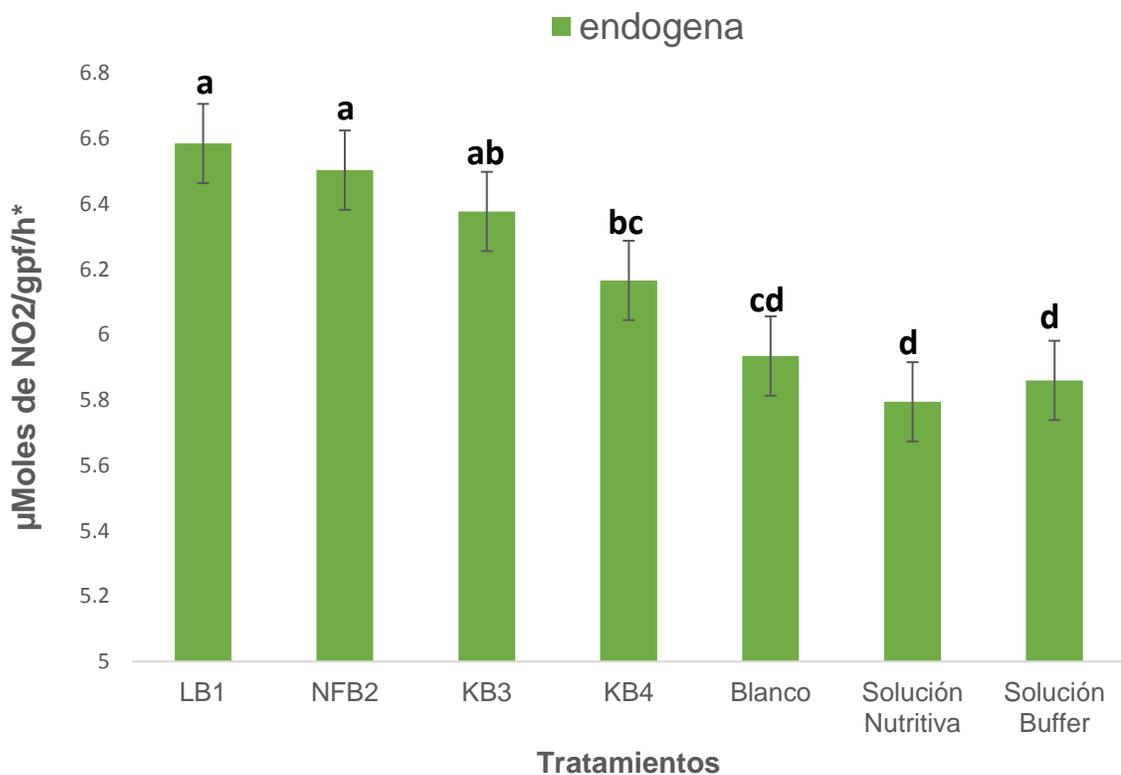


Figura 4.7.1. Comparación de medias de la reacción endógena de la enzima nitrato reductasa, a los 36 días después de la siembra (dds), de plantulas de tomate producidas en invernadero de cuatro rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal. Letras distintas dentro de cada columna indican diferencia estadística significativa (Tukey; $P \leq 0.05$).

4.7.2. Nitrato reductasa reacción inducida con sustrato NO_3

En la variable enzima nitrato reductasa, la reacción inducida con NO_3 como sustrato es la que cuantifica el aporte del nitrato que asimila la planta para posteriormente reducirlo a nitrito (Figura 4.7.2).

Obteniendo diferencia altamente significativa en ambos factores y su interacción, realizando contrastes ortogonales para la comparación de los tratamientos con los testigos teniendo también diferencias altamente significativas, la cepa de mayor efecto fue la KB4 de manera combinada con un 7.01 % más que el blanco, un 14.75 % más que la solución buffer y un 12.61 % mayor a la aplicación de solución nutritiva.

Lo que nos indica que la cepa KB4 necesita de una mayor concentración de nitrato para ser eficiente al contrario que la cepa LB1 y NFB2 que probablemente tuvieron algo de inhibición por exceso de sustrato, además que mostraron un mayor resultado que la cepa KB3 la cual probablemente al ser una bacteria anaerobia no pudo desarrollarse igual aplicada de manera combinada como el resto de las cepas.

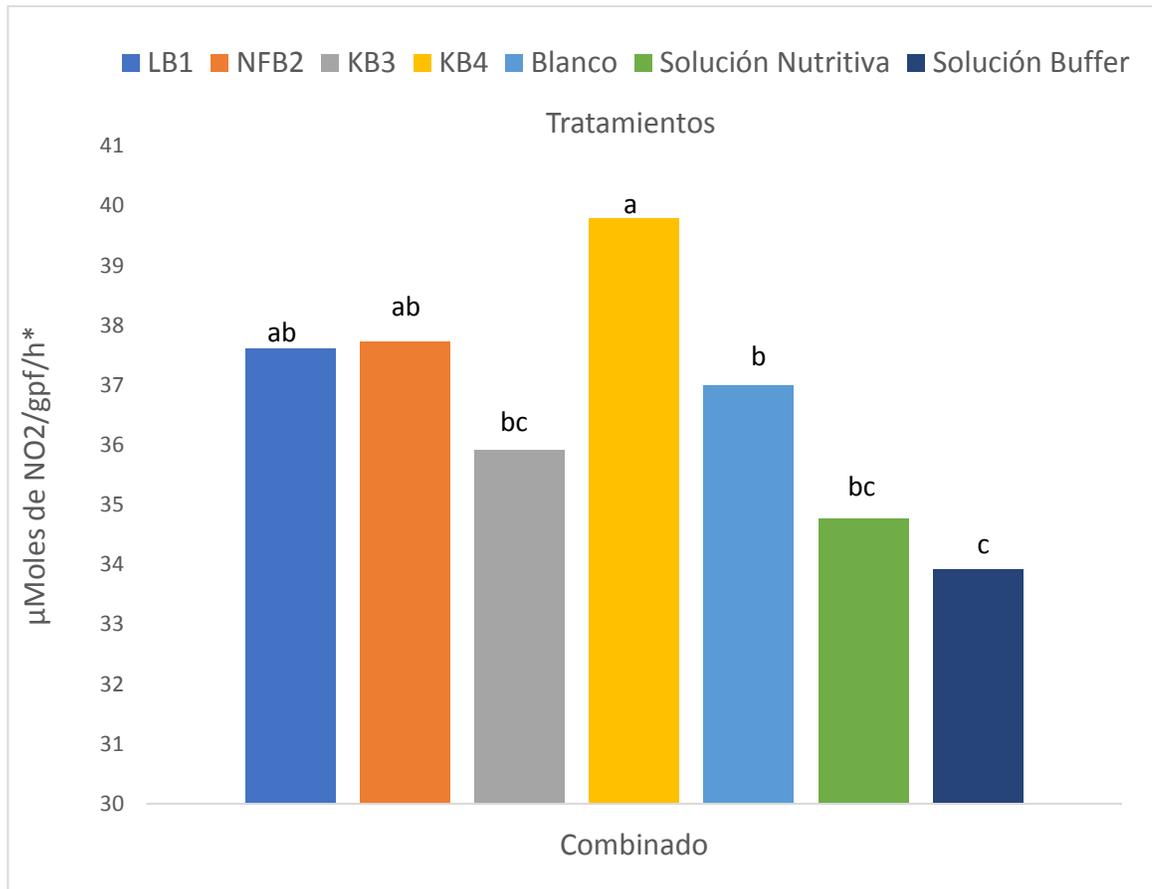


Figura 4.7.2. Comparación de medias de la reacción con sustrato NO₃ de la enzima nitrato reductasa, a los 36 días después de la siembra (dds), de plantulas de tomate producidas en invernadero con forma de aplicación combinada de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal. Letras distintas dentro de cada columna indican diferencia estadística significativa entre tratamientos (Tukey; $P \leq 0.05$).

4.7.3. Nitrato reductasa (NR) reacción con Mo como cofactor

En la determinación de la enzima nitrato reductasa en reacción con molibdeno (Mo) como cofactor, el Mo sirve como puente para reunir el sustrato y la enzima, en este caso ayuda a que la reacción sea más estable para la enzima NR esta es

la que cuantifica el aporte del nitrato que asimilo la planta para posteriormente reducirlo a nitrito.

Teniendo en los resultados diferencia altamente significativa en los factores y la interacción de ambos, realizando contrastes ortogonales para la comparación con los testigos, la cepa de mayor efecto fue la KB3 de manera combinada con un 5.34 % más que el blanco, un 13.47 % más que la solución buffer y un 4.73 % mayor a la aplicación de solución nutritiva.

Al ser mayor la cepa KB3 que el resto nos indica que esta cepa funciona de mejor manera con un cofactor que le permita estabilizar la reacción ya que no tuvo tan buenos resultados de manera endógena ni con el uso de un sustrato a diferencia del resto de las cepas.

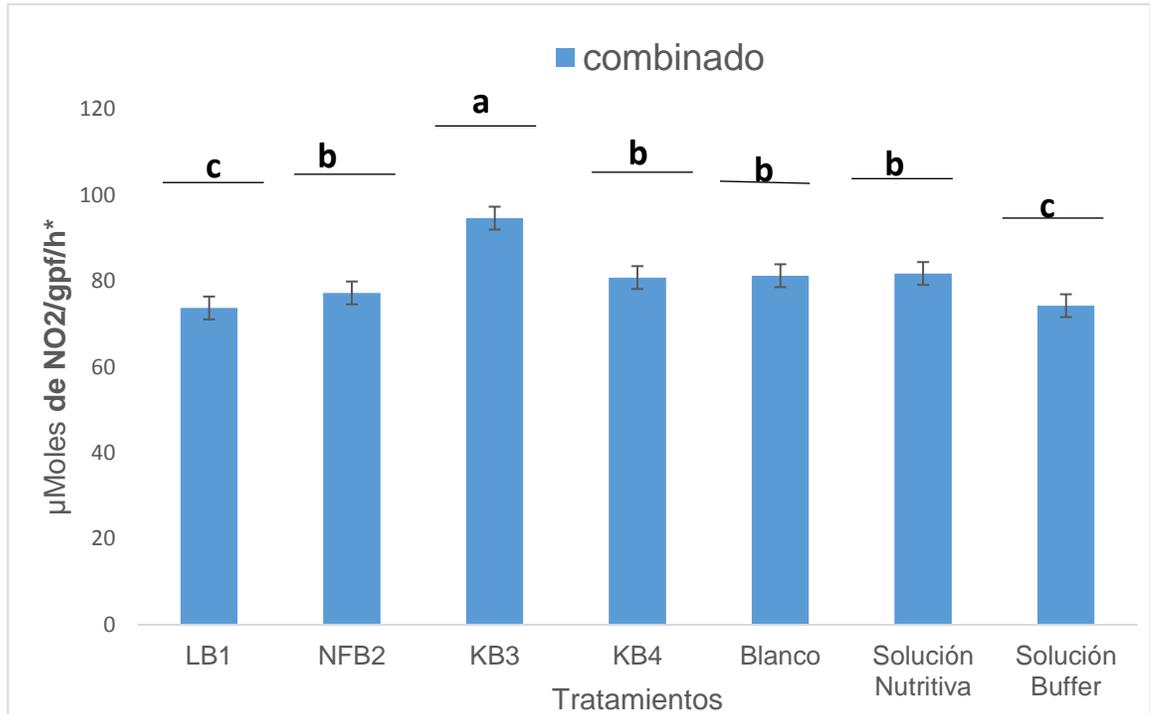


Figura 4.7.3. Comparación de medias de la reacción con Mo como cofactor de la enzima nitrato reductasa, a los 36 días después de la siembra (dds), de plantulas de tomate producidas en invernadero con forma de aplicación combinada de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal. Letras distintas dentro de cada columna indican diferencia estadística significativa (Tukey; $P \leq 0.05$).

4.7.4. Nitrato reductasa reacción con sustrato y cofactor (NO₃+Mo)

En la variable nitrato reductasa en reacción inducida con Mo como cofactor y NO₃ como sustrato para la enzima NR esta es la que cuantifica el aporte del nitrato que asimila la planta para posteriormente reducirlo a nitrito.

Se obtuvo diferencia altamente significativa en ambos factores y su interacción, realizando contrastes ortogonales también con diferencia altamente significativa para la comparación de los factores con los testigos, la cepa de mayor efecto fue

la KB4 aplicada de manera combinada con un 14.56 % más que el blanco, un 26.45 % más que la solución buffer y un 10.14 % mayor a la aplicación de solución nutritiva (Figura 4.7.4).

