

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN BIOTECNOLOGÍA

**“Efecto de la inoculación de *Solanum lycopersicum* con
aislados bacterianos endófitos de *Selaginella nothohybrida*”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRA EN BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA:

ING. ITZEL REYES ROSAS

DIRECTOR: DR. RAMÓN SUÁREZ RODRÍGUEZ

CUERNAVACA, MORELOS, DICIEMBRE 2022



**Laboratorio de Fisiología
Molecular de Plantas**

El presente trabajo fue realizado en el Laboratorio de Fisiología Molecular de Plantas del Centro de Investigación en Biotecnología de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos bajo la dirección del Dr. Ramón Suárez Rodríguez. Para la realización de los estudios de posgrado se contó con la beca otorgada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (883984).

Agradecimientos

Quiero agradecer al Centro de Investigación en Biotecnología de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, en particular al Laboratorio de Fisiología Molecular de Plantas, por haberme permitido realizar mis estudios de posgrado.

A mi director de Tesis: Dr. Ramón Suárez Rodríguez:

Por su dedicación y paciencia a lo largo de mi estancia en el laboratorio. Gracias por permitirme realizar y concluir mi proyecto de investigación.

A todos los miembros de mi Comité: Dr. Edgar Dantán González, Dr. Mario Ramírez Yáñez, Dr. José Augusto Ramírez Trujillo, Dr. Marco Antonio Rogel Hernández y Dr. Ramón Suárez Rodríguez.

Por impulsarme cada tutorial a esforzarme más y por recordarme que siempre se puede aprender algo nuevo. Por guiarme y motivarme durante mi desarrollo académico... ¡Gracias!

A mis amigos del Laboratorio de Fisiología Molecular de Plantas:

Gracias por brindarme sus consejos, su experiencia y su amistad. Sé que mi estancia en el laboratorio fue corta, pero ustedes hicieron que cada momento valiera la pena. Gracias Uriel, por escucharme y por apoyarme en todo lo que necesité. Gracias Lupita, porque siempre estuviste ahí para guiarme, incluso cuando solo nos conocíamos en línea.

¡Gracias, gracias, gracias!

Dedicatorias

A mi amado padre, gracias por guiarme y protegerme. Siempre has sido mi más grande inspiración. Gracias por impulsarme a superarme y por motivarme a ser mejor persona cada día. Siempre me has demostrado tu amor incondicional y hoy soy lo que soy gracias a tu dedicación. ¡Gracias por ser el mejor papá!

A mi madre por ser una mujer fuerte e independiente que me ha apoyado a convertirme en una gran mujer. Sé que no ha sido fácil, pero poco a poco hemos establecido lazos que perdurarán para siempre.

A mis hermanos, Mafer y Richie, gracias porque hemos vivido increíbles cosas juntas; siempre hemos estado ahí para llorar, reír y celebrar los fracasos y los éxitos.

A mi bella tía Paty, gracias por siempre haber estado incondicionalmente, siempre te ha preocupado mi formación personal y profesional. Estuviste ahí cuando me convertí en Ingeniera y ahora te doy las gracias por tu apoyo para convertirme en Maestra en Biotecnología.

Al amor de mi vida, agradezco el día que nuestros caminos se cruzaron, hoy y siempre has sido un apoyo en mi formación profesional. Durante más de diez años has sido testigo de mis anhelos, sueños y deseos y hoy solo puedo agradecerte por impulsarme a cumplirlos. El camino no ha sido fácil y tú eres testigo, pero siempre que sentí caer has estado ahí para levantarme. Gracias por tu paciencia.

A ti, abuelito †, porque sé que estarías orgulloso de mi.

Gracias Dios, por la vida y las personas tan maravillosas que me rodean.

Este proyecto va con el corazón para todos ustedes.

¡Los amo!

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE FIGURAS.....	i
ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS	v
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Impacto ambiental	2
1.2. Estrés	3
1.2.1. Mecanismos generales de respuesta a estrés en plantas	4
1.3. Microorganismos endófitos	6
1.3.1. Bacterias promotoras del crecimiento vegetal.....	6
1.3.2. Mecanismos bacterianos para la promoción del crecimiento.....	7
1.4. Géneros microbianos de interés agrícola.....	13
1.5. Tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>)	15
1.5.1. Etapas fenológicas del tomate.....	15
1.5.2. Importancia del tomate	16
1.5.3. Problemática del cultivo del tomate	17
2. ANTECEDENTES DIRECTOS.....	17
3. JUSTIFICACIÓN.....	18
4. HIPÓTESIS	19
5. OBJETIVOS.....	19
5.1. General	19
5.2. Específicos	19
6. ESTRATEGIA EXPERIMENTAL.....	20
7. METODOLOGÍA.....	21
7.1. Selección de aislados.....	21
7.2. Material vegetal	21
7.3. Análisis de la promoción del crecimiento vegetal en plantas de <i>S. lycopersicum</i> inoculadas con aislados bacterianos de <i>S. nothohybrida</i>	22
7.3.1. Ensayo de germinación <i>in vitro</i>	22
7.3.2. Efecto de los aislados de <i>S. nothohybrida</i> en diferentes etapas fenológicas de <i>S. lycopersicum</i> 22	
7.4. Análisis de la promoción del crecimiento vegetal en plantas de <i>S. lycopersicum</i> inoculadas con consorcios bacterianos de <i>S. nothohybrida</i>	23
7.4.1. Ensayo de germinación <i>in vitro</i>	24
7.4.2. Ensayo fase inicial.....	24
7.5. Análisis molecular para la identificación de los aislados bacterianos más representativos	24
7.5.1. Extracción DNA	24
7.5.2. Amplificación y secuenciación del gen ribosomal 16S	24

7.6.	Determinación de la producción de sideróforos	25
7.7.	Efecto de los aislados de <i>S. nothohybrida</i> sobre <i>Botrytis cinerea</i> (B05.10)	25
8.	RESULTADOS	26
8.1.	Selección de aislados bacterianos de <i>S. nothohybrida</i>	26
8.2.	Ensayo de germinación <i>in vitro</i>	27
8.3.	Efecto de los aislados de <i>S. nothohybrida</i> en diferentes etapas fenológicas de <i>S. lycopersicum</i>	31
8.4.	Determinación de la producción de sideróforos	53
8.5.	Efecto de los aislados bacterianos de <i>S. nothohybrida</i> sobre el crecimiento del hongo <i>B. cinerea</i> . 54	
8.6.	Identificación molecular de los aislados más representativos de <i>S. nothohybrida</i>	55
9.	DISCUSIÓN.....	55
10.	CONCLUSIONES	58
11.	PERSPECTIVAS	58
12.	BIBLIOGRAFÍA.....	59
13.	ANEXOS	71
13.1.	Composición de los medios de cultivo utilizados en la investigación	71
13.2.	Secuencias	72
13.3.	Árbol filogenético	74
13.4.	Unidades Formadoras de Colonias.....	75

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estrés biótico y abiótico en plantas.....	4
Figura 2. Mecanismo general de inducción de respuesta al estrés abiótico en plantas	5
Figura 3. Representación de la colonización de la rizosfera por Bacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal.....	7
Figura 4. Mecanismos de acción de las BPCV	8
Figura 5. Estructura del ácido indolacético.....	10
Figura 6. <i>Solanum lycopersicum</i>	15
Figura 7. Etapas fenológicas del cultivo de tomate.....	16
Figura 8. Principales estados productores de tomate en México	16
Figura 9. Estrategia experimental	20
Figura 10. Representación de placas de <i>B. cinérea</i> con aislados bacterianos de <i>S. nothohybrida</i> ..	26
Figura 11. Porcentaje de germinación de semillas de <i>S. lycopersicum</i> inoculadas con aislados bacterianos de <i>S. nothohybrida</i>	27
Figura 12. Plántulas de <i>S. lycopersicum</i> de diez días post-inoculación	28
Figura 13. Imágenes representativas de las plántulas a los 10 días de germinación.....	28
Figura 14. Longitud promedio de la raíz de las plántulas de <i>S. lycopersicum</i> inoculadas con aislados bacterianos de <i>S. nothohybrida</i>	29
Figura 15. Longitud promedio de la raíz de las plántulas de <i>S. lycopersicum</i> inoculadas con aislados bacterianos de <i>S. nothohybrida</i>	30
Figura 16. Efecto sobre el desarrollo de raíces secundarias en plántulas de <i>S. lycopersicum</i>	30
Figura 17. Aspecto de plantas de <i>S. lycopersicum</i> inoculadas con los aislados de <i>S. nothohybrida</i>	31
Figura 18. Altura promedio total de las plantas de <i>S. lycopersicum</i> inoculadas con aislados bacterianos de <i>S. nothohybrida</i>	32
Figura 19. Longitud promedio del tallo de las plantas de <i>S. lycopersicum</i> inoculadas con aislados bacterianos de <i>S. nothohybrida</i>	32
Figura 20. Longitud promedio de raíz de las plantas de <i>S. lycopersicum</i> inoculadas con aislados bacterianos de <i>S. nothohybrida</i>	33
Figura 21. Diámetro promedio del tallo de las plantas de <i>S. lycopersicum</i> inoculadas con aislados bacterianos de <i>S. nothohybrida</i>	33

Figura 22. Aspecto de plantas de <i>S. lycopersicum</i> inoculadas con los aislados de <i>S. nothohybrida</i>	34
Figura 23. Altura promedio total de las plantas de <i>S. lycopersicum</i> inoculadas con aislados bacterianos de <i>S. nothohybrida</i>	35
Figura 24. Longitud promedio del tallo de las plantas de <i>S. lycopersicum</i> inoculadas con aislados bacterianos de <i>S. nothohybrida</i>	36
Figura 25. Raíces de las plantas inoculadas con aislados de <i>S. nothohybrida</i>	36
Figura 26. Longitud promedio de raíz de las plantas de <i>S. lycopersicum</i> inoculadas con aislados bacterianos de <i>S. nothohybrida</i>	37
Figura 27. Diámetro promedio del tallo de las plantas de <i>S. lycopersicum</i> inoculadas con aislados bacterianos de <i>S. nothohybrida</i>	37
Figura 28. Peso fresco de las plantas de <i>S. lycopersicum</i> inoculadas con aislados bacterianos de <i>S. nothohybrida</i>	38
Figura 29. Peso fresco del tallo de las plantas de <i>S. lycopersicum</i> inoculadas con aislados bacterianos de <i>S. nothohybrida</i>	39
Figura 30. Peso fresco de la raíz de las plantas de <i>S. lycopersicum</i> inoculadas con aislados bacterianos de <i>S. nothohybrida</i>	39
Figura 31. Peso seco del tallo de las plantas de <i>S. lycopersicum</i> inoculadas con aislados bacterianos de <i>S. nothohybrida</i>	40
Figura 32. Peso seco de la raíz de las plantas de <i>S. lycopersicum</i> inoculadas con aislados bacterianos de <i>S. nothohybrida</i>	40
Figura 33. Aspecto de plantas de <i>S. lycopersicum</i> inoculadas con los aislados de <i>S. nothohybrida</i>	41
Figura 34. Longitud promedio del tallo de las plantas de <i>S. lycopersicum</i> inoculadas con aislados bacterianos de <i>S. nothohybrida</i>	42
Figura 35. Longitud promedio de raíz de las plantas de <i>S. lycopersicum</i> inoculadas con aislados bacterianos de <i>S. nothohybrida</i>	43
Figura 36. Diámetro promedio del tallo de las plantas de <i>S. lycopersicum</i> inoculadas con aislados bacterianos de <i>S. nothohybrida</i>	43
Figura 37. Peso fresco del tallo de plantas de <i>S. lycopersicum</i> inoculadas con aislados bacterianos de <i>S. nothohybrida</i>	44
Figura 38. Peso fresco de la raíz de las plantas de <i>S. lycopersicum</i> inoculadas con aislados bacterianos de <i>S. nothohybrida</i>	44
Figura 40. Peso seco de la raíz de las plantas de <i>S. lycopersicum</i> inoculadas con aislados bacterianos de <i>S. nothohybrida</i>	45

Figura 41. Porcentaje de germinación de semillas de <i>S. lycopersicum</i> inoculadas con diferentes tratamientos	46
Figura 42. Plántulas de <i>S. lycopersicum</i> de diez días post-inoculación: no inoculadas (-) e inoculadas con diferentes tratamientos.	47
Figura 43. Imágenes representativas de las plántulas a los 10 días de germinación.	48
Figura 44. Altura promedio de las plántulas de <i>S. lycopersicum</i> inoculadas con consorcios bacterianos de <i>S. nothohybrida</i>	49
Figura 45. Longitud promedio de la raíz de las plántulas de <i>S. lycopersicum</i> inoculadas con consorcios bacterianos de <i>S. nothohybrida</i>	49
Figura 46. Peso fresco de las plántulas de <i>S. lycopersicum</i> inoculadas con consorcios bacterianos de <i>S. nothohybrida</i>	50
Figura 47. Longitud promedio de la raíz de las plántulas de <i>S. lycopersicum</i> inoculadas con consorcios bacterianos de <i>S. nothohybrida</i>	50
Figura 48. Imágenes representativas de plántulas de <i>S. lycopersicum</i> inoculadas con los consorcios bacterianos.....	51
Figura 49. Longitud promedio del tallo de las plantas de <i>S. lycopersicum</i> inoculadas con consorcios bacterianos de <i>S. nothohybrida</i>	52
Figura 50. Longitud promedio de raíz de las plantas de <i>S. lycopersicum</i> inoculadas con consorcios bacterianos de <i>S. nothohybrida</i>	52
Figura 51. Producción de sideróforos de los aislados bacterianos de <i>S. nothohybrida</i>	53
Figura 52. Efecto antagónico de aislados bacterianos de <i>S. nothohybrida</i> sobre el crecimiento micelial de <i>B. cinerea</i>	54
Figura 52. Árbol filogenético basado en secuencias de la región 16S del ADNr de aislados bacterianos de <i>S. nothohybrida</i>	74

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Producción de ácidos orgánicos por bacterias solubilizadoras de fosfato.....	9
Tabla 2. Antibióticos producidos por géneros bacterianos promotores del crecimiento vegetal.	12
Tabla 3. Bacterias endófitas aisladas de plantas de cultivos agrícolas comunes.....	14
Tabla 4. Características promotoras del crecimiento vegetal de los aislados bacterianos.....	21
Tabla 5. Oligonucleótidos universales	24
Tabla 6. Condiciones estándar para un PCR (50µl)	25
Tabla 7. Aislados bacterianos seleccionados.....	26
Tabla 8. Identificación molecular de los aislados bacterianos de <i>S. nothohybrida</i>	55
Tabla 9. Unidades Formadoras de Colonias de los aislados bacterianos a D.O 0.2.....	75

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

AIA: Ácido indolacético

BPCV: Bacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal.

CEDRSSA: Centro de Estudios para el Desarrollo Rural Sustentable y Soberanía Alimentaria

CK: Citoquininas

DPI: Días post-inoculación

DPT: Días post-trasplante

EPS: Exopolisacáridos

FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura

GA: Giberelinas

ISR: Resistencia Sistémica Inducida

HSPs: Proteínas de choque térmico

N₂: Nitrógeno gaseoso

NH₃: Amoniac

P: Fósforo

SAGARPA: Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación

1. INTRODUCCIÓN

Durante las últimas décadas, debido al crecimiento poblacional, nos hemos visto en la necesidad de mejorar el rendimiento de los cultivos para poder cubrir la demanda alimenticia de todos los habitantes; sin embargo, esto ha incrementado la dependencia y el uso excesivo de fertilizantes nitrogenados y otros agroquímicos que, a largo plazo, causan modificaciones en el microbioma del suelo y generan efectos nocivos en el medio ambiente, como la degradación del suelo, contaminación del agua, lixiviación o acumulación de nutrientes. En la búsqueda de apoyar a mejorar estas problemáticas, los países han optado por elegir alternativas que permitan cumplir con la demanda alimenticia de una forma sustentable. Una manera de impulsar la sustentabilidad de las prácticas agrícolas es el uso de microorganismos benéficos que ayuden a reducir la dependencia hacia los fertilizantes químicos y al mismo tiempo mejoren la tolerancia al estrés y favorezcan el rendimiento de los cultivos (Muneera *et al.*, 2020). En la naturaleza, las plantas interactúan de forma benéfica con diferentes microorganismos que, colonizan la rizosfera o el tejido vegetal interno sin causar daño o enfermedades aparentes; además, se ha demostrado que brindan soporte a las plantas para combatir el estrés y promover el crecimiento de las mismas; dentro de estos microorganismos encontramos a las bacterias denominadas promotoras del crecimiento vegetal (BPCV) (Bolívar-Anillo *et al.*, 2016; Mohamed Mahmoud *et al.*, 2017). Las BPCV al ser usadas como biofertilizantes presentan efectos positivos sobre las plantas gracias a su capacidad para incrementar la disponibilidad de nutrientes esenciales, la síntesis de hormonas vegetales que benefician el crecimiento y desarrollo de la planta, o mediante la prevención del estrés (Rojas-Tapias *et al.*, 2012)

Desde un punto de vista biológico, el estrés en las plantas se refiere a las condiciones externas que afectan negativamente el crecimiento, desarrollo o productividad de las plantas, este puede ser biótico o abiótico. El estrés biótico es causado por organismos como virus, bacterias, hongos, nemátodos, animales y otras plantas; por su parte, el estrés abiótico resulta por alteraciones físicas o químicas en el ambiente, como la sequía, salinidad excesiva, temperaturas extremas, etc., (Gull *et al.*, 2019). Con la finalidad de prevenir daño y garantizar la supervivencia, las plantas emplean estrategias en respuesta al estrés como la síntesis de compuestos como polioles (sorbitol y manitol), aminoácidos (prolina, ácido glutámico) y disacáridos (trehalosa y sacarosa) que pueden funcionar como osmoprotectores o termoprotectores para reaccionar ante el estrés causado por la sequía, salinidad o temperaturas extremas (Adams *et al.*, 1990; Avonce *et al.*, 2006; Vargas *et al.*, 2009; Secks *et al.*, 2009; Castillo-Texta, 2020) o mediante interacciones simbióticas con diferentes bacterias benéficas, a través de distintos mecanismos como la

síntesis de fitohormonas, la producción de enzimas líticas, la movilización de nutrientes, la solubilización de fosfato (PO₄) y la fijación de nitrógeno (Muneera *et al.*, 2020).

Diversas investigaciones sugieren que plantas que poseen la capacidad de sobrevivir a diversas condiciones climáticas, tienen la capacidad de modificar su microbioma para retener colonizadores benéficos que pueden ser aislados para aplicarse en cultivos de interés agronómico. Dentro de estas plantas, podemos encontrar algunas especies del género *Selaginella* (*S. nothohybrida*, *S. lepidophylla*) que han desarrollado tolerancia a la desecación, una característica que les permite resistir periodos prolongados en estado deshidratado y rehidratarse cuando las condiciones climáticas son favorables (Alejo-Jacuinde *et al.*, 2020); esta capacidad se le atribuía a la acumulación de trehalosa, un disacárido no reductor, formado por dos moléculas de glucosa (Suárez, *et al.*, 2015); sin embargo, un estudio metabolómico reveló que *Selaginella moellendorffii*, una planta sensible a la sequía, contenía niveles de trehalosa más altos que *S. lepidophylla*, indicando que este disacárido no se requiere necesariamente para la tolerancia a la desecación (Adams *et al.*, 1990; Yobi *et al.*, 2012). Además, la síntesis de trehalosa en estas plantas se atribuyó a los organismos endófitos asociados (Pampurova *et al.*, 2014); esta propuesta motivó diversas investigaciones para determinar el papel de los endófitos asociados a *Selaginella*.

En el Laboratorio de Fisiología Molecular de Plantas, del Centro de Investigación en Biotecnología, se seleccionaron dos especies de plantas de resurrección (*S. nothohybrida*, *S. lepidophylla*), para aislar, caracterizar e identificar los microorganismos endófitos asociados a estas plantas, en los cuales se han identificado diversas características consideradas promotoras del crecimiento vegetal (síntesis de trehalosa, producción de AIA, solubilización de fosfatos y capacidad para fijar nitrógeno) (Torreblanca, 2017; Castillo-Texta, 2020). Con base en lo anterior, en el presente trabajo de investigación se muestra el efecto que tienen algunos aislados bacterianos de *S. nothohybrida* sobre el crecimiento y desarrollo al ser inoculados en un cultivo de interés agronómico (*Solanum lycopersicum*).

1.1. Impacto ambiental

En México las actividades agrícolas son de gran importancia en el medio rural debido a que son la fuente principal de ingresos y alimentos. Este sector desarrolla sus actividades mediante el aprovechamiento de los recursos naturales, constituyéndose como uno de los principales medios de empleo para la población de las zonas rurales.

El sector agropecuario en México ha sufrido, durante varios años, una serie de adaptaciones y modificaciones en el uso del suelo (debido a la demanda alimenticia),

obteniendo como consecuencia degradación del medio ambiente y contribución al cambio climático. Entendemos por cambio climático, una afectación directa o indirecta en el clima causada por las diferentes actividades antropogénicas (ONU, 1996). Teniendo como resultado incrementos en la temperatura, degradación de suelos, una mayor susceptibilidad de los cultivos a patógenos o plagas y problemas ambientales que afectan la calidad de la salud humana (Tilman *et al.*, 2002; Trivedi *et al.*, 2017).

El territorio mexicano está conformado por 1'964,375 km² de superficie territorial; posee 24.6 millones de hectáreas destinadas a la agricultura, de las cuales 21.6 millones son cultivadas (SIAP, 2019). El aumento en la producción de hortalizas se debe a la producción intensiva mediante el uso indiscriminado de agroquímicos (fertilizantes, plaguicidas, herbicidas, etc.) provocando que en las regiones agrícolas del país se compacten y erosionen los suelos, se contamine el agua y que las plagas generen resistencia a los pesticidas (González, 2014; Vargas-González, 2019). El 54.8% de las Unidades de Producción Agrícola utilizaron plaguicidas durante el periodo 2012 – 2017, estos tuvieron un incremento de 9.5% en el consumo. Además de daños en suelo, agua y atmósfera, los organismos benéficos también se ven perjudicados por el uso incorrecto de los insumos químicos en las prácticas agrícolas (CEDRSSA, 2020). Se ha reportado que el incremento en el uso de los agroquímicos no siempre da como resultado una mejoría en el rendimiento de los cultivos; por ello se plantea como desafío el aumento en la producción agrícola evitando acrecentar los costos agrícolas y los impactos ambientales (SAGARPA, 2019).

Es evidente que las prácticas agrícolas tradicionales no son ambientalmente ni económicamente viables; es por ello, que los países en conjunto con organismos internacionales como la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) buscan opciones amigables con el medio ambiente para satisfacer de manera sostenible las demandas de seguridad alimentaria mundial. Una manera de impulsar la sustentabilidad de las prácticas agrícolas es el uso de microorganismos benéficos, éstos interactúan de manera positiva con las plantas mediante la fijación y asimilación de nutrientes, la resistencia a plagas/enfermedades y mejorando la tolerancia al estrés biótico y abiótico (Muneera *et al.*, 2020).

1.2. Estrés

El estrés ambiental ha generado una disminución en la productividad y calidad del sector agrícola, tanto en cultivos a cielo abierto, como en agricultura protegida. Desde un punto de vista biológico, el estrés en las plantas se refiere a las condiciones externas que afectan negativamente el crecimiento, desarrollo o productividad de los cultivos (Gull *et al.*,

2019); éste desencadena una amplia variedad de respuestas en las plantas, que van desde modificación en la expresión genética y el metabolismo celular hasta cambios en la tasa de crecimiento y la productividad de las plantas (Shao *et al.*, 2008; Gull *et al.*, 2019). La tolerancia al estrés es la capacidad que posee un organismo para resistir y evadir lo estímulos ambientales negativos, con la finalidad de evitar modificaciones significativas en su fenotipo (Basurto *et al.*, 2008). El estrés ambiental de las plantas se puede dividir en dos categorías principales: biótico y abiótico; el estrés biótico es causado por organismos como virus, bacterias, hongos, nemátodos, animales y otras plantas; por su parte, el estrés abiótico resulta por alteraciones físicas o químicas en el ambiente, como sequía, salinidad excesiva, temperaturas extremas, etc., (**Figura 1**) (Gull *et al.*, 2019).

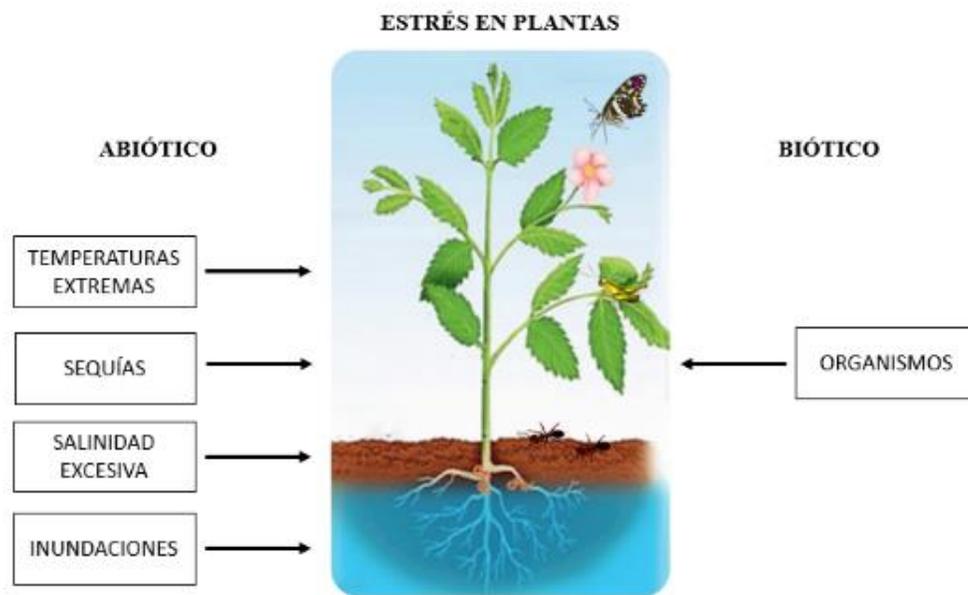


Figura 1. Estrés biótico y abiótico en plantas (Tomada y modificada de Sha *et al.*, 2014).

1.2.1. Mecanismos generales de respuesta a estrés en plantas

En condiciones ambientales perjudiciales, el desarrollo y crecimiento de las plantas se ve gravemente afectado, lo que dificulta la productividad y, por lo tanto, impide que alcancen su máximo potencial genético. Dentro de los desafíos que debe enfrentar la agricultura encontramos el estrés abiótico, al cual se le atribuye el 50% de la reducción en la producción de los cultivos. Con la finalidad de prevenir el daño y garantizar la supervivencia, las plantas han desarrollado mecanismos de defensa y adaptación contra los daños causados por el estrés (Tuteja y Sopory, 2008; Fahad *et al.*, 2015), en estas estrategias intervienen una gran variedad de compuestos químicos que regulan las reacciones bioquímicas y modulan la expresión génica. La planta experimenta tres etapas durante el mecanismo de defensa: reconocimiento, transducción de señales y respuesta

(Biswal *et al.*, 2011). La señal de estrés es primeramente percibida por los receptores presentes en la membrana de las células vegetales; posteriormente la información de esta señal se transduce y da como resultado la activación de los genes de respuesta al estrés. Finalmente, los productos de estos genes producen una respuesta de adaptación o tolerancia para que la planta pueda sobrevivir a las condiciones desfavorables (**Figura 2**) (Tuteja y Sopory, 2008).

