Aislamiento de rizobacterias asociadas a tomate (*Solanum lycopersicum* L.) y su potencial para promover crecimiento vegetal

Yuridia M. Daza-Martínez[1], Juan J. Almaraz-Suarez[1,*], María N. Rodríguez-Mendoza[1], Azarel Angulo-Castro[2] e Hilda V. Silva-Rojas[1]

[1] Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Carretera México-Texcoco, Km 36,5. C.P. 56230, Montecillo, Estado de México

[2] Facultad de Agronomía de la universidad Autónoma de Sinaloa. Carretera Culiacán-El Dorado, Km 17,5. C.P. 80000, Culiacán, Sinaloa, México

Resumen

Una alternativa para reducir las dosis elevadas de fertilizantes inorgánicos en cultivos como el tomate es el uso de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (RPCV). El objetivo de esta investigación fue aislar y caracterizar cepas de rizobacterias así como evaluar su potencial para promover el crecimiento vegetal en plántulas de tomate. Se recolectaron muestras del suelo de la rizosfera de tomate en la comunidad La Bajada, Municipio de Coyuca de Catalán, en el Estado de Guerrero (México). Se aislaron un total de 70 cepas de rizobacterias de las cuales se seleccionaron 12 en función de su capacidad para producir índoles, solubilizar fosfatos y producir sideróforos. Las cepas se identificaron a nivel molecular y se encontró que pertenecieron a siete especies: *Arthrobacter pokkalii, Pseudomonas aeruginosa*, *A. enclensis*, *Bacillus licheniformis*, *B. drentensis*, *Staphylococcus equorum* y *Pseudarthrobacter* spp. Los resultados obtenidos en el experimento de semillero, mostraron que la cepa JLB4 fue la mejor ya que incrementó significativamente ($P \leq 0,05$) las variables altura, volumen radical, peso fresco de parte área, peso fresco de tallo y peso seco total, así como contenido de N, P y K, con respecto al testigo y la cepa de referencia P61. La cepa JN24 mostró mayor diámetro y altura de plántulas y JLB2 fue la mejor en área foliar y la cepa JP4 en el área foliar especifica. La cepa *A. pokkalii* JLB4, que tuvo los mayores efectos en plántulas con un 78 % de incremento en biomasa, tiene un gran potencial y podría usarse en la producción de tomate bajo condiciones de invernadero.

Palabras clave: Bacterias, comunidades microbianas, crecimiento de plántulas, hortalizas.

Isolation of rhizobacteria associated with tomato (*Solanum lycopersicum* L.) and its potential to promote plant growth

Abstract

An alternative to reduce the high doses of inorganic fertilizers in crops such as tomatoes is the use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR). The objective of this research was to isolate and characterize

* Autor para correspondencia: jalmaraz@colpos.mx

Cita del artículo: Daza-Martínez YM, Almaraz-Suarez JJ, Rodríguez-Mendoza MN, Angulo-Castro A, Silva-Rojas HV (2022). Aislamiento de rizobacterias asociadas a tomate (*Solanum lycopersicum* L.) y su potencial para promover crecimiento vegetal. ITEA-Información Técnica Económica Agraria 118(3): 345-360. https://doi.org/10.12706/itea.2021.036

strains of rhizobacteria as well as to evaluate their potential to promote plant growth in tomato seedlings. Soil samples were collected from the tomato rhizosphere in La Bajada community, Municipality of Coyuca de Catalán, in the State of Guerrero. A total of 70 strains of rhizobacteria were isolated, of which 12 were selected based on their ability to produce indoles, solubilize phosphates, and produce siderophores. The strains were identified at the molecular level and it was found that they belong to seven species: *Arthrobacter pokkalii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *A. enclensis*, *Bacillus licheniformis*, *B. drentensis*, *Staphylococcus equorum*, and *Pseudarthrobacter* spp. The results obtained in the seedbed experiment showed that the JLB4 strain was the best since it significantly increased ($P \leq 0.05$) the variables height, root volume, fresh weight of part area, fresh weight of stem and total dry weight, as well as content of N, P and K, with respect to the control and the reference strain P61. The JN24 strain showed greater diameter and height of the seedlings and JLB2 was the best in the foliar area and the JP4 strain in the specific foliar area. The *A. pokkalii* JLB4 strain, which had the greatest effects on seedlings with a 78 % increase in biomass, has great potential and could be used in tomato production under greenhouse conditions.

Keywords: Bacteria, microbial communities, seedling growth, vegetables.

Introducción

El tomate es una de las hortalizas de mayor consumo a nivel nacional e internacional debido a su alto contenido de vitaminas y minerales (Larín *et al*., 2018). Sin embargo, en su producción, se utiliza una elevada cantidad de agroquímicos y biocidas para abastecer de nutrimentos y controlar plagas, enfermedades y malezas. En consecuencia, se puede originar contaminación del suelo y el agua, afectando la salud de los seres vivos, además del alto costo de producción (Riah *et al*., 2014; Shen *et al*., 2016).

Una alternativa para reducir el uso de agroquímicos es la aplicación de RPCV en los sistemas agrícolas debido a que, dichas bacterias pueden optimizar la absorción de nutrientes y el crecimiento, lo que puede conducir a incrementar los rendimientos con dosis más bajas de fertilizantes y mejorar la calidad ambiental (Zahid *et al*., 2015).

Esto es posible gracias a sus efectos directos como la solubilización de fosfato, fijación de nitrógeno y fitoestimulación (producción de fitohormonas). También contribuyen de manera indirecta principalmente como agentes de biocontrol (Camelo *et al*., 2011; Mustafa *et al*., 2019).

A pesar de la poca información con respecto al estudio de rizobacterias en este cultivo, se ha encontrado que los géneros *Pseudomonas*, *Azospirillum, Azotobacter*, *Bacillus* y *Streptomyces*, forman parte de la comunidad microbiana de la rizosfera del tomate (Alfonso *et al*., 2005).

El uso de RPCV en la agricultura es una alternativa para reducir las dosis de agroquímicos y la contaminación del medio ambiente, lo cual asegura a la población productos sanos y de buena calidad (Osorio Soto, 2008).

Tomando en cuenta la problemática que representa la contaminación con agroquímicos y la perturbación en los suelos, esta investigación tuvo como objetivo aislar y caracterizar rizobacterias asociadas a tomate y evaluar su potencial como promotor del crecimiento vegetal en plántulas de tomate.

Material y métodos

Colecta de muestras

Se recolectaron muestras de suelo rizosférico en un área de cultivo de tomate en la localidad La Bajada del Municipio de Coyuca de Catalán, Región de Tierra Caliente, Guerrero

cuyas coordenadas geográficas 100° 40′ 22″ longitud oeste y 18° 18′ 56″ latitud norte, a una altitud entre 220 m y 240 m sobre el nivel del mar (m s.n.m.) (Figura 1). Se recolectaron dos muestras compuestas de suelo de la rizosfera de tomate conformado por seis submuestras, estas se conservaron en una hielera a una temperatura aproximada de 4 °C para su traslado al laboratorio de Microbiología del Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. El suelo recolectado presentó las siguientes características: pH 7,2 (suelo, agua 1:2); nitrógeno total (NT) 0,109 %; fósforo (P) 25,9 ppm y potasio (K) 0,77 meq 100 g^{-1}. La textura del suelo fue clasificada como franco limoso.

