



<https://doi.org/10.5154/r.ctas.2024.0310>

Versión en español

## Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal en la producción de plántulas de tomate

Lidia Velasco-Velasco<sup>1\*</sup>; Langen Corlay-Chee<sup>2</sup>;  
Juan Antonio Cruz-Rodríguez<sup>3</sup>; Alejandro Hernández-Tapia<sup>3</sup>

### Historial del artículo:

Recibido: 10 de marzo, 2024.

Aceptado: 19 de septiembre, 2024

### \*Autor de correspondencia:

velasco.lidia@colpos.mx

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Iguala.

Carretera Iguala-Tuxpan km 2.5, Iguala de la Independencia, Guerrero, C. P. 40000, México.

<sup>2</sup>Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Suelos. Carretera México-Texcoco km 38.5, Chapingo, Texcoco, Estado de México, C. P. 56230, México.

<sup>3</sup>Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Agroecología, Carretera México-Texcoco km 38.5, Chapingo, Texcoco, Estado de México, C. P. 56230, México.

### Resumen

Las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal representan una alternativa biotecnológica para mejorar la producción de especies de interés socioeconómico como el tomate (*Solanum lycopersicum* L.). La producción de plántulas de calidad e inocuas representa un desafío clave antes de su establecimiento en campo. Uno de los principales obstáculos para los agricultores son los elevados costos asociados con los insumos sanitarios y los fertilizantes necesarios para favorecer un buen enraizamiento y reducir la mortalidad de las plantas. El objetivo de esta investigación fue aislar rizobacterias de la rizosfera de aguacate con capacidad de producir ácido indolacético (AIA) y evaluar su efecto en el desarrollo radical de plántulas de tomate *in vitro*. Se evaluaron dos cepas productoras de AIA y se inocularon en semillas de dos genotipos de tomate (H13-37 y L3), cultivados *in vitro* en medio Murashige Skoog. El experimento se organizó bajo un diseño de bloques completamente al azar a las dos semanas después de la siembra. Las cepas bacterianas aisladas produjeron suficiente AIA para promover el desarrollo radical. El genotipo L3 presentó la mejor respuesta en términos de longitud radicular, superficie total y número de ramificaciones por efecto de la inoculación bacteriana.

► **Palabras clave:** *Solanum lycopersicum* L., ácido indolacético, AIA, PGPR, promotores de crecimiento.

### Introducción

La producción de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en México es de gran valor, no solo por su alto consumo, sino también por sus propiedades nutritivas. En 2022, la producción nacional alcanzó las 3.46 millones de toneladas (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera [SIAP], 2023). Derivado de ello, existe interés por mejorar la rentabilidad y sostenibilidad del cultivo, para garantizar tanto el abastecimiento per cápita como la preservación de los recursos naturales. El uso de microorganismos como biofertilizantes ha surgido como una estrategia eficaz para reducir el impacto ambiental de los agroquímicos y promover prácticas

agrícolas más sostenibles (Ahamad et al., 2023). Entre los microorganismos usados como biofertilizantes se encuentran las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR, por sus siglas en inglés), las cuales pertenecen a diferentes especies bacterianas capaces de incrementar el crecimiento y la productividad vegetal (Saeed et al., 2021).

Las rizobacterias desempeñan funciones importantes como promover y facilitar el crecimiento y desarrollo de las plantas a través de mecanismos directos mediante la producción de metabolitos, como el ácido indolacético (AIA), la solubilización de fosfatos, la producción de sideróforos, la fijación biológica de nitrógeno (FBN) y la producción

de ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC). Asimismo, estos organismos actúan mediante mecanismos indirectos como la síntesis de ACC de aminosas y sideróforos, la inducción de resistencia sistémica, y el antagonismo frente a hongos y bacterias patógenas (Mohanty et al., 2021; Orozco-Mosqueda et al., 2018).