No obstante, esta reacción nos indica que para que la cepa KB4 pueda tener un mejor desempeño requiere de más nitrato disponible y al Mo como estabilizador de la reacción.

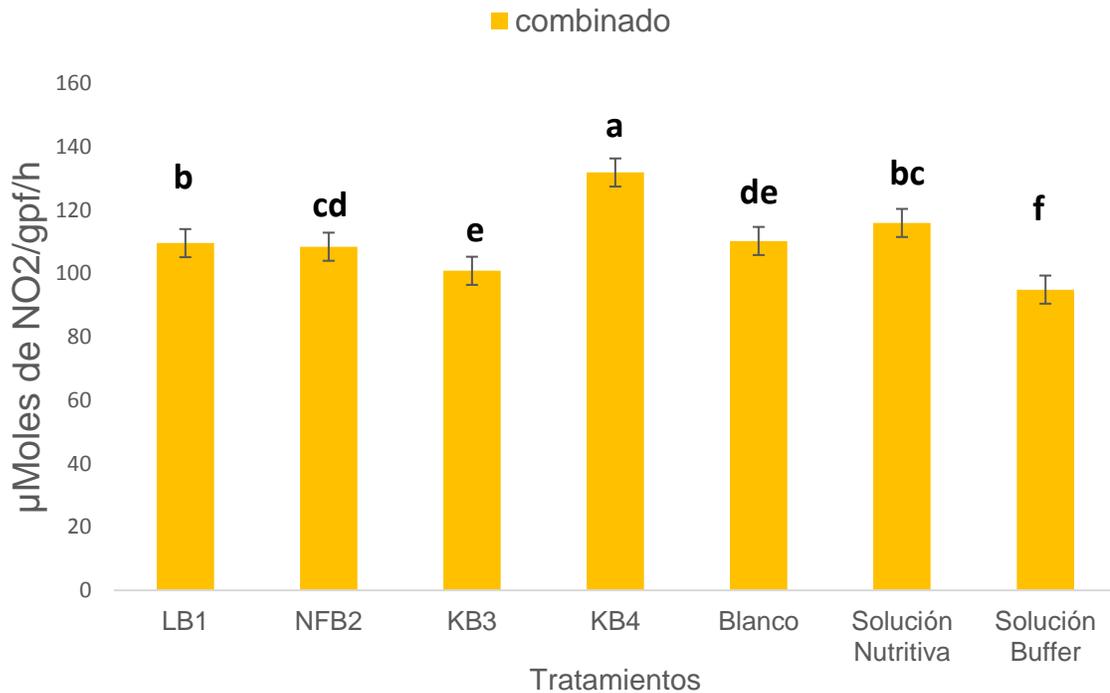


Figura 4.7.3. Comparación de medias de la reacción de sustrato y cofactor ($\text{NO}_3 + \text{Mo}$) de la enzima nitrato reductasa, a los 36 días después de la siembra (dds), de plantulas de tomate producidas en invernadero con forma de aplicación combinada de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal. Letras distintas dentro de cada columna indican diferencia estadística significativa (Tukey; $P \leq 0.05$).

4.8. Análisis Minerales de Tejido Vegetal

4.8.1. Nitrógeno (N)

El N se considera el nutriente que se usa más ampliamente como fertilizante ya que es el más demandado para el crecimiento de las plantas. Al cuantificar el contenido de N total se encontró diferencia significativa en la interacción de ambos factores obteniendo como mejor cepa la KB4 de manera inoculada con 15.94 % más nitrógeno que el testigo absoluto, 25.26 % más que la solución buffer y tan solo 16.29 % menor a la aplicación de solución nutritiva (Figura 4.8.1).

Sánchez-López (2012) evidenció en su trabajo que con cepas del género *Pseudomonas* mejoró el crecimiento vegetal de plantas de tomate registrando mayor absorción de nutrientes, así pues, al encontrarse similitudes en la absorción de nutrientes en el presente trabajo se puede decir que la mejor cepa para el contenido de nitrógeno es la KB4 siendo esta del género *pseudomona*.

Córdova (2016) al aplicar microalgas asperjadas en plántulas de tomate bajo invernadero obtuvo un valor de 6.79 % de nitrógeno a los 51 días después de la siembra, siendo más alto al obtenido en esta investigación teniendo un 2.24 % a los 36 días después de la siembra, por tanto, la diferencia de los días después de la siembra puede interferir en la comparación.

En la forma de aplicación de los tratamientos se obtuvo diferencia significativa, siendo estadísticamente iguales la inoculación y la combinación de la inoculación más la aspersión, pero diferentes a los tratamientos asperjados con 9.62 % y 11.71 % respectivamente mayores a la aspersión foliar, por lo cual se observó que el efecto de las PGPR fue mayor en la aplicación de manera combinada.

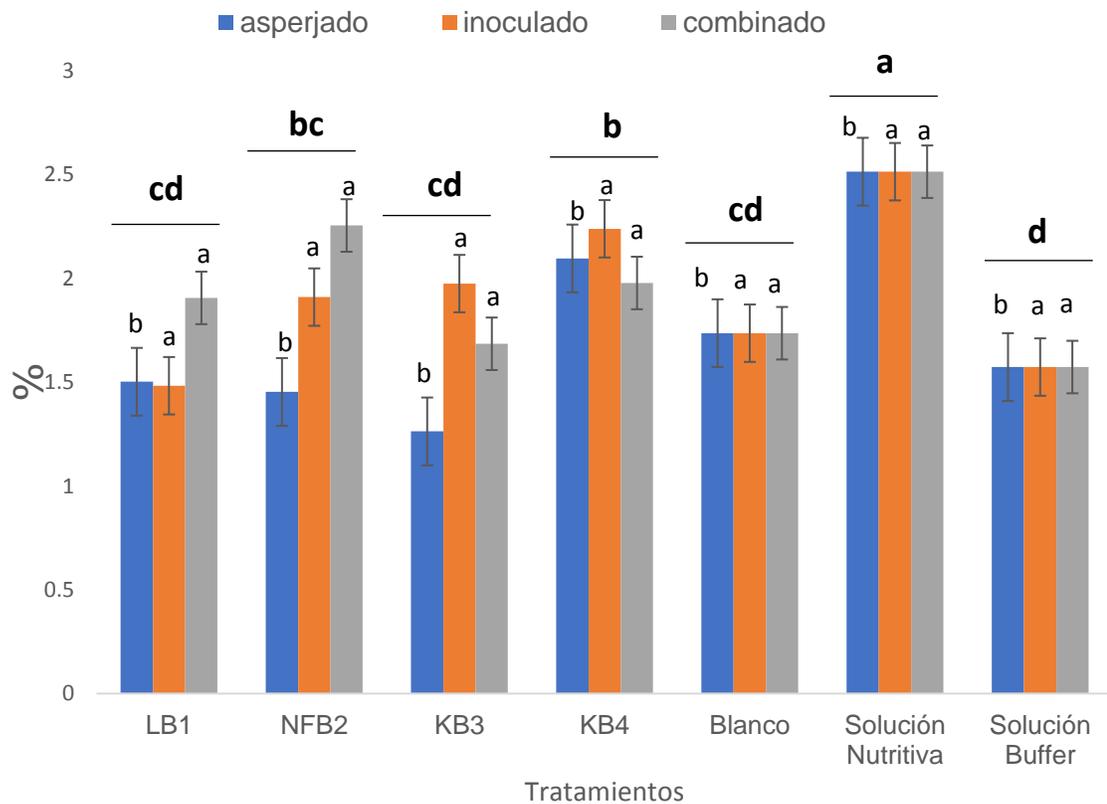


Figura 4.8.1. Comparación de medias del nitrógeno (%), a los 36 días después de la siembra (dds), de plantulas de tomate producidas en invernadero con diferente forma de aplicación de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal. Letras distintas dentro de cada columna indican diferencia estadística significativa entre el modo de aplicación y letras entre cada grupo de columnas indican diferencia estadística significativa entre tratamientos (Tukey; $P \leq 0.05$).

4.8.2. Fosforo (P)

El fósforo (P) es un macroelemento esencial para el crecimiento de las plantas. El fósforo participa en los procesos metabólicos, tales como la fotosíntesis, la transferencia de energía y la transferencia genética, la síntesis y degradación de los carbohidratos (Njira y Nabwami, 2015).

En el contenido de fosforo se encontró diferencia significativa en la interacción de ambos factores y diferencia altamente significativa al realizar contrastes ortogonales para la comparación de los testigos, siendo los tratamientos de las cepas de manera combinada junto con la solución buffer significativamente superiores a la solución nutritiva y al blanco, la cepa KB3 y LB1 tuvieron los valores más altos con un 29.64 % mayor a la solución nutritiva y 23.35 % mayor al blanco respectivamente.

Por tanto, se puede decir que en el contenido de fosforo si interfirió en el resultado el medio de suspensión en el que se aplicaron ya que el PBS como su nombre lo indica es una solución buffer fosfatada, por lo que el contenido de fosforo es estadísticamente igual en todas las bacterias que se aplicaron, sin embargo como se observa en la Figura 4.8.2 hay una diferencia entre cada una de ellas y esta es gracias a la capacidad de solubilizar fosfatos de cada una de las cepas, teniendo los valores más altos las cepas KB3 y LB1.

La solución buffer también afecto la forma de aplicación ya que se encontró que, aunque la inoculación y los tratamientos combinados son estadísticamente iguales son superiores a la aspersión foliar, puede estar relacionado con la cantidad de inoculo que se aplicó pues los tratamientos combinados fueron a los que más volumen se les aplico y en los resultados tuvieron mayor contenido de fosforo con un 5.29 % más que la inoculación y 20.65 % más que la aspersión foliar.

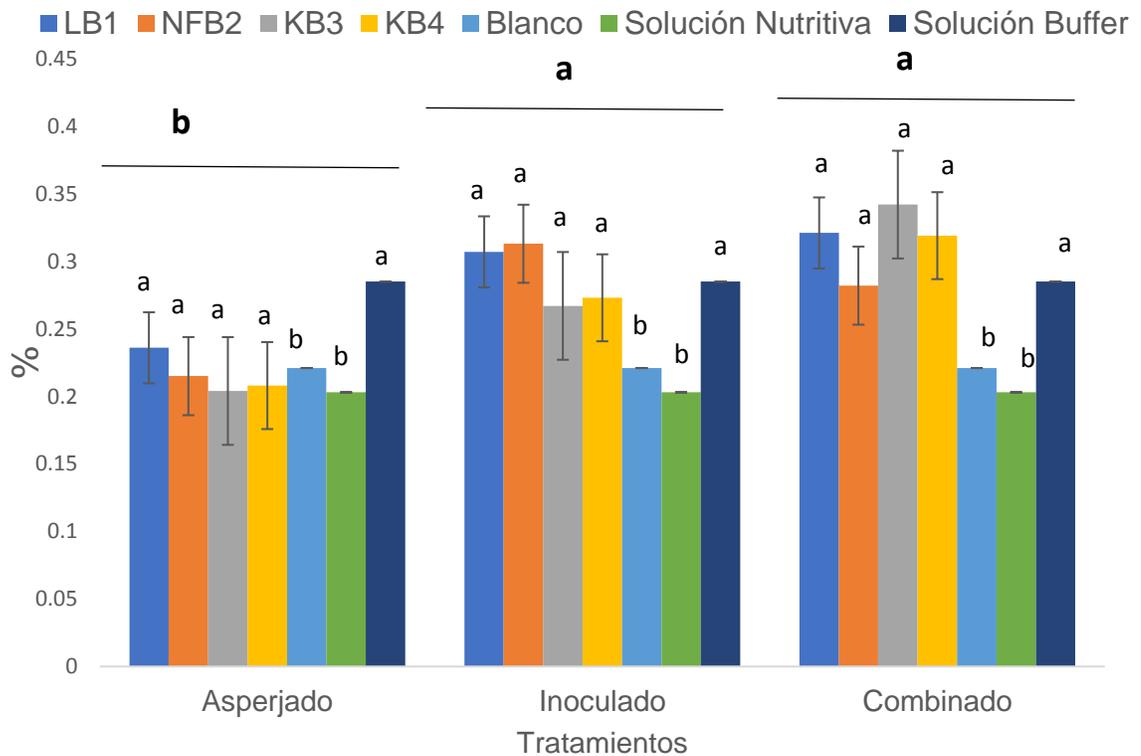


Figura 4.8.2. Comparación de medias del fosforo (%), a los 36 días después de la siembra (dds), de plántulas de tomate producidas en invernadero con diferente forma de aplicación de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal. Letras distintas dentro de cada columna indican diferencia estadística significativa entre tratamientos y letras entre cada grupo de columnas indican diferencia estadística significativa entre forma de aplicación (Tukey; $P \leq 0.05$).

