

***Pseudomonas fluorescens* UM270 promueve el crecimiento y producción en tomate de cáscara**

Francisco Villaseñor-Tulais¹
Selene Hernández-Muñoz¹
Martha Elena Pedraza-Santos¹
Ana Tztziqui Chávez-Bárceñas¹
Gustavo Santoyo²
Ma. del Carmen Orozco-Mosqueda^{3§}

¹Facultad de Agrobiología 'Presidente Juárez'-Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Paseo Lázaro Cárdenas 2290, Emiliano Zapata, Uruapan, Michoacán, México. CP. 60170. (1153474b@umich.mx; shernandez@umich.mx; martha.elena.pedraza@umich.mx; tztziqui.chavez@umich.mx). ²Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas-Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Av. Universidad s/n, Edif. B-3, Ciudad Universitaria, Morelia, Michoacán, México. CP. 58030. (gustavo.santoyo@umich.mx). ³INBYTA Laboratorio, Departamento de Ingeniería Bioquímica y Ambiental-Tecnológico Nacional de México. Celaya, Guanajuato, México. CP. 38010.

§Autora para correspondencia: carmen.orozco@itcelaya.edu.mx.

Resumen

Una de las estrategias agroecológicas que aumenta la producción agrícola es el uso de inoculantes bacterianos, los cuales carecen de los efectos tóxicos que tienen los agroquímicos. En este trabajo se evaluó el efecto de la inoculación de la rizobacteria promotora del crecimiento vegetal *Pseudomonas fluorescens* UM270 sobre el ciclo de cultivo de plantas de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa*) en condiciones de campo (riego) en el año 2019. Los resultados mostraron que las plantas inoculadas con la rizobacteria UM270 exhibieron efectos significativos en la altura de las plantas (14.64%), el diámetro de tallo (17.74%), el índice de biovolumen (35.14%) y la producción de frutos cuajados en 65.54%. Esto sugiere que la cepa *P. fluorescens* UM270 es un excelente bioinoculante que mejora la producción del cultivo de tomate de cáscara bajo condiciones de campo.

Palabras clave: *Physalis ixocarpa*, *Pseudomonas fluorescens*, agroquímicos, rizobacterias.

Recibido: mayo de 2023

Aceptado: junio de 2023

El tomatillo o tomate de cáscara (*Physalis* spp.) es un cultivo de importancia forrajera, medicinal, ornamental, industrial y para consumo humano e incluye alrededor de 100 especies distribuidas en el continente americano (Santiaguillo-Hernández y Blas-Yáñez, 2009). México es considerado el centro de domesticación de este género (Engels *et al.*, 2006), donde hay alrededor de 70 especies silvestres, aunque *Physalis ixocarpa* Brot. Ex Horm (= *P. philadelphica* Lam.) y *P. angulata* son cultivadas con fines comestibles. El cultivo de *P. angulata* se restringe al estado de Jalisco y el de *P. ixocarpa* está extendido en diversas regiones del país (Caballero-Salinas *et al.*, 2020).

El cultivo de tomate de cáscara tiene gran importancia económica en nuestro país; sin embargo, es seriamente afectado por diversos patógenos (Ayala-Armenta *et al.*, 2020). Por tales motivos, es importante explorar otras opciones ecológicas que no involucren el uso y aplicación de fertilizantes minerales o pesticidas sintéticos. Una de las opciones es el uso de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV). Las BPCV son capaces de formar asociaciones estrechas con las plantas, ya sea a través de la colonización de las raíces (rizósfera), los tejidos internos (endósfera) o las superficies de tejidos aéreos (filósfera) (Orozco-Mosqueda y Santoyo, 2021).

Al formar parte del microbioma vegetal, las BPCV pueden producir antibióticos, enzimas líticas, entre otros metabolitos como sideróforos, compuestos volátiles orgánicos, entre otros, para inhibir el crecimiento de los patógenos potenciales (Orozco-Mosqueda *et al.*, 2023). Otras actividades benéficas de las BPCV incluyen la mejora de la nutrición vegetal a través de la solubilización de nutrientes, así como la inducción del sistema inmune de la planta. Una de las especies más utilizadas en el biocontrol de patógenos y la promoción del crecimiento vegetal es *Pseudomonas fluorescens* (Garrido-Sanz *et al.*, 2016).