Las PGPR nativas representan una alternativa viable tanto económica como ecológica en la agricultura, ya que su versatilidad y capacidad de producir reguladores de crecimiento vegetal contribuyen a mejorar la productividad de cultivos de importancia económica, como el tomate. Sin embargo, algunos productores de tomate, como los de San Juan Elotepec, Sola de Vega, Oaxaca, enfrentan desafíos importantes en la adquisición de plántulas para trasplante, lo cual incrementa los costos de producción. Aunque han optado por producir sus propias plántulas, el manejo inadecuado y la deficiente nutrición después de la germinación afectan negativamente el desarrollo del sistema radicular, lo cual se traduce en pérdidas de plántulas en campo y mayores gastos en la adquisición de enraizadores y agroquímicos.

Considerando lo anterior, el objetivo de este trabajo fue aislar PGPR de la rizosfera de aguacate con capacidad de producir AIA y evaluar su efecto en el desarrollo radical de plántulas de tomate *in vitro*.

## Materiales y métodos

### Caracterización física y química del suelo

Se colectaron siete submuestras de suelo a una profundidad de 0-15 cm de la rizosfera de un huerto de aguacate 'Hass' en San Juan Elotepec, Sola de Vega, Oaxaca, México. A partir de ellas, se formó una muestra compuesta para su

caracterización conforme a los lineamientos de la NOM-021-SEMARNAT-2000 (Diario Oficial de la Federación [DOF], 2000), que establece las especificaciones para el análisis de la fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, así como los procedimientos de estudio y muestreo. Las características del suelo se presentan en el Cuadro 1.

### Obtención y selección de cepas bacterianas productoras de AIA

El aislamiento y la purificación de las rizobacterias se realizó mediante el procedimiento indicado por Zúñiga-Dávila (2012). Para ello, se preparó una serie de diluciones decimales seriadas de las muestras de suelo con una solución salina isotónica (SSI) hasta alcanzar una concentración de  $10^{-6}$  g·mL<sup>-1</sup>. Posteriormente, se transfirió 1 mL de las diluciones  $10^{-5}$  y  $10^{-6}$ , por triplicado, a cajas Petri estériles y se añadió agar triptona glucosa extracto de carne (ATGE). La alícuota de suelo y el medio de cultivo se mezclaron suavemente, se dejó solidificar y se incubó a 28 °C por 48 h. Se seleccionaron siete colonias con morfología macroscópica diferente, las cuales se sembraron por estría en placa de ATGE hasta obtener cultivos puros.

La producción de AIA se evaluó mediante el método colorimétrico para la detección de auxinas (Ahmad et al., 2005). Brevemente, se prepararon suspensiones de cada cepa seleccionada a una concentración de  $300 \times 10^6$  células·mL<sup>-1</sup> (equivalente a #1 en la escala McFarland) en SSI estéril. De cada suspensión, se transfirió 1 mL, por triplicado, a tubos que contenían caldo de triptona glucosa extracto de carne (TGE) enriquecido con L-triptofano (5 mM), los cuales se incubaron a 28 °C durante 5 d. Posteriormente, se mezcló 1 mL de cada cultivo con 4 mL de reactivo de Salkowsky y, después de 30 min de incubación en oscuridad, se midió la absorbancia a

**Cuadro 1. Características físicas y químicas del suelo.**

Parámetros	Valor	Interpretación cualitativa*
Textura	-	Franco arcilloso
pH	7.6	Mediano alcalino
Densidad aparente (g·cm <sup>-3</sup> )	1.2	Suelo mineral
Materia orgánica (%)	0.4	Muy bajo
Nitrógeno total (%)	0.04	Muy bajo
Fósforo aprovechable (mg·kg <sup>-1</sup> )	5.1	Bajo
Potasio (mg·kg <sup>-1</sup> )	170	Moderado-bajo
Calcio (mg·kg <sup>-1</sup> )	6400	Muy alto
Magnesio (mg·kg <sup>-1</sup> )	5876	Muy alto
Manganeso (mg·kg <sup>-1</sup> )	0.65	Deficiente
Cobre (mg·kg <sup>-1</sup> )	0.12	Deficiente
Zinc (mg·kg <sup>-1</sup> )	0.41	Deficiente
Hierro (mg·kg <sup>-1</sup> )	1.1	Deficiente

\* Clasificación de acuerdo con criterios de la NOM-021-SEMARNAT-2000 (DOF, 2000).

