

Efecto de la inoculación de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal de tomate en condiciones de casa sombra comercial

Rubén Palacio-Rodríguez
Benjamín Nava-Reyes
Homero Sánchez-Galván
Jesús Josafath Quezada-Rivera
Jorge Sáenz-Mata[§]

Laboratorio de Ecología Microbiana-Facultad de Ciencias Biológicas-Universidad Juárez del Estado de Durango. Av. Universidad s/n, Fracc. Filadelfia, Gómez Palacio, Durango, México. CP. 35010. (biol.palacio@hotmail.com; nareb1202@hotmail.com; sanchezgh@ujed.mx; biologo.josafath@gmail.com).

[§]Autor para correspondencia: jsaenz-mata@ujed.mx.

Resumen

En el presente estudio, se evaluó el efecto de la inoculación de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (bacterias que habitan en las raíces que promueven el crecimiento vegetal a través de diversos mecanismos, comúnmente conocidas por el acrónimo PGPR del inglés Plant Growth Promoting Rhizobacteria); LBEndo1 (*Bacillus paralicheniformis*), NFbEndo2M2 (*Acinetobacter guillouiae*), KBEndo3 (*Aeromonas caviae*) y KBecto4 (*Pseudomonas lini*) en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L. cv 'Top1182') en dos preparaciones de suelo y el uso de composta en condiciones de casa sombra comercial. El peso radicular de la planta de tomate aumentó significativamente por la inoculación con las cepas LBEndo1 y KBecto4, 119.3 y 81.9%, respectivamente, en condiciones de suelo plano compostado en comparación con plantas de tomate de control no inoculadas. Los tratamientos con PGPR también incrementaron el número de frutos por planta en ambas preparaciones de condición de suelo. KBecto4 fue el tratamiento con el mayor número de frutos con 23 tomates planta⁻¹, en comparación con 18.6 frutos planta⁻¹ del control no inoculado en condiciones de suelo plano compostado. El rendimiento y los rendimientos comercializables también fueron mejorados por la inoculación de las cepas LBEndo1 y KBecto4 en ambas preparaciones de suelo. Las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal y el uso de fertilizantes orgánicos tienen el potencial de ser útiles bajo la producción en casa sombra y son una alternativa viable para mejorar el rendimiento del tomate.

Palabras clave: composta, cultivo protegido, PGPR, rendimiento, tomate.

Recibido: abril de 2022

Aceptado: agosto de 2022

Introducción

La producción de frutos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es uno de los cultivos vegetales consumidos más importantes a nivel mundial. Las plantas de tomate se caracterizan por un rápido crecimiento y altos rendimientos. Nutricionalmente, los frutos de tomate son ricos en antioxidantes como vitamina C, licopeno y carotenos, así como minerales, azúcares y fibras que desempeñan un papel importante en la salud humana (Dumas *et al.*, 2003; Naika *et al.*, 2005; Nzanza *et al.*, 2012). El invernadero, la casa sombra o los cultivos protegidos son alternativas para usar el suelo, el agua y otros recursos de manera más eficiente; además, es la mejor alternativa para la producción de tomate en cantidad y calidad porque el proceso es limpio y libre de plagas de insectos y enfermedades (Gruda 2005; Mahajan y Singh, 2006; Cervantes-Vázquez *et al.*, 2021).

Actualmente se aplican millones de toneladas de fertilizantes químicos a los cultivos para mejorar el rendimiento; sin embargo, la efectividad es disminuida por los excesos en los usos de fertilizantes. También es importante destacar los efectos negativos de los fertilizantes en el medio ambiente debido a la contaminación del suelo y las aguas subterráneas (Ayala y Prakasa-Rao, 2002; Son *et al.*, 2006; Pastor *et al.*, 2014). Otro factor limitante en la productividad de los cultivos es el déficit hídrico, en especial en regiones áridas y semiáridas (Armada *et al.*, 2014).

Por lo tanto, es necesario buscar alternativas para incrementar el rendimiento y la calidad de los cultivos sin afectar el medio ambiente y reducir el uso de agua en los cultivos protegidos (Kumari *et al.*, 2019). El uso de microorganismos beneficiosos del suelo y la rizosfera para aumentar la capacidad de absorción de nutrientes y agua y el uso eficiente por parte de las plantas cultivadas es una gran posibilidad potencial. Los biofertilizantes como las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR, del inglés Plant Growth Promoting Rhizobacteria) son un manejo factible para el incremento del rendimiento de los cultivos (Mena-Violante y Olalde-Portugal, 2007; Armada *et al.*, 2014; Ruzzi y Aroca, 2015). Las PGPR pueden ejercer un efecto beneficioso en las plantas por medio de numerosos mecanismos implicados en mejorar el crecimiento, estos mecanismos son la protección contra fitopatógenos (hongos, bacterias, nematodos, etc.), mejorando la disponibilidad de nutrientes para la planta hospedera, disminuyendo la producción de etileno o mejorando compuestos estimulantes, como las fitohormonas (Gravel *et al.*, 2007; Copetta *et al.*, 2011).

