

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



LAS RIZOBACTERIAS HALÓFILAS COMO BIOFERTILIZANTES GENERAN  
VENTAJAS PRODUCTIVAS EN LA PRODUCCIÓN AGRÍCOLA

TESIS

Que presenta **VERÓNICA GARCÍA MENDOZA**

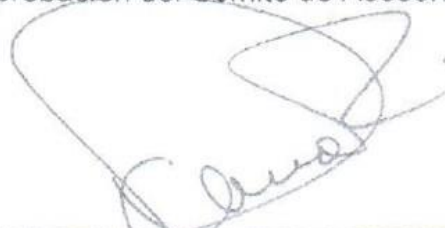
Como requisito parcial para obtener el Grado de  
**DOCTOR EN CIENCIAS AGRARIAS**

Torreón, Coahuila

Diciembre 2019

LAS RIZOBACTERIAS HALÓFILAS COMO BIOFERTILIZANTES GENERAN  
VENTAJAS PRODUCTIVAS EN LA PRODUCCIÓN AGRÍCOLA

Elaborada por VERÓNICA GARCÍA MENDOZA como requisito parcial para  
obtener el grado de Doctor en Ciencias Agrarias con la supervisión y  
aprobación del Comité de Asesoría



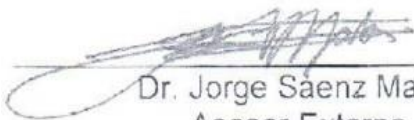
Dr. Pedro Cano Rios  
Asesor Principal



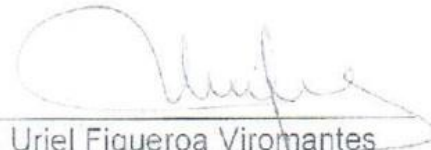
Dr. José Luis Reyes Carrillo  
Asesor



Dr. Héctor Mario Quiroga Garza  
Asesor



Dr. Jorge Sáenz Mata  
Asesor Externo



Dr. Uriel Figueroa Viromantes  
Asesor Externo



Dra. Leticia Romana Gaytán Alemán  
Jefe del Departamento de Postgrado



Dr. Marcelino Cabrera De la Fuente  
Subdirector de Postgrado

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios, por la vida que me presta en esta tierra y la promesa de la vida eterna.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, por los recursos que me brindó para realizar este Doctorado.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por la beca otorgada (No. de registro 89357).

Al Dr. Pedro Cano Ríos, por su apoyo incondicional.

Al comité de asesoría: Dr. Jorge Sáenz Mata, Dr. Uriel Figueroa Viramontes, Dr. José Luis Reyes Carrillo y el Dr. Héctor Mario Quiroga Garza, por sus atinadas recomendaciones en la realización de este trabajo.

Al Dr. Vicente de Paúl Álvarez Reyna por su ayuda en momentos difíciles.

A todos los maestros que compartieron sus conocimientos con una servidora.

A mi Familia, por apoyarme en esta etapa de la vida.

Gracias.

## **DEDICATORIAS**

A todas las personas que directa o indirectamente contribuyeron para la realización de esta tesis.

A todos aquellos que encuentran fascinante el estudio de las ciencias agrarias y buscan la manera de reducir al mínimo los impactos negativos sobre el medio ambiente.

“La tierra desolada será cultivada en vez de ser desolación a la vista de todo el que pasa”.

Ezequiel 36:34

# ÍNDICE

|  |      |
|--|------|
| AGRADECIMIENTOS.....   | iii  |
| DEDICATORIAS.....  | iv   |
| ÍNDICE.....  | v    |
| CARTA DE ACEPTACIÓN Y ENVÍO DE LOS ARTÍCULOS .....   | vii  |
| Artículo 1: Las rizobacterias halófilas mantienen la calidad forrajera de<br><i>Moringa oleifera</i> cultivada en sustrato salino..... | vii  |
| Artículo 2: ¿Las rizobacterias halófilas incrementan el índice de contenido de<br>clorofila (ICC) en plántulas de pepino?.....         | viii |
| INTRODUCCIÓN .....   | 1    |
| REVISIÓN DE LITERATURA .....   | 2    |
| Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal .....   | 2    |
| Colonización de Raíces.....  | 4    |
| Mecanismos Empleados por las RPCV.....   | 5    |
| <i>Biofertilización</i> .....  | 5    |
| 1. <i>Fijación de Nitrógeno Atmosférico</i> .....  | 7    |
| 2. <i>Solubilización de Fosfatos</i> .....   | 8    |
| 3. <i>Producción de Sideróforos</i> .....  | 11   |
| 4. <i>Producción de Exopolisacáridos</i> .....   | 12   |
| <i>Fitoestimuladores</i> .....   | 13   |
| 1. <i>Producción de Ácido Indolacético</i> .....   | 14   |
| 2. <i>Producción de Giberelinas y Citoquininas</i> .....   | 15   |
| 3. <i>Regulación de Etileno</i> .....  | 16   |
| <i>Biocontrol</i> .....  | 17   |
| 1. <i>Producción de Antibióticos</i> .....   | 20   |
| 2. <i>Producción de Enzimas Líticas</i> .....  | 21   |
| 3. <i>Producción de Compuestos Volátiles</i> .....   | 22   |
| 4. <i>Inducción de Resistencia Sistémica</i> .....   | 23   |
| <i>Inoculación de RPCV en Plantas bajo Condiciones de Estrés</i> .....   | 26   |
| 1. <i>Metales Pesados</i> .....  | 26   |
| 2. <i>Salinidad</i> .....  | 27   |
| 3. <i>Sequía</i> .....   | 28   |

|                                       |           |
|---------------------------------------|-----------|
| <b>4. Temperaturas Extremas .....</b> | <b>29</b> |
| <b>LITERATURA CITADA.....</b>         | <b>30</b> |
| <b>ARTÍCULO 1 .....</b>               | <b>41</b> |
| <b>ARTÍCULO 2 .....</b>               | <b>69</b> |
| <b>CONCLUSIÓN GENERAL.....</b>        | <b>83</b> |

# CARTA DE ACEPTACIÓN Y ENVÍO DE LOS ARTÍCULOS

## Artículo 1: Las rizobacterias halófilas mantienen la calidad forrajera de *Moringa oleifera* cultivada en sustrato salino.

20/9/2019

Gmail - Fwd: [RMCP] Decisión del Editor



VERONICA GARCIA <agronegociosrentablesmktg@gmail.com>

---

### Fwd: [RMCP] Decisión del Editor

6 mensajes

---

**Eduardo García** <edugarmartz@gmail.com>  
Para: agronegociosrentablesmktg@gmail.com

24 de julio de 2019, 15:15

Buenas tardes, te reenvío decisión del editor donde se ha aceptado el artículo para su publicación pero es necesario hacer unos ajustes menores. Te los encargo a la brevedad.

Enviado desde mi iPhone

Inicio del mensaje reenviado:

**De:** Ciencias Pecuarias <cienciaspecuarias@inifap.gob.mx>  
**Fecha:** 24 de julio de 2019, 11:45:38 a. m. GMT-5  
**Para:** "Dr. José Eduardo García Martínez" <edugarmartz@gmail.com>  
**Cc:** <rodriguez\_oscar@prodigy.net.mx>  
**Asunto:** [RMCP] Decisión del Editor

Dr. José Eduardo García Martínez:

Con referencia al trabajo: "¿Las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) incrementan la calidad de *Moringa oleifera* Lam. utilizada como forraje?", que tuvo a bien someter a revisión en la Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias; nos permitimos hacer de su conocimiento el siguiente:

Dictamen: Aceptado para su publicación.

Cambiar el formato de Título del trabajo. No se permiten ni en forma de pregunta, ni como la respuesta a un tratamiento.

En su versión final incluir la primera página completa, con nombres de autores e instituciones. Considerar los puntos del archivo adjunto.

Ciencias Pecuarias  
[cienciaspecuarias@inifap.gob.mx](mailto:cienciaspecuarias@inifap.gob.mx)

---

Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias  
<http://cienciaspecuarias.inifap.gob.mx/>

## Artículo 2: ¿Las rizobacterias halófilas incrementan el índice de contenido de clorofila (ICC) en plántulas de pepino?

9/10/2019

Gmail - Fwd: [NS] Acuse de recibo de envío



VERONICA GARCIA <agronegociosrentablesmktg@gmail.com>

---

### Fwd: [NS] Acuse de recibo de envío

---

jorge saenz mata <jsaenz\_mata@ujed.mx>  
Para: VERONICA GARCIA <agronegociosrentablesmktg@gmail.com>

9 de octubre de 2019, 20:02

Reenvío el correo de confirmación de recepción y el archivo enviado

Saludos

Dr. Jorge Sáenz Mata  
Director  
Facultad de Ciencias Biológicas  
Universidad Juárez del Estado de Durango  
Av. Universidad S/N, Fracc. Filadelfia, C.P. 35010  
Gómez Palacio, Durango  
[jsaenz\\_mata@ujed.mx](mailto:jsaenz_mata@ujed.mx)

Inicio del mensaje reenviado:

**De:** "Nova Scientia" <[nova\\_scientia@delasalle.edu.mx](mailto:nova_scientia@delasalle.edu.mx)>  
**Asunto:** [NS] Acuse de recibo de envío  
**Fecha:** 9 de octubre de 2019, 19:59:07 GMT-5  
**Para:** "Dr. Jorge Sáenz Mata" <[jsaenz\\_mata@ujed.mx](mailto:jsaenz_mata@ujed.mx)>

Apreciable Dr. Jorge Sáenz Mata:

Gracias por enviar el manuscrito "¿Las rizobacterias halófilas incrementan el índice de contenido de clorofila (ICC) en plántulas de pepino?" a Nova Scientia. Con nuestro sistema de gestión editorial en línea, podrá iniciar sesión en el sitio web de la revista y hacer un seguimiento de su progreso a través del proceso editorial.

URL del manuscrito:  
<http://novascientia.delasalle.edu.mx/ojs/index.php/Nova/author/submission/2205>

Nombre de usuario/a: jsaenz

Una vez completado el proceso de arbitraje, le haremos llegar la resolución tomada por el Consejo Editorial.

SOLICITAMOS NOS RECOMIENDE A 5 POSIBLES EVALUADORES DE SU TRABAJO AJENOS A SU INSTITUCIÓN.

Le agradecemos su valiosa contribución para la Revista Nova Scientia.  
Nova Scientia ISSN 2007 - 0705  
Tel. 01 477 214 3900 ext. 6305  
<http://novascientia.delasalle.edu.mx/>

---

 Nova Pepino Plantula 09 10 19.docx  
410K

<https://mail.google.com/mail/u/0?ik=68f475a580&view=pt&search=all&permmsgid=msg-f%3A1646966204048938994&simpl=msg-f%3A1646966204048938994> 1/2



## INTRODUCCIÓN

La agricultura es el principal sector de crecimiento económico de los países en desarrollo ([Nehra, et al., 2016](#)), entre los cuales se encuentra México. Sin embargo, en los sistemas de producción contemporáneos, la mayoría de los cultivos son muy exigentes respecto a la demanda de fertilizantes ([Naqqash, et al., 2016](#)). En relación a dicha demanda, se ha estimado que para el 2018 habría un consumo global de  $200.5 \times 10^6$  toneladas de N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O ([FAO, 2015](#)). Por otro lado, cada día existen más evidencias de que la aplicación continua de fertilizantes nitrogenados puede provocar impactos negativos en los agroecosistemas, como lixiviación de nitratos, contaminación de recursos hídricos, y emisiones gaseosas, incremento en el contenido de sales en los suelos, causando daños irreparables al ambiente ([Zahid, et al., 2015](#)) y con riesgo potencial para la humanidad ([Vejan, et al., 2016](#)).

Lo anterior, hace evidente que existen diversos problemas que demandan una atención permanente por parte de los investigadores. De manera específica, un método promisorio para reducir el uso de los fertilizantes sintéticos en la agricultura es la aplicación de las RPCV (*Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal*), como inoculantes microbianos ([Nehra, et al., 2016](#)). El empleo de las RPCV como biofertilizantes son una opción sustentable para favorecer la disponibilidad de los elementos nutritivos, el crecimiento de las plantas y los rendimientos ([Zahid, et al., 2015](#)). Inocular los cultivos con RPCV reduce sustancialmente el uso de fertilizantes sintéticos y los impactos negativos al suelo, aumenta el rendimiento de los cultivos, contribuyendo a la economía del productor y a la alimentación de la población. El objetivo de esta investigación fue evaluar el árbol de Moringa (*Moringa oleífera*) con fines forrajeros y la producción de plántula de pepino inoculados con RPCV halófilas bajo condiciones de invernadero.

## REVISIÓN DE LITERATURA

### Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal

La expresión *Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal* (RPCV), conocidas como PGPR por sus siglas en inglés (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) fue acuñada por J. W. Kloepper y M. N. Schroth en 1978, para describir las bacterias que habitan la rizósfera y que afectan positivamente el desarrollo de las plantas ([Hernández-Rodríguez, et al., 2006](#)). Estas bacterias tienen la capacidad de colonizar activamente el sistema radicular para favorecer y/o mejorar su crecimiento y rendimiento ([Berendsen, et al., 2012](#)). Las siglas RPCV hacen referencia a todas las bacterias que son capaces de mejorar el crecimiento de las plantas a través de uno o más mecanismos.

Los siguientes géneros de bacterias han sido reportados como RPCV: *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Azoarcus*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Caulobacter*, *Chromobacterium*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, *Micrococcous*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* y *Serratia* ([Ahemad y Kibret, 2013](#)). Las RPCV ejercen efectos benéficos en las plantas a través de mecanismos directos e indirectos ([Parray, et al., 2016](#)). Los mecanismos directos ocurren cuando las bacterias sintetizan metabolitos que facilitan a las plantas, o bien cuando éstas incrementan la disponibilidad de diferentes elementos nutritivos, requeridos para su metabolismo y para mejorar su proceso de nutrición.

Entre los mecanismos directos destacan: la fijación de nitrógeno (N); la síntesis de fitohormonas, vitaminas y enzimas, la solubilización de fósforo (P) inorgánico y la mineralización de fosfato orgánico, la oxidación de sulfuros, el incremento en la permeabilidad de la raíz, la producción de nitritos, la acumulación de nitratos, la reducción de la toxicidad por metales pesados y de la actividad de la enzima ACC desaminasa, la secreción de sideróforos, la reducción de los niveles de etileno en los suelos, y el incremento de la permeabilidad de las raíces ([Jha y Saraf, 2015](#)).

Mientras que, los mecanismos indirectos se caracterizan porque las RPCV ocasionan la disminución o eliminación de microorganismos fitopatógenos, ya

sea a través de la producción de sustancias antimicrobianas o de antibióticos, de enzimas líticas o una combinación de éstas; por competencia de nutrimentos o de espacio en el nicho ecológico, así como por estimulación de las defensas naturales de la planta mediante mecanismos de biocontrol; la inducción de resistencia sistémica (IRS) a un amplio espectro de organismos patógenos y la producción de sideróforos, como mecanismo para secuestrar el Fe disponible en los suelos y con esto limitar el desarrollo y la presencia de dichos fitopatógenos; producción de antibióticos y cianuros de hidrógeno que impactan sobre los fitopatógenos; hidrólisis de moléculas como el ácido fusárico generado por éstos para liberar 1-3-glucanasa, con la cual se inhibe el desarrollo de la pared fúngica de hongos como *Phyitium ultimum* y *Rhizoctonia solani* ([Glick, 2012](#)).

**Tabla 1.** Rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal, efectos y cultivos donde se han evaluado.

| RPCV  | Función y mecanismo                               | Cultivos   |
|---|---|--|
| <i>Azospirillum</i> spp., <i>Azotobacter</i> spp., <i>Bacillus</i> spp., <i>Burkholderia</i> spp., <i>Gluconacetobacter</i> spp., <i>Herbaspirillum</i> spp.  | Biofertilización Fijan N <sub>2</sub>             | Maíz, arroz, trigo, sorgo, caña de azúcar.   |
| <i>Bacillus</i> spp., <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Ptreptomycetes</i> spp., <i>Peaibasilus</i> spp., <i>Enterobacter</i> spp., <i>Azospirillum</i> spp.  | Biocontrol (enfermedades, patógenos e insectos)   | Tomate, tabaco, pepino, pimiento morrón, maní, alfalfa, garbanzo, frijol, ciruelo. |
| <i>Methylobacterium</i> spp. <i>Bacillus</i> spp., <i>Alcaligenes</i> spp., <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Variovorax</i> spp., <i>Enterobacter</i> spp., <i>Azospirillum</i> spp., <i>Rhizobium</i> spp., <i>Klebsiella</i> spp.  | Elongación, crecimiento                           | Nabo, clavel, canola, soya, frijol, maíz, judías, chicharos.                       |
| <i>Aeromonas</i> spp., <i>Agrobacterium</i> spp., <i>Alcaligenes</i> spp., <i>Azospirillum</i> spp., <i>Bradyrhizobium</i> spp., <i>Comamonas</i> spp., <i>Enterobacter</i> spp., <i>Rhizobium</i> spp., <i>Paenibacillus</i> spp., <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Bacillus</i> spp. | Fitoestimulación (AIA, Citoquininas, giberelinas) | Arroz, lechuga, trigo, soya, rábano, colza, aliso.                                 |

Fuente: [Parray et al., \(2016\)](#).

Una de las limitantes de las RPCV es que el efecto benéfico que promueven sobre una determinada especie vegetal no es el mismo para otras plantas. En relación a lo anterior, [Xu, et al., \(2011\)](#) señalan que el empleo combinado de agentes de biocontrol, generalmente no debe recomendarse en la práctica sin contar con una clara comprensión de sus principales mecanismos de control y de su competitividad relativa. Para evitar lo anterior, a la fecha existe un sinnúmero de

reportes que clarifican acerca del tipo de RPCV, su efecto y los cultivos donde éstas se pueden aplicar, ver ejemplos en la Tabla 1.

### **Colonización de Raíces**

Una etapa esencial para que las RPCV lleven a cabo de forma eficiente el control biológico y favorezcan el crecimiento de las plantas es sin duda la colonización de su sistema radicular ([Noumavo, et al., 2016](#)). Los elementos fundamentales para una colonización eficiente incluyen, entre otros, la capacidad de los microorganismos para: a) sobrevivir después de la inoculación; b) crecer en la espermosfera (región que rodea la semilla) en respuesta a la producción de exudados por la semilla; c) fijarse en la superficie de las primeras raíces; y d) colonizar todo el sistema radicular ([Nihorimbere, et al., 2011](#); [Noumavo, et al., 2016](#)). Por ejemplo, [Labra-Cardón, et al. \(2012\)](#) señalan que la colonización en la espermosfera de las semillas de *Cyperus elegans* (Cyperaceae) y *Echinochloa polystachya* (Poaceae), fue un evento importante para promover el crecimiento de las plántulas obtenidas.

La colonización de la raíz por microorganismos endófitos incluye cuatro etapas: 1) atracción; 2) reconocimiento; 3) adhesión; e 4) invasión, las cuales están afectadas por factores bióticos y abióticos ([Nihorimbere, et al., 2011](#)). Además, la colonización de las semillas es el primer paso en el propio proceso. Los microorganismos que se establecen sobre las semillas durante la germinación pueden crecer y colonizar las raíces en toda su extensión. La colonización de la semilla durante la fase de impregnación o inmersión tiene un efecto significativo sobre el crecimiento de la planta ([Noumavo, et al., 2016](#)).

La capacidad de colonización es un factor clave en la prevención y el tratamiento de enfermedades fungosas debido a que las plantas huésped están estrechamente relacionadas con la formación de biopelículas; una fuerte colonización conduce a una formación adecuada de biopelículas ([Zhou, et al., 2016](#)). Los mejores resultados en los cultivos dependen de una adecuada colonización de bacterias en la rizósfera; aplicar la técnica correcta de inoculación a las semillas se verá reflejado en un mayor porcentaje de germinación así como

en la productividad del cultivo además de incrementar su resistencia al estrés ([Mahmood, et al., 2016](#)).

Por ejemplo, *Pseudomonas fluorescens* habitante natural del suelo, es predominantemente numerosa en la microflora de la rizósfera de muchas especies vegetales y son las primeras en colonizar las raíces jóvenes. Muchos de estos organismos suprimen enfermedades en las plantas, protegiendo las raíces y las semillas de la infección de los patógenos presentes en el suelo ([Guerra, et al., 2011](#)).

### **Mecanismos Empleados por las RPCV**

Los mecanismos de acción directos e indirectos usados por las RPCV, también se pueden clasificar de acuerdo a su función en biofertilizantes, fitoestimuladores y biocontrol.

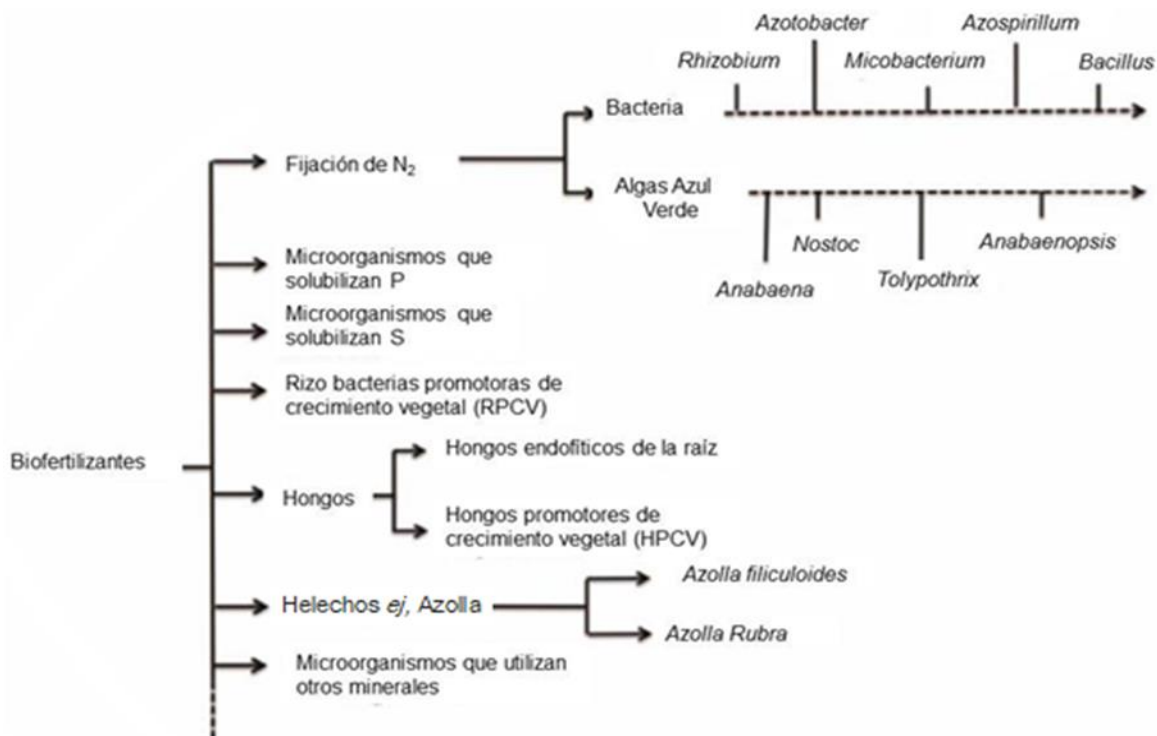
#### **Biofertilización**

El mejoramiento de la fertilidad del suelo ha sido una de las estrategias comúnmente utilizadas para incrementar la producción agrícola. Sin embargo, a través del tiempo, se ha vuelto evidente que el empleo de fertilizantes sintéticos no ha resultado ser la panacea esperada, ya que del total de los fertilizantes aplicados solo del 10 al 40 % es asimilado por las plantas ([Bhardwaj, et al., 2014](#)) y además, porque la pérdida de la fertilidad de los suelos, en los sistemas de intensivos, ha obligado a los productores a incrementar el uso de estos fertilizantes para mantener su producción, a costa del incremento de los costos de producción y de los impactos ambientales ([Cotler, et al., 2016](#)).

A consecuencia del encarecimiento de los fertilizantes sintéticos, las escasas reservas naturales de algunos minerales y los grandes consumos energéticos para su producción, se ha promovido el uso de las alternativas biológicas, como una necesidad en la producción agrícola de hoy en día y del futuro, sin afectar el ambiente, además de una factibilidad económica ([Barroso, et al., 2015](#)). Las nuevas tecnologías deben estar enfocadas a mantener y preservar la sostenibilidad del sistema de producción mediante la explotación racional de los

recursos naturales y la aplicación de medidas pertinentes para preservar el ambiente ([Grageda-Cabrera, et al., 2012](#)).

Biofertilizantes son todos aquellos productos que contienen microorganismos vivos, con capacidad para colonizar la rizósfera o el interior de las plantas, que aplicados al suelo y/o a éstas, a través de la inoculación, pueden vivir asociados o en simbiosis con las especies vegetales y les ayudan a su nutrición y protección, con ellos se pretende sustituir parcial o totalmente la aplicación de fertilizantes sintéticos, y reducir su efecto contaminante ([Mishra y Dash, 2014](#)). Los biofertilizantes no suministran directamente ningún elemento nutritivo a los cultivos y éstos son bioproductos, elaborados principalmente a base de bacterias. La Figura 1 muestra una clasificación de los microorganismos que pueden ser utilizados como biofertilizantes.