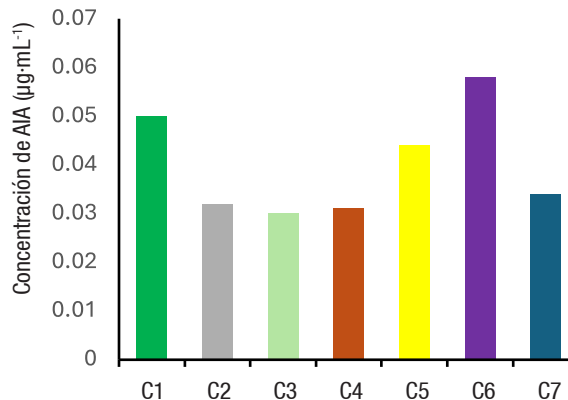
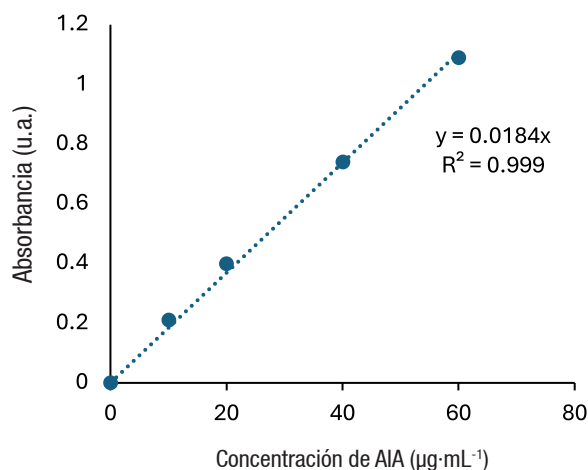


Figura 1. Determinación de la concentración de ácido indolacético (AIA). Izquierda: curva de calibración. Derecha: producción de AIA por cepas bacterianas.

530 nm en un espectrofotómetro de luz visible (Genesys™ 20, EUA). Simultáneamente, se preparó una curva de calibración con AIA comercial (0, 10, 20, 40 y 60 µg · mL<sup>-1</sup>). Los valores de absorbancia se interpolaron en la curva de calibración (Figura 1a) para determinar las concentraciones de AIA producidas por cada cepa (Figura 1b).

#### Aplicación de tratamientos y diseño experimental

Las cepas con mayor capacidad de producción de AIA (C1 y C6) se propagaron durante 5 días en caldo TGE a 28 °C con agitación constante a 100 rpm y se ajustaron a una concentración equivalente a 300-350×10<sup>6</sup> células · mL<sup>-1</sup> de la escala McFarland. Además, se preparó una mezcla de ambas cepas (C1C6) y un testigo con SSI (C0). El experimento se estableció *in vitro* en tubos de ensayo con medio Murashige y Skoog (MS) y semillas de dos genotipos de tomate (G1=H13-37 y G2=L3), donadas por el Dr. Juan Enrique Rodríguez Pérez de la Universidad Autónoma Chapingo.

El diseño experimental fue en bloques completamente al azar (BCA), donde los bloques correspondieron a los genotipos y a los tratamientos (C0, C1, C6, C1C6), todos evaluados a un nivel de concentración y 10 repeticiones por tratamiento. La unidad experimental consistió en una semilla por tubo de ensayo. Para ello, se desinfectaron superficialmente las semillas con una solución de hipoclorito de sodio al 20 %. Posteriormente, se sumergieron en 1 mL de la suspensión bacteriana correspondiente a cada tratamiento durante 12 h. Por último, se sembraron en los tubos de ensayo con medio MS. Las unidades experimentales se colocaron en un área iluminada con luz LED a 1,000 lux, y se cubrió la parte basal de los tubos para tener completa oscuridad.