4.8.3. Potasio (K)

El potasio es un nutriente esencial que es absorbido por las plantas en cantidades mayores que cualquier otro nutriente, excepto el nitrógeno. A diferencia de la mayoría de los otros nutrientes, el potasio no está incorporado en estructuras de compuestos orgánicos; en cambio, el potasio permanece en forma iónica (K^+) en solución en la célula y actúa como un activador de muchas reacciones enzimáticas en la célula (Halvin JL, 2005).

Por lo tanto, tiene muchas funciones en la nutrición y el crecimiento de las plantas que influyen en la calidad. Estos incluyen la regulación de procesos metabólicos como la fotosíntesis; activación de enzimas que metabolizan los carbohidratos para la síntesis de aminoácidos y proteínas; facilita la división celular y el crecimiento al ayudar a mover almidones y azúcares entre las partes de la planta (Njira y Nabwami, 2015).

En el contenido de potasio se tuvo diferencia altamente significativa entre las cepas, no hubo diferencia significativa en la forma de aplicación, pero en la interacción de ambos factores si mostro diferencia significativa, mostrando también diferencias altamente significativas al realizar contrastes ortogonales para la comparación de los testigos.

Teniendo en la interacción la cepa KB3 de manera combinada, siendo 66.31 % mayor al blanco, 64.19 % mayor a la solución buffer y 50.50 % menor a la aplicación de la solución nutritiva, por tanto,

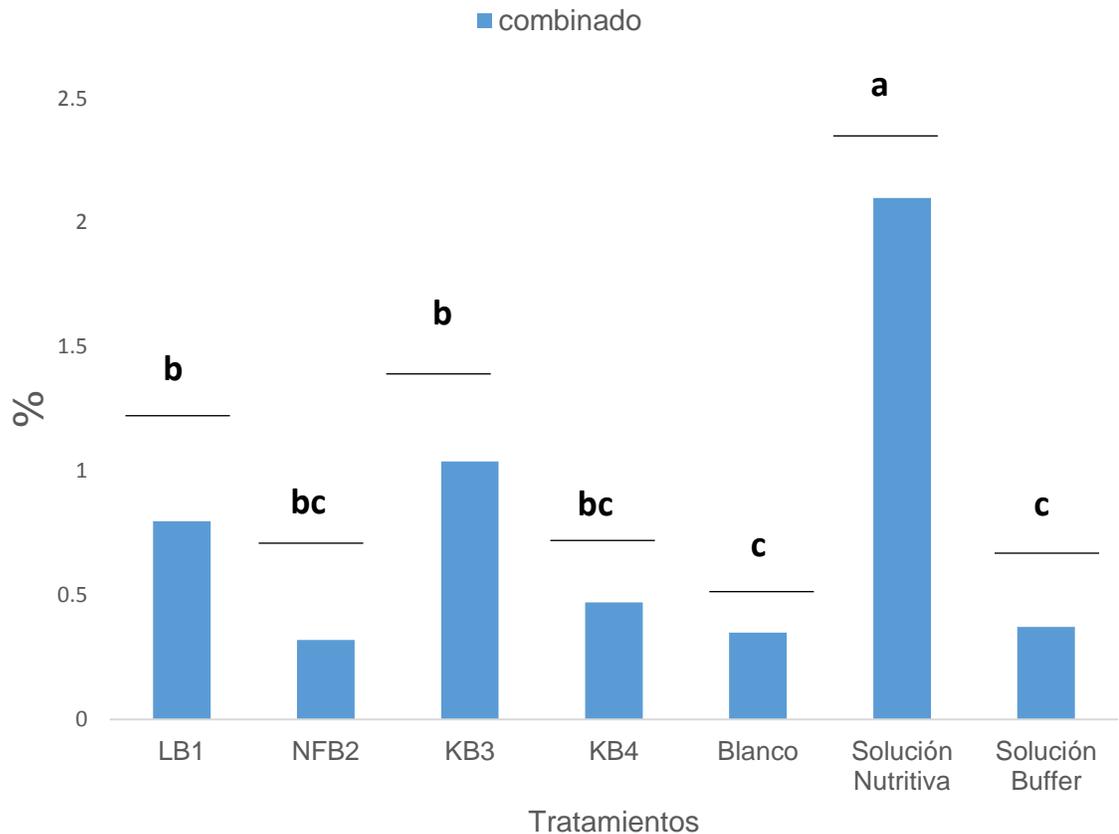


Figura 4.8.3. Comparación de medias del potasio en %, a los 36 días después de la siembra (dds), de plantulas de tomate producidas en invernadero con forma de aplicación combinada de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal. Letras distintas dentro de cada columna indican diferencia estadística significativa (Tukey; $P \leq 0.05$).

4.8.4. Calcio (Ca)

El calcio (Ca) es un constituyente vital de la pared celular y en consecuencia es indispensable para la actividad meristemática. En el contenido de calcio se encontró diferencia altamente significativa entre tratamientos teniendo mejor resultado en la interacción de la aplicación inoculada de la cepa LB1 con 83.68 % más que el blanco y 71.98 % más que la solución buffer y tan solo 32.69 % menor a la solución nutritiva (Figura 4.8.4).

En la forma de aplicación se obtuvo diferencia significativa siendo superior la combinación de inoculación al sustrato y aspersion foliar con 15.39 % mayor efecto que la aspersion foliar y un 12.23 % de mayor efecto que la inoculación. De modo que la combinación de aspersion foliar e inoculación es viable como lo menciona Azfal (2012) y Fukami (2016).

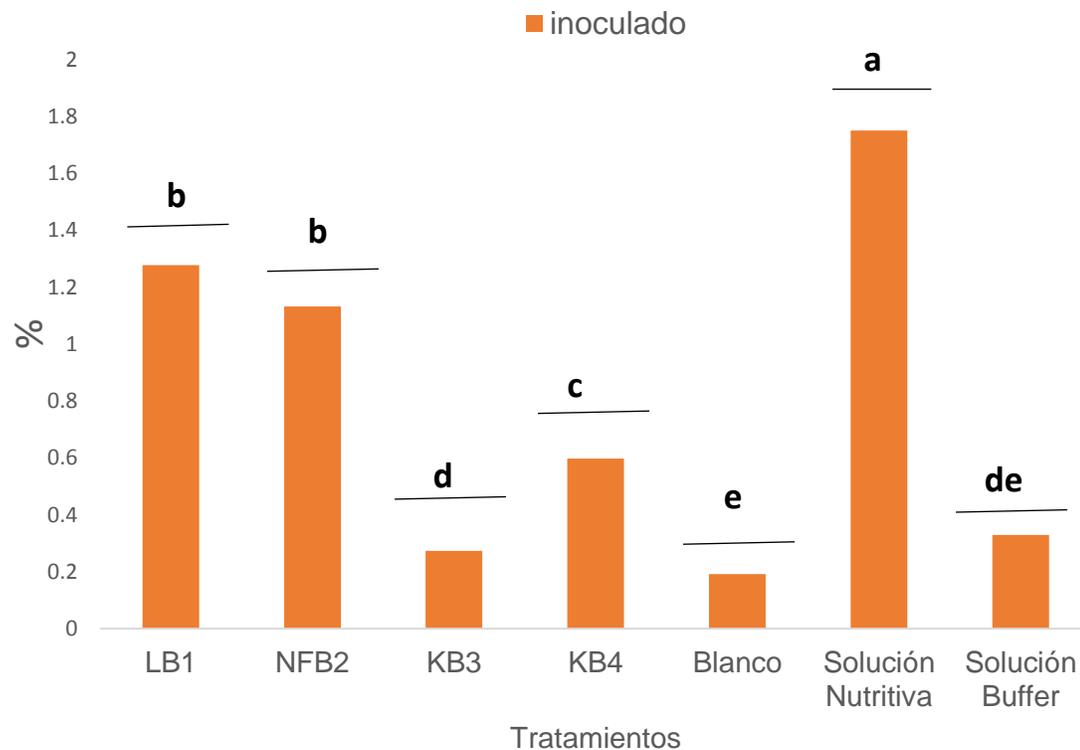


Figura 4.8.4. Comparación de medias del calcio en %, a los 36 días después de la siembra (dds), de plantulas de tomate producidas en invernadero con forma de aplicación inoculadas de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal. Letras distintas dentro de cada columna indican diferencia estadística significativa (Tukey; $P \leq 0.05$).

4.8.5. Magnesio (Mg)

El rol más conocido del magnesio (Mg) en las plantas es su presencia en el centro de la molécula de clorofila, como componente estructural de los ribosomas y por esto es esencial para la fotosíntesis, también está involucrado en el metabolismo de proteínas y se requiere para la actividad máxima de casi todas las enzimas fosforiladoras en el metabolismo de los carbohidratos (Njira y Nabwami, 2015).

El análisis nutricional de magnesio en este estudio indica una diferencia significativa de ambos factores y su interacción siendo superior la cepa KB4 de manera combinada con 73.4 % más magnesio que el blanco, 80.11 % más que la solución buffer y 47.8 % superior a la solución nutritiva (Figura 4.8.5).

En la manera de aplicación se encontró diferencia significativa mostrando que los tratamientos combinados fueron superiores 20.48 % y 33.91 % a los inoculados y asperjados respectivamente, por tanto, como menciona Azfal (2012) la combinación de inoculación al sustrato y aspersion foliar es la mejor forma de aplicación ya que aporta un mayor contenido de magnesio probablemente porque tenga mayor cantidad de PGPR inoculada.

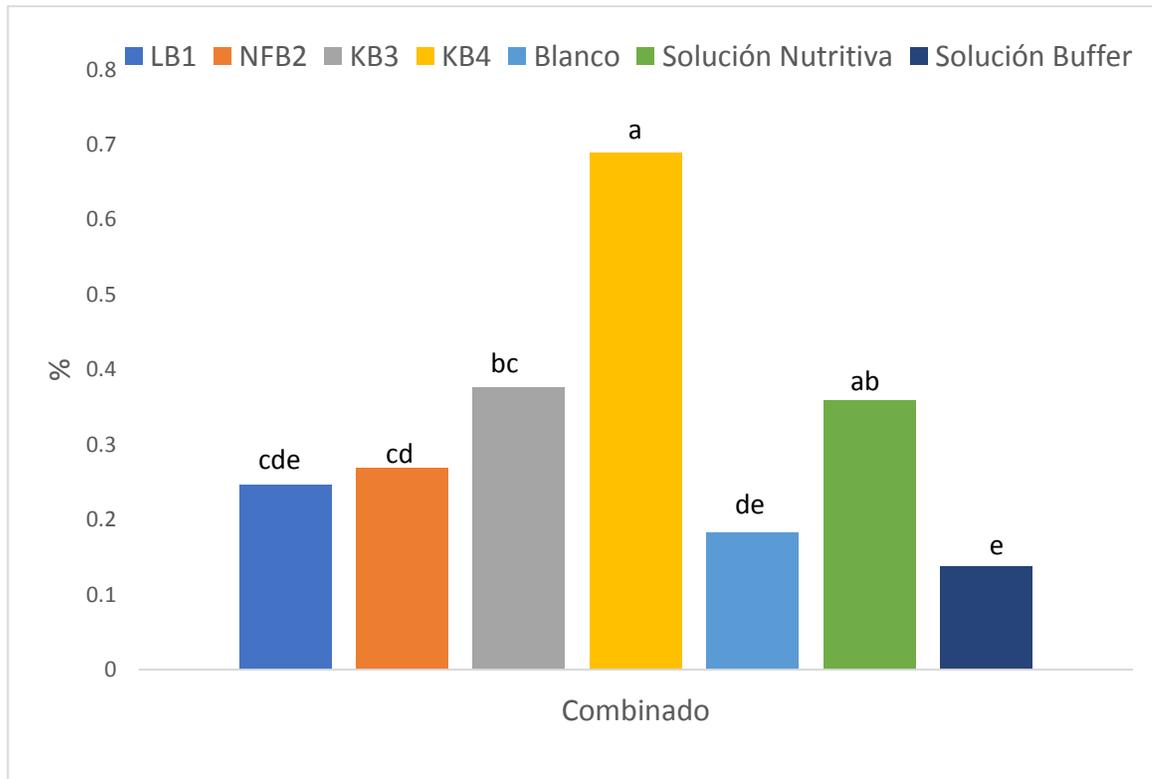


Figura 4.8.5. Comparación de medias del magnesio en %, a los 36 días después de la siembra (dds), de plantulas de tomate producidas en invernadero con forma de aplicación combinada de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal. Letras distintas dentro de cada columna indican diferencia estadística significativa (Tukey; $P \leq 0.05$).