**Figura 1.** Microorganismos utilizados como biofertilizantes. Fuente: [Xiang, et al., \(2012\)](#).

[Armenta-Bojórquez, et al. \(2010\)](#), describen que los microorganismos empleados en los biofertilizantes se agrupan en aquellos que: a) tienen capacidad para

sintetizar sustancias que promueven el crecimiento de las plantas, a través de varios procesos como fijación de N<sub>2</sub> atmosférico, solubilización de Fe y P inorgánicos, incrementan la tolerancia al estrés por sequía, salinidad, metales tóxicos y exceso de plaguicidas; b) son capaces de disminuir o prevenir los efectos de organismos patógenos; y c) cumplen ambas funciones – promueven crecimiento e inhiben efectos de patógenos, ejemplo *Bacillus subtilis* produce auxinas para promover el crecimiento de tomate e induce resistencia sistémica contra *F. oxysporum*, responsable de la marchitez y pudrición de sus raíces.

### 1. Fijación de Nitrógeno Atmosférico

La fijación biológica de nitrógeno (FBN) está limitada a procariontes que poseen a diferencia de la planta un complejo enzimático de nitrogenasa, el cual consta de dos proteínas dinitrogenasa y dinitrogenasa reductasa: ambas contienen Fe en su estructura, además la dinitrogenasa contiene Mo que cataliza la reducción del N atmosférico en amoníaco ([Venieraki, et al., 2011](#)) proceso que se explica, en términos generales, por medio de la Ecuación 1. [López y Boronat \(2016\)](#) describen esta ecuación señalando que, la activación microbiológica del N<sub>2</sub> atmosférico genera amoníaco, el cual ioniza al catión amonio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), vía hidrólisis de ATP y la transferencia de poder reductor acoplado a una cadena de transporte electrónico. Las bacterias que fijan el N atmosférico en amonio, biológicamente utilizable, se denominan diazotróficas. Entre los organismos diazótrofos se encuentra un amplio rango de Arqueas y bacterias que colonizan a diversas especies vegetales, en una amplia variedad de ecosistemas ([Venieraki, et al., 2011](#)).



Entre las bacterias procariontes rizosféricas simbióticas que fijan N, en asociación con las leguminosas, se encuentra el grupo rhizobia, por ejemplo *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium*, *Azorhizobium*, *Mesorhizobium* y *Allorhizobium*, y las cepas *Frankia*, pertenecientes al género *Streptomicetaceas*, bacterias esporuladoras filamentosas asociadas con plantas actinorrizas, especialmente

géneros *Alnus* y *Casuarina* ([Noumavo, et al., 2016](#); [Venieraki, et al., 2011](#)). Durante más de un siglo, la simbiosis entre las bacterias del género *Rhizobium* y las leguminosas ha sido considerada la forma más eficiente de fijar el N atmosférico, haciéndolo disponible para las plantas. Sin embargo, en décadas recientes, el estudio de la FBN por bacterias asociativas, de vida libre o asimbióticas, proceso descubierto en 1901 por Martinus Willem Beijerinck, ha cobrado mayor atención por parte de los investigadores, con el propósito de encontrar alternativas a la creciente demanda de fertilizantes sintéticos ([Noumavo, et al., 2016](#)).

En condiciones normales, los microorganismos que fijan N se benefician con este elemento sin excretar compuestos nitrogenados. Pero a su muerte y después de su descomposición, el N estará disponible para las plantas, generando un promedio de 25 kg N ha<sup>-1</sup>año<sup>-1</sup> en los continentes. Este proceso es entonces suficiente para mantener las reservas y para recuperar las pérdidas de estos compuestos en el ecosistema ([Noumavo, et al., 2016](#)). Finalmente, debido a la importancia del proceso de FBN, independientemente si es por simbiosis o de forma asimbiótica, [Ferrera y Alarcón \(2001\)](#) describen que la incorporación de este elemento promueve la estimulación de procesos microbianos durante la descomposición de la MO y el reciclaje de elementos nutritivos esenciales dentro de los sistemas agrícolas productivos, así como en aquellos considerados como agro ecosistemas sostenibles.

## **2. Solubilización de Fosfatos**

El P es uno de los principales macronutrientes esenciales, su deficiencia limita de manera crucial el crecimiento de las plantas ([Nisha, et al., 2014](#)). Al igual que para el N, hoy en día se puede aseverar que algunas RPCV, específicamente las bacterias solubilizadoras de fosfatos (BSF), solubilizan los fosfatos insolubles de los suelos y los vuelven disponibles para las plantas ([Goswami, et al., 2016](#)) y éstas, a su vez les proporcionan compuestos carbonados que son metabolizados para el crecimiento microbiano e igualmente los exudados radiculares y los *detritus* vegetales suministran el sustrato energético que favorece su actividad solubilizadora.



Las BSF constituyen del 1 al 50 % (tabla 2) del total de la población microbiana de los suelos. Además es necesario destacar que algunos microorganismos que solubilizan fosfatos del suelo, también pueden presentar otras actividades de promoción de crecimiento vegetal como la producción de ácido indolacético (AIA), ácido giberélico, cianuro de hidrógeno (HCN), citoquininas, etileno, fijación asimbiótica de N y resistencia a organismos patógenos del suelo ([Beltrán, 2014](#)).

**Tabla 2.** Principales géneros bacterianos solubilizadores de fosfatos (BSF).

| BSF                     |                        |                          |
|-------------------------|------------------------|--------------------------|
| <i>Achromobacter</i>    | <i>Erwinia</i>         | <i>Rahnella</i>          |
| <i>Acinetobacter</i>    | <i>Flavobacterium</i>  | <i>Ralstonia</i>         |
| <i>Aereobacter</i>      | <i>Gordonia</i>        | <i>Rhodobacter</i>       |
| <i>Agrobacterium</i>    | <i>Kitasatospora</i>   | <i>Rhodococcus</i>       |
| <i>Arthrobacter</i>     | <i>Klebsiella</i>      | <i>Serratia</i>          |
| <i>Bacillus</i>         | <i>Mesorhizobium</i>   | <i>Sinorhizobium</i>     |
| <i>Bradyrhizobium</i>   | <i>Micrococcus</i>     | <i>Streptomyces</i>      |
| <i>Burkholderia</i>     | <i>Mycobacterium</i>   | <i>Streptosporangium</i> |
| <i>Chryseobacterium</i> | <i>Pantoea</i>         | <i>Thiobacillus</i>      |
| <i>Delftia</i>          | <i>Phyllobacterium</i> | <i>Yarrowia</i>          |
| <i>Enterobacter</i>     | <i>Pseudomonas</i>     |                          |

Fuente: [Beltrán, \(2014\)](#)

Al grupo BSF pertenecen los géneros bacterianos que se presentan en la Tabla 2 y éstas solubilizan fosfatos debido a su capacidad de producir ácidos orgánicos, entre los cuales destacan, los ácidos: acético, adípico, cítrico, fórmico, fumárico, glicólico, glucónico, indolacético, láctico, málico, malónico, oxálico, propiónico, succínico y 2-ketogluconic ([Beltrán, 2014](#); [Goswami et al., 2016](#)). Los más frecuentemente reportados como solubilizadores de fosfato son el glucónico y el 2-cetogluconico ([Paredes-Mendoza y Espinosa-Victoria, 2010](#)).

La mayoría de los ácidos orgánicos producidos por las BSP son alifáticos, es decir, son ácidos no aromáticos ([Paredes-Mendoza y Espinosa-Victoria, 2010](#)). Estos ácidos modifican el pH provocando la disolución de fosfatos insolubles de los suelos ([Goswami et al., 2016](#)). Además de tener una acción directa sobre la acidificación, la quelación, la precipitación y las reacciones de óxido – reducción de la rizósfera, forman complejos con metales, solubilizan metales y participan en su transporte. La solubilización de los minerales puede deberse a que estos ácidos disminuyen el pH y, más aún, a la formación de complejos estables con

cationes como  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{Fe}^{+3}$  y  $\text{Al}^{+3}$ . El efecto de los ácidos orgánicos también incide sobre los fosfatos incorporados al suelo, a través de los fertilizantes sintéticos, reduciendo la precipitación de dichos fosfatos por Fe y Al ([Paredes-Mendoza y Espinosa-Victoria, 2010](#)).

En los suelos la solubilización del fosfato por los ácidos orgánicos depende del pH y la mineralogía del mismo, este proceso se realiza por dos mecanismos: a) un intercambio ácido, por ejemplo, los iones  $\text{H}^+$  provenientes del citrato se intercambian por el P ligado a la superficie de los cristales del  $\text{Al}(\text{OH})_3$  o  $\text{Fe}(\text{OH})_3$ , reduciéndolos y liberando el P; y b) el otro que depende de la concentración de los ácidos orgánicos producidos por las BSF; la cantidad y el tipo de ácidos orgánicos liberados dependen del tipo de microorganismos, el efecto quelante de estos ácidos en la solubilización consiste en que a través de sus grupos hidroxil y carboxil secuestran los cationes unidos al fosfato convirtiéndolo a formas solubles ([Paredes-Mendoza y Espinosa-Victoria, 2010](#)).

Las BSF también son capaces de mineralizar el fosfato orgánico insoluble a través de la excreción de enzimas extracelulares como las fosfatasas catalizadoras de la hidrólisis de ésteres fosfóricos fitasas y C-P liasas. Cabe señalar que los mecanismos de solubilización y mineralización pueden coexistir dentro de las mismas BSF. La inoculación con BSF aumenta la disponibilidad de P en la rizósfera y su absorción por la planta ([Faria, et al., 2013](#)). Una reducción del 50 % en la aplicación de fertilizantes con P podría lograrse mediante el uso combinado de microorganismos solubilizadores de P y RPCV sin afectar el rendimiento ([Tahir y Aqeel, 2013](#)).

Por otro lado, la introducción de genes sobre expresados en bacterias de la rizósfera para solubilizar fosfatos, y mejorar la capacidad de los microorganismos como inoculantes, ha llamado la atención de los investigadores. A la fecha, las bases de la genética de la solubilización de fosfatos minerales no están claramente establecidas, pues aunque se conoce que la generación de ácidos orgánicos es el principal mecanismo para llevar a cabo este proceso, se podría asumir que cualquier gen participante en la síntesis de los ácidos orgánicos podría tener algún efecto en esta característica: denominada fenotipo

solubilizador. En relación a lo anterior, se ha evidenciado que la capacidad de algunas bacterias Gram negativas para disolver fosfatos de calcio fenotipo solubilizador – es el resultado de la oxidación periplásmica de la glucosa a ácido glucónico por la vía de la quinoproteína glucosa deshidrogenasa (G-DH), un componente de la ruta de oxidación directa de la glucosa ([Beltrán, 2014](#)).

### 3. Producción de Sideróforos

Los sideróforos son pequeñas moléculas producidas por microorganismos bajo condiciones limitantes de Fe que incrementan su entrada a la célula microbiana ([Saha, et al., 2013](#)). Comúnmente, las bacterias adquieren Fe mediante la secreción de quelatos de Fe, de bajo peso molecular, denominados sideróforos, los cuales están en constante asociación con complejos de Fe ([de Los Santos-Villalobos, et al., 2012](#); [Parray et al., 2016](#)). Además de su bajo peso molecular estos compuestos son solubles en disoluciones acuosas a pH neutro y pueden ser fluorescentes o no ([Tejera-Hernández, et al., 2011](#)).

Diversos organismos sintetizan pequeñas moléculas, péptidos no ribosomales, de alta afinidad por el  $\text{Fe}^{+3}$  que actúan en forma específica como agentes quelantes para secuestrar Fe en presencia de otros metales, y provocar su reducción a  $\text{Fe}^{+2}$  que es una forma mucho más soluble y aprovechable para la nutrición de dichos organismos ([Aguado-Santacruz, et al., 2012](#)). El secuestro del Fe por parte de los microorganismos, en condiciones de escasez, se desarrolla de la siguiente manera: una vez que es secuestrado el Fe del medio circundante, el complejo sideróforo-Fe es reconocido por receptores específicos de la membrana microbiana y una vez dentro de las células, se deposita en un sitio específico por un proceso que involucra un intercambio de ligandos que puede estar precedido o no por la reducción del Fe o por la hidrólisis del sideróforo ([Rives, et al., 2007](#)).

La presencia de los sideróforos representaría una gran ventaja para los microorganismos, pues podrían adquirir el Fe del medio que los rodea de una forma más fácil que el resto de sus competidores ([Tejera-Hernández et al., 2011](#)). Los sideróforos se dividen en tres familias principales dependiendo del grupo funcional característico: hidroxamatos, catecolatos y carboxilatos. A la fecha, son

conocidos más de 500 sideróforos y las estructuras químicas de 270 de ellos ya han sido determinadas ([Ahmed y Holmström, 2014](#)).

#### **4. Producción de Exopolisacáridos**

La capacidad de producir, secretar o de exudar polisacáridos es otro de los múltiples beneficios que poseen las RPCV ([Jha y Saraf, 2015](#)). Estos exudados incluyen polisacáridos: estructurales, intracelulares y extracelulares o exopolisacáridos (EPS) ([Noumavo, et al., 2016](#)), los cuales están compuestos principalmente por carbohidratos, formando homo o heteropolímeros y pueden contener sustituyentes orgánicos e inorgánicos. Estos productos ofrecen ventajas como la gran versatilidad de los microorganismos para sintetizar polisacáridos neutros o con carga negativa, a partir de fuentes renovables, en condiciones controladas y la posibilidad de manipulación genética, con lo cual puede ser posible la obtención de productos con mejores propiedades funcionales e incluso mayor calidad ([Fuentes, et al., 2013](#)).

La principal contribución de los microorganismos rizosféricos a la estabilidad del suelo está asociada a la producción de EPS. Estos productos se encuentran en forma de geles hidratados alrededor de las células y constituyen la interface entre los microorganismos y su entorno inmediato ([Noumavo, et al., 2016](#)).

La producción de niveles elevados de EPS, por ciertas bacterias, permite a las plantas soportar mejor los entornos adversos ([Nadeem, et al., 2016](#)). En la rizósfera los EPS producidos por las rizobacterias entran en los agregados del suelo y alteran su porosidad. Por lo tanto, la porosidad, la cual está directamente relacionada con la transferencia del agua del suelo hacia las raíces, es parcialmente controlada por la actividad bacteriana. También ayudan a: mantener la película de agua, requerida por la actividad fotosintética y el crecimiento de las plantas, mejorar el proceso de aireación del suelo y la infiltración, y cubrir y proteger a las raíces contra el ataque de fitopatógenos ([Noumavo, et al., 2016](#)). En condiciones de estrés salino, los EPS quelan cationes disponibles en la zona de la raíz, contribuyendo así a reducir la salinidad de la rizósfera. Los EPS bacterianos en condiciones de estrés de agua en el suelo pueden limitar o aplazar la desecación del medio. Por el contrario, en caso de exceso de agua (lluvia,

inundaciones), los EPS, contribuyen a evitar la dispersión de los suelos arcillosos ([Noumavo, et al., 2016](#)).

### **Fitoestimuladores**

[Molina-Romero, et al., \(2015\)](#), han establecido que las RPCV tienen la capacidad de producir más de un tipo de sustancias promotoras de crecimiento, dentro de éstas destacan cinco grupos: 1) auxinas (AIA); 2) giberelinas; 3) etileno; 4) citoquininas; y 5) ácido abscísico (ABA) y de éstas, los cuatro primeros participan en la fitoestimulación por rizobacterias. Estas sustancias son moléculas indicadoras que actúan como mensajeros químicos que influyen en la capacidad de las plantas para responder a su entorno ([Tahir y Aqeel, 2013](#)). Regulan la expresión de genes implicados en el crecimiento y desarrollo vegetal, las cuales son sintetizadas en diferentes estructuras de la planta y su acción varía en función de los cambios ambientales que modifican la expresión génica del organismo ([Molina-Romero, et al., 2015](#)) y generalmente son efectivas en pequeñas concentraciones ([Tahir y Aqeel, 2013](#)).

Se ha establecido que también están implicadas en las vías de represión catabólica y regulación de la formación de biopelículas. Incluso, estas moléculas exhiben efectos específicos sobre la fisiología vegetal, como incrementar el volumen radicular, aumentar la tasa de respiración de la raíz de la planta hospedera y el flujo de protones en la membrana de la raíz; en consecuencia se favorece la absorción de elementos minerales solubles ([Molina-Romero, et al., 2015](#)). Sin embargo, aunque se sabe que las fitohormonas, regulan el desarrollo de las plantas y su fisiología, así como la inmunidad, su producción por microorganismos no se ha considerado como un mecanismo de control biológico; por ejemplo, se ha identificado en *P. fluorescens* G20-18 la capacidad para controlar eficientemente la infección por *P. syringae* en el modelo *Arabidopsis*, lo que permite el mantenimiento de la integridad de los tejidos y, en última instancia, el rendimiento de la biomasa ([Großskinsky, et al., 2016](#)).

[Sarma and Saikia \(2014\)](#) destacan que la fitoestimulación es considerada el mecanismo más estudiado de las RPCV. El fenómeno de la fitoestimulación está dado particularmente por la manipulación de la compleja y balanceada red de

hormonas o compuestos similares que influyen directamente sobre el crecimiento de las plantas o estimulan la formación de sus raíces. Por ejemplo, muchas especies de *Azospirillum* producen auxinas, citoquininas y giberelinas, que estimulan el desarrollo radicular, provocando incrementos significativos en los rendimientos agrícolas ([Rives, et al., 2007](#)).

### 1. Producción de Ácido Indolacético

Las bacterias asociadas a las especies vegetales poseen la capacidad de producir o generar reguladores de crecimiento y aproximadamente el 80 % de éstas, son productoras de auxinas. En términos cuantitativos, la auxina de mayor importancia es el ácido indol acético (AIA), el cual es responsable de incrementar tanto el sistema radicular como la absorción de elementos nutritivos ([Grageda-Cabrera, et al., 2012](#)).

Las auxinas (del griego "*auxien*", que significa "aumentar") fue la primera hormona descubierta por Darwin en el alpiste (*Phalaris canariensis*) ([Darwin, 1880](#)). El AIA incluye las hormonas vegetales pertenecientes al grupo de auxinas. La estimulación del crecimiento de las plantas por rizobacterias está a menudo asociada con su capacidad de producir AIA. Las especies de *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Glucanoacetobacter*, *Phosphobacteria*, *Aspergillus niger* y *Penicillium* pueden producir AIA ([Shobha y Kumudini, 2012](#)). Los niveles de producción de AIA en un cultivo puro pueden servir como indicadores de la eficacia potencial de una cepa para reducir los efectos del estrés osmótico sobre el crecimiento de las plantas ([Nadeem, et al., 2016](#)).

La capacidad de las bacterias para producir AIA en la rizósfera depende de la disponibilidad de precursores y la absorción de AIA microbiana por planta. La promoción del crecimiento puede atribuirse a otros mecanismos tales como la producción de hormonas promotoras del crecimiento de las plantas en la rizósfera y otras actividades de las RPCV ([Joseph, et al., 2007](#)). Varios estudios han demostrado que algunos microorganismos producen poca cantidad de auxinas en la ausencia de L-triptófano y se vuelven fuertes productores de auxinas en presencia de L-triptófano. La respuesta de las plantas a la adición de AIA varía

según las especies vegetales, la concentración de AIA, la complejidad del tejido y la etapa de desarrollo de la planta ([Glick, 2012](#)).

El AIA ha participado vigorosamente en tomate especialmente durante el amarre de frutos y la última fase de desarrollo. La síntesis de gran cantidad de AIA por rizobacterias inhibe el desarrollo del sistema radicular de la planta. El desarrollo de la raíz puede ser afectada en gran medida por fuentes externas de reguladores de crecimiento. El AIA juega un papel muy importante en el alargamiento de la raíz y la proliferación de los pelos radiculares. Bajos niveles de AIA puede estimular la elongación de la raíz primaria, mientras que los niveles altos de AIA la decrece y estimula la formación de raíces adventicias ([Vejan, et al., 2016](#)). El AIA desempeña un papel importante en el control de la enfermedad de *Fusarium head blight* (FHB) en el cultivo de cebada, utilizando como biocontrol bacteriano un cultivo de la cepa *Pseudomonas fluorescens* MKB158 ([Petti, et al., 2012](#)).

## **2. Producción de Giberelinas y Citoquininas**

Las citoquininas y giberelinas actúan para potenciar o regular diversas etapas de crecimiento de las plantas ([Masciarelli, et al., 2014](#)). Las citoquininas estimulan la división celular de las plantas, controlan la diferenciación de los meristemos radiculares, inducen la proliferación de los pelos radiculares, pero inhiben la formación de raíces laterales y el alargamiento de la raíz primaria. Se ha demostrado que la inoculación de plantas con bacterias que producen citoquinina estimula el crecimiento de los brotes y reduce la relación entre la raíz y el brote ([Vacheron, et al., 2013](#)).

Las giberelinas son una clase de fitohormonas que suele asociarse con la modificación de la morfología de las plantas por la extensión del tejido vegetal, principalmente porque estas fitohormonas se pueden trasladar de las raíces a la parte aérea de la planta ([Jha y Saraf, 2015](#)). Aunque se sabe que las fitohormonas, regulan el desarrollo de las plantas y la fisiología, así como la inmunidad, su producción por microorganismos no se ha considerado como un mecanismo de control biológico; se ha identificado la capacidad de *Pseudomonas fluorescens* G20-18 para controlar eficientemente la infección por *P. syringae* en

*Arabidopsis*, lo que permite el mantenimiento de la integridad de los tejidos y, en última instancia, el rendimiento de la biomasa ([Großkinsky, et al., 2016](#)).

Los mecanismos de síntesis de citoquininas y giberelinas utilizados por rizobacteria para promover el crecimiento de la planta aún no son bien entendidas. Los supuestos hasta ahora se basan en el conocimiento convencional sobre el papel de citoquininas y giberelinas en la fisiología vegetal y las relativas a la respuesta de las plantas a la adición de hormonas purificadas ([Noumavo, et al., 2016](#)). Las RPCV, como las diferentes especies de *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Acetobacter*, *Azospiri lllum*, *Burkholderia*, son capaces de producir diferentes hormonas vegetales tales como auxinas, giberelinas, citoquininas y etileno, pueden contribuir al aumento de crecimiento y desarrollo en plantas bajo estrés abiótico en comparación con plantas bajo condiciones de cultivo estándar ([Sarma y Saikia, 2014](#)).

### **3. Regulación de Etileno**

El etileno también se considera esencial para el crecimiento y desarrollo de las plantas, pero sus efectos sobre el crecimiento de las plantas han sido diferentes dependiendo de su concentración en los tejidos de las raíces ([Tahir y Aqeel, 2013](#)). En bajas concentraciones, el etileno puede favorecer el crecimiento de varias especies de plantas, mediante la estimulación de la germinación de la semilla, el inicio del crecimiento de la raíz, la maduración de la fruta y la activación de otras síntesis de fitohormonas (Figura 2) ([Glick, 2014](#)).





**Figura 2.** El etileno participa en diferentes procesos durante el crecimiento y desarrollo de una planta.

Sin embargo, los moderados o altos niveles de etileno inducen la inhibición de la elongación de la raíz. El etileno es un modulador del crecimiento y desarrollo de las plantas y participa en la respuesta de las plantas al estrés. Un alto nivel sostenido de etileno, debido al estrés, inhibiría la elongación de la raíz, conduciendo a un crecimiento anormal de las raíces, lo cual afectaría el crecimiento y desarrollo de las plantas ([Suarez, et al., 2015](#)). Las RPCV que contienen la enzima 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) desaminasa facilitan el crecimiento y desarrollo de las plantas al disminuir los niveles de etileno en las plantas ([Porcel, et al., 2014](#)).

Las rizobacterias de la rizósfera como *Achromobacter*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Pseudomonas* y *Rhizobium* tienen actividad de ACC desaminasa. Plantas inoculadas con RPCV han demostrado la producción del gen ACC desaminasa en condiciones de estrés ambiental manifestando un aumento en la resistencia de las plantas ([Bhattacharyya y Jha, 2012](#)).

### **Biocontrol**

Los microbios deletéreos que habitan la rizósfera causan enfermedades y a veces provocan la pérdida completa de los cultivos ([Raza, et al., 2016](#)). Para el

control biológico de estas enfermedades se han empleado diferentes microorganismos: diversas RPCV como agentes de biocontrol eliminan de forma natural a los fitopatógenos mediante la producción de metabolitos secundarios, los cuales, además de ser excretados localmente o cerca de la superficie de la planta, son moléculas biodegradables y no se requieren en cantidades elevadas, a diferencia de los plaguicidas que son resistentes a la degradación y se aplican en grandes cantidades para mantener la salud de las plantas ([Molina-Romero, et al., 2015](#)).

Algunas RPCV tienen la capacidad de prevenir el desarrollo de enfermedades transmitidas por el suelo de las plantas, manteniendo el nivel de microbios deletéreos por debajo del umbral ([Raza, et al., 2016](#)). Estas RPCV producen antibióticos, compuestos orgánicos volátiles antimicrobianos (COV) y enzimas hidrolíticas, por un lado pueden estimular la resistencia, sistémica o inducida, de las plantas contra diferentes fitopatógenos y por otro eliminar a dichos organismos ([Raza, et al., 2016](#)). Específicamente se han caracterizado diversas moléculas producidas por bacterias antagónicas Gram negativas capaces de ejercer biocontrol contra patógenos causantes de enfermedades de la raíz, dentro de éstas se encuentran: los ácidos cianhídrico y fenazina-1-carboxílico, la pioluteorina, la pirrolnitrina, los lipopéptidos cíclicos y el diacetilfloroglucinol ([Molina-Romero, et al., 2015](#)).

Se conoce que las rizobacterias deletéreas son un grupo de patógenos saprófitos, no parasitarios, que excretan exopolisacáridos y sustancias químicas, pueden afectar negativamente el metabolismo de las plantas, recientemente este grupo de microorganismos se ha utilizado como un agente de control biológico de la maleza ([Lakshmi, et al., 2015](#)). Como ejemplo, [de Los Santos-Villalobos et al., \(2012\)](#), destacan que los sideróforos producidos por *Burkholderia cepacia* XXVI, aislada de huertos de mango, resultaron ser una alternativa de biocontrol del hongo *Colletotrichum gloeosporioides* causante de antracnosis en este cultivo.