Por ejemplo, la cepa *P. fluorescens* UM270 ha sido ampliamente caracterizada como biocontroladora de hongos patógenos y promotora del crecimiento de plantas, incluyendo a *M. truncatula* y *P. ixocarpa* (Hernández-León *et al.*, 2015; Rojas-Solis *et al.*, 2016). Sin embargo, los trabajos anteriores han sido realizados *in vitro*, pweo no en campo. Así, en este estudio se hipotetiza que la inoculación de *P. fluorescens* UM270 durante un ciclo de crecimiento de plantas de tomate de cáscara mejora significativamente diversos parámetros fitométricos y de producción bajo condiciones de campo.

Un total de 120 semillas de tomate de cáscara o tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot. ex Horm) fueron colocadas en charolas de germinación e irrigadas con agua corriente. El trasplante de las plántulas se llevó a cabo 22 días después, la siembra se realizó en un suelo tipo franco-arenoso. El experimento se llevó a cabo de los meses de septiembre a diciembre de 2019, en una parcela ubicada en la comunidad de Uruapan, Michoacán, cuya localización geográfica es la siguiente: 19° 25' 37.9'' latitud norte 102° 01' 24.3'' longitud oeste. Las propiedades fisicoquímicas del suelo fueron analizadas en el INIFAP-Celaya, con las siguientes características: el suelo es de tipo franco, con 53.48% arena, 19.60% arcilla y 26.92% de limo, y un pH de 6.32. Cabe destacar que durante el experimento no se adicionaron fertilizantes minerales. El diseño del experimento consistió en bloques al azar con n= 24 plantas (unidades experimentales) por cada tratamiento (plantas testigo sin inoculación bacteriana y plantas + inoculadas con la cepa UM270).

La cepa fue crecida en cajas Petri con agar nutritivo a 28 °C durante 24 h. Posteriormente, se aisló y creció una colonia en un matraz con 250 ml de caldo nutritivo con agitación constante (250 rpm) hasta tener una densidad óptica de 1×10^6 unidades formadoras de colonia (UFC ml⁻¹). El

sobrenadante fue retirado con ayuda de una centrífuga (a 5 000 rpm durante 5 min) y el pellet bacteriano se diluyó en una solución estéril de MgSO₄ (10 mM). Los inóculos preparados fueron evaluados nuevamente para conocer su viabilidad celular. Para la inoculación en campo, cada planta fue inoculada en la periferia de la raíz con un inóculo bacteriano de 50 ml con aproximadamente 1×10^6 UFC ml⁻¹.

La bioinoculación se inició el día del trasplante y se repitió semanalmente con un total de 11 aplicaciones. Las plantas testigo sin inocular, así como las inoculadas con la cepa UM270 fueron irrigadas por aspersión adicionalmente con agua corriente cada semana. Los datos que se presentan para su análisis corresponden a las mediciones de la semana 12 posterior al trasplante. Todos los datos fueron procesados en el programa social science statistics con una prueba de *t* para medias independientes ($p < 0.05$) (Social Science Statistics, 2018).

El Cuadro 1 muestra las diferencias significativas con un promedio de altura de 70.7 cm en las plantas testigo y 81.16 cm para aquellas inoculadas con la cepa UM270, lo cual corresponde a un incremento de 14.64% en la altura de las plantas de tomate inoculadas. Estos datos concuerdan con los publicados por Rojas *et al.* (2016) donde observan un aumento en el tamaño de plantas de tomate inoculadas con la cepa UM270 en experimentos *in vitro*. Sin embargo, difieren de los resultados obtenidos por Rocha-Granados *et al.* (2019) realizados en plantas de *Casuarina equisetifolia* inoculadas con varias cepas (por ejemplo, *Bacillus* spp.), entre ellas la UM270, la cual no mostró actividad de promoción de crecimiento en dicha especie vegetal.