Aislamiento de cepas bacterianas

Para el aislamiento de las cepas bacterianas se usó la técnica de dilución y cuenta viable en placa, para ello se tomó una submuestra de 10 g del suelo recolectado y se utilizaron los siguientes medios específicos: Luria bertani (LB) (10 g de triptona, 5 g de extracto de levadura, 5 g de NaCl, 1 g de triptófano, 20 g de agar, 1000 mL de agua destilada estéril) para bacterias productoras de índoles (BPI); Pikovskaya (10 g de glucosa; 5 g de $Ca_3(PO_4)_2$; 0,5 g de $(NH_4)_2SO_4$; 0,2 g de KCl; 0,1 g de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; 0,0002 g de $MnSO_4$; 0,0002 g $FeSO_4$; 0,5 g de levadura; 15 g de agar; 1000 mL de agua destilada estéril) para bac-

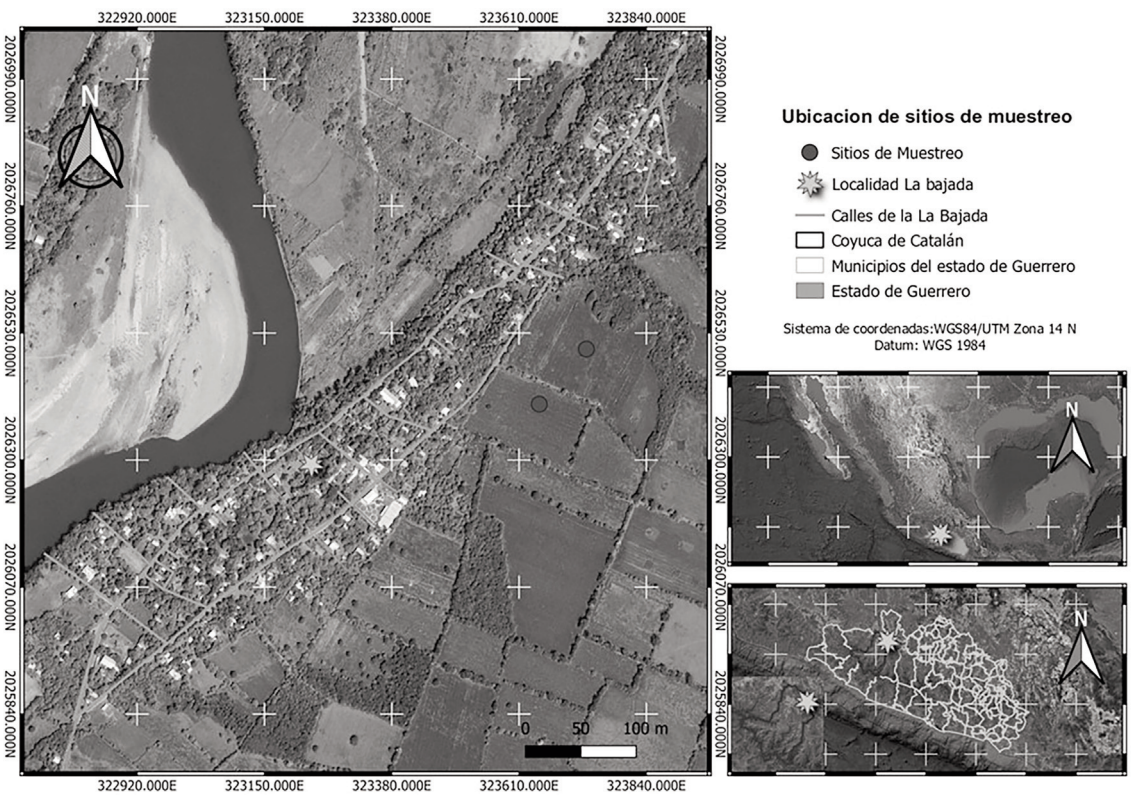

Figura 1. Sitio de muestreo, La Bajada, Municipio de Coyuca de Catalán, Guerrero.
Figure 1. Sampling site, La Bajada, Municipality of Coyuca de Catalán, Guerrero.

terias solubilizadoras de fosfato (BSP); Rennie (Rennie, 1981) y medio libre de nitrógeno (NFB) (0,5 g de K_2HPO_4; 0,01 g de $FeSO_4 \cdot 7H_20$; 0,002 g de $Na_2MoO_4 \cdot 2H_20$; 0,002 g de $MnSO_4 \cdot H_2O$; 0,2 g de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; 0,1 g de $NaCl \cdot 2H_2O$; 2 mL de Azul de Bromotimol al 0,5 % –en solución alcohólica–; 2 g de ácido málico y 2,33 g de Agar bacteriológico (Canto-Martín *et al*., 2004; Mantilla-Paredes *et al*., 2009) para bacterias fijadoras de nitrógeno (BFN).

Pruebas cualitativas de las rizobacterias

Para el caso de las BPI, éstas se sembraron en microplacas (microplates Costar 3591, Corning, NY) de 96 orificios que contenían 150 µL de medio liquido LB, las microplacas se incubaron durante 48 h y posteriormente se agregaron 150 µL de reactivo Salkowski (2 %; 0,5 M $FeCl_3$ en 35 % de ácido perclórico) a cada orificio y se incubó bajo condiciones de obscuridad durante 30 min, para el cambio de color, el cual fue indicativo de la producción de índoles.

Para las bacterias solubilizadoras de fosfato las cepas bacterianas se sembraron en caldo Luria-Bertani y se incubaron a 28 °C en un agitador rotatorio (Thermo scientific® modelo MAXQ 400) a 180 rpm durante 48 h. Posteriormente, en cajas con medio Pikovskaya se colocó un 1 µL de inóculo por cepa con tres repeticiones y se incubaron durante 24 h y 48 h finalmente se aislaron con base en las colonias que presentaron un halo transparente alrededor de ellas.

Para la producción de sideróforos las cepas se sembraron en tubos con 1 mL de medio de caldo nutritivo y se incubaron a 28 °C a 180 rpm durante 24 horas. Posteriormente, en cajas con medio cromo azurol-S (CAS) se agregó un 1 µL de inóculo y se incubaron durante 24 h y 48 h, finalmente se seleccionaron todas las cepas que presentaron colonias con un halo color amarillo alrededor de ellas, ya que el cambio a color amarillo es indicativo de producción de sideróforos (Louden *et al*., 2011).

Caracterización de las rizobacterias

Las 12 cepas de RPCV aisladas se cultivaron en medio líquido Pikovskaya (Pikovskaya, 1948) y se incubaron en una agitadora horizontal marca Thermo scientific® modelo MAXQ 400 rpm a 180 rpm durante siete días a 28 °C. Se incluyó una cepa de referencia identificada y caracterizada en un estudio previo como promotora de crecimiento vegetal (Pineda-Mendoza *et al*., 2019), detalles de esta cepa se describen más adelante. Transcurrido el tiempo de incubación se midió el pH de cada uno de los cultivos bacterianos con un medidor de pH (OAKTON® Instruments). La cuantificación de fosfatos en el medio se llevó a cabo por el método descrito por Almaraz-Suarez *et al*. (2020). El cultivo bacteriano se centrifugó a 7000 rpm durante 10 min. El sobrenadante se filtró con una membrana (Millex 0,22 µm Durapore®), y con una micropipeta se cogieron muestras de 150 µL de cada filtrado y se depositaron en microplacas de 96 pozos por triplicado, a cada pozo se le adicionaron 50 µL de vanadato (NH_4VO_3 0,25 % en 35 % HNO_3) y 50 µL de molibdato [$(NH_4)_6$ MO_7O_{24} al 5 %]. Se dejó reaccionar durante 5 min. Se midió la absorbancia de cada muestra en un espectrofotómetro (Synergy 2 microplate reader, Biotek Instruments, Inc.) a 420 nm. El fosfato soluble se cuantificó a través de una curva estándar con diferentes concentraciones de fosfato (0 µg mL^{-1}, 50 µg mL^{-1}, 100 µg mL^{-1}, 150 µg mL^{-1}, 200 µg mL^{-1}, 250 µg mL^{-1}, 300 µg mL^{-1}).