La eficacia de los agentes de biocontrol bacteriano está estrictamente asociada con su capacidad para colonizar activamente los nichos ecológicos ocupados por

los fitopatógenos, para alcanzar estos nichos, las bacterias se mueven en el ambiente gracias a apéndices externos, tales como flagelos ([Tomada, et al., 2016](#)). Por otro lado, algunas bacterias aeróbicas formadoras de esporas poseen ventajas que las hacen candidatas adecuadas para su uso como agentes de biocontrol, e. g., las especies del género *Bacillus* son capaces de producir esporas que permiten resistir condiciones ambientales adversas, además de favorecer una fácil formulación y almacenamiento de los productos comerciales ([Raza, et al., 2016](#)).

La actividad de biocontrol, debe ser considerada como un modo de comportamiento, dependiente de las condiciones predominantes, más que como una propiedad inherente de una cepa bacteriana ([Cray, et al., 2016](#)). Recientemente, el desarrollo de técnicas moleculares ha permitido construir herramientas de reconocimiento genético para analizar y estudiar el comportamiento bacteriano dentro de la comunidad microbiana del suelo ([Kong, et al., 2016](#)).

Por ejemplo, [Gopalakrishnan, et al., \(2012\)](#), obtuvieron siete aislados bacterianos (SRI-156, SRI-158, SRI-178, SRI-211, SRI-229, SRI-305 y SRI-360), de la rizósfera de un sistema de arroz (*Oryza sativa*) intensivo con potencial, tanto para promover el crecimiento de la planta, como para el biocontrol de la pudrición carbonosa del sorgo, causada por *Macrophomina phaseolina*, y concluyeron que las cepas bacterianas seleccionadas produjeron sideróforos, ácido indolacético (excepto SRI-305), cianuro de hidrógeno (excepto SRI-158 y SRI-305) y solubilización de fosfatos (excepto SRI-360).

Los sideróforos producidos por aislamientos resistentes a metales pesados se han relacionado con el control biológico de enfermedades, como el marchitamiento vascular causado por *Fusarium oxysporum* y la podredumbre del tallo de la nuez de guisante causada por *Rhizoctonia solani* ([Sayyed y Patel, 2011](#)).

Las RPCV han desarrollado diversas estrategias, tanto para sobrevivir y adaptarse a su entorno, como para proveer a la planta de Fe, una de estas estrategias es la producción de sideróforos ([de Los Santos-Villalobos, et al.,](#)

[2012](#)). Por ejemplo, diversas especies de los géneros *Pseudomonas*, *Bacillus* y *Enterobacter* han sido evaluadas y reportadas como agentes de biocontrol contra patógenos de plantas, bajo condiciones de estrés de Fe, estas cepas producen sideróforos que quelan el Fe disponible y privan de este elemento a los fitopatógenos respectivos, restringiendo así su proliferación y colonización de la raíz ([Solanki, et al., 2013](#)).

### 1. Producción de Antibióticos

La antibiosis es probablemente el mecanismo más conocido y quizá el más importante utilizado por las RPCV para limitar la invasión de patógenos en las plantas. Consiste en inhibir el desarrollo de microorganismos fitopatógenos a través de la producción de metabolitos secundarios ([Saraf, et al., 2014](#)), o de la secreción de moléculas de amplio espectro ([Molina-Romero, et al., 2015](#)). Estos últimos autores destacan que estos metabolitos actúan a través de mecanismos de acción como: a) inhibición de síntesis de pared celular; b) desestabilización estructural de la membrana celular; y c) inhibición de la formación del complejo de iniciación de la traducción de los organismos fitopatógenos.

Además, [Raaijmakers y Mazzola \(2012\)](#) señalan que los antibióticos abarcan un grupo químicamente heterogéneo de compuestos orgánicos de bajo peso molecular, producidos por microorganismos que son perjudiciales para el crecimiento o las actividades metabólicas de otros microorganismos, generalmente actúan sobre varios procesos vitales de éstos, incluyendo la biosíntesis de la pared celular y la síntesis de ADN, ARN y proteínas. Como ejemplo de RPCV productoras de antibióticos destacan los géneros *Burkholderia* y *Streptomyces* ([Molina-Romero, et al., 2015](#)).

Las bacterias que reducen la incidencia o la gravedad de las enfermedades de las plantas se denominan agentes de control biológico, mientras que las que exhiben actividad antagónica hacia un patógeno se definen como antagonistas. Se puede destacar el siguiente entorno rizosférico y las actividades antagónicas: 1) síntesis de enzimas hidrolíticas, tales como quitinasas, glucanasas, proteasas y lipasas, que pueden lisar células fúngicas patógenas; 2) competencia por

elementos nutritivos y colonización adecuada de nichos en la superficie de la raíz; 3) la regulación de los niveles de etileno de las plantas a través de la enzima ACC-desaminasa, que puede actuar para modular el nivel de etileno en una planta en respuesta al estrés impuesto por la infección; y 4) producción de sideróforos y antibióticos ([Beneduzi, et al., 2012](#)).

Las RPCV como agentes de biocontrol son aisladas e introducidas en una cantidad óptima en la rizósfera para controlar el desarrollo de enfermedades de las plantas ([Raza, et al., 2016](#)). Por ejemplo, las *P. fluorescens* generan fenazinas y la pirrolnitrina que son antibióticos de amplio espectro ([Upadhyay y Srivastava, 2011](#)).

## 2. Producción de Enzimas Líticas

Una gran variedad de microorganismos producen diferentes enzimas que actúan contra otros microorganismos que están presentes en su hábitat, los cuales pueden actuar como fitopatógenos, provocando pérdidas económicas en cultivos como arroz, trigo, soya, entre otros ([Tejera-Hernández, et al., 2011](#)). Debido a esta característica, diversas cepas de RPCV tienen la capacidad de degradar las paredes celulares de ciertos microorganismos, a través de la producción de enzimas hidrolíticas, tales como  $\beta$ -glucanasas, celulasas, dehidrogenasas, exo y endo-poligalacturonasas, fosfatasas, hidrolasas, lipasas, pectinoliasas, proteasas y quitinasas, las cuales actúan fundamentalmente contra los hongos ([Molina-Romero, et al., 2015](#); [Noumavo, et al., 2016](#)).

[Tejera-Hernández et al., \(2011\)](#), señalan que *B. subtilis* produce estos metabolitos con capacidad para contrarrestar efectos del hongo *F. oxysporum*. Dentro de las rizobacterias productoras de dichas enzimas destacan *B. altitudinis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. cereus*, *B. subtilis* ([Molina-Romero, et al., 2015](#)). Estos *Bacillus* utilizan diversos mecanismos que pueden inhibir patógenos fúngicos, incluyendo la competencia por elementos nutritivos, la producción de lipopéptidos antifúngicos, o la producción de enzimas líticas tales como quitinasas, que pueden degradar la pared celular de los hongos, como un medio para evitar la extensión de las hifas de éstos ([Figuerola-Lopez, et al., 2016](#)).

La actividad antifúngica de los microorganismos se debe a su capacidad para generar lipopéptidos y glicopéptidos: ejemplos de éstos son los ramnolípidos y la surfactina producidos por *P. aeruginosa* y *B. subtilis*, respectivamente, lo que les permite solubilizar los principales componentes de las membranas celulares microbianas, además de brindarles una mayor oportunidad de supervivencia en hábitats con alta competencia por elementos nutritivos ([Jiménez, et al., 2010](#)). Esta actividad antifúngica permite a las RPCV proteger la planta contra el estrés biótico mediante la eliminación de patógenos ([Mahmood, et al., 2016](#)).

### 3. Producción de Compuestos Volátiles

La actividad antagonica de las RPCV también da resultados a través de la producción de compuestos volátiles ([Lakshmi, et al., 2015](#)). Estos compuestos juegan un papel primordial en el control de patógenos, en contraste con los antibióticos, que sólo pueden prevenir que los patógenos infecten las plantas, adicionalmente, estos compuestos pueden propagarse a larga distancia y crear un microambiente bacteriostático alrededor de las comunidades antagonicas ([Raza, et al., 2016](#)). El compuesto volátil más conocido es el cianuro de hidrógeno (HCN). El principal grupo de RPCV utilizadas como agentes de control biológico es el género *Pseudomonas*, las cuales se consideran las productoras más comunes de cianuro, además de poseer una amplia aplicación en procesos biotecnológicos, de gran envergadura para las agroindustrias ([Lakshmi, et al., 2015](#)).

Como ejemplos complementarios, las bacterias *P. fluorescens* cepa F113rif (F113) es un agente biocontrol aislado de la rizosfera de la remolacha azucarera (*Beta vulgaris* var. *altissima*) capaz de suprimir la enfermedad producida por el oomiceto *Pythium ultimum*, la capacidad de biocontrol de esta cepa se ha relacionado con la producción de metabolitos secundarios, entre los cuales destacan: sideróforos, diacetil-floro-glucinol (DAPG), HCN y una proteína extracelular ([Barahona, et al., 2011](#)). Por su parte, las bacterias *B. methylotrophicus* presentaron los mayores efectos antagonicos contra fitopatógenos, debido a su capacidad para producir antibióticos y/o compuestos orgánicos volátiles como HCN, el cual inhibe el crecimiento de los hongos

fitopatógenos y ejerce efectos nocivos en su crecimiento in vitro ([Rios, et al., 2016](#)).

Otro efecto significativo de las RPCV que producen HCN es que su incorporación a la rizosfera de la maleza reduce los parámetros de crecimiento de ésta, sin o con un efecto muy reducido sobre las especies vegetales de interés económico, esta práctica resulta ser una alternativa de bajo costo y ambientalmente amigable para el biocontrol de la maleza, contra la aplicación de herbicidas y compuestos sintéticos, nocivos para el ambiente. Además, la incorporación de estas rizobacterias ofrece diversas ventajas, como un cambio en el balance de la competencia entre maleza y cultivo a favor del cultivo y en contra de la maleza; mayor selectividad, menor resistencia y la introducción de prácticas agrícolas que son sustentables ([Lakshmi, et al., 2015](#)).

Independientemente de los beneficios ya descritos, el papel de la producción de cianuro es contradictorio ya que puede estar asociado con rizobacterias deletéreas así como con bacterias benéficas ([Saharan y Nehra, 2011](#)).

#### **4. Inducción de Resistencia Sistémica**

Al igual que todos los seres vivos, las plantas poseen genes que codifican para generar diversas armas químicas, pequeñas moléculas exógenas, denominadas inductores, las cuales son extremadamente eficientes, que constituyen mecanismos de defensa que las protegen contra el ataque de organismos patógenos, ya sea disminuyendo o impidiendo dicho ataque. Este fenómeno biológico se ha denominado resistencia ([Gómez y Reis, 2011](#)). La resistencia sistémica es un estado fisiológico que mejora la capacidad defensiva, elicitado por estímulos específicos ambientales. Las defensas innatas de las plantas son potenciadas hacia subsecuentes desafíos bióticos. Este estado mejorado de resistencia es efectivo contra un amplio rango de patógenos, plantas parasitas e insectos herbívoros ([Canchignia, et al., 2015](#)).

El mecanismo de resistencia sistémica, implica dos fenómenos: la resistencia sistémica inducida (RSI) y adquirida (RSA), que aunque son distintos, fenotípicamente son semejantes ([Canchignia, et al., 2015](#)). La RSI está asociada

con la capacidad de las RPCV para promover el crecimiento de las plantas y protegerlas contra el ataque de patógenos, y la RSA está asociada a las respuestas de las especies vegetales ante la presencia o ataque de los patógenos ([Díaz-Puentes, 2012](#)).

La similitud de ambas resistencias se basa en que, las plantas, después de ser expuestas a un agente inductor, activan mecanismos de defensa tanto en el punto de infección como en otras regiones (resistencia sistémica), de forma más o menos generalizada y su diferencia radica en la naturaleza del elictor – molécula presente en el inductor – y las vías de señalización. Cuando estas últimas son provocadas por un agente biótico pueden depender tanto del ácido salicílico (AS), asociado con la acumulación de las proteínas relacionadas con la patogénesis (PRP), como del ácido jasmónico (jasmonato) y del etileno, no está asociado, en este caso, con la acumulación de las PRP, es conocida como RSA, mientras que si el inductor es de tipo abiótico sólo sigue la vía del ácido jasmónico y el etileno, entonces corresponde a la RSI ([Canchignia, et al., 2015](#); [Gómez y Reis, 2011](#)).

La RSI puede ser inducida por una gran variedad de microorganismos que incluyen bacterias Gram-positivas como *B. altitudinis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. cereus*, *B. mycoide*, *B. pasteurii*, *B. pumilus*, *B. sphaericus*, o bacterias Gram-negativas pertenecientes al género *Pseudomonas* e.g., *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. aeruginosa* y enterobacterias como *Serratia* e. g., *S. marcescens*, *S. plymuthica*, así como *Pantoea agglomerans*, a través de la generación de diversos metabolitos, entre los cuales destacan: AS, lipopolisacáridos (LPS), sideróforos, lipopéptidos cíclicos, 2,4-diacetilfloroglucinol, lactonas homoserinas y compuestos volátiles como acetoin y 2,3-butanediol ([Molina-Romero, et al., 2015](#)).

[Saharan y Nehra \(2011\)](#) señalan que; provocadas por una infección local, las plantas responden con una cascada de señalización dependiente del AS que conduce a la expresión sistémica de amplio espectro y resistencia a la enfermedad de larga duración que es eficaz contra hongos, bacterias y virus. Después de la infección, los niveles endógenos del AS se incrementan local y



sistemáticamente, y los niveles del AS se incrementan en el floema antes de que ocurra la RSI. Además establecen que, el AS es sintetizado en respuesta a la infección, tanto local como sistemáticamente: en consecuencia la nueva producción de AS en las partes no infectadas de las plantas puede contribuir en consecuencia a la expresión sistémica de la RSI.

Por otro lado, [Camarena-Gutiérrez y de la Torre-Almaráz \(2007\)](#), señalan que sí las plantas sobreviven a un ataque inicial de organismos patógenos o bien sí la protección se genera después de: a) un ataque de artrópodos herbívoros o b) un daño mecánico o del contacto con algunos productos químicos sintéticos, éstas pueden protegerse contra ataques posteriores por patógenos homólogos aun cuando las plantas no posean genes determinantes de la resistencia específica del cultivar, quedando inmunes. Esta capacidad de las células para repeler los subsecuentes ataques y que se dispersa a toda la planta, corresponde a la RSA. La RSA presenta cuatro características peculiares: 1) es efectiva contra un amplio espectro de organismos patógenos, dependiendo de la especie vegetal tratada; 2) es de largo plazo; 3) se dispersa en las plantas, principalmente, en dirección apical; y 4) se mueve hacia las yemas injertadas: estas dos últimas características sugieren convincentemente que las señales establecidas por la RSA son traslocadas a través de la planta. El tiempo y grado de protección de la RSA depende de la especie vegetal y del inductor, esto se debe a que algunos efectores inducen la RSA en unas especies y en otras no ([Díaz-Puentes, 2012](#)). Adicionalmente, a través del tiempo, su fuerza y estabilidad pueden ser afectadas por las condiciones climáticas y la nutrición ([Camarena-Gutiérrez y de la Torre-Almaráz, 2007](#)).

Un aspecto esencial de la RSA es que la primera infección provocada por un patógeno genere una lesión necrótica, la cual puede ser el resultado de la muerte celular programada después del reconocimiento del patógeno en una interacción incompatible o de la muerte celular originada por la acción del patógeno en una interacción compatible ([Camarena-Gutiérrez y de la Torre-Almaráz, 2007](#)). La secuencia de eventos que favorecen la RSA inicia localmente: es decir, en las células adyacentes a la respuesta hipersensitiva se observa el engrosamiento de

las paredes celulares por incorporación de proteínas estructurales o lignina, 1. deposición de calosa y la inducción de la síntesis de fitoalexinas ([Camarena-Gutiérrez y de la Torre-Almaráz, 2007](#)).

### **Inoculación de RPCV en Plantas bajo Condiciones de Estrés**

Ciertas RPCV no solo proporcionan tolerancia en condiciones de estrés en las plantas si no que tienen la habilidad de promover el crecimiento en ellas aún bajo condiciones de estrés.

#### **1. Metales Pesados**

La contaminación por compuestos orgánicos (es decir, productos petrolíferos y disolventes) y metales pesados (Cd, Cr, Cu, Hg, Pb) son problemas ambientales importantes en todo el mundo y tienen efectos negativos sobre la salud humana y la productividad agrícola ([Shakeel y Yaseen, 2015](#)). La acumulación de contaminantes en los suelos y su posterior lixiviación en el ecosistema tiene efectos en cascada, lo que afecta negativamente al crecimiento y al rendimiento de las plantas. La absorción de contaminantes del suelo por las plantas de cultivo y la consiguiente entrada de carcinógenos, disruptores endocrinos y neurotoxinas en la cadena alimentaria son preocupaciones importantes para la salud humana y animal ([Wang, et al., 2014](#)).

Las RPCV han desarrollado mecanismos para inmovilizar, movilizar o transformar metales, haciéndolos inactivos para tolerar los iones metálicos ([Parray, et al., 2016](#)).

A estos mecanismos también llamados fitorremediación, es una tecnología relativamente nueva que ofrece claras ventajas sobre los métodos tradicionales para la limpieza de sitios contaminados. La fitorremediación incluye: 1) Fitoextracción: la captación y translocación de contaminantes en fase disuelta de agua subterránea en tejido vegetal, 2) Fitovolatilización: la transferencia del contaminante al aire a través de la transpiración de la planta, 3) La degradación de la rizósfera: la descomposición de contaminantes orgánicos dentro de la rizósfera rica en microbios (suelo que rodea la raíz), 4) Fitodegradación: la descomposición de los contaminantes orgánicos dentro del tejido vegetal y 5)

Control hidráulico: el uso de árboles para interceptar y transpirar grandes cantidades de agua subterránea o superficial con el fin de contener o controlar la migración de contaminantes ([Abdel, et al., 2015](#)).

## 2. Salinidad

La productividad de las plantas en suelos salinos se reduce considerablemente debido al desequilibrio de nutrientes, el estrés osmótico y el cierre parcial de los estomas. Las plantas también pueden sufrir desestabilización de la membrana. Se ha reportado que la salinidad de los suelos reduce el crecimiento de las plantas, la capacidad fotosintética, la síntesis proteica, el metabolismo energético y lipídico y los contenidos totales de nitrógeno ([Upadhyay, et al., 2011](#)).

La salinidad afecta de un 20 - 50 % del total de tierras cultivadas e irrigadas en el mundo, respectivamente, el uso de agua salina en la agricultura se está incrementando gradualmente debido a la escasez de agua dulce. El agua salina reduce la tasa de transpiración de las plantas al interrumpir el sistema de evapotranspiración reduciendo así el rendimiento de los cultivos. Un alto porcentaje de sal en la zona de las raíces afecta la densidad de las raíces, la presión de turgencia y la absorción de agua, por consecuente el crecimiento y desarrollo de las plantas ([Habib, et al., 2016](#)).

En condiciones salinas, los niveles de Na no solo afectan a la asimilación de nutrientes sino que causa toxicidad. Ciertas RPCV tienen la habilidad de proteger a la planta de los efectos perjudiciales por las altas concentraciones de Na en suelos salinos ([Parray, et al., 2016](#)). Algunas RPCV además de promover el crecimiento son resistentes a la salinidad, es decir el crecimiento se da a pesar de condiciones de salinidad, investigaciones realizadas en el cultivo del pepino a dos niveles de salinidad 2 y 5 % de NaCl peso/volumen. *Bacillus megaterium* fue el menos afectado por la alta salinidad. *Pseudomonas fluorescens* fue la mejor variedad para mantener la actividad de ACC-desaminase, sideróforos y la producción de AIA en condiciones de estrés ([Nadeem, et al., 2016](#)).

Uno de los mecanismos de las RPCV para aliviar el estrés salino es la síntesis de ACC desaminase en la rizósfera, lo que disminuye el nivel de acumulación de etileno en plantas estresadas ([Suarez, et al., 2015](#)). El uso combinado de Si y

RPCV es un enfoque eficaz para maximizar la productividad de frijol mungo en tierras marginales con agua salina, los efectos combinados ayudan a las plantas a aclimatarse a condiciones salinas mediante la modificación de una variedad de procesos fisiológicos de las plantas, incluyendo la conductancia estomática, la tasa de transpiración, las relaciones hídricas y la síntesis de pigmentos fotosintéticos, mejorando así el crecimiento (altura de la planta, área foliar y biomasa seca) y rendimiento ([Mahmood, et al., 2016](#)).

### 3. Sequía

El estrés por sequía promueve la producción de radicales libres de oxígeno en las plantas, que podrían ser eliminados y desintoxicados por sistemas enzimáticos y no enzimáticos para proteger a la planta de lesiones oxidativas ([Sarma y Saikia, 2014](#)). En la rizósfera el estrés por sequía afecta en una decreción de la fijación de N<sub>2</sub> (nitrógeno atmosférico). La inoculación de RPCV ha ayudado significativamente en cultivos como el pimiento, el pepino y el frijol. En general las RPCV alivian los efectos del estrés de sequía en las plantas a través de rizobacterias inducidas por resistencia a la sequía y la resiliencia (RIRSR), abarcando tanto las fisiológicas y modulaciones bioquímicas. Varios métodos RIRSR incluyen alteraciones en los niveles fitohormonales, defensa antioxidante, exopolisacáridos bacterianos (EPS) y numerosos metabolitos que contribuyen al ajuste osmótico incluyendo azúcares, poliaminas y aminoácidos. Además, un conjunto específico de compuestos orgánicos volátiles y proteínas ([Parray, et al., 2016](#)).

La cepa de *Pseudomonas aeruginosa* provoca la tolerancia al estrés hídrico en las plantas de *Vigna radiata* (frijol mungo) acelerando la acumulación de niveles inherentes de enzimas antioxidantes, osmólitos celulares y explotando consistentemente la regulación positiva de genes sensibles al estrés ([Sarma y Saikia, 2014](#)). La capacidad de las plantas para utilizar el agua para el crecimiento depende de sus aberturas estomáticas, la conductancia estomática (vapor de agua que sale a través de la apertura estomática) de la hoja de la planta, era mayor en las plantas inoculadas con RPCV que en las no inoculadas en condiciones de sequía ([Sarma y Saikia, 2014](#)).

#### 4. Temperaturas Extremas

Para que una rizobacteria pueda funcionar bien en el campo debe persistir y proliferar en el ambiente. Muchos fitopatógenos son más destructivos en climas fríos. Las rizobacterias psicrófilicas y psicrotóxicas, secretan proteínas anticongelantes, regulando la formación de cristales de hielo fuera de la bacteria, protegiendo así la pared celular bacteriana y la membrana del daño potencialmente letal (perforación) de la formación de grandes cristales de hielo que de otro modo podrían ocurrir en congelación ([Glick, 2012](#)).

Semillas de chicharos (*Pisum sativum* L.) *in vitro*, inoculadas con cepas de RPCV (PR-12-12 y PR-12-15) mostraron mayor crecimiento celular a temperaturas de hasta 5 °C en caldo de extracto de sales de levadura-manitol-minerales, los aislamientos mostraron significancia en comparación con otras cepas de RPCV ([Kumar Meena, et al., 2015](#)).

En contraste las altas temperaturas también son un problema que se asocia al calentamiento global. Algunas rizobacterias tienen la cualidad de termotolerancia, sintetizan proteínas de choque térmico las cuales protegen a otras proteínas que son afectadas por las altas temperaturas ([Palacio-Rodríguez, et al., 2016](#)).

Estudios indica que las reacciones positivas de la comunidad microbiana en respuesta al CO<sub>2</sub> y el calentamiento pueden acelerar la descomposición microbiana y potencialmente conducir a pérdidas de C del suelo ([Nie, et al., 2015](#)). La cepa *Ochrobactrum intermedium* L115 puede promover el crecimiento de *Arachis hypogaea* en condiciones de altas temperaturas y salinidad, modificando el grado de insaturación de ácidos grasos y aumentando los niveles de fosfatidilcolina ([Paulucci, et al., 2015](#)). El Calcisol producido por RPCV, *P. alcaligenes* PsA15, *Bacillus polymyxa* BcP26 y *Mycobacterium phlei* MbP18 proporciona tolerancia a altas temperaturas y estrés salino ([Bhardwaj, et al., 2014](#)).