Los ensayos para determinar la capacidad de incremento del crecimiento se controlan fácilmente en condiciones estériles *in vitro*, pero en condiciones no controladas no estériles de suelo (maceta, agricultura protegida y agricultura abierta), las PGPR inoculadas perdieron el efecto de promoción del crecimiento al competir con la microbiota del suelo. A pesar de esto, hay varios ejemplos de crecimiento e incremento del rendimiento en verduras, cultivos frutales y plantas con flores. Recientemente se revisó el efecto positivo de las PGPR en horticultura (Ruzzi y Aroca, 2015).

La producción de tomate en el norte de México es casi exclusivamente en cultivo protegido ya que predominan las condiciones áridas y semiáridas. La producción de tomate para permitir la producción de invierno en México y el potencial de ser un proveedor durante todo el año de América del Norte (Cook y Calvin, 2005). Los suelos áridos y semiáridos se caracterizan por la falta de estructura y materia orgánica. Las aplicaciones de enmiendas orgánicas (humus, composta, nutrientes, etc.) no solo mejoran la estructura del suelo, sino que también aumentan las actividades microbianas (Trejo *et al.*, 2012; López *et al.*, 2013; Armada *et al.*, 2014).

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la inoculación de cuatro cepas de PGPR en plantas y rendimiento de frutos de tomate en condiciones de casa sombra; además, para comparar el efecto de las preparaciones del suelo y el uso de composta, analizamos el crecimiento de las plantas y el rendimiento de frutos de tomate.

Materiales y métodos

Cepas de PGPR y medios de cultivo

Las cepas de PGPR se aislaron de la rizosfera del pasto halófito *Distichlis spicata* L. Las cepas bacterianas utilizadas fueron: LBEndo1, NFbEndo2M2, KBEndo3 y KBecto4. Las cepas LBEndo1, KBEndo3 y KBecto4 se caracterizaron como PGPR, estas cepas mejoraron el crecimiento en condiciones estándar y salinas, que se correlacionó con la producción de AIA y sideróforos, así como la solubilización de fosfato (Palacio-Rodríguez, 2015; Espinosa-Palomeque *et al.*, 2017; Palacio-Rodríguez *et al.*, 2017; González-Rodríguez *et al.*, 2018; Espinosa-Palomeque *et al.*, 2019). El stock de cepas de PGPR se almacenó a -70 °C en glicerol al 30% y antes de utilizarse se cultivaron a 30 °C y 180 rpm durante la noche en caldo Luria. Las suspensiones bacterianas se ajustaron a 1×10^8 UFC ml^{-1} antes de realizar las inoculaciones a las plantas.

Experimentos en casa sombra

Los experimentos se realizaron en las casas sombra comerciales de la empresa ‘Agrícola Vigo’, Ejido El Pilar, Matamoros, Coahuila. El sitio está ubicado a 25° 72’ 38.33” latitud norte, 103° 32’ 73.08” longitud oeste. Se germinaron semillas de tomate (*Solanum lycopersicum* L. cv ‘Top1182’) en charolas de trasplante (200 celdas piramidales invertidas de 2.5 x 6.5 cm, longitud lateral x profundidad) llenas de peat moss (Lambert peat moss, Inc, Quebec, Canadá). 43 días después de la germinación, las plántulas se inocularon por inmersión con suspensión bacteriana de 1×10^8 UFC ml^{-1} una por una. Después de tres días de inoculación, las plantas se trasplantaron a casa sombra.

El diseño experimental en la casa sombra se dividió en dos condiciones según la preparación del suelo (caracterizado por ser un suelo arcilloso): la primera, el suelo plano se enriqueció con fibra de coco (15 kg m^{-2}) y estiércol de ganado compostado (12.5 kg m^{-2}), hubo cuatro repeticiones de 200 plantas de tomate por cada PGPR inoculada, más una hilera de control con 200 plantas de tomate sin inocular. Para la segunda condición se utilizaron camas de suelo (30 cm de altura), cuatro repeticiones de 200 plantas de tomate por cada PGPR inoculada, más una hilera de control con 200 plantas de tomate sin inocular.

Cuadro 1. Tratamientos divididos en dos grupos (diez tratamientos): suelo plano y camas de suelo, cada grupo tuvo los tratamientos: control, LBEndo1, NFbEndo2M2, KBEndo3 y KBecto4. Todos los tratamientos tuvieron cuatro repeticiones.

	Suelo plano	Suelo de camas
Sin inocular	Control	Control
Inoculado	LBEndo1	LBEndo1
Inoculado	NFbEndo2M2	NFbEndo2M2
Inoculado	KBEndo3	KBEndo3
Inoculado	KBecto4	KBecto4

Todas las plantas de tomate se plantaron en hileras con 18 cm entre plantas de tomate y 1.8 m entre hileras. Las plantas de tomate se regaron por goteo con una solución de fertilizante que contenía (mg L^{-1}): N 2 311, Ca 626, Mg 1 158, K 723 y micronutrientes 15. Las plantas se reinocularon dos meses después de la primera inoculación al comienzo de la etapa de floración (63 días después del trasplante en casa sombra), la segunda inoculación se realizó utilizando una aspersora manual de mochila de 20 L con 40 ml de 1×10^8 UFC ml^{-1} de cada suspensión bacteriana por planta de tomate.