4.8.6. Sodio (Na)

El sodio estimula en crecimiento del alargamiento celular y puede sustituir al potasio como un soluto osmóticamente activo, aunque en exceso afecta seriamente el desarrollo vegetal (González Rebollar, 2010).

Los resultados mostraron que en la concentración de sodio hubo diferencia altamente significativa entre cepas y fue estadísticamente igual entre modos de aplicación las bacterias, así como también hubo diferencia significativa en la interacción, la interacción de la cepa KB4 de manera combinada fue la que mostró contenidos superiores, con 19.60 % más que el contenido de sodio de la solución nutritiva, 17.68 % más que la solución buffer y 19.37 % más que el blanco (Figura 4.8.6).

Se realizaron contrastes ortogonales para la comparación con los testigos teniendo diferencia altamente significativa. De modo que, al ser mayor su contenido de sodio en las cepas que los testigos mostró su alta tolerancia a la salinidad sin que afecte de manera negativa el valor en la mayoría de las variables fenológicas como altura, volumen desplazado de raíz, área foliar, biomasa, materia seca, etc.

En la forma de aplicación no hubo diferencias significativas, por lo que, cualquier manera de aplicación no afectara el contenido de sodio en la planta.

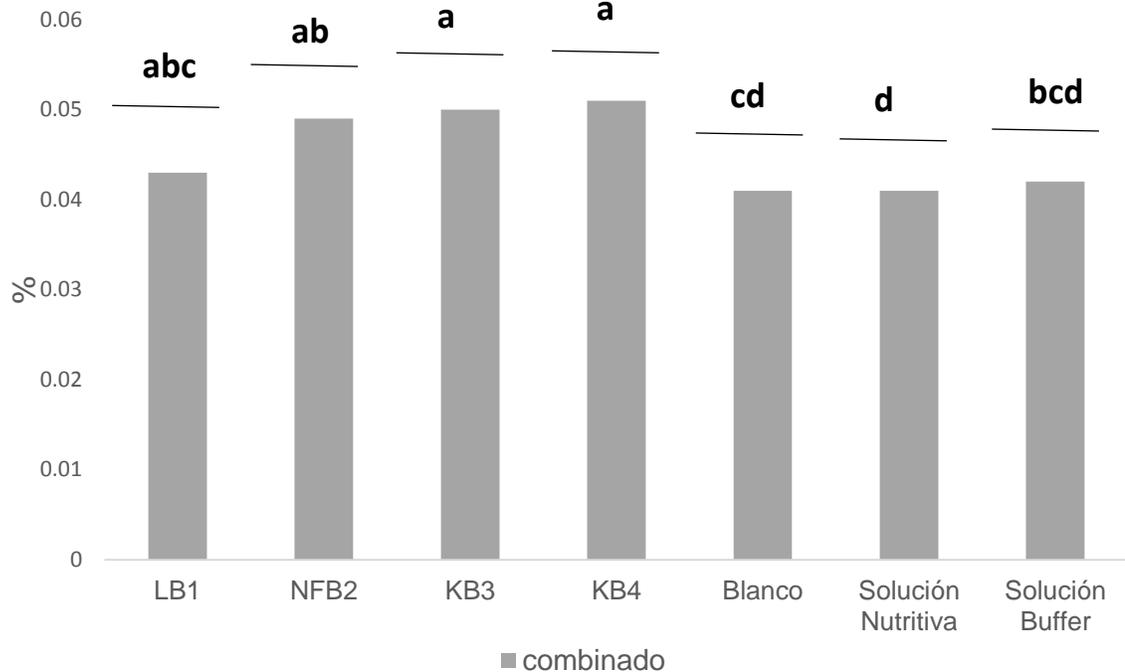


Figura 4.8.6. Comparación de medias del sodio en %, a los 36 días después de la siembra (dds), de plantulas de tomate producidas en invernadero con forma de aplicación combinada de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal. Letras distintas dentro de cada columna indican diferencia estadística significativa (Tukey; $P \leq 0.05$).

4.8.7. Manganeso (Mn)

El manganeso actúa como activador de enzimas esenciales en los procesos de crecimiento, apoya al hierro en la formación de clorofila, acelera la germinación y la maduración, aumenta el aprovechamiento del calcio, el magnesio y el fósforo. En lo que se refiere a su repartición en la planta, las partes jóvenes del vegetal son a menudo las más ricas en Mn (FAO, 2016).

El contenido de manganeso tuvo diferencia altamente significativa entre cepas, la interacción de ambos factores mostro diferencia significativa teniendo la cepa KB3 de manera asperjada con 55.83% mayor al blanco, 56.98 % más que la solución buffer y tan solo 1.78 % menor a la solución nutritiva (Figura 4.8.7). El contenido de manganeso no se vio afectado por la manera de aplicación, siendo estas estadísticamente iguales.

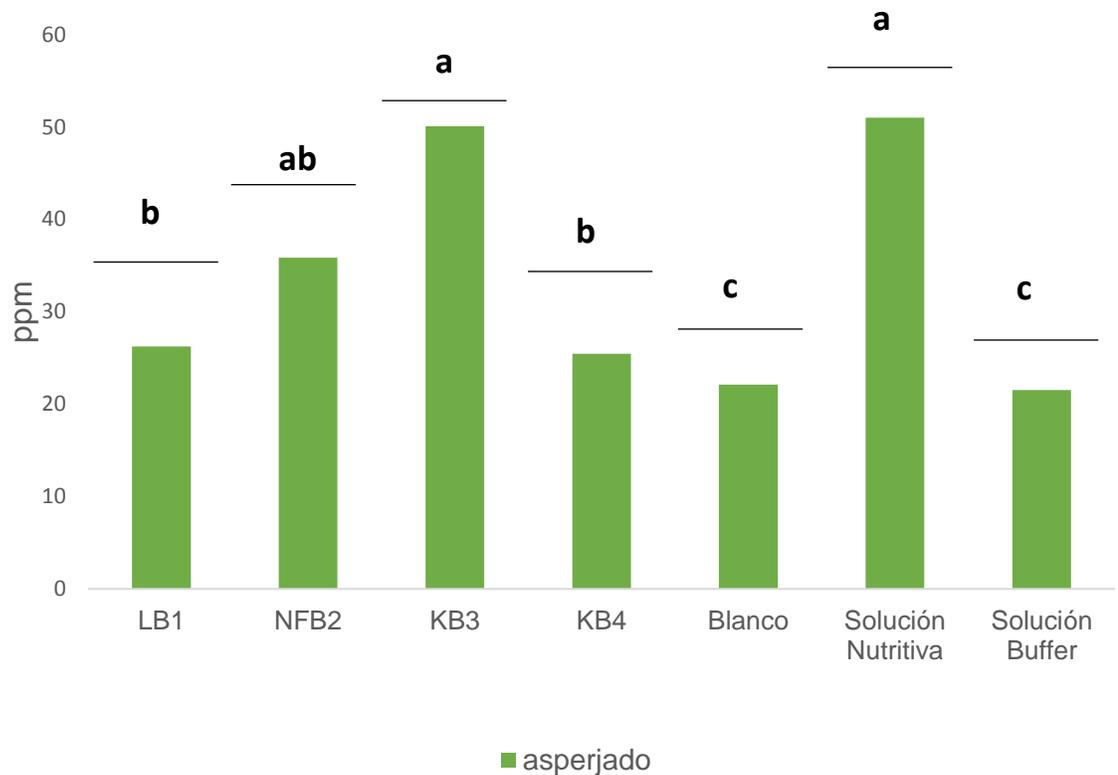


Figura 4.8.7. Comparación de medias de manganeso ppm, a los 36 días después de la siembra (dds), de plantulas de tomate producidas en invernadero con forma de aplicación asperjada de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal. Letras distintas dentro de cada columna indican diferencia estadística significativa (Tukey; $P \leq 0.05$).

4.8.8. Níquel (Ni)

El Níquel (Ni), es absorbido activamente a través del plasmalema en forma iónica como Ni^{2+} . Este elemento es esencial para el funcionamiento de la enzima ureasa, la cual es importante en la transformación del N (Brown et al., 1988).

En el contenido de níquel hubo diferencia altamente significativa en ambos factores, sin embargo, no mostró diferencia significativa la interacción. Las cepas KB3 y KB4 fueron las que mostraron un mayor contenido de níquel entre bacterias, se realizó contrastes ortogonales para la comparación de las cepas con los testigos teniendo diferencias altamente significativas.

Siendo la solución nutritiva un 10.65 % mayor a la cepa KB4 que fue la que mostró el valor más alto entre las bacterias (figura 4.8.8).

En la forma de aplicación hubo diferencia significativa teniendo un mejor resultado de la manera combinada con un 5.09% mayor a la inoculación y 6.08% que la aspersión.

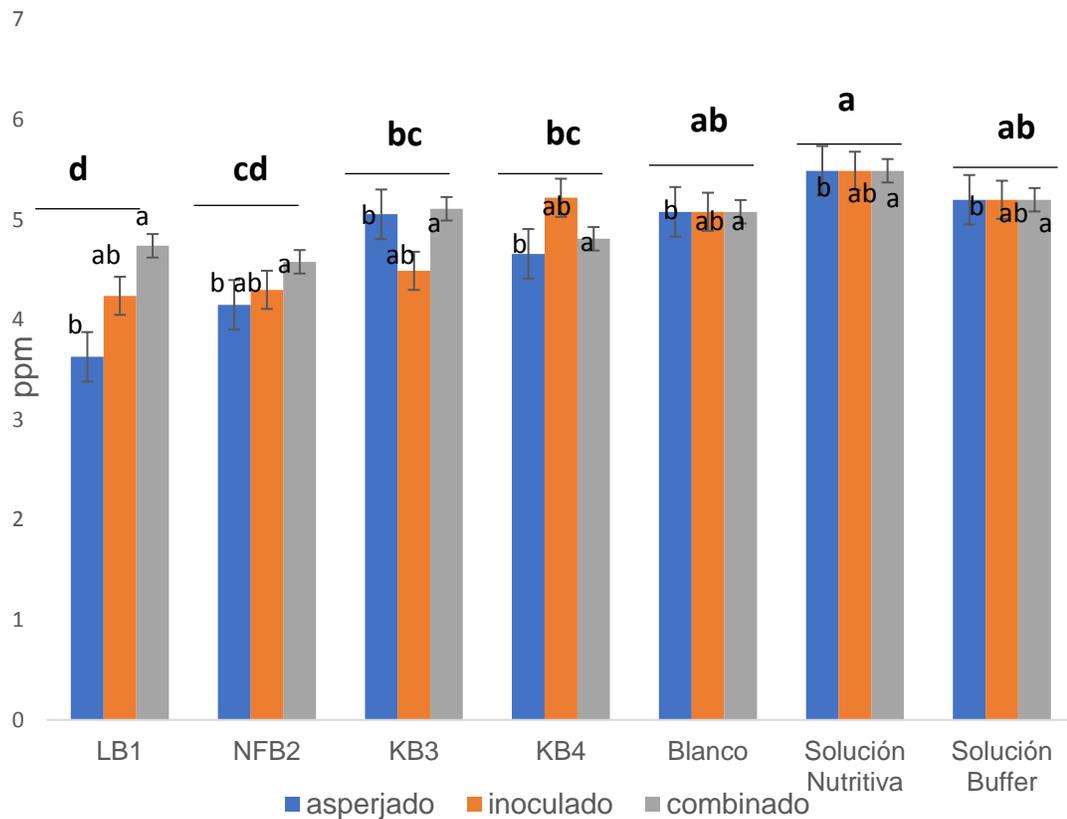


Figura 4.8.8. Comparación de medias de níquel ppm, a los 36 días después de la siembra (dds), de plantulas de tomate producidas en invernadero con diferente forma de aplicación de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal. Letras distintas dentro de cada columna indican diferencia estadística significativa entre el modo de aplicación y letras entre cada grupo de columnas indican diferencia estadística significativa entre tratamientos (Tukey; $P \leq 0.05$).

4.8.9. Hierro (Fe)

El Fe es un componente del sistema enzimático que está presente en las reacciones de oxidación-reducción en la planta, regula la respiración, la fotosíntesis y reducción de nitratos y sulfatos (Njira y Nabwami, 2015).

En el contenido Fe se obtuvo diferencia altamente significativa en los factores y la interacción de ambos factores obteniendo la cantidad mayor de hierro la cepa NFB2 en la forma de aplicación combinada con 66.07 % mayor al blanco, 74.63 % mayor a la solución buffer y 70.48 % mayor a la solución nutritiva (figura 4.8.8).