## LITERATURA CITADA

- Abdel, G. T. M., Mohamed, A. A. A., Moustafa, E. N., y Abdel-Rahman, M. S. (2015). Rhizosphere Microorganisms as Inducers for Phytoremediation a Review. *International Journal of Bioinformatics and Biomedical Engineering*, 1(1), 7-15.
- Aguado-Santacruz, G. A., Moreno-Gómez, B., Jiménez-Francisco, B., García-Moya, E., y Preciado-Ortiz, R. E. (2012). Impacto de los sideróforos microbianos y fitosideróforos en la asimilación de hierro por las plantas: Una síntesis. *Revista fitotecnia mexicana*, 35(1), 9-21.
- Ahemad, M., y Kibret, M. (2013). Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *Journal of King Saud University - Science*, 26(1), 1-20. doi: 10.1016/j.jksus.2013.05.001
- Ahmed, E., y Holmström, S. J. (2014). Siderophores in environmental research: roles and applications. *Microb Biotechnol*, 7(3), 196-208. doi: 10.1111/1751-7915.12117
- Armenta-Bojórquez, A. D., García-Gutierrez, C., Camacho-Báez, J. R., Apodaca-Sánchez, M. Á., Gerardo-Montoya, L., y Nava-Pérez, E. (2010). Biofertilizantes en el desarrollo agrícola de México. . *Ra Ximhai*, 6(1), 51-56.
- Barahona, E., Navazo, A., Martínez-Granero, F., Zea-Bonilla, T., Perez-Jimenez, R. M., Martin, M., y Rivilla, R. (2011). *Pseudomonas fluorescens* F113 mutant with enhanced competitive colonization ability and improved biocontrol activity against fungal root pathogens. *Appl Environ Microbiol*, 77(15), 5412-5419. doi: 10.1128/AEM.00320-11
- Barroso, F. L., Abad, M. M., Rodríguez, H. P., y Jerez, M. E. (2015). Aplicación de Fitomas-E y Ecomic® para la reducción del consumo de fertilizante mineral en la producción de posturas de cafeto. *Cultivos Tropicales*, 36(4), 158-167.
- Beltrán, P. E. M. (2014). La solubilización de fosfatos como estrategia microbiana para promover el crecimiento vegetal. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 15(1), 101-113.

- Beneduzi, A., Ambrosini, A., y Passaglia, L. M. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (RPCV): Their potential as antagonists and biocontrol agents. *Genet Mol Biol*, 35(4), 1044-1051.
- Berendsen, R. L., Pieterse, C. M., y Bakker, P. A. (2012). The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends Plant Sci*, 17(8), 478-486. doi: 10.1016/j.tplants.2012.04.001
- Bhardwaj, D., Ansari, M. W., Sahoo, R. K., y Tuteja, N. (2014). Biofertilizers function as key player in sustainable agriculture by improving soil fertility, plant tolerance and crop productivity. *Microbial Cell Factories*, 13(66), 1-10.
- Bhattacharyya, P. N., y Jha, D. K. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (RPCV): emergence in agriculture. *World J Microbiol Biotechnol*, 2012(28), 1327-1350. doi: 10.1007/s11274-011-0979-9
- Camarena-Gutiérrez, G., y de la Torre-Almaráz, R. (2007). Resistencia sistémica adquirida en plantas: estado actual. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 13(2), 157-162.
- Canchignia, M. H., Cruz, R. N., Barrera, Á. A., Morante, C. J., Canchignia, M. G., y Peñafiel, J. M. (2015). Aplicación de Rizobacterias que promueven el crecimiento en plantas (RPCV) del género *Pseudomonas* spp como controladores biológicos de insectos y nemátodos-plagas. *Ciencias Agrarias*, 8(1), 25-35.
- Cotler, H., Martínez, M., y Etchevers, J. (2016). Carbono orgánico en suelos agrícolas de México: Investigación y políticas públicas. *Terra Latinoamericana*, 34(1), 125-138.
- Cray, J. A., Connor, M. C., Stevenson, A., Houghton, J. D., Rangel, D. E., Cooke, L. R., y Hallsworth, J. E. (2016). Biocontrol agents promote growth of potato pathogens, depending on environmental conditions. *Microb Biotechnol*, 9(3), 330-354. doi: 10.1111/1751-7915.12349
- Darwin, F. (1880). Life and Letters of Charles Darwin. *World J Microbiol Biotechnol*, W. Clowes, Ed(London).
- de Los Santos-Villalobos, S., Barrera-Galicia, G. C., Miranda-Salcedo, M. A., y

- Pena-Cabriales, J. J. (2012). *Burkholderia cepacia* XXVI siderophore with biocontrol capacity against *Colletotrichum gloeosporioides*. *World J Microbiol Biotechnol*, 28(8), 2615-2623. doi: 10.1007/s11274-012-1071-9
- Díaz-Puentes, L. N. (2012). Resistencia sistémica adquirida mediada por el ácido salicílico. *Bioteconología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 10(2), 257-267.
- FAO, F. a. A. O. o. t. U. N. (2015). World fertilizer trends and outlook to 2018. Rome, <http://www.fao.org/3/a-i4324e.pdf>.
- Faria, D. C., Dias, A. C., Melo, I. S., y de Carvalho Costa, F. E. (2013). Endophytic bacteria isolated from orchid and their potential to promote plant growth. *World J Microbiol Biotechnol*, 29(2), 217-221. doi: 10.1007/s11274-012-1173-4
- Ferrera, C. R., y Alarcón, A. (2001). La microbiología del suelo en la agricultura sostenible. *Ciencia Ergo Sum*, 8(2), 175-183.
- Figuroa-Lopez, A. M., Cordero-Ramirez, J. D., Martinez-Alvarez, J. C., Lopez-Meyer, M., Lizarraga-Sanchez, G. J., Felix-Gastelum, R., Castro-Martínez, C. y Maldonado-Mendoza, I. E. (2016). Rhizospheric bacteria of maize with potential for biocontrol of *Fusarium verticillioides*. *Springerplus*, 5(1-12). doi: 10.1186/s40064-016-1780-x
- Fuentes, Á., Carreño, C., y Llanos, C. (2013). Rendimiento de exopolisacáridos emulgentes producidos por bacterias halófilas nativas en tres concentraciones de melaza de *Saccharum officinarum* L. "caña de azúcar". *Scientia Agropecuaria*, 4(2013), 111-120.
- Glick, B. R. (2012). Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica*, 2012(1), 963401. doi: 10.6064/2012/963401
- Glick, B. R. (2014). Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiol Res*, 169(1), 30-39. doi: 10.1016/j.micres.2013.09.009
- Gómez, D. E., y Reis, E. M. (2011). Inductores abióticos de resistencia contra fitopatógenos. *Química Viva*, 10(1), 6-17.
- Gopalakrishnan, S., Upadhyaya, H., Vadlamudi, S., Humayun, P., Vidya, M. S.,



- Alekhya, G., y Rupela, O. (2012). Plant growth-promoting traits of biocontrol potential bacteria isolated from rice rhizosphere. *Springerplus*, 1(71), 1-7.
- Goswami, D., Thakker, J. N., Dhandhukia, P. C., y Tejada Moral, M. (2016). Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (RPCV): A review. *Cogent Food y Agriculture*, 2(1). doi: 10.1080/23311932.2015.1127500
- Grageda-Cabrera, O. A., Díaz-Franco, A., Peña-Cabriales, J. J., y Vera-Nuñez, J. A. (2012). Impacto de los biofertilizantes en la agricultura. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 3(6), 1261-1274.
- Großkinsky, D. K., Tafner, R., Moreno, M. V., Stenglein, S. A., Garcia de Salamone, I. E., Nelson, L. M., Novák O., Strnad M., Graaff E. V. D., y Roitsch, T. (2016). Cytokinin production by *Pseudomonas fluorescens* G20-18 determines biocontrol activity against *Pseudomonas syringae* in *Arabidopsis*. *Sci Rep*, 6, 23310. doi: 10.1038/srep23310
- Guerra, G. A., Betancourth, C. A., y Salazar, C. E. (2011). Antagonismo de *Pseudomonas fluorescens* Migula frente a *Fusarium oxysporum* sp . *pisi* Schtdl en arveja *Pisum sativum* L. . *Revista U.D.C.A Actualidad y Divulgación Científica*, 14(2), 33-42.
- Habib, S. H., Kausar, H., y Saud, H. M. (2016). Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Enhance Salinity Stress Tolerance in Okra through ROS-Scavenging Enzymes. *Biomed Res Int*, 2016, 6284547. doi: 10.1155/2016/6284547
- Hernández-Rodríguez, A., Heydrich-Pérez, M., Velázquez-del Valle, M. G., y Hernández-Lauzardo, A. N. (2006). Perspectivas del Empleo de Rizobacterias Como Agentes de Control Biológico en Cultivos de Importancia Económica. *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*, 24(1), 42-49.
- Jha, C. K., y Saraf, M. (2015). Plant growth promoting Rhizobacteria ( RPCV ): a review. *Journal of Agricultural Research and Development*, 5(2). doi: 10.13140/RG.2.1.5171.2164

- Jiménez, I. D., Medina, M. S. A., y Gracida, R. J. N. (2010). Propiedades, aplicaciones y producción de biotensoactivos. . *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 26(1), 65-84.
- Joseph, B., Patra, R. R., y Lawrence, R. (2007). Characterization of plant growth promoting rhizobacteria associated with chickpea (*Cicer arietinum* L.). *International Journal of Plant Production*, 2007(2), 141-151.
- Kong, H. G., Kim, N. H., Lee, S. Y., y Lee, S. W. (2016). Impact of a Recombinant Biocontrol Bacterium, *Pseudomonas fluorescens* pc78, on Microbial Community in Tomato Rhizosphere. *Plant Pathol J*, 32(2), 136-144. doi: 10.5423/PPJ.OA.08.2015.0172
- Kumar, M. R., Kumar, S. R., Pal, S. N., Kumari, M. S., y Singh, M. V. (2015). Isolation of low temperature surviving plant growth – promoting rhizobacteria (RPCV) from pea (*Pisum sativum* L.) and documentation of their plant growth promoting traits. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 4(4), 806-811. doi: 10.1016/j.bcab.2015.08.006
- Labra-Cardón, D., Guerrero-Zúñiga, L. A., Rodríguez-Tovae, A. V., Montes-Villafán, S., Pérez-Jiménez, S., y Rodríguez-Dorantes, A. (2012). Respuesta de crecimiento y tolerancia a metales pesados de *Cyperus elegans* y *Echinochloa polystachya* inoculadas con una rizobacteria aislada de un suelo contaminado con hidrocarburos derivados del petróleo. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 28(1), 7-16.
- Lakshmi, V., Kumari, S., Singh, A., y Prabha, C. (2015). Isolation and characterization of deleterious *Pseudomonas aeruginosa* KC1 from rhizospheric soils and its interaction with weed seedlings. *Journal of King Saud University - Science*, 2015(27), 113-119. doi: 10.1016/j.jksus.2014.04.007
- López, P. J. P., y Boronat, G. R. (2016). Aspectos básicos de la fijación de nitrógeno atmosférico por parte de bacterias. Estudio en el laboratorio de educación secundaria. *Revista Eureka sobre Enseñanza y Divulgación de las Ciencias*, 13(1), 203-209.
- Mahmood, A., Turgay, O. C., Farooq, M., y Hayat, R. (2016). Seed biopriming

- with plant growth promoting rhizobacteria: a review. *FEMS Microbiol Ecol*, 92(8). doi: 10.1093/femsec/fiw112
- Mahmood, S., Daur, I., Al-Solaimani, S. G., Ahmad, S., Madkour, M. H., Yasir, M., Hirt, H., Ali, S., y Ali, Z. (2016). Plant Growth Promoting Rhizobacteria and Silicon Synergistically Enhance Salinity Tolerance of Mung Bean. *Front Plant Sci*, 7(876), 1-14. doi: 10.3389/fpls.2016.00876
- Masciarelli, O., Llanes, A., y Luna, V. (2014). A new RPCV co-inoculated with *Bradyrhizobium japonicum* enhances soybean nodulation. *Microbiol Res*, 169(2014), 609-615. doi: 10.1016/j.micres.2013.10.001
- Mishra, P., y Dash, D. (2014). Rejuvenation of Biofertiliser for Sustainable Agriculture Economic Development *Consilience: The Journal of Sustainable Developmen*, 11(1), 41-61.
- Molina-Romero, D., Bustillos-cristales, M. R., Rodríguez-andrade, O., y Elizabeth, Y. (2015). Mecanismos de fitoestimulación por rizobacterias , aislamientos en América y potencial biotecnológico. *Revista de La DES Ciencias Biológico Agropecuarias*, 17(2), 24-34.
- Nadeem, S. M., Ahmad, M., Naveed, M., Imran, M., Zahir, Z. A., y Crowley, D. E. (2016). Relationship between in vitro characterization and comparative efficacy of plant growth-promoting rhizobacteria for improving cucumber salt tolerance. *Arch Microbiol*, 198(4), 379-387. doi: 10.1007/s00203-016-1197-5
- Naqqash, T., Hameed, S., Imran, A., Hanif, M. K., Majeed, A., y Van Elsas, J. D. (2016). Differential Response of Potato Toward Inoculation with Taxonomically Diverse Plant Growth Promoting Rhizobacteria. *Front Plant Sci*, 7, 144. doi: 10.3389/fpls.2016.00144
- Nehra, V., Saharan, B. S., y Choudhary, M. (2016). Evaluation of *Brevibacillus brevis* as a potential plant growth promoting rhizobacteria for cotton (*Gossypium hirsutum*) crop. *Springerplus*, 5(1), 948. doi: 10.1186/s40064-016-2584-8
- Nie, M., Bell, C., Wallenstein, M. D., y Pendall, E. (2015). Increased plant productivity and decreased microbial respiratory C loss by plant growth-

- promoting rhizobacteria under elevated CO<sub>2</sub>. *Sci Rep*, 5, 9212. doi: 10.1038/srep09212
- Nihorimbere, V., Ongena, M., Smargiassi, M., y Thonart, P. (2011). Beneficial effect of the rhizosphere microbial community for plant growth and health. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 15(2), 327-337.
- Nisha, K., Devi, P. S. N., Vasandha, S., y Kumari, S. K. (2014). Role of Phosphorous Solubilizing Microorganisms to Eradicate P- Deficiency in Plants: A Review. . *International Journal of Scientific and Research Publications*, 4(7), 1-5.
- Noumavo, P. A., Agbodjato, N. A., Baba-Moussa, F., Adjanooun, A., y Baba-Moussa, L. (2016). Plant growth promoting rhizobacteria: Beneficial effects for healthy and sustainable agriculture. *African Journal of Biotechnology*, 15(27), 1452-1463. doi: 10.5897/ajb2016.15397
- Palacio-Rodríguez, R., Ramos, B. P., Coria-Arellano, J. L., Nava, R. B., y Jorge., S.-M. (2016). Mecanismos de las RPCV para mitigar el estrés abiótico de plantas. *Arido Ciencia*, 5-12.
- Paredes-Mendoza, M., y Espinosa-Victoria, D. (2010). Organic Acids Produced by Phosphate Solubilizing Rhizobacteria: A Critical Review. *Terra Latinoamericana*, 28(1), 61-70.
- Parray, J. A., Jan, S., Kamili, A. N., Qadri, R. A., Egamberdieva, D., y Ahmad, P. (2016). Current Perspectives on Plant Growth-Promoting Rhizobacteria. *Journal of Plant Growth Regulation*, 35(3), 877-902. doi: 10.1007/s00344-016-9583-4
- Paulucci, N. S., Gallarato, L. A., Reguera, Y. B., Vicario, J. C., Cesari, A. B., Garcia de Lema, M. B., y Dardanelli, M. S. (2015). *Arachis hypogaea* RPCV isolated from Argentine soil modifies its lipids components in response to temperature and salinity. *Microbiol Res*, 173, 1-9. doi: 10.1016/j.micres.2014.12.012
- Petti, C., Reiber, K., Ali, S. S., Berney, M., y Doohan, F. M. (2012). Auxin as a player in the biocontrol of Fusarium head blight disease of barley and its potential as a disease control agent. *BMC Plant Biol*, 12, 224. doi:

10.1186/1471-2229-12-224

- Porcel, R., Zamarreño, Á. M., García-Mina, J. M., y Aroca, R. (2014). Involvement of plant endogenous ABA in *Bacillus megaterium* RPCV activity in tomato plants. *BMC Plant Biol*, 14(36), 1-12.
- Raaijmakers, J. M., y Mazzola, M. (2012). Diversity and natural functions of antibiotics produced by beneficial and plant pathogenic bacteria. *Annu Rev Phytopathol*, 2012(50), 20.21-20.22. doi: 10.1146/annurev-phyto-081211-172908
- Raza, W., Wang, J., Wu, Y., Ling, N., Wei, Z., Huang, Q., y Shen, Q. (2016). Effects of volatile organic compounds produced by *Bacillus amyloliquefaciens* on the growth and virulence traits of tomato bacterial wilt pathogen *Ralstonia solanacearum*. *Appl Microbiol Biotechnol*, 100(17), 1-12. doi: 10.1007/s00253-016-7584-7
- Rios, V. C., Caro, C. J., Berlanga, R. D., Ruiz, C. M., Ornelas, P. J., Salas, M. M., Villalobos, P. E., y Guerrero, P. V. (2016). Identification and antagonistic activity *in vitro* of *Bacillus* spp. and *Trichoderma* spp. isolates against common phytopathogenic fungi. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 34(1), 84-99. doi: 10.18781/r.mex.fit.1507-1
- Rives, N., Acebo, Y., y Hernández, A. (2007). Bacterias promotoras del crecimiento vegetal en el cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.). Perspectivas de su uso en Cuba. *Cultivos Tropicales*, 28(2), 29-38.
- Saha, R., Saha, N., Donofrio, R. S., y Bestervelt, L. L. (2013). Microbial siderophores: a mini review. *J Basic Microbiol*, 53(4), 303-317. doi: 10.1002/jobm.201100552
- Saharan, B. S., y Nehra, V. (2011). Plant Growth Promoting Rhizobacteria: A Critical Review. *Life Sciences and Medicine Research*, 2011(21), 1-30.
- Saraf, M., Pandya, U., y Thakkar, A. (2014). Role of allelochemicals in plant growth promoting rhizobacteria for biocontrol of phytopathogens. *Microbiol Res*, 169(2014), 18-29. doi: 10.1016/j.micres.2013.08.009
- Sarma, R. K., y Saikia, R. (2014). Alleviation of drought stress in mung bean by strain *Pseudomonas aeruginosa* GGRJ21. *Plant Soil*, 377(1-2), 111-126.

doi: 10.1007/s11104-013-1981-9)

- Sayyed, R. Z., y Patel, P. R. (2011). Biocontrol Potential of Siderophore Producing Heavy Metal Resistant *Alcaligenes* sp. and *Pseudomonas aeruginosa* RZS3 vis-a-vis Organophosphorus Fungicide. *Indian J Microbiol*, 51(3), 266-272. doi: 10.1007/s12088-011-0170-x
- Shakeel, M., y Yaseen, T. (2015). An Insight into Phytoremediation of Heavy Metals from Soil Assisted by Ancient Fungi from Glomeromycota-Arbuscular Mycorrhizal Fungi. *Science, Technology and Development*, 34(4), 215-220. doi: 10.3923/std.2015.215.220
- Shobha, G., y Kumudini, B. S. (2012). Antagonistic effect of the newly isolated RPCV *Bacillus* spp. on *Fusarium oxysporum*. *International Journal of Applied Science and Engineering Research*, 1(3), 463-474. doi: 10.6088/ijaser.0020101047
- Solanki, M. K., Singh, R. K., Srivastava, S., Kumar, S., Kashyap, P. L., Srivastava, A. K., y Arora, D. K. (2013). Isolation and characterization of siderophore producing antagonistic rhizobacteria against *Rhizoctonia solani*. *J Basic Microbiol*, 2013(00), 1-14. doi: 10.1002/jobm.201200564
- Suarez, C., Cardinale, M., Ratering, S., Steffens, D., Jung, S., Montoya, A. M. Z., Geissler-Plaum, R., y Schnell, S. (2015). Plant growth-promoting effects of *Hartmannibacter diazotrophicus* on summer barley (*Hordeum vulgare* L.) under salt stress. *Applied Soil Ecology*, 95(2015), 23-30. doi: 10.1016/j.apsoil.2015.04.017
- Tahir, M., y Aqeel, S. M. (2013). Plant Growth promoting rhizobacteria (RPCV): A budding complement of synthetic fertilizers for improving crop production. *Pakistan Journal of Life and Social Sciences*, 11(1), 1-7.
- Tejera-Hernández, B., Rojas-Badía, M. M., y Heydrich-Pérez, M. (2011). Potencialidades del género *Bacillus* en la promoción del crecimiento vegetal y el control biológico de hongos fitopatógenos. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 42(3), 131-138.
- Tomada, S., Puopolo, G., Perazzolli, M., Musetti, R., Loi, N., y Pertot, I. (2016). Pea Broth Enhances the Biocontrol Efficacy of *Lysobacter capsici* AZ78 by

- Triggering Cell Motility Associated with Biogenesis of Type IV Pilus. *Front Microbiol*, 7(1-14). doi: 10.3389/fmicb.2016.01136
- Upadhyay, A., y Srivastava, S. (2011). Phenazine-1-carboxylic acid is a more important contributor to biocontrol *Fusarium oxysporum* than pyrrolnitrin in *Pseudomonas fluorescens* strain Psd. *Microbiol Res*, 166(2011), 323-335. doi: 10.1016/j.micres.2010.06.001
- Upadhyay, S. K., Singh, J. S., y Singh, D. P. (2011). Exopolysaccharide-Producing Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Under Salinity Condition. *Pedosphere*, 21(2), 214-222.
- Vacheron, J., Desbrosses, G., Bouffaud, M. L., Touraine, B., Moenne-Loccoz, Y., Muller, D., Legendre, L., Wisniewski-Dye, F., y Prigent-Combaret, C. (2013). Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. *Front Plant Sci*, 4, 356. doi: 10.3389/fpls.2013.00356
- Vejan, P., Abdullah, R., Khadiran, T., Ismail, S., y Nasrulhaq Boyce, A. (2016). Role of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Agricultural Sustainability-A Review. *Molecules*, 21(5). doi: 10.3390/molecules21050573
- Venieraki, A., Dimou, M., Pergalis, P., Kefalogianni, I., Chatzipavlidis, I., y Katinakis, P. (2011). The genetic diversity of culturable nitrogen-fixing bacteria in the rhizosphere of wheat. *Microb Ecol*, 61(2), 277-285. doi: 10.1007/s00248-010-9747-x
- Wang, X., Mavrodi, D. V., Ke, L., Mavrodi, O. V., Yang, M., Thomashow, L. S., Zheng, N., Weller, D. M., y Zhang, J. (2014). Biocontrol and plant growth-promoting activity of rhizobacteria from Chinese fields with contaminated soils. *Microb Biotechnol*, 8(3), 404-418. doi: 10.1111/1751-7915.12158
- Xiang, W., Zhao, L., Xu, X., Qin, Y., y Yu, G. (2012). Mutual Information Flow between Beneficial Microorganisms and the Roots of Host Plants Determined the Bio-Functions of Biofertilizers. *American Journal of Plant Sciences*, 03(08), 1115-1120. doi: 10.4236/ajps.2012.38134
- Xu, X. M., Jeffries, P., Pautasso, M., y Jeger, M. J. (2011). A numerical study of combined use of two biocontrol agents with different biocontrol

mechanisms in controlling foliar pathogens. *Phytopathology*, 101(9), 1032-1044. doi: 10.1094/PHYTO-10-10-0267

Zahid, M., Abbasi, M. K., Hameed, S., y Rahim, N. (2015). Isolation and identification of indigenous plant growth promoting rhizobacteria from Himalayan region of Kashmir and their effect on improving growth and nutrient contents of maize (*Zea mays* L.). *Front Microbiol*, 6, 207. doi: 10.3389/fmicb.2015.00207

Zhou, H., Luo, C., Fang, X., Xiang, Y., Wang, X., Zhang, R., y Chen, Z. (2016). Loss of GltB Inhibits Biofilm Formation and Biocontrol Efficiency of *Bacillus subtilis* Bs916 by Altering the Production of gamma-Polyglutamate and Three Lipopeptides. *PLoS One*, 11(5), 1-20. doi: 10.1371/journal.pone.0156247



## ARTÍCULO 1

**Las rizobacterias halófilas mantienen la calidad forrajera de *Moringa oleifera* cultivada en sustrato salino**

**Halophilic rhizobacteria maintain the forage quality of *Moringa oleifera* grown in saline substrate**

Verónica García Mendoza<sup>a</sup>

Alex Edray Hernández Vázquez<sup>a</sup>

José Luis Reyes Carrillo<sup>a</sup>

Uriel Figueroa Viramontes<sup>b</sup>

Jorge Sáenz Mata<sup>c</sup>

Héctor Mario Quiroga Garza<sup>a</sup>

Emilio Olivares Sáenz<sup>d</sup>

Pedro Cano Ríos<sup>a</sup>

José Eduardo García Martínez<sup>a\*</sup>

<sup>a</sup> Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Posgrado en Ciencias Agrarias, Blvd. Raúl López Sánchez Km. 2. C.P. 27054. Torreón, Coah., México.

<sup>b</sup> INIFAP, Campo Experimental La Laguna, Matamoros, Coah., México.

<sup>c</sup> Universidad Juárez del Estado de Durango, Facultad de Ciencias Biológicas, Gómez Palacio, Durango, México.

<sup>d</sup> Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Agronomía, Gral. Escobedo, Nuevo León, México.

\* Autor de correspondencia: edugarmartz@gmail.com

## 29 **Resumen**

30 Para obtener un incremento en la producción forrajera de *Moringa oleifera* Lam. y de buena calidad  
31 se puede combinar el uso de compost a base de estiércol bovino y la inoculación de RPCV. La  
32 evaluación de esta producción se realizó en invernadero en Torreón, Coahuila, México. Se utilizó  
33 compost de estiércol bovino como sustrato (compost 50%, arena 40% y perlita 10%). Se  
34 programaron tres inoculaciones al árbol (a los 40, 74 y 152 dds) con cuatro cepas de RPCV, los  
35 siguientes fueron los tratamientos T1: *Bacillus paralicheniformis*, T2: *Acinetobacter guillouiae*,  
36 T3: *Aeromonas caviae*, T4: *Pseudomonas lini* y Te: Sin bacteria, las cepas provenientes de la Poza  
37 Salada, Valle de Sobaco, Coahuila, México. Se realizaron tres cosechas en el ciclo verano-otoño-  
38 invierno 2016-2017. Se evaluaron variables agronómicas y bromatológicas para determinar la  
39 producción y calidad del follaje del árbol. Las cepas *Pseudomonas lini* y *Bacillus paralicheniformis*  
40 proporcionaron una respuesta positiva en el desarrollo de *M. oleifera* forrajera en el período de  
41 verano-otoño, incrementando la altura en las primeras semanas de desarrollo y proporcionando  
42 diámetros más gruesos y firmes. El rendimiento y las variables bromatológicas no presentaron  
43 diferencia entre los tratamientos, sin embargo, se produjo un forraje de buena calidad. En promedio  
44 las hojas presentaron el 13.56% de cenizas, 70.15% de Total de Nutrientes Digestibles (TND),  
45 93.16% de Digestibilidad *in vitro* de Materia Seca (DIVMS), 19.72% de Fibra Detergente Neutra  
46 (FDN), 25.35% de Fibra Detergente Ácida (FDA) y un 24.15% de Proteína Cruda (PC).