Parámetros biométricos y rendimientos de tomate

Durante el experimento se tomaron dos muestras, el efecto de PGPR en el crecimiento de la planta se determinó en el primer muestreo; se cosecharon tres plantas por tratamiento y se midió la longitud del brote, peso fresco de la raíz, diámetro del tallo, peso del fruto y número de frutos planta^{-1} después de 59 días del trasplante a casa sombra (62 días después de la primera inoculación).

La evaluación del rendimiento y la calidad se determinó en el segundo muestreo, 87 días después del trasplante a la casa sombra (90 días después de la primera inoculación). Se muestrearon aleatoriamente 20 frutos rojos de tomate del total de la cosecha por tratamiento. El tamaño del fruto se determinó midiendo el peso fresco y el diámetro ecuatorial de 20 frutos rojos cosechados. El diámetro ecuatorial de los frutos de tomate se midió con un calibrador (Scala, Inox 222B, México) y se dividió en cuatro categorías de clasificación comercializable: extragrande (>67 mm), grande (54-67 mm), mediano (47-54 mm) y pequeño (<47 mm) según la escala de Jones (1999). Dos de 20 frutos se cortaron por el diámetro ecuatorial para examinar el tamaño y la apariencia interna.

Cuadro 2. Momento en el que se tomaron los parámetros biométricos de longitud del brote, peso fresco de la raíz, diámetro del tallo, peso del fruto, número de frutos por planta, rendimiento y calidad del fruto.

Longitud del brote	Diámetro del tallo	Peso fresco de la raíz	Peso del fruto	Número de frutos por planta	Rendimiento	Calidad del fruto
62 días después de la primera inoculación	62 días después de la primera inoculación	62 días después de la primera inoculación	62 días después de la primera inoculación	62 días después de la primera inoculación	90 días después de la primera inoculación	90 días después de la primera inoculación

Análisis estadístico

Los datos se obtuvieron bajo un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones. Los datos de los parámetros medidos se analizaron mediante el análisis de varianza Anova con la ayuda del complemento XLSTAT del software Microsoft Excel. Las medias se analizaron mediante diferencia mínima significativa (DMS) a $p \leq 0.05$.

Identificación molecular de PGPR por ARNr 16S

Las cuatro rizobacterias se identificaron mediante análisis molecular, las rizobacterias LBEndo1 y KBecto4 se reportaron en Palacio-Rodríguez *et al.* (2017). Las rizobacterias NFbEndo2M2 y KBEndo3 se sometieron a un análisis de secuencia del gen ARNr 16S. El ADN se extrajo mediante la técnica CTAB según el método de Doyle y Doyle (1990). La amplificación parcial del gen ARNr 16S se realizó mediante la técnica de PCR utilizando los oligonucleótidos 27F

5'AGAGTTTGATCMTGGCTCAG 3' y 1492R 5'GGTTACCTTGTTACGACTT 3', el producto de PCR se purificó utilizando el kit AxyPrep DNA gel Extraction kit (Axygen) y luego se envió para ser secuenciado a McLAB en San Francisco, CA, EE. UU. Las secuencias obtenidas de la secuenciación se compararon utilizando Blast (NCBI) (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) para determinar la taxonomía de las cepas bacterianas (Weisburg *et al.*, 1991; Altschul *et al.*, 1997).

Resultados y discusión

Efectos en la promoción del crecimiento de plantas de tomate

En este trabajo se estudió el efecto de cuatro cepas de PGPR en el crecimiento de plantas de tomate en condiciones de casa sombra utilizando suelo plano adicionado con fibra de coco y composta y suelo de camas elevadas sin composta. Se observaron aumentos significativos en el peso fresco de la raíz con las inoculaciones de PGPR, en especial con las cepas LBEndo1 y KBecto4. La inoculación de plantas de tomate con PGPR promovió el crecimiento vegetativo, se observó un aumento del crecimiento en la longitud del brote, el peso de la raíz y el diámetro del tallo.

Aunque no se observaron diferencias marcadas en el aumento de la longitud del brote y el peso de la raíz, el aumento del peso de la raíz por las cepas LBEndo1 y KBecto4 en condiciones de suelo plano compostado, en un 119.3 y 81.9%, respectivamente, en comparación con las plantas de tomate de control no inoculadas (Cuadro 3 y Figura 1). La raíz de las plantas de tomate inoculadas con PGPR mostró que modificaron la arquitectura y aumentaron el crecimiento de las raíces de las plantas (Figura 1). El peso fresco de la raíz aumentó en las plantas de tomate inoculadas con LBEndo1, NFbEndo2M2 y KBecto4 en comparación con los controles no inoculados (Figura 1).

Cuadro 3. Parámetros biométricos de plantas de tomate después de 61 días de inoculaciones de PGPR.