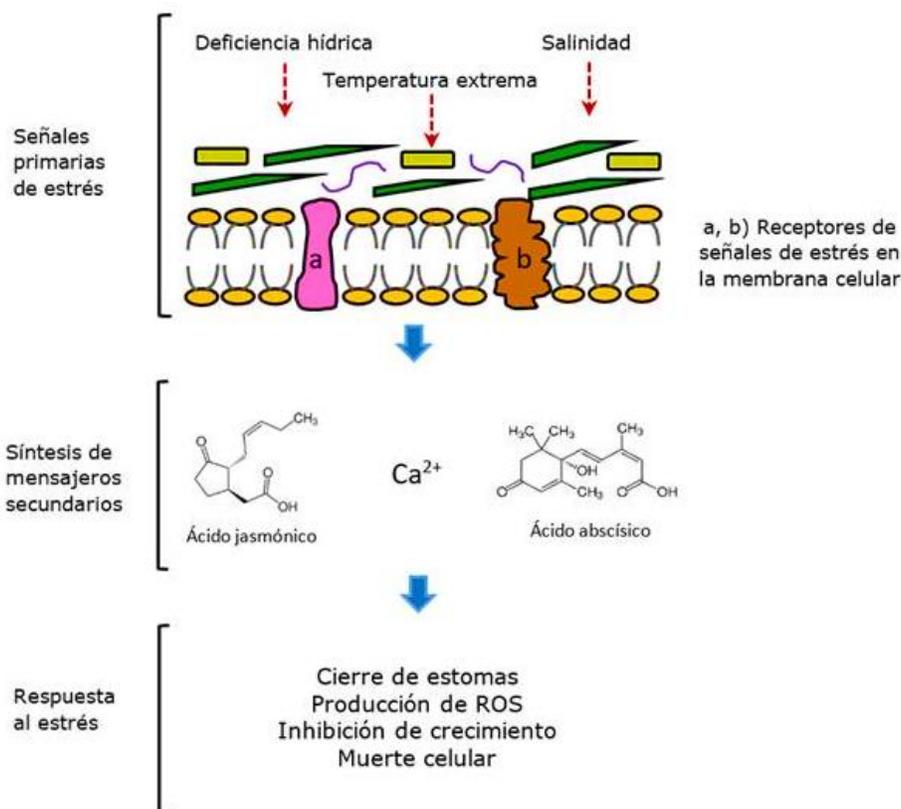


Figura 2. Mecanismo general de inducción de respuesta al estrés abiótico en plantas (Tomada de Méndez y Vallejo, 2019).

Por otro lado, algunos microorganismos poseen la capacidad de ayudar a mitigar el estrés biótico y abiótico de las plantas, mediante la síntesis de diferentes moléculas como sideróforos y enzimas como quitinasas o proteasas que pueden ayudar a inhibir el funcionamiento de organismos fitopatógenos; adicionalmente, las bacterias pueden producir osmolitos compatibles que tienen como consecuencia dar osmoprotección a la planta (Yancey *et al.*, 1982).

1.3. Microorganismos endófitos

Dentro de la rizosfera podemos encontrar comunidades microbianas asociadas a las plantas que tienen un efecto positivo sobre las mismas, ya que contribuyen a mitigar el estrés permitiendo que las plantas sobrevivan a las diferentes condiciones ambientales de las zonas donde son cultivadas (Muñoz *et al.*, 2021). Existe una amplia gama de microorganismos benéficos asociados a las plantas, dentro de los cuales se incluyen las bacterias endófitas; estos son microorganismos que pueden establecerse en tejidos vegetales internos sin causar un daño aparente. Estas pueden asociarse principalmente a través de la raíz, aunque también pueden hacerlo a través las extremidades superiores como los tallos, hojas, flores o cotiledones. Las bacterias ingresan por las estomas, radícula o alguna herida; una vez dentro pueden quedarse en el punto de entrada o extenderse por los diferentes tejidos de la planta (Zinniel *et al.*, 2002; Rives *et al.*, 2007; Ramírez, 2010; Moreno *et al.*, 2018; Castillo-Texta, 2020). Diversas investigaciones han descrito los efectos positivos de las bacterias endófitas sobre las plantas, éstas mejoran la disponibilidad de los nutrientes del suelo (biofertilizantes), incrementan el desarrollo de raíces y mejoran el rendimiento de la planta debido a la producción fitohormonas (fitoestimulantes), además de inducir la activación de mecanismos de defensa en la planta contra diversos fitopatógenos (Rosenblueth *et al.* 2006; Bolívar-Anillo *et al.*, 2016; Mohamed Mahmoud *et al.*, 2017).

1.3.1. Bacterias promotoras del crecimiento vegetal

Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV) son bacterias de vida libre que se encuentran en el suelo capaces de sobrevivir y colonizar la rizosfera o el tejido de las plantas (**Figura 3**); éstas pueden ser utilizadas como biofertilizantes logrando estimular el desarrollo y rendimiento de los cultivos (Ibort *et al.*, 2017). Las BPCV pueden lograr este efecto de manera directa, es decir, a través del aumento en la disponibilidad de nutrientes o mediante la síntesis de moléculas benéficas, o de manera indirecta, produciendo competencia con organismos patógenos (Rojas-Tapias *et al.*, 2012).

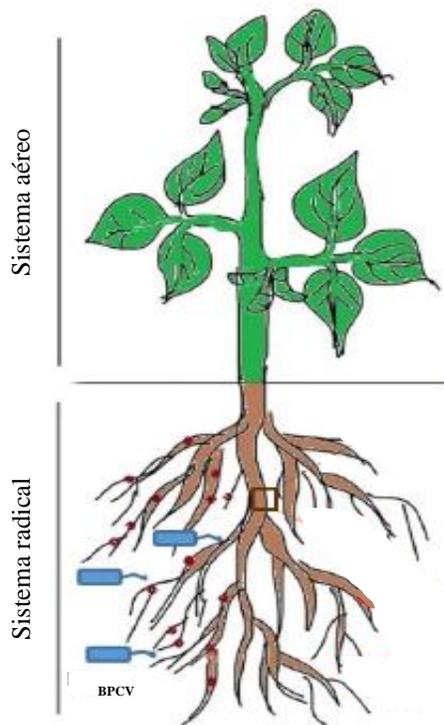


Figura 3. Representación de la colonización de la rizosfera por Bacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (Tomada y modificada de Vijayakumar, 2018).

1.3.2. Mecanismos bacterianos para la promoción del crecimiento

En 1998, Bashan & Holguin, denominaron a los microorganismos benéficos de vida libre “bacterias promotoras del crecimiento vegetal”, esta definición comprende a todas las bacterias aisladas de diversos ecosistemas que benefician el desarrollo de las plantas. Las BPCV promueven el crecimiento de las plantas mediante mecanismos directos e indirectos. De manera directa, promueven la promoción del crecimiento de las plantas mediante la asimilación, fijación y absorción de nutrientes esenciales como el nitrógeno, la solubilización de fosfatos, la síntesis de fitohormonas como auxinas, citoquininas y giberelinas (Glick, 2012; Bhattacharyya y Jha., 2012). Por otro lado, los mecanismos indirectos actúan sobre otro sistema biológico, se enfocan en procesos de defensa que mediante la síntesis de enzimas como quitinasas o proteasas inhiben el funcionamiento de organismos fitopatógenos (**Figura 4**) (Glick, 2012).

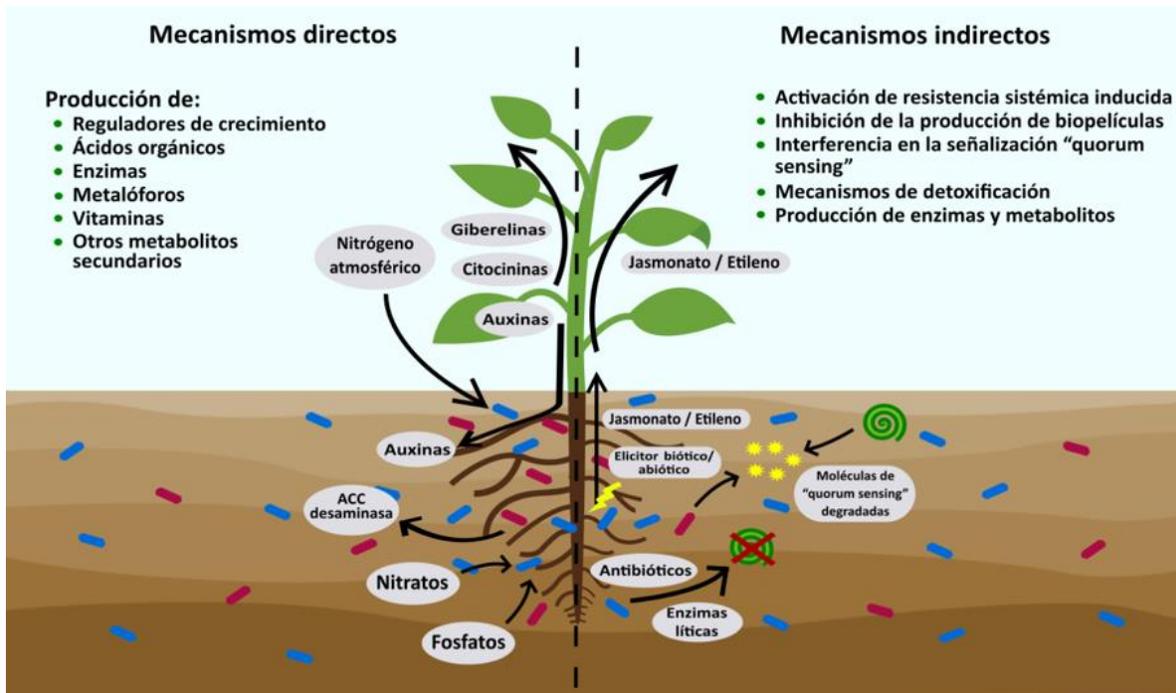


Figura 4. Mecanismos de acción de las BPCV (Tomada de Chávez-Díaz *et al.*, 2020).

1.3.2.1. Mecanismos directos

1.3.2.1.1. Fijación de nitrógeno

Uno de los nutrientes esenciales más importantes para el crecimiento de las plantas es el nitrógeno (N_2). Existe aproximadamente 78% de N_2 en la atmósfera; sin embargo, este no se encuentra de forma que las plantas puedan asimilarlo. Debido a ello, se han utilizado diferentes microorganismos que realizan la reducción del nitrógeno en amonio (FBN) (Kim y Rees, 1994; Ahemad y Kibret, 2014); es decir, convierte el nitrógeno atmosférico en formas metabolizables que puedan ser utilizadas por los seres vivos: amonio (NH_4^+), iones nitrito (NO_2^-) o nitrato (NO_3^-) (Blasco y Castillo, 2014)

La fijación de N_2 se lleva a cabo mediante una enzima llamada nitrogenasa (Kim y Rees, 1994). Dean y Jacobson (1992), describieron su estructura como una metaloenzima que consta del componente dinitrogenasa reductasa (proteína de hierro), el cual proporciona electrones con poder reductor y el componente dinitrogenasa (cofactor metálico), el cual usa estos electrones para reducir N_2 a NH_3 . La mayoría de la fijación biológica de nitrógeno se realiza mediante la actividad de la nitrogenasa de molibdeno, la cual se encuentra en los diazotrofos (Bishop y Jorerger, 1990). Ante el deterioro ambiental que estamos sufriendo, la FBN puede ser considerada una alternativa a los fertilizantes químicos (Ladha *et al.*, 1997).

Este proceso lo realizan géneros bacterianos que pueden clasificarse en dos tipos: bacterias fijadoras de N₂ que forman simbiosis con plantas leguminosas, como *Rhizobium* (nodulación en raíces), *Azorhizobium* (nodulación en raíces y tallos) y *Bradyrhizobium* (nodulación en raíz), *Agrobacterium* y *Frankia* (Blasco y Castillo, 2014) y no simbióticas (vida libre o asociativas) como *Azospirillum lipoferum*, *A. brasilense* y *A. amazonense* (Döbereiner *et al.*, 1995) y bacterias de los géneros *Azotobacter* y *Pseudomonas* (Bagwell, *et al.*, 1998) (Zahran, 2001; Bhattacharyya y Jha, 2012; Ahemad y Khan, 2012).

1.3.2.1.2. Solubilización de fosfatos

El segundo nutriente más importante es el fósforo (P); este lo podemos encontrar en los suelos tanto de manera orgánica como inorgánica (Khan, A. *et al.*, 2009); sin embargo, la disponibilidad para las plantas es relativamente baja, ya que estas lo absorben cuando se encuentra en forma soluble monobásica (H₂PO₄) y dibásica (HPO₄²⁻), y la mayor parte se encuentra de manera insoluble (Bhattacharyya y Jha, 2012). El uso de fertilizantes fosfatados en los campos agrícolas, ha permitido superar la baja disponibilidad de P en los suelos; no obstante, la cantidad que absorbe la planta es mínima y el resto se convierte en complejos insolubles (Stevenson y Cole, 1999). Un sustituto viable a los fertilizantes químicos fosfatados, es el uso de microorganismos capaces de solubilizar el fosfato (Khan, A. *et al.*, 2009). Existen algunas BPCV que solubilizan el P del suelo en formas asimilables, gracias a la producción de enzimas (fosfatasas, fitasas), ácidos orgánicos (glucónico, succínico, cítrico, malónico) para P orgánico (Rodríguez *et al.*, 2006; Sharma *et al.*, 2013), o por extrusión de protones en caso de P inorgánico (Lugtenberg & Kamilova, 2009). Algunos géneros bacterianos que solubilizan fosfatos son *Bacillus*, *Burkholderia*, *Azotobacter*, *Rhizobium*, *Pseudomonas* (Bhattacharyya y Jha, 2012).

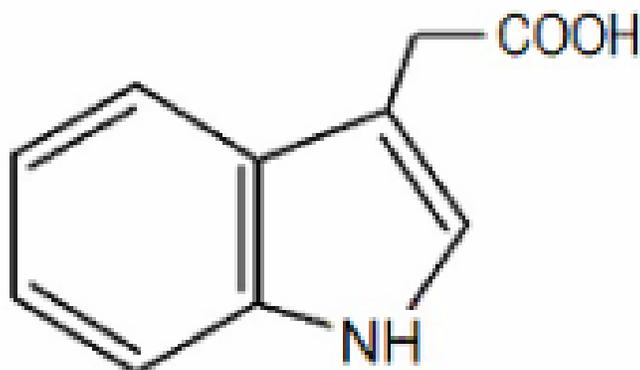
Tabla 1. Producción de ácidos orgánicos por bacterias solubilizadoras de fosfato.

Ácido	Ruta biosintética	Bacteria	Referencia
Ácido acético	Oxidación incompleta de azúcares (fermentación acética)	<i>Acetobacter aceti</i> , <i>Gluconobacter oxydans</i> y <i>Pseudomonas fluorescens</i>	Singh y Amberger (1998)
Ácido Oxálico	Ácidos tricarboxílicos	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Singh y Amberger (1998)

Ácido Succínico	Ciclo del glioxilato y ácidos tricarbónicos	<i>Pseudomonas putida</i> y <i>Pseudomonas fluorescens</i>	Liu <i>et al.</i> (1992)
Ácido glucónico	Oxidación directa de la glucosa	<i>Erwinia herbicola</i> , <i>Pseudomonas cepacia</i> y <i>Burkholderia cepacia</i>	Illmer y Schinner (1992), Liu <i>et al.</i> (1992) y Goldstein <i>et al.</i> (1993) Marra <i>et al.</i> (2015).
Tomada y modificada de Bonilla <i>et al.</i> , 2021			

1.3.2.1.3. Fitohormonas

El mecanismo que más se utiliza para explicar los beneficios de las BPCV en el crecimiento de las plantas, es la capacidad que estas tienen para producir auxinas. En 1996, Patten y Glick, reportaron que cerca del 80% de los microorganismos rizosféricos podían sintetizar y liberar auxinas como un metabolito secundario. Existen diversas auxinas que son producidas de manera natural, siendo el ácido indolacético (AIA) la auxina natural presente en la mayoría de las plantas (**Figura 5**).



**Ac. Indol-3-acético
(IAA)**

Figura 5. Estructura del ácido indolacético (Tomada de Vegetal, *et al.* 2006).

Las auxinas tienen participación en el geotropismo y fototropismo, diferenciación del tejido vascular, dominancia apical, iniciación de la raíz, división celular, elongación del tallo y de la raíz (Grobela *et al.* 2015). La síntesis de AIA/Auxina ocurre principalmente en el ápice del brote, se transporta al meristemo apical y se distribuye en toda la planta (Maheshwari *et al.*, 2015).

La concentración de AUX que sintetizan las plantas determina su efecto sobre la inhibición o la estimulación del crecimiento en la misma. El AIA producido por las bacterias puede ser absorbida por las plantas y cambia el nivel hormonal de manera positiva o negativa (Glick, 2012); por lo tanto, el AIA bacteriano puede estimular el desarrollo de la raíz en plantas con concentraciones óptimas o inhibir el desarrollo de la raíz en plantas con concentraciones altas (Spaepen *et al.* 2007). En su mayoría el AIA se sintetiza a partir del Trp que exudan las raíces de las plantas; se han identificado al menos cinco vías biosintéticas diferentes: ácido indol pirúvico, indol acetamida, indol acetaldoxima/indoleacetónitrilo, indol acetaldehído y triptamina. (Zhang *et al.* 2019).

Otra fitohormona importante son las citoquininas (CK); estas se producen en las puntas de las raíces y se transportan a través de la xilema hasta el tallo (De Rybel *et al.* 2016). La forma más conocida de citoquinina proveniente de las plantas es la zeatina, aislada del maíz (*Zea mays*) (Tzin *et al.* 2015). Esta fitohormona se encarga de regular la división celular, alargamiento de las raíces, germinación de semillas, desarrollo de flores y frutos, senescencia de las hojas (Sakakibara, 2006).

Las giberelinas (GA) son fitohormonas conocidas por la estimulación del crecimiento y la activación de desarrollo vegetal como el alargamiento del tallo, floración, germinación de semillas (Zaidi *et al.* 2017). Se han identificado cuatro GA en bacterias GA₁, GA₃, GA₄, y GA₂₀ (Duca, 2015). Algunos géneros bacterianos productores de GA son: *Achromobacter*, *Gluconobacter*, *Acinetobacter*, *Rhizobia*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Herbaspirillum* y *Azospirillum* (Dodd *et al.* 2010).

1.3.2.2. Mecanismos indirectos

1.3.2.2.1. Producción de antibióticos

Dentro de los mecanismos indirectos más efectivos que presentan las BPCV es la producción de antibióticos, los cuales sirven para controlar diversos patógenos (Bashan & de-Bashan, 2005). Algunos de los géneros relacionados con la producción de antibióticos son *Pseudomonas*, *Bacillus* y *Streptomyces*.

Tabla 2. Antibióticos producidos por géneros bacterianos promotores del crecimiento vegetal.

Bacteria	Compuesto	Referencia
<i>Pseudomonas</i>	Fenazinas Pirrolnitrinas Pioluteorina Floroglucinoles Lipopéptidos cíclicos Cianuro de hidrógeno	Raaijmakers <i>et al.</i> , 2009
<i>Bacillus</i>	Zwittermicina A Cianuro de hidrógeno Lipopéptidos: surfactinas, iturinas, fengicinas	Ongena y Jacques, 2008
<i>Streptomyces</i>	Kasugamicina Estreptomycinina Avermectina Milbemicina	De Lima Procópio <i>et al.</i> , 2012
Elaboración propia basada en Bonilla <i>et al.</i> , 2021		

1.3.2.2.2. Producción de enzimas líticas

Dentro de los mecanismos de defensa de las plantas se encuentra una respuesta al ataque de fitopatógenos mediante la activación de la síntesis de enzimas que degradan la pared celular de los hongos; por ejemplo, la quitinasa (Lucas-Bautista *et al.*, 2022) que degrada la quitina, un carbohidrato que integra la pared celular del hongo; la proteasa, que degrada proteínas de la pared celular; y la lipasa, que puede degradar algunos lípidos asociados a la pared celular (Compant *et al.*, 2005; Bashan & de-Bashan, 2005). Algunas BPCV tienen la capacidad de sintetizar enzimas similares que degradan la pared celular, siendo estas capaces de apoyar a la planta en situaciones de estrés biótico.

1.3.2.2.3. Producción de sideróforos

Algunos géneros bacterianos poseen la capacidad de solubilizar el hierro de la rizosfera por medio de agentes quelantes conocidos como sideróforos. Los sideróforos son pequeñas moléculas que secuestran el hierro haciéndolo biodisponible para las plantas. Existen algunas bacterias productoras de sideróforos que contribuyen a la inhibición de fitopatógenos gracias a la reducción de hierro aprovechable para éstos en la rizosfera (Shen *et al.*, 2013); esto se debe a que los sideróforos producidos por las BPCV tienen una afinidad mayor por el hierro que los producidos por hongos (Kloepper *et al.*, 1980).

1.4. Géneros microbianos de interés agrícola

En las últimas décadas, la sostenibilidad agrícola ha generado una mayor aceptación por parte de los productores, ya que este tipo de práctica repercute de manera benéfica al hombre y genera un balance agroecológico que mitiga el impacto ambiental que produce la agricultura. Una manera de impulsar la sustentabilidad de las prácticas agrícolas es el uso de microorganismos benéficos que ayudan a reducir la dependencia hacia los fertilizantes químicos y al mismo tiempo mejoren la tolerancia al estrés y favorezcan el rendimiento de los cultivos (Muneera *et al.*, 2020). Las plantas establecen relaciones simbióticas con las bacterias; estas pueden existir como microorganismos de vida libre en el suelo o adheridas en la superficie de la raíz (Smith y Goodman, 1999). A diferencia de los fitopatógenos, no es común que estas bacterias causen síntomas asociados a enfermedades o daño aparente. Las BPCV colonizan los espacios intercelulares de las paredes celulares, las raíces, los tallos, las hojas, las flores, frutos e incluso hasta las semillas (Compant *et al.*, 2011; de Melo Pereira *et al.*, 2012; Trognitz *et al.*, 2014). Para que podamos considerar un microorganismo promotor del crecimiento vegetal, este debe tener la capacidad de incrementar elementos que la planta necesita para mejorar su metabolismo, por ejemplo: fijación de nitrógeno, síntesis de fitohormonas, solubilización de fosfato y sideróforos (Glick, 2012).

Azospirillum, *Serratia*, *Bacillus*, *Klebsiella*, *Burkholderia*, *Caulobacter*, *Chromobacterium*, *Enterobacter*, *Azotobacter*, *Micrococcous*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* y *Agrobacterium*, son algunos géneros de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (Ahemad y Kibret, 2014). Inicialmente, los estudios sobre la diversidad de bacterias endofíticas se basaron principalmente en la caracterización de aislamientos endofíticos obtenidos de la planta después de la desinfección de la superficie (Miliute, *et al.*, 2015). En 2002, Lodewyckx *et al.*, describieron los principales métodos utilizados para aislar bacterias, en las cuales sobresalieron 81 especies bacterianas que forman relaciones simbióticas con las plantas.

En la tabla 3, se presentan algunos ejemplos de aislados bacterianos identificados y las plantas de cultivos agrícolas comunes que sirven como hospedadores de las bacterias.

Tabla 3. Bacterias endófitas aisladas de plantas de cultivos agrícolas comunes.

Planta	Órgano	Bacteria	Referencia
Alfalfa (<i>Medicago sativa</i> L.)	Raíces	γ-proteobacteria: <i>Erwinia</i> sp., <i>Pseudomonas</i> sp.	Gagne <i>et al.</i> , 1987 y Stajkovic <i>et al.</i> , 2009
		firmicutes: <i>Bacillus megaterium</i> , <i>B. chosinensis</i>	
		actinobacteria: <i>Microbacterium trichothecenolyticum</i>	
Pimienta negra (<i>Piper nigrum</i> L.)	Raíces	γ-proteobacteria: <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Serratia</i> sp.	Aravind <i>et al.</i> , 2009
		firmicutes: <i>Bacillus</i> sp.	
		actinobacteria: <i>Arthrobacter</i> sp., <i>Micrococcus</i> sp., <i>Curtobacterium</i> sp.	
Zanahoria (<i>Daucus carota</i> L. var. <i>sativus</i>)		α-proteobacteria: <i>Rhizobium</i> (<i>Agrobacterium</i>) <i>Radiobacter</i>	Surette <i>et al.</i> , 2003
		γ-proteobacteria: <i>Klebsiella terrigena</i> , <i>Pseudomonas putida</i> , <i>P. fluorescens</i> , <i>P. chlororaphis</i>	
		firmicutes: <i>B. megaterium</i>	
Maíz (<i>Zea mays</i> L.)	Tallos y raíces	α-proteobacteria: <i>Rhizobium etli</i>	Lalande <i>et al.</i> , 1989; Fisher <i>et al.</i> , 1992; McInroy, Kloeppe, 1995; Palus <i>et al.</i> , 1996; Chelius, Triplett, 2001; Zinnel <i>et al.</i> , 2002; Rosenblueth; Martinez-Romero, 2004 y Rai <i>et al.</i> , 2007
		β-proteobacteria: <i>Bukholderia pickettii</i> , <i>B. cepacia</i> , <i>Achromobacter</i> , <i>Herbaspirillum seropedicae</i>	
		γ-proteobacteria: <i>Erwinia</i> sp., <i>Enterobacter</i> sp., <i>E. cloacae</i> , <i>Stenotrophomonas</i> sp., <i>Klebsiella</i> sp., <i>K. terrigena</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>K. variicola</i> , <i>Pseudomonas</i> sp., <i>P. aeruginosa</i> , <i>P. fluorescens</i>	
		firmicutes: <i>Bacillus</i> sp., <i>B. mojavensis</i> , <i>B. thuringiensis</i> , <i>B. megaterium</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>B. pumilus</i> , <i>Lysinibacillus</i> , <i>Paenibacillus</i>	
		actinobacteria: <i>Corynebacterium</i> sp., <i>Arthrobacter globiformis</i> , <i>Microbacterium testaceum</i>	
Potato (<i>Solanum tuberosum</i> L.,)	Tallo y tubérculo	α-proteobacteria: <i>Agrobacterium</i> sp., <i>Sphinogomonas</i> sp., <i>Methylobacterium</i> sp.	Hollis, 1951; De Boer, Copeman, 1974; Sturz <i>et al.</i> , 2000; Reiter <i>et al.</i> , 2002 y Sturz <i>et al.</i> , 1998
		β-proteobacteria: <i>Acidovorax</i> sp., <i>Alcaligenes</i> sp., <i>Comamonas</i> sp., <i>Enterobacter</i> sp.	
		γ-proteobacteria: <i>Acinetobacter</i> sp., <i>Erwinia</i> sp., <i>Klebsiella</i> sp., <i>Pantoea</i> sp., <i>P. agglomerans</i> , <i>Pasteurella</i> sp., <i>Photobacterium</i> sp., <i>Vibrio</i> sp., <i>Serratia liquefaciens</i> , <i>Psychrobacter</i> sp., <i>Shewanella</i> sp., <i>Enterobacter</i> sp., <i>E. asburiae</i> , <i>Xanthomonas</i> sp., <i>Pseudomonas tolaasi</i> .	
		Actinobacteria: <i>Actinomyces</i> sp., <i>Arthrobacter ureafaciens</i> ,	
Rábano (<i>Raphanus sativus</i> L.)	Hojas y raíz	proteobacteria: <i>Proteobacteria</i> sp.	Seo <i>et al.</i> , 2010
Tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.)	Tallo y frutos	γ-proteobacteria: <i>Pseudomonas</i> sp., <i>P. syringae</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Escherichia coli</i>	Samish <i>et al.</i> , 1961; Pillay, Nowak, 1997; Yang <i>et al.</i> , 2011 y Patel <i>et al.</i> , 2012
		firmicutes: <i>Brevibacillus brevis</i>	
Tomada y modificada de Miliute, <i>et al.</i> , 2015			

1.5. Tomate (*Solanum lycopersicum*)

S. lycopersicum, mejor conocido como tomate, es una hortaliza oriunda de América del Sur y domesticada en México; es uno de los cultivos hortícolas más importantes a nivel mundial y de los principales consumidos gracias a su fuente de nutrientes con propiedades antioxidantes (Gerszberg *et al.*, 2014). Perteneciente a la familia *Solanaceae*, el tomate es una planta herbácea perenne de porte arbustivo. De acuerdo a la variedad, se puede desarrollar de forma rastrera, semierecta o erecta; su crecimiento es ilimitado en variedades indeterminadas y limitado en las determinadas. Posee una semilla aplanada con dimensiones de 3x2x1 mm. El sistema radicular se constituye por la raíz principal, raíces secundarias y adventicias; la flor es de color amarillos, 5 o más sépalos, 5 o más pétalos y de 5 a 6 estambres, se agrupan en inflorescencia de tipo racimo (**Figura 6**) (Kimura y Sinha, 2008; SIAP, 2019).