47  
48 **Palabras clave:** Biofertilizantes, Biomasa, Compost, Digestibilidad, Fertilizantes, Inoculación,  
49 Proteína, Rumiantes.

**Abstract**

To obtain an increase in the forage production of *Moringa oleifera* Lam. and of good quality it is possible to combine the use of compost based on bovine manure and the inoculation of RPCV. The evaluation of this production was carried out in a greenhouse in Torreón, Coahuila, Mexico. Bovine manure compost was used as a substrate (50% compost, 40% sand and 10% perlite). Three inoculations were programmed to the tree (at 40, 74 and 152 days after planting) with four RPCV strains, the following were the treatments T1: *Bacillus paralicheniformis*, T2: *Acinetobacter guillouiae*, T3: *Aeromonas caviae*, T4: *Pseudomonas lini* and Te: Without bacteria, the strains from the Poza Salada, Valle de Sobaco, Coahuila, Mexico. Three harvests were carried out in the summer-autumn-winter 2016-2017 cycle. Agronomic and bromatological variables were evaluated to determine the production and quality of the tree. The strains *Pseudomonas lini* and *Bacillus paralicheniformis* provided a positive response in the development of the forage *M. oleifera* in the summer-autumn period, increasing the heights in the first weeks of development and providing thicker and firmer diameters. The yield and the bromatological variables showed no difference between the treatments, however, a good quality forage was produced. On average, the leaves presented 13.56% ash, 70.15% Total Digestible Nutrients (TDN), 93.16% Dry Material Digestibility in vitro (IVDMD), 19.72% Neutral Detergent Fiber (NDF), 25.35% Fiber Detergent Acid (DAF) and 24.15% of Crude Protein (CP).

**Key words:** Biofertilizers, Biomass, Compost, Digestibility, Fertilizers, Inoculation, Protein, Ruminants.

## 71 **Introducción**

72 La alimentación a rumiantes, especialmente para la producción lechera, requiere el suministro de  
73 niveles altos de energía y proteína<sup>(1)</sup>. Los suministros de concentrados convencionales  
74 generalmente son costosos<sup>(2)</sup>. El árbol de *Moringa oleifera* Lam., es una especie con alto valor  
75 nutricional y buena producción de biomasa llegando a tener una producción anual de  $25 t \cdot ha^{-1}$  en  
76 condiciones de bosque tropical seco<sup>(3)</sup>. Además de que los costos de alimentación son relativamente  
77 bajos, diez veces más bajos al utilizar *M. oleifera* que alimentos balanceados<sup>(4)</sup>. Las raciones para  
78 el ganado lechero formuladas con forraje de *M. oleifera*, proporcionan un alto valor proteico entre  
79 15-30 %, 16-53 % de FDN, con digestibilidades entre 52-85 %<sup>(5)</sup>. El suministro de una dieta de *M.*  
80 *oleifera* fresca puede ocasionar un mal sabor y aroma en la leche, pero si la dieta es con ensilado  
81 de *M. oleifera*, la leche muestra buenas características organolépticas<sup>(6)</sup> por lo que *M. oleifera* es  
82 una opción para complementar la alimentación del ganado lechero.

83 Por otro lado, la intensificación de la producción de la industria lechera aumenta la generación de  
84 estiércol, lo que representa un riesgo de contaminación<sup>(7)</sup>. Las excretas del ganado lechero tienen  
85 un menor impacto ambiental cuando se usan como abonos orgánicos<sup>(8)</sup>. Sin embargo se debe tener  
86 cuidado con la utilización de este puesto que las cinco sales solubles (Na, K, Ca, Mg y S)  
87 acumuladas pueden generar efectos adversos<sup>(9)</sup>. El aumento de la salinidad influye en la calidad del  
88 forraje, incluyendo materia orgánica (MO), proteína cruda (PC), fibra detergente neutra (FDN)<sup>(10)</sup>.  
89 Más de la mitad del territorio mexicano es árido y semiárido y la diversidad natural, incluyendo su  
90 suelo, está siendo amenazado<sup>(11)</sup>. Los futuros escenarios predictivos de acuerdo con el cambio  
91 climático, muestran el creciente riesgo de salinización en diferentes latitudes que requerirán un  
92 esfuerzo especial para mantener la producción de cultivos bajo estrés salino<sup>(12)</sup>.

93 El uso de biofertilizantes a base de rizobacterias promotores del crecimiento vegetal (RPCV), son  
94 una opción para reducir la contaminación del suelo, también causada en parte por fertilizantes  
95 nitrogenados<sup>(13)</sup>. Las RPCV ejercen efectos benéficos en las plantas a través mecanismos directos  
96 e indirectos como la fijación de nitrógeno, síntesis de fitohormonas, solubilización de fósforo,  
97 secreción de sideróforos, el incremento en la permeabilidad de las raíces, inducción de resistencia  
98 sistémica, entre otros<sup>(14,15)</sup>. En efecto, la inoculación de diversas cepas de RPCV permite el  
99 desarrollo de plantas en lugares con problemas de sequías, en suelos contaminados con metales  
100 pesados e incluso suelos salinos<sup>(16)</sup>. La hipótesis supone que si se produce en suelos o sustratos con  
101 conductividades eléctricas elevadas, se puede utilizar la inoculación de RPCV halófilas para  
102 obtener una buena producción e incrementar la calidad, en este caso del forraje de *M. oleífera*. El  
103 objetivo de este trabajo fue evaluar la calidad de la producción de *M. oleífera* para fines forrajeros  
104 inoculados con RPCV halófilas, utilizando compost en el sustrato y té de compost en el riego ambos  
105 de estiércol bovino.

106

## 107 **Materiales y Métodos**

108 La investigación se realizó en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna  
109 (UAAAN-UL), ubicada en Torreón, Coahuila, México, el cual presenta una altitud de 1120 msnm.

110 En el ciclo verano-otoño-invierno 2016-2017, en condiciones de invernadero. Las temperaturas  
111 máximas y mínimas fueron registradas durante el experimento.

112 El diseño experimental utilizado fue en bloques al azar, 5 tratamientos (correspondientes a 4  
113 diferentes cepas de RPCV; Cuadro 1) y 5 repeticiones por tratamiento. Las RPCV fueron  
114 proporcionadas por la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Juárez del Estado de  
115 Durango, las cuales fueron aisladas de la rizósfera del pasto halófilo *Distichlis spicata*, tomado de

116 la Poza Salada en el Valle de Sobaco, ubicado en el Municipio de Cuatrociénegas, Coahuila,  
117 México<sup>(17)</sup>.

118 Se realizó una siembra directa de semilla de *M. oleifera* L. el 10 de julio de 2016, en bolsas negras  
119 de polietileno horadadas de 18 L de capacidad. El sustrato utilizado fue una mezcla de compost  
120 (50%), arena (40%) y perlita (10%). El compost fue adquirido del rancho Ampuero al cual se le  
121 aplicó el método de solarización antes de su utilización<sup>(18)</sup>. Se colocó una semilla por bolsa a una  
122 profundidad de 5 cm. Previo a la siembra se aplicó un lavado al sustrato, por cada kg de sustrato  
123 un litro de agua, para la disminución de sales. El acomodo de las macetas fue en cuatro hileras, con  
124 arreglo topológico en tresbolillo, con una separación entre tallos de 0.25 x 0.25 m y alcanzando  
125 una densidad de 16 árboles m<sup>-2</sup>.

126 La inoculación de las bacterias RPCV fue a los 40 días después de la siembra, colocando 3 mL a  
127 una concentración de  $1 \times 10^8$  UFC mL<sup>-1</sup> de RPCV, en la base del tallo y se realizaron inoculaciones  
128 a los ocho días después del primer y segundo corte.

129 Las variables evaluadas fueron: rendimiento, variables bromatológicas y relación hoja/tallo. El  
130 muestreo se realizó cuando el árbol alcanzó una altura promedio de 1.50 m, y antes de que iniciara  
131 la floración, dejando un forraje remanente a los 0.25 m de altura.

132 Los riegos que se aplicaron fueron con té de compost, 1 L cada tercer día. Este té se obtuvo  
133 sumergiendo 5 kg de compost de estiércol bovino en una red dentro de un recipiente de 200 L. El  
134 agua se colocaba un día antes para lograr la evaporación del cloro que pudiera tener. En cada  
135 elaboración se adicionaron 90 g de piloncillo y se colocaron oxigenadores dentro del recipiente de  
136 200 L durante 12 horas. Transcurrido este tiempo se retiraba la red que contenía el compost y el té  
137 estaba listo para utilizarse. El Cuadro 2 muestra la composición química del compost y el té de  
138 compost obtenido.

139 La única plaga presentada durante el experimento fue *Tetranychus urticae* la cual se controló con  
140 aplicaciones de eBioluzión Plus vO® (Febea bio), insecticida orgánico de amplio espectro.

141 Las variables agronómicas evaluadas fueron tomadas una vez por semana: altura del árbol,  
142 diámetro de tallo, número de tallos, número de hojas, tamaño de hojas, peso de la raíz, peso fresco  
143 y seco del forraje, rendimiento la relación hoja/tallo.

144 La altura del árbol fue tomada con un estadal colocándolo en la parte basal del suelo y tomando la  
145 altura hasta el ápice de la rama apical. El diámetro del tallo se midió con un vernier, 3 cm arriba de  
146 la parte basal. Se contó el número de tallos después del segundo y tercer corte. Se contó el número  
147 de hojas compuestas de cada tallo. Se midió el tamaño de hoja con una cinta métrica, la lectura se  
148 tomó desde el raquis primario hasta el foliolo apical. Se utilizó una balanza digital para tomar el  
149 peso de la raíz; para esto se cortó el tallo desde la parte basal y se retiró todo el sustrato tratando  
150 de mantener la mayor cantidad de raíz. El forraje se pesó en fresco en una balanza digital al  
151 momento de hacer el corte con tijeras para poda, hojas y tallos en conjunto y por separado (hojas  
152 sin el raquis y tallos incluyendo el raquis de las hojas). Para obtener el peso seco se llevaron las  
153 muestras de forraje al laboratorio, se colocó cada muestra en bolsas de papel con su respectiva  
154 etiqueta para secarse en estufa de aire forzado a 60 °C durante 24 horas hasta obtener un peso  
155 constante en las muestras. Utilizando una balanza analítica se registró el peso seco con el cual  
156 después se calculó el rendimiento de materia seca, sumando el peso seco de hojas más el peso seco  
157 de tallos. La relación hoja/tallo se calculó al dividir el peso seco de las hojas (PSH) entre el peso  
158 seco de los tallos (PST), con la ecuación  $H/T = PSH/PST$ .

159 Las variables bromatológicas se realizaron solo en el último corte e incluyeron: materia fresca  
160 (MF), materia seca (MS), cenizas, grasa, fibra detergente neutra (FDN), fibra detergente ácida  
161 (FDA), fibra cruda (FC), proteína cruda (PC), extracto libre de nitrógeno (ELN), carbohidratos no

162 fibrosos (CNF), digestibilidad *in vitro* de materia seca (DIVMS), energía neta de lactancia (EN<sub>L</sub>)  
163 y total de nutrientes digestibles (TND).

164 Las muestras fueron secadas a 60 °C durante 24 h hasta obtener un peso constante, después se  
165 trituraron a través de un tamiz de 1 mm antes del análisis. Las cenizas se analizaron utilizando el  
166 procedimiento de AOAC<sup>(19)</sup>. La grasa se extrajo utilizando el método Goldfisch. La FDN y FDA  
167 se obtuvieron por medio del método de Van Soest<sup>(20)</sup>. La FC se determinó por el método de  
168 Weende. La PC fue determinada con el método Kjeldahl. La DIVMS se obtuvo utilizando la  
169 incubadora Daisy (Ankom Technology). Para el cálculo de ELN, CNF, EN<sub>L</sub> y TND se utilizaron  
170 las siguientes fórmulas:  $ELN (\%) = 100 - (MS + PC + FC + Grasa + Cenizas)$ ,  $CNF (\%) = 100 -$   
171  $(PC + FDN + Grasa + Cenizas)$ ,  $EN_L = 1.044 - (0.0124 * FDA)$  y  $TND = 31.4 + (53.1 * EN_L)$ .

172 Las variables se sometieron a un análisis de varianza utilizando el programa estadístico SAS para  
173 Windows versión 9.0. En los casos donde se encontraron diferencias entre medias se aplicó la  
174 prueba de Diferencia Mínima Significativa (DMS), con una significancia de  $\alpha = 0.05$ . Se utilizó el  
175 programa Excel de Office 2010 para determinar la ecuación de regresión en la variable altura.

176

## 177 **Resultados**

### 178 - **Crecimiento**

179 El crecimiento del árbol de *M. oleifera* de la siembra a la primera cosecha mostró una diferencia  
180 significativa entre los tratamientos de los 216 a los 247 días julianos. La última semana antes de la  
181 primera cosecha no fue afectada por los tratamientos aplicados, no mostró diferencia significativa,  
182 esto pueda deberse al inicio de la floración (Gráfica 1). Este crecimiento fue en el período de verano  
183 el cual muestra una tendencia lineal. El incremento promedio que presentó el árbol es de 3.16 cm  
184 por día, llegando a obtener una altura promedio de 1.76 m a los 66 días. En este período, el árbol  
185 presentó el mayor crecimiento en el experimento. Las temperaturas presentadas en este período



186 favorecieron al crecimiento, las cuales fueron de 20-22 °C como mínima y de 38-42 °C como  
187 máxima.

188 En la segunda cosecha del árbol se obtuvo una diferencia significativa en el crecimiento a partir de  
189 los 277 a 299 días julianos, excepto en las siguientes cinco semanas antes de la cosecha (Gráfica  
190 2). Esta segunda cosecha correspondió al período de otoño, el crecimiento muestra también una  
191 tendencia lineal. Sin embargo, presenta una disminución de 52 %, con respecto al crecimiento de  
192 verano; el incremento promedio es de 1.51 cm por día. Este decremento se atribuye al cambio de  
193 estación y con ello la disminución de la temperatura, la cual osciló entre 15-16 °C como mínima y  
194 entre 36 y 40 °C como máxima. La altura promedio de 1.50 m para su corte se alcanzó a los 77  
195 días después de la primera cosecha. El árbol requirió de 11 días más que la primera cosecha para  
196 alcanzar la altura promedio antes de realizar la cosecha.

197 Después de la segunda cosecha coincide con la entrada del invierno, el árbol no presentó  
198 crecimiento durante el primer mes esto debido a las bajas temperaturas que oscilaron entre 9.5-10.5  
199 °C como mínima y de 32.5-35.5 °C como máxima. Por lo tanto la tercera cosecha no presentó  
200 diferencia significativa entre los tratamientos. La Gráfica 3 muestra que los datos asemejan una  
201 regresión polinomial de segundo grado debido al crecimiento lento. La altura promedio para  
202 realizar el corte se alcanzó hasta los 117 días. El árbol requirió 40 días más para alcanzar la altura  
203 promedio para el corte en comparación con la segunda cosecha y 51 días más en comparación con  
204 la primera cosecha. En esta última cosecha se presentaron las primeras floraciones (2%). La plaga  
205 que se presentó en el desarrollo del experimento fue presencia de *Tetranychus urticae*.

#### 206 - **Variables agronómicas**

207 De las variables agronómicas evaluadas, el diámetro de tallo presenta diferencia significativa entre  
208 los tratamientos en la segunda y tercera cosecha (Cuadro 3). Los tratamientos que mayor diámetro  
209 de tallo obtuvieron fueron T1: *Bacillus paralicheniformis* y T4: *Pseudomonas lini*,

210 estadísticamente son iguales. Después de la primera cosecha inicia el crecimiento nuevamente, el  
211 tallo principal de 0.25 cm de alto presenta rebrotes o tallos secundarios. El número de tallos  
212 secundarios varían, en el experimento se presentaron hasta 8 rebrotes, pero solo de 1 a 4 se  
213 desarrollan satisfactoriamente. Lo mismo sucedió después de la tercera cosecha.

214 La raíz de la *M. oleifera* es tipo bulbo. El peso de la raíz recabado en la tercera cosecha presenta  
215 diferencia significativa entre los tratamientos, siendo el T4: *Pseudomonas lini* el que presenta el  
216 mayor peso con 341.54 g.

217 En la tercera cosecha el número de hojas entre los tratamientos son estadísticamente iguales pero  
218 superior al control. El tratamiento T3: *Aeromonas caviae* y T4: *Pseudomonas lini* presentan el  
219 mayor número de hojas 16.4 y 15 hojas respectivamente.

220 El tamaño de las hojas en los árboles no se ve afectado por los tratamientos aplicados para ninguna  
221 de las tres cosechas. El tamaño de hoja presenta un decremento conforme pasan los cortes. Las  
222 longitudes del tratamiento T4: *Pseudomonas lini* son 43.69, 42.75 y 36.50 para la primera, segunda  
223 y tercera cosecha respectivamente.

224 El rendimiento promedio de materia fresca en hoja fue de  $9.44 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$  y en materia seca de  $4.86$   
225  $\text{t} \cdot \text{ha}^{-1}$ . El rendimiento promedio de materia fresca en tallo fue de  $25.08 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$  y en materia  
226 seca de  $7.08 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$ . El rendimiento no fue afectado por los tratamientos aplicados (Cuadro 4).

227 La relación hoja/tallo muestra un aumento conforme aumentan las cosechas. El promedio de la  
228 relación hoja/tallo de la primera cosecha fue de 0.556, en la segunda y tercera cosecha fue de 0.768  
229 y 0.754, respectivamente. El porcentaje de hoja promedio fue de 35.72, 43.40 y 42.96% para la  
230 primera, segunda y tercera cosecha respectivamente. El Cuadro 5 muestra la relación hoja/tallo y  
231 el porcentaje de hoja que presentó el árbol, estas variables no fueron afectadas por los tratamientos.

232

## 233 **Variables bromatológicas**

234 Aunque la composición química del árbol se realizó únicamente en la última cosecha los valores  
235 obtenidos son muy buenos. En promedio se obtuvo en hojas el 13.57% de cenizas, 70.15 % de  
236 TND, 93.16 % de DIVMS, 19.72 % de FDN, 25.35 % de FDA y un 24.15 % de PC. En tallo los  
237 promedios obtenidos fueron 11.21 % de cenizas, 45.32 % de TND, 61.83 % de DVMS, 59.07 %  
238 de FDN, 58.01 % de FDA y 7.23 % de PC. El Cuadro 6 presenta el conjunto de variables  
239 bromatológicas analizadas para cada uno de los tratamientos.

240

## 241 **Discusión**

### 242 - **Crecimiento**

243 En la etapa de germinación de *M. olerifera* se obtuvo un 100% utilizando la siembra directa en las  
244 bolsas, teniendo en el sustrato una conductividad eléctrica (CE) de 12.77 mS/cm. Esto concuerda  
245 con lo obtenido por Noreem *et al*, (2018) que encontraron que las semillas de *M. oleifera* germinan  
246 solamente a 5 y 10 dS/m de niveles de salinidad, a CE más altas de 15 y 20 dS/m no se presenta la  
247 germinación<sup>(21)</sup>. El crecimiento promedio de los árboles de *M. oleifera* obtenidos entre los 4  
248 tratamientos y el control del experimento para la primera, segunda y tercera cosecha son los  
249 siguientes, 176.75 cm, 140.39 cm y 120.50 cm respectivamente. Los tiempos transcurridos para  
250 cada cosecha fueron a los 66, 77 y 117 dds respectivamente. En un estudio comparativo, en  
251 condiciones similares a este experimento, de *Moringa oleifera* y *Leucaena leucocephala* durante  
252 la germinación y la etapa inicial de crecimiento, obtuvieron un 95% de germinación, a las 13  
253 semanas una altura de 53.2 cm a los 91 días, utilizando en el sustrato 60% de suelo franco-limoso  
254 alcalino, 10% de arena y 20% de estiércol bovino compostado<sup>(22)</sup>. Las RPCV halófilas inoculadas  
255 en los árboles de *M. oleifera*, permitieron que el crecimiento se diera satisfactoriamente. El T4

256 presentó una altura significativa entre los tratamientos de 138.31 cm a los 47 dds, lo que representa  
257 un incremento del 61.68 % a lo obtenido por los autores anteriores y en la mitad del tiempo.

258 La *M. oleifera* tiene una tasa de crecimiento inicial lenta en condiciones de bajas temperaturas en  
259 la temporada de otoño-invierno<sup>(23)</sup>. Los climas tropicales parecen ser los mejores para el cultivo de  
260 *M. oleifera*; aún así se puede lograr un crecimiento reducido pero satisfactorio en climas inferiores  
261 a los óptimos, ya que los árboles parecen tolerar una temperatura de crecimiento más baja mediante  
262 adaptaciones fisiológicas<sup>(24)</sup>. Lo dicho por los autores concuerda con lo obtenido en este  
263 experimento. Es evidente que el crecimiento del árbol de *M. oleifera* es afectado al disminuir las  
264 temperaturas y al ataque de *T. urticae*. Sin embargo el crecimiento siguió.

#### 265 - **Variables agronómicas**

266 La calidad nutritiva de la *M. oleifera* está determinada en parte por las condiciones en las que se  
267 desarrolle. Las temperaturas bajas retardan su crecimiento<sup>(22)</sup>. La densidad de siembra afecta el  
268 desarrollo de las raíces, el diámetro de tallo y la biomasa. A mayores densidades de siembra los  
269 diámetros del árbol son más delgados y frágiles<sup>(25)</sup>. En este experimento la siembra fue en bolsas  
270 negras de polietileno con una densidad de 16 árboles m<sup>-2</sup>, donde no se esperaría ninguna de las  
271 alteraciones indicadas por los autores anteriores. Al utilizar menores densidades de siembra, resulta  
272 favorable cosechar a mayores alturas, con tallos de mayor diámetro y mayor número de rebrotes<sup>(26)</sup>.  
273 Sin embargo en la Gráfica 4 se muestra el acame que presentó el tratamiento testigo antes de la  
274 tercera cosecha. Esto debido a los diámetros delgados de los tallos y a la saturación de salinidad  
275 por el constante riego con el té de compost que presentó una CE de 3.27 mS/cm. Podemos decir  
276 que la inoculación con las RPCV halófilas dan mayor firmeza y grosor a los tallos  
277 proporcionándoles resistencia. En un estudio comparativo de la germinación y la etapa inicial de  
278 crecimiento obtuvieron resultados de 0.92 cm de diámetro a las 7 semanas resultados que están por  
279 debajo de los obtenidos en este experimento. El número de hojas obtenidos por rama fue de 16,

280 similar a los obtenidos en este experimento<sup>(21)</sup>. Lo que ocasiona los tallos delgados son las altas  
281 concentraciones de  $\text{Na}^+$  en la solución que inhibe la absorción de nutrientes, causando una  
282 disminución en las concentraciones de  $\text{K}^+$  y  $\text{Ca}^{2+}$  en los tejidos de los tallos y la raíz<sup>(27)</sup>. La raíz es  
283 parte fundamental para el desarrollo de las plantas. Una raíz bien desarrollada puede obtener  
284 mayores nutrimentos, así como el  $\text{Ca}^{2+}$  es lo que da firmeza y estructura a la pared celular. Las  
285 RPCV halófilas permiten la absorción de nutrientes en medios salinos, sin causar desordenes  
286 nutrimentales al paso de las cosechas.

287 El tamaños de hoja en el experimento presenta un decremento con el paso de los cosechas y con  
288 ello el cambio de estación y las temperaturas. Estos cambios ocasionan la pérdida de las hojas  
289 basales, lo que repercute en el rendimiento. El Cuadro 4 muestra los rendimientos del árbol de *M.*  
290 *oleifera* considerando 16 árboles  $\text{m}^{-2}$ . Las investigaciones realizadas por la mayoría de los autores  
291 son a cielo abierto, algunas otras en invernadero o vivero pero solamente a nivel germinación y  
292 plántula. En una investigación realizada a cielo abierto en el noreste de México, se obtuvieron 14.4  
293 y  $14.5 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$  de materia seca total en tres cosechas pero con una densidad de 11 y 33 árboles  $\text{m}^{-2}$   
294 respectivamente<sup>(28)</sup>. En Nicaragua se evaluó la producción de biomasa a cielo abierto con  
295 diferentes densidades de siembra de la cual obtuvieron una producción de MS de  $11.6 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$  al  
296 año, con una densidad de 100,000 árboles por ha y ocho cosechas por año<sup>(3)</sup>. Un estudio sobre el  
297 establecimiento de *M. oleifera* con varias densidades de plantas a cielo abierto, consiguieron 100.98  
298 g de MS con una densidad de 98,764 árboles por ha<sup>(24)</sup>.