#### Evaluación de tratamientos

La evaluación se realizó dos semanas después de la siembra. Las variables evaluadas fueron longitud de raíz (cm), área superficial (cm<sup>2</sup>), volumen de raíz (mm<sup>3</sup>) y ramificaciones (número de raíces secundarias) con el sistema de análisis de imágenes de raíces Winrhizo® 2016. Para el análisis de datos, se empleó el lenguaje de programación R y el ambiente R versión 4.2.1 para Windows. Los valores obtenidos se sometieron a una comparación de medias de Tukey ( $P \leq 0.05$ ). La homogeneidad y normalidad de los residuos se evaluó mediante la prueba de Levene y la prueba de Shapiro-Wilk, respectivamente.

#### Resultados y discusión

La inoculación con rizobacterias productoras de AIA mostró efectos favorables en los dos genotipos de tomate evaluados (G1=H13-37 y G2=L3), en relación con los parámetros radiculares analizados (Figura 2). En G1, la cepa C1 destacó al incrementar significativamente la longitud de las raíces en comparación con el testigo (C0). En contraste, la combinación de cepas (C1C6) no mostró diferencias significativas respecto al testigo en este mismo parámetro. Por otro lado, en el G2, las cepas C1C6 y C6 generaron mejores resultados, siendo C6 la cepa que presentó mayor efecto en longitud de raíces (Figura 2a).

En la distribución de longitud de raíces (Figura 3), las diferentes cepas favorecieron las distribuciones en longitudes de 0 a 0.5 cm, mientras que el tratamiento sin inoculación bacteriana (C0) se caracterizó por presentar una raíz principal y bajo porcentaje de formación de raíces. Ambos genotipos respondieron a la estimulación del AIA producido por las cepas inoculadas.