Figura 6. *Solanum lycopersicum* (Tomada de Chapa, 2017. <https://revistamariaorsini.com/jitomate-martha-chapa>)

1.5.1. Etapas fenológicas del tomate

La fenología de la planta se determina de acuerdo a la variedad y a las condiciones climáticas de la región donde se establece el cultivo. El cultivo de tomate presenta tres etapas de desarrollo: inicial, vegetativa, reproductiva. Podemos dividir estas etapas en cuatro fases (Haifa Chemicals 2014). La primera comprende los primeros 21 días, una fase inicial o de establecimiento de la plántula; la segunda abarca 49 días desde la siembra de la semilla, en esta fase, conocida como fase vegetativa I, se lleva a cabo un desarrollo continuo de crecimiento rápido en el cual la planta alcanza los requerimientos esenciales para iniciar la floración; la tercera fase comienza a partir del día 90 (fase vegetativa II o fase de floración), donde la planta comienza la producción de flores para poder establecer la última etapa; la fase reproductiva es continúa hasta los 180-210 días aproximadamente, en esta etapa la flor es fecundada y empieza el proceso de cuaje del fruto (López, 2017) (**Figura 7**).

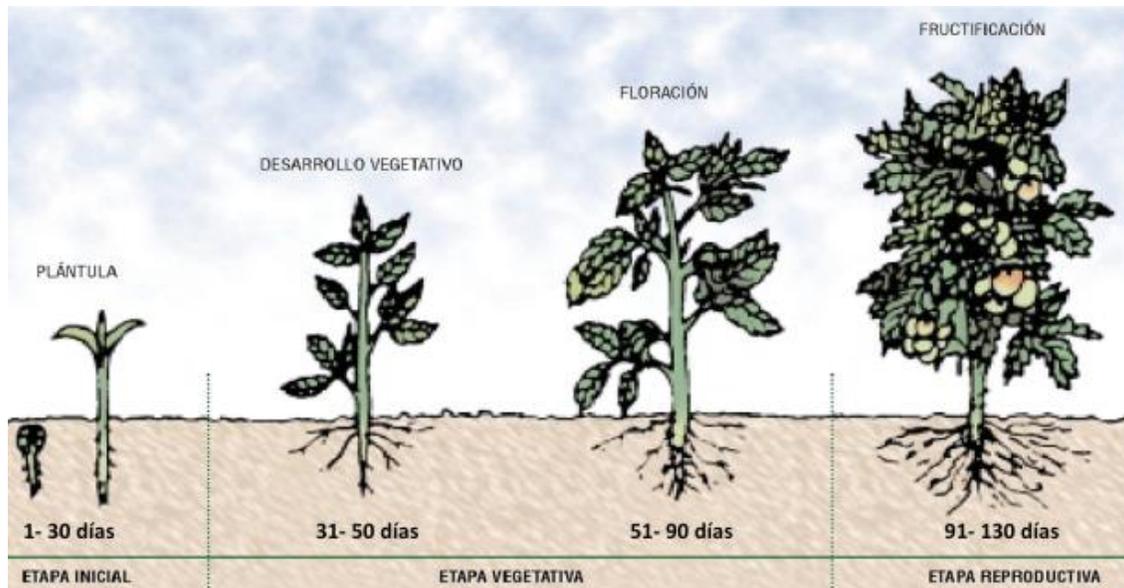


Figura 7. Etapas fenológicas del cultivo de tomate (Tomada de Ministerio de Desarrollo Rural y Tierras, 2010)

1.5.2. Importancia del tomate

El tomate es considerado uno de los principales cultivos agrícolas a nivel mundial. El consumo anual per cápita en México es de 13.8 kg., por lo cual, es uno de los productos agrícolas con mayor demanda a nivel nacional. México ocupa el 9° lugar a nivel mundial con una producción de 3,441,639 toneladas, las cuales en su mayoría se exportan a países como Canadá, Japón, Francia y Estados Unidos. Entre las entidades con mayor producción podemos encontrar a Sinaloa, como el principal productor de jitomate a nivel nacional y a Morelos en el 8° (**Figura 8**) (Kimura y Sinha, 2008; SIAP, 2020).



Figura 8. Principales estados productores de tomate en México (Tomada de SIAP, 2019)

1.5.3. Problemática del cultivo del tomate

La población mundial está en constante crecimiento, basado en el crecimiento exponencial, se hipotetiza que para el 2050 podríamos llegar a ser más de 9 millones de personas; sin embargo, la producción alimenticia es insuficiente para satisfacer la demanda de una población en aumento (Tamburino *et al.*, 2020). A menudo, la baja productividad de los cultivos de tomate se ve afectada por diversos desafíos abióticos (sequías, salinidad, altas y bajas temperaturas) y desafíos bióticos (patógenos) (Pandey *et al.*, 2017); debido a ello, algunos agricultores han optado por producir este cultivo en invernadero para mantener una producción continua durante todo el año. Sin embargo, cultivar tomate bajo estas condiciones conlleva a un incremento en los costos de producción que no todos pueden solventar; por lo tanto, el cultivo a cielo abierto sigue siendo fundamental en las unidades de producción agrícola. Se ha observado que los suelos tienden a acumular nitratos, fosfatos y una salinidad excesiva, así como una mayor incidencia de plagas y enfermedades debido a diversos factores climatológicos (Chaudhary *et al.*, 2019). En la última década, se ha buscado el mejorar las plantas para lograr que optimicen la tolerancia al estrés biótico y abiótico, así como alternativas sustentables (microorganismos benéficos) para reducir el uso de productos agroquímicos.

2. ANTECEDENTES DIRECTOS

Algunas especies del género *Selaginella* han desarrollado la capacidad de tolerar la desecación, una característica que les permite sobrevivir en estado deshidratado durante periodos prolongados y rehidratarse cuando las condiciones ambientales lo permiten (Alejo-Jacuinde *et al.*, 2020). Este rasgo distintivo de la planta, se ha atribuido a la gran capacidad que tiene de acumular trehalosa; sin embargo, en 2014 Pampurova *et al.*, realizaron un estudio con el objetivo de identificar genes de la doradilla implicados en la síntesis de trehalosa, obteniendo como resultado genes de origen microbiano involucrados en la síntesis de este disacárido, lo que sugiere que los altos niveles de trehalosa en *Selaginella* podrían deberse a la interacción que sucede entre la planta y sus microorganismos. Bajo este esquema, se ha propuesto que las plantas que sobreviven en áreas propensas a la sequía modifican su microbioma para retener colonizadores benéficos que pueden ser aplicados a cultivos de interés agrícola.

Con base en lo anterior, Torreblanca (2017), seleccionó a la especie *Selaginella nothohybrida* para aislar, caracterizar e identificar endófitos de la especie, a partir de tejidos hidratados y deshidratados de rizóforo y micrófila. Se obtuvieron 94 aislados bacterianos en estado hidratado y 10 en estado deshidratado y mediante un análisis de restricción del gen 16S RNAr (ARDRA) se agruparon los aislados con el mismo patrón de bandeado, dando como resultado 2 grupos de rizóforo y 4 de micrófila en estado

deshidratado y 9 grupos de rizóforo y 35 de microfila en estado hidratado. De los 50 grupos obtenidos mediante el análisis de ARDRA, se seleccionó un representante de cada grupo para identificar molecularmente mostrando identidad con géneros como *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Rhizobium*. Se ha reportado que estos géneros tienen la capacidad de producir compuestos que promueven el crecimiento vegetal; este desarrollo vegetativo se logra gracias a la capacidad que tienen las bacterias para fijar nitrógeno, solubilizar fosfatos, producir fitohormonas, entre otros compuestos (Ahemad y Kibret, 2013); por lo que se tomó la decisión de investigar si los aislados bacterianos de *S. nothohybrida* presentaban estas características. De los 50 aislados seleccionados, todos presentaron producción de trehalosa y producción de ácido indolacético (AIA) y únicamente 33 solubilizaron fosfato; (Torreblanca, 2017). Estos resultados son características idóneas para evaluar el efecto de las bacterias sobre diversas plantas de interés agronómico.

3. JUSTIFICACIÓN

Actualmente, obtener productos agrícolas a costa de la pérdida y degradación del medio ambiente, son prácticas que deben ser descartadas y en su lugar implementar técnicas productivas sustentables y sostenibles basadas en la investigación científica. Una manera de impulsar la sustentabilidad de las prácticas agrícolas es el uso de microorganismos eficientes que ayuden a reducir la dependencia hacia los productos químicos, mejoren la tolerancia al estrés y favorezcan el rendimiento de los cultivos.

Con base en lo anterior, en el presente estudio, utilizaremos parte de la colección de aislados bacterianos de *S. nothohybrida* depositados en los ceparios del Laboratorio de Fisiología Molecular de Plantas – CeIB, en los cuales se han identificado diversas características consideradas promotoras del crecimiento vegetal. Estos serán empleados para inocular una planta de interés comercial, *Solanum lycopersicum* y así evaluar el efecto que causan las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV) sobre el desarrollo vegetativo de la planta.

4. HIPÓTESIS

Las características de promoción del crecimiento vegetal presentes en los aislados bacterianos de *S. nothohybrida*, mostrarán un efecto positivo en la germinación y el desarrollo vegetativo al ser inoculados en plantas de tomate.

5. OBJETIVOS

5.1. General

Conocer el efecto de los aislados bacterianos endófitos de *S. nothohybrida* al ser inoculados en plantas de tomate (*S. lycopersicum*).

5.2. Específicos

1. Evaluar los efectos sobre la germinación y en diferentes etapas fenológicas de las plantas de tomate inoculadas con aislados y consorcios bacterianos de *S. nothohybrida*.
2. Determinar la capacidad antifúngica de los aislados bacterianos de *S. nothohybrida*.
3. Identificar molecularmente los aislados bacterianos seleccionados.

6. ESTRATEGIA EXPERIMENTAL

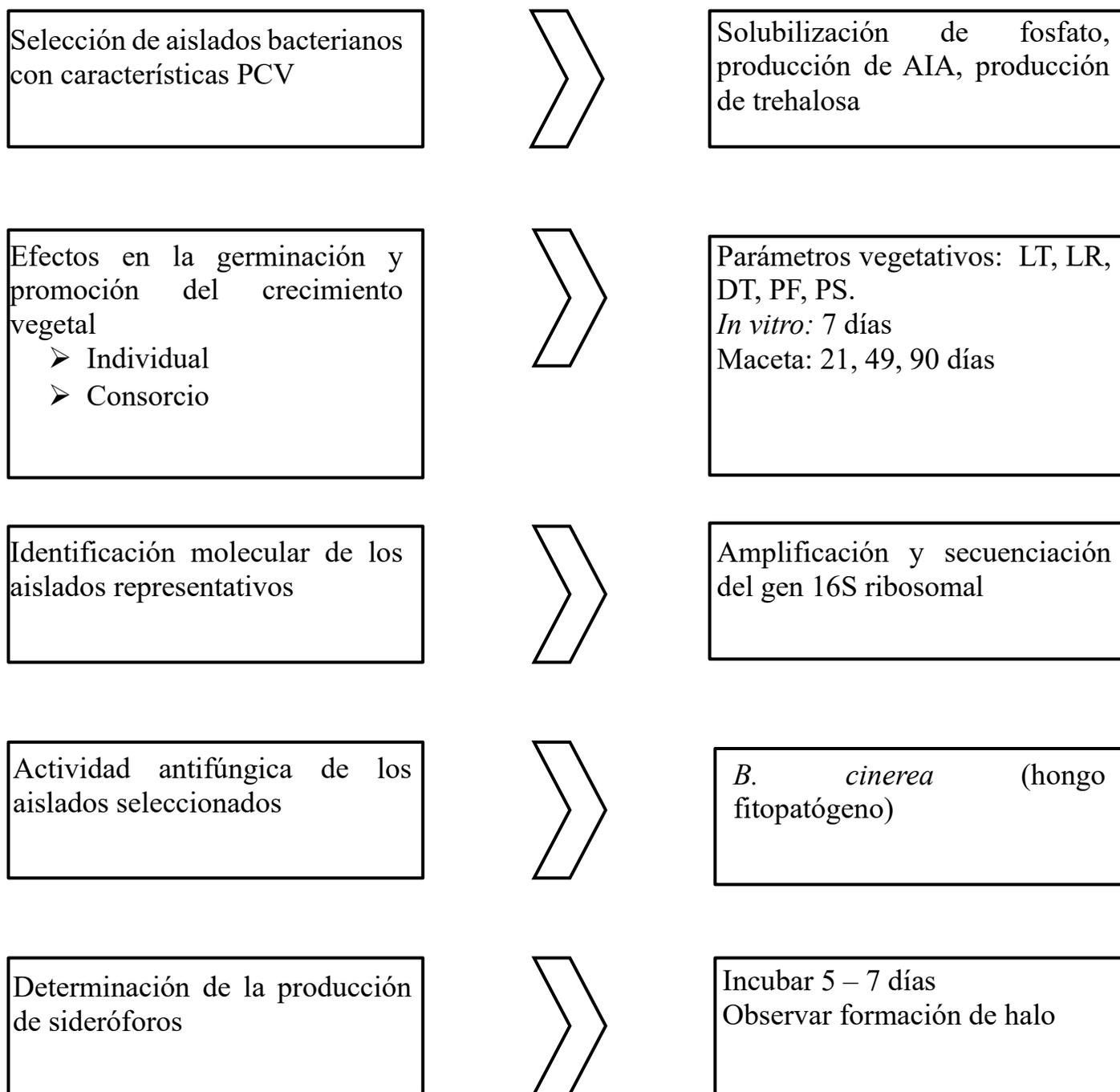


Figura 9. Estrategia experimental empleada para el desarrollo del presente trabajo

7. METODOLOGÍA

7.1. Selección de aislados

Con base en los resultados obtenidos por Torreblanca (2017), se realizó un análisis de los diferentes parámetros obtenidos en las características promotoras del crecimiento vegetal y se seleccionaron los aislados bacterianos que presentaron producción de AIA, solubilización de fosfato y producción de trehalosa.

Tabla 4. Características promotoras del crecimiento vegetal de los aislados bacterianos

#	ID	Trehalosa µg/mg			AIA µg/ml		Fosfato mm
		Control	100mM NaCl	12h	24h	36h	
1	<i>Pseudomonas putida</i>	6.5 ± 0.010	9.3 ± 0.011	1.01 ± 0.11	1.04 ± 0.12	1.05 ± 0.04	2.4
9		1.32 ± 0.08	0.57 ± 0.04	0.78 ± 0.03	4.96 ± 0.08	8.22 ± 0.74	2.8
11	<i>Curtobacterium</i> sp.	0.26 ± 0.00	0.86 ± 0.01	2.12 ± 0.12	3.32 ± 0.11	7.78 ± 0.22	3.25
32		0.57 ± 0.01	1.33 ± 0.03	4.8 ± 0.09	5.48 ± 0.17	8.22 ± 0.12	3
36		0.99 ± 0.16	1.43 ± 0.01	5.37 ± 0.01	4.66 ± 0.95	7.16 ± 0.25	3.8
40		1.19 ± 0.07	1.71 ± 0.04	0.45 ± 0.02	1.65 ± 0.55	1.23 ± 0.05	2.6
42		0.08 ± 0.02	0.26 ± 0.01	0.61 ± 0.02	5.95 ± 0.08	1.03 ± 0.02	2.75
44	<i>Paenibacillus</i> sp.	0.20 ± 0.10	0.42 ± 0.03	1.17 ± 0.05	2.02 ± 0.06	2.05 ± 0.02	2.2
46		0.11 ± 0.02	0.10 ± 0.07	0.34 ± 0.02	0.96 ± 0.03	1.53 ± 3.39	2.7
48		0.08 ± 0.10	0.16 ± 0.01	0.48 ± 0.02	0.88 ± 0.01	0.76 ± 0.03	2.5
50		0.11 ± 0.06	0.07 ± 0.02	0.62 ± 0.04	1.62 ± 0.04	2.32 ± 0.06	3

Tomada y modificada de Torreblanca, 2017

7.2. Material vegetal

Solanum lycopersicum:

Se emplearon semillas comerciales de tomate (*S. lycopersicum*) variedad “Saladet”, para evaluar el efecto sobre la germinación y en diferentes etapas fenológicas de las plantas inoculadas con aislados bacterianos de *S. nothohybrida*.

7.3. Análisis de la promoción del crecimiento vegetal en plantas de *S. lycopersicum* inoculadas con aislados bacterianos de *S. nothohybrida*

7.3.1. Ensayo de germinación *in vitro*

Las semillas de tomate fueron esterilizadas superficialmente con hipoclorito de sodio (NaClO – 2.70%) por 10 minutos en agitación, seguido de cinco enjuagues con agua destilada estéril. Previamente, se pusieron los 11 aislados a crecer en medio líquido LB durante aproximadamente 24h, posteriormente se ajustó cada inóculo a una D.O₆₀₀ de 0.2. Las semillas estériles se dividieron en grupos de 10 y se dejaron reposando en el inóculo durante 10 minutos; a continuación, se colocaron en cajas Petri con papel filtro humedecido con agua destilada estéril. Las cajas Petri se mantuvieron a temperatura ambiente durante 14 días; se evaluó la tasa de germinación, longitud de la plántula y raíz. Para el control, se utilizaron semillas esterilizadas no inoculadas (Passari, *et al.*, 2019).

La tasa de germinación se midió utilizando la siguiente fórmula (Kapilan, 2015):

$$\underline{\% \text{ de germinación} = \text{número de semillas que germinaron} / \text{número total de semillas} \times 100}$$

7.3.2. Efecto de los aislados de *S. nothohybrida* en diferentes etapas fenológicas de *S. lycopersicum*

Para determinar el efecto de los aislados en diferentes etapas fenológicas de la planta se realizaron diferentes ensayos. Las semillas de tomate se esterilizaron superficialmente según lo descrito en el punto **7.3.1** y se dividieron para los diferentes experimentos.

7.3.2.1. Fase inicial

Para la etapa inicial, previamente se pusieron los 11 aislados a crecer en medio líquido LB durante 24h, posteriormente se ajustó cada inóculo a una D.O₆₀₀ de 0.2. Las semillas estériles se dividieron en grupos de 5 y se dejaron reposando en cada uno de los tratamientos durante 10 minutos, para finalmente ser sembradas en macetas con sustrato estéril y colocadas en un cuarto de cultivo hasta cumplir 21 días.

7.3.2.2. Fase vegetativa I

Para la etapa vegetativa I, las semillas estériles se colocaron en una charola con sustrato estéril hasta tener plántulas de 10 días post germinación. Un día previo al trasplante, se crecieron los 11 aislados en medio líquido LB y se ajustó la D.O₆₀₀ de los aislados a 0.2. Se trasplantaron 5 plántulas por tratamiento a macetas con sustrato estéril e inoculadas en la base del tallo con 1 ml del inóculo por plántula. Se dejaron 3 días en reposo en el cuarto de cultivo y posteriormente se colocaron bajo condiciones de invernadero hasta cumplir los 49 días.

7.3.2.3. Fase vegetativa II

Para la etapa vegetativa II, se realizó el mismo procedimiento descrito en el punto **7.3.2.2**; sin embargo, se dejaron crecer las plantas hasta el día 49 para poder ser inoculadas y medir los parámetros vegetativos posterior al día 90.

En las 3 fases se realizó riego cada tercer día con agua destilada, no se suplementaron las plantas con ningún fertilizante y se evaluaron diferentes parámetros vegetativos: longitud de planta, altura tallo y raíz, peso fresco, peso seco. Como control se utilizaron plantas no inoculadas (Passari, *et al.*, 2019).

7.4. Análisis de la promoción del crecimiento vegetal en plantas de *S. lycopersicum* inoculadas con consorcios bacterianos de *S. nothohybrida*.

Para estos experimentos se realizaron cuatro tratamientos: el primero consistió en un consorcio generado a partir de los once aislados seleccionados (1, 9, 11, 32, 36, 40, 42, 44, 46, 48, 50); el segundo consistió en un consorcio generado a partir de los seis aislados con mejores resultados en las pruebas iniciales (36, 40, 44, 46, 48, 50); el tercero se generó a partir de los aislados que tuvieron los menores valores de AIA (46), trehalosa (42) y solubilización de fosfato (44); y el último se generó a partir de los aislados que tuvieron los mayores valores de AIA (36), trehalosa (1) y solubilización de fosfato (11).

7.4.1. Ensayo de germinación *in vitro*

Las semillas de tomate se esterilizaron superficialmente y se prepararon los aislados bacterianos según lo descrito en el punto **7.3.1**. Una vez ajustada cada bacteria se agregó 100 µl de cada bacteria para el tratamiento 1, 200 µl para el tratamiento 2 y 334 µl para el tratamiento 3 y 4. Las semillas estériles se dividieron en grupos de 10 y se dejaron reposando en cada uno de los diferentes tratamientos durante 10 minutos; a continuación, se colocaron en cajas Petri con papel filtro humedecido con agua destilada estéril. Las cajas Petri se mantuvieron a temperatura ambiente durante 14 días; se evaluó la tasa de germinación, longitud de la plántula y raíz, peso seco y peso fresco. Para el control, se utilizaron semillas esterilizadas no inoculadas (Passari, *et al.*, 2019).

7.4.2. Ensayo fase inicial

Para esta etapa, las semillas de tomate se esterilizaron superficialmente y se prepararon los aislados bacterianos según lo descrito en el punto **7.3.2.1**. Las semillas estériles se dividieron en grupos de 5 y se dejaron reposando en cada uno de los tratamientos durante 10 minutos, para finalmente ser sembradas en macetas con sustrato estéril y colocadas en un cuarto de cultivo hasta cumplir 21 días.

7.5. Análisis molecular para la identificación de los aislados bacterianos más representativos

7.5.1. Extracción DNA

Para la identificación molecular, se obtuvo el material genético de los aislados bacterianos seleccionados de cultivos de 24 h. Se utilizó el protocolo de extracción de DNA para bacterias CTAB/NaCl (CTAB 10% en NaCl 0.7 M; Tris-Cl 10 mM pH 8.0; EDTA 1 mM pH 8.0) (Wilson, 2001). Una vez obtenido los productos de DNA visualizamos la integridad en un gel de agarosa al 1%.

7.5.2. Amplificación y secuenciación del gen ribosomal 16S

Se amplificó el gen ribosomal 16S mediante PCR (Polymerase Chain Reaction) utilizando oligonucleótidos universales (**Tabla 5**) diseñados para amplificar aproximadamente 1300 pb del gen (Nübel *et al.*, 1996; Marchesi *et al.*, 1998).

Tabla 5. Oligonucleótidos universales.

Gen	Primers 5'→3'	Amplicón (Tamaño aproximado)
16S rRNA	63F: 5'CAG GCC TAA CAC ATG CAA GTC3' L1401R: 5'CGG TGT GTA CAA GAC CC3'	1300 pb

La mezcla de reacción y los componentes se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6. Condiciones estándar para un PCR (50µl)

	Concentración final	Cantidad para un tubo (µl)
Agua		31
Buffer (NH ₄) ₂ SO ₄	1X	5
MgCl	1.5 mM	3
Oligo 1	0.4 mM	2
Oligo 2	0.4 mM	2
dNTP's	0.2 mM	5
Taq Pol	1 U	1
ADN	20 ng	1

La PCR se realizó en un termociclador con las siguientes condiciones de amplificación:

1. Desnaturalización inicial: 95°C por 5 min.
2. 35 ciclos:
 - Desnaturalización: 95°C por 50 seg.
 - Alineamiento: 59°C por 50 seg.
 - Elongación: 72°C por 1.5 min.
3. Extensión final: 72°C por 10 min.

El producto de PCR, se observó mediante electroforesis en un gel de agarosa al 1%. Posteriormente se purificó con el kit QIAEX II y se enviaron a secuenciar al Instituto de Biotecnología (IBT-UNAM). Finalmente se realizó un análisis comparativo mediante un BLAST en la base de datos del GenBank. Se descargaron las secuencias relacionadas a las nuestras y se alinearon mediante el algoritmo ClustalW en el software MEGA-X, posteriormente se realizó un análisis filogenético por el método de neighbor-joining.

7.6. Determinación de la producción de sideróforos

Para la prueba de la producción de sideróforos se tomaron 10 µl de cada aislado bacteriano y se colocaron en cajas Petri con medio sólido Cromo Azurol Sulfonato (CAS). Se dejaron incubando durante 5 días a 28°C y se observó la formación de halos de coloración amarillo/naranja alrededor del crecimiento microbiano (Verma *et al.*, 2012).

7.7. Efecto de los aislados de *S. nothohybrida* sobre *Botrytis cinerea* (B05.10)

Para observar de manera cualitativa el efecto de los aislados de *S. nothohybrida* sobre el hongo fitopatógeno *B. cinerea*, se inocularon placas de PDA con una asada del aislado en los 4 laterales aproximadamente a 1.5 cm de un disco del hongo en un estadio de crecimiento activo (**Figura 10**). Se incubaron durante 7 días a 30° C. Como control se utilizó una muestra del hongo sin inocular.

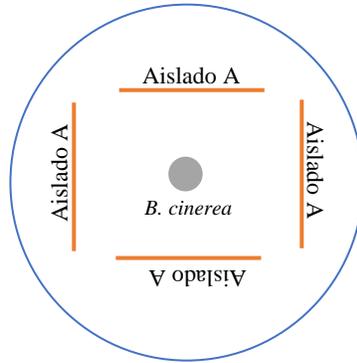


Figura 10. Representación de placas de *B. cinerea* con aislados bacterianos de *S. nothohybrida*.

8. RESULTADOS

8.1. Selección de aislados bacterianos de *S. nothohybrida*

Se seleccionaron once aislados que presentaron características promotoras del crecimiento vegetal (AIA, solubilización de fosfatos y producción de trehalosa) (**Tabla7**).

Tabla 7. Aislados bacterianos seleccionados

#	ID	CLAVE*	Rizoforo / Microfila	Hidratado / Deshidratado	Trehalosa			AIA			Fosfato mm
					Control	100mM NaCl	12h	24	36h		
1	<i>Pseudomonas putida</i>	AN 10-1 MI1	M	H	6.5 ± 0.010	9.3 ± 0.011	1.01 ± 0.11	1.04 ± 0.12	1.05 ± 0.04	2.4	
9	AN 10-2 MI1	AN 10-2MI1	M	H	1.32 ± 0.08	0.57 ± 0.04	0.78 ± 0.03	4.96 ± 0.08	8.22 ± 0.74	2.8	
11	<i>Curtobacterium</i> sp.	AN 10-2 MI10	M	H	0.26 ± 0.00	0.86 ± 0.01	2.12 ± 0.12	3.32 ± 0.11	7.78 ± 0.22	3.25	
32	PDA 10-2MI2	PDA 10-2 MI2	M	H	0.57 ± 0.01	1.33 ± 0.03	4.8 ± 0.09	5.48 ± 0.17	8.22 ± 0.12	3	
36	<i>Pantoea ananatis</i> .	LB A2 10-2 MI3	M	H	0.99 ± 0.16	1.43 ± 0.01	5.37 ± 0.01	4.66 ± 0.95	7.16 ± 0.25	3.8	
40	<i>Pseudomonas kribbensis</i>	LB A2 10-3RI3	R	H	1.19 ± 0.07	1.71 ± 0.04	0.45 ± 0.02	1.65 ± 0.55	1.23 ± 0.05	2.6	
42	PDA 10-2MI10	AN 10-2 MI10	M	H	0.08 ± 0.02	0.26 ± 0.01	0.61 ± 0.02	5.95 ± 0.08	1.03 ± 0.02	2.75	
44	<i>Paenibacillus</i> sp.	AN 10-3 MI2	M	H	0.20 ± 0.10	0.42 ± 0.03	1.17 ± 0.05	2.02 ± 0.06	2.05 ± 0.02	2.2	
46	<i>Pantoea agglomerans</i>	LB 10-1 2R	R	D	0.11 ± 0.02	0.10 ± 0.07	0.34 ± 0.02	0.96 ± 0.03	1.53 ± 3.39	2.7	
48	<i>Burkholderia</i> sp.	PDA MIC. 10-1	M	D	0.08 ± 0.10	0.16 ± 0.01	0.48 ± 0.02	0.88 ± 0.01	0.76 ± 0.03	2.5	
50	<i>Paenibacillus taichungensis</i> .	AN MIC. 10-2	M	D	0.11 ± 0.06	0.07 ± 0.02	0.62 ± 0.04	1.62 ± 0.04	2.32 ± 0.06	3	

* Corresponde al trabajo de Torreblanca, 2017

8.2. Ensayo de germinación *in vitro*

Se observó que los once aislados bacterianos seleccionados no inhibían la germinación de las plántulas de tomate; además, no resultaron fitopatógenos de *S. lycopersicum*. Se realizaron observaciones a los 2, 5 y 7 días. En este ensayo no se realizó la prueba con el aislado 32 (PDA 10-2 MI2), debido a que no se presentaba crecimiento en el medio reportado por Torreblanca (2017). En ensayos posteriores, se creció el aislado en medio LB, obteniendo el crecimiento deseado.

