



Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Facultad de Químico Farmacobiología



“Respuesta de *Solanum lycopersicum* y *Lactuca sativa* a

***Xanthobacter autotrophicus* a diferentes niveles de fertilizante nitrogenado y fosforado”**

Tesis

para obtener el grado de Químico Farmacobiólogo

Presenta: pQFB. Gladis Oliva González Naranjo

Asesor: D.C. Juan Manuel Sánchez-Yáñez

Laboratorio de Microbiología Ambiental

Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Morelia, Michoacán agosto 2021

Agradecimientos

El impulso, amor, apoyo, confianza y paciencia de mis padres que día a día me brindaban hizo posible esta meta, gracias papás y hermano por siempre estar al pendiente de mis pasos, dejarme seguir mi sueño y por nunca dudar de mí, este logro es por y para ustedes.

A mi familia, que siempre estuvieron al pendiente de mi camino, de mis días malos y buenos, gracias por todo su amor y apoyo.

Gracias a Dios y a la vida por darme la oportunidad de estar y forjar este camino, por no dejarme, por bendecir cada uno de mis días, por darme a mi hermosa familia que sin ellos no sería la persona de hoy, gracias por poner a las personas correctas en el momento indicado que estuvieron para apoyarme, iluminar mis días e impulsarme a ser alguien cada vez mejor.

A mis amigas y amigos de escuela, de vida y de laboratorio, por acompañarme, por esas