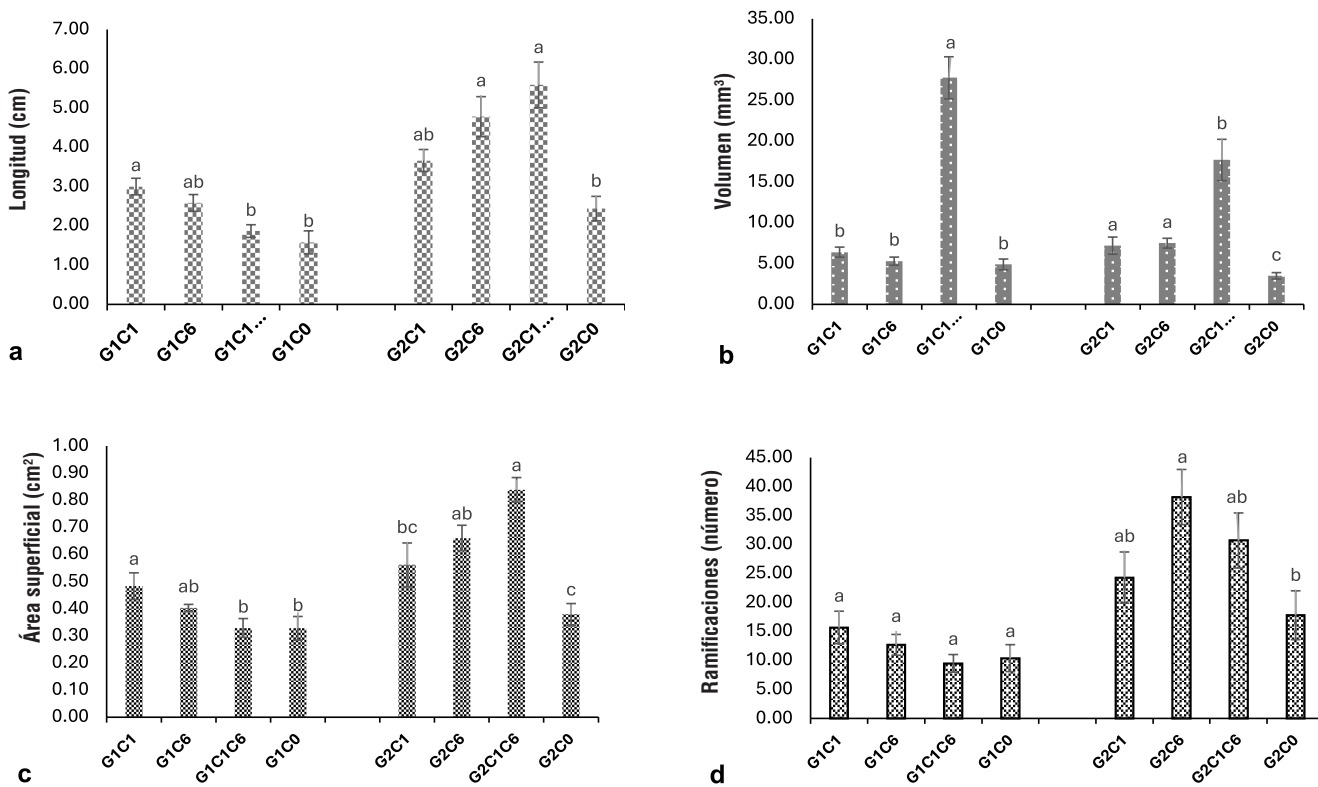


Figura 2. Parámetros radiculares obtenidos en los dos genotipos de tomate (G1=H13-37 y G2=L3) inoculados con diferentes cepas (C1, C6, C1C6 y C0): a) longitud, b) volumen, c) área superficial y d) ramificaciones de plántulas. Letras distintas en cada columna indican diferencias estadísticas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

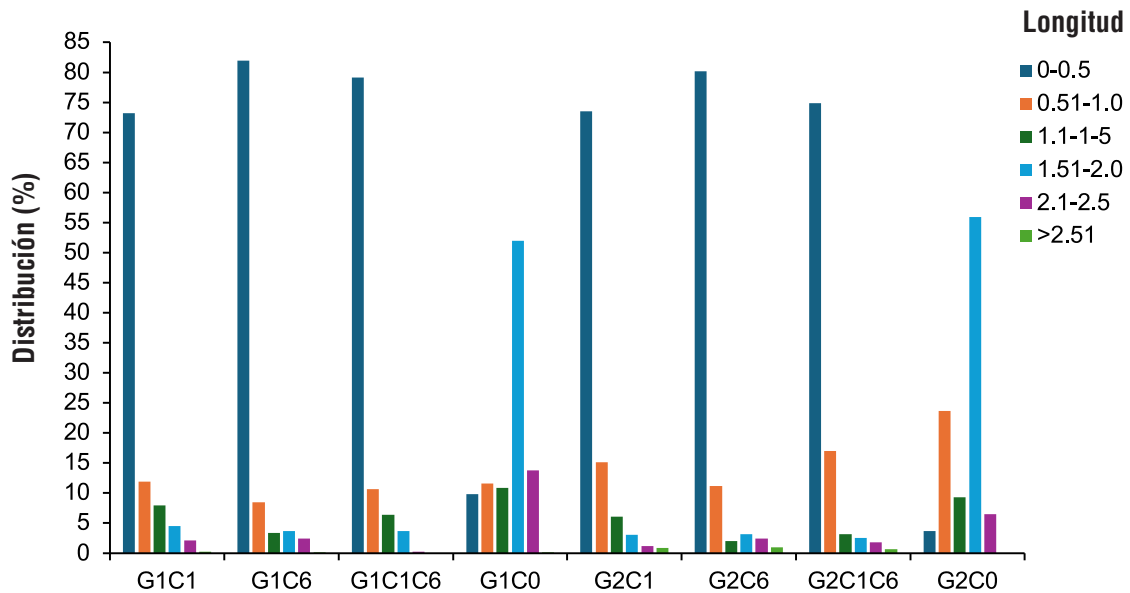


Figura 3. Distribución de longitudes de raíces en plántulas de dos genotipos tomate (G1=H13-37 y G2=L3) inoculadas con cepas bacterianas (C1, C6, C1C6 y C0).