Día 2 post-inoculación: Los aislados 9, 40, 11, 48, 50 presentaron emergencia de raíz en el 30% de las semillas, los aislados 1, 36 y 42 tuvieron emergencia en un 20% de semillas; ambas presentaron un 20% y 10% más en la emergencia de la raíz en comparación de las semillas no inoculadas (10%). El aislado 44 no presentó germinación.

Día 5 post-inoculación: Los aislados 11, 40, 44, 46 y 50 presentaban el 90% de sus semillas germinadas, mientras que los aislados 1, 9, 36 y 42 únicamente el 80%; siendo un aumento en la germinación de 20% y 10% respectivamente, con respecto al control (70%). El aislado 48 presentó el 100% de sus semillas germinadas.

Día 7 post-inoculación: Los aislados 1, 11, 40, 42, 44 y 46 alcanzaron el 100% de sus semillas germinadas. Los aislados 9, 36 y 50 tuvieron el 90% de germinación (**Figura 11**).

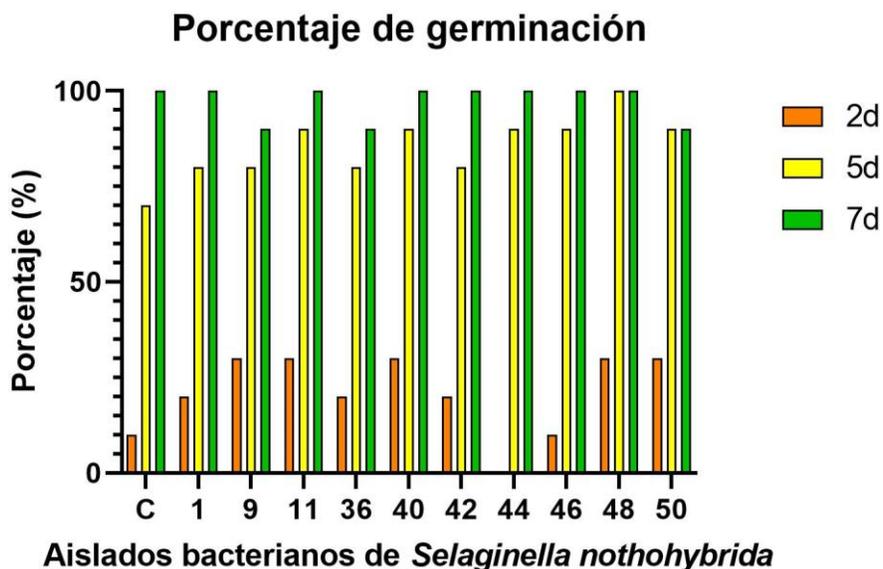


Figura 11. Porcentaje de germinación de semillas de *S. lycopersicum* inoculadas con aislados bacterianos de *S. nothohybrida*. C: control; 1: *Pseudomonas putida*; 9: AN 10-2 MI1; 11: *Curtobacterium* sp.; 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis*. Las barras representan el promedio de germinación de 10 semillas.

Una vez que se comprobó que ninguno de los aislados bacterianos inhibieran la germinación o presentaran algún tipo de fitopatogenicidad en las semillas de *S. lycopersicum*, procedimos a realizar el análisis de los parámetros vegetativos; estos se realizaron a los 10 días y se midió la longitud de la plántula y la longitud de la raíz (**Figura 12**).

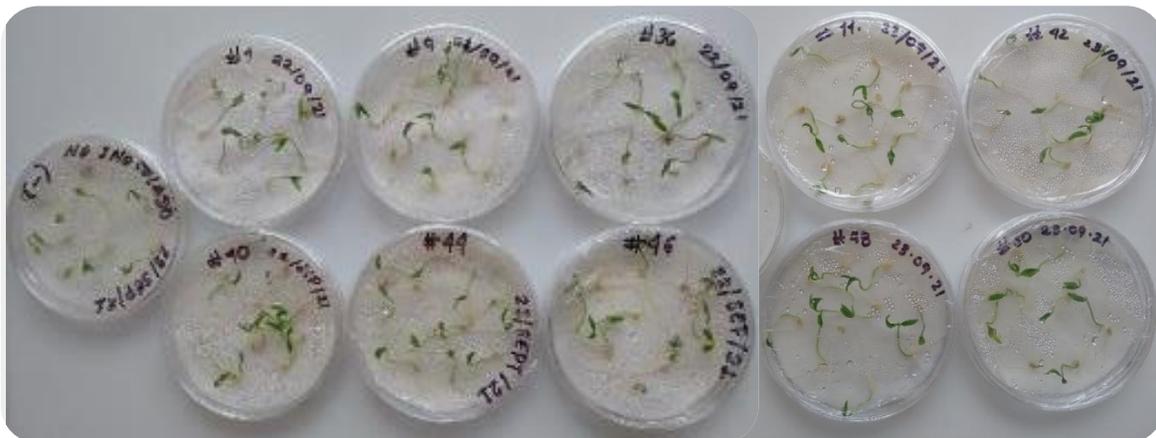


Figura 12. Plántulas de *S. lycopersicum* de diez días post-inoculación: no inoculadas (-) e inoculadas con los aislados 1: *Pseudomonas putida*; 9: AN 10-2 MI1; 11: *Curtobacterium* sp.; 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis*.

El efecto de promoción de crecimiento vegetal de los aislados bacterianos de *S. nothohybrida* en plántulas de *S. lycopersicum*, se evaluó a los 10 dpi. En la figura 13, se muestra un comparativo del control frente a las plántulas inoculadas donde se pudo observar un mayor desarrollo en la longitud de la raíz y en la altura total de la plántula 1: *Pseudomonas putida* y 11: *Curtobacterium* sp., (**Figura 13**).



Figura 13. Imágenes representativas de las plántulas a los 10 días de germinación. C: control; 1: *Pseudomonas putida*; 11: *Curtobacterium* sp., aislados con aumento en la longitud total de la plántula.

En los resultados del análisis de los parámetros vegetativos, *in vitro*, a los 10 dpi de las plántulas de *S. lycopersicum* inoculadas y sin inocular, se pudo observar un incremento en la longitud total entre los aislados *Pseudomonas putida* (1), *Curtobacterium* sp. (11), *Pseudomonas kribbensis* (40) y *Paenibacillus taichungensis*. (50) con respecto al control (F: 4.43, g.l: 10, P:0.0001) (**Figura 14**), presentando un aumento en la longitud total de la plántula en un 46% (+5.5 cm), 22% (+2.7 cm), 29% (+3.4 cm) y 21% (+2.5 cm) respectivamente; por otro lado, los aislados AN 10-2 MI1 (9) y *Pantoea agglomerans* (46) disminuyeron aproximadamente en un 33% (- 4.00 cm) la longitud total de las plántulas inoculadas con estos tratamientos.

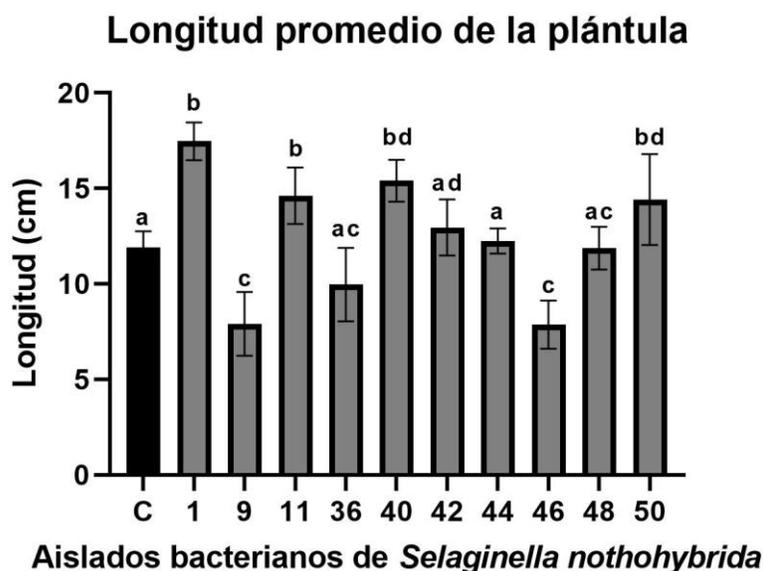


Figura 14. Longitud promedio de la raíz de las plántulas de *S. lycopersicum* inoculadas con aislados bacterianos de *S. nothohybrida*. C: control; 1: *Pseudomonas putida*; 9: AN 10-2 MI1; 11: *Curtobacterium* sp.; 32: PDA 10-2 MI2; 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis*. Las barras representan el promedio de 10 plántulas con su respectiva barra de error estándar y las letras indican diferencias significativas entre cada condición (Tukey, $p < 0.0001$).

Con respecto a la longitud de la raíz, se observó un incremento entre los aislados *Pseudomonas putida* (1), *Curtobacterium* sp. (11), *Pseudomonas kribbensis* (40) y *Paenibacillus taichungensis*. (50) con respecto al control ($P < 0.0001$) (**Figura 15**). Estos aislados tuvieron un aumento en la longitud de la raíz en un 52% (+5.32 cm), 22% (+2.2 cm), 38% (+3.9 cm) y 24% (+2.44 cm) respectivamente en comparación con el control; por otro lado, los aislados AN 10-2 MI1 (9) y *Pantoea agglomerans* (46) disminuyeron aproximadamente en un 43% (-4.5 cm) la longitud de las raíces de las plántulas inoculadas con estos tratamientos.

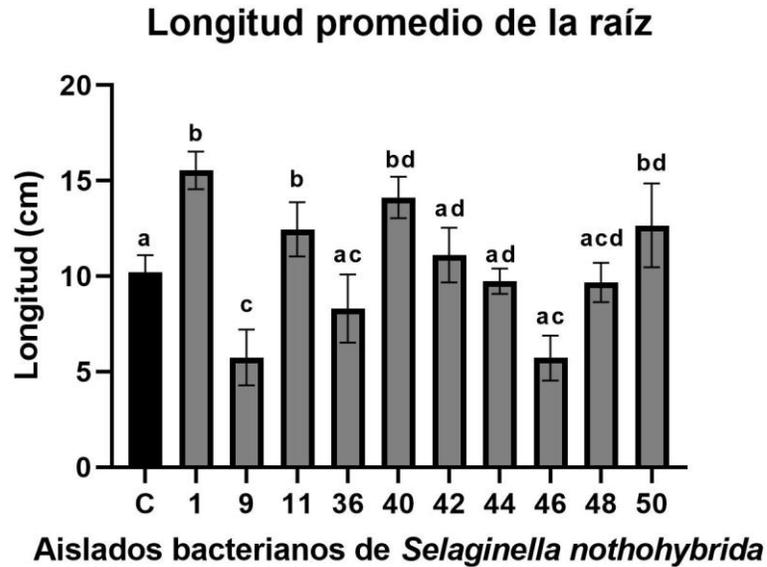


Figura 15. Longitud promedio de la raíz de las plántulas de *S. lycopersicum* inoculadas con aislados bacterianos de *S. nothohybrida*. C: control; 1: *Pseudomonas putida*; 9: AN 10-2 MI1; 11: *Curtobacterium* sp.; 32: PDA 10-2 MI2; 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis*. Las barras representan el promedio de 10 plántulas con su respectiva barra de error estándar y las letras indican diferencias significativas entre cada condición.

La figura 16 muestra la diferencia del desarrollo de raíces secundarias en las plántulas del control vs los aislados en los cuales, se pudo observar una mayor ramificación de la raíz, *Paenibacillus* sp. (44), *Burkholderia* sp. (48), *Pantoea ananatis*. (36) y *Pantoea agglomerans* (46);

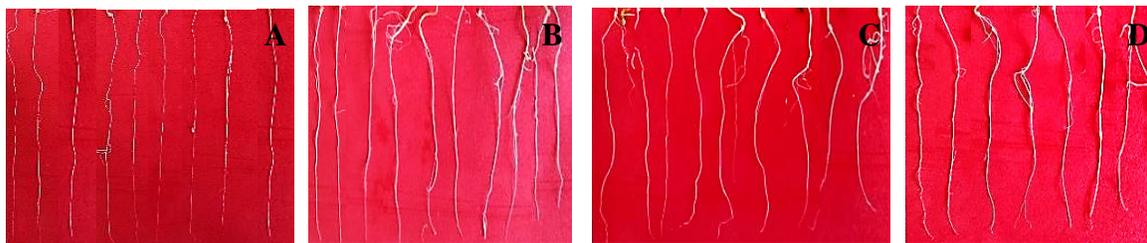


Figura 16. Efecto sobre el desarrollo de raíces secundarias en plántulas de *S. lycopersicum*. A: Control sin inocular; inoculadas con B: *Paenibacillus* sp. (44), C: *Burkholderia* sp. (48), D: *Pantoea ananatis*. (36).

8.3. Efecto de los aislados de *S. nothohybrida* en diferentes etapas fenológicas de *S. lycopersicum*.

El efecto de promoción de crecimiento vegetal de los aislados bacterianos de *S. nothohybrida* en plantas de *S. lycopersicum*, se evaluó a los 21 dpi. En la figura 17, se muestra un comparativo del control frente a plantas inoculadas con el aislado 1: *Pseudomonas putida* y 9: AN 10-2 MI1, donde se puede observar que las plantas inoculadas con estos aislados tienen una mejor apariencia del tejido vegetal en comparación con el control y con los otros aislados.

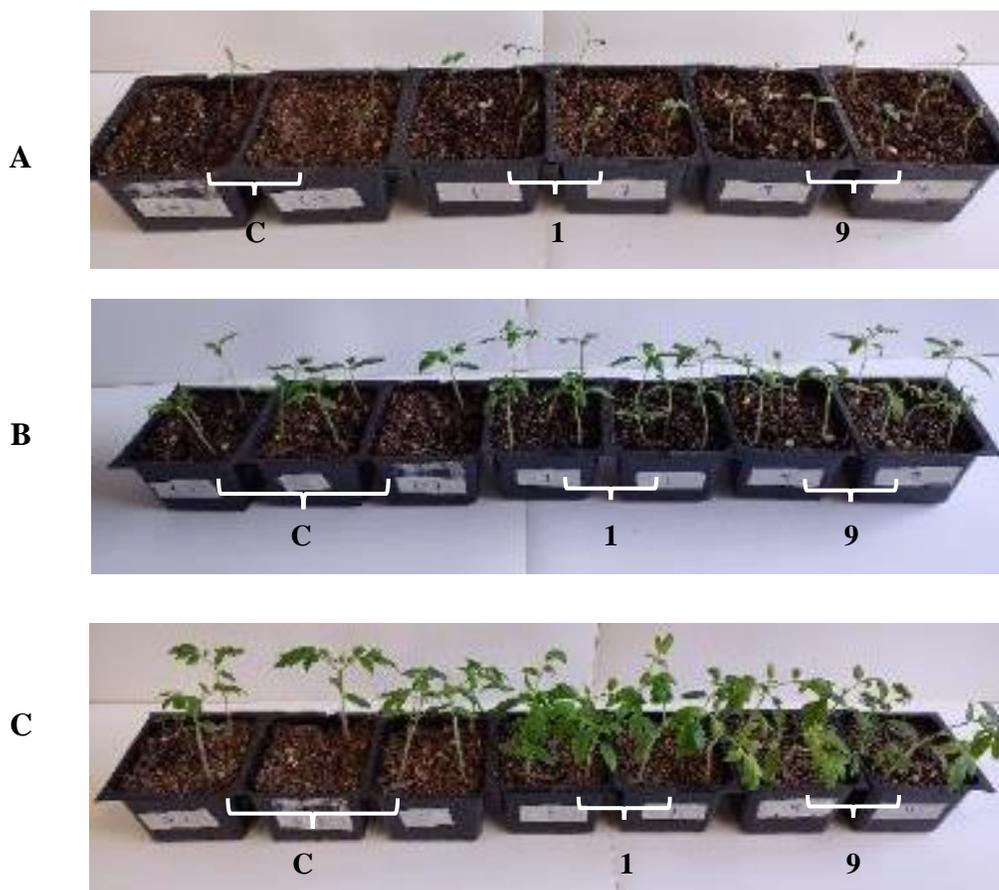


Figura 17. Aspecto de plantas de *S. lycopersicum* inoculadas con los aislados de *S. nothohybrida*. 1: *Pseudomonas putida* y 9: AN 10-2 MI1. **A:** Plántulas a los 7 días; **B:** Plántulas a los 14 días; **C:** Plántulas a los 21 días.

En los resultados del análisis de los parámetros vegetativos a los 21 dpi de las plantas de *S. lycopersicum* inoculadas y sin inocular, se pudo observar que no hubo diferencias significativas entre las plantas de *S. lycopersicum* inoculadas con aislados bacterianos de *S. nothohybrida*, en ninguno de los parámetros evaluados (longitud total de la planta, longitud del tallo, longitud de la raíz, diámetro promedio del tallo).

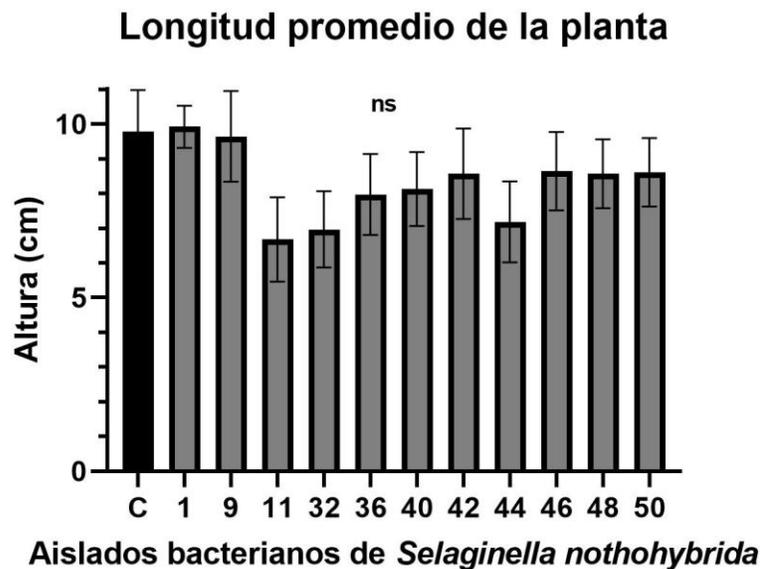


Figura 18. Altura promedio total de las plantas de *S. lycopersicum* inoculadas con aislados bacterianos de *S. nothohyrida*. C: control; 1: *Pseudomonas putida*; 9: AN 10-2 MI1; 11: *Curtobacterium* sp.; 32: PDA 10-2 MI2; 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis*. Las barras representan el promedio de 20 plantas con su respectiva barra de error estándar y “ns” indica no significativo.

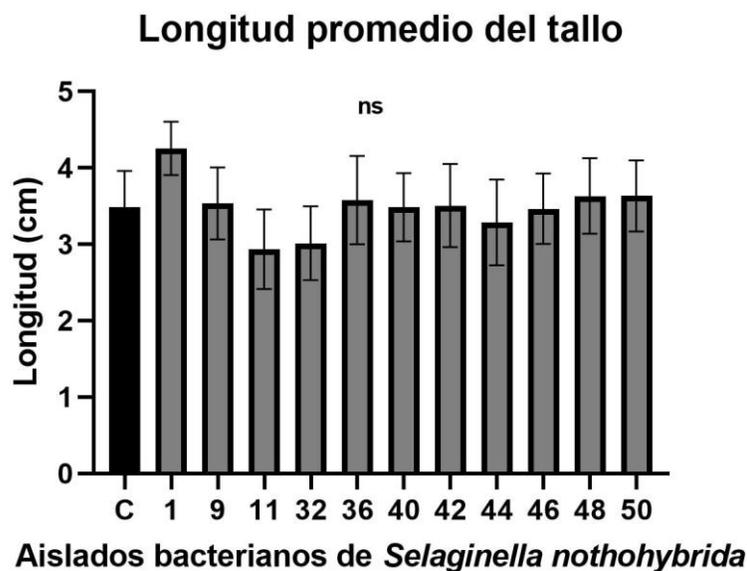


Figura 19. Longitud promedio del tallo de las plantas de *S. lycopersicum* inoculadas con aislados bacterianos de *S. nothohyrida*. C: control; 1: *Pseudomonas putida*; 9: AN 10-2 MI1; 11: *Curtobacterium* sp.; 32: PDA 10-2 MI2; 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis*. Las barras representan el promedio de 20 plantas con su respectiva barra de error estándar y “ns” indica no significativo.

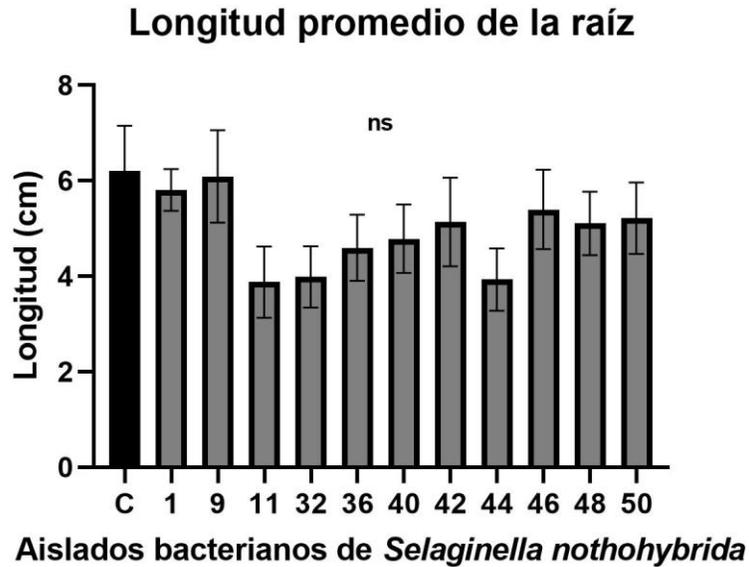


Figura 20. Longitud promedio de raíz de las plantas de *S. lycopersicum* inoculadas con aislados bacterianos de *S. nothohybrida*. C: control; 1: *Pseudomonas putida*; 9: AN 10-2 MI1; 11: *Curtobacterium* sp.; 32: PDA 10-2 MI2; 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis*. Las barras representan el promedio de 20 plantas con su respectiva barra de error estándar y “ns” indica no significativo.

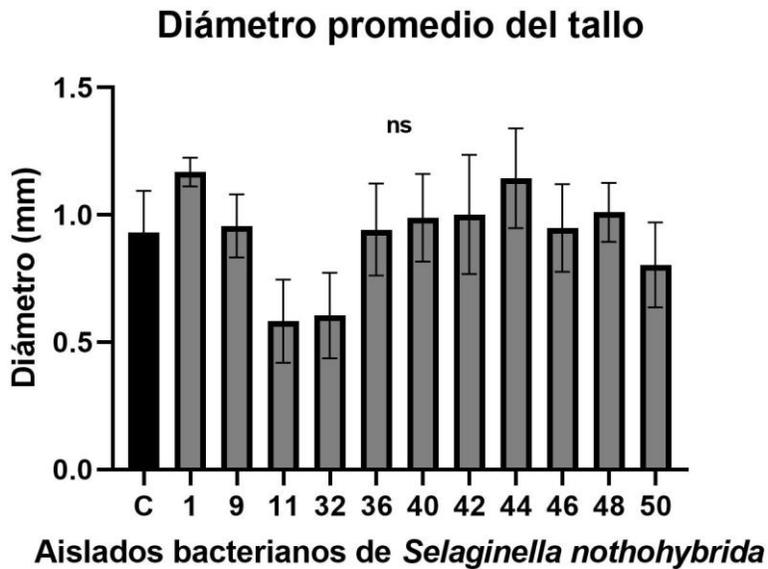


Figura 21. Diámetro promedio del tallo de las plantas de *S. lycopersicum* inoculadas con aislados bacterianos de *S. nothohybrida*. C: control; 1: *Pseudomonas putida*; 9: AN 10-2 MI1; 11: *Curtobacterium* sp.; 32: PDA 10-2 MI2; 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis*. Las barras representan el promedio de 20 plantas con su respectiva barra de error estándar y “ns” indica no significativo.

Para la fase vegetativa I, las plántulas se trasplantaron e inocularon a los 10 días postgerminación y los parámetros vegetativos se analizaron 49 días después para medir altura total de la planta, longitud de tallo, longitud de raíz, grosor de tallo, peso fresco y peso seco. La figura 22 representa a los aislados 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis*, los cuales presentaron los mejores resultados en esta etapa fenológica; se puede observar que las plantas de *S. lycopersicum* inoculadas con estas bacterias presentan un mejor tejido vegetativo en comparación con el control.



Figura 22. Aspecto de plantas de *S. lycopersicum* inoculadas con los aislados de *S. nothohybrida* **A:** Día 1 de inoculación; **B:** Plantas 49 días postinoculación. C: Control; 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis*.

En los resultados del análisis de los parámetros vegetativos a los 49 dpi de las plantas de *S. lycopersicum* inoculadas y sin inocular, se pudo observar un incremento en la longitud promedio de la planta entre los aislados *Pantoea ananatis*. (36), *Pseudomonas kribbensis* (40), *Paenibacillus* sp. (44), *Pantoea agglomerans* (46), *Burkholderia* sp. (48) y *Paenibacillus taichungensis*. (50) con respecto al control (F: 5.66, g.l: 20, P:0.00001) (**Figura 23**); presentando un aumento en la longitud total de la planta en un 19% (+4.6 cm), 23% (+5.5 cm), 25% (+5.8 cm), 21% (+4.9 cm), 17% (+4.06 cm) y 22% (+5.2 cm) respectivamente; por otro lado, el aislado *Curtobacterium* sp. (11), disminuyó aproximadamente en un 34% (-8 cm) la longitud total de las plantas inoculadas con este tratamiento.

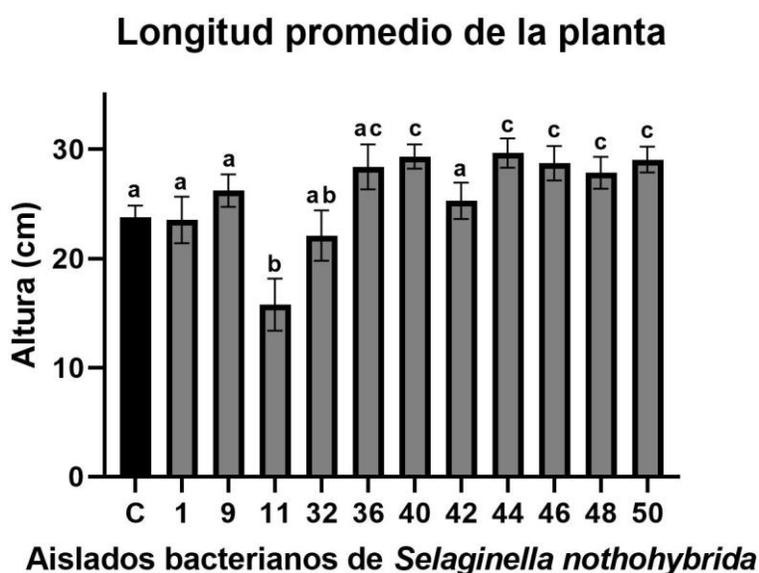


Figura 23. Altura promedio total de las plantas de *S. lycopersicum* inoculadas con aislados bacterianos de *S. nothohybrida*. C: control; 1: *Pseudomonas putida*; 9: AN 10-2 MI1; 11: *Curtobacterium* sp.; 32: PDA 10-2 MI2; 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis*. Las barras representan el promedio de 20 plantas con su respectiva barra de error estándar y las letras indican diferencias significativas entre cada condición.