Para la cuantificación de producción de índoles se utilizó la técnica descrita por Almaraz-Suarez *et al*. (2020). Las cepas aisladas y la cepa de referencia se sembraron en tubos Eppendorf de rosca con 1 mL de medio de cultivo Luria-Bertani y se incubaron a 28 °C a 150 rpm durante 48 h. Trascurrido este tiempo los cultivos se centrifugaron a 7000 rpm durante 15 min. En microplacas de 96 pozos se depositaron 150 µL del sobrenadante de cada

muestra por triplicado, adicionando 150 µL de solución Salkowski. Las placas se incubaron durante 30 min en oscuridad, para posteriormente leerse en un espectrofotómetro lector de microplacas a 530 nm. La concentración de índoles se estimó a partir de una curva estándar de diferentes concentraciones de ácido indol acético (0 µg mL^{-1}, 10 µg mL^{-1}, 20 µg mL^{-1}, 30 µg mL^{-1}, 40 µg mL^{-1}, 50 µg mL^{-1}, 60 µg mL^{-1},70 µg mL^{-1}, 80 µg mL^{-1}, 90 µg mL^{-1}).

Identificación molecular

El material genético de biomasa de las 12 cepas, usado para la identificación molecular fue obtenido de cultivos jóvenes de menos de 24 h. Para ello se siguió el protocolo de extracción de DNA para bacterias del método CTAB al 2 % (Tris-HCl 100 mM; pH 8,0; EDTA $2H_2O$ mM; CTAB 2 %; NaCl 1,4 M) del Laboratorio de Biotecnología de Semillas del Colegio de Postgraduados y la amplificación se realizó de un fragmento ribosomal 16S ADNr. La mezcla de reacción consistió en: buffer 5X; dNTP's 2,5 mM; los primers 8F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') y 1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3'); Taq ADN polimerasa (5U); ADN 100 ng. La PCR se llevó a cabo en un termociclador C100 Touch (Bio-Rad, USA) con las siguientes condiciones de amplificación: una desnaturalización inicial de 95 °C durante 2 min; seguido de 30 ciclos de desnaturalización a 95 °C durante 1 min, alineamiento a 59 °C durante 30 s y la extensión a 72 °C durante 2 min, y finalmente una extensión de un ciclo a 72 °C durante 10 min. El fragmento amplificado se verificó en un gel de agarosa al 1,5 % teñido con colorante verde de ADN (Green-DNA dye, Bio Basic Inc., Canada). Las amplificaciones se enviaron al servidor de secuenciación de Macrogen (Estados Unidos). La secuenciación se realizó en ambas direcciones con el Genetic Analyzer modelo 3130 (Applied Biosystem, EE.UU). Las secuencias correspondientes a la región 16S ADNr, se ensamblaron y editaron con la opción *Contig Assembly Program* (CAP) del Software BioEdit v7.0.9.1, para la creación de las secuencias de cada uno de los aislamientos. Con base en que Herramienta Básica de Búsqueda de Alineación Local (BLAST) del Centro Nacional de Biotecnología Información (NCBI) encuentra regiones de similitud local entre secuencias con alineamientos significantes, las secuencias consensuadas de cada aislamiento obtenido para la región 16S ADNr se compararon con la opción BLAST_ nucleotide 2.2.19. Las secuencias de las bacterias se depositaron en la base de datos de *GenBank* NCBI.

Efectividad de las rizobacterias en la promoción del crecimiento en plántulas de tomate

Se incluyeron 12 cepas de bacterias para evaluar sus efectos en la promoción de crecimiento las cuales fueron seleccionadas por su capacidad para producir índoles, producir auxinas, sideróforos y fijar nitrógeno, además se agregó la cepa P61 *P. tolaasii* como referencia, la cual fue aislada de la rizosfera de papa en el Valle de Toluca, Estado de México. Esta cepa tiene la capacidad de solubilizar fosfatos, producir auxinas y sideróforos, además tiene la capacidad de inhibir *Rhizoctonia solani* (Pineda-Mendoza *et al*., 2019).

Las cepas bacterianas se cultivaron en caldo nutritivo en agitación constante a 180 rpm durante 48 h a 28 °C. Posteriormente fueron centrifugadas a 7000 rpm durante 15 min para separar el concentrado microbiano del medio de cultivo. Este concentrado se resuspendió en agua destilada estéril y centrifugó en dos ocasiones con el propósito de eliminar los nutrientes residuales. La densidad de células bacterianas fue de 1 x 10^8 UFC mL^{-1}.

Se usaron semillas de tomate "hybrid OptimMax". La siembra de las semillas se realizó

en charolas de poliestireno de 12 cavidades. Se sembraron tres semillas por cavidad en un sustrato conformado por turba y perlita (2:1), previamente esterilizado en una autoclave (3 días no consecutivos durante 3 h, a 18 lb b de presión). La inoculación de la cepa bacteriana se llevó a cabo a los 10 días después de la siembra, aplicando 2 mL de inóculo directamente a la zona de la raíz. Las plántulas fueron fertilizadas con solución nutritiva de Steiner (265,5 de $Ca(NO_3)_2 \bullet 4H_2O$; 78 de KNO_3; 67,5 de K_2SO_4; 123 de $MgSO_4 \bullet 7H_2O$ y 34 de KH_2PO_4, mg/L, con el pH ajustado a 6,5) al 10 % y 20 %. La frecuencia y duración de los riegos estuvo en función de las necesidades de la planta, manteniendo siempre una humedad constante. Al término del experimento, 35 días después de la emergencia, en cada planta se midió altura, diámetro, volumen radical, área foliar, área foliar específica, peso fresco, seco, y contenido de nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K).

Diseño experimental

Los ensayos para evaluar la producción de auxinas y solubilización de fosfatos de las 12 cepas estudiadas y la cepa de referencia se establecieron en un diseño experimental completamente al azar con tres repeticiones.

El experimento con plántulas también utilizó un diseño experimental completamente al azar, pero en este caso fue con 14 tratamientos. Los cuales consistieron en 12 cepas de bacterias aisladas de la rizosfera de tomate, una cepa de referencia y un testigo sin inocular, todos con cuatro repeticiones. Los datos fueron analizados mediante el paquete estadístico Statistical Analysis System (SAS) 9.0 para Windows realizando un análisis de varianza y prueba de comparación de medias (Tukey, $\alpha = 0,05$).