Tratamiento	Longitud del brote (cm)	Diámetro del tallo (cm)	Peso fresco de la raíz (g)	Núm. frutos planta ⁻¹
Suelo plano				
Control	136 ± 6.3 a	1.19 ± 0.011 c	21.7 ± 2.9 c	18.6 ± 1.3 bc
LBEndo1	152.7 ± 5.3 a	1.46 ± 0.06 a	47.6 ± 1.9 a	21.6 ± 0.6 ab
NFbEndo2M2	148.7 ± 3.3 a	1.29 ± 0.047 bc	36.4 ± 3.3 b	20.0 ± 1.1 abc
KBEndo3	137.7 ± 12 a	1.38 ± 0.033 ab	25.4 ± 2.5 c	16.6 ± .7 c
KBecto4	150 ± 5.7 a	1.46 ± 0.024 a	39.4 ± .6 b	23 ± 2.2 a
Suelo de camas elevadas				
Control	137 ± 2.2 a	1.32 ± 0.028 c	13.3 ± 2.4 b	17.3 ± 0.6 c
LBEndo1	129.7 ± 11.3 a	1.39 ± 0.017 bc	27.7 ± 2.7 a	22 ± 1.1 ab
NFbEndo2M2	140.3 ± 4.5 a	1.65 ± 0.056 a	36.6 ± 9 a	20 ± 1.1 bc
KBEndo3	138.7 ± 8.4 a	1.34 ± .045 c	34.0 ± 4.1 a	24.3 ± 1.7 a
KBecto4	146.3 ± 9.6 a	1.47 ± 0.068 b	26.7 ± 3.2 a	21 ± 1.1 b

Valores medios ± EEM; letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

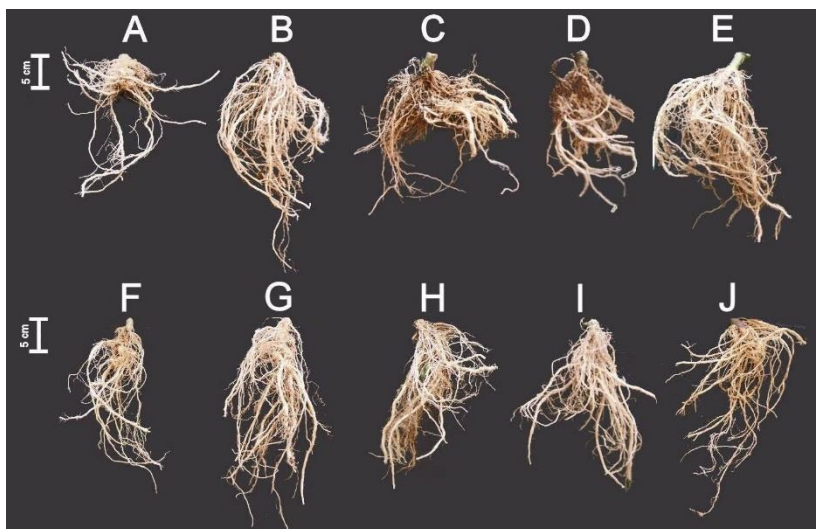


Figura. 1. Sistemas radiculares de plantas de tomate: preparación de suelo plano (A-E) y preparación de suelo de camas elevadas (F-J); control no inoculado (A y F); LBEndo1 inoculado (B y G); NFbEndo2M2 (C y H); KBEndo3 (D e I); y KBecto4 (E y J).

Nuestros resultados concuerdan con Gamalero *et al.* (2002, 2004), quienes trabajaron con *Pseudomonas fluorescens* 92rk y *P. fluorescens* A6RI, incrementaron el peso fresco de la raíz y afectaron la arquitectura de la raíz cuando se inocularon en plantas de tomate. También concuerda con Sharma *et al.* (2015), reportó un aumento significativo de los parámetros de crecimiento de las plantas (longitud y peso del brote y la raíz) en las plántulas de tomate tratadas con *Bacillus subtilis* cepa S25, que es una cepa con actividad antagonista hacia *Phytophthora capsici*.

El diámetro del tallo de las plantas de tomate se incrementó en condiciones de suelo plano compostado por las cepas de PGPR LBEndo1 y KBecto4 en un 22.17 y 22.42%, respectivamente, para las condiciones del suelo de las camas elevadas, la inoculación de las cepas de PGPR NFbEndo2M2 y KBecto4 aumentó significativamente en un 24.71 y 11.11%, respectivamente, en relación con las plantas de control no inoculadas (Cuadro 3). El aumento del diámetro del tallo en las plantas de tomate debido a la inoculación de PGPR concuerda con lo informado por Zulueta-Rodríguez *et al.* (2020), quienes reportaron un aumento evidente de hasta el 15% en el diámetro del tallo en plántulas de tomate inoculadas con *Bacillus subtilis* en un invernadero tipo capilla en condiciones semihidropónicas.

Los tratamientos con PGPR también aumentaron el número de frutos por planta en ambas preparaciones de condición de suelo. KBecto4 fue el tratamiento con el mayor número de frutos con 23 tomates por planta, en comparación con 18.6 frutos por planta del control no inoculado en condiciones de suelo plano compostado. Ya se ha reportado el aumento en el crecimiento de plantas de tomate por inoculaciones de PGPR (Gamalero *et al.*, 2002; 2004; Kokalis-Burelle *et al.*, 2002; Gravel *et al.*, 2007; Mena-Violante y Olalde-Portugal, 2007; Felici *et al.*, 2008; Pastor *et al.*, 2014; Sharma *et al.*, 2015). Hay pocos reportes sobre la evaluación de cultivos en condiciones de casa sombra, Yu *et al.* (2011) informó que *Pseudomonas chlororaphis* y *Pseudomonas fluorescens* aumentaron la absorción de fósforo y nitrógeno, y la altura, el brote y el peso seco de la raíz de las plántulas de nuez en condiciones de casa sombra. Sin embargo, el presente estudio informa por primera vez el efecto de las rizobacterias LBEndo1, NFbEndo2M2, KBEndo3 y KBecto4 en el

crecimiento de plantas de tomate en condiciones comerciales de casa sombra. Además, la preparación del suelo y el fertilizante orgánico agregado también demostraron tener un efecto estimulante sobre el crecimiento en las plantas de tomate.