La aplicación de *Pseudomonas fluorescens* UM270 modificó el grosor del tallo en las plantas, al final del experimento se observaron diferencias estadísticas significativas, con promedios de 5.9 mm de grosor en las plantas testigo y 6.9 mm en las inoculadas con UM270 para la semana 11. Mientras que para la semana 12 los datos fueron de 6.2 mm para las plantas testigo y 7.3 mm para las inoculadas con la UM270 (17.74%) (Cuadro 1). Resultados similares han sido reportados por Patel *et al.* (2019), en donde observan mayor grosor de tallo en plantas de caña de azúcar inoculadas con cepas de *Ochrobactrum intermedium* (TRD14), *Acinetobacter* sp. (PK9) y *Bacillus* sp. (RSC29 and KR91), en comparación con las plantas sin inocular. Esto indica que de alguna manera la PGPB induce mayor grosor del tallo, puesto que las plantas al ser más grandes desarrollan un tallo más vigoroso.

Cuadro 1. Parámetros fitométricos evaluados en plantas de tomate de cáscara inoculadas con la cepa UM270 de *Pseudomonas fluorescens* comparadas con el testigo sin inocular.

Parámetros fitométricos evaluados	Plantas testigo	Plantas + UM270	Incremento (%)
Altura de planta (cm)	70.7	81.16*	14.64
Diámetro de tallo (mm)	6.2	7.3*	17.74
Índice de biovolumen	44	59.6*	35.14
Peso fresco total de planta (g)	76.75	196.25*	155.7

*= indica diferencia estadística significativa $p < 0.05$ prueba de *t*.

El índice de biovolumen es una medida de la promoción del crecimiento de las plantas, que relaciona la altura de estas y el grosor del tallo (Flores *et al.*, 2020). La inoculación de *P. fluorescens* UM270 en plantas de tomate de cáscara, mostró diferencias estadísticamente

significativas en la variable índice de biovolumen, con un promedio de 44.10 para las plantas testigo respecto a 59.62 para las plantas inoculadas con la UM270. En porcentaje, el índice de biovolumen incrementó 35.14% en las plantas inoculadas.

En la Figura 1, se muestran plantas representativas sin inocular e inoculadas con la cepa UM270. La prueba estadística muestra diferencias significativas en peso fresco de planta. Los valores para las plantas testigo (sin inocular) fue en promedio de 76.75 g, mientras que para las plantas inoculadas con UM270 alcanzó un promedio de 196.25 g. Estos datos se relacionan con los presentados por Rojas-Solis *et al.* (2016) para UM270, donde se observan capacidades de promoción de crecimiento en plantas de tomate. Los autores llevaron a cabo estos experimentos en invernadero y en coinoculación con la cepa de *Bacillus thuringiensis* UM96. Sin embargo, cuando inocularon únicamente la cepa UM270, identificaron mayor peso fresco y seco en las plantas.



Figura 1. Plantas representativas de tomate de cáscara inoculadas con la cepa UM270 de *Pseudomonas fluorescens* comparadas con el testigo (sin inocular).

Con base en los antecedentes de la cepa y los resultados reportados en este trabajo, se propone que el efecto de los compuestos orgánicos volátiles producidos por la cepa, la capacidad de sintetizar sideróforos o incluso a la actividad de la enzima ACC desaminasa para bajar los niveles de etileno en plantas (Hernández-León *et al.*, 2015), podrían estar estimulando el crecimiento de las plantas de tomate de cáscara en campo.

El último parámetro evaluado fue conocer si la inoculación de UM270 representa una ventaja para incrementar la producción de tomate en campo, por lo que se llevó a cabo el conteo del número de frutos producidos en las plantas de tomate. Así, la aplicación de *P. flourescens* UM270 mostró un incremento significativo en la producción de frutos cuajados por planta, con un total de 2 205, en comparación con las plantas testigo, cuya producción fue de 1332 frutos (Figura 2).