299 Las hojas del árbol de *M. oleifera* son las que contienen la mayor cantidad de nutrimentos  
300 aprovechables. Los tallos proporcionan nutrimentos en menor cantidad. La relación hoja/tallo  
301 presentada en el Cuadro 5 nos muestra la proporción de gramos de hoja en MS por cada gramo de  
302 tallo. Se puede observar que en la segunda cosecha aumentó la proporción en promedio 0.22 g de  
303 hoja. Esto atribuible al número de tallos. En la segunda y tercera cosecha la proporción se mantiene

304 con valores similares. En el estudio realizado en el noreste de México, se observa que la relación  
305 tallo/hoja baja en la segunda cosecha y se incrementa en la tercera cosecha<sup>(27)</sup>. El objetivo de  
306 producir un buen forraje en este tipo de árboles es obtener la mayor cantidad de hojas y la menor  
307 cantidad de tallos.

#### 308 - **Variables bromatológicas**

309 Los forrajes son sensibles a la salinidad en diferente grado. A medida que la salinidad aumenta se  
310 reduce su biomasa<sup>(10)</sup>. El análisis bromatológico realizado a los árboles de *M. oleífera* (Cuadro 6),  
311 nos muestra que el contenido nutrimental es bueno, es decir, a pesar de desarrollarse en un sustrato  
312 salino la calidad del forraje no decayó. Aun y cuando no se muestra una diferencia entre los  
313 tratamientos se especula que en el cuarto corte el tratamiento testigo reduciría su calidad y biomasa  
314 debido a la saturación de salinidad. En un estudio sobre la composición química de las hojas de *M.*  
315 *oleífera* sembrada a una altitud de 1100 msnm, obtuvieron un contenido de ceniza de 13.3 %, 29  
316 % de PC, 8.5 % de fibra cruda (FC), 42.7 % de extracto libre de nitrógeno (ELN), 16.8 % de FDN,  
317 12.1 % de FDA y 34.5 % de carbohidratos no fibrosos (CNF)<sup>(29)</sup>. Los datos obtenidos por estos  
318 autores son muy similares a los obtenidos en esta investigación y a una altitud similar.

319 La caracterización bromatológica del follaje de *M. oleífera* realizada en diferentes estadios de  
320 desarrollo, sin riego ni fertilización; determinó que a medida que se incrementa la edad de rebrote  
321 disminuye su calidad nutrimental. La cantidad de FDN y lignina detergente ácida aumentan; la PC,  
322 digestibilidad en materia seca y TND disminuyen<sup>(30)</sup>. Situación que no se presentó en esta  
323 investigación. En las distintas investigaciones sobre *M. oleífera*, se han encontrado diversos  
324 resultados en cuanto a los análisis bromatológicos pero las variaciones son debido a las distintas  
325 condiciones bajo las que se produce el árbol.

326 Además se ha tratado de determinar el tiempo óptimo de corte de *M. oleífera* en el cual se obtenga  
327 la mayor calidad del forraje. Se evaluó la producción de *M. oleífera* a campo abierto y de temporal

328 con diferentes densidades y fechas de corte, así como su composición química y recomiendan  
329 cosechar la *M. oleifera* a intervalos de 75 días para obtener mayor calidad del forraje y un mayor  
330 rendimiento de MS, dado que el valor nutritivo del forraje de *M. oleifera* en términos de PC y  
331 DIVMS permanece constante a diferentes intervalos de la cosecha. En el primer año con 8 cosechas  
332 obtuvieron 18.54 % de MS, 8.58 % de cenizas, 32.12 % de FDN, 22.76 % de FDA, 22.63 % de  
333 PC, 70.09 % de DIVMS<sup>(31)</sup>.

334 Se ha utilizado a *M. oleifera* como un suplemento proteico alternativo. Se han alimentado diversas  
335 especies animales bovinas y caprinas, con diferentes porcentajes de *M. oleifera* en combinación  
336 con diversos forrajes y concentrados<sup>(2, 32-34)</sup>. El suministro de este suplemento proteico puede ser  
337 en fresco o ensilado. La composición química no tiene mucha variación. Suministrando *M. oleifera*  
338 en fresco se encontró 19.3 % de MS, 24.10 % de PC, 45.3 % de FDN, 29.9 % de FDA y 10.3 % de  
339 ceniza, mientras que en *M. oleifera* ensilada se obtuvo 26.70 % de MS, 22.6 % de PC, 43.50 % de  
340 FDN, 29.10 % de FDA y 11.6 % de cenizas. La diferencia considerable entre estas dos formas de  
341 suplemento es el sabor fuerte que proporciona la *M. oleifera* en fresco a la leche, al proporcionarla  
342 ensilada no cambian las características organolépticas de la leche<sup>(6)</sup>. Los resultados obtenidos en  
343 esta investigación cumplen con los parámetros requeridos en un forraje para ser incluido en la  
344 formulación de una dieta balanceada (Cuadro 6). La PC y la DIVMS son valores indicativos de un  
345 buen forraje, (24.15 y 93.16 % respectivamente) obtenidos en esta investigación. Como ya se  
346 mencionó a mayor porcentaje de DIVMS menor contenido de lignina. El alto porcentaje de DIVMS  
347 nos indica que el consumo de MS en los animales se incrementará. Las investigaciones anteriores  
348 nos muestran que el forraje contiene en promedio los elementos requeridos para beneficiar a los  
349 animales que la ingieren. Aun y produciendo dicho forraje en condiciones salinas inoculado con  
350 RPCV halófilas necesarias para que se desarrolle, se puede obtener un forraje de calidad como el  
351 obtenido en este experimento.

352  
353 **Conclusiones**  
354 Los resultados de este estudio muestran que *M. oleifera* producida bajo condiciones salinas pero  
355 inoculada con RPCV halófilas no incrementa la calidad del forraje y mantiene las características  
356 de calidad para ser incluido como suplemento proteico en la alimentación de diversas especies  
357 animales.

358 El tratamiento testigo mostró una resistencia sistémica a la salinidad, sin embargo antes del tercer  
359 corte presentó el acame de tallos.

360 Se debe continuar la investigación con las RPCV halófilas en diferentes suelos con problemas de  
361 salinidad e inoculadas a distintos forrajes y se podría sembrar en lugares que se creen incultivables.

362

### 363 **Literatura Citada**

364

365 1. Hoffmann EM, Muetzel S, Becker K. Effects of *Moringa oleifera* seed extract on rumen  
366 fermentation in vitro. Arch Anim Nutr 2003;57(1):65-81.

367 2. Mendieta-Araica B, Spörndly R, Reyes-Sánchez N, Spörndly E. Moringa (*Moringa oleifera*)  
368 leaf meal as a source of protein in locally produced concentrates for dairy cows fed low protein  
369 diets in tropical areas. Livest Sci 2011;137(1):10-17.

370 3. Mendieta-Araica B, Spörndly E, Reyes-Sánchez N, Salmerón-Miranda F, Halling M. Biomass  
371 production and chemical composition of *Moringa oleifera* under different planting densities and  
372 levels of nitrogen fertilization. Agrofor Syst 2013;87(1):81-92.

373 4. Pérez ÁR. *Moringa oleifera*: una alternativa forrajera para ovinos. Culiacán, Sin, Méx:  
374 Universidad Autónoma de Sinaloa; 2011.

375 5. García QII, Mora-Delgado J, Estrada AJ, Piñeros VR. ¿Cuál es el Efecto de la *Moringa oleifera*  
376 sobre la Dinámica Ruminal? Revisión sistemática. Rev Inv Vet Perú 2017;28(1):43-55.

377 6. Mendieta-Araica B, Spörndly E, Reyes-Sanchez N, Spörndly R. Feeding *Moringa oleifera* fresh  
378 or ensiled to dairy cows - effects on milk yield and milk flavor. Trop Anim Health Prod  
379 2011;43(5):1039-1047.



- 380 7. Sun J, Zeng B, Chen Z, Yan S, Huang W, Sun B *et al.* Characterization of faecal microbial  
381 communities of dairy cows fed diets containing ensiled *Moringa oleifera* fodder. *Sci Rep* 2017;7:1-  
382 9.
- 383 8. Galindo PFV, Hernández MF, Rangel PP, Valencia RT, Castruita MÁS, Vidal JAO.  
384 Caracterización físico-química de sustratos orgánicos para producción de pepino (*Cucumis sativus*  
385 L.) bajo sistema protegido. *Rev Mex Cienc Agríc* 2014;5(7):1219-1232.
- 386 9. Larney FJ, Olson AF, Miller JJ, Tovell BC. Soluble salts, copper, zinc, and solids constituents  
387 in surface runoff from cattle manure compost windrows. *Can J Soil Sci* 2014;94(4):515-527.
- 388 10. Robinson PH, Grattan SR, Getachew G, Grieve CM, Poss JA, Suarez DL *et al.* Biomass  
389 accumulation and potential nutritive value of some forages irrigated with saline-sodic drainage  
390 water. *Anim Feed Sci Technol* 2004;111(1):175-189.
- 391 11. Aguirre-Garrido JF, Montiel-Lugo D, Hernández-Rodríguez C, Torres-Cortes G, Millán V,  
392 Toro N *et al.* Bacterial community structure in the rhizosphere of three cactus species from semi-  
393 arid highlands in central Mexico. *Antonie van Leeuwenhoek* 2012;101(4):891-904.
- 394 12. Turrall H, Burke J, Faurès JM. Climate change, water and food security. 36th ed. Roma, Italia:  
395 FAO; 2011.
- 396 13. Bhardwaj D, Ansari MW, Sahoo RK, Tuteja N. Biofertilizers function as key player in  
397 sustainable agriculture by improving soil fertility, plant tolerance and crop productivity. *Microb*  
398 *Cell Fact* 2014;13(66):1-10.
- 399 14. Ahemad M, Kibret M. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria:  
400 Current perspective. *J King Saud Univ - Sci* 2013;26(1):1-20.
- 401 15. Glick BR. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica*  
402 2012;2012:1-15
- 403 16. Parray JA, Jan S, Kamili AN, Qadri RA, Egamberdieva D, Ahmad P. Current Perspectives on  
404 Plant Growth-Promoting Rhizobacteria. *J Plant Growth Regul* 2016;35(3):877-902.
- 405 17. Palacio-Rodríguez R, Coria-Arellano JL, López-Bucio J, Sánchez-Salas J, Muro-Pérez G,  
406 Castañeda-Gaytán G *et al.* Halophilic rhizobacteria from *Distichlis spicata* promote growth and  
407 improve salt tolerance in heterologous plant hosts. *Symbiosis* 2017;73(3):179-189.
- 408 18. Vázquez VC, Salazar SE, Fortis HM, Reyes OMI, Zúñiga TR, Antonio GJ. Uso de cubiertas  
409 plásticas para solarización de estiércol bovino. *Rev Mex Cienc Agríc* 2010;1(4):619-625.
- 410 19. AOAC. Official methods of analysis. 15th ed. Arlington, VA, USA: Association of Official  
411 Analytical Chemists. 1990.
- 412 20. Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA. Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber,  
413 and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. *J Dairy Sci* 1991;74(10):3583-  
414 3597.

- 415 21. Noreen F, Muhammad A, Muhammad S, Ghulam A, Mubshar H, Muhammad N *et al.*  
416 Germination, growth and ions uptake of moringa (*Moringa oleifera* L.) grown under saline  
417 condition. J Plant Nutr 2018;41(12):1-11.
- 418 22. Medina MG, García DE, Clavero T, Iglesias JM. Estudio comparativo de *Moringa oleifera* y  
419 *Leucaena leucocephala* durante la germinación y la etapa inicial de crecimiento. Zootecnia Trop  
420 2007;25(2):83-93.
- 421 23. da Costa PF, Rabello dOPS, Borsoi A, Soares dVE, Taffarel LE, Tiago PJ *et al.* Initial growth  
422 of *Moringa oleifera* Lam. under different planting densities in autumn/winter in south Brazil. Afr  
423 J Agric Res 2015;10(5):394-398.
- 424 24. Muhl QE, Du Toit ES, Robbertse PJ. *Moringa oleifera* (Horseradish Tree) Leaf Adaptation to  
425 Temperature Regimes. Int J Agric Biol 2011;13(6):1021-1024.
- 426 25. Goss M. A study of the initial establishment of multi - purpose moringa (*Moringa oleifera*  
427 Lam) at various plant densities, their effect on biomass accumulation and leaf yield when grown  
428 as vegetable. Afr J Plant Sci 2012;6(3):125-129.
- 429 26. Padilla C, Fraga N, Scull I, Tuero R, Sarduy L. Efecto de la altura de corte en indicadores de  
430 la producción de forraje de *Moringa oleifera* vc. Plain. Rev Cubana de Cienc Agríc  
431 2014;48(4):405-409.
- 432 27. Hu Y, Schmidhalter U. Drought and salinity: A comparison of their effects on mineral nutrition  
433 of plants. J Plant Nutr Soil Sci 2005;168:541-549.
- 434 28. Meza-Carranco Z, Bernal-Barragán H, Olivares-Sáenz E, Aranda-Ruiz J. Crecimiento y  
435 producción de biomasa de moringa (*Moringa oleifera* Lam.) bajo las condiciones climáticas del  
436 Noreste de México. TECNOCENCIA Chih 2016;10(3):143-153.
- 437 29. Melesse A, Steingass H, Boguhn J, Rodehutschord M. In vitro fermentation characteristics and  
438 effective utilisable crude protein in leaves and green pods of *Moringa stenopetala* and *Moringa*  
439 *oleifera* cultivated at low and mid-altitudes. J Anim Physiol Anim Nutr 2013;97(3):537-546.
- 440 30. Méndez Y, Suárez FO, Verdecia DM, Herrera RS, Labrada JA, Murillo B *et al.* Caracterización  
441 bromatológica del follaje de *Moringa oleifera* en diferentes estadios de desarrollo. Cuban J Agric  
442 Sci 2018;53(3):1-10.
- 443 31. Reyes SN, Ledin S, Ledin I. Biomass production and chemical composition of *Moringa oleifera*  
444 under different management regimes in Nicaragua. Agrofor Syst 2006;66(3):231-242.
- 445 32. Moyo B, Masika PJ, Muchenje V. Effect of supplementing crossbred Xhosa lop-eared goat  
446 castrates with *Moringa oleifera* leaves on growth performance, carcass and non-carcass  
447 characteristics. Trop Anim Health Prod 2012;44(4):801-809.
- 448 33. Reyes SN, Spörndly E, Ledin I. Effect of feeding different levels of foliage of *Moringa oleifera*  
449 to creole dairy cows on intake, digestibility, milk production and composition. Livest Sci  
450 2006;101(1):24-31.

451 34. Sultana N, Alimon AR, Huque KS, Sazili AQ, Yaakub H, Hossain J *et al.* The Feeding Value  
 452 of Moringa (*Moringa oleifera*) Foliage as Replacement to Conventional Concentrate Diet in  
 453 Bengal Goats. *Adv Anim Vet Sci* 2015;3(3):164-173.

454

455 **Cuadros y gráficas**456 **Cuadro 1.** Características de las RPCV utilizadas en cada tratamiento

|           | <b>ID de Cepa</b> | <b>Género/Especie de bacteria</b> | <b>Producción de AIA (µg)</b> | <b>Producción de sideróforos</b> | <b>Grado de solubilización de fosfatos (mm)</b> | <b>Tolerancia a la salinidad (%)</b> |
|-----------|-------------------|-----------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|---|--------------------------------------|
| <b>T1</b> | LBEndo1           | <i>Bacillus paralicheniformis</i> | 23.444±2.531                  | +                                | 4.589±0.221                                     | 15                                   |
| <b>T2</b> | NFbEndo2M2        | <i>Acinetobacter guillouiae</i>   | +                             | +                                | +   | <5                                   |
| <b>T3</b> | KBEndo3           | <i>Aeromonas caviae</i>           | +                             | +                                | +   | <5                                   |
| <b>T4</b> | KBecto4           | <i>Pseudomonas lini</i>           | 36.730±0.011                  | +                                | 4.112±0.042                                     | 15                                   |
| <b>Te</b> | Sin bacteria      |                                   |                               |                                  |   |                                      |

457 **T1=**Tratamiento 1, **T2=**Tratamiento 2, **T3=**Tratamiento 3, **T4=**Tratamiento 4 **Te=** Testigo.458 Fuente: Palacio-Rodríguez *et al.* (2017)

459

460 **Cuadro 2.** Composición química de macro y micronutrientes del compost y té de compost  
 461 utilizados para el sustrato y el riego de *M. oleifera*.

| -----Macronutrientes----- |      |       |        |      |      |      |      |                  |       |  |
|---------------------------|------|-------|--------|------|------|------|------|------------------|-------|--|
| Componente                | pH   | CE    | N      | P    | K    | Ca   | Mg   | Carbono orgánico | MO    |  |
|                           |      | mS/cm | -----% |      |      |      |      |                  |       |  |
| Compost                   | 8.35 | 12.77 | 0.11   | 0.45 | 2.95 | 18.8 | 0.94 | 17.75            | 30.60 |  |
| Té                        | 7.52 | 3.27  | 0.25   | 0.15 | 0.28 | 1.33 | 0.12 | -----            | 0.52  |  |

| -----Micronutrientes----- |      |       |      |               |       |        |        |       |
|---------------------------|------|-------|------|---------------|-------|--------|--------|-------|
| Componente                | pH   | CE    | Na   | Fe            | Cu    | Zn     | Mn     | Bo    |
|                           |      | mS/cm | %    | -----ppm----- |       |        |        |       |
| Compost                   | 8.35 | 12.77 | 0.43 | 5100.00       | 62.00 | 200.00 | 390.00 | 1.00  |
| Té                        | 7.52 | 3.27  | 0.18 | 3.21          | 0.86  | 2.96   | 3.44   | ----- |

462

463 **Cuadro 3.** Cuadro de medias para las variable diámetro de tallo (DT), número de tallos (NoT),  
 464 número de hojas (NoH), tamaño de hojas (TH) y peso de raíz (PR), en la evaluación de *M. oleifera*  
 465 inoculada con cuatro RPCV en la primera, segunda y tercera cosecha. UAAAN-UL. 2016-2017.

| <b>Primera cosecha</b> |                |    |            |   |            |   |                |   |               |    |
|------------------------|----------------|----|------------|---|------------|---|----------------|---|---------------|----|
| <b>Tratamiento</b>     | <b>DT (cm)</b> |    | <b>NoT</b> |   | <b>NoH</b> |   | <b>TH (cm)</b> |   | <b>PR (g)</b> |    |
| <b>T1</b>              | 1.413          | a  | 1.00       | a | 14.56      | a | 41.75          | a |               |    |
| <b>T2</b>              | 1.363          | a  | 1.00       | a | 14.88      | a | 41.72          | a |               |    |
| <b>T3</b>              | 1.381          | a  | 1.00       | a | 14.31      | a | 41.66          | a |               |    |
| <b>T4</b>              | 1.450          | a  | 1.00       | a | 14.13      | a | 43.69          | a |               |    |
| <b>Te</b>              | 1.394          | a  | 1.00       | a | 14.19      | a | 42.59          | a |               |    |
| <b>Segunda cosecha</b> |                |    |            |   |            |   |                |   |               |    |
| <b>T1</b>              | 2.110          | a  | 1.85       | a | 11.90      | a | 40.95          | a |               |    |
| <b>T2</b>              | 1.915          | b  | 1.65       | a | 11.70      | a | 42.45          | a |               |    |
| <b>T3</b>              | 1.915          | b  | 1.65       | a | 11.35      | a | 37.25          | b |               |    |
| <b>T4</b>              | 2.015          | ab | 1.60       | a | 11.65      | a | 42.75          | a |               |    |
| <b>Te</b>              | 1.930          | b  | 1.60       | a | 11.50      | a | 43.00          | a |               |    |
| <b>Tercera cosecha</b> |                |    |            |   |            |   |                |   |               |    |
| <b>T1</b>              | 2.440          | a  | 2.85       | a | 14.60      | a | 34.05          | a | 220.35        | b  |
| <b>T2</b>              | 2.230          | bc | 3.35       | a | 14.65      | a | 33.20          | a | 178.90        | bc |
| <b>T3</b>              | 2.195          | c  | 2.80       | a | 16.40      | a | 33.85          | a | 159.10        | c  |
| <b>T4</b>              | 2.355          | ab | 2.75       | a | 15.00      | a | 36.50          | a | 341.50        | a  |
| <b>Te</b>              | 2.190          | c  | 2.70       | a | 11.65      | b | 36.35          | a | 156.10        | c  |

466 **T1:** *Bacillus paralicheniformis*, **T2:** *Acinetobacter guillouiae*, **T3:** *Aeromonas caviae*, **T4:**  
 467 *Pseudomonas lini*, **Te:** Sin bacteria. Diferente letra indica diferencia significativa entre  
 468 tratamientos.

469

470

471

472

473

474

475

476

477

478

479 **Cuadro 4.** Cuadro de comparación de medias para la variable rendimiento en  $t \cdot ha^{-1}$  en la  
 480 evaluación de *M. oleifera* inoculada con cuatro RPCV para la primera, segunda y tercera cosecha.  
 481 UAAAN-UL. 2016-2017.

|                       | Primea Cosecha |       | Segunda Cosecha |      | Tercera Cosecha |      | Total |       |
|-----------------------|----------------|-------|-----------------|------|-----------------|------|-------|-------|
|                       | RH             | RT    | RH              | RT   | RH              | RT   | RH    | RT    |
| <b>Materia Fresca</b> |                |       |                 |      |                 |      |       |       |
| <b>T1</b>             | 2.68           | 9.06  | 3.47            | 9.08 | 3.64            | 8.20 | 9.79  | 26.34 |
| <b>T2</b>             | 2.58           | 9.10  | 3.30            | 7.95 | 3.66            | 7.14 | 9.54  | 24.19 |
| <b>T3</b>             | 2.59           | 9.07  | 2.80            | 6.26 | 3.51            | 6.37 | 8.90  | 21.70 |
| <b>T4</b>             | 2.52           | 10.04 | 3.19            | 8.73 | 3.83            | 8.53 | 9.54  | 27.30 |
| <b>Te</b>             | 2.61           | 9.10  | 3.50            | 8.85 | 3.31            | 7.92 | 9.42  | 25.87 |
| <b>Materia Seca</b>   |                |       |                 |      |                 |      |       |       |
| <b>T1</b>             | 1.40           | 2.49  | 2.04            | 2.79 | 1.43            | 2.01 | 4.87  | 7.29  |
| <b>T2</b>             | 1.36           | 2.46  | 2.04            | 2.60 | 1.41            | 1.82 | 4.81  | 6.88  |
| <b>T3</b>             | 1.39           | 2.50  | 1.95            | 2.40 | 1.41            | 1.72 | 4.75  | 6.62  |
| <b>T4</b>             | 1.41           | 2.64  | 2.06            | 2.75 | 1.49            | 2.03 | 4.96  | 7.42  |
| <b>Te</b>             | 1.47           | 2.54  | 2.07            | 2.74 | 1.39            | 1.90 | 4.93  | 7.18  |

482 **T1:** *Bacillus paralicheniformis*, **T2:** *Acinetobacter guillouiae*, **T3:** *Aeromonas caviae*, **T4:**  
 483 *Pseudomonas lini*, **Te:** Sin bacteria, **RH:** Rendimiento en hoja, **RT:** Rendimeinto en tallo. En todos  
 484 los casos, las diferencias entre tratamientos son no significativas.