Rendimiento y fruto de tomate comercializable

Después de 12 semanas de los experimentos en casa sombra, se obtuvo el tamaño y el peso del fruto de tomate de 20 frutos rojos al azar de cada tratamiento y el respectivo control sin inocular de ambas variantes de preparaciones de suelo (suelo plano y camas elevadas). El rendimiento de las plantas de tomate aumentó significativamente en dos de las cuatro cepas de PGPR utilizadas. Como se muestra en el Cuadro 4, las cepas LBEndo1 y KBecto4 tuvieron la capacidad de aumentar el peso del fruto y el diámetro ecuatorial en ambas preparaciones de suelo; camas elevadas y suelo plano suplementado con fertilizante orgánico, donde el aumento de tamaño es más evidente en los frutos de tomate.

El peso promedio de los frutos de tomate por planta tratados con las cepas LBEndo1 (236.27 y 225.8 g correspondientes a un 40.8% y un 48.4%, respectivamente, más que el control) y KBecto4 (240.22 y 211.41 g correspondientes a 43.1% y 38.9%, respectivamente, más que el control) en ambas preparaciones de suelo fue superior a las de otras, incluyendo el control no inoculado (Cuadro 4). Los resultados del presente estudio superan los reportados por Katsenios *et al.* (2021), donde el aumento del peso medio de los frutos de tomate por planta en 30.7, 28.81, 27.52 y 26.78% por la inoculación con *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Priestia megaterium* y *Bacillus licheniformis*, respectivamente, en comparación con el control en el cultivo de tomate industrial.

Cuadro 4. Rendimiento y clasificación de tamaños comercializables de frutos de tomate después de 90 días de inoculaciones con PGPR. Según la escala de Jones (1999), la clasificación comercializable se dividió en: extragrande (>67 mm), grande (54-67 mm), mediano (47-54 mm) y pequeño (<47 mm).

Tratamientos	Peso del fruto (g)	Diámetro ecuatorial (cm)	Clasificación comercializable			
			Extragrande (%)	Grande (%)	Mediano (%)	Pequeño (%)
Suelo plano						
Control	167.8 ±24.7 c	6.5 ±0.37 b	25	75	0	0
LBEndo1	236.2 ±23.4 ab	7.6 ±0.32 a	95	5	0	0
NFbEndo2M2	162.3 ±20.2 c	6.4 ±0.39 b	40	50	10	0
KBEndo3	199.5 ±30.6 abc	7.0 ±0.49 ab	70	20	10	0
KBecto4	240.2 ±34 a	7.6 ±0.5 a	65	35	0	0
Suelo de camas elevadas						
Control	152.2 ± 17.6 b	6.4 ± 0.33 c	40	55	5	0
LBEndo1	225.8 ± 19.5 a	7.4 ± 0.29 a	85	15	0	0
NFbEndo2M2	160.4 ± 17.1 b	6.3 ± 0.3 c	40	55	0	5
KBEndo3	164.6 ± 21.3 b	6.5 ± 0.44 bc	25	65	10	0
KBecto4	211.4 ± 26.3 a	7.1 ± 0.36 ab	70	30	0	0

Valores medios ± EEM para los parámetros del fruto; letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

El diámetro ecuatorial del fruto de tomate en el tratamiento inoculado con LBEndo1 se incrementó 16.4% (7.623 cm) y 15.2% (7.423 cm) en comparación con el control no inoculado (6.545 y 6.445 cm) para suelos planos y camas elevadas, respectivamente (Cuadro 4; Figura 2). Los tratamientos con KBecto4 aumentaron el diámetro ecuatorial en un 16.5% (7.625 cm) y un 11.1% (7.166 cm) en comparación con los controles de las condiciones de suelo plano compostado (6.545 cm) y de suelo de camas elevadas (6.445 cm), respectivamente (Cuadro 4 y Figura 2).