El segundo parámetro evaluado en la etapa vegetativa I fue la longitud del tallo, en la cual, hubo diferencias entre los aislados *Pantoea ananatis*. (36), *Pseudomonas kribbensis* (40), *Paenibacillus* sp. (44), *Pantoea agglomerans* (46), *Burkholderia* sp. (48) y *Paenibacillus taichungensis*. (50) con respecto al control (F: 4.93, g.l: 20, P:0.00001); presentando un aumento en la longitud total de la planta en un 36% (+4.6 cm), 41% (+5.1 cm), 37% (+4.6 cm), 33% (+4.1 cm), 21% (+2.7 cm) y 32% (+4.06 cm) respectivamente; por otro lado, el aislado *Curtobacterium* sp. (11), disminuyó aproximadamente en un 27% (-3.4 cm) la longitud del tallo de las plantas inoculadas con este tratamiento (**Figura 24**).

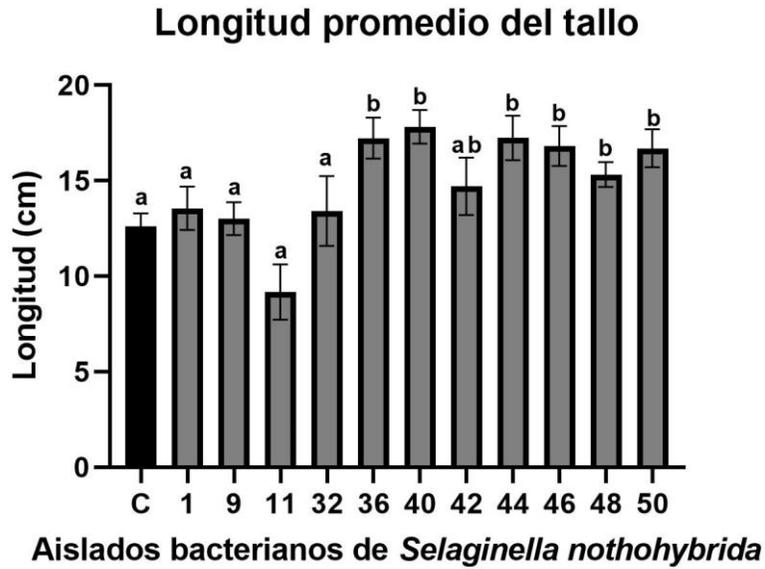


Figura 24. Longitud promedio del tallo de las plantas de *S. lycopersicum* inoculadas con aislados bacterianos de *S. nothohybrida*. C: control; 1: *Pseudomonas putida*; 9: AN 10-2 MI1; 11: *Curtobacterium* sp.; 32: PDA 10-2 MI2; 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis*. Las barras representan el promedio de 20 plantas con su respectiva barra de error estándar y las letras indican diferencias significativas entre cada condición.

Para la longitud de raíz pudimos no se observaron diferencias significativas en comparación con el control (**Figura 26**). Mientras que para el parámetro en el cual medimos el diámetro del tallo tampoco se presentaron diferencias significativas en los tallos de las plántulas inoculadas con los aislados bacterianos de *Selaginella* y el control (**Figura 27**).

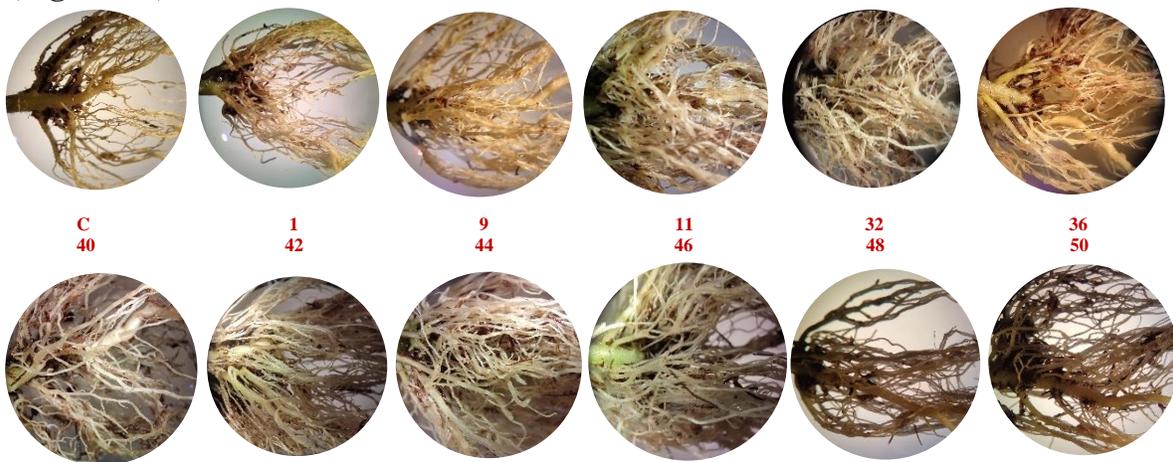


Figura 25. Raíces de las plantas inoculadas con aislados de *S. nothohybrida*. C: control; 1: *Pseudomonas putida*; 9: AN 10-2 MI1; 11: *Curtobacterium* sp.; 32: PDA 10-2 MI2; 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis*.

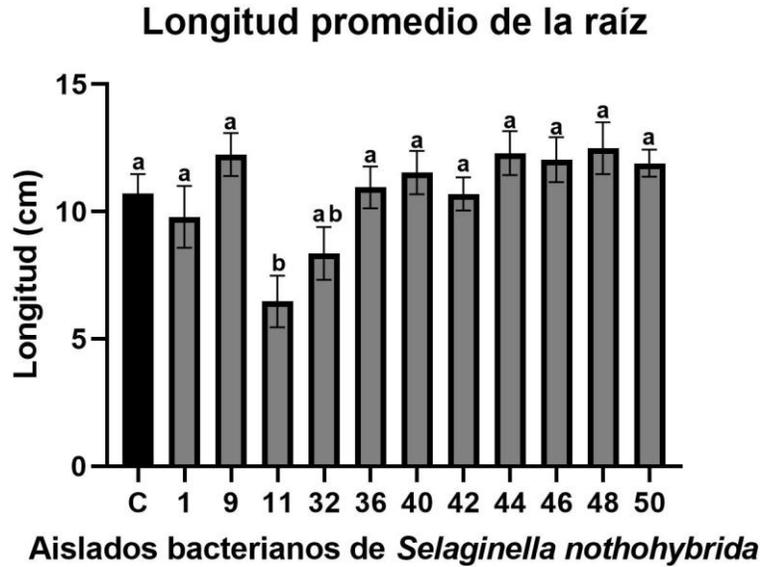


Figura 26. Longitud promedio de raíz de las plantas de *S. lycopersicum* inoculadas con aislados bacterianos de *S. nothohybrida*. C: control; 1: *Pseudomonas putida*; 9: AN 10-2 MI1; 11: *Curtobacterium* sp.; 32: PDA 10-2 MI2; 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis*. Las barras representan el promedio de 20 plantas con su respectiva barra de error estándar y las letras indican diferencias significativas entre cada condición.

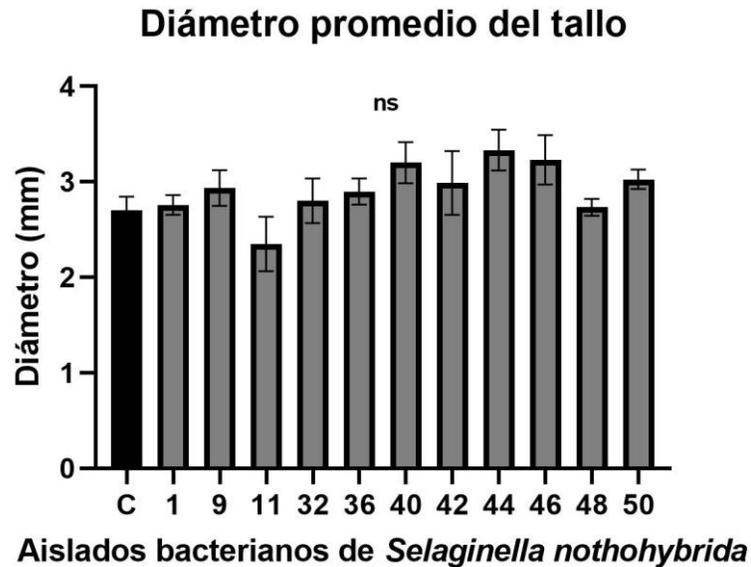


Figura 27. Diámetro promedio del tallo de las plantas de *S. lycopersicum* inoculadas con aislados bacterianos de *S. nothohybrida*. C: control; 1: *Pseudomonas putida*; 9: AN 10-2 MI1; 11: *Curtobacterium* sp.; 32: PDA 10-2 MI2; 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis*. Las barras representan el promedio de 20 plantas con su respectiva barra de error estándar y “ns” indica no significativo.

En el peso fresco total de la planta, los aislados 9: AN 10-2 MI1; 32: PDA 10-2 MI2; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; presentaron un incremento en el peso fresco de más del doble para cada uno de los aislados en comparación con el control (**Figura 28**).

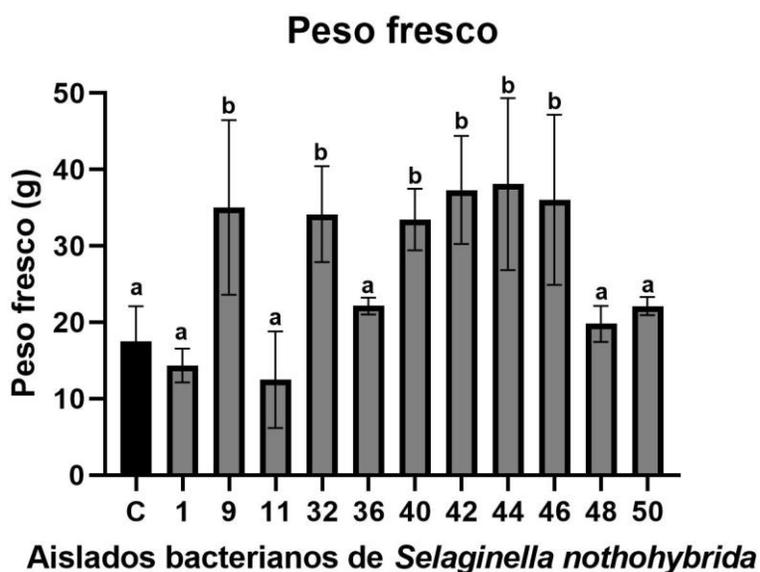


Figura 28. Peso fresco de las plantas de plantas de *S. lycopersicum* inoculadas con aislados bacterianos de *S. nothohyrida*. C: control; 1: *Pseudomonas putida*; 9: AN 10-2 MI1; 11: *Curtobacterium* sp.; 32: PDA 10-2 MI2, 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungenis*. Las barras representan el promedio de 20 plantas con su respectiva barra de error estándar y las letras indican diferencias significativas entre cada condición.

En el peso fresco de la parte aérea de la planta, los aislados 9: AN 10-2 MI1; 32: PDA 10-2 MI2; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*, presentaron un incremento en el peso fresco de más del doble para cada uno de los aislados en comparación con el control (**Figura 29**).

Para el peso fresco radicular los aislados 32: PDA 10-2 MI2, 40: *Pseudomonas kribbensis*, 42: PDA 10-2 MI10, 44: *Paenibacillus* sp., y 46: *Pantoea agglomerans*, fueron los que presentaron un peso fresco de más del doble en comparación con el control (**Figura 30**).

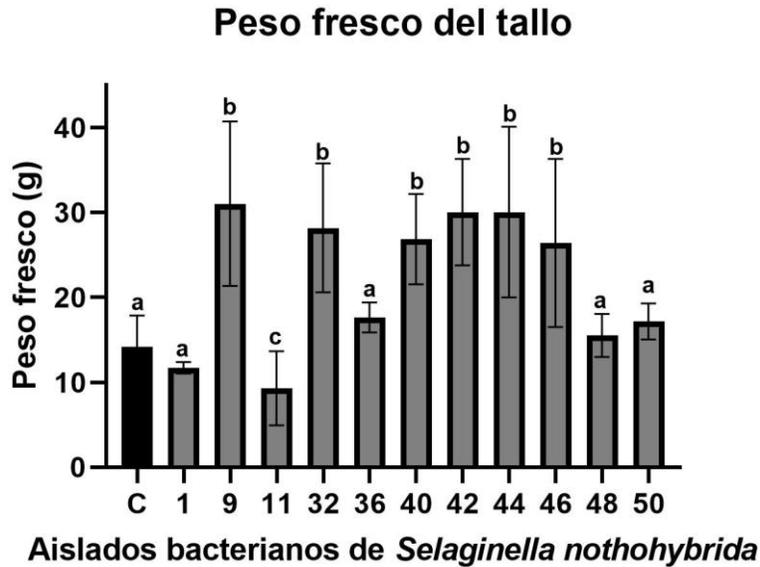


Figura 29. Peso fresco del tallo de las plantas de plantas de *S. lycopersicum* inoculadas con aislados bacterianos de *S. nothohybrida*. C: control; 1: *Pseudomonas putida*; 9: AN 10-2 MI1; 11: *Curtobacterium* sp.; 32: PDA 10-2 MI2; 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis*. Las barras representan el promedio de 20 plantas con su respectiva barra de error estándar y las letras indican diferencias significativas entre cada condición.

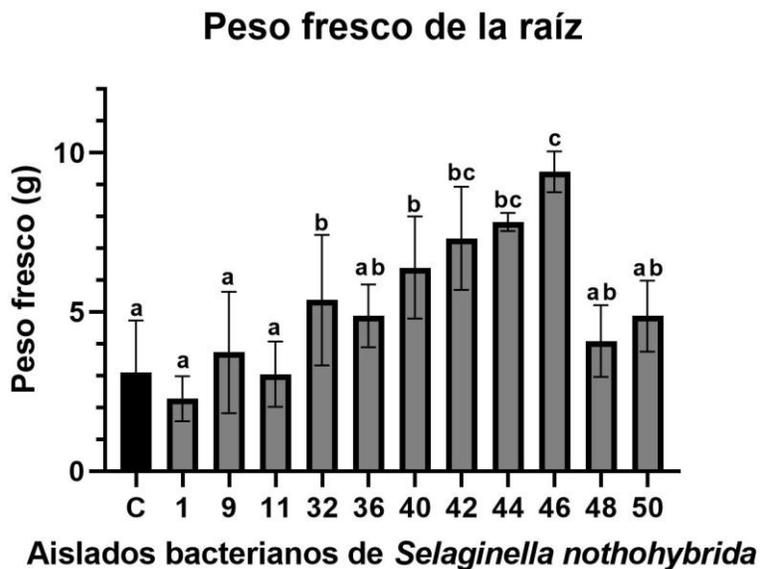


Figura 30. Peso fresco de la raíz de las plantas de plantas de *S. lycopersicum* inoculadas con aislados bacterianos de *S. nothohybrida*. C: control; 1: *Pseudomonas putida*; 9: AN 10-2 MI1; 11: *Curtobacterium* sp.; 32: PDA 10-2 MI2; 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis*. Las barras representan el promedio de 20 plantas con su respectiva barra de error estándar y las letras indican diferencias significativas entre cada condición.

En el peso seco de tallo (**Figura 31**) y raíz (**Figura 32**), no se presentaron diferencias significativas entre las plantas inoculadas y el control.

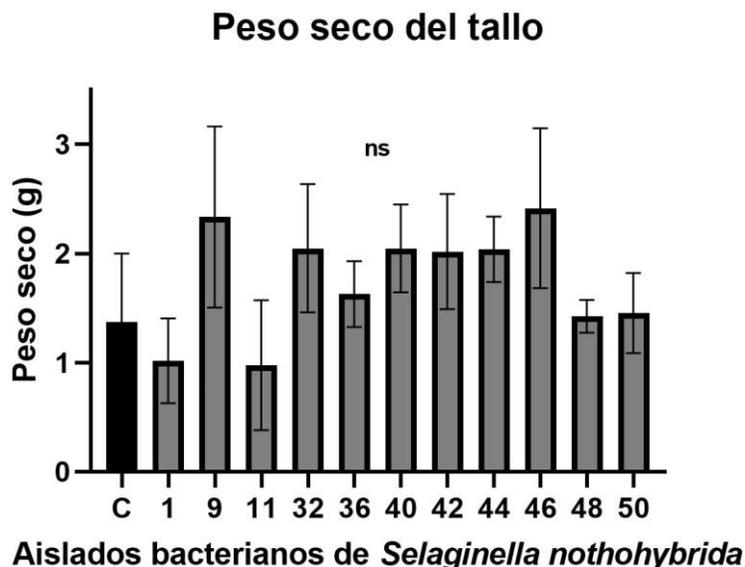


Figura 31. Peso seco del tallo de las plantas de *S. lycopersicum* inoculadas con aislados bacterianos de *S. nothohybrida*. C: control; 1: *Pseudomonas putida*; 9: AN 10-2 MI1; 11: *Curtobacterium* sp.; 32: PDA 10-2 MI2; 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis*. Las barras representan el promedio de 20 plantas con su respectiva barra de error estándar y “ns” indica no significativo.

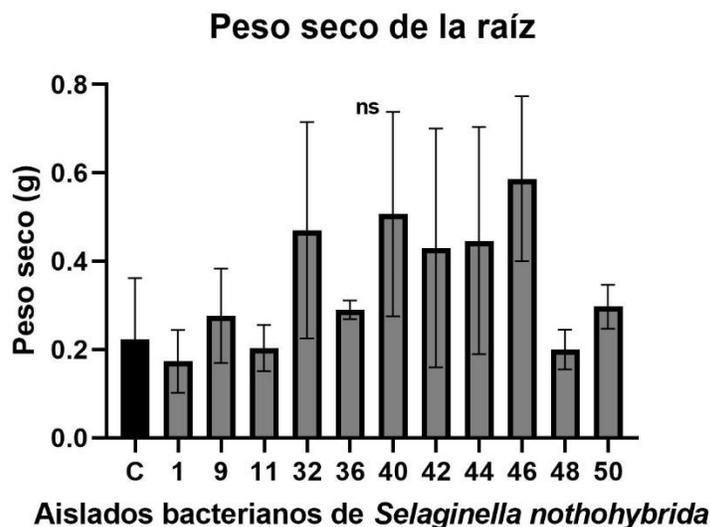


Figura 32. Peso seco de la raíz de las plantas de *S. lycopersicum* inoculadas con aislados bacterianos de *S. nothohybrida*. C: control; 1: *Pseudomonas putida*; 9: AN 10-2 MI1; 11: *Curtobacterium* sp.; 32: PDA 10-2 MI2; 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis*. Las barras representan el promedio de 20 plantas con su respectiva barra de error estándar y “ns” indica no significativo.

Para la fase vegetativa II, las plántulas se trasplantaron a los 10 días y se inocularon a los 49 días postgerminación y los parámetros vegetativos se analizaron 90 días después del trasplante, para medir altura total de la planta, longitud de tallo, longitud de raíz, grosor de tallo, peso fresco y peso seco. La figura 33 representa a los aislados *Curtobacterium* sp. (11), *Pantoea ananatis*. (36), *Pseudomonas kribbensis* (40) y PDA 10-2 MI1(42), los cuales presentan un mejor tejido vegetativo en comparación con el control.



Figura 33. Aspecto de plantas de *S. lycopersicum* inoculadas con los aislados de *S. nothohybrida*. C: control; *Curtobacterium* sp. (11); *Pantoea ananatis*. (36); *Pseudomonas kribbensis* (40) y PDA 10-2 MI1(42)

En los resultados del análisis de los parámetros vegetativos a los 90 dpt de las plantas de *S. lycopersicum* inoculadas y sin inocular, se pudo observar un incremento en la longitud promedio del tallo entre los aislados *Pseudomonas kribbensis* (40); *Paenibacillus* sp. (44); *Burkholderia* sp (48) con respecto al control (**Figura 34**). Teniendo un incremento de 45% (+12.08 cm), 45% (+11.99 cm), 31% (+8.42 cm), respectivamente (**Figura 34**).

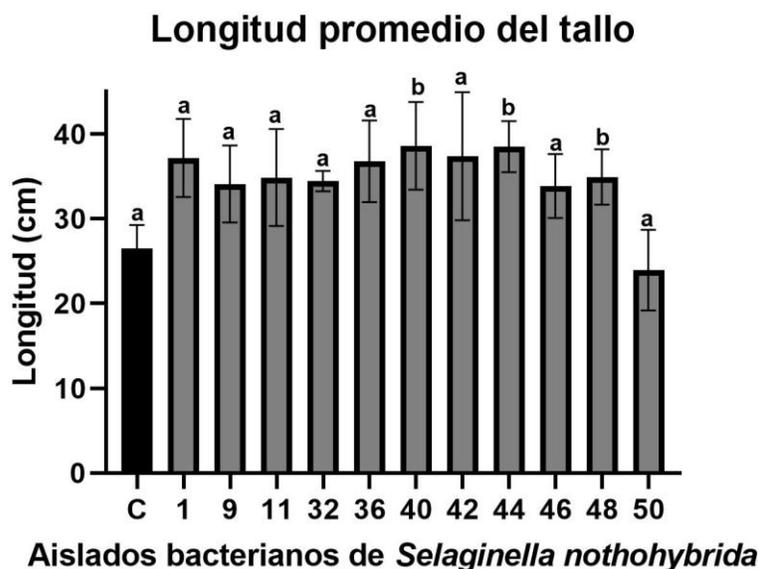


Figura 34. Longitud promedio del tallo de las plantas de *S. lycopersicum* inoculadas con aislados bacterianos de *S. nothohybrida*. C: control; 1: *Pseudomonas putida*; 9: AN 10-2 MI1; 11: *Curtobacterium* sp.; 32: PDA 10-2 MI2; 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis*. Las barras representan el promedio de 10 plantas con su respectiva barra de error estándar y las letras indican diferencias significativas entre cada condición.

Para la longitud de raíz pudimos observar un incremento del 16% (+6.6 cm) en *Pseudomonas putida* (1), 10% (+4.2 cm) en AN 10-2 MI1 (9) y 11% (+4.7 cm) en PDA 10-2 MI2 (32) en comparación con el control (**Figura 35**).

Mientras que para el parámetro en el cual medimos el diámetro del tallo no se presentaron diferencias significativas en los tallos de las plantas inoculadas con los aislados bacterianos de *Selaginella* y el control (**Figura 36**).

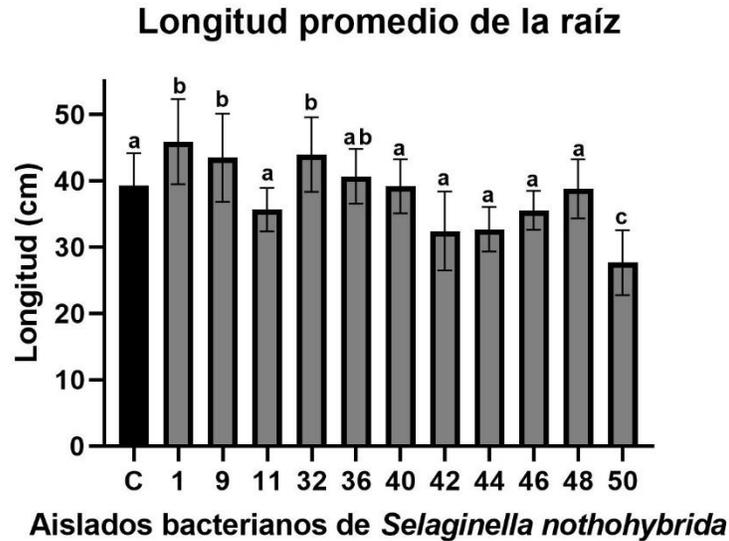


Figura 35. Longitud promedio de raíz de las plantas de *S. lycopersicum* inoculadas con aislados bacterianos de *S. nothohybrida*. C: control; 1: *Pseudomonas putida*; 9: AN 10-2 MI1; 11: *Curtobacterium* sp.; 32: PDA 10-2 MI2; 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis*. Las barras representan el promedio de 20 plantas con su respectiva barra de error estándar y las letras indican diferencias significativas entre cada condición.

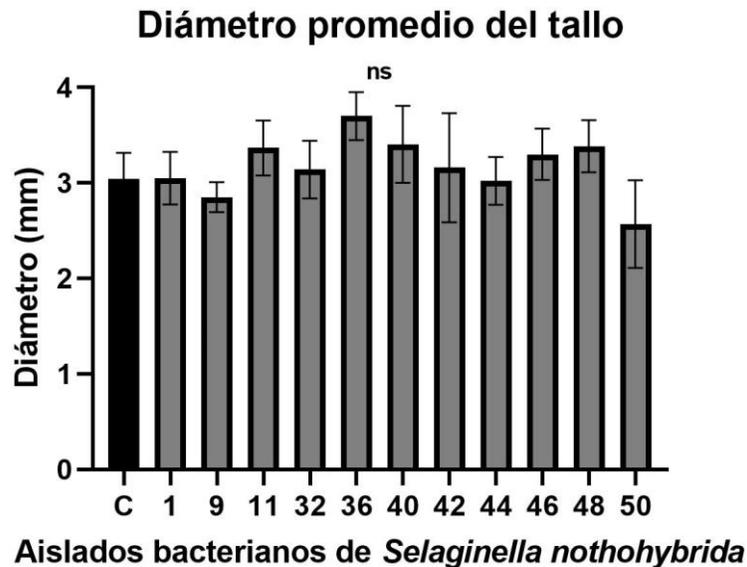


Figura 36. Diámetro promedio del tallo de las plantas de *S. lycopersicum* inoculadas con aislados bacterianos de *S. nothohybrida*. C: control; 1: *Pseudomonas putida*; 9: AN 10-2 MI1; 11: *Curtobacterium* sp.; 32: PDA 10-2 MI2; 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis*. Las barras representan el promedio de 10 plantas con su respectiva barra de error estándar y “ns” indica no significativo.

En el peso fresco del tallo, los aislados AN 10-2 MI1 (9), *Curtobacterium* sp. (11); PDA 10-2 MI2 (32); *Pantoea anantis* (36); *Pseudomonas kribbensis* (40); PDA 10-2 MI10 (42); *Paenibacillus* sp. (44); presentaron un incremento en el peso fresco total un 88%, 44%, 105%, 31%, 125%, 145% y 69% respectivamente, en comparación con el control (**Figura 37**).

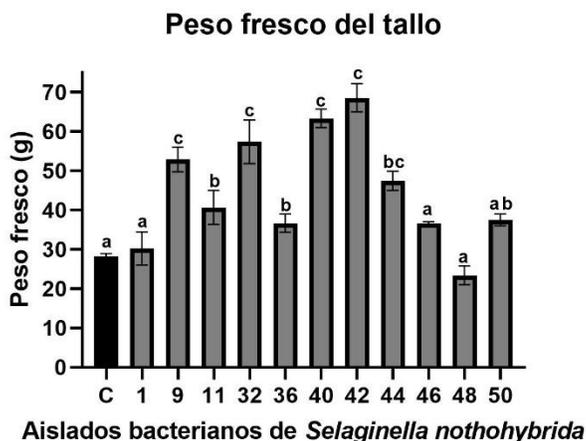


Figura 37. Peso fresco del tallo de plantas de *S. lycopersicum* inoculadas con aislados bacterianos de *S. nothohybrida*. C: control; 1: *Pseudomonas putida*; 9: AN 10-2 MI1; 11: *Curtobacterium* sp.; 32: PDA 10-2 MI2; 36: *Pantoea anantis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis*. Las barras representan el promedio de 10 plantas con su respectiva barra de error estándar y las letras indican diferencias significativas entre cada condición.