Resultados y discusión

Características relacionadas con la promoción de crecimiento vegetal

De las 70 cepas evaluadas solo las cepas JP4, JP13 y JP8 formaron halos muy marcados en el medio sólido Pikovskaya, lo cual indicó una alta capacidad de solubilizar fosfato. También hubo cepas que presentaron halos tenues en este medio. Bashan *et al*. (2013) mencionan que la formación de halos en medio sólido no debe considerarse como la única prueba para la solubilización de fosfato ya que, las colonias pueden perder su halo después de varias resiembras, para ello se debe realizar un ensayo confirmatorio de la capacidad de solubilizar fosfato en medio líquido para determinar la cantidad de fosfato soluble. Por esta razón se realizó dicho ensayo no solo con las tres cepas que formaron halos marcados, sino que también se les realizó a otras nueve cepas y a la cepa de referencia (P61).

En el ensayo de la solubilización de fosfato se observó que las 13 cepas evaluadas tienen la capacidad de solubilizar dicho elemento en un rango que varió de 22 µg mL^{-1} a 300 µg mL^{-1}, los valores más altos se presentaron en las cepas JP13, JC3, JP8, JPS5, JLB6 y JP6 con valores superiores a 118 µg mL^{-1} (Figura 2). En otras investigaciones se ha encontrado que la solubilización de fosfato por diferentes cepas de rizobacterias varía de 10 µg mL^{-1} hasta más de 800 µg mL^{-1}, dependiendo del tiempo de incubación (Misra *et al*., 2012; Zahid *et al.*, 2015; González Mancilla *et al.*, 2017). Las bacterias solubilizadoras de fosfatos desempeñan un importante papel en el suplemento de fósforo para las plantas, los géneros bacterianos con mayores potencialidades de uso son *Pseudomonas* y *Bacillus* (Restrepo-Franco *et al*., 2015). Para el caso del pH, todas las cepas crecidas en el medio Pikovskaya lo acidificaron, ya que el pH inicial fue de 7,3 y siete días después éste bajó a valores entre 6,12 y 4,24, siendo la cepa de referencia P61 la que

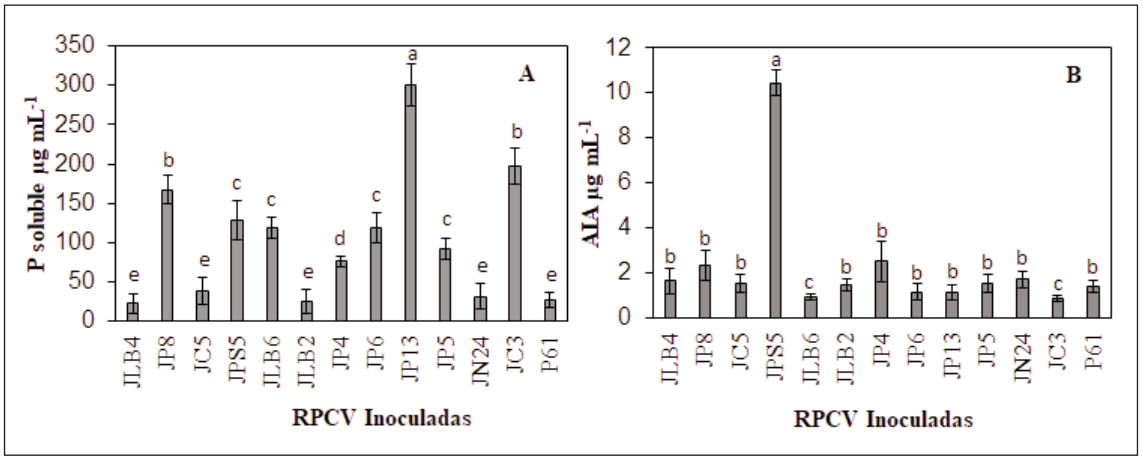

Figura 2. Fosfato soluble (A) y ácido indol acético (AIA) (B) en cultivos de cepas de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (RPCV). ± Error estandar.
Figure 2. Soluble phosphate (A) and IAA (B) in cultures of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) strains. ± Standard error.

más acidificó el medio. Corrales Ramírez *et al*. (2014) mencionan que la capacidad de solubilizar fosfato de las bacterias está asociada a la liberación de ácidos orgánicos como el ácido oxálico, glucónico, cítrico, láctico y isobutírico lo que permite la acidificación del medio. Los ácidos orgánicos producidos por las bacterias reaccionan con los compuestos del fósforo liberando fosfato soluble, el cual depende del tipo y fuerza de estos ácidos (Gamalero y Glick, 2011).

Para el caso de la producción de ácido indolacético, se evaluaron 64 cepas y se observó si había cambio de color a rosa cuando al cultivo bacteriano se le adicionó el reactivo de Salkowski, lo cual indicó la presencia de índoles. Esto permitió preseleccionar 12 cepas que presentaron color rosa intenso. En una segunda fase a esas 12 cepas se les cuantificó la producción de índoles en medio líquido. Se observó que la cepa JPS5 presentó la mayor concentración de índoles (10,4 µg mL^{-1}). Por otra parte, las cepas JP8, JP4, JLB2, JLB4 y JN24 presentaron concentraciones mayores a 1,52 µg mL^{-1}. Sin embargo, las cepas JC5, JP6, JP13, JP5, JC3, JLB6 y P61 produjeron muy bajas concentraciones de índoles de 0,85-1,52 µg mL^{-1} (Figura 2). González Mancilla *et al*. (2017) caracterizaron un total de 215 cepas aisladas de la rizosfera de la región de la Sierra Nevada, Puebla, México y encontraron 71 cepas que producían ácido indol acético (AIA) en concentraciones desde 20 mg L^{-1} hasta 27 mg L^{-1}; en el caso de la presente investigación las cepas no produjeron niveles de AIA tan altos.

La capacidad de las bacterias para fijar nitrógeno fue registrada en una de las doce cepas estudiadas (JN24). Esta actividad se ha estudiado ampliamente en el género *Bacillus*. Por ejemplo, Kifle y Laing (2011) encontraron que la inoculación de cepas de *Bacillus* en lechuga incrementó el contenido de nitrógeno en las plantas, lo cual se debió a la capacidad de fijar nitrógeno de las cepas estudiadas y a la densidad de inóculo aplicado, siendo mejor la dosis de 10^8 unidades formadoras de colonias.

Las cepas JP4, JP5, JP6, JP8 y P61 produjeron sideroforos, las cuales presentaron colonias con halos de color amarillo de diámetros de 0,40-0,46 mm en el medio CAS, lo que indica que estas cepas son capaces de producir sideróforos removiendo el hierro del medio (García *et al*., 2012). Aguado-Santacruz *et al*. (2012) mencionan que los sideróforos bacterianos han generado un gran interés en los últimos años debido al potencial que tienen para el control biológico de hongos y bacterias fitopatógenas, inhibiendo el crecimiento de micelio a través de la captación de hierro, haciéndolo menos disponible para los patógenos.