485

486 **Cuadro 5.** Cuadro de la relación hoja/tallo y porcentaje de hoja en la evaluación de *M. oleifera*  
 487 inoculada con cuatro RPCV en cada una de las tres cosechas. UAAAN-UL. 2016-2017.

|                      | <b>Relación Hoja/Tallo</b> | <b>Porcentaje de hoja</b> |
|----------------------|----------------------------|---------------------------|
| <b>Primer Corte</b>  |                            |                           |
| <b>T1</b>            | 0.561                      | 35.9                      |
| <b>T2</b>            | 0.552                      | 35.5                      |
| <b>T3</b>            | 0.555                      | 35.7                      |
| <b>T4</b>            | 0.534                      | 34.8                      |
| <b>Te</b>            | 0.580                      | 36.7                      |
| <b>Segundo Corte</b> |                            |                           |
| <b>T1</b>            | 0.731                      | 42.2                      |
| <b>T2</b>            | 0.787                      | 44.0                      |
| <b>T3</b>            | 0.813                      | 44.8                      |
| <b>T4</b>            | 0.751                      | 42.9                      |
| <b>Te</b>            | 0.757                      | 43.1                      |
| <b>Tercer Corte</b>  |                            |                           |
| <b>T1</b>            | 0.709                      | 41.5                      |
| <b>T2</b>            | 0.775                      | 43.7                      |
| <b>T3</b>            | 0.822                      | 45.1                      |
| <b>T4</b>            | 0.734                      | 42.3                      |
| <b>Te</b>            | 0.731                      | 42.2                      |

488

489

490 **Cuadro 6.** Cuadro de medias por tratamiento de los análisis bromatológicos expresados en  
 491 porcentaje. Materia fresca (MF), Materia seca (MS), Fibra detergente neutra (FDN), Fibra  
 492 detrgente ácida (FDA), Fibra cruda (FC), Proteína cruda (PC), Extracto libre de nitrógeno (ELN),  
 493 Carbohidratos no fibrosos (CNF), Digestibilidad *in vitro* de materia seca (DIVMS), Energía neta  
 494 de lactancia (EN<sub>L</sub>), Total de nutrientes digestibles (TND) cada una de las variables determinada en  
 495 hoja y tallo de *Moringa oleifera* inoculada con cuatro RPCV en la tercera cosecha. UAAAN-UL.  
 496 2017.

| Tratamiento     | T1    | T2    | T3    | T4    | Te    |
|-----------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| <b>Hoja</b>     |       |       |       |       |       |
| MF              | 74.01 | 74.87 | 73.22 | 73.62 | 73.23 |
| MS              | 25.99 | 25.13 | 26.78 | 26.38 | 26.77 |
| Cenizas         | 13.55 | 14.55 | 13.78 | 12.89 | 13.07 |
| Grasa           | 4.49  | 4.70  | 4.77  | 4.92  | 4.29  |
| FDN             | 19.26 | 20.24 | 20.09 | 19.33 | 19.70 |
| FDA             | 24.77 | 24.06 | 25.53 | 26.39 | 26.01 |
| FC              | 9.70  | 9.33  | 9.61  | 9.12  | 9.05  |
| PC              | 23.79 | 24.45 | 23.46 | 23.57 | 25.49 |
| ELN             | 22.48 | 21.84 | 21.61 | 23.11 | 21.33 |
| CNF             | 38.91 | 36.06 | 37.91 | 39.28 | 37.45 |
| DIVMS           | 94.89 | 91.70 | 93.49 | 93.98 | 91.76 |
| EN <sub>L</sub> | 0.737 | 0.746 | 0.727 | 0.717 | 0.722 |
| TND             | 70.53 | 70.99 | 70.02 | 69.46 | 69.71 |
| <b>Tallo</b>    |       |       |       |       |       |
| MF              | 81.78 | 82.76 | 81.71 | 82.82 | 82.72 |
| MS              | 18.22 | 17.24 | 18.29 | 17.18 | 17.28 |
| Cenizas         | 11.21 | 11.47 | 11.07 | 10.68 | 11.63 |
| Grasa           | 2.02  | 1.99  | 1.95  | 1.74  | 1.61  |
| FDN             | 58.62 | 56.77 | 58.27 | 60.94 | 60.75 |
| FDA             | 60.71 | 57.99 | 67.94 | 64.66 | 63.95 |
| FC              | 37.62 | 38.67 | 38.06 | 39.18 | 41.36 |
| PC              | 7.49  | 7.00  | 7.28  | 6.84  | 7.55  |
| ELN             | 23.44 | 23.64 | 23.37 | 24.38 | 20.57 |
| CNF             | 20.66 | 22.79 | 21.44 | 19.82 | 18.46 |
| DIVMS           | 60.38 | 65.38 | 61.90 | 60.86 | 60.65 |
| EN <sub>L</sub> | 0.291 | 0.325 | 0.202 | 0.242 | 0.251 |
| TND             | 46.87 | 48.66 | 42.10 | 44.26 | 44.73 |

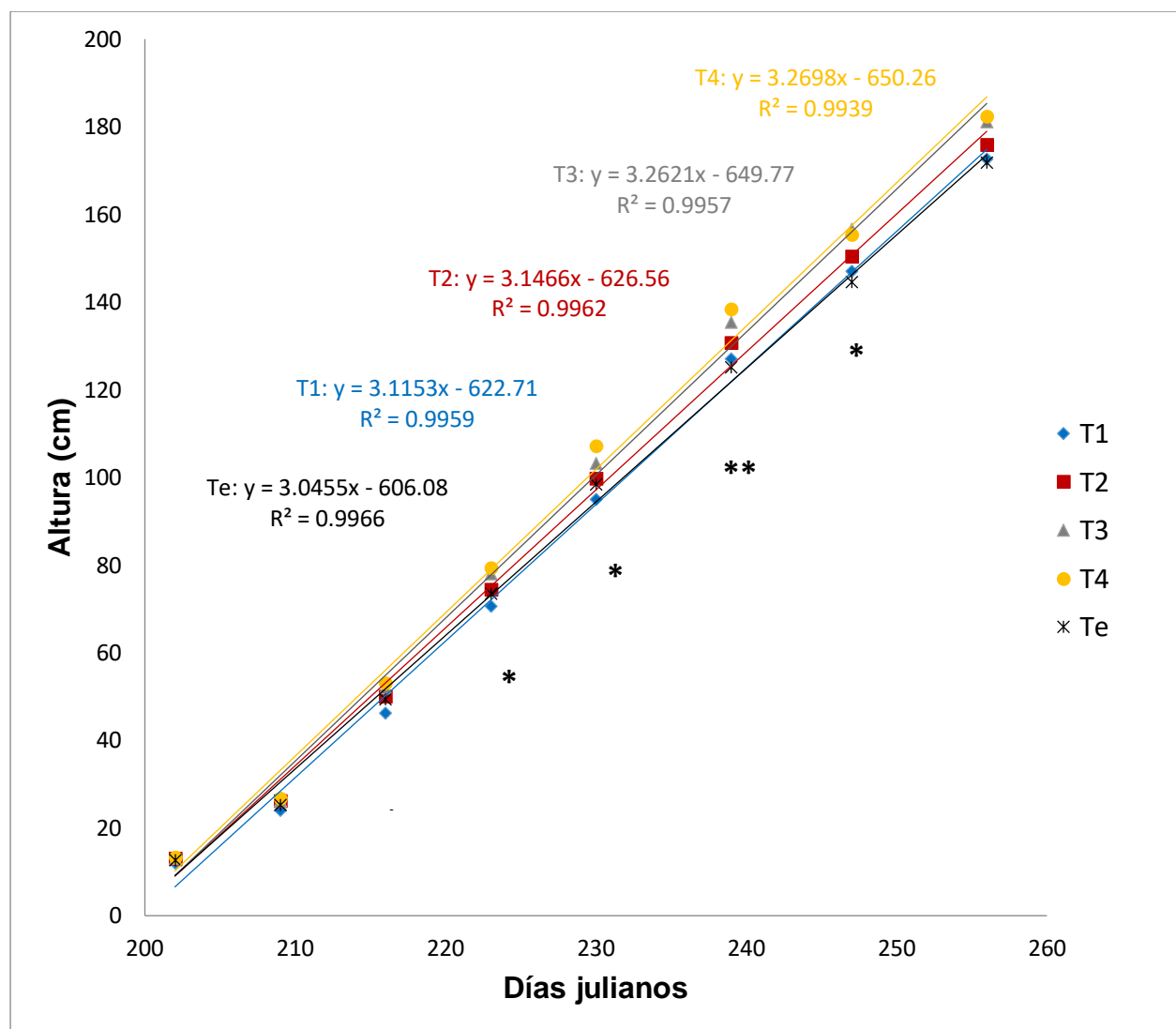
497 **T1:** *Bacillus paralicheniformis*, **T2:** *Acinetobacter guillouiae*, **T3:** *Aeromonas caviae*, **T4:**  
 498 *Pseudomonas lini*, **Te:** Sin bacteria. En todos los casos, las diferencias entre tratamientos son no  
 499 significativas.

500

501

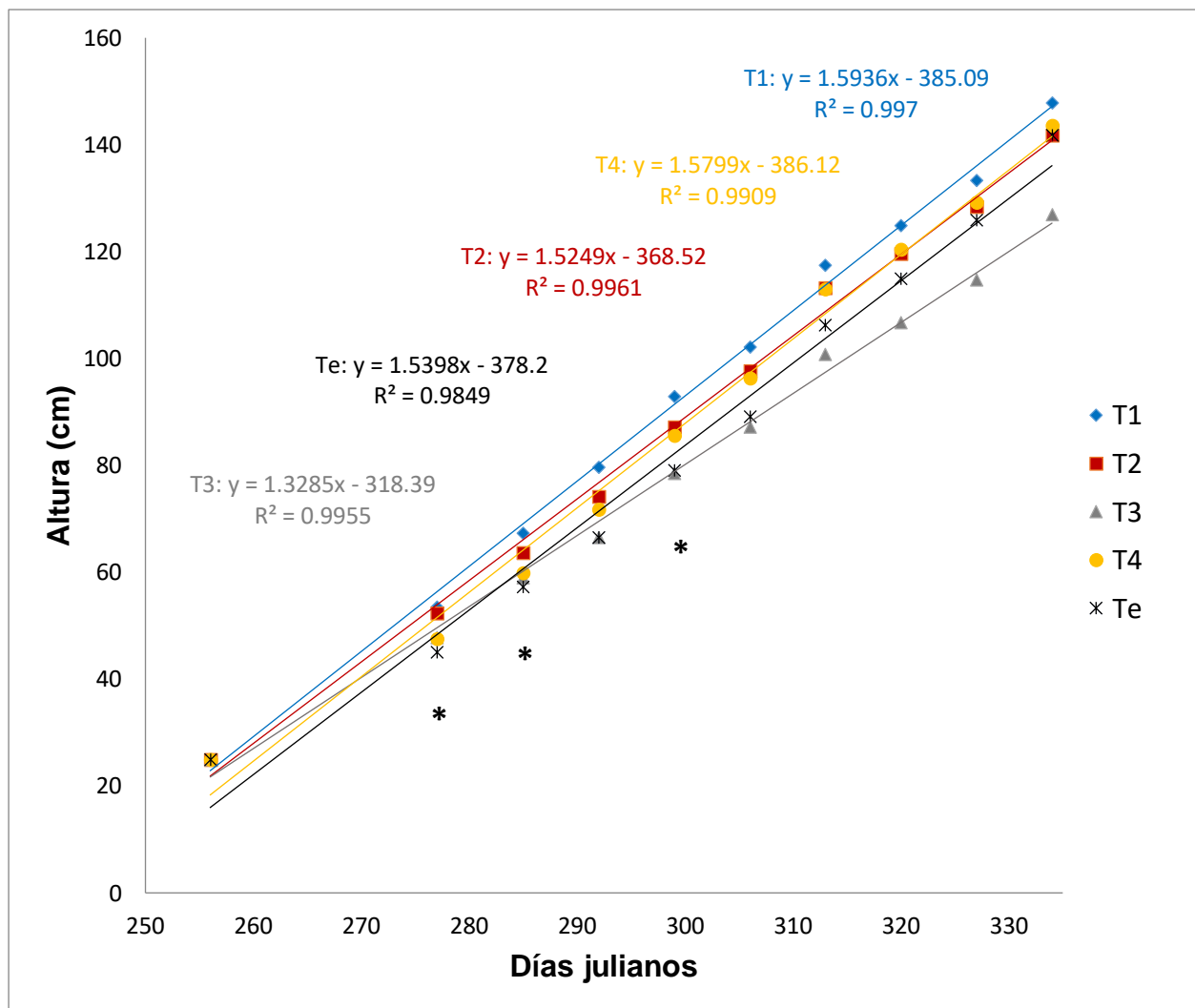


502

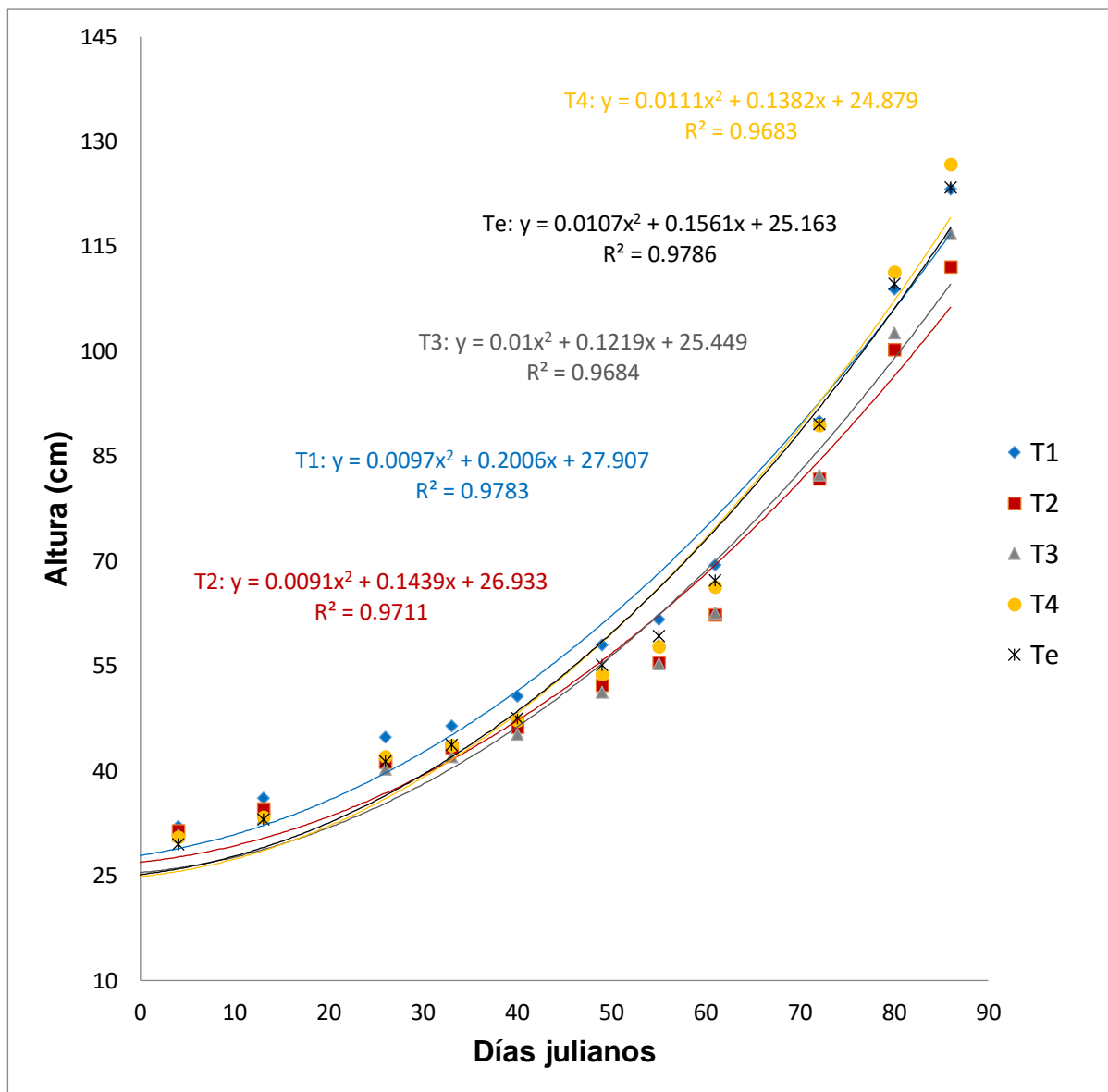


503

504 **Gráfica 1.** Crecimiento de *Moringa oleifera* de la siembra a la primera cosecha (66 días) 2016. **T1:**  
 505 *Bacillus paralicheniformis*, **T2:** *Acinetobacter guillouiae*, **T3:** *Aeromonas caviae*, **T4:**  
 506 *Pseudomonas lini*, **Te:** Sin bacteria. (\*, \*\*: Indica diferencia significativa y altamente significativa,  
 507 respectivamente, entre tratamientos para la fecha respectiva).



508  
 509 **Gráfica 2.** Crecimiento de *Moringa oleifera* en el período de la primera a la segunda cosecha (77  
 510 días) 2016. **T1:** *Bacillus paralicheniformis*, **T2:** *Acinetobacter guillouiae*, **T3:** *Aeromonas caviae*,  
 511 **T4:** *Pseudomonas lini*, **Te:** Sin bacteria. (\*: Indica diferencia significativa entre tratamientos para  
 512 la fecha respectiva).



**Gráfico 3.** Crecimiento de *Moringa oleifera* en el período de la segunda a la tercera cosecha (117 días) 2016-2017. **T1:** *Bacillus paralicheniformis*, **T2:** *Acinetobacter guillouiae*, **T3:** *Aeromonas caviae*, **T4:** *Pseudomonas lini*, **Te:** Sin bacteria.



**Gráfica 4.** Acame de los tallos de *Moringa oleifera* debido a diámetros delgados en el tratamiento **Te:** Sin bacteria, en el período de la segunda a la tercera cosecha (117 días) 2016-2017.

## ARTÍCULO 2



### ¿Las rizobacterias halófilas incrementan el índice de contenido de clorofila (ICC) en plántulas de pepino? Halophilic rhizobacteria increase the chlorophyll content index (CCI) in cucumber seedlings?

García-Mendoza Verónica<sup>1</sup>, Medina-Reyes Gemma Luz<sup>1</sup>, Palacio-Rodríguez Ruben<sup>4</sup>, Cano-Ríos Pedro<sup>2</sup>, Reyes-Carrillo José Luis<sup>2</sup>, Figueroa-Viramontes Uriel<sup>3</sup>, Sáenz-Mata Jorge<sup>4</sup>.

**Palabras clave:** *Cucumis sativus* L., RPCV, inoculación, fotosíntesis, valores SPAD.

**Keywords:** *Cucumis sativus* L., RPCV, inoculation, photosynthesis, SPAD values.

Recepción: 09-10-2019 / Aceptación 00-00-20XX

#### Resumen

El pepino es uno de los frutos de consumo de mayor demanda en el mercado, ya sea en fresco o industrializado. El pepino es la tercera hortaliza más cultivada a nivel mundial, con un incremento en su producción año tras año. Para poder conseguir buenas producciones y rendimientos se deben de encontrar mejores métodos para producir plántulas que mejoren la calidad y el rendimiento de la producción de pepino. El objetivo de este trabajo fue evaluar la producción de plántula de pepino inoculadas con rizobacterias halófilas. Se evaluaron dos bacterias siendo los tratamientos T1:B1 (*Bacillus paralicheniformis* LBEndo1), T2:B4 (*Pseudomonas lini* KBecto4), T3:B1XB4 (interacción *Bacillus paralicheniformis* LBEndo1 X *Pseudomonas lini* KBecto4) y T4: Testigo (Sin bacteria). El experimento se llevó a cabo en las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro bajo un diseño completamente al azar. Se encontró que el tratamiento T2 mostró mayor incremento en altura (22.52 cm) e índice de contenido de clorofila (35.2 unidades SPAD), encontrando diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ). La interacción de las dos bacterias T3, incrementó la longitud de las raíces (8.54 cm) y el peso seco (0.422 g) mostrando diferencia significativa entre los tratamientos ( $P \leq 0.05$ ). No hubo diferencias significativas en las variables diámetro del tallo y peso fresco entre los tratamientos bacterianos investigados, pero sí con el tratamiento testigo. La inoculación de rizobacterias halófilas en plántulas de pepino, incrementó el índice de contenido de clorofila, desarrollando plántulas más vigorosas.

<sup>1</sup>Alumna de Posgrado, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna, Torreón, Coah; Méx.

<sup>2</sup>Departamento de Horticultura y Biología, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Torreón, Coah; Méx.

<sup>3</sup>Facultad de Agricultura y Zootecnia, Universidad Juárez del Estado de Durango, Venecia, Dgo; Méx.

<sup>4</sup>Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Juárez del Estado de Durango, Gómez Palacio, Dgo; Méx. E-mail:

[jsaenz\\_mata@ujed.mx](mailto:jsaenz_mata@ujed.mx)

© Universidad De La Salle Bajío (México)

## Abstract

Cucumber is one of the fruits of consumption of greater demand, whether fresh or industrialized. Cucumber is the third most cultivated vegetable in the world, with an increase in its production year after year. In order to achieve good productions and yields, better methods must be found to produce seedlings that improve the quality and yield of cucumber production. The objective of this work was to evaluate the production of cucumber seedling inoculated with halophilic rhizobacteria. Two bacteria were evaluated, with treatments T1: B1 (*Bacillus paralicheniformis* LBEndo1), T2: B4 (*Pseudomonas lini* KBecto4), T3: B1XB4 (interaction *Bacillus paralicheniformis* LBEndo1 X *Pseudomonas lini* KBecto4) and T4: Control (No bacteria). The experiment was carried out in the facilities of the Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro under a completely random design. It was found that the T2 treatment showed a greater increase in height (22.52 cm) and chlorophyll content index (35.2 SPAD units), showing significant difference ( $P \leq 0.05$ ). The interaction T3 of the two bacteria increased the length of the roots (8.54 cm) and the dry weight (0.422 g), showing significant difference among treatments ( $P \leq 0.05$ ). There was no significant difference in the variables stem diameter and fresh weight among the investigated bacterial treatments, but there was against the control treatment. The inoculation of halophilic rhizobacteria in cucumber seedlings increased the chlorophyll content index, developing more vigorous seedlings.

---

## Introducción

El pepino (*Cucumis sativus* L.) pertenece a la familia Cucurbitaceae, que incluye más de 800 especies distribuidas a través de regiones tropicales y subtropicales (Boualem *et al.*, 2014). En el 2016 el pepino tuvo a nivel mundial un área cultivada de 3.4 millones de hectáreas con una producción total de 142 millones de toneladas. En México la producción de pepino en ese mismo año fue de 886 270 toneladas en un área de 18 603 ha con un rendimiento promedio de  $47.64 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$ , de la producción el 78 % fueron exportaciones

(FAOSTAT, 2016). A nivel mundial la superficie cultivada sigue en aumento, así como en México.

Para tener una buena producción la densidad de plantación tiene que ser óptima la cual varía significativamente entre cultivares y el ambiente en el que se desarrolla el cultivo (López-Elías *et al.*, 2015). Está comprobado que al realizar trasplante de plántulas de pepino se tiene una producción más rentable que cuando se realiza siembra directa (Jellani *et al.*, 2015). Es conveniente producir plántulas sanas y fuertes para que se vea reflejado en la producción.

Los cotiledones de las plántulas de pepino desempeñan un papel importante en el mantenimiento de los niveles de giberelinas en hipocotilos (Asahina *et al.*, 2007). También juegan un papel importante para producir los primeros fotosintatos pues la falta de clorofila ocasiona que los órganos no puedan cumplir sus funciones fotosintéticas, afectando el crecimiento inicial, lo que se ve reflejado en el rendimiento del fruto (Bisognin *et al.*, 2005). Las bajas temperaturas disminuyen el crecimiento de las plántulas de pepino, el índice de plántulas, el contenido de clorofila y la capacidad fotosintética (Anwar *et al.*, 2018).

La forma de superar los obstáculos bióticos y abióticos no siempre ocurre naturalmente, los mutágenos químicos son utilizados para inducir variaciones en diferentes especies de plantas, de esta manera generan nuevas variedades con rasgos mejorados (Shah *et al.*, 2015). Otra de las formas es la inoculación combinada y apropiada de múltiples hongos micorrízicos que estimulan el crecimiento, la fotosíntesis y la absorción de nutrientes en plántulas de pepino, conduciendo a una mayor producción de biomasa vegetal (Chen *et al.*, 2017). Una forma más para superar estos obstáculos es con la inoculación de RPCV (Plant Growth Promoting Rhizobacteria), hacen referencia a todas las bacterias que son capaces de mejorar el crecimiento de las plantas a través de uno o más mecanismos (Saharan y Nehra, 2011).

Las RPCV promueven el crecimiento de las plantas facilitando su crecimiento directamente, al ayudar a adquirir los nutrimentos (nitrógeno, fósforo y minerales esenciales), modulando los niveles hormonales, o indirectamente, al disminuir los efectos inhibitorios de varios patógenos sobre el desarrollo y crecimiento de las plantas en forma

de agentes de biocontrol ya sea en condiciones normales o estresadas (Ahemad y Kibret, 2013).

La inoculación de las bacterias *Bacillus paralicheniformis* LBEndo1 y *Pseudomonas lini* KBecto4 en plántulas de pepino bajo condiciones salinas incrementaron la longitud de la raíz y el número de raíces laterales (Palacio-Rodríguez *et al.*, 2017). Las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal, pueden convertir los elementos minerales del sustrato en formas biodisponibles que pueden ser fácilmente absorbido por las plántulas (Qin *et al.*, 2017).

Este tipo de colonizaciones tanto de hongos como de bacterias benéficas, al incrementar la biomasa vegetal y la estructura de las raíces, mejora la producción de plántulas. Lo anterior supone que la inoculación de bacterias halófilas en plántulas de pepino les facilita la absorción de los nutrimentos necesarios, incrementando el índice de contenido de clorofila, desarrollando plántulas más vigorosas, por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar la producción de plántula de pepino inoculada con bacterias halófilas.

### **Método**

Se realizó un bioensayo de crecimiento de plántula de pepino (*Cucumis sativus* L.) variedad HM543 de Harris Moran, en el período de verano de 2017, en el invernadero de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna en la ciudad de Torreón, Coahuila, México. Se inocularon rizobacterias halófilas en las plántulas de pepino. Las rizobacterias fueron proporcionadas por la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Juárez del Estado de Durango, dichas bacterias fueron aisladas de la rizósfera del pasto halófilo *Distichlis spicata* tomado de la Poza Salada en el Valle de Sobaco, ubicado al sureste del desierto de Chihuahua en el estado de Coahuila, México. Y se han caracterizado como Rizobacterias Promotoras de Crecimiento Vegetal (RPCV) (Palacio-Rodríguez *et al.*, 2017).

La siembra se realizó el 26 de agosto de 2017 en charolas de poliestireno, utilizando Peat moss como sustrato. Las charolas fueron colocadas dentro de bolsas negras de plástico, a los cuatro días presentaron las primeras emergencias y fueron sacadas de las bolsas. Se aplicó el riego con agua de la llave, cuyos parámetros físicoquímicos fueron: pH=8.13, CE=2.21, RAS=1.80, PSI=0.38; el contenido de aniones en ppm:  $\text{NO}_3^-$ =23.03,  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ =0.25,  $\text{SO}_4^{2-}$ =643.60,  $\text{CO}_3^{2-}$ =0.00,  $\text{HCO}_3^-$ =170.83,  $\text{Cl}^-$ =198.52 y el contenido de cationes



en ppm:  $\text{Na}^+=120.00$ ,  $\text{K}^+=13.00$ ,  $\text{Ca}^{+2}=288$  y  $\text{Mg}^{+2}=29$ . No se aplicó fertilización alguna ni pesticidas en este experimento.