Mientras que, en el peso fresco de la raíz, *Pseudomonas kribbensis* (40); PDA 10-2 MI10 (42); *Paenibacillus* sp. (44); *Pantoea agglomerans* (46) presentaron un incremento en un 59%, 63%, 36% y 47% respectivamente, en comparación con el control (**Figura 38**).

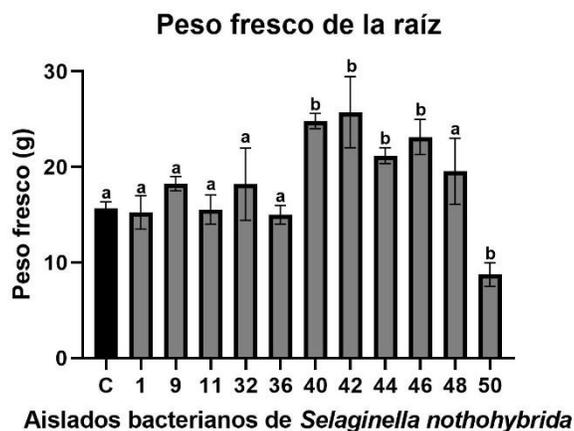


Figura 38. Peso fresco de la raíz de las plantas de plantas de *S. lycopersicum* inoculadas con aislados bacterianos de *S. nothohybrida*. C: control; 1: *Pseudomonas putida*; 9: AN 10-2 MI1; 11: *Curtobacterium* sp.; 32: PDA 10-2 MI2; 36: *Pantoea anantis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis*. Las barras representan el promedio de 10 plantas con su respectiva barra de error estándar y las letras indican diferencias significativas entre cada condición.

En el peso seco de tallo (**Figura 39**) los aislados *Pseudomonas kribbensis* (40); PDA 10-2 MI10 (42) presentaron un incremento de más del doble en comparación con el control. Mientras que para el peso seco de la raíz (**Figura 40**), el aislado *Pseudomonas kribbensis* (40) presentó un incremento de más del doble en comparación con el control.

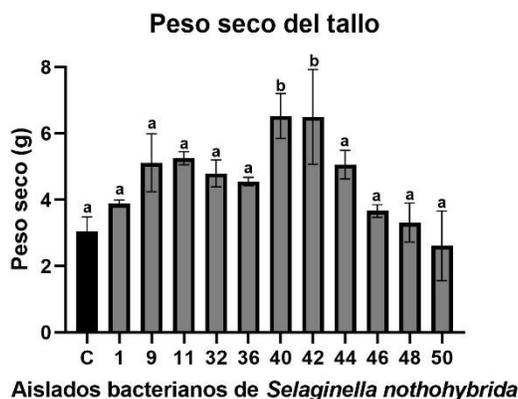


Figura 39. Peso seco del tallo de las plantas de plantas de *S. lycopersicum* inoculadas con aislados bacterianos de *S. nothohybrida*. C: control; 1: *Pseudomonas putida*; 9: AN 10-2 MI1; 11: *Curtobacterium* sp.; 32: PDA 10-2 MI2; 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis*. Las barras representan el promedio de 10 plantas con su respectiva barra de error estándar y las letras indican diferencias significativas entre cada condición.

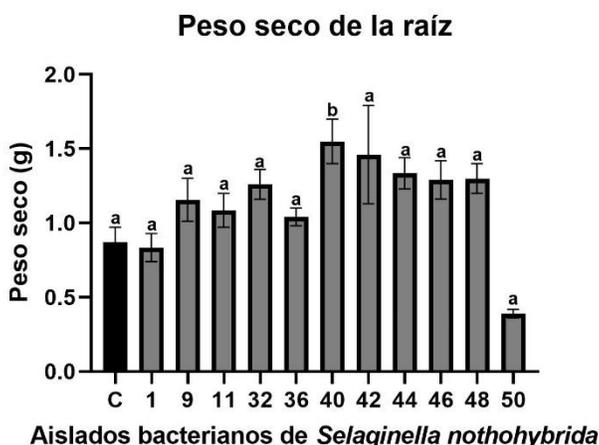


Figura 40. Peso seco de la raíz de las plantas de plantas de *S. lycopersicum* inoculadas con aislados bacterianos de *S. nothohybrida*. C: control; 1: *Pseudomonas putida*; 9: AN 10-2 MI1; 11: *Curtobacterium* sp.; 32: PDA 10-2 MI2; 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis*. Las barras representan el promedio de 10 plantas con su respectiva barra de error estándar y las letras indican diferencias significativas entre cada condición.

Durante los experimentos anteriores, se observó que algunos aislados bacterianos seleccionados poseían mejores resultados al inocular semillas y plántulas de *S. lycopersicum*; por lo que se decidió realizar dos pruebas adicionales utilizando como tratamiento la elaboración de cuatro consorcios bacterianos (ver punto 7.4). Se realizó un ensayo de germinación *in vitro* para realizar observaciones a los 3, 4 y 7 días.

Día 3 post-inoculación: El control presentó emergencia de raíz en el 80% de sus semillas, mientras que el T1 obtuvo un 100%, seguido por el T3 con el 90%, T4 con el 70% y T2 con el 60%.

Día 4 post-inoculación: El control presentó emergencia de raíz en el 100% de sus semillas, mientras que los tratamientos 2, 3 y 4 alcanzaron el 90% de semillas germinadas

Día 7 post-inoculación: Únicamente el control, el T1 y T4 alcanzaron el 100% de sus semillas germinadas. Los tratamientos 2 y 3 tuvieron el 90% de germinación (**Figura 41**).

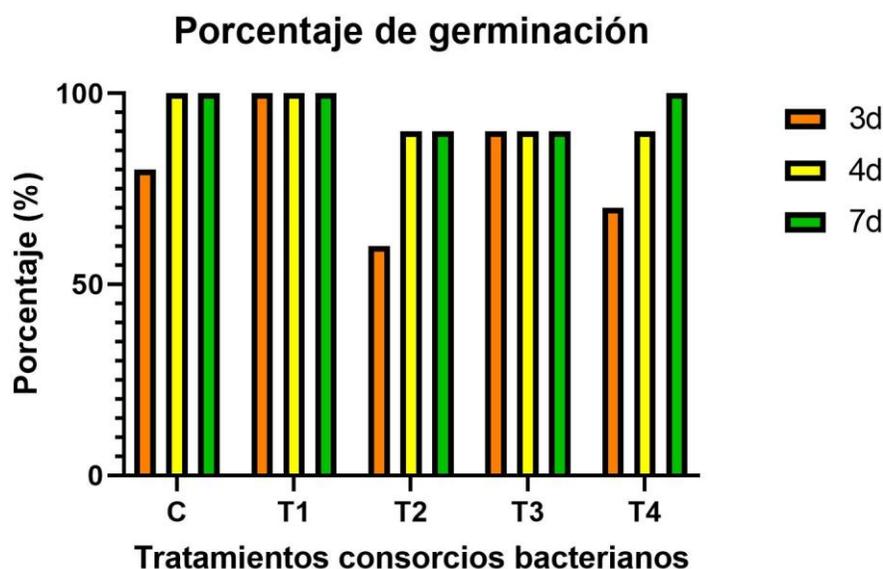


Figura 41. Porcentaje de germinación de semillas de *S. lycopersicum* inoculadas con diferentes tratamientos: C: control, T1: 1: *Pseudomonas putida*; 9: AN 10-2 MI1; 11: *Curtobacterium* sp.; 32: PDA 10-2 MI2, 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis*., T2: 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis* , T3: 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*, y T4: 1: *Pseudomonas putida*; 11: *Curtobacterium* sp.; 36: *Pantoea ananatis*. Las barras representan el promedio de 10 plántulas.

Una vez que se comprobó que ninguno de los tratamientos presentara algún tipo de fitopatogenicidad en las semillas de *S. lycopersicum*, procedimos a realizar el análisis de los parámetros vegetativos; estos se realizaron a los 10 días y se midió la longitud de la plántula completa y de la raíz (**Figura 42**).

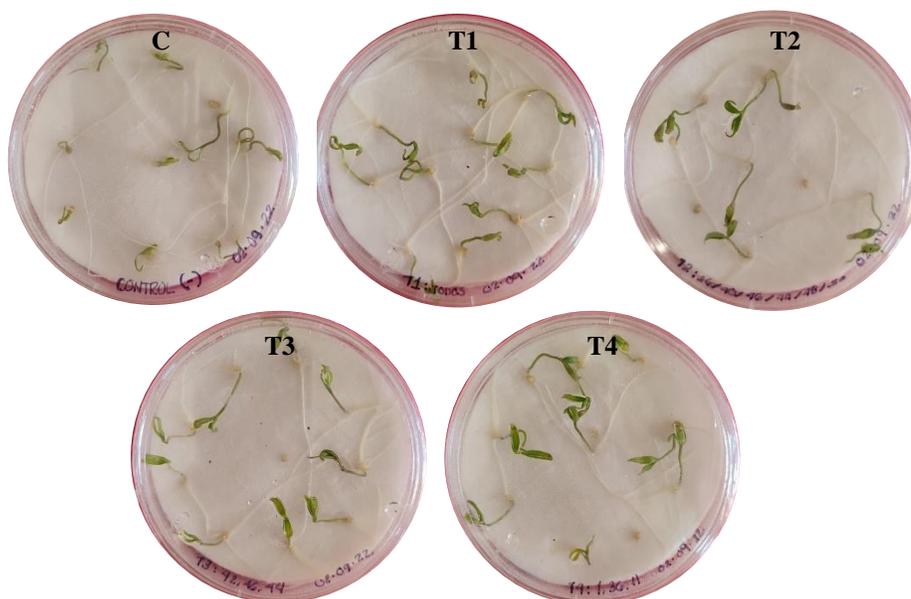


Figura 42. Plántulas de *S. lycopersicum* de diez días post-inoculación: no inoculadas (-) e inoculadas con diferentes tratamientos. C: Control, T1: 1: *Pseudomonas putida*; 9: AN 10-2 MI1; 11: *Curtobacterium* sp.; 32: PDA 10-2 MI2, 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis*., T2: 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis* , T3: 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*, y T4: 1: *Pseudomonas putida*; 11: *Curtobacterium* sp.; 36: *Pantoea ananatis*.

El efecto de promoción de crecimiento vegetal de los consorcios bacterianos de *S. nothohybrida* en plántulas de *S. lycopersicum*, se evaluó a los 10 dpi. En la figura 43, se muestra un comparativo del control frente a plántulas inoculadas con el T2: 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis* y T4: 1: *Pseudomonas putida*; 11: *Curtobacterium* sp.; 36: *Pantoea ananatis*., donde se pudo observar un mayor desarrollo en la longitud de la raíz y en la altura total de la plántula.



Figura 43. Imágenes representativas de las plántulas a los 10 días de germinación. C: Control; T2: 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis* y T4: 1: *Pseudomonas putida*; 11: *Curtobacterium* sp.; 36: *Pantoea ananatis*. Tratamientos con aumento en la longitud total de la plántula.

En los resultados del análisis de los parámetros vegetativos, *in vitro*, a los 10 dpi de las plántulas de *S. lycopersicum* inoculadas y sin inocular, se pudo observar un incremento en la longitud total entre los cuatro tratamientos con respecto al control (**Figura 44**), presentando un aumento en la longitud total de la plántula en un 29% (+2.39 cm) (T1: 1: *Pseudomonas putida*; 9: AN 10-2 MI1; 11: *Curtobacterium* sp.; 32: PDA 10-2 MI2, 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis*.), 33% (+2.68 cm) (T2: 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis*.), 20% (+1.64 cm) (T3: 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*) y 66% (+ 5.37 cm) (T4: 1: *Pseudomonas putida*; 11: *Curtobacterium* sp.; 36: *Pantoea ananatis*.) respectivamente.

Con respecto a la longitud de la raíz, se observó un incremento entre los diferentes tratamientos con respecto al control (**Figura 45**). Estos aislados tuvieron un aumento en la longitud de la raíz en un 26%(+1.86 cm) (T1: 1: *Pseudomonas putida*; 9: AN 10-2 MI1; 11: *Curtobacterium* sp.; 32: PDA 10-2 MI2, 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis*.), 39% (+2.75 cm) (T2: 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis*.), 19% (+1.38 cm) (T3: 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*) y 73% (+5.18 cm) (T4: 1: *Pseudomonas putida*; 11: *Curtobacterium* sp.; 36: *Pantoea ananatis*.).

Longitud promedio de la plántula

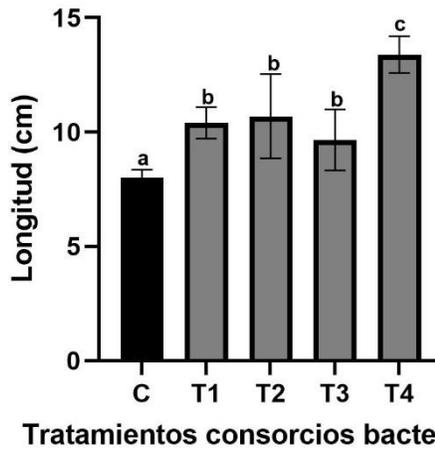


Figura 44. Altura promedio de las plántulas de *S. lycopersicum* inoculadas con consorcios bacterianos de *S. nothohybrida*. C: Control, T1: 1: *Pseudomonas putida*; 9: AN 10-2 MI1; 11: *Curtobacterium* sp.; 32: PDA 10-2 MI2, 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis*., T2: 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis*, T3: 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*, y T4: 1: *Pseudomonas putida*; 11: *Curtobacterium* sp.; 36: *Pantoea ananatis*. Las barras representan el promedio de 10 plántulas con su respectiva barra de error y las letras indican diferencias significativas entre cada condición.

Longitud promedio de la raíz

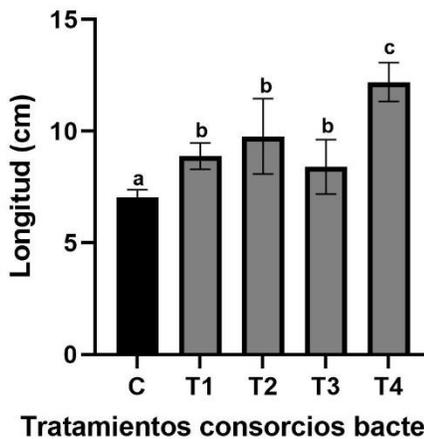


Figura 45. Longitud promedio de la raíz de las plántulas de *S. lycopersicum* inoculadas con consorcios bacterianos de *S. nothohybrida*. C: Control, T1: 1: *Pseudomonas putida*; 9: AN 10-2 MI1; 11: *Curtobacterium* sp.; 32: PDA 10-2 MI2, 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis*., T2: 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis*, T3: 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*, y T4: 1: *Pseudomonas putida*; 11: *Curtobacterium* sp.; 36: *Pantoea ananatis*. Las barras representan el promedio de 10 plántulas con su respectiva barra de error y las letras indican diferencias significativas entre cada condición.

En el peso fresco (**Figura 46**) y seco (**Figura 47**), no se presentaron diferencias significativas entre las plantas inoculadas y el control.

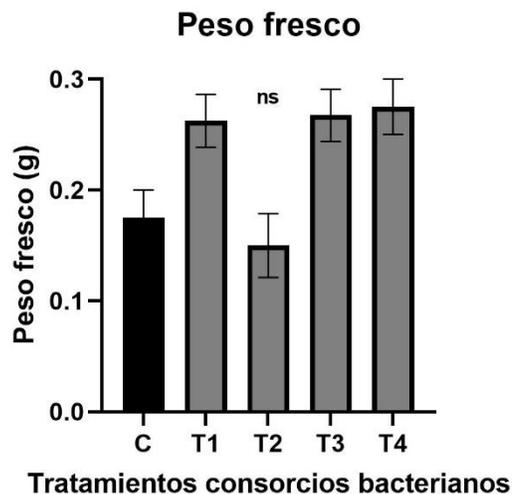


Figura 46. Peso fresco de las plántulas de *S. lycopersicum* inoculadas con consorcios bacterianos de *S. nothohybrida*. C: Control, T1: 1: *Pseudomonas putida*; 9: AN 10-2 MI1; 11: *Curtobacterium* sp.; 32: PDA 10-2 MI2, 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis*., T2: 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis* , T3: 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*, y T4: 1: *Pseudomonas putida*; 11: *Curtobacterium* sp.; 36: *Pantoea ananatis*. Las barras representan el promedio de 10 plántulas, “ns” indica no significativo.

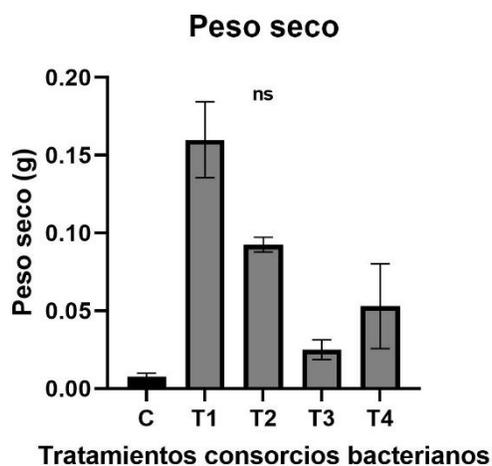


Figura 47. Peso seco de las plántulas de *S. lycopersicum* inoculadas con consorcios bacterianos de *S. nothohybrida*. C: Control, T1: 1: *Pseudomonas putida*; 9: AN 10-2 MI1; 11: *Curtobacterium* sp.; 32: PDA 10-2 MI2, 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis*., T2: 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis*, T3: 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*, y T4: 1: *Pseudomonas putida*; 11: *Curtobacterium* sp.; 36: *Pantoea ananatis*. Las barras representan el promedio de 10 plántulas, “ns” indica no significativo.

El efecto de promoción de crecimiento vegetal de los consorcios bacterianos de *S. nothohybrida* en plantas de *S. lycopersicum*, se evaluó a los 21 dpi. En la figura 48, se muestra un comparativo del control frente a plantas inoculadas con los diferentes tratamientos donde se puede observar que las plantas inoculadas tienen una mejor apariencia del tejido vegetal.

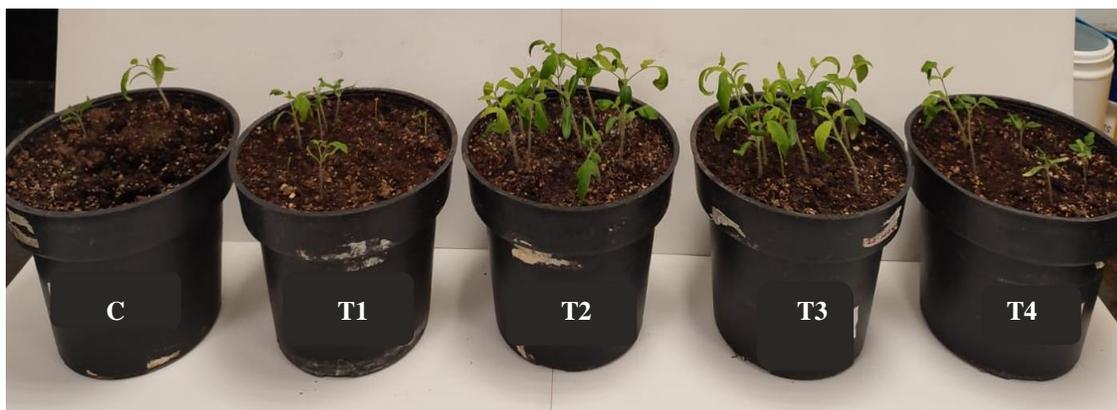


Figura 48. Imágenes representativas de plántulas de *S. lycopersicum* inoculadas con los consorcios bacterianos. C: Control, T1: 1: *Pseudomonas putida*; 9: AN 10-2 MI1; 11: *Curtobacterium* sp.; 32: PDA 10-2 MI2, 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis*., T2: 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis*, T3: 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*, y T4: 1: *Pseudomonas putida*; 11: *Curtobacterium* sp.; 36: *Pantoea ananatis*.

En los resultados del análisis de los parámetros vegetativos a los 21 dpi de las plantas de *S. lycopersicum* inoculadas y sin inocular, se pudo observar que las plantas de *S. lycopersicum* inoculadas con el tratamiento 2 y 3 las plantas aumentaron su tallo en más del 100% con respecto al control (**Figura 49**). Mientras que, para la elongación de la raíz, el tratamiento 2 presentó un crecimiento de 88% (**Figura 50**) en comparación con el control.

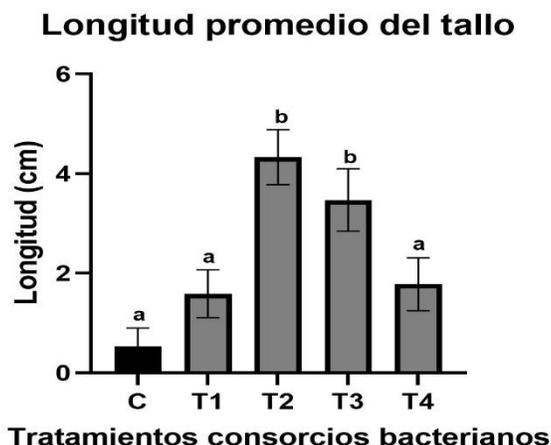


Figura 49. Longitud promedio del tallo de las plantas de *S. lycopersicum* inoculadas con consorcios bacterianos de *S. nothohybrida*. C: Control, T1: 1: *Pseudomonas putida*; 9: AN 10-2 MI1; 11: *Curtobacterium* sp.; 32: PDA 10-2 MI2, 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis*., T2: 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis* , T3: 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*, y T4: 1: *Pseudomonas putida*; 11: *Curtobacterium* sp.; 36: *Pantoea ananatis*. Las barras representan el promedio de 10 plantas con su respectiva barra de error.

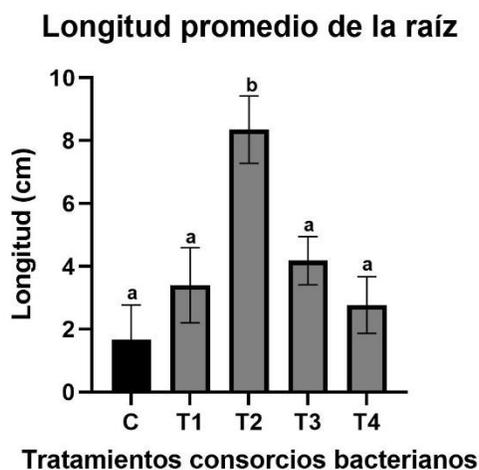


Figura 50. Longitud promedio de raíz de las plantas de *S. lycopersicum* inoculadas con consorcios bacterianos de *S. nothohybrida* C: Control, T1: 1: *Pseudomonas putida*; 9: AN 10-2 MI1; 11: *Curtobacterium* sp.; 32: PDA 10-2 MI2, 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis*., T2: 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis*, T3: 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*, y T4: 1: *Pseudomonas putida*; 11: *Curtobacterium* sp.; 36: *Pantoea ananatis*. Las barras representan el promedio de 10 plántulas con su respectiva barra de error.

8.4. Determinación de la producción de sideróforos

La Figura 51 presenta los aislados bacterianos con la capacidad de producir sideróforos. De los 11 aislados bacterianos el 100% fueron positivos al observarse la presencia de un halo de coloración amarilla alrededor de la colonia.

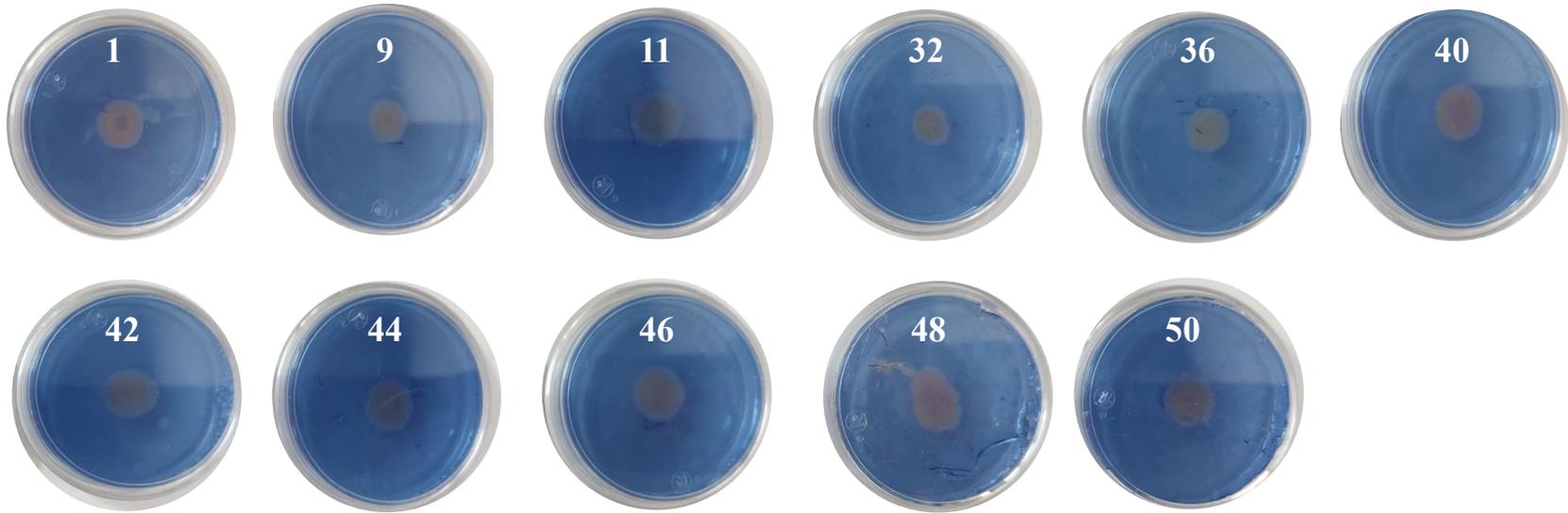


Figura 51. Producción de sideróforos de los aislados bacterianos de *S. nothohybrida* 1: *Pseudomonas putida*; 9: AN 10-2 MI1; 11: *Curtobacterium* sp.; 32: PDA 10-2 MI2, 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 42: PDA 10-2 MI10; 44: *Paenibacillus* sp.; 46: *Pantoea agglomerans*; 48: *Burkholderia* sp.; 50: *Paenibacillus taichungensis*.

8.5. Efecto de los aislados bacterianos de *S. nothohybrida* sobre el crecimiento del hongo *B. cinerea*.

Se observó la actividad antifúngica contra el fitopatógeno *B. cinerea*. De 11 aislados seleccionados, 5 mostraron diferentes grados de efecto antagónico contra este hongo fitopatógeno, uno inhibiendo el crecimiento del mismo – *Pseudomonas kribbensis* (40) y los otros 3: *Pseudomonas putida* (1), *Curtobacterium* sp (11), *Paenibacillus* sp. (44) y *Burkholderia* sp. (48) manteniendo el crecimiento del hongo al margen de la bacteria en comparación a lo que sucede con otras bacterias, en las cuales el micelio puede crecer sobre la bacteria (**Figura 52**). Estos aislados podrían ser candidatos para realizar un ensayo *in planta*.