Identificación molecular de las cepas bacterianas

El análisis de las secuencias de ADNr 16S amplificadas mostró una alta similitud de las secuencias de los aislados JP4, JP5, JP6 Y JP8 con las secuencias de ADNr 16s de *P. aeruginosa* (100 %). Mientras que JLB2 y JLB6 tienen una alta similitud con *S. equorum* (100 %); la cepa JC3 presentó un alto porcentaje de similitud con especies de *Pseudarthrobacter* spp. (99,65 %) y dos cepas (JC5 y JN24) con *A. enclensis* (100 %); la cepa JP13 tuvo similitud con *B. licheniformis* (100 %), para el caso de la cepa JPS5 se encontró una alta similitud con *B. drentensis* (99,93 %) y por último la cepa JLB4 mostró una alta similitud con *A. pokkalii* (100 %) (Tabla 1). Misra *et al*. (2012) mencionan que las cepas de *P. aeruginosa* son capaces de solubilizar más de 450 mg mL^{-1} de fósforo en suelos con altas concentraciones de metales pesados y en condiciones de alta humedad y temperatura, además ha resultado ser un microorganismo de gran aplicación, porque no solo solubiliza fosfato, sino también tiene la capacidad de producir sideróforos para la quelación del hierro (Kumar

Tabla 1. Identificación molecular de las 12 cepas de rizobacterias promotoras crecimiento vegetal aisladas de la rizosfera de tomate.
Table 1. Molecular identification of 12 strains of plant growth promoting rhizobacteria isolated from the tomato rhizosphere.

Nombre de la cepa	Identidad	Identidad (%)	Número de acceso al GenBank
JLB4	*Arthobacter pokkalii*	100	MW629814
JP8	*Pseudomonas aeruginosa*	100	MW629806
JP4	*Pseudomonas aeruginosa*	99,93	MW629803
JP5	*Pseudomonas aeruginosa*	100	MW629804
JP6	*Pseudomonas aeruginosa*	100	MW629805
JC5	*Arthrobacter enclensis*	100	MW629811
JN24	*Arthrobacter enclensis*	100	MW629812
JP13	*Bacillus licheniformis*	100	MW629807
JPS5	*Bacillus drentensis*	99,93	MW629808
JLB2	*Staphylococcus Equorum*	100	MW629809
JLB6	*Staphylococcus Equorum*	100	MW629810
JC3	*Pseudarthrobacter* sp.	99,65	MW629813

et al., 2005; Restrepo-Correa *et al*., 2017). Mientras que *S. equorum* es una bacteria patógena, sin embargo, se ha utilizado en investigaciones para determinar la actividad biológica de extractos de plantas (Carvajal-Tesorero *et al*., 2013). Algunas cepas de *Pseudarthrobacter* sp. son consideradas como productora de auxinas y contienen genes resistentes a metales pesados. Además, se ha encontrado que contienen genes relacionados con la desnitrificación de nitritos y nitratos (Park *et al*., 2020). En investigaciones recientes se encontró que cepas de la especie *A. enclensis* pueden producir más de 130 mg L^{-1} de AIA a las 12 h de la incubación en caldo nutritivo cuando se adicionó triptófano al 0,2 % (Zeng *et al*., 2016; Moon y Yoon, 2019). En el presente trabajo las cepas *A. enclesis* JC5 y JN24 produjeron menos de 2 mg L^{-1} de AIA en medio LB con 1 g de triptófano L^{-1}, muy por debajo de lo reportado en la literatura, lo cual sugiere que la capacidad de producir auxinas en la especie *A. encliensis* puede variar en un rango muy amplio.

Cepas pertenecientes a las especies *B. licheniformis* y *B. drentensis* se han reportado en estudios recientes como fijadoras de nitrógeno, productoras de auxinas y solubilizadoras de fosfato (Mahmood *et al.,* 2016; Acurio Vásconez *et al*., 2020). Algunas de estas características se constataron en esta investigación, ya que las cepas JP13 y JPS5 correspondientes a las especies mencionadas produjeron niveles significativos de auxinas y fosfato soluble en los medios específicos utilizados.

Para el caso de *A. pokkalii*, Krishnan *et al*. (2016) mencionan que dicha bacteria posee características beneficiosas para el crecimiento de las plantas, dado que puede producir AIA y sideróforos. Este no fue el caso de la cepa JLB4, perteneciente a esa especie, ya que produjo baja cantidad de auxinas y no produjo sideróforos.

Efectividad de las rizobacterias en la promoción del crecimiento en plántulas de tomate

La cepa JN24 presentó el mayor efecto en altura y diámetro de tallo de planta ($P \leq 0,05$), ya que estas variables se incrementaron en 24 % y 22 %, respectivamente, en relación al testigo. Las plantas inoculadas con la cepa JLB4 tuvieron el mayor volumen radical superando al testigo en 40 % y a la cepa de referencia P61 en 68 % (Figura 3). Noh Medina *et al*. (2014) inocularon cepas de *Paenibacillus polymyxa* y *B. megaterium* en semillas de tomate, lo que les condujo a obtener plántulas con mayor altura que las plántulas sin inoculación de rizobacterias superando al testigo en más de 36 %. Efectos similares también los obtuvo González Mancilla *et al*. (2017) en chile poblano quienes encontraron incrementos en altura mayores al 22 % en relación al testigo. Amaresan *et al*. (2012) cuando inocularon plántulas de tomate y chile con cepas de RPCV obtuvieron aumentos significativos de la longitud de raíces y brotes.

Con respecto a el área foliar se observaron diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre tratamientos. Casi todas las cepas fueron significativamente superiores en área foliar en relación al testigo y la más sobresaliente fue JLB2 con 19,95 cm^2 (Tabla 2). En el caso del área foliar específica, se observó que las plantas de tomate inoculadas con la cepa JP4 mostraron significativamente ($P \leq 0,05$) el mayor valor con 289,6 $cm^2\ g^{-1}$ en comparación con los demás tratamientos (Tabla 2).

El análisis de varianza de la variable peso fresco de hojas y tallo en plántulas de tomate inoculadas con RPCV mostró diferencias altamente significativas en las dos variables ($P \leq 0,05$). Los tratamientos inoculados con las cepas JLB4 (*A. pokkalii*) y JN24 (*A. enclensis*) fueron estadísticamente superiores al resto

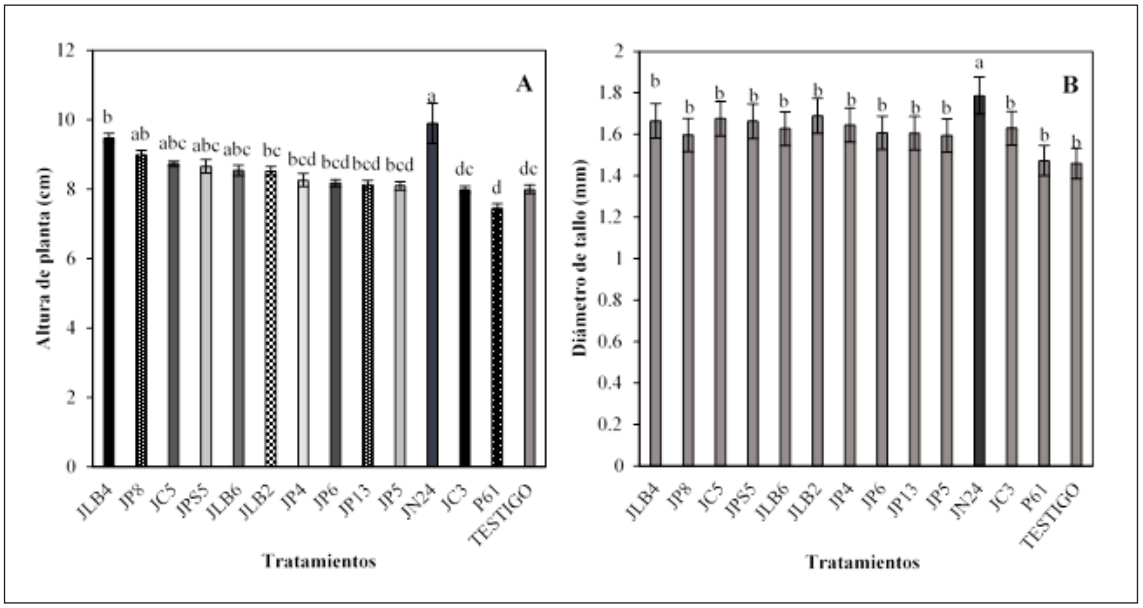

Figura 3. Altura (A) y diámetro de tallo (B) de plántulas de tomate inoculadas con diferentes cepas de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (RPCV). ± error estandar.
Figure 3. Height (A) and stem diameter (B) of tomato seedlings inoculated with different strains of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR). ± standard error.