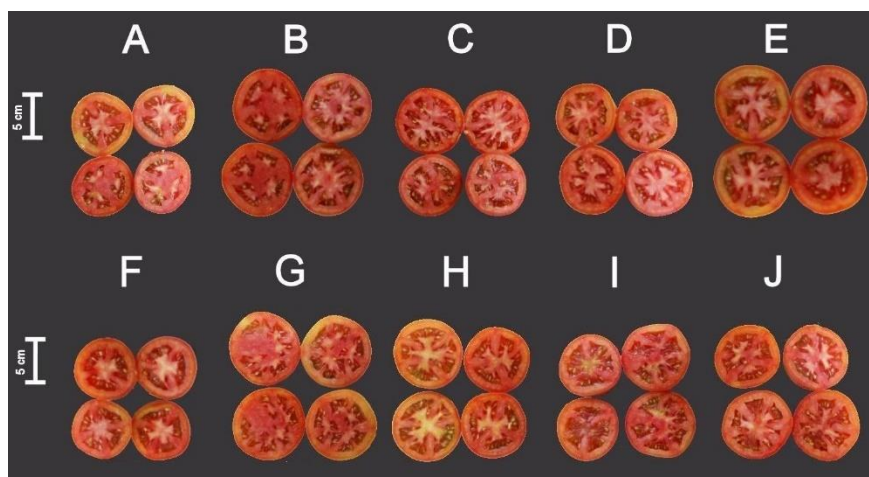


Figura. 2. Frutos de tomate cortados por la mitad: preparación de suelo plano (A-E) y preparación de suelo de camas elevadas (F-J); control no inoculado (A y F); LBEndo1 inoculado (B y G); NFbEndo2M2 (C y H); KBEndo3 (D e I); y KBecto4 (E y J).

Este efecto también se observa en el estudio realizado por Espinosa-Palomeque *et al.* (2017) con las mismas cepas que reportamos aquí en condiciones de invernadero, donde se reportan aumentos en el diámetro ecuatorial de frutos de tomate en el tratamiento con la cepa LBEndo1 correspondiente a *Bacillus paranichelliformis*. Gül *et al.* (2008) reportaron el efecto de dos cepas comerciales de *Bacillus amyloliquefaciens* (FZB24 y FZB42) en el rendimiento de tomate, la aplicación de cualquiera de las cepas aumentó el rendimiento en un 8-9%. De manera similar, se ha reportado un aumento del rendimiento en plantas de tomate inoculadas con PGPR *Bacillus subtilis* BEB-13bs, aumentando el rendimiento y el rendimiento de grado comercializable (21%) en comparación con el control (Mena-Violante y Olalde-Portugal, 2007).

Los rendimientos de los frutos de tomate comercializables aumentaron significativamente en todos los tratamientos de las condiciones del suelo plano compostado en comparación con los frutos de tomate de control y para el suelo de camas elevadas, el LBEndo1 y KBecto4 fueron mayores que los de control no inoculados. De la misma manera que en los parámetros anteriores, el LBEndo1 fue mayor con un 95% (condiciones de suelo plano compostado) y un 85% (condiciones de suelo de camas elevadas) de rendimiento del grado comercializable extragrande (Cuadro 4 y Figura 2). La Figura 2 muestra un fruto de tomate cortado por la mitad por el diámetro ecuatorial, en la que se observa el tamaño del fruto entre tratamientos, los frutos más grandes se observan para LbEndo1 y KBecto4. Aunque no son suficientes los frutos de tomate cortados a la mitad, el número de lóculos es mayor en los tratamientos con PGPR en comparación con los frutos sin inocular; esto es importante en la textura y firmeza de los frutos. Espinosa-Palomeque *et al.* (2017) determinaron la firmeza de frutos de tomate mediante un penetrómetro, encontrando que los tomates de plantas inoculadas tienen mayor firmeza en comparación con los controles sin inoculación.

Identificación de la cepa seleccionada mediante secuenciación del ARNr 16S

Las rizobacterias seleccionadas fueron identificadas mediante amplificación por PCR y secuenciación del gen ARNr 16S. Las rizobacterias LBEndo1 y KBecto4 se reportaron en Palacio-Rodríguez *et al.* (2017). Las rizobacterias NFbEndo2M2 y KBEndo3 se sometieron a análisis de secuencia del gen ARNr 16S. La secuencia parcial del gen ARNr 16S obtenida de la secuenciación fue sometida a análisis de homología en BLAST (NCBI Database), que recupera las posiciones taxonómicas de cepas de rizobacterias, LBEndo1 es como *Bacillus paralicheniformis* con una homología de 96%, NfbEndo2M2 fue de 98% como *Acinetobacter guillouiae*, KBEndo3 tuvo una similitud de 99% con *Aeromonas caviae* y KBecto4 exhibió un 99% de homología con *Pseudomonas lini* (Cuadro 5).

Cuadro 5. Identificación molecular de las rizobacterias LBEndo1, NFbEndo2M2, KBEndo3 y KBecto4 mediante secuencias de ARNr 16S.

ID	Taxón	pb	Identidad (%)	Núm. acceso
*LBEndo1	<i>Bacillus paralicheniformis</i>	563	96	NR-137421.1
NFbEndo2M2	<i>Acinetobacter guillouiae</i>	1 416	98	KJ-147068.1
KBEndo3 KbMtes	<i>Aeromonas caviae</i>	918	99	NR-104824.1
*KBecto4	<i>Pseudomonas lini</i>	1 387	99	NR-099042.2

*= reportado en Palacio-Rodríguez *et al.* (2017).