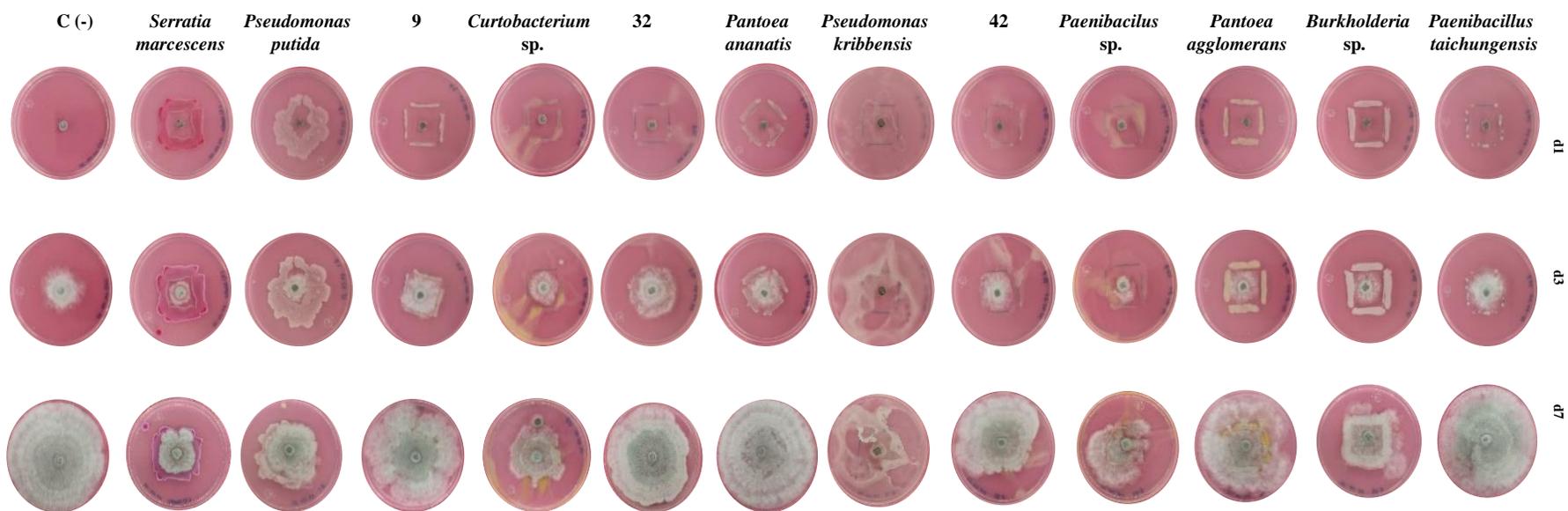


Figura 52. Efecto antagónico de aislados bacterianos de *S. nothohybrida* sobre el crecimiento micelial de *B. cinerea*. d1: día 1; d3: día 3; d7: día 7

8.6. Identificación molecular de los aislados más representativos de *S. nothohybrida*

Con base en los resultados obtenidos en los experimentos de promoción del crecimiento vegetal, se tomó la decisión de identificar los aislados más representativos. Con las secuencias obtenidas y el análisis tipo BLAST, los aislados mostraron identidad con los géneros mostrados en la Tabla 8.

Tabla 8. Identificación molecular de los aislados bacterianos de *S. nothohybrida*

#	pb	ID	Porcentaje de cobertura	Porcentaje de identidad
36	546	<i>Pantoea ananatis</i> .	99%	87%
40	998	<i>Pseudomonas kribbensis</i>	100%	100%
46	608	<i>Pantoea agglomerans</i>	100%	100%
48	655	<i>Burkholderia</i> sp	99%	98.77%
50	478	<i>Paenibacillus taichungensis</i> .	100%	99.79%

9. DISCUSIÓN

La agricultura es una de las actividades antropogénicas principales para el desarrollo de la sociedad; la agronomía convencional se ha caracterizado por el uso excesivo de fertilizantes y pesticidas químicos para lograr aumentar el rendimiento y cumplir el abastecimiento de alimentos de una población en aumento; no obstante, esto ha contribuido a la degradación de los suelos, la contaminación del agua y la alteración de las comunidades microbianas (Tilman *et al.*, 2002). En este sentido, diferentes organismos internacionales han buscado estrategias socialmente responsables para mitigar el daño ambiental; como alternativa al uso excesivo de agroquímicos, los agricultores han adoptado el uso de microorganismos benéficos para mejorar el crecimiento y la salud de las plantas (Terry Alfonso *et al.*, 2005; Bashan *et al.*, 2014; Trivedi *et al.*, 2017). Dentro de estos microorganismos promotores del crecimiento vegetal podemos encontrar rizobacterias pertenecientes a diferentes géneros como *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Pantoea*, *Bacillus*, *Azospirillum* (Ahemad y Kibret, 2014).

En el presente trabajo, se utilizaron once aislados bacterianos, aislados y caracterizados de tejidos de *S. nothohybrida*, para evaluar su capacidad promotora del crecimiento vegetal. En el trabajo realizado por Torreblanca (2017), se identificaron 3 de los 11 aislados, mostrando identidad con 1: *Pseudomonas putida*; 11: *Curtobacterium* sp.; y 44: *Paenibacillus* sp. En este proyecto, se identificaron molecularmente los aislados que presentaron un incremento en el desarrollo de las plantas de tomate, perteneciendo a los siguientes géneros bacterianos: 36: *Pantoea ananatis*; 40: *Pseudomonas kribbensis*; 46:

Pantoea agglomerans; 48: *Burkholderia* sp. Y 50: *Paenibacillus taichungensis*. Los aislados 9: AN 10-2 MI 1, 32: PDA 10-2 MI2 y 42: PDA 10-2 MI10, no presentaron diferencias significativas, por lo cual no se identificaron en el presente trabajo.

Con base en los resultados, observamos un efecto positivo en la germinación y el desarrollo vegetativo en plantas de tomate inoculadas con aislados bacterianos de *S. nothohybrida*.

Estos resultados guardan relación con Santillana *et al.*, (2005), quienes señalan que endófitos de haba pertenecientes al género *Rhizobium* obtuvieron un 100% en la germinación de semillas de *S. lycopersicum*. Otro trabajo comparable, en el que evaluaron diferentes endófitos en plántulas de tomate, es el de Luna Martínez *et al.*, (2013) quienes reportan incrementos del 14% en altura de la plántula utilizando *Bacillus megaterium*.

Nuestro experimento realizado en la fase inicial no mostró aumento en los parámetros evaluados, acorde con lo que menciona Noh *et al.*, (2014) en el cual no hubo diferencias significativas en plantas de tomate inoculadas con endófitos provenientes de chile habanero y se menciona que esto podría deberse a un factor importante; generalmente las plantas de tomate se fertilizan entrando a la etapa vegetativa 1, en la cual los requerimientos para su desarrollo vegetativo son mayores, mientras que en una etapa inicial la planta no requiere nutrimentos adicionales para el establecimiento de la misma.

En el ensayo realizado en la fase vegetativa I, las plantas de *S. lycopersicum* tratadas con endófitos bacterianos de *S. nothohybrida* presentaron un incremento en los parámetros vegetativos en comparación con las plantas control. Estos resultados guardan relación con Agarwal *et al.*, (2020), quienes señalan un incremento del 43,2% en la longitud del tallo en plantas de tomate inoculadas con *Bacillus velezensis*; sin embargo, en lo que no concuerda nuestro estudio con el de los autores es en el incremento en el tamaño de raíz, mientras que Daza-Martínez *et al.*, (2022) señala un incremento del 40% en la longitud de las raíces de plantas de tomate inoculadas con *Arthrobacter*.

Los efectos positivos encontrados en los diferentes parámetros vegetativos evaluados por efecto de los aislados bacterianos posiblemente estén relacionados con la capacidad que tienen para solubilizar fosfatos, producir auxinas y sintetizar trehalosa (Torreblanca, 2017).

Adicionalmente, diversos estudios han reportado que el género *Pseudomonas* son las bacterias dominantes en las BPCV para diversos cultivos (Qessaoui *et al.*, 2019). En nuestra investigación, el aislado *P. kribbensis*, mostró una mejoría en el crecimiento de las plantas de tomate, además de la producción de sideróforos y la inhibición del crecimiento micelial de *B. cinerea* (Ahmad *et al.*, 2008).

Por otro lado, las especies de *Burkholderia* guardan relación simbiótica con las plantas, funcionando como componentes colonizadores de plantas (Castanheira *et al.*, 2016). Algunas especies dentro de este género bacteriano poseen la capacidad de fijar nitrógeno y se ha asociado a la mejoría en la absorción de este nutriente en plantas de maíz (Estrada-De los Santos *et al.*, 2001) y de tomate; no obstante, aunque nuestro aislado mejoró significativamente las plantas de *S. lycopersicum*, no presentó la capacidad de fijar nitrógeno (Torreblanca, 2017), por lo que no podemos asociar la mejoría a esta característica, si no a otras reportadas como la producción de ácido indolacético e incluso a otras fitohormonas que no se observaron.

Diversos estudios han demostrado que bacterias pertenecientes a géneros como *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Burkholderia* poseen atributos PCV que mejoran el rendimiento y el crecimiento de diversos cultivos hortícolas (Castanheira *et al.*, 2016; Park *et al.*, 2017). En consecuencia, implementamos la aplicación de consorcios desarrollados a partir de las bacterias seleccionadas, obteniendo resultados positivos en condiciones in vitro y en maceta; sin embargo, es necesario realizar más experimentos bajo diferentes condiciones.

El hongo patógeno *Botrytis cinerea* infecta las plantas causando la enfermedad del moho gris. Es una enfermedad devastadora del tomate que provoca graves pérdidas económicas en muchos países del mundo. Debido a ello, realizamos una prueba para determinar si nuestros aislados presentaban capacidad de inhibir el crecimiento del hongo. Se obtuvieron cinco aislados con resultados positivos, siendo el aislado *Pseudomonas kribbensis* el que inhibió el crecimiento del hongo en su totalidad. Se ha informado que algunas *Pseudomonas* spp. lograron con éxito sus funciones de control biológico al producir algunos metabolitos bioactivos, como lipopéptidos, 2,4-diacetilfloroglucinol (DAPG) y ácido fenazina-1-carboxílico (PCA) (Montesinos, 2007; Weller, 2007; Verhagen *et al.*, 2010). Por otro lado, el aislado *Paenibacillus* sp. (44), disminuyó el crecimiento del micelio; en un estudio realizado recientemente, se reportó una especie de *Paenibacillus*, la cual presenta actividad antagónica hacia *B. cinerea* gracias a la producción de compuestos de tipo fusaricidina (Tsai *et al.*, 2022).

Hacemos relevancia al hecho de que no hay reportes de cultivos de interés agronómico inoculadas con endófitos provenientes de *Selaginella nothohybrida*, aunque en la literatura ya se han reportado los géneros identificados de los aislados seleccionados.

Inocular a los cultivos con bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV) reduce sustancialmente el uso de fertilizantes sintéticos y los impactos negativos al suelo, incrementa el crecimiento y rendimiento de los cultivos, contribuyendo en la seguridad alimentaria, en la producción sustentable y en el menor riesgo de la salud humana (Odoh, 2017).

10. CONCLUSIONES

S. nothohybrida es una fuente potencial de microorganismos benéficos para realizar aplicaciones en cultivos de interés agronómico.

Los aislados *Pseudomonas putida* (1); *Curtobacterium* sp. (11), *Pseudomonas kribbensis* (40) y *Paenibacillus taichungensis* (50), mostraron actividad promotora del crecimiento vegetal en plantas de *S. lycopersicum*.

Pseudomonas kribbensis (40), *Pseudomonas putida* (1), *Curtobacterium* sp (11), *Paenibacillus* sp. (44) y *Burkholderia* sp. (48), poseen efecto antagónico contra el hongo patógeno *B. cinerea*.

11. PERSPECTIVAS

- Evaluar el efecto de los mejores aislados bacterianos en plantas sometidas a diferentes condiciones de estrés biótico y abiótico.
- Realizar pruebas con consorcios bacterianos en diferentes etapas fenológicas de *S. lycopersicum*.
- Identificar los compuestos que producen las bacterias con actividad antifúngica frente a *B. cinerea*.

12. BIBLIOGRAFÍA

Adams, R. P., Kendall, E., & Kartha, K. K. (1990). Comparison of free sugars in growing and desiccated plants of *Selaginella lepidophylla*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 18(2–3): 107–110.

Agarwal, H., Dowarah, B., Baruah, P. M., Bordoloi, K. S., Krishnatreya, D. B., & Agarwala, N. (2020). Endophytes from *Gnetum gnemon* L. can protect seedlings against the infection of phytopathogenic bacterium *Ralstonia solanacearum* as well as promote plant growth in tomato. *Microbiological Research*, 238(126503): 126503.

Ahemad, M., & Khan, M. S. (2012). Effects of pesticides on plant growth promoting traits of *Mesorhizobium* strain MRC4. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 11(1): 63–71.

Ahemad, M., & Kibret, M. (2014). Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *Journal of King Saud University. Science*, 26(1): 1–20.

Ahmad, F., Ahmad, I., & Khan, M. S. (2008). Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbiological Research*, 163(2): 173–181.

Alejo-Jacuinde, G., González-Morales, S. I., Oropeza-Aburto, A., Simpson, J., & Herrera-Estrella, L. (2020). Comparative transcriptome analysis suggests convergent evolution of desiccation tolerance in *Selaginella* species. *BMC Plant Biology*, 20(1): 468.

Avonce, N., Mendoza-Vargas, A., Morett, E., & Iturriaga, G. (2006). Insights on the evolution of trehalose biosynthesis. *BMC Evolutionary Biology*, 6(1): 109.

Bagwell, C. E., Piceno, Y. M., Ashburne-Lucas, A., & Lovell, C. R. (1998). Physiological diversity of the rhizosphere diazotroph assemblages of selected salt marsh grasses. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(11): 4276–4282.

Bashan, Y., & De-Bashan, L. E. (2005). Plant growth-promoting soil plant growth-promoting. In: *Encyclopedia of soils in the environment*, 1: 103-115. 2200 p.

Bashan, Yoav, de-Bashan, L. E., Prabhu, S. R., & Hernandez, J.-P. (2014). Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998–2013). *Plant and Soil*, 378(1–2): 1–33.

Bashan, Yoav, & Holguin, G. (1998). Proposal for the division of plant growth-promoting rhizobacteria into two classifications: biocontrol-PGPB (plant growth-promoting bacteria) and PGPB. *Soil Biology & Biochemistry*, 30(8–9): 1225–1228.

Basurto, S. M., Núñez, B. A., Pérez, L. R.R y Hernández, R. O. A. (2008). Fisiología del estrés ambiental en plantas. *Synthesis*, 48: 1 – 5.

Bhattacharyya, P. N., & Jha, D. K. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(4): 1327–1350.

Bishop, P. E., & Joerger, R. D. (1990). Genetics and molecular biology of alternative nitrogen fixation systems. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 41(1): 109–125.

Biswal, B., Joshi, P. N., Raval, M. K., & Biswal, U. C. (2011). Photosynthesis, a global sensor of environmental stress in green plants: stress signalling and adaptation. *Current Science*, 101(1): 47–56.

Blasco Pla, R., & Castillo Rodríguez, F. (2014). Acerca de la biotecnología ambiental. *Arbor*, 190(768): a157.

Bolívar-Anillo, H. J., Contreras-Zentella, M. L., & Teherán-Sierra, L. G. (2016). Burkholderia tropica UNA BACTERIA CON GRAN POTENCIAL PARA SU USO EN LA AGRICULTURA. *Tip revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 19(2): 102–108.

Bonilla Buitrago, R. R., González de Bashan, L. E., Pedraza, R. O., Estrada Bonilla, G. A., & Pardo Díaz, S. (2021). *Bacterias promotoras de crecimiento vegetal en sistemas de agricultura sostenible* (1.ª ed., Pp. 1-188). Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Agrosavia).

Castanheira, N., Dourado, A. C., Kruz, S., Alves, P. I. L., Delgado-Rodríguez, A. I., Pais, I., Semedo, J., Scotti-Campos, P., Sánchez, C., Borges, N., Carvalho, G., Barreto Crespo,

M. T., & Fareleira, P. (2016). Plant growth-promoting *Burkholderia* species isolated from annual ryegrass in Portuguese soils. *Journal of Applied Microbiology*, 120(3): 724–739.

Castillo-Texta, M. G. (2020). Aislamiento y caracterización de bacterias endófitas de la planta de resurrección *Selaginella lepidophylla* en estado hidratado y deshidratado: posible implicación en la promoción del crecimiento vegetal y tolerancia a la desecación. Tesis en Maestría en Biotecnología. Centro de Investigación en Biotecnología. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Cuernavaca, Morelos, México. Pp. 94.

Centro de Estudios para el Desarrollo Rural Sustentable y Soberanía Alimentaria, CEDRSSA. (2020). Investigación: *Manejo Integrado de Plagas, una alternativa ante el uso de los plaguicidas*. Palacio Legislativo de San Lázaro. Ciudad de México, México: 26.

Chaudhary, J., Alisha, A., Bhatt, V., Chandanshive, S., Kumar, N., Mir, Z., Kumar, A., Yadav, S. K., Shivaraj, S. M., Sonah, H., & Deshmukh, R. (2019). Mutation breeding in tomato: Advances, applicability and challenges. *Plants*, 8(5): 128.

Chávez-Díaz, I. F., Zelaya Molina, L. X., Cruz Cárdenas, C. I., Rojas Anaya, E., Ruíz Ramírez, S., & De los Santos Villalobos, S. (2020). Consideraciones sobre el uso de biofertilizantes como alternativa agro- biotecnológica sostenible para la seguridad alimentaria en México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 11(6): 1423–1436.

Compant, S., Duffy, B., Nowak, J., Clément, C., & Barka, E. A. (2005). Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(9): 4951–4959.

Compant, S., Mitter, B., Colli-Mull, J. G., Gangl, H., & Sessitsch, A. (2011). Endophytes of grapevine flowers, berries, and seeds: identification of cultivable bacteria, comparison with other plant parts, and visualization of niches of colonization. *Microbial Ecology*, 62(1): 188–197.

Daza-Martínez, Y. M., Almaraz-Suarez, J. J. E., Rodríguez-Mendoza, M. N., Angulo-Castro, A., & Silva-Rojas, H. V. (2018). Aislamiento de rizobacterias asociadas a tomate (*Solanum lycopersicum* L.) y su potencial para promover crecimiento vegetal. *Informacion Técnica Económica Agraria*, 118(3): 345–360.

Dean, D.R. & Jacobson, M.R. (1992). Biochemical genetics of nitrogenase. In: Stacey, G., Burris, R.H., Evans, H. J. *Biological Nitrogen Fixation*. Chapman and Hall, New York, pp. 763-834.

de Melo Pereira, G. V., Magalhães, K. T., Lorenzetti, E. R., Souza, T. P., & Schwan, R. F. (2012). A multiphasic approach for the identification of endophytic bacterial in strawberry fruit and their potential for plant growth promotion. *Microbial Ecology*, 63(2): 405–417.

De Rybel, B., Mähönen, A. P., Helariutta, Y., & Weijers, D. (2016). Plant vascular development: from early specification to differentiation. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 17(1): 30–40.

Döbereiner, J., Urquiaga, S., & Boddey, R. M. (1995). Alternatives for nitrogen nutrition of crops in tropical agriculture. *Fertilizer Research*, 42(1–3): 339–346.

Dodd, I. C., Zinovkina, N. Y., Safronova, V. I., & Belimov, A. A. (2010). Rhizobacterial mediation of plant hormone status. *The Annals of Applied Biology*, 157(3): 361–379.

Duca, M. (2015). *Plant Physiology* Springer International Publishing.

Estrada-De Los Santos, P., Bustillos-Cristales, R., & Caballero-Mellado, J. (2001). *Burkholderia*, a genus rich in plant-associated nitrogen fixers with wide environmental and geographic distribution. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(6): 2790–2798.

Fahad, S., Hussain, S., Matloob, A., Khan, F. A., Khaliq, A., Saud, S., Hassan, S., Shan, D., Khan, F., Ullah, N., Faiq, M., Khan, M. R., Tareen, A. K., Khan, A., Ullah, A., Ullah, N., & Huang, J. (2015). Phytohormones and plant responses to salinity stress: a review. *Plant Growth Regulation*, 75(2): 391–404.

Gerszberg, A., Hnatuszko-Konka, K., Kowalczyk, T., & Kononowicz, A. K. (2015). Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) in the service of biotechnology. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 120(3): 881–902.

Glick, B. R. (2012). Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica*, Article ID 963401.

González, H. (2014). Specialization on a global scale and agrifood vulnerability: 30 years of export agriculture in Mexico. *Development Studies Research*, 1(1): 295–310.

Grobelak, A., Napora, A., & Kacprzak, M. (2015). Using plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) to improve plant growth. *Ecological Engineering*, 84: 22–28.

Gull, A., Ahmad Lone, A., & Ul Islam Wani, N. (2019). Biotic and Abiotic Stresses in Plants. En A. B. de Oliveira (Ed.), *Abiotic and Biotic Stress in Plants*. IntechOpen.

Haifa Chemicals. (2014). Recomendaciones nutricionales para tomate en campo abierto, acolchado o túnel e invernadero (en invernadero) (en línea). Miami, Estados Unidos de América. 39 p.

Ibort, P., Molina, S., Núñez, R., Zamarreño, Á. M., García-Mina, J. M., Ruiz-Lozano, J. M., Orozco-Mosqueda, M. D. C., Glick, B. R., & Aroca, R. (2017). Tomato ethylene sensitivity determines interaction with plant growth-promoting bacteria. *Annals of Botany*, 120(1): 101–122.

Kapilan, R. (2015). Promotion of vegetable seed germination by soil borne bacteria. *Scholars Research Library*, 7 (8):17-20.

Khan, A.A., Jilani G, Akhtar MS, Naqvi SMS, Rasheed M. (2009). Phosphorus solubilizing bacteria: occurrence, mechanisms and their role in crop production. *J Agric Biol Sci*, 1:48–58.

Khan, M.S., Zaidi, A., Wani, P.A., Oves, M. (2009). Role of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in the Remediation of Metal Contaminated Soils: A Review. In: Lichtfouse, E. (eds) *Organic Farming, Pest Control and Remediation of Soil Pollutants. Sustainable Agriculture Reviews*, vol 1. Springer, Dordrecht.

Kim, J., & Rees, D. C. (1994). Nitrogenase and biological nitrogen fixation. *Biochemistry*, 33(2): 389–397.

Kimura, S., & Sinha, N. (2008). Tomato (*Solanum lycopersicum*): A Model Fruit-Bearing Crop. *CSH Protocols*, 2008(11): db.emo105.

Kloepper, J. (1993). Plant growth promoting rhizobacteria as biological control agents. *Soil Microbial Ecology: Applications in Agricultural and Environmental Management*. 274.

Ladha, J. K., de Bruijn, F. J., & Malik, K. A. (1997). Introduction: assessing opportunities for nitrogen fixation in rice-a frontier Project. *Plant and soil*, 194(1/2): 1–10.

Lodewyckx C., Mergeay M., Vangronsveld J., Clijsters H., Van der Lelie D. (2002). Isolation, characterization, and identification of bacteria associated with the zinc hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* subsp. *calaminaria*. *International Journal of Phytoremediation*, 4 (2): 101–115.

López, M. (2017). Manual técnico del cultivo de tomate (*Solanum Lycopersicum*). INTA.

Lucas-Bautista, J. A., Bautista-Baños, S., Ventura-Aguilar, R. I., & Hernández-López, M. (2022). Quitinasas en plantas y posible uso como biomarcadores para el diseño de biosensores en la detección de hongos fitopatógenos. *Revista Mexicana De Ciencias Agrícolas*, 13(4): 701–713.

Lugtenberg, B., & Kamilova, F. (2009). Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annual Review of Microbiology*, 63(1): 541-556.

Luna Martínez, L., Martínez Peniche, R. A., Hernández Iturriaga, M., Arvizu Medrano, S. M., & Pacheco Aguilar, J. R. (2013). Caracterización de rizobacterias aisladas de tomate y su efecto en el crecimiento de tomate y pimiento. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 36(1): 63-69.

Maheshwari, D. K., Dheeman, S., & Agarwal, M. (2015). Phytohormone-Producing PGPR for Sustainable Agriculture. En *Bacterial Metabolites in Sustainable Agroecosystem* (pp. 159–182). Springer International Publishing.

Marchesi, J.R., Sato, T., Weightman, A.J., Martin, T.A., Fry, J.C., Hiom, S.J. and Wade, W. G. (1998). Design and evaluation of useful bacterium-specific PCR primers that amplify genes coding for bacterial 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(2): 795 –799.

Ministerio de Desarrollo Rural y Tierras. (2010). Manual técnico de tomate. P. 96.

Méndez-Espinoza, Claudia, & Vallejo Reyna, Miguel Ángel. (2019). Mecanismos de respuesta al estrés abiótico: hacia una perspectiva de las especies forestales. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 10(56): 33-64.

Miliute, Inga & Buzaitė, Odeta & Baniulis, Danas & Stanys, Vidmantas. (2015). Bacterial endophytes in agricultural crops and their role in stress tolerance: A review. *Zemdirbyste-Agriculture*, 102: 465-478.

Mohamed Mahmoud, F., Krimi, Z., Maciá-Vicente, J. G., Brahim Errahmani, M., & Lopez-Llorca, L. V. (2017). Endophytic fungi associated with roots of date palm (*Phoenix dactylifera*) in coastal dunes. *Revista Iberoamericana de Micología*, 34(2): 116–120.

Montesinos, E. (2007). Antimicrobial peptides and plant disease control. *FEMS Microbiology Letters*, 270(1): 1-11.

Moreno, R. A., Carda, M. V., Reyes, C. J. L., Vásquez, A. J., y Cano R. P. (2018). Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal: una alternativa de biofertilización para la agricultura sustentable. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 20 (1): 68 – 83.

Muneera, D. F. A., Amr, F., Kotb, A. A., Fahad, A., Ahmed, M. E., Emad, E., Mohamed, H., Marc, S., Saad, E., Naeem, K., Yaser, M. H. y Khaled, A. A. (2020). Isolation and Characterization of Plant Growth Promoting Endophytic Bacteria from Desert Plants and Their Application as Bioinoculants for Sustainable Agriculture. *Agronomy (Basel, Switzerland)*, 10(9): 1325.

Muñoz Torres, P.; Cárdenas, S.; Arismendi Macuer, M.; Huanacuni, N.; Huanca-Mamani, W.; Cifuentes, D.; Sepúlveda Chavera, G.F. (2021). The Endophytic *Pseudomonas* sp. S57 for Plant-Growth Promotion and the Biocontrol of Phytopathogenic Fungi and Nematodes. *Plants*, 10(8): 1531.

Noh Medina, J., Yam Chimal, C., Borges Gómez, L., Zúñiga Aguilar, J. J., & Godoy Hernández, G. (2014). Aislados bacterianos con potencial biofertilizante para plántulas de tomate. *Terra Latinoamericana*, 32(4): 273-281.

Nübel, U., Engelen, B., Felske, A., Snaidr, J., Wieshuber, A., Amann, R. I., Ludwig, W., & Backhaus, H. (1996). Sequence heterogeneities of genes encoding 16S rRNAs in *Paenibacillus polymyxa* detected by temperature gradient gel electrophoresis. *Journal of bacteriology*, 178(19): 5636–5643.

Odoh, C. K. (2017). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): a bioprotectant bioinoculant for sustainable agrobiolgy. A review. *Int J Adv Res Biol Sci*, 4(5): 123-142.

Organización de las Naciones Unidas. (1992). Convención marco de las Naciones Unidas sobre el cambio climático. P. 3.

Pampurova, S., Vershooten, K., Avonce, N. and Van Dijck, P. (2014). Functional screening of a cDNA library from the desiccation-tolerant plant *Selaginella lepidophylla* in yeast mutants identifies trehalose biosynthesis genes of plant and microbial origin. *Journal of Plant Research*, 127(6): 803 – 813.

Pandey, P., Irulappan, V., Bagavathiannan, M. V., & Senthil-Kumar, M. (2017). Impact of Combined Abiotic and Biotic Stresses on Plant Growth and Avenues for Crop Improvement by Exploiting Physio-morphological Traits. *Frontiers in Plant Science*, 8: 537.

Park, Y.-S., Dutta, S., Ann, M., Raaijmakers, J. M., & Park, K. (2015). Promotion of plant growth by *Pseudomonas fluorescens* strain SS101 via novel volatile organic compounds. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 461(2): 361–365.

Passari, A. K., Upadhyaya, K., Singh, G., Abdel-Azeem, A. M., Thankappan, S., Uthandi, S., Hashem, A., Abd Allah, E. F., Malik, J. A., As, A., Gupta, V. K., Ranjan, S., & Singh, B. P. (2019). Enhancement of disease resistance, growth potential, and photosynthesis in tomato (*Solanum lycopersicum*) by inoculation with an endophytic actinobacterium, *Streptomyces thermocarboxydus* strain BPSAC147. *PloS One*, 14(7): e0219014.