La inoculación de las rizobacterias se realizó el 9 de septiembre por medio del método de inmersión durante un periodo de cinco minutos en una suspensión bacteriana con una concentración de  $1 \times 10^8$  UFC  $\text{mL}^{-1}$ . Al tratamiento testigo solo se le aplicó agua.

El diseño experimental utilizado fue completamente al azar con cuatro tratamientos y 25 repeticiones. Los tratamientos fueron T1:B1 (*Bacillus paralicheniformis* LBEndo1), T2:B4 (*Pseudomonas lini* KBecto4), T3:B1XB4 (interacción *Bacillus paralicheniformis* LBEndo1 X *Pseudomonas lini* KBecto4) y T4: Testigo (Sin bacteria). La evaluación de las plántulas se realizó el 27 de septiembre, las variables evaluadas fueron: altura, longitud de la raíz, diámetro de tallo, peso fresco, peso seco y el índice de contenido de clorofila (ICC).

La variable altura y longitud de raíz se midieron con una regla graduada en cm, el diámetro de tallo se midió en mm con un calibrador digital marca Truper® CALDI-6MP, para la toma del peso fresco y seco se utilizó una balanza analítica de precisión 210 g X 0.001 g (Explorer OHAUS ep4102d). El peso fresco se tomó en el momento de la evaluación a la plántula completa, el peso seco se tomó después de que las plántulas fueron secadas a 60 °C durante 24 h hasta obtener un peso constante. El ICC se tomó utilizando un medidor de clorofila SPAD 502 (Spectrum Technologies, Inc.) Minolta (2018), sacando un promedio de tres de las hojas de las plántulas. La medición del ICC se realizó en el punto central de las hojas de las plántulas. Las variables evaluadas se sometieron a un análisis de varianza utilizando el programa estadístico SAS para Windows versión 9.0. En los casos donde se encontraron diferencias entre medias se aplicó la prueba de Diferencia Mínima Significativa (DMS), con una significancia de  $\alpha=0.05$ .

## **Resultados**

El análisis de varianza mostró una diferencia significativa entre los tratamientos en el desarrollo en centímetros de la plántula de pepino, de la emergencia hasta el día que se evaluó (28 días después de emerger); el tratamiento T2:B4 presentó la mayor altura. La variable diámetro de tallo presentó una diferencia significativa de los tratamientos T1:B1, T2:B4 y T3:B1XB4 con respecto al testigo T4:S/B. En la longitud de la raíz de las plántulas se encontró una diferencia significativa entre los tratamientos, el tratamiento T3,

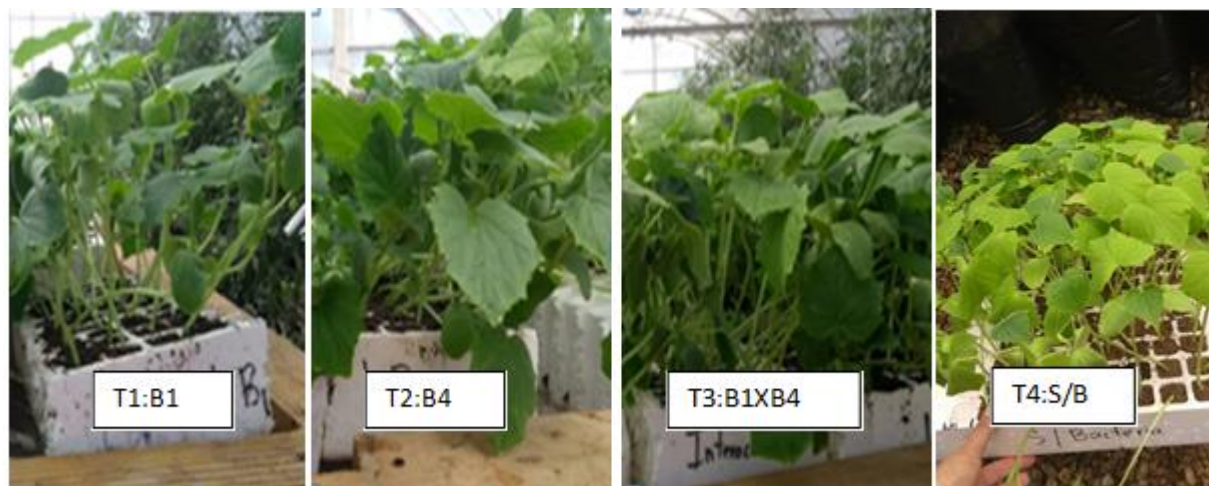
correspondiente a la interacción de las dos rizobacterias, presentó la mayor longitud de la raíz en las plántulas. En el peso fresco no hubo diferencia significativa entre los tratamientos T1, T2 y T3, pero si presentaron diferencia significativa contra el testigo. En el peso seco se encontró una diferencia significativa dado que el tratamiento T3 presentó el mayor valor. El índice de contenido de clorofila presentó diferencia significativa entre los tratamientos, donde el tratamiento T2:B4 presentó la mayor cantidad de unidades SPAD, en promedio 35.2 por plántula (Cuadro 1).

**Cuadro 1.** Medias para las variables altura en cm (A), diámetro de tallo en mm (DT), largo de raíz en cm (LR), peso fresco en g (PF), peso seco en g (PS), índice de contenido de clorofila en unidades SPAD (ICC) en plántulas de pepino.

|                 | <b>A</b> | <b>DT</b> | <b>LR</b> | <b>PF</b> | <b>PS</b> | <b>ICC</b> |
|-----------------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|
| <b>T1:B1</b>    | 21.20 b  | 3.80 a    | 7.78 b    | 4.044 a   | 0.378 bc  | 29.8 b     |
| <b>T2:B4</b>    | 22.52 a  | 3.60 a    | 8.02 b    | 4.132 a   | 0.351 c   | 35.2 a     |
| <b>T3:B1XB4</b> | 21.66 ab | 3.80 a    | 8.54 a    | 4.240 a   | 0.422 a   | 28.5 b     |
| <b>T4:S/B</b>   | 21.46 ab | 3.08 b    | 7.86 b    | 3.656 b   | 0.398 ab  | 24.7 c     |

**T1:B1** (*Bacillus paralicheniformis* LBEndo1), **T2:B4** (*Pseudomonas lini* KBecto4), **T3:B1XB4** (Interacción *Bacillus paralicheniformis* LBEndo1 X *Pseudomonas lini* KBecto4), **T4:S/B** (Sin bacteria). Las medias acompañadas de la misma literal son iguales entre sí ( $P \leq 0.05$ ).

La Figura 1 muestra las plántulas de cada uno de los tratamientos, donde se puede observar que el color del tratamiento control que presenta una deficiencia, lo que se confirma con las unidades SPAD obtenidas, presentando los valores más bajos de los tratamientos.



**Figura 1.** Plántulas de pepino de los tratamientos evaluados. **T1:B1** (*Bacillus paralicheniformis* LBEndo1), **T2:B4** (*Pseudomonas lini* KBecto4), **T3:B1XB4** (Interacción *Bacillus paralicheniformis* LBEndo1 X *Pseudomonas lini* KBecto4), **T4:S/B** (Sin bacteria).

### Discusión y Conclusiones

Para una planta el poseer una tasa de crecimiento rápida le permite captar más recursos, es decir, luz solar, agua y nutrimentos, que le dan una mayor capacidad competitiva en condiciones ambientales favorables. En condiciones de sequía, altas o bajas temperaturas, escasez de nutrimentos, salinidad, lo importante es tener capacidad de tolerancia al estrés. La tolerancia al estrés tiene un costo energético reflejado en un menor crecimiento pero con la probabilidad de supervivencia (Chaves-Barrantes y Gutiérrez-Soto, 2017; Li *et al.*, 2019). La inoculación con rizobacterias proporcionan esa tolerancia al estrés, sensibilizando el sistema inmunitario de las plantas con una resistencia sistémica inducida sin activar directamente costosas defensas (Pieterse *et al.*, 2014).

En éste trabajo la inoculación de las rizobacterias halófilas en las plántulas de pepino les permitió obtener mayor crecimiento. Los aumentos promedios en la altura de las plántulas, diámetro de tallo, peso fresco e índice de contenido de clorofila (ICC) para el tratamiento T2:B4 (*Pseudomonas lini* KBecto4) fueron: 22.52 cm, 3.60 mm, 4.132 g y 35.2 unidades SPAD respectivamente, siendo este tratamiento en el que se obtuvieron mayores diferencias. El tratamiento T1:B1 (*Bacillus paralicheniformis* LBEndo1) presentó diferencia significativa en el diámetro de tallo (3.80 mm) y el peso fresco (4.044 g).

En un estudio donde se inoculó la bacteria *Bacillus amyloliquefaciens* L-S60 se encontró que la altura promedio de la plántula, el diámetro del tallo, el área de la hoja y el peso fresco de las plántulas, fue de 7.5 cm, 3.3 mm, 60 cm<sup>2</sup>, 13 g, respectivamente, y mostraron gran actividad de promoción del crecimiento en las plántulas de pepino con respecto al testigo (Qin *et al.*, 2017). Los resultados hallados en este trabajo son un poco mayores que los obtenidos por estos autores, esto puede deberse primero a que es diferente la especie de la bacteria inoculada, y los autores realizaron su evaluación a los 25 días mientras que este trabajo se realizó a los 28 días.

El tratamiento T3:B1XB4 correspondiente a la interacción de las dos rizobacterias presentó diferencias significativas en el diámetro de tallo, longitud de la raíz, peso fresco y peso seco con valores de 3.80 mm, 8.54 cm, 4.240 g y 0.422 g respectivamente. Podemos decir que el tratamiento que incrementó más la altura y el ICC, fue el T2:B4. La interacción de las dos rizobacterias T3:B1XB4, incrementó la longitud de las raíces y el peso seco. En las variables diámetro de tallo y peso fresco no hubo diferencia significativa entre los tratamientos investigados pero si contra el tratamiento testigo.

En un estudio realizado bajo condiciones de estrés por bajas temperaturas, los resultados indicaron que disminuyó proporcionalmente el crecimiento de las plántulas de pepino, el contenido de clorofila y la capacidad fotosintética comparados con el tratamiento testigo a temperaturas normales que presentó una altura de 7.5 cm y una longitud de raíz de 17 cm; el dato obtenido en la altura es igual a lo obtenido por Qin *et al.*, (2017), y representa una tercera parte de la altura que alcanzaron las plántulas de este experimento, sin embargo en la longitud de raíz se obtuvo la mitad de lo que se obtuvo en este experimento (Anwar *et al.*, 2018). Esto pudo deberse al tipo de contenedor en el que se pusieron a germinar, siendo las de esta investigación cavidades muy pequeñas que limitan el desarrollo de la estructura radicular.

Smiderle *et al.*, (2001) utilizaron como sustrato diferentes combinaciones de turba Plantmx, arena y tierra para la producción de plántula, encontrando que las plántulas desarrollaban mejor cuando se utilizaba solo la turba sin ninguna combinación, obteniendo a los 21 días una altura de 22.1 cm en plántulas de pepino. Este resultado es similar a los obtenidos en esta investigación.

Uno de los problemas que enfrentan los agricultores es determinar la cantidad adecuada de la fertilización de nitrógeno (N) a los cultivos, independientemente de la fuente. Básicamente se requiere sincronizar la disponibilidad de N del suelo con las necesidades de N del cultivo. Esta tarea puede resultar un poco más sencilla si el suelo contiene las poblaciones microbianas afines al cultivo que le puedan facilitar la disponibilidad de los nutrimentos (Bhattacharjee *et al.*, 2008).

Las comunidades de *Pseudomonas* y *Bacillus* spp., predominan en la rizósfera de las plantas de pepino, los ácidos fenólicos en cantidades altas, producidos por las misma planta cambian la estructura y composición de la rizósfera, reduciendo las comunidades bacterianas, lo que conlleva a una disminución en su crecimiento y reflejado en su rendimiento (Zhou y Wu, 2018). Los desequilibrios de las especies microbianas pueden conducir a brotes de enfermedades y a la proliferación de especies fitopatógenas afectando negativamente el crecimiento de la planta (Adam *et al.*, 2016; Berendsen *et al.*, 2012). Mantener el equilibrio adecuado de las comunidades microbianas benéficas para las plantas es importante para su buen desarrollo y producción.

Las rizobacterias pueden alterar la estimulación de crecimiento de las plantas por medio de mecanismos directos o indirectos. Los mecanismos directos incrementan la disponibilidad de nutrimentos en la rizosfera al influir en el metabolismo de las plantas y mejorar su nutrición. Los mecanismos indirectos se caracterizan por ocasionar la disminución o eliminación de microorganismos fitopatógenos (hongos, bacterias y nematodos), ya sea a través de la producción de sustancias antimicrobianas o de antibióticos, de enzimas líticas, o una combinación de éstas (Parray *et al.*, 2016). Otra forma de clasificar los mecanismos de acción utilizados por las RPCV son: la biofertilización, la fitoestimulación y el biocontrol, según sus efectos sobre la fisiología de la planta (Noumavo *et al.*, 2016).

Como ya se mencionó en esta investigación se obtuvo una diferencia significativa en el índice de contenido de clorofila en las plántulas de pepino, medido en unidades SPAD. Los valores de unidades SPAD son relacionados con las condiciones nutricionales, en específico con la concentración de N, estos valores SPAD son útiles para hacer predicciones en el rendimiento (Cho *et al.*, 2007). El período de mayor necesidad de N en las plantas en general es en la floración, si se dispone de mayor radiación

fotosintéticamente activa aumenta el índice SPAD, solo, si hay un incremento en la dosis de N (Ribeiro, *et al.*, 2015).

El índice SPAD (Soil Plant Analysis Development) obtenido por el clorofilómetro portátil SPAD-502 evalúa cuantitativamente la intensidad del color verde de la hoja, midiendo las transmisiones de luz a 650 nm, donde ocurre absorción de luz por la molécula de clorofila y a 940 nm, donde no ocurre absorción (Minolta, 2018). Una de las razones por las que las plantas de pepino no absorben N es por la toxicidad de cadmio o aluminio que reduce su capacidad fotosintética y en consecuencia su crecimiento (Rouphael *et al.*, 2016; Semida *et al.*, 2018; Sun *et al.*, 2016).

En un estudio en el que se analizaron los efectos que ocasiona el estrés por sequía y concentración elevada de CO<sub>2</sub> en la fotosíntesis de plántulas de pepino se encontró que, el contenido de clorofila en las hojas se reduce por la sequía. Comparando los valores SPAD obtenidos en el tratamiento testigo al cual se desarrolló en condiciones normales y con una fertilización con solución nutritiva se obtuvieron 40.2 unidades SPAD (Qing-Ming *et al.*, 2008). Este valor está 5 unidades arriba de lo obtenido en esta investigación, si consideramos que el riego fue con agua simple el valor obtenido es bueno y podemos deducir que la concentración de N en las plántulas de pepino fue obtenido gracias a los mecanismos de las rizobacterias inoculadas.

Las especies de plantas competitivas están adaptadas para obtener tasas altas de crecimiento pero a costa de una baja tolerancia al estrés, por el contrario, las especies tolerantes al estrés tienen bajas tasas de crecimiento. La inoculación de rizobacterias halófilas incrementó el índice de contenido de clorofila en plántulas de pepino, por consecuencia incrementaron su crecimiento. Es recomendable seguir investigando la combinación apropiada de comunidades microbianas en los distintos tipos de suelos y especies de plantas, para disminuir o eliminar las fertilizaciones.

### **Agradecimientos**

Se agradece a la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, U. L. por facilitar los medios y recursos para realizar esta investigación.

## Referencias

- Adam, E., Groenenboom, A. E., Kurm, V., Rajewska, M., Schmidt, R., Tyc, O., Weidner, S., Berg, G., de Boer, W., y Salles, J. F. (2016). Controlling the Microbiome: Microhabitat Adjustments for Successful Biocontrol Strategies in Soil and Human Gut. *Front Microbiol*, 7(1079), 1-6. doi: 10.3389/fmicb.2016.01079
- Ahemad, M., y Kibret, M. (2013). Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *Journal of King Saud University - Science*, 26(1), 1-20. doi: 10.1016/j.jksus.2013.05.001.
- Anwar, A., Bai, L., Miao, L., Liu, Y., Li, S., Yu, X., y Li, Y. (2018). 24-Epibrassinolide Ameliorates Endogenous Hormone Levels to Enhance Low-Temperature Stress Tolerance in Cucumber Seedlings. *Int J Mol Sci*, 19(9). doi: 10.3390/ijms19092497
- Asahina, M., Yamauchi, Y., Hanada, A., Kamiya, Y., Kamada, H., Satoh, S., y Yamaguchi, S. (2007). Effects of the removal of cotyledons on endogenous gibberellin levels in hypocotyls of young cucumber and tomato seedlings. *Plant Biotechnology*, 24(1), 99-106.
- Bhattacharjee, R. B., Singh, A., y Mukhopadhyay, S. N. (2008). Use of nitrogen-fixing bacteria as biofertiliser for non-legumes: prospects and challenges. *Appl Microbiol Biotechnol*, 80(2), 199-209. doi: 10.1007/s00253-008-1567-2.
- Berendsen, R. L., Pieterse, C. M. J., y Bakker, P. A. H. M. (2012). The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends Plant Sci*, 17(8), 478-486. doi: 10.1016/j.tplants.2012.04.001
- Bisognin, D. A., Velasquez, L., y Widders, I. (2005). Cucumber seedling dependence on cotyledonary leaves for early growth. *Pesq. Agropec. Bras.*, 40(6), 531-539.
- Boualem, A., Fleurier, S., Troadec, C., Audigier, P., Kumar, A. P., Chatterjee, M., Alsadon, A. A., Sadder, M. T., Wahb-Allah, M. A., Al-Doss, A. A., y Bendahmane, A. (2014). Development of a *Cucumis sativus* TILLinG platform for forward and reverse genetics. *PLoS One*, 9(5), e97963. doi: 10.1371/journal.pone.0097963
- Chaves-Barrantes, N. F., y Gutiérrez-Soto, M. V. (2017). Respuestas al estrés por calor en los cultivos. I. Aspectos moleculares, bioquímicos y fisiológicos. *Agronomía Mesoamericana*, 28(1), 237-253. doi: 10.15517/am.v28i1.21903

- Chen, S., Zhao, H., Zou, C., Li, Y., Chen, Y., Wang, Z., Jiang, Y., Liu, A., Zhao, P., Wang, M., y Ahammed, G. J. (2017). Combined Inoculation with Multiple Arbuscular Mycorrhizal Fungi Improves Growth, Nutrient Uptake and Photosynthesis in Cucumber Seedlings. *Front Microbiol*, 8, 2516. doi: 10.3389/fmicb.2017.02516
- Cho, Y. Y., Oh, S., Oh, M. M., y Son, J. E. (2007). Estimation of individual leaf area, fresh weight, and dry weight of hydroponically grown cucumbers (*Cucumis sativus* L.) using leaf length, width, and SPAD value. *Scientia Horticulturae*, 111(4), 330-334. doi: 10.1016/j.scienta.2006.12.028
- FAOSTAT. (2016). Food and Agriculture Organization of the United Nations. from <http://fenix.fao.org/faostat/internal/en/#data/QC>
- Jellani, G., Atif, M. J., Ullah, H., Ali, M., y Musa, M. (2015). Influence of seedling age on cucumber (*Cucumis sativus* L.) production. *SAARC J. Agri.*, 13(2), 214-221.
- Li, S., Li, Y., He, X., Li, Q., Liu, B., Ai, X., y Zhang, D. (2019). Response of water balance and nitrogen assimilation in cucumber seedlings to CO<sub>2</sub> enrichment and salt stress. *Plant Physiol Biochem*, 139, 256-263. doi: 10.1016/j.plaphy.2019.03.028
- López-Elías, J., Garza, O. S., Huez, L. M. A., Jiménez, L. J., Rueda, P. E. O., y Murillo, A. B. (2015). Produccion de pepino (*Cucumis sativus* L.) en funcion de la densidad de plantacion en condiciones de invernadero. *European Scientific Journal*, 11(24), 25-36.
- Minolta, K. (2018). Medidor de Clorofila SPAD-502. Spectrum Technologies, Inc., <https://www.specmeters.com/nutrient-management/chlorophyll-meters/spad/>.
- Noumavo, P. A., Agbodjato, N. A., Baba-Moussa, F., Adjanohoun, A., y Baba-Moussa, L. (2016). Plant growth promoting rhizobacteria: Beneficial effects for healthy and sustainable agriculture. *African Journal of Biotechnology*, 15(27), 1452-1463. doi: 10.5897/ajb2016.15397
- Palacio-Rodríguez, R., Coria-Arellano, J. L., López-Bucio, J., Sánchez-Salas, J., Muro-Pérez, G., Castañeda-Gaytán, G., y Sáenz-Mata, J. (2017). Halophilic rhizobacteria from *Distichlis spicata* promote growth and improve salt tolerance in heterologous plant hosts. *Symbiosis*, 1-11.



- Parray, J. A., Jan, S., Kamili, A. N., Qadri, R. A., Egamberdieva, D., y Ahmad, P. (2016). Current Perspectives on Plant Growth-Promoting Rhizobacteria. *Journal of Plant Growth Regulation*, 35(3), 877-902. doi: 10.1007/s00344-016-9583-4
- Pieterse, C. M., Zamioudis, C., Berendsen, R. L., Weller, D. M., Van Wees, S. C., & Bakker, P. A. (2014). Induced systemic resistance by beneficial microbes. *Annu Rev Phytopathol*, 52, 347-375. doi: 10.1146/annurev-phyto-082712-102340.
- Qin, Y., Shang, Q., Zhang, Y., Li, P., y Chai, Y. (2017). *Bacillus amyloliquefaciens* L-S60 Reforms the Rhizosphere Bacterial Community and Improves Growth Conditions in Cucumber Plug Seedling. *Front Microbiol*, 8, 2620. doi: 10.3389/fmicb.2017.02620
- Qing-Ming, L., Bin-Bin, L., Yang, W., y Zhi-Rong, Z. (2008). Interactive effects of drought stresses and elevated CO<sub>2</sub> concentration on photochemistry efficiency of cucumber seedlings. *Journal of Integrative Plant Biology*, 50(10), 1307-1317. doi: 10.1111/j.1744-7909.2008.00686.x
- Ribeiro, d. C. A., Katz, I., de Pádua, S. A., y Martinez, U. R. A. (2015). Índice SPAD en el crecimiento y desarrollo de plantas de lisanthus en función de diferentes dosis de nitrógeno en ambiente protegido. *Idesia (Arica)*, 33(2), 97-105. doi: 10.4067/S0718-34292015000200012.
- Rouphael, Y., Rea, E., Cardarelli, M., Bitterlich, M., Schwarz, D., y Colla, G. (2016). Can Adverse Effects of Acidity and Aluminum Toxicity Be Alleviated by Appropriate Rootstock Selection in Cucumber? *Front Plant Sci*, 7, 1283. doi: 10.3389/fpls.2016.01283
- Semida, W. M., Hemida, K. A., y Rady, M. M. (2018). Sequenced ascorbate-proline-glutathione seed treatment elevates cadmium tolerance in cucumber transplants. *Ecotoxicol Environ Saf*, 154, 171-179. doi: 10.1016/j.ecoenv.2018.02.036
- Shah, S. N., Gong, Z. H., Arisha, M. H., Khan, A., y Tian, S. L. (2015). Effect of ethyl methyl sulfonate concentration and different treatment conditions on germination and seedling growth of the cucumber cultivar Chinese long (9930). *Genet Mol Res*, 14(1), 2440-2449. doi: 10.4238/2015.March.30.2
- Saharan, B. S., y Nehra, V. (2011). Plant Growth Promoting Rhizobacteria: A Critical Review. *Life Sciences and Medicine Research*, 2011(21), 1-30.

- Smiderle, O. J., Busch, S. A., Hissae, H. A., y Minami, K. (2001). Produção de mudas de alface, pepino e pimentão em substratos combinando areia, solo e Plantmax®. *Horticultura Brasileira*, 19(3).
- Sun, H., Dai, H., Wang, X., y Wang, G. (2016). Physiological and proteomic analysis of selenium-mediated tolerance to Cd stress in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Ecotoxicol Environ Saf*, 133, 114-126. doi: 10.1016/j.ecoenv.2016.07.003
- Zhou, X., y Wu, F. (2018). Vanillic acid changed cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedling rhizosphere total bacterial, *Pseudomonas* and *Bacillus* spp. communities. *Sci Rep*, 8(1), 1-11. doi: 10.1038/s41598-018-23406-2

## CONCLUSIÓN GENERAL

Gran parte del deterioro de los agroecosistemas se debe al empleo irracional de los agroquímicos, para el control de plagas, enfermedades y maleza, por lo cual continúa la demanda de alternativas que promuevan el empleo de productos de origen ecológico, que permitan minimizar su impacto y reducir la contaminación del ambiente. Desde el punto de vista sustentable, se hace necesario estudiar las potencialidades de las RPCV en el mejoramiento de los cultivos de importancia económica y social, con la consecuente preservación del ambiente. Los microorganismos del suelo tienen una gran importancia para mantener la vida en la Tierra. El estudio de su diversidad es vital y trascendente, ya que éstos forman parte de numerosas comunidades complejas y dinámicas, y para comprender su función, así como los cambios que se producen en dichas comunidades, en respuesta a diferentes factores y perturbaciones ambientales, en nichos específicos, es fundamental identificar y cuantificar cada uno de los miembros de estas comunidades. Estos microorganismos puedan ser empleados como biofertilizantes, fitoestimulantes o biocontroladores eficaces en el sector agrícola, buscando mejorar los procesos de nutrición y de resistencia de los cultivos a la sequía, la salinidad y a las altas temperaturas, para incrementar su rendimiento, dada la necesidad de satisfacer, que demanda la creciente población mundial del sector primario de la producción.