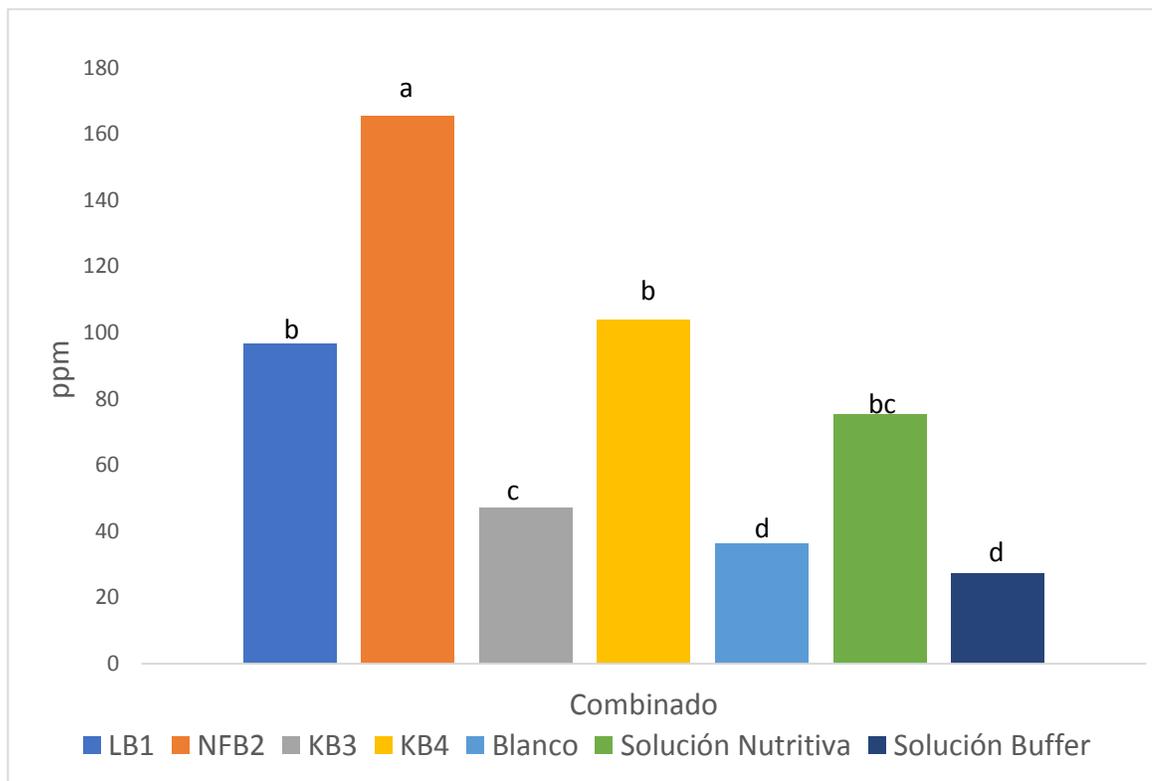


Figura 4.8.9. Comparación de medias de hierro ppm, a los 36 días después de la siembra (dds), de plantulas de tomate producidas en invernadero con diferente forma de aplicación de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal. Letras distintas dentro de cada columna indican diferencia estadística significativa (Tukey; $P \leq 0.05$).

4.8.10. Zinc (Zn)

El zinc es un importante componente activador de varias enzimas involucradas en actividades metabólicas y bioquímicas. Es un cofactor funcional, estructural o regulador de un gran número de enzimas y desempeña un papel esencial en la transcripción del ADN (Muthukumararaja y Sriramachandrasekharan, 2012).

Otras funciones del zinc incluyen: catalizar el proceso de oxidación en células vegetales y es vital para la transformación de carbohidratos; e influyendo en la formación de clorofila y auxinas, los compuestos promotores del crecimiento (Njira y Nabwami, 2015)

En el contenido mineral de zinc se obtuvo diferencia significativa entre bacterias y la interacción de ambos factores, teniendo con mayores resultados la cepa LB1 de manera combinada con 62.39 % más zinc que el blanco, 69.65 % más que la solución buffer y 25.73 % mayor a la solución nutritiva (Figura 4.8.10).

En la manera de aplicación no se obtuvo diferencia significativa, por tanto, el valor mineral del zinc no se ve afectado por la forma de aplicación de las PGPR.

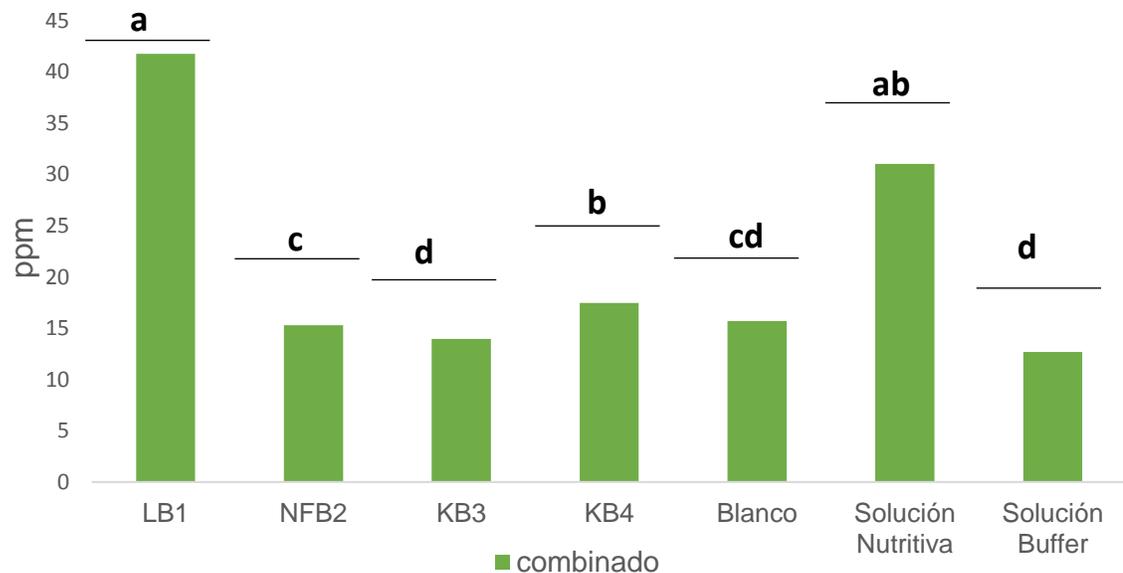


Figura 4.8.10. Comparación de medias de zinc ppm, a los 36 días después de la siembra (dds), de plantulas de tomate producidas en invernadero con forma de aplicación combinada de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal. Letras distintas dentro de cada columna indican diferencia estadística significativa (Tukey; $P \leq 0.05$).

4.8.11. Cobre (Cu)

El Cu es un micronutriente esencial que participa en múltiples procesos metabólicos y en las concentraciones adecuadas favorece el crecimiento de las plantas, aunque en presencia de elevados niveles, normalmente estas presentan reducción de la biomasa y síntomas de clorosis (Sankoumba Fadiga, 2014).

En el contenido de cobre se obtuvo diferencia altamente significativa en la interacción de ambos factores, teniendo mejores resultados la cepa KB4 de

manera inoculada con 62.99 % más cobre que el blanco, 68.40 % más que la solución buffer y 61.39 % más que la solución nutritiva (Figura 4.8.11).

En la manera de aplicación de las bacterias se obtuvo mejores resultados en los tratamientos inoculados con 25.68 % más contenido de zinc que los tratamientos combinados y 39.73 % más que los tratamientos de aspersión foliar.

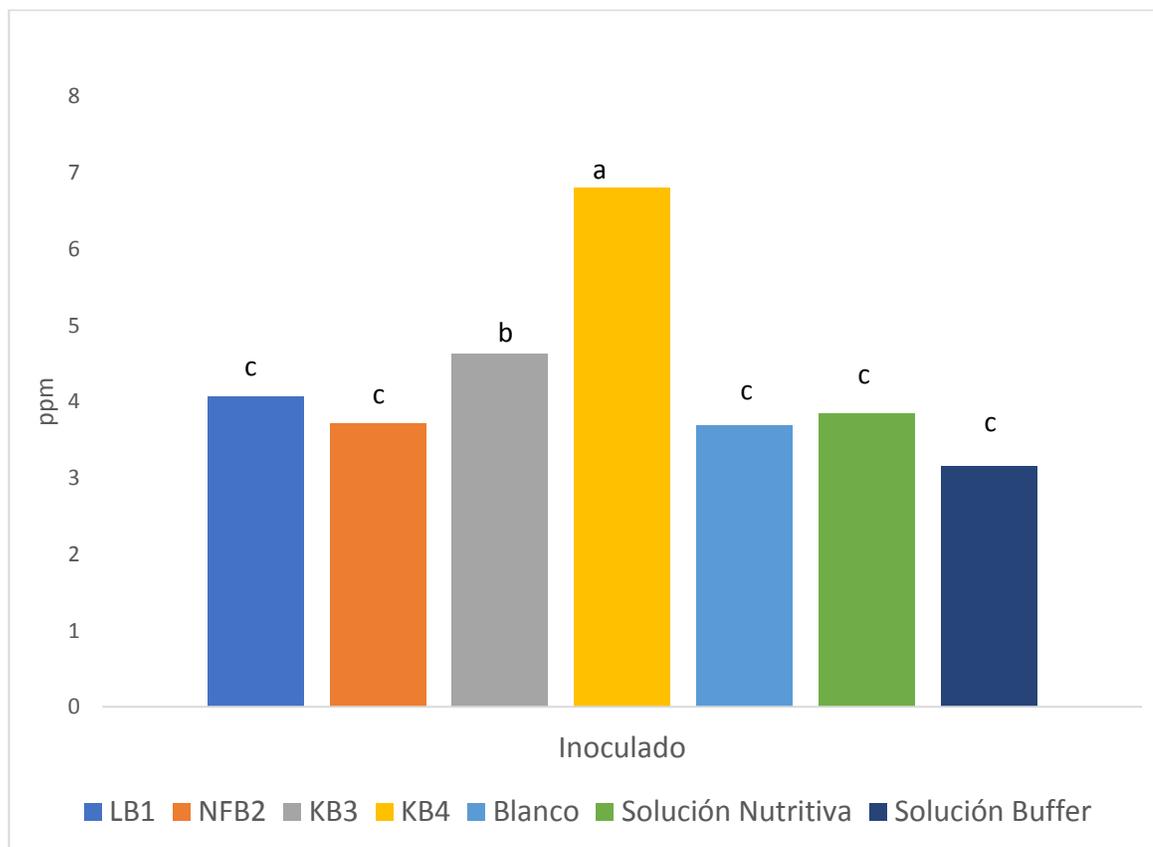


Figura 4.8.11. Comparación de medias de cobre (ppm), a los 36 días después de la siembra (dds), de plantulas de tomate producidas en invernadero con forma de aplicación inoculada de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal. Letras distintas dentro de cada columna indican diferencia estadística significativa (Tukey; $P \leq 0.05$).

4.9. Ternas fisiológicas

Las ternas fisiológicas se utilizan para evaluar el grado nutricional de los cultivos, mediante un análisis de tejido, en ellas se determinan las concentraciones de iones para diagnosticar una posible deficiencia nutrimental, deficiencia fisiológica y/o hambre oculta de los cultivos.

En el Cuadro 4.9 se presentan las concentraciones ideales de iones que deben de tener en los cultivos y los resultados obtenidos en las plántulas de tomate.

En la primera terna de elementos mayores se muestra un desbalance en las cepas en sus diferentes formas de aplicación ya que el exceso de fósforo nos provoca una inhibición del contenido de nitrógeno, sin embargo, la cepa que nos muestra valores más cerca de lo ideal es la cepa KB4 de forma inoculada.

En la segunda terna de elementos mayores la cepa LB1 de manera asperjada y de manera inoculada muestra un balance muy cerca del ideal, al igual que la cepa NFB2 de manera inoculada, superando el balance de ternas fisiológicas en plántulas de tomate de Córdova (2016) las cepas KB3 y KB4 muestran un desbalance causado por un exceso de magnesio.

En la tercera terna de elementos menores la cepa KB4 de forma asperjada y la cepa LB1 en sus tres formas de aplicación, se obtuvo valores muy similares a Córdoba (2016) donde se realizó aplicación de microalgas en plántulas de tomate. Lo que nos indica que los valores obtenidos son viables para plántulas de tomate bajo condiciones de invernadero.