Patten, C. L., & Glick, B. R. (1996). Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. *Canadian Journal of Microbiology*, 42(3): 207–220.

Qessaoui, R., Bouharroud, R., Furze, J. N., El Aalaoui, M., Akroud, H., Amarraque, A., Van Vaerenbergh, J., Tahzima, R., Mayad, E. H., & Chebli, B. (2019). Applications of new rhizobacteria *Pseudomonas* isolates in agroecology via fundamental processes complementing plant growth. *Scientific Reports*, 9(1): 12832.

Ramírez, R. D. (2010). Bacterias endofíticas aisladas de fresa (*Fragaria x ananassa* Dutch.) y su impacto sobre plantas de interés agrícola. Tesis de Maestría en Ciencias Químico-biológicas. Instituto Politécnico Nacional. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Departamento de Microbiología. México, D.F. Pp. 66.

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.

Rodríguez, H., Fraga, R., Gonzalez, T., & Bashan, Y. (2006). Genetics of phosphate solubilization and its potential applications for improving plant growth-promoting bacteria. *Plant and Soil*, 287(1): 15-21.

Rojas-Tapias, D., Moreno-Galván, A., Pardo-Díaz, S., Obando, M., Rivera, D., & Bonilla, R. (2012). Effect of inoculation with plant growth-promoting bacteria (pgpb) on amelioration of saline stress in maize (*Zea mays*). *Applied Soil Ecology*, 61: 264-272.

Rosenblueth, M., & Martínez-Romero, E. (2006). Bacterial endophytes and their interactions with hosts. *Molecular Plant-Microbe Interactions: MPMI*, 19(8): 827–837.
Sakakibara H. (2006). Cytokinins: activity, biosynthesis, and translocation. *Annual review of plant biology*, 57(1): 431–449.

Santillana, N., Arellano, C., & Zúñiga, D. (2005). Capacidad del *Rhizobium* de promover el crecimiento en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* miller). *Ecología Aplicada*, 4(1-2): 47-50.

Secks, M. E., Richardson, M. D., West, C. P., Marlatt, M. L. and Murphy, J. B. (2009). Role of trehalose in desiccation tolerance of endophyte-infected tall fescue. In *Horticultural Studies*, 134-138.

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. (2019). México: El sector agropecuario ante el desafío del cambio climático. Volumen I.

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, SIAP (2019). Panorama agroalimentario 2019.

Sha Valli Khan, P. S., Nagamallaiah, G. V., Dhanunjay Rao, M., Sergeant, K., & Hausman, J. F. (2014). Abiotic Stress Tolerance in Plants. *Emerging Technologies and Management of Crop Stress Tolerance*, 23–68.

Shao, H.-B., Chu, L.-Y., Jaleel, C. A., & Zhao, C.-X. (2008). Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants. *Comptes Rendus Biologies*, 331(3): 215–225.

Sharma, S. B., Sayyed, R. Z., Trivedi, M. H., & Gobi, T. A. (2013). Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *SpringerPlus*, 2(1): 587.

Shen, X., Hu, H., Peng, H., Wang, W., & Zhang, X. (2013). Comparative genomic analysis of four representative plant growth-promoting rhizobacteria in *Pseudomonas*. *BMC genomics*, 14: 271.

Smith K. P. & Goodman R. M. (1999). Host variation for interactions with beneficial plant-associated microbes. *Annual Review of Phytopathology*, 37: 473–491

Spaepen, S., Vanderleyden, J., & Remans, R. (2007). Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS microbiology reviews*, 31(4): 425–448.

Stevenson, F. J., & Cole, M. A. (1999). *Cycles of Soil: Carbon, Nitrogen, Phosphorus, Sulfur, Micronutrients*, 2nd Edition. Wiley, New York, USA. 427 pp.

Suárez, R. R., Raya, P. J. C. e Iturriaga, G. (2015). La trehalosa: un azúcar osmoprotector con capacidad de señalización. *Ciencia y tecnología Agropecuaria*, 13 (1): 1 – 13.

Tamburino, L., Bravo, G., Clough, Y., & Nicholas, K. A. (2020). From population to production: 50 years of scientific literature on how to feed the world. *Global Food Security*, 24: 100346.

Terry Alfonso, E., Leyva, Á., & Hernández, A. (2005). Microorganismos benéficos como biofertilizantes eficientes para el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill). *Revista Colombiana de Biotecnología*, 7(2): 47–54.

Tilman, David & Cassman, Kenneth & Matson, Pamela & Naylor, Rosamond & Polasky, Stephen. (2002). *Review article Agricultural sustainability and intensive production practices*, *Nature*, 418: 671-677.

Trivedi, P., Schenk, P.M., Wallenstein, M.D., Singh, B.K. (2017). Tiny microbes, big yields: enhancing food crop production with biological solutions. *Microbial Biotechnology*, 10(5): 999–1003.

Tzin, V., Fernandez-Pozo, N., Richter, A., Schmelz, E. A., Schoettner, M., Schäfer, M., Ahern, K. R., Meihls, L. N., Kaur, H., Huffaker, A., Mori, N., Degenhardt, J., Mueller, L. A., & Jander, G. (2015). Dynamic Maize Responses to Aphid Feeding Are Revealed by a Time Series of Transcriptomic and Metabolomic Assays. *Plant Physiology*, 169(3): 1727–1743.

Torreblanca, C. M. del P. (2017). Aislamiento e identificación de endófitos de la planta de resurrección *Selaginella nothohybrida*. Tesis en Maestría en Biotecnología. Centro de Investigación en Biotecnología. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Cuernavaca, Morelos, México. Pp. 63.

Trivedi, P., Schenk, P. M., Wallenstein, M. D., & Singh, B. K. (2017). Tiny Microbes, Big Yields: enhancing food crop production with biological solutions. *Microbial Biotechnology*, 10(5): 999–1003.

Trognitz F., Piller K., Nagel M., Borner A., Bacher C.-F., Rechlik M., Mayrhofer H., Sessitsch A. (2014). Isolation and characterization of endophytes isolated from seeds of different plants and the application to increase juvenile development. *Tagung der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs*, 65: 25–28.

Tsai, S. H., Chen, Y. T., Yang, Y. L., Lee, B. Y., Huang, C. J., & Chen, C. Y. (2022). The Potential Biocontrol Agent *Paenibacillus polymyxa* TP3 Produces Fusaricidin-Type Compounds Involved in the Antagonism Against Gray Mold Pathogen *Botrytis cinerea*. *Phytopathology*, 112(4): 775-783.

Tuteja, N., & Sopory, S. K. (2008). Chemical signaling under abiotic stress environment in plants. *Plant Signaling & Behavior*, 3(8): 525–536.

Vargas-González, Gabriela, Alvarez-Reyna, Vicente de Paul, Guigón-López, César, Cano-Ríos, Pedro, & García-Carrillo, Mario. (2019). Impacto ambiental por uso de plaguicidas en tres áreas de producción de melón en la Comarca Lagunera, México. *CienciaUAT*, 13(2): 113-127

Vargas, M., Rocha, M., Iturriaga, P., Jiménez, S. y Bertozzi, G. (2009). Estudio del estrés abiótico de la planta de “resurrección” *Selaginella lepidophylla*. Métodos de investigación. Colegio Marymount. 1 – 17.

Vegetal, F., Squeo, F. A., Cardemil, L., Jordán, M., & Casaretto, J. (s/f). *Capítulo XV Hormonas y Reguladores del Crecimiento: Auxinas, Giberelinas y Citocininas*. Edu.ar. <https://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/Auxinasgiberelinasycitocininas.pdf>

Verhagen, B. W., Trotel-Aziz, P., Couderchet, M., Höfte, M., & Aziz, A. (2010). *Pseudomonas* spp. - induced systemic resistance to *Botrytis cinerea* is associated with induction and priming of defence responses in grapevine. *Journal of Experimental Botany*, 61(1): 249-260.

Verma, V., Joshi, K., Mazumdar, B. (2012). Study of Siderophore Formation in Nodule-Forming Bacterial Species. *Research Journal of Chemical Sciences*, 2(11): 26-29.

Vijayakumar, V. (2018). Symbiotic tripartism in the model plant family of legumes and soil sustainability. In *Legumes for Soil Health and Sustainable Management* (pp. 173–203). Springer Singapore.

Weller, D. M. (2007). *Pseudomonas* biocontrol agents of soilborne pathogens: looking back over 30 years. *Phytopathology*, 97(2): 250-256.

Wilson, K. (2001). Preparation of Genomic DNA from Bacteria. *Current Protocols in Molecular Biology*, 56(1): 2.4.1–2.4.5.

Yancey, P., Clark, M., Hand, S., Bowlus, R., & Somero, G. (1982). Living with water stress: evolution of osmolyte systems. *Science*, 217(4566): 1214–1222.

Yobi, A., Wone, B.W.M., Xu, W., Alexander, D.C., Guo, L., Ryals, J.A., Oliver, M.J. and Cushman, J.C. (2012). Comparative metabolic profiling between desiccation-sensitive and desiccation-tolerant species of *Selaginella* reveals insights into the resurrection trait. *The Plant Journal*, 72: 983-999.

Zahran, H. H. (2001). *Rhizobia* from wild legumes: diversity, taxonomy, ecology, nitrogen fixation and biotechnology. *J. Biotechnol*, 91: 143-153.

Zaidi, A., Khan, M. S., Saif, S., Rizvi, A., Ahmed, B., & Shahid, M. (2017). Role of nitrogen-fixing plant growth-promoting rhizobacteria in sustainable production of vegetables: Current perspective. In *Microbial Strategies for Vegetable Production* (pp. 49–79). Springer International Publishing.

Zhang, P., Jin, T., Sahu, S. K., Xu, J., Shi, Q., Liu, H., & Wang, Y. (2019). The distribution of tryptophan-dependent indole-3-acetic acid synthesis pathways in bacteria unraveled by large-scale genomic analysis. *Molecules*, 24(7): 1-14.

Zinniel, D. K., Lambrecht, P., Haris, B., Feng, Z., Kuczmarski, D., Higley, P., Ishimaru, C. A., Arunakumari, A., Barletta, R. G. and Vidaver, A. K. (2002). Isolation and characterization of endophytic colonizing bacteria from agronomic crops and prairie plants. *Applied and Environmental Microbiology*, 68 (5): 2198 – 2208.

13. ANEXOS

13.1. Composición de los medios de cultivo utilizados en la investigación

LB → 1L

Extracto de levadura: 5 g

Peptona de caseína: 10 g

Cloruro de sodio: 10 g

Agar: 15 g

PDA → 1L

Papa (limpia y en trozos): 200 g

Dextrosa: 10 g

Agar 18 g

Nota: Se pone con suficiente agua y al comenzar a hervir, se deja 20 minutos aproximadamente.

CAS → 1L

Solución I:

1. 0.06 g de CAS en 50 ml de agua destilada.
2. 0.0027 g de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ en 10 ml de HCl (10 mM).
3. 0.73 g de Hexa-Decil Trimetil Bromuro de Amonio (HDTMA) en 40 ml de agua destilada.
 - a. Mezclar la solución 1 con 9 ml de la solución 2; agregar la solución 3. Esterilizar y reservar.

Solución II: Minimal Media 9 (MM9):

- 15 g de KH_2PO_4
- 25 g de NaCl
- 50 g de NH_4Cl
- 500 ml de agua destilada.

Solución III: 20% de glucosa:

- 20 g de glucosa en 100 ml de agua destilada.
 - Esterilizar y reservar.

Preparación:

1. Agregar 100 ml de Solución II (MM9) a 750 ml de agua destilada. Ajustar pH a 6.8 con NaOH (5N).
2. Añadir 15 g de agar. Esterilizar y dejar enfriar a 50°C.
3. Mezclar 10 ml de Solución III en la Solución II previamente preparada.
4. Finalmente agregar suavemente 100 ml de Solución I.
5. Verter en placas.

13.2. Secuencias

>36 → *Pantoea* sp. (87%)

```
GAGAGTGGGAGAGGGGTGAGTGTGTGTGGAGATCTGCCATATAGAGGGAGATAACCTGTGGAA
ACGGTGTCTAATACCTTATAACCTCAAGAGACCAAAGAGGGAGACCTTCGGCCCTCTCTCTATC
ATATGAACCCATGTGGTTTTATATAATAGGCGGTGTAGTGCCCCCCTAGGACACTATCCCTATG
TGGTCTGAGAAGAAGACCACGCACTGTGGATCTGAGACACGGGCCAGACTCCTACGGGAGGGA
ACAGTGGAAAATATTGCACAGTGGGCGCAAGCCTGATGCACCCGTGCCGCGTGTATGAAAAAG
GTCTTCGGTTTTGTAAAGTACTTTCCGCGGAGAAGAGGGAGATGCGTTTAATAACCGCCTCTAGTG
ACTTTACCCGCAAAAAAAGCCCCGATAACTCCGTGCCCGCACCCGCGATTATACAGAGTGTGC
AAGCTTTAATCAAAATTAGTGGGCGTAAAGCACACGCGGGCGCTCTGTTAATTCATATGAAATC
TCCCCGGTCTTACCCTGAACACTGCATTTGAAACT
```

>46 → *Pantoea agglomerans, vagans* (100%)

```
GTCTGGGGATCTGCCGATAGAGGGGGATAACCACTGGAAACGGTGGCTAATACCGCATAACGT
CGCAAGACCAAAGAGGGGGACCTTCGGGCCTCTCACTATCGGATGAACCCAGATGGGATTAGCT
AGTAGGCGGGGTAATGGCCACCTAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCA
CACTGGAAGTGAACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATG
GGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTTC
AGCGGGGAGGAAGGCGGTGCGGTTAATAACCGCGCCGATTGACGTTACCCGCAGAAGAAGCAC
CGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGG
GCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTCTGTAAAGTCAGATGTGAAATCCCCGGGCTTAACCTGGGAAC
TGCATTTGAAACTGGCAGGCTTGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAA
ATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAA
```

>48 → *Burkholderia* sp. (98.77%)

```
AGTGCGAACGGGTGAGTAATACATCGGAACGTGTCCTGTAGTGGGGGATAGCCCGCGAAAG
CCGGATTAATACCGCATAACGATCTACGGAGGAAAGCGGGGGATCTTCGGACCTCGCGCTATAGG
GGCGGCCGATGGCAGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAAAGGCCTACCAAGGCGACGATCTGTAGCT
GGTCTGAGAGGACGACCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAG
CAGTGGGGAATTTTGGACAATGGGGGCAACCCTGATCCAGCAATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGC
CTTCGGGTTGTAAAGCACTTTTGTCCGGAAGAAAACCTTCGCTCCTAATATGGGTGGAGGATGA
CGGTACCGGAAGAATAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGC
GAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGCAGGCGGTCTGTAAAGACCGATGTGAAA
TCCCCGGGCTTAACCTGGGAAGTGCATTGGTGACTGGCAGGCTTTGAGTGTGGCAGAGGGAGGT
AGAATTCCACGTGTAGCAGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAATTGCGATGGMGAAGGCACC
CTCCTGGGYCAACACGGAA
```

>40 → *Pseudomonas kribbenis, glycinae, gozinkensis, allokribbensis* (100%)

GGTAGTGGGGGACAACGTTTCGAAAGGAACGCTAATACCGCATACGTCTACGGGAGAAAGCA
GGGGACCTTCGGGCCTTGCGCTATCAGATGAGCCTAGGTCCGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAAT
GGCTACCAAGGCGACGATCCGTAACCTGGTCTGAGAGGATGATCAGTCACACTGGAACCTGAGAC
ACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATC
CAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGTCTTCGGATTGTAAAGCACTTTAAGTTGGGAGGAAGGG
TTGTAGATTAATACTCTGCAATTTTGACGTTACCGACAGAATAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCA
GCAGCCGCGGTAATACAGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCGTA
GGTGGTTCGTTAAGTTGGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAACTGCATCCAAAACCTGGC
GAGCTAGAGTATGGTAGAGGGTGGTGGAAATTTCTGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATAGGA
AGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACCACCTGGACTGATACTGACACTGAGGTGCGAAAGCGTGG
GGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGTCAACTAGCCGTTGGGA
GCCTTGAGCTCTTAGTGGCGCAGCTAACGCATTAAGTTGACCGCCTGGGAGTACGGCCGCAAG
GTAAAACCTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAG
CAACGCGAAGAACCTTACCAGGCCTTGACATCCAATGAACTTTCCAGAGATGGATTGGTGCCTT
CGGGAACATTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTGGGTTAAG
TCCCGTAACGAGCGCAACCCTTGTCTTAGTTACCAGCACG

>50 → *Paenibacillus taichungensis, pabulis, amylolyticus, tundrae* (99.79%)

GTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTAGGCAACCTGCCCTCAAGTTTGGGACAACCTACCGGA
AACGGTAGCTAATACCGAATAGTTGTTTTCTTCGCCTGAAGGAACTGGAAAGACGGAGCAATC
TGTCACCTGGGGATGGGCCTGCGGCGCATTAGCTAGTTGGTGGGGTAACGGCTACCAAGGCGA
CGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCT
ACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGGAGCAATGCCGCGTG
AGTGATGAAGTTTTTCGGATCGTAAAGCTCTGTTGCCAGGGAAGAACGCTTGGGAGAGTAACTG
CTCTCAAGGTGACGGTACCTGAGAAGAAAGCCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT
ACGTAGGGGGCAAGCGTTGTGCGGAATTATT

13.3. Árbol filogenético

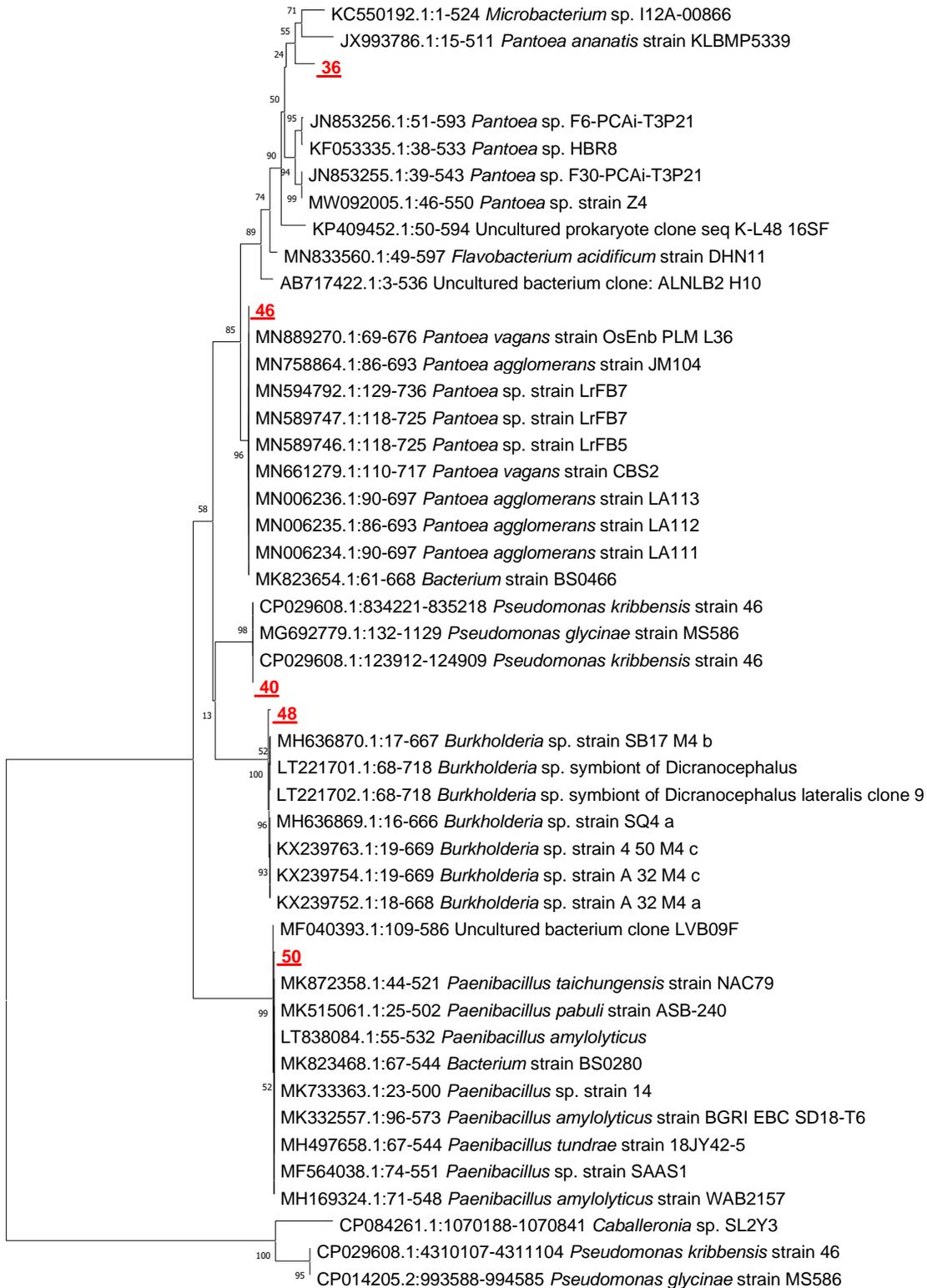


Figura 52. Árbol filogenético basado en secuencias de la región 16S del ADNr de aislados bacterianos de *S. nothohyrida*. **36:** *Pantoea ananatis*; **40:** *Pseudomonas kribbensis*; **46:** *Pantoea agglomerans*; **48:** *Burkholderia* sp.; **50:** *Paenibacillus taichungensis*

0.20

13.4. Unidades Formadoras de Colonias

Tabla 9. Unidades Formadoras de Colonias de los aislados bacterianos a D.O 0.2

#	ID	UFC
1	<i>Pseudomonas putida</i>	2x10 ⁸
9	AN 10-2 MI1	2x10 ⁸
11	<i>Curtobacterium</i> sp.	6x10 ⁸
32	PDA 10-2 MI2	2x10 ⁹
36	<i>Pantoea ananatis</i>	1.2x10 ⁹
40	<i>Pseudomonas kribbensis</i>	7x10 ⁸
42	PDA 10-2MI10	1.6x10 ⁹
44	<i>Paenibacillus</i> sp.	1x10 ⁸
48	<i>Burkholderia</i> sp.	1x10 ⁷
50	<i>Paenibacillus taichungensis</i>	2x10 ⁸



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



Cuernavaca, Morelos, a 24 de noviembre del 2022.

VOTOS APROBATORIOS DE TESIS

Los integrantes de la Comisión Revisora de la tesis titulada: "**Efecto de la inoculación de *Solanum lycopersicum* con aislados bacterianos endófitos de *Selaginella nothohybrida***", que presenta la **C. Itzel Reyes Rosas**, del Programa de Posgrado Maestría en Biotecnología, bajo la dirección del DR. RAMÓN SUÁREZ RODRÍGUEZ, han determinado que el documento reúne los requisitos académicos para su defensa oral en el examen de grado, por lo que emiten su **VOTO APROBATORIO**.

Comisión Revisora de tesis (firma electrónica)

Dr. Ramón Suárez Rodríguez (director de tesis, CEIB UAEM)

Dr. Mario Ramírez Yáñez (CCG UNAM)

Dr. Marco Antonio Rogel Hernández (CCG UNAM)

Dr. José Augusto Ramírez Trujillo (CEIB UAEM)

Dr. Edgar Dantán González (CEIB UAEM)



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

MARIO RAMÍREZ YAÑEZ | Fecha:2022-11-25 12:59:50 | Firmante

j3vZpxKh82V3FNGLojflNa1pNz/YekWyoGcR0bfoRZlI20E0U5dKv8SsVDyJS9kZpFvZM0d4hSNrwc0npR3gZ7S0kledlS69RJdJSLu59hM1LpCyNvRJCqOS/4lvUI3gTSu65O4+Z4WMSy/Fi3UEftPQsEkQRM+fbZBjyxvQCjQXSIYLoHuZW5KvtnOpRsBT3hA3JsWXwSIMYC+BN2QzM/3konNH1m6h1kyiyBFo6xgmOmWLIU2br0Y7o7m82TyyZotbuR1oBxuV32jjt15bc/KbaXvObtkRV/a+lb427s/+UYbtdPYtF2FIKETp/e2XFrsY28C/og8bNyn8F7Qw==

JOSE AUGUSTO RAMIREZ TRUJILLO | Fecha:2022-11-25 13:38:47 | Firmante

k9Zv42vPJKfB108p/NMSZjGz8b0l+Qi5PPzw1LP5oueKmggi1G5O29cVlJO/EUCLiQTSbGet5Ng/19F+Cr3+jS8HYXcxsL5pz99iyfb1//ta/md+B0TctUjIXD04xyz8pvUy2e06d9wlsbdj383foX3RER2p2+aOZDN3JiOBIW/TLk8CV1pKwnHk76JavPBH65Sx99z1O7QvZ4D3BA9ArwZJTxjxfXzTONbUGG5xkSNd+B/6aROPPXh0sxyK6oOVkKaJx7k5EAlFZMSvs3v+loTMAJr5OEuiw9CEfCOUwWdQ/vUG73pCBDsvCXEYEa+3YhJwHQnqnPNR6OQh+utDw==

RAMON SUAREZ RODRIGUEZ | Fecha:2022-11-25 13:53:24 | Firmante

RhBBfKyvhuL/sd7bekAfheRW3MDt1oX79mO3fnppnRxxwCs/m0aELwiZpH119Bxpl/pwfy0hPVY9cfrFaJy61VwffK0uNI/Tlq9D2j/Fy7igfcv5bqVd+CSGUt5Eq2sHitVdChjsLufIamus67mJnbYmRnBi6RsEdT/eYyUIN66jhg/ecoNtDc2PY2EWu+3pjcTIEMiv87Hsbvuc97zQRyuuuXnwVzsdOikUkh+QuHqLnR+xeEhgLF3MbPgbD1kUzfchZc8U5GTxg2Y5aqJMlyvjV0lP/AcpjzvtzGOUnTqab9naeQx4E5SsilKNSwpK/Z/iUJcNhnINLA/e6h4w==

EDGAR DANTAN GONZALEZ | Fecha:2022-11-30 09:04:23 | Firmante

aH+vvu70uWld0BJG09JntIY66YhOixKuAOINT/BWWKq8BvxQQJu5g9f1tNN9T9HATgJwQ96UbC8KsNGVaANx8SDCDUgs+N/8CCOn8oAcFp0qC6WLTbFtc1TcTqIBwOGhL9JrD4B2nWzRtxn5Cn+wTSQU2XyQ4na9CH/4wpkknCfqcXxxAuW53bgm79yWAc9UhPin4PR8lkupuCpfvq1+sVxxSjmtbRns4PMhJGo5XGnoLXHT6oJdVBPdOCpxiafSvUHLQ8K44blZcVjNN96D8BBq9HDPGzTdbGTKcj79vH6Q3aXKuejZriloqOBBEuU1buzSorp3edjmb2bVqxKZA==

MARCO ANTONIO ROGEL HERNÁNDEZ | Fecha:2022-11-30 17:52:43 | Firmante

fzMHf6a2crU1zF/c6j7iHrEt+kRzcdphiyNwdBJ5HOPBl6JD8ekvqjo8eSkZxFWki0nzhjBNCJLlgXAZn1YuXpOPNG9IuB56kLkIsipovil5b8f4Xsid2IDCO4HKMisVWwXkMkmSy6AgpUUmYyTLwx10Muk3zzFCPw6LENa/90IFevvmBEUQPjZVbPqZNGlhButRqmEpcK/jwj5Q/IP0ZO8wiTz/DIGnVISM4dUOPfIDQszT5PXXNSnhF9dD17P9z/bNanxQGdZAAUMw/uDOE2s5oGjo/FzgrKfiWwWoJuvfGO+UJQlvb8KDS9JIUK61qn9gWOFdtS7JLDB+jXXw==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



uKXfRgzED

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/qUckjv1xFICpNWFJeHqk1OzbJBhwbe0e>