de los tratamientos, tanto en el peso fresco de hojas como de tallo. La inoculación de las cepas JN24 y JLB4 incrementó la biomasa total en 26 % y 78 %, respectivamente, en relación al testigo (Tabla 2). En la investigación de Luna Martínez *et al*. (2013), se observó que la inoculación de plántulas de tomate y pimiento con la cepa MA12 del género *Bacillus* incrementó la biomasa en 20 % y 37 %, respectivamente. Esto indica que el efecto positivo con la cepa JLB4 de la especie *A.pokkalii* fue superior a lo que reportaron esos autores cuya cepa sobresaliente perteneció al género *Bacillus*.

El tratamiento con la cepa JLB4 obtuvo el mayor peso seco en hojas, tallos, raíz y biomasa seca total con valores de 113,5 mg, 58,9 mg, 87,17 mg y 259,6 mg, respectivamente (Tabla 2). La inoculación con esta cepa incremento la biomasa seca en 79 % con respecto al testigo. En un estudio Amaresan *et al*. (2012) encontraron que la inoculación de cepas de *Bacillus* spp., *Serratia* spp., *Arthrobacter* spp. y *S. marcescens* incrementaron significativamente la longitud radical, la altura y la producción de biomasa seca en plántulas de tomate y chile. El mejor tratamiento que ellos mencionan fue el inoculado con la cepa de *Bacillus* sp. BETS11, que incrementó la biomasa seca en 200 % en tomate y 400 % en chile.

La cepa JLB4 presentó efectos sobresalientes en el crecimiento de las plántulas de tomate a pesar de que produjeron bajos valores en la solubilización de fosfato, producción de AIA y no produjeron sideróforos. El mayor volumen radical encontrado en el tratamiento con la cepa JLB4 sugiere que hay un efecto positivo en el crecimiento de la raíz, lo cual posiblemente sea por producción de hormonas vegetales. En la literatura consultada se

Tabla 2. Efecto de la inoculación de cepas de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (RPCV) en plántulas de tomate en invernadero.
Table 2. Effect of the inoculation of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) strains in tomato seedlings in greenhouse.

Cepas	Volumen radical (cm^3)	Área foliar (cm^2)	Área foliar especifica ($cm^2\ g^{-1}$)	Peso seco hojas (mg)	Peso seco tallo (mg)	Peso seco raíz (mg)	Peso seco total (mg)
JLB4	1,65 a	18,90 ab	168,3 e	113,53 c	58,90 a	87,17 a	259,6 a
JP8	1,21 bcd	18,35 abc	275,2 ab	69,40 cde	37,82 bc	42,26 cd	149 de
JC5	1,16 cd	19,32 ab	277,2 ab	72,10 cde	35,74 c	56,62 b	164 bcde
JPS5	1,35 bc	18,18 abc	229,9 bcd	81,98 bc	39,83 bc	57,58 b	179 bc
JLB6	1,35 bc	17,00 bcd	236,3 abcd	73,68 cde	37,19 bc	44,55 bcd	155 cde
JLB2	1,42 ab	19,95 a	263,5 abc	77,85 bcde	37,58 bc	47,44 bc	162 bcde
JP4	1,18 bcd	16,23 cde	289,6 a	65,85 e	35,93 c	46,93 bc	149 de
JP6	1,23 bc	17,26 bc	268,6 abc	66,62 e	33,67 c	40,86 cd	141 e
JP13	1,12 cd	14,68 def	223,7bcde	67,69 de	36,04 c	46,84 bc	150 de
JP5	1,33 bc	18,73 ab	245,1 abcd	80,51 bcd	39,95 bc	50,03 bc	170 bcd
JN24	1,30 bc	18,47 abc	217,9 cde	87,04 b	43,19 b	56,27 b	186 b
JC3	1,15 cd	14,50 ef	202,0 de	75,44 bcde	37,40 bc	37,40 cd	150 de
P61	0,98 d	12,61 f	255,5 abcd	50,65 f	25,83 d	32,43 d	108 f
TESTIGO	1,16 cd	13,69 f	213,8 cde	65,51 e	34,023 c	46,45 bc	145 de

Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas (Tukey, $\alpha = 0,05$).

encontró que la especie identificada como *A. pokkalii* posee características beneficiosas para el crecimiento de las plantas, dado que puede producir ácido indol acético (AIA), además forman biopelículas y utilizan varios componentes de los exudados de las raíces de las plantas (azúcares, aminoácidos y ácidos orgánicos) (Krishnan *et al*., 2016).

Contenido nutrimental

El N es considerado como el nutriente más importante para el crecimiento de las plantas y el menos disponible en los suelos agrícolas. En esta investigación los resultados muestran que en los diferentes tratamientos inoculados con cepas de RPCV el contenido de nitrógeno se encuentra entre 1,84 mg planta^{-1} a 0,85 mg planta^{-1}, sobresaliendo el tratamiento inoculado con la cepa JLB4 (*A. pokkalii*), mientras que el valor más bajo se obtuvo en el testigo (Tabla 3). El potasio es un nutriente esencial para las plantas, es absorbido en grandes cantidades y tiene funciones en procesos de osmorregulación, movimiento estomático, elongación celular y participan en el equilibrio iónico (Njira y Nabwami, 2015; Gómez-Merino *et al*., 2016). La inoculación de las diferentes cepas tuvo efectos altamente significativos ($P \leq 0,05$) en el contenido de potasio, siendo JLB4 la cepa que obtuvo el mayor aumento en la absorción de

Tabla 3. Efecto de la inoculación de cepas de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (RPCV) en el contenido nutrimental de plántulas de tomate.
Table 3. Effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) inoculation on the nutrient content of tomato seedlings.

Cepas	N (mg planta^{-1})	P (mg planta^{-1})	K (mg planta^{-1})
JLB4	1,84 a	0,22 a	3,85 a
JP8	1,34 ab	0,09 f	2,33 cde
JC5	1,43 ab	0,17 b	2,52 bcde
JPS5	1,57 ab	0,17 b	2,80 abc
JLB6	1,40 ab	0,14 bcd	2,51 bcde
JLB2	1,41 ab	0,13 bcd	2,65 bcde
JP4	1,12 abc	0,12 de	2,25 de
JP6	1,40 ab	0,16 bc	2,27 de
JP13	1,13 abc	0,12 de	2,28 de
JP5	1,38 ab	0,12 de	2,69 bc
JN24	1,51 ab	0,16 bc	3,02 b
JC3	1,42 ab	0,12 de	2,55 bcde
P61	1,08 abc	0,10 e	1,80 f
TESTIGO	0,8 d	0,11de	2,07 df

Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas (Tukey, $\alpha = 0,05$).

potasio con 3,85 mg planta^{-1}, en comparación con el resto de los tratamientos; la cepa de referencia (P61) presentó el valor más bajo en el contenido de potasio (Tabla 3). El aumento significativo en el crecimiento y el nivel de N y P en la planta tras la aplicación de los aislamientos es un indicativo de que la inoculación con microorganismos puede proporcionar un mejor flujo de nutrientes y dar como resultado una mayor biomasa (Abbasi *et al*., 2011; Raklami *et al*., 2019).