Conclusiones

En este estudio las mejoras de crecimiento se observaron principalmente en el desarrollo radicular y el aumento del rendimiento del fruto en plantas de tomate mediante la aplicación de las PGPR LBEndo1 y KBecto4 en raíces y se mostraron en un ensayo en casa sombra comercial. Además, el uso de composta y fibra de coco en la preparación de suelo plano mejoró el crecimiento y el rendimiento de las plantas de tomate. En conclusión, las PGPR y el uso de fertilizante orgánico tienen el potencial de ser útiles en la producción en casa sombra y son una alternativa viable para mejorar el rendimiento del tomate. Por lo tanto, el aislamiento, la selección y la evaluación de cepas de PGPR efectivas y eficientes como biofertilizantes deben ser un proceso escalable de ensayos de laboratorio, invernadero y campo.

Agradecimientos

Agradecemos a la empresa ‘Agrícola Vigo’ por permitir la realización de los experimentos en las casas sombra comerciales.

Cited literature

Altschul, S. F.; Madden, T. L.; Schaffer, A. A.; Zhang, J.; Zhang, Z.; Miller, W. and Lipman, D. J. 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res.* 25(17):3389-3402.

- Armada, E.; Portela, G.; Roldán, A. and Azcón, R. 2014. Combined use of beneficial soil microorganism and agrowaste residue to cope with plant water limitation under semiarid conditions. *Geoderma*. 232:640-648.
- Ayala, S. and Prakasa, R. E. V. S. 2002. Perspectives of soil fertility management with a focus on fertilizer use for crop productivity. *Curr Sci India*. 82(7):797-807.
- Cervantes, V. T. J. Á.; Valenzuela, G. A. A.; Cervantes, V. M. G.; Guzmán, S. T. L.; Fortiz, E. L.; Rangel, P. P. and Rueda, P. E. O. 2021. Morphophysiological, enzymatic, and elemental activity in greenhouse tomato Saladette seedlings from the effect of plant growth-promoting rhizobacteria. *Agronomy*. 11(5):1-15.
- Cook, R. and Calvin, L. 2005. Greenhouse tomatoes change the dynamics of the North American fresh tomato industry. Economic Research Service ERR-2. USDA/ERS. Washington. DC. 20-33 pp. <http://www.ers.usda.gov/publications/err2/err2g.pdf>.
- Copetta, A.; Bardi, L.; Bertolone, E. and Berta, G. 2011. Fruit production and quality of tomato plants (*Solanum lycopersicum* L.) are affected by green compost and arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Biosyst*. 145(1):106-115.
- Doyle, J. J. and Doyle, J. L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12:13-15.
- Dumas, Y.; Dadomo, M.; Di-Lucca, G. and Grolier, P. 2003. Effects of environmental factors and agricultural techniques on antioxidant content of tomatoes. *J. Sci. Food Agric*. 85(3):369-382.
- Espinosa, P. B.; Cano, R. P.; Salas, P. L.; García, H. J. L.; Preciado, R. P.; Sáenz, M. J. and Reyes, C. J. L. 2019. Bioinoculantes y concentración de la solución nutritiva sobre la producción y calidad de tomate. *Biotecnia*. 21(3):100-107.
- Espinosa, P. B.; Moreno, R. A.; Cano, R. P.; Álvarez, R. V. P.; Sáenz, M. J.; Sánchez, G. H. y González, R. G. 2017. Inoculación de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal en tomate (*Solanum lycopersicum* L.) cv Afroditá en invernadero. *Terra Latinoam*. 35(2):169-178.
- Felici, C.; Vettori, L.; Giraldi, E.; Forino, L. M. C.; Toffanin, A.; Tagliasacchi, A. M. and Nuti, M. 2008. Single and co-inoculation of *Bacillus subtilis* and *Azospirillum brasilense* on *Lycopersicon esculentum*: effects on plant growth and rhizosphere microbial community. *Appl Soil Ecol*. 40(2):260-270.
- Gamalero, E.; Martinotti, M. G.; Trotta, A.; Lemanceau, P. and Berta, G. 2002. Morphogenetic modifications induced by *Pseudomonas fluorescens* A6RI and *Glomus mosseae* BEG12 in the root system of tomato differ according to plant growth conditions. *New Phytol*. 155(2):293-300.
- Gamalero E.; Trotta, A.; Massa, N.; Copetta, A.; Martinotti, M. G. and Berta, G. 2004. Impact of two fluorescent pseudomonads and an arbuscular mycorrhizal fungus on tomato plant growth., root architecture and P acquisition. *Mycorrhiza*. 14(3):185-192.
- González, R. G.; Espinosa, P. B.; Cano, R. P.; Moreno, R. A.; Leos, E. L.; Sánchez, G. H. y Sáenz, M. J. 2018. Influencia de rizobacterias en la producción y calidad nutracéutica de tomate bajo condiciones de invernadero. *Rev. Mex. Cienc. Agríc*. 9(2):367-379.
- Gravel, V.; Antoun, H. and Tweddell, R. J. 2007. Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: possible role of indole acetic acid (IAA). *Soil Biol. Biochem*. 39(8):1968-1977.
- Gruda N. 2005. Impact of environmental factors on product quality of greenhouse vegetables for fresh consumption. *Crit. Rev. Plant Sci*. 24(3):227-247.