En cuanto al volumen radical (Figura 2b), la combinación de cepas tuvo un efecto significativo en el aumento de volumen en comparación con el testigo, donde sobresalió el G1. En cambio, las cepas individuales presentaron un impacto bajo, similar al testigo en ambos genotipos. Respecto al área superficial (Figura 2c), el G2 presentó mayor área con la inoculación de ambas cepas, seguido de la inoculación con C6 y C1, respecto al testigo. En el G1, la cepa C1 fue la que promovió el mayor aumento en el área superficial, seguida por las cepas C6 y C1C6, en relación con el testigo.

Para el número de ramificaciones (Figura 2d), el G2 mostró significativamente más ramificaciones con la inoculación de la cepa C6, seguido de C1C6 y C1, en comparación con el testigo. Por otro lado, el G1 no presentó diferencia estadística significativa en el número de ramificaciones.

La concentración de AIA necesaria para estimular el crecimiento radical de las plantas depende de la especie. Un genotipo en particular puede ser favorecido por una cepa a cierta concentración, pero la misma concentración puede no tener influencia significativa en otro genotipo. Al respecto, la interacción bacteria-planta promueve el crecimiento vegetal a través de la producción de fitohormonas como el AIA (Sharma et al., 2021), lo cual contribuye al desarrollo del sistema radicular (Chauhan et al., 2013). Los resultados obtenidos en este estudio concordaron con lo reportado por Irizarry y White (2017), quienes mencionan que las rizobacterias inducen modificaciones estructurales en la arquitectura radicular. Asimismo, Kumar et al. (2019), reportaron el desarrollo y elongación de pelos radiculares. Un buen desarrollo radicular proporciona un mejor anclaje, mayor absorción de agua y nutrientes, y una mayor exploración del medio circundante, lo cual puede reducir el uso de fertilizantes químicos (Khan et al., 2021).

Los resultados obtenidos también coinciden con lo mencionado por Moreno-Gavira et al. (2020), quienes reportaron un aumento de 18.23 % en longitud de raíz en la germinación de semillas de tomate en comparación con su tratamiento testigo, y un 17.85 % en semillas de pimiento inoculadas con *P. variotii* (cepa productora de AIA). Asimismo, Asari et al. (2017) observaron cambios en la arquitectura radicular en *Arabidopsis* por inoculación de rizobacterias, y García et al. (2021) obtuvieron algo similar en *Glycine max* L.

## Conclusiones

Se aislaron cepas de bacterias promotoras del crecimiento vegetal con capacidad productora de ácido indolacético (AIA). La capacidad de producción de AIA fue suficiente para diferenciar significativamente el efecto de los tratamientos en ambos genotipos evaluados. El genotipo 2 (L3) mostró una respuesta destacada a la inoculación de

bacterias productoras de AIA, evidenciando mejoras en la longitud, área superficial y número de ramificaciones del sistema radicular. Las rizobacterias demostraron ser una estrategia eficaz para promover y optimizar el crecimiento de plántulas de tomate, lo cual sugiere su potencial como biofertilizantes en sistemas agrícolas sostenibles.