En la cuarta terna de elementos menores la cepa KB4 de manera asperjada es la que muestra un balance más cerca al ideal que el resto de las cepas, lo que nos dice que con la aplicación de esta cepa de manera asperjada se pueden obtener resultados cercanos a los óptimos.

Cuadro 4.9. Ternas fisiológicas del contenido mineral de plántulas de tomate producidas en invernadero con diferente forma de aplicación de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal

Ternas Fisiológicas				
Composición porcentual (%)				
Tratamientos	N – 10 P – K	K – Ca –Mg	Fe – Mg – Zn	Fe – Mg- Cu
	60 - 30 - 10	30 – 60 - 10	50 – 40 -10	50 – 40 - 10
LB1 Asperjada	35 – 54 – 11	26 – 64 - 10	52 – 22 – 26	69 – 28 – 3
LB1 Inoculada	29 – 59 – 12	30 – 59 – 11	53 – 25 – 22	65 – 31 – 4
LB1 A + I	33 – 54 – 13	41 – 46 – 13	55 – 21 – 24	71 – 26 – 3
NFB2 Asperjada	34 – 49 – 17	35 – 52 – 13	45 – 27 – 28	59 – 35 – 6
NFB2 Inoculada	35 – 56 – 9	26 – 63 – 11	53 – 26 – 21	65 – 31 – 4

NFB2 A + I	42 – 52 – 6	18 – 68 – 14	72 – 21 – 7	76 – 21 – 3
KB3 Asperjada	33 – 51 – 16	57 – 20 - 23	57 – 35 – 8	59 – 36 – 5
KB3 Inoculada	38 – 51 – 11	51 – 25 – 24	58 – 30 – 12	62 – 32 – 6
KB3 A + I	28 – 55 – 17	45 – 39 – 16	56 – 27 – 17	59 – 29 – 12
KB4 Asperjada	42 – 41 – 17	57 – 34 – 9	49 – 33 – 18	56 – 38 – 6
KB4 Inoculada	43 – 51 – 6	24 – 45 – 31	60 – 26 – 14	58 – 25 – 17
KB4 A + I	36 – 56 – 8	21 – 48 – 31	61 – 26 – 13	68 – 28 – 4
Blanco	40 – 52 – 8	48 – 26 – 26	48 – 29 – 23	58 – 35 – 7
Solución	38 – 31 – 31	49 – 41 -10	48 – 33 – 19	57 – 39 – 4
Nutritiva				
Solución Buffer	33 – 59 - 8	44 – 39 - 17	44 – 36 – 20	52 – 41 – 7

A+I= Asperjada e Inoculada

4.10. Comportamiento microbiológico (UFC)

En el conteo microbiológico se encontró diferencia altamente significativa entre las cepas, con mayores UFC los tratamientos donde se aplicó la cepa NFB2, KB4 y LB1 mostrando estos mayores efectos promotores de crecimiento que la cepa KB3 donde se encontró un menor contenido de unidades formadoras de colonias, pudiera ser que esta bacteria es de crecimiento más lento.

Así mismo, también se muestra diferencia altamente significativa en comparación con los testigos realizando contrastes ortogonales, con lo que podemos comprobar que la mayor presencia de microorganismos es gracias a la inoculación de estos, lo que nos sugiere que al tener una mayor cantidad de microorganismos promotores de crecimiento se tiene un efecto positivo en variables fenológicas y absorción de nutrientes.

Por tanto, realizar el análisis de UFC nos puede servir para observar el comportamiento microbiológico y saber si se le puede atribuir alguna respuesta positiva o negativa a las bacterias, no obstante, no se encontraron diferencias significativas en la manera de aplicación, ni su comportamiento en parte aérea de la radical (Figura 4.10).

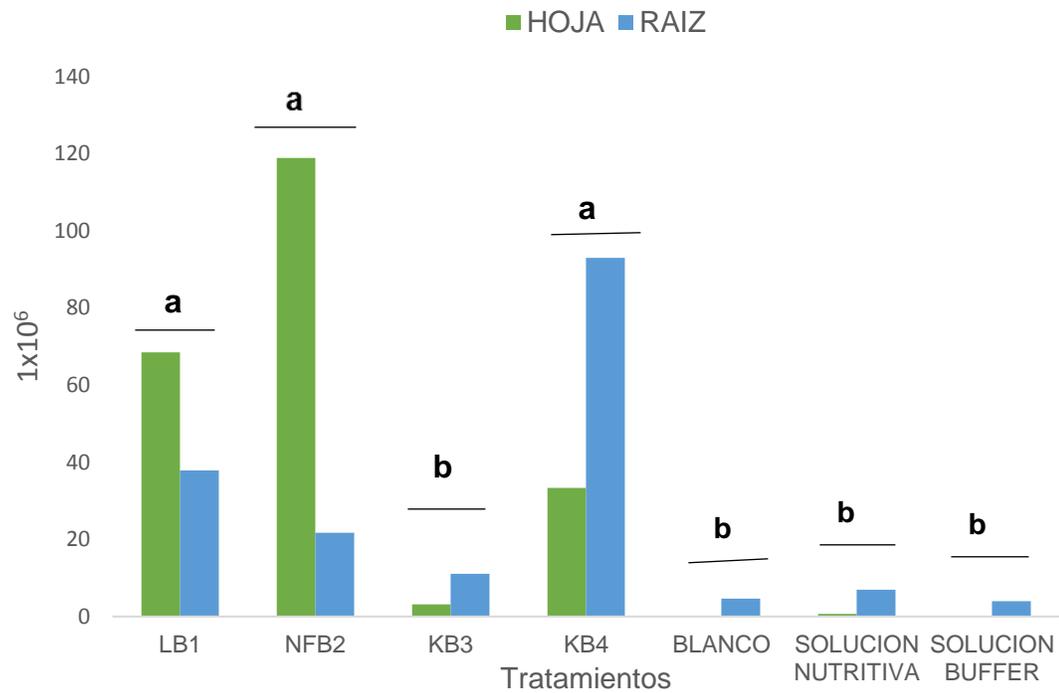


Figura 4.9. Comparación de medias de unidades formadoras de colonias (UFC) en concentración $\times 10^6$, a los 37 días después de la siembra (dds), de plantulas de tomate producidas en invernadero con diferente forma de aplicación de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal. Letras distintas dentro de cada grupo de columnas indican diferencia estadística significativa (Tukey; $P \leq 0.05$).

VI. Recomendaciones

Para un próximo trabajo de investigación utilizando Rizobacterias y forma de aplicación se recomienda lo siguiente:

- La aplicación de la cepa LB1 mostró mejores resultados de Área Foliar y la enzima Nitrato Reductasa endógena, de manera asperjada, como también en materia seca, Calcio y Zinc aplicada de manera combinada, por lo que yo recomendaría profundizar en la importancia de la aplicación de esta cepa de manera foliar.
- La aplicación de la cepa NFB2, si bien mostró buenos resultados, no fue la mejor, excepto en el contenido mineral de Fe por lo que yo no recomendaría realizar más estudios en esta bacteria a menos que su área de interés sea la concentración de Fe.
- La aplicación de la cepa KB3 mostró los resultados más bajos en la mayoría de las variables, a excepción del contenido mineral del potasio, aplicado de manera combinada, sin embargo, el exceso de este mineral podría ser una de las causantes de otras deficiencias, por lo que recomendaría aplicar esta cepa en otra etapa fenológica, donde el aporte

del potasio primordial como en etapa de floración para fertilización de tomate.

- La aplicación de la cepa KB4 mostró resultados relevantes aplicada de manera combinada, en variables como el volumen desplazado de raíz, altura, diámetro, y algunos minerales como Nitrógeno, Magnesio, Níquel y Cobre, por lo que creo que es de suma importancia seguir evaluando el aporte de esta cepa como promotora de crecimiento, ya sea en diferentes cultivos o el mismo.
- La forma de aplicación combinada es la que mostró mejores resultados en la mayoría de las variables evaluadas por lo que creo que es indispensable tomar en cuenta esta forma de aplicación de bacterias promotoras de crecimiento para futuros estudios ya sea en este cultivo o en otros, al igual que en otras cepas de interés.

VI. LITERATURA CITADA

- Armenta Bojorquez, A. 2010. Biofertilizantes en el desarrollo agrícola de México. Ra Ximhai, enero-abril, año/Vol. 6, Número 1. Universidad Autónoma Indígena de México. Mochicahui, El Fuerte, Sinaloa. pp. 51-56
- Afzal, M.; Yousaf, S.; Reichenauer, T.G. & Sessitsch, A. 2012. The inoculation method affects colonization and performance of bacterial inoculant strains in the phytoremediation of soil contaminated with diesel oil. International Journal of Phytoremediation, 14: 35-47.
- Baldotto L E B, M A Baldotto, L P Canellas, R. Bressan-Smith, FL Olivares (2010) Growth promotion of pineapple 'Vitória' by humic acids and Burkholderia spp. during acclimatization. Revista Brasileira de Ciência do Solo 34 (5): 1593-1600.
- Bashan Y, Bashan LE. 2010. How the Plant Growth-Promoting Bacterium Azospirillum Promotes Plant Growth—A Critical Assessment. In Sparks DL (ed.), Advances in Agronomy. pp. 78-122, Volume 108. Elsevier Inc.
- Bastida, A. 2008. Los Invernaderos en México. Chapingo, México. Universidad Autónoma Chapingo. 123 pp.
- Bar-Akiva, Sagiv, J. and Leshem, J (1970) Nitrate Reductase activity as an indicator for assessing the nitrogen requirements for grass crops. J SciFd. Agric, 21: 405-407.

- Bhattacharyya, P., Jha, D. 2012. Plant growth –promoting rhizobacteria: emergence in agriculture. *World Journal Microbiology Biotechnology* 28: 1327 – 1350
- Camelo, M., P. Vera y R. R. Bonilla. 2011. Mecanismos de acción de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. *Rev. Corpoica* 12: 159-166.
- Cisneros Rojas, C. (2017) Effect of phosphate solubilizing bacteria on the development of coffee seedlings. *Agron. Mesoam.* 28 (1):149-158. 2017 ISSN 2215-3608 doi.10.15517/am.v28il.22021.
- Crouch IJ, van Staden J (1992) Effect of seaweed concentrate on the establishment and yield of greenhouse tomato plants. *J Appl Phycol* 4:292 – 296.
- Crouch, L y J. van Staden. 1992. Evidence of the presence of plant growth regulators in commercial seaweed products. Department of Botany, University of Natal, Republic of South Africa. Ed. Kluwer Academic publishing. The Netherlands.
- Escobar, C. Horna, Yuri; Carreño, C. Mendoza, G. Caracterización de cepas nativas de *Azotobacter* spp. y su efecto en el desarrollo de *Lycopersicon esculentum* Mill. “tomate” en Lambayeque *Scientia Agropecuaria*, vol. 2, núm. 1, 2011, pp. 39-49 Universidad Nacional de Trujillo Trujillo, Perú.
- Espinosa Palomeque, B., A. Moreno Reséndez, P. Cano Ríos, V. P. Álvarez Reyna, J. Sáenz Mata, H. Sánchez Galván y G. González Rodríguez. 2017. Inoculación de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal en tomate (*Solanum lycopersicum* L.) cv. afroditá en invernadero. *Terra Latinoamericana* 35: 169-178.

VII. LITERATURA CITADA

- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación).2017, Análisis de competitividad, Antecedentes del tomate rojo
- FAOSTAT. Consulta de bases de datos de producción mundial y comercio internacional de Tomate. De: faostat.fao.org. Consultado en octubre de 2017.
- Fageria, N.K., M.P. Barbosa, A. Moreira, y C.M. Guimaraes. 2009. Foliar fertilization of crop plants. *J. Plant Nutr.* 32:1044-1064.
- Fernández V, T. Sotiropoulos and P. Brown Fertilización Foliar: Principios Científicos y Práctica de Campo. Primera edición, versión revisada, IFA, Paris, Francia, Noviembre 2015 Copyright 2015 IFA. Todos los derechos reservados ISBN 979-10-92366-03-7.
- Fernández, V., y P.H. Brown. 2013. From plant surface to plant metabolism: the uncertain fate of foliar-applied nutrients. *Frontiers in Plant Science* 4, 289.
- Fukami J, Nogueira MA, Araujo RS, Hungria M. Accessing inoculation methods of maize and wheat with *Azospirillum brasilense*. *AMB Express*. 2016; 6:1. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar].
- Gamalero, E., G. Lingua, G. Berta & P. Lemanceau. 2003. Methods for studying root colonization by introduced beneficial bacteria *Agronomie*. 23:407-418.
- Gopinath, K. A.; Saha, S.; Mina, B. L.; Pande, H.; Kundu, S. and Gupta, H. S. 2008. Influence of organic mendments on growth, yield and quality of wheat and on soil properties during transition to organic production. *Nutr. Cycl. Agroecosys*. 82:51-60.