El fósforo es un macro elemento esencial para el crecimiento de las plantas, dado que participa en los procesos metabólicos, tales como la fotosíntesis, la transferencia de energía, transferencia genética, la síntesis y degradación de los carbohidratos (Njira y Nabwami, 2015). Las diferentes cepas de RPCV presentaron efectos altamente significativos ($P \leq 0,05$) en el contenido de fósforo, siendo JLB4 la cepa que obtuvo el mayor aumento en la absorción de P con 3,85 mg planta^{-1}, en comparación con el resto de los tratamientos (Tabla 3). Todas las cepas seleccionadas incluyendo la de referencia solubilizaron fosfato en medio de cultivo, aunque la cepa JLB4 fue de las que solubilizaron bajas cantidades, en un rango de 22,5 µg mL^{-1} a 38,7 µg mL^{-1}. Probablemente el mayor contenido de P en las plantas inoculadas con esa cepa se debió a varios mecanismos que afectaron positivamente la raíz, lo que condujo a un incremento en el volumen radical y por lo tanto un aumento en la asimilación de nutrientes (Amaresan *et al*., 2012; Sánchez-López *et al*., 2012). En otras investigaciones se ha observado que inoculantes con una cepa o inoculantes que contienen mezclas de cepas que poseen diferentes atributos de promoción de crecimiento afectan positivamente el crecimiento al favorecer una mayor disponibilidad de nutrientes como N, P y K (Coutinho *et al*., 2012; Shen *et al*., 2016). En el presente trabajo las cepas que condujeron a mayor contenido de esos tres macroelementos fueron JLB4, JPS5 y JN24.

Conclusiones

Las 12 cepas de RPCV seleccionadas pertenecieron a siete especies: *A. pokkalii*, *P. aeruginosa*, *A. enclensis*, *B. licheniformis, B. drentensis*, *S. equorum* y *Pseudarthrobacter* spp. Solo un número reducido de las cepas aisladas presentaron atributos de promoción de crecimiento a nivel laboratorio lo que equivale al 17 % de los aislados. De estas solo 3 tuvieron efectos significativos en el crecimiento y nutrición de plántulas de tomate. Las cuales correspondieron a las cepas JLB4, JN24 y JLB2. Particularmente la cepa bacteriana *A. pokkalii* JLB4 tiene un potencial como biofertilizante para incrementar el crecimiento de las plantas de tomate.

Agradecimientos

La primera autora agradece la beca otorgada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México (CONACYT) y al financiamiento del Colegio de Postgraduados para llevar a cabo la investigación.

Referencias bibliográficas

Abbasi MK, Sharif S, Kazmi M, Sultan T, Aslam M (2011). Isolation of plant growth promoting rhizobacteria from wheat rhizosphere and their effect on improving growth, yield and nutrient uptake of plants. Plant Biosystems 145: 159-168. https://doi.org/10.1080/11263504.2010.542318.

Acurio Vásconez RD, Mamarandi Mossot JE, Ojeda Shagñay AG, Tenorio EM, Chiluisa Utreras VP, Vaca Suquillo ID (2020). Evaluación de *Bacillus* spp. como rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV) en brócoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) y lechuga (*Lactuca sativa*). Ciencia y Tecnología Agropecuaria 21(3): 1-16. https://doi.org/10.21930/rcta.vol21_num3_art:1465.

Aguado-Santacruz GA, Moreno-Gómez B, Jiménez-Francisco B, García-Moya E, Preciado-Ortiz RE (2012). Impacto de los sideróforos microbianos y fitosidéforos en la asimilación de hierro por las plantas: una síntesis. Revista Fitotecnia Mexicana 35(1): 9-21.

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

Almaraz-Suarez JJ, Pineda-Mendoza DY, Heredia Acuña C (2020). Métodos prácticos para el estudio de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. En: Microbiología aplicada a la Agricultura y Agroecosistemas, Principios y Técnicas para su Investigación (Ed. Ferrera CR, Delgadillo MJ, Alarcón A, Alvarado LJ, Pérez MJ, Almaraz SJJ), pp. 227-240. Primera edición. Editorial del Colegio de Postgraduados.

Amaresan N, Jayakumar V, Kumar K, Thajuddin N (2012). Isolation and characterization of plant growth promoting endophytic bacteria and their effect on tomato (*Lycopersicon esculentum*) and chilli (*Capsicum annuum*) seedling growth. Annals of Microbiology 62(2): 805-810. https://doi.org/10.1007/s13213-011-0321-7.

Bashan Y, Kamnev AA, de-Bashan LE (2013). Tricalcium phosphate is inappropriate as a universal selection factor for isolating and testing phosphate-solubilizing bacteria that enhance plant growth: a proposal for an alternative procedure. Biology and Fertility of Soils 49(4): 465-479. https://doi.org/10.1007/s00374-012-0737-7.

Camelo M, Vera SP, Bonilla RR (2011). Mecanismos de acción de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. Ciencia y Tecnología Agropecuaria 12(2): 159-166. https://doi.org/10.21930/rcta.vol12_num2_art:227.

Canto-Martín JC, Medina-Peralta S, Morales Avelino D (2004). Efecto de la inoculación con *Azospirillum* sp. en plantas de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacquin). Tropical and Subtropical Agroecosystems 4(1): 21-27.

Carvajal-Tesorero Z, Ramírez Zambrano L, Ducurú M, Gómez V, Cabrera G, Méndez J, Rodríguez Ortega M (2013). Actividad biológica de extractos de tres plantas sobre bacterias patógenas para el humano. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología 33(1): 35-39.

Corrales Ramírez LC, Sánchez Leal LC, Arévalo Galvez ZY, Moreno Burbano VE (2014). *Bacillus*: género bacteriano que demuestra ser un importante solubilizador de fosfato. Nova 12(22): 165-177. https://doi.org/10.22490/24629448.1041.

Coutinho FP, Felix WP, Yano-Melo AM (2012). Solubilization of phosphates *in vitro* by *Aspergillus* spp. and *Penicillium* spp. Ecological Engineering 42: 85-89. https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2012.02.002.

Gamalero E, Glick BR (2011). Mechanisms used by plant growth promoting bacteria. En: Bacteria in agrobiology: Plant nutrient management (Ed. Maheshwari D.K), pp. 17-46. Springer-Verlag. Heidelberg, Germany. https://doi.org/10.1007/978-3-642-21061-7_2.

García C, Passerini De Rossi B, Alcaraz E, Vay C, Franco M (2012). Siderophores of *Stenotrophomonas maltophilia*: detection and determination of their chemical nature. Revista Argentina de Microbiología 44(3): 150-154.