## Referencias

- Ahmad, F., Ahmad, I., & Khan, M. (2005). Indole acetic acid production by the indigenous isolates of *Azotobacter* and fluorescent *Pseudomonas* in the presence and absence of tryptophan. *Turkish Journal of Biology*, 29(1), 29-34. <https://journals.tubitak.gov.tr/biology/vol29/iss1/5/>
- Asari, S., Tarkowská, D., Rolčík, J., Novák, O., Palmero-Velázquez, D., Bejai, S., & Meijer, J., (2017). Analysis of plant growth-promoting properties of *Bacillus amyloliquefaciens* UCMB5113 using *Arabidopsis thaliana* as host plant. *Planta*, 245(1), 15-30. <https://doi.org/10.1007/s00425-016-2580-9>
- Chauhan, H., Bagyaraj, D. J., & Sharma, A. (2013). Plant growth-promoting bacterial endophytes from sugarcane and their potential in promoting growth of the host under field conditions. *Experimental Agriculture*, 49(1), 43-52. <https://doi.org/10.1017/S0014479712001019>
- Diario Oficial de la Federación (DOF) (2000). *Especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis. Norma oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000*. DOF. <http://www.ordenjuridico.gob.mx/Documentos/Federal/w069255.pdf>
- García, J., Schmidt, J. E., Gidekel, M., & Gaudin, A. C. (2021). Impact of an antarctic rhizobacterium on root traits and productivity of soybean (*Glycine max* L.). *Journal of Plant Nutrition*, 44(12), 1818-1825. <https://doi.org/10.1080/01904167.2021.1884704>
- Irizarry, I., & White, J. F. (2017). Application of bacteria from non-cultivated plants to promote growth, alter root architecture and alleviate salt stress of cotton *Journal of Applied Microbiology*, 122(4), 1110-1120. <https://doi.org/10.1111/jam.13414>
- Khan, N., Ali, S., Shahid, M. A., Mustafa, A., Sayyed, R. Z., & Curá, J. A. (2021). Insights into the interactions among roots, rhizosphere, and rhizobacteria for improving plant growth and tolerance to abiotic stresses: a review. *Cells*, 10(6), 1551. <https://doi.org/10.3390/cells10061551>
- Kumar, A., Patel, J. S., Meena, V. S., & Ramteke, P. W. (2019). Plant growth-promoting rhizobacteria: strategies to improve abiotic stresses under sustainable agriculture. *Journal of Plant Nutrition*, 42(11-12), 1402-1415. <https://doi.org/10.1080/01904167.2019.1616757>
- Mohanty, P., Singh, P. K., Chakraborty, D., Mishra, S., & Pattnaik, R. (2021). Insight into the role of PGPR in sustainable agriculture and environment. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5, 667150. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.667150>
- Moreno-Gavira, A., Diáñez, F., Sánchez-Montesinos, B., & Santos, M. (2020). *Paecilomyces variotii* as a plant-growth promoter in horticulture. *Agronomy*, 10(4), 597. <https://doi.org/10.3390/agronomy10040597>
- Orozco-Mosqueda, M. C., Rocha-Granados, M. C., Glick, B., & Santoyo, G. (2018). Microbiome engineering to improve biocontrol and plant growth-promoting mechanisms. *Microbiological Research*, 208, 25-31. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.01.005>
- Saeed, Q., Xiukang, W., Haider, F. U., Kučerík, J., Mumtaz, M. Z., Holatko, J., Naseem, M., Kintl, A., Ejaz, M., Naveed, M., Brtnický, M., & Mustafa, A. (2021). Rhizosphere bacteria in plant growth promotion, biocontrol,

- and bioremediation of contaminated sites: a comprehensive review of effects and mechanisms. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(19), 10529. <https://doi.org/10.3390/ijms221910529>
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2023, November 9). *Cierre de la producción agrícola por estado*. <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola>
- Sharma, M., Sood, G., & Chauhan, A. (2021). Bioprospecting beneficial endophytic bacterial communities associated with *Rosmarinus officinalis* for sustaining plant health and productivity. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 37(135), 1-17. <https://doi.org/10.1007/s11274-021-03101-7>
- Zúñiga-Dávila, D. E. (2012). *Manual de microbiología agrícola, Rhizobium, PGPRs, indicadores de fertilidad e inocuidad*. Universidad Nacional Agraria la Molina.