- Grageda-Cabrera, O. A.; Díaz-Franco, A. 2012. Impacto de los biofertilizantes en la agricultura. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, vol. 3, núm. 6, noviembre-diciembre, 2012, pp. 1261-1274 Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Estado de México, México.
- Guzmán, A. Obando, M., Rivera, D. 2012. Selection and characterization of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR's) associated with cotton crop (*Gossypium hirsutum*) *Rev. Colomb. Biotecnol.* Vol. XIV No. 1 Julio 2012 182-190.
- Hernández-Flores, L. Munive-Hernández, J. Sandoval-Castro, E. Martínez-Carrera, D. 2012. POBLACIONES BACTERIANAS NATIVAS: ALTERNATIVA SUSTENTABLE PARA LA AGRICULTURA. *Terra Latinoamericana*, vol. 30, núm. 2, abril-junio, 2012, pp. 129-138 Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, A.C. Chapingo, México
- Hernández, H. R. M.; Santacruz, R. F.; Ruiz, L. M. A.; Norrie, J. and Hernández, C. G. 2014. Effect of liquid seaweed extracts on growth of tomato seedlings (*Solanum lycopersicum* L.). *J. Appl. Phycol.* 26(1):619-628.
- Hernández – Montiel L., Escalona – Aguilar M. 2013. Microorganismos que benefician a las plantas: Las bacterias PGPR. Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Veracruzana. P 19 -32.
- Jaramillo, J et al. 2007. Manual técnico: buenas prácticas agrícolas en la producción de tomate bajo condiciones protegidas. Colombia, CTP Print. 331 p.
- Kannan, S. 2010. Foliar fertilization for sustainable crop production. *Sustainable Agriculture Reviews.* 4:371-402.

- Khan, W., Rayirath, U. P., Subramanian, S., Jithesh, M. N., Rayorath, P., Hodges, D. M., Critchley, A. T., Craigie, J. S., Norrie, J., and Prithiviraj, B. (2009). Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. *Journal of Plant Growth Regulation* **28**, 386-399.
- Lara, C., Esquivel, L. 2011. Native phosphate solubilizing bacteria to increase the crops in the departament of Cordova- Colombia. *Biotecnología en el sector Agropecuario y Agroindustrial* Vol. 9 No. 2 114 – 120. Julio – Diciembre 2011.
- Márquez-Quiroz, C., Sánchez-Chávez E., Cruz-Lázaro E., Osorio-Osorio R., López-Espinosa S. 2015 Nitrogen Metabolism and Tomato Yield in Response to Organic Fertilization, *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 46:21, 2774-2786, DOI: 10.1080/00103624.2015.1102930
- Mejía-Teniente, L., Torres-Pacheco, I., González-Chavira, M.M., Ocampo-Velázquez, R.V., Herrera-Ruíz, G., Chapa-Oliver, A.M., Guevara-González, R.G., 2010. Use of elicitors as an approach for sustainable agricultura. *African Journal of Biotechnology*. 9, pp. 9155-9162.
- Molina-Romero, D., Bustillos-Cristales M., Rodríguez-Andrade O., Morales-García Y., 2015. Mecanismos de fitoestimulación por rizobacterias, aislamientos en América y potencial biotecnológico. *Biológicas*, Diciembre 2015, 17(2): 24 – 34 Número especial: XLII Aniversario de la Facultad de Biología, UMSNH.
- Mohamed Sankoumba Fadiga, Yunel Pérez, 2014. Efecto de diferentes concentraciones de cobre en el medio de cultivo sobre plantas in vitro de *Agave fourcroydes* L”. *Biotecnología Vegetal* Vol. 14, No. 2: 107 - 115, abril - junio, 2014 ISSN 2074-8647, RNPS: 2154

- Muthukumararaja T and MV Sriramachandrasekharan Effect of zinc on yield, zinc nutrition and zinc use efficiency of lowland rice. *J. Agri. Tech.* 2012; 8(2): 551–561.
- Njira Kow and J Nabwami A review of effects of nutrient elements on crop quality *African journal of food, agricultura, nutrition and development* Volume 15 No.1 January 2015. pp. 9779-9783.
- Noh, J., Yam, - Chimal, C., Borges – Gomez, L. 2014. Bacterial Isolates with Biofertilizer Potential for Tomato Plantlets. *Terra Latinoamericana* Vol. 32: 273-281.
- Ortega-Ortiz, H., Benavides-Mendoza, A., Mendoza-Villarreal, R., Ramírez-Rodríguez, H., De Alba-Romenus, K., 2007. Enzymatic activity in tomato fruits as a response to chemical elicitors. *J. Mex. Chem. Soc.* 51, pp. 141-144.
- Ortega W. R., and Gallego, R. O. (2008) Utilización de algas marinas como componente de sustratos para la producción de plántulas de acelga y lechuga. 39 - 40.
- Preciado P., Torres AG., Segura MA., Fortis M, Garcia JL., Rueda EO., Sánchez E. Evaluación de orina humana como fuente de nutrientes en la producción de plántulas de tomate (2010). *Universidad y Ciencia* Vol 26. pp 171 – 178.
- Rodriguez, H., Fraja, R., Bashan, Y. Genetics of phosphate solubilization and its potential applications for improving plant growth-promoting bacteria. In: *Plant Soil*, 2006, vol. 56, no. 3. p. 492-504.

VII. LITERATURA CITADA

- Romero-Romero, M. T.; López-Delgado, H. A. 2009. Ameliorative effects of hydrogen peroxide, ascorbate and dehydroascorbate in *Solanum Tuberosum* Infected by phytoplasma. *American Journal of Potato Research* 86: 218-226.
- Rueda-Puente, E. O.; Ortega-García, J.; Barrón-Ho-yos, J. M.; López-Elías, J.; Murillo-Amador, B.; Hernández-Montiel, L. G. et al. Los fertilizantes biológicos en la agricultura. *INVURNUS*. 10 (1):10-17, 2015.
- SAGARPA. 2017. Atlas agrícola 2016. Situación al año 2015. <http://www.siap.gob.mx/ventana.php?idLiga=1043&tipo=1> (7/04/2017).
- SAGARPA-Región Lagunera, 2015. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Producción de tomate en ambientes protegidos en la Comarca Lagunera.
- Sanchez – López B. 2012. Efecto de la inoculación con bacterias promotoras de crecimiento vegetal sobre el cultivo de tomate bajo invernadero. Tesis de Doctorado. Facultad en Ciencias Agrícolas. Pontificia Universidad Javeriana. Bogota, D. C. 2012.
- SIAP, 2017. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera “con datos del Banco de México y Administración General de Aduanas”. México D.F. a 26 de abril de 2016. Número 72. Disponible en línea: <http://www.siap.gob.mx/opt/123/73/72.html> (consulta mayo 11, 2017).
- SIAP. Producción agrícola, cíclicos y perennes 2016, tomate rojo. De: siap.sagarpa.gob.mx. Consultado en abril de 2017.

VII. LITERATURA CITADA

Vejan, P., Abdullah, R., Khadiran, T., Ismail, S. & Nasrulhaq-Boyce, A. 2016. Role of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Agricultural Sustainability- A Review. *Molecules*, 21(5). doi:10.3390/ molecules21050573.

Zulueta-Rodríguez, R.; Hernández-Montiel, L.G.; Murillo-Amador, B.; Rueda-Puente, E.O.; Capistrán, L.L.; Troyo-Diéguez, E.; Córdoba-Matson, M.V. Effect of Hydropriming and Biopriming on Seed Germination and Growth of Two Mexican Fir Tree Species in Danger of Extinction. *Forests* 2015, 6, 3109-3122.

VIII. Anexos

Cuadro 4.1. Análisis de varianza de la variable altura de planta de plántulas de tomate inoculadas con PGPR.

FV	DF	SC	CM	F	PF
BACT	6	204.3251	34.0541	155.34	<.0001***
INOC	2	4.6326	2.3163	10.57	0.0002***
BACT*INOC	12	4.1216	0.3434	1.57	0.1392NS
CONTRASTES					
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (asperjados)	1	11.3594	11.3594	51.82	<.0001***
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (inoculados)	1	11.3594	11.3594	51.82	<.0001***
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (combinados)	1	11.3594	11.3594	51.82	<.0001***

***= diferencia altamente significativa NS= no significativo

Cuadro 4.2. Análisis de varianza de la variable diámetro de tallo de plántulas de tomate inoculadas con PGPR.

FV	DF	SC	CM	F	PF
BACT	6	3.6116	0.6019	94.17	<.0001***
INOC	2	0.3025	0.1512	23.67	<.0001***
BACT*INOC	12	0.3355	0.0279	4.38	0.0002***
CONTRASTES					
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (asperjados)	1	0.3268	0.3268	51.14	<.0001***

LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (inoculados)	1	0.3268	0.3268	51.14	<.0001***
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (combinados)	1	0.3268	0.3268	51.14	<.0001***

***= diferencia altamente significativa

Cuadro 4.3. Análisis de varianza de la variable área foliar de plántulas de tomate inoculadas con PGPR

FV	DF	SC	CM	F	PF
BACT	6	686.7543	114.4590	36.89	<.0001***
INOC	2	10.8374	5.4187	1.75	0.186 NS
BACT*INOC	12	86.2210	7.1850	2.32	0.022 *

***= diferencia altamente significativa *= diferencia significativa NS= no significativa

Cuadro 4.4. Análisis de varianza de la variable volumen desplazado de raíz (VDR) de plántulas de tomate inoculadas con PGPR

FV	DF	SC	CM	F	PF
BACT	6	10.9410	1.8235	1641.1	<.0001***
INOC	2	0.4116	0.2058	185.25	<.0001***
BACT*INOC	12	0.4177	0.0348	31.33	<.0001***
CONTRASTE					
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (asperjados)	1	2.3836	2.3836	2145.24	<.0001***
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (inoculados)	1	2.3836	2.3836	2145.24	<.0001***
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (combinados)	1	2.3836	2.3836	2145.24	<.0001***

***= diferencia altamente significativa

Cuadro 4.5. Análisis de varianza de la variable peso fresco de raíz de plántulas de tomate inoculadas con PGPR

FV	DF	SC	CM	F	PF
BACT	6	3.1848	0.5308	61.07	<.0001***
INOC	2	0.3825	0.5308	22.00	<.0001***
BACT*INOC	12	0.9941	0.08284	9.53	<.0001***
CONTRASTE					
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (asperjados)	1	0.8884	0.8884	102.21	<.0001***
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (inoculados)	1	0.8884	0.8884	102.21	<.0001***
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (combinados)	1	0.8884	0.8884	102.21	<.0001***

***= diferencia altamente significativa

Cuadro 4.6. Análisis de varianza de la variable materia seca de plántulas de tomate inoculadas con PGPR

FV	DF	SC	CM	F	PF
BACT	6	0.0135	0.0022	72.59	<.0001***
INOC	2	0.0004	0.0002	6.88	<.0026*
BACT*INOC	12	0.0028	0.0002	7.66	<.0001***
CONTRASTE					
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (asperjados)	1	0.0032	0.0032	104.16	<.0001***
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (inoculados)	1	0.0032	0.0032	104.16	<.0001***
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (combinados)	1	0.0032	0.0032	104.16	<.0001***

***= diferencia altamente significativa

*= diferencia significativa

Cuadro 4.7.1. Análisis de varianza de la enzima nitrato reductasa en la reacción endógena de plántulas de tomate inoculadas con PGPR

FV	DF	SC	CM	F	PF
BACT	6	5.5533	0.9255	30.92	<.0001***
INOC	2	0.3587	0.1793	5.99	0.0051 *
BACT*INOC	12	0.5721	0.0476	1.59	0.1309 NS
CONTRASTE					
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (asperjados)	1	4.5657	4.56572	152.53	<.0001***
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (inoculados)	1	4.5657	4.5657	152.53	<.0001***
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (combinados)	1	4.5657	4.5657	152.53	<.0001***

***= diferencia altamente significativa

*= diferencia significativa

Cuadro 4.7.2. Análisis de varianza de la variable enzima nitrato reductasa en la reacción inducida con NO₃ plántulas de tomate inoculadas con PGPR