Gómez-Merino FC, Trejo-Téllez LI, Alcántar-González GL (2016). Nutrición molecular de N, P y K en plantas. En: Nutrición de cultivos (Ed. G. Alcántar-Gozález, L.I. Trejo-Téllez y F.C. Gómez-Merino), pp. 394-419. Segunda edición. México.

González Mancilla A, Almaraz Suarez JJ, Ferrera Cerrato R, Rodríguez Guzmán MP, Taboada Gaytán OR, Trinidad Santos A, Alarcón A, Arteaga Garibay RI (2017). Caracterización y selección de rizobacterias promotoras de crecimiento en plántulas de chile poblano (*Capsicum annuum* L.). Revista Internacional de Contaminación Ambiental 33(3): 463-474. https://doi.org/10.20937/rica.2017.33.03.09.

Kifle MH, Laing MD (2011). Determination of optimum dose and frequency of application of free-living diazotrophs (FLD) on lettuce. African Journal of Agricultural Research 6(3): 671-675.

Krishnan R, Menon RR, Tanaka N, Busse HJ, Krishnamurthi S, Rameshkumar N (2016). *Arthrobacter pokkalii* sp nov, a novel plant associated actinobacterium with plant beneficial proper-

ties, isolated from saline tolerant pokkali rice, Kerala, India. PLoS One 11(3): e0150322. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0150322.

Kumar RS, Ayyadurai N, Pandiaraja P, Reddy AV, Venkateswarlu Y, Prakash O, Sakthivel N (2005). Characterization of antifungal metabolite produced by a new strain *Pseudomonas aeruginosa* PUPa3 that exhibits broad spectrum antifungal activity and biofertilizing traits. Journal of Applied Microbiology 98(1): 145-154. https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02435.x.

Larín MA, Díaz LA, Serrano RF (2018). Cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum*). Centro Nacional De Tecnología Agropecuaria y Forestal "Enrique Álvarez Córdova". Disponible en: http://centa.gob.sv/docs/guias/hortalizas/Guia%20Centa_Tomate%202019.pdf (Consultado el 24 de febrero de 2020).

Louden BC, Haarmann D, Lynne AM (2011). Use of blue agar CAS assay for siderophore detection. Journal of Microbiology and Biology Education 12(1): 51-53. https://doi.org/10.1128/jmbe.v12i1.249.

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

Mahmood S, Daur I, Al-Solaimani SG, Ahmad S, Madkour MH, Yasir M, Hirt H, Ali S, Ali Z (2016). Plant growth promoting rhizobac and silicon synergistically enhance salinity tolerance of mung bean. Frontiers in Plant Science 7: 1-14. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00876.

Mantilla-Paredes AJ, Cardona GI, Peña-Venegas CP, Murcia U, Rodríguez M, Zambrano MM (2009). Distribución de bacterias potencialmente fijadoras de nitrógeno y su relación con parámetros fisicoquímicos en suelos con tres coberturas vegetales en el sur de la Amazonia colombiana. Revista de Biología Tropical 57(4): 915-927.

Misra N, Gupta G, Jha PN (2012). Assessment of mineral phosphate solubilizing properties and molecular characterization of zinc tolerant bacteria. Journal of Basic Microbiology 52(5): 549-558. https://doi.org/10.1002/jobm.201100257.

Moon SJ, Yoon MH Y (2019). Plant growth promotion effect of *Arthrobacter enclensis* Yangsong-1 isolated from a button mushroom bed. Journal Mushroom 17(1): 12-18. https://doi.org/10.14480/JM.2019.17.1.12.

Mustafa S, Kabir S, Shabbir U, Batool R (2019). Plant growth promoting rhizobacteria in sustainable agriculture: from theoretical to pragmatic approach. Symbiosis 78(2): 115-123. https://doi.org/10.1007/s13199-019-00602-w.

Njira KO, Nabwami J (2015). A review of effects of nutrient elements on crop quality. African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development 15(1): 9777-9793.

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

Osorio Soto G (2008). Agricultura sustentable. Una alternativa de alto rendimiento. Ciencia UANL 11(1): 78-81.

Park MK, Park YJ, Kim M, Kim MC, Ibal JC, Kang GU, Lee GD, Tagele SB, Kwon HJ, Kang MS, Kim MH, Kim SY, Shin JH (2020). Complete genome sequence of a plant growth-promoting bacterium *Pseudarthrobacter* sp. NIBR-BAC000502772, isolated from shooting range soil in the Republic of Korea. The Microbiological Society of Korea 56(4): 390-393. https://doi.org/10.7845/kjm.2020.0066.

Pikovskaya RI (1948). Mobilization of phosphorus in soil in connection with the vital activity of some microbial species. Mikrobiologiya 17: 362-370.

Pineda-Mendoza DY, Almaraz JJ, Lara-Hernández M, Arteaga-Garibay R, Silva-Rojas HV (2019). Cepas de bacterias aisladas de esporomas de hongos ectomicorrízicos promueven el crecimiento vegetal. ITEA-Información Técnica Económica Agraria 115(1): 4-17. https://doi.org/10.12706/itea.2018.027.

Raklami A, Bechtaoui N, Tahiri AI, Anli M, Meddich A, Oufdou K (2019). Use of rhizobacteria and mycorrhizae consortium in the open field as a strategy for improving crop nutrition, productivity and soil fertility. Frontiers in Microbiology 10: 1106. https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01106.

Rennie RJ (1981). A single medium for the isolation of acetylene reducing (dinitrogen-fixing) bacteria from soils. Canadian Journal of Microbiology 27(1): 8-14. https://doi.org/10.1139/m81-002.

Restrepo-Correa SP, Pineda-Meneses EC, Ríos-Osorio LA (2017). Mecanismos de acción de hongos y bacterias empleados como biofertilizantes en suelos agrícolas: una revisión sistemática. Ciencia y Tecnología Agropecuaria 18(2): 335-351. http://dx.doi.org/10.21930/rcta.vol18_num2_art:635.

Restrepo-Franco GM, Marulanda-Moreno S, de la Fe-Pérez Y, Díaz-de la Osa A, Lucia-Baldani V, Hernández-Rodríguez A (2015). Bacterias solubilizadoras de fosfato y sus potencialidades de uso en la promoción del crecimiento de cultivos de importancia económica. Revista CENIC Ciencias Biológicas 46(1): 63-76.

Riah W, Laval K, Laroche-Ajzenberg E, Mougin C, Latour X, Trinsoutrot-Gattin I (2014). Effects of pesticides on soil enzymes: a review. Environmental Chemistry Letters 12(2): 257-273. https://doi.org/10.1007/s10311-014-0458-2.

Sánchez-López DB, Gómez-Vargas RM, Garrido Rubiano MF, Bonilla-Buitrago RR (2012). Inoculación con bacterias promotoras de crecimiento vegetal en tomate bajo condiciones de invernadero. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 3(7): 1401-1415.

Shen H, He X, Liu Y, Chen Y, Tan J, Guo T (2016). A complex inoculant of N_2-fixing, P- and K-solubilizing bacteria from a purple soil improves the growth of kiwi fruit (*Actinidia chinensis*) plantlets. Frontiers in Microbiology 7: 841. https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00841.

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

Zeng YH, Guo YW, Chen HT (2016). Study on the feather-degrading efforts of actinobacterium *Arthrobacter enclensis*, TCC-2 and its stimulating growth performance on organic lettuce. Research report of Taichung District Agricultural Improvement Center (131): 57-68.

(Aceptado para publicación el 4 de noviembre de 2021)