Este resultado significa un incremento en la producción de 65.54% en las plantas inoculadas con la cepa UM270. Cabe hacer la aclaración que en estos experimentos no se agregaron fertilizantes químicos, solo los nutrientes que había en el suelo y el efecto nutricional que mejoró en las plantas por la inoculación con la cepa UM270. Cabe destacar que otras cepas benéficas de bacterias como *Atlantibacter* sp. también han mostrado efectos benéficos en la mejora de la nutrición de plántulas de tomate (*Physalis ixocarpa*), incrementando algunos elementos como el K, Ca y Mg (Ramírez-Cariño *et al.*, 2023).

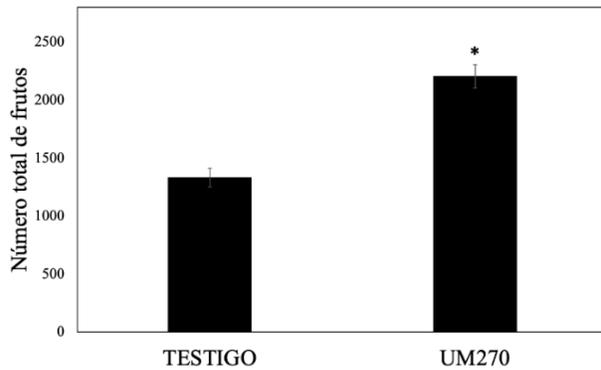


Figura 2. Frutos totales cosechados de plantas inoculadas con la cepa UM270 de *Pseudomonas fluorescens* y comparados con los cosechados de las plantas testigo sin inocular. El asterisco (*) indica diferencia estadística significativa $p < 0.05$ prueba de *t*.

Recientemente, Aguirre-Medina y Espinosa (2016), mencionan que la inoculación de una cepa de *Pseudomonas fluorescens* incrementa el número de frutos producidos en *Capsicum annuum* L. comparados con los testigos sin inocular. Castro-Barquero *et al.* (2015), también reportan que la inoculación de una cepa de *Pseudomonas* logró aumentar la biomasa en el cultivo de tomate comparada con el testigo sin inocular.

Conclusiones

La inoculación de la cepa UM270 de *P. fluorescens* estimuló el crecimiento de *Physalis ixocarpa* y la producción de frutos en campo, lo que sugiere que esta cepa podría ser utilizada como una alternativa sustentable en el cultivo de esta hortaliza.

Bibliografía

- Aguirre-Medina, J. F. y Espinosa, M. J. A. 2016. Crecimiento y rendimiento de *Capsicum annuum* L. inoculado con endomicorriza y rizobacterias. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 7(7):1539-1550. Doi: <https://doi.org/10.29312/remexca.v7i7.148>.
- Ayala-Armenta, Q. A.; Tovar-Pedraza, J. M.; Apodaca-Sánchez, M. A.; Correia, K. C.; Saucedo-Acosta, C. P.; Camacho-Tapia, M. and Beltrán-Peña, H. 2020. Phylogeny and pathogenicity of soilborne fungi associated with wilt disease complex of tomatillo (*Physalis ixocarpa*) in northern Sinaloa, Mexico. *Eur. J. Plant Pathol.* 157(4):733-749. <https://doi.org/10.1007/s10658-020-02030-9>.
- Caballero-Salinas, J. C.; Ovando-Salinas, S. G.; Núñez-Ramos, E. y Aguilar-Cruz, F. 2020. Sustratos alternativos para la producción de plántulas de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) en Chiapas. *Siembra.* 7(2):14-21. <https://doi.org/10.29166/siembra.v7i2.1916>.
- Castro-Barquero, L.; Murillo-Roos, M.; Lorío, L. U. y Mata-Chinchilla, R. 2015. Inoculación al suelo con *Pseudomonas fluorescens*, *Azospirillum oryzae*, *Bacillus subtilis* y microorganismos de montaña (mm) y su efecto sobre un sistema de rotación soya-tomate bajo condiciones de invernadero. *Agron. Costarricense.* 39(1):21-36. <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/agrocost/article/view/21787/21990>.