FV	DF	SC	CM	F	PF
BACT	6	1057.3728	176.2288	61.68	<.0001***
INOC	2	228.5856	114.2928	40.00	<.0001***
BACT*INOC	12	3286.9098	273.9091	95.87	<.0001***
CONTRASTE					
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (asperjados)	1	110.7503	110.7503	38.76	<.0001***
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (inoculados)	1	110.7503	110.7503	38.76	<.0001***
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (combinados)	1	110.7503	110.7503	38.76	<.0001***

***= diferencia altamente significativa

Cuadro 4.7.3. Análisis de varianza de la variable enzima nitrato reductasa en la reacción con Mo como cofactor en plántulas de tomate inoculadas con PGPR

FV	DF	SC	CM	F	PF
BACT	6	893.2319	148.8719	33.47	<.0001***
INOC	2	167.8977	83.9488	18.87	<.0001***
BACT*INOC	12	999.3850	83.2820	18.72	<.0001***

***= diferencia altamente significativa

Cuadro 4.7.4. Análisis de varianza de la variable enzima nitrato reductasa en la reacción inducida con sustrato más cofactor (NO₃ + Mo) en plántulas de tomate inoculadas con PGPR

FV	DF	SC	CM	F	PF
BACT	6	6284.6140	1047.4356	85.50	<.0001***
INOC	2	373.1681	186.5840	15.23	<.0001***
BACT*INOC	12	1951.9885	162.6657	13.28	<.0001***
CONTRASTE					
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (asperjados)	1	1533.3036	1533.3036	125.16	<.0001***
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (inoculados)	1	1533.3036	1533.3036	125.16	<.0001***
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (combinados)	1	1533.3036	1533.3036	125.16	<.0001***

***= diferencia altamente significativa

Cuadro 4.8.1. Análisis de varianza de la variable mineral Nitrógeno (N) en plántulas de tomate inoculadas con PGPR

FV	DF	SC	CM	F	PF
BACT	6	6.2129	1.0354	30.41	<.0001***
INOC	2	6.2129	0.2789	8.19	0.0010*
BACT*INOC	12	1.6198	0.1349	3.96	<.0004***

***= diferencia altamente significativa *= diferencia significativa

Cuadro 4.8.2. Análisis de varianza de la variable mineral Fosforo P en plántulas de tomate inoculadas con PGPR

FV	DF	SC	CM	F	PF
BACT	6	0.0584	0.0097	12.40	<.0001***
INOC	2	0.0371	0.0185	23.66	<.0001***
BACT*INOC	12	0.0376	0.0031	3.99	0.0004*
CONTRASTE					
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (asperjados)	1	0.0221	0.0221	28.17	<.0001***
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (inoculados)	1	0.0221	0.0221	28.17	<.0001***
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (combinados)	1	0.0221	0.0221	28.17	<.0001***

***= diferencia altamente significativa *= diferencia significativa

Cuadro 4.8.3. Análisis de varianza de la variable mineral Potasio (K) en plántulas de tomate inoculadas con PGPR

FV	DF	SC	CM	F	PF
BACT	6	19.9546	3.3257	96.68	<.0001***
INOC	2	0.1386	0.0693	2.02	0.1459 NS
BACT*INOC	12	1.2581	0.1048	3.05	0.0037 *
CONTRASTE					
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (asperjados)	1	1.5670	1.5670	45.56	<.0001***
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (inoculados)	1	1.5670	1.5670	45.56	<.0001***
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (combinados)	1	1.5670	1.5670	45.56	<.0001***

***= diferencia altamente significativa *= diferencia significativa NS= no significativo

Cuadro 4.8.4. Análisis de varianza de la variable mineral Calcio (Ca) en plántulas de tomate inoculadas con PGPR

FV	DF	SC	CM	F	PF
BACT	6	16.7666	2.7944	292.88	<.0001***
INOC	2	0.2274	0.1137	11.92	<.0001***
BACT*INOC	12	1.3513	0.1126	11.80	<.0001***
CONTRASTE					
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (asperjados)	1	0.1906	0.1906	19.98	<.0001***
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (inoculados)	1	0.1906	0.1906	19.98	<.0001***
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (combinados)	1	0.1906	0.1906	19.98	<.0001***

***= diferencia altamente significativa

Cuadro 4.8.5. Análisis de varianza de la variable mineral Magnesio (Mg) en plántulas de tomate inoculadas con PGPR

FV	DF	SC	CM	F	PF
BACT	6	0.5255	0.0875	21.34	<.0001***
INOC	2	0.1280	0.0640	15.60	<.0001***
BACT*INOC	12	0.3901	0.0325	7.92	<.0001***
CONTRASTE					
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (asperjados)	1	0.0668	0.0668	16.28	0.0002*
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (inoculados)	1	0.0668	0.0668	16.28	0.0002*
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (combinados)	1	0.0668	0.0668	16.28	0.0002*

***= diferencia altamente significativa * = diferencia significativa

Cuadro 4.8.6. Análisis de varianza de la variable mineral Sodio (Na) en plántulas de tomate inoculadas con PGPR

FV	DF	SC	CM	F	PF
BACT	6	0.0006	0.00010	9.40	<.0001***
INOC	2	0.00003	0.00001	1.53	0.2290 NS
BACT*INOC	12	0.0003	0.00002	2.35	0.0206 *
CONTRASTE					
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (asperjados)	1	0.0005	0.0005	49.90	<.0001***
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (inoculados)	1	0.0005	0.0005	49.90	<.0001***
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (combinados)	1	0.0005	0.0005	49.90	<.0001***

***= diferencia altamente significativa * = diferencia significativa NS= no significativo

Cuadro 4.8.7. Análisis de varianza de la variable mineral Manganeso Mn en plántulas de tomate inoculadas con PGPR

FV	DF	SC	CM	F	PF
BACT	6	5964.4398	994.0733	20.43	<.0001***
INOC	2	21.8191	10.9095	0.22	0.8001 NS
BACT*INOC	12	2195.2768	182.9397	3.76	0.0007 *
CONTRASTE					
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (asperjados)	1	266.9650	266.9650	5.49	<.0001***
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (inoculados)	1	266.9650	266.9650	5.49	<.0001***
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (combinados)	1	266.9650	266.9650	5.49	<.0001***

***=diferencia altamente significativa *= diferencia significativa NS= no significativo

Cuadro 4.8.8. Análisis de varianza de la variable mineral Niquel (Ni) en plántulas de tomate inoculadas con PGPR

FV	DF	SC	CM	F	PF
BACT	6	11.2704	1.8784	12.59	<.0001***
INOC	2	1.14684	0.5734	3.84	0.0294 *
BACT*INOC	12	2.1816	0.1818	1.22	0.3031 NS
CONTRASTE					
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (asperjados)	1	6.9385	6.9385	46.49	<.0001***
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (inoculados)	1	6.9385	6.9385	46.49	<.0001***
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (combinados)	1	6.9385	6.9385	46.49	<.0001***

***= diferencia altamente significativa *= diferencia significativa NS= no significativo

Cuadro 4.8.9. Análisis de varianza de la variable mineral Hierro (Fe) en plántulas de tomate inoculadas con PGPR

FV	DF	SC	CM	F	PF
BACT	6	40155.4394	6692.5732	81.80	<.0001***
INOC	2	6278.7561	3139.3780	38.37	<.0001***
BACT*INOC	12	21041.5877	1753.4656	21.43	<.0001***
CONTRASTE					
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (asperjados)	1	17765.5542	17765.5542	217.14	<.0001***

LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (inoculados)	1	17765.5542	17765.5542	217.14	<.0001***
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (combinados)	1	17765.5542	17765.5542	217.14	<.0001***

***= diferencia altamente significativa

Cuadro 4.8.10. Análisis de varianza de la variable mineral Zinc (Zn) en plántulas de tomate inoculadas con PGPR

FV	DF	SC	CM	F	PF
BACT	6	5206.3530	867.7255	83.80	<.0001***
INOC	2	10.8024	5.4012	0.52	0.5974 NS
BACT*INOC	12	1275.9018	106.3251	10.27	<.0001***
CONTRASTE					
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (asperjados)	1	251.7497	251.7497	24.31	<.0001***
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (inoculados)	1	251.7497	251.7497	24.31	<.0001***
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (combinados)	1	251.7497	251.7497	24.31	<.0001***

***= diferencia altamente significativa NS= no significativo

Cuadro 4.8.11. Análisis de varianza de la variable mineral Cobre (Cu) en plántulas de tomate inoculadas con PGPR

FV	DF	SC	CM	F	PF
BACT	6	315.6116	52.6019	71.68	<.0001***
INOC	2	66.2653	33.1326	45.15	<.0001***
BACT*INOC	12	580.4700	48.3725	65.91	<.0001***
CONTRASTE					

LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (asperjados)	1	251.7497	251.7497	24.31	<.0001***
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (inoculados)	1	251.7497	251.7497	24.31	<.0001***
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB (combinados)	1	251.7497	251.7497	24.31	<.0001***

***= diferencia altamente significativa

Cuadro.8.12. Concentración de macronutrientes en plántulas de tomate producidas en invernadero con diferente forma de aplicación de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal

Tratamientos	Macronutrientes					
	N	P	K	Ca	Mg	Na
	----- % -----					
LB1 (Asperjada)	1.5023	0.2366	0.4908	1.2061	0.1661	0.0508
LB1 (Inoculada)	1.4837	0.3078	0.6537	1.2781	0.2238	0.0493
LB1 (A+I)	1.9060	0.3214	0.7985	0.8707	0.2462	0.0436
NFB2 (Asperjada)	1.4535	0.2155	0.7704	1.1294	0.2646	0.0402
NFB2 (Inoculada)	1.9108	0.3130	0.4764	1.1332	0.2054	0.0498
NFB2 (A+I)	2.2554	0.2828	0.3200	1.2729	0.2695	0.0490
KB3 (Asperjada)	1.2638	0.2040	0.6289	0.2094	0.2548	0.0498
KB3 (Inoculada)	1.9754	0.2674	0.5698	0.2742	0.2615	0.0502
KB3 (A+I)	1.6580	0.3424	1.0393	0.8693	0.3767	0.0502
KB4 (Asperjada)	2.0966	0.2087	0.9132	0.5390	0.1287	0.0432
KB4 (Inoculada)	2.2395	0.2736	0.3347	0.5988	0.4272	0.0469
KB4 (A+I)	1.9789	0.3198	0.4715	1.0463	0.6893	0.0513
Testigo sin inocular	1.7368	0.2211	0.3503	0.1923	0.1839	0.0417
Solución Nutritiva	2.5146	0.2030	2.0997	1.7510	0.3596	0.0413
Solución Buffer	1.5730	0.2855	0.3724	0.3301	0.1378	0.0423

Cuadro.8.13. Concentración de micronutrientes en plántulas de tomate producidas en invernadero con diferente forma de aplicación de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal

Tratamientos	Micronutrientes				
	Fe	Mn	Zn	Cu	Ni
	----- ppm -----				
LB1 (Asperjada)	64.58	26.23	32.10	2.65	3.63
LB1 (Inoculada)	81.56	38.05	32.53	4.08	4.24
LB1 (A+I)	96.72	35.00	41.78	3.19	4.74
NFB2 (Asperjada)	60.16	35.84	37.60	4.43	4.15
NFB2 (Inoculada)	95.28	42.92	37.89	3.72	4.30
NFB2 (A+I)	165.56	46.45	15.28	4.82	4.58
KB3 (Asperjada)	81.05	50.08	10.05	4.60	5.05
KB3 (Inoculada)	52.81	27.60	11.46	3.62	4.49
KB3 (A+I)	47.03	22.76	13.96	8.96	5.11
KB4 (Asperjada)	38.19	25.44	14.50	3.86	4.66
KB4 (Inoculada)	75.88	31.71	17.47	21.46	4.81
KB4 (A+I)	103.78	43.45	21.50	4.64	5.22
Testigo sin inocular	36.29	22.12	15.71	3.69	5.08
Solución Nutritiva	75.42	50.99	31.03	3.85	5.49
Solución Buffer	27.13	21.54	12.68	3.15	5.20

A+I= Asperjada + inoculada

Cuadro 4.10. Análisis de varianza del comportamiento microbiológico UFC en plántulas de tomate inoculadas con PGPR

FV	DF	SC	CM	F	PF
BACT	6	3.6026	6.0043	19.53	<.0001***
SUP	1	4.4484	4.4484	1.45	0.2391NS
BACT*SUP	6	2.0675	3.4459	11.21	<.0001***
CONTRASTE					
LB1, NFB2, KB3, KB4 & B, SN, SB	1	2.1476	2.1476	69.84	<.0001***
LB1, NFB2& KB3, KB4	1	4.2442	4.2442	13.80	0.0009*

***= diferencia altamente significativa *= diferencia significativa NS= no significativo