- Gül, A.; Kıdođlu, F.; Tüzel, Y. and Tüzel, I. 2008. Effects of nutrition and *Bacillus amyloliquefaciens* on tomato (*Solanum lycopersicum* L.) growing in perlite. Span J. Agric. Res. 6(3):422-429.
- Jones, J. B. 1999. Tomato plant culture. *In*: in the field, greenhouse, and home garden. CRC Press LLC., Florida. 299 p.
- Katsenios, N.; Andreou, V.; Sparangis, P.; Djordjevic, N.; Giannoglou, M.; Chanioti, S.; Stergiou, P.; Xanthou, M. Z.; Kakabouki, I.; Vlachakis, D.; Djordjevic, S.; Katsaros, G. and Efthimiadou, A. 2021. Evaluation of plant growth promoting bacteria strains on growth, yield and quality of industrial tomato. Microorganisms. 9(10):1-17.
- Kokalis, B. N.; Vavrina, C. S.; Roskopf, E. N. and Shelby, R. A. 2002. Field evaluation of plant growth-promoting rhizobacteria amended transplant mixes and soil solarization for tomato and pepper production in Florida. Plant Soil. 238(2):257-266.
- Kumari B.; Mallick, M. A.; Solanki, M. K.; Solanki, A. C.; Hora, A.; Guo, W. 2019. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): modern prospects for sustainable agriculture. *In*: Ansari, R. and Mahmood, I. (Ed.). Plant health under biotic stress. Springer. Singapore. 109-127 pp. <https://doi.org/10.1007/978-981-13-6040-4-6>.
- López, B. R.; Bashan, Y.; Trejo, A. and de-Bashan, L. E. 2013. Amendment of degraded desert soil with wastewater debris containing immobilized *Chlorella sorokiniana* and *Azospirillum brasilense* significantly modifies soil bacterial community structure., diversity., and richness. Biol. Fert. Soils. 49(8):1053-1063.
- Mahajan, G. and Singh, K. G. 2006. Response of greenhouse tomato to irrigation and fertigation. Agr. Water Manage. 84(2):202-206.
- Mena, V. H. and Olalde, P. V. 2007. Alteration of tomato fruit quality by root inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): *Bacillus subtilis* BEB-13bs. Sci. Hortic. 113(1):103-106.
- Naika, S.; Jeude, J.; Goffau, M.; Hilmi, M. and Dam, B. 2005. Cultivation of tomato: production, processing and marketing. Agromisa Foundation and CTA., Wageningen. The Netherlands. 6-10 pp.
- Nzanza, B.; Marais, D. and Soundy, P. 2012. Response of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) to nursery inoculation with *Trichoderma harzianum* and arbuscular mycorrhizal fungi under field conditions. Acta Agr. Scand B-S P. 62(3):209-215.
- Palacio, R. R.; Coria, A. J. L.; López, B. J.; Sánchez, S. J.; Muro, P. G.; Castañeda, G. G. and Sáenz, M. J. 2017. Halophilic rhizobacteria from *Distichlis spicata* promote growth and improve salt tolerance in heterologous plant hosts. Symbiosis. 73(3):179-189.
- Palacio, R. R. 2015. Caracterización de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal del pasto halófilo *Distichlis spicata* (L.) Poaceae [dissertation]. Gómez Palacio., Durango, México. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Juárez del Estado de Durango. 26-54 pp.
- Pastor, N.; Rosas, S. Luna, V. and Rovera, M. 2014. Inoculation with *Pseudomonas putida* PCI2., a phosphate solubilizing rhizobacterium, stimulates the growth of tomato plants. Symbiosis. 62(3):157-167.
- Ruzzi, M. and Aroca, R. 2015. Plant growth-promoting rhizobacteria act as biostimulants in horticulture. Sci. Hortic. 196:124-134.
- Sharma, R.; Chauhan, A. and Shirkort, C. K. 2015. Characterization of plant growth promoting *Bacillus* strains and their potential as crop protectants against *Phytophthora capsici* in tomato. Biol. Agric. Hortic. 31(4):230-244.

- Son, H. J.; Park, G. T.; Cha, M. S. and Heo, M. S. 2006. Solubilization of insoluble inorganic phosphates by a novel salt- and pH-tolerant *Pantoea agglomerans* R-42 isolated from soybean rhizosphere. *Bio. Technol.* 97(2):204-210.
- Trejo, A.; De-Bashan, L. E.; Hartmann, A.; Hernandez, J. P.; Rothballer, M.; Schmid, M. and Bashan, Y. 2012. Recycling waste debris of immobilized microalgae and plant growth-promoting bacteria from wastewater treatment as a resource to improve fertility of eroded desert soil. *Env. Exp Bot.* 75:65-73.
- Weisburg, W. G.; Barns, S. M; Pelletier, D. A.; David, P. J and Gene, L. 1991. 16s ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *J. Bacteriol.* 173(2):697-703.
- Yu, X.; Liu, X; Zhu, T. H.; Liu, G. H. and Mao, C. 2011. Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria from walnut and their effect on growth and phosphorus mobilization. *Biol. Fert. Soils.* 47(4):437-446.
- Zulueta, R. R.; Hernández, M. L. G.; Reyes, P. J. J.; González, M. G. Y. and Lara, C. L. 2020. Effects of co-inoculation of *Bacillus subtilis* and *Rhizoglosum intraradices* in tomato production (*Solanum lycopersicum* L.) in a semi-hydroponic system. *Rev. Bio. Cienc.* 7:1-17.