- Engels, J. M. M.; Ebert, A. W.; Thormann, I. and De Vicente, M. C. 2006. Centers of crop diversity and/or origin, genetically modified crops and implications for plant genetic resources conservation. *Genetic Res. Crop Evol.* 53(8):1675-1688. <https://doi.org/10.1007/s10722-005-1215-y>.
- Flores, A.; Diaz, Z. J. T.; Orozco, M. M del C.; Chávez, A.; Santos, V. S.; Valencia, C. E. and Santoyo, G. 2020. Bridging genomics and field research: draft genome sequence of *Bacillus thuringiensis* CR71, an endophytic bacterium that promotes plant growth and fruit yield in *Cucumis sativus* L. *3 Biotech.* 10(220):1-7. <https://doi.org/10.1007/s13205-020-02209-1>.
- Garrido-Sanz, D.; Meier-Kolthoff, J. P.; Göker, M.; Martín, M.; Rivilla, R. and Redondo-Nieto, M. 2016. Genomic and genetic diversity within the *Pseudomonas fluoresces* complex. *PLoS ONE.* 11(2):1-30. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0150183>.
- Hernández-León, R.; Rojas-Solís, D.; Contreras-Pérez, M.; Orozco-Mosqueda, M. D. C.; Macías-Rodríguez, L. I.; Reyes-Cruz, H.; Valencia-Cantero, E. and Santoyo, G. 2015. Characterization of the antifungal and plant growth-promoting effects of diffusible and volatile organic compounds produced by *Pseudomonas fluorescens* strains. *Biol. Control.* 81(2):83-92. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2014.11.011>.
- Orozco-Mosqueda, M. del C. and Santoyo, G. 2021. Plant-microbial endophytes interactions: Scrutinizing their beneficial mechanisms from genomic explorations. *Current Plant Biol.* 25(1):100189. <https://doi.org/10.1016/j.cpb.2020.100189>.
- Orozco-Mosqueda, M.; Santoyo, G. and Glick, B. R. 2023. Recent advances in the bacterial phytohormone modulation of plant growth. *Plants.* 12(3):606. <https://doi.org/10.3390/plants12030606>.
- Patel, P.; Shah, R.; Joshi, B.; Ramar, K. and Natarajan, A. 2019. Molecular identification and biocontrol activity of sugarcane rhizosphere bacteria against red rot pathogen *Colletotrichum falcatum*. *Biotechnology Reports.* 21(1):1-8. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00317>.
- Ramírez-Cariño, H. F.; Morales, I.; Guadarrama-Mendoza, P. C.; González-Terreros, E.; Martínez-Gutiérrez, G. A.; Dunlap, C. A. and Valadez-Blanco, R. 2023. Biofertilizing effect of putative plant growth promoting *rhizobacteria in vitro* and in tomatillo seedlings (*Physalis ixocarpa* Brot.). *Sci. Hortic.* 308(2):111567. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2022.111567>.
- Rocha-Granados, M. A. D. C.; Cubillo-Constantino, M. A.; Delgado-Valerio, P.; García-Magaña, J. y Santoyo, G. 2019. Aumento de tolerancia de *Casuarina equisetifolia* a cloruro de sodio mediado por *Pseudomonas fluorescens*. *Bioteconología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial.* 17(2):15-23. Doi: <http://dx.doi.org/10.18684/bsaa.v17n2.1249>.
- Rojas-Solis, D.; Hernandez-Pacheco, C. E. and Santoyo, G. 2016. Evaluation of *Bacillus* and *Pseudomonas* to colonize the rhizosphere and their effect on growth promotion in tomato (*Physalis ixocarpa* Brot. ex Horm.). *Rev. Chapingo Ser. Hortic.* 22(1):45-57. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2015.06.009>.
- Santiago-Hernández, J. F. y Blas-Yáñez, S. 2009. Aprovechamiento tradicional de las especies de *Physalis* en México. *Rev. Geogr. Agríc.* 43(2):81-86. <http://hdl.handle.net/20.500.11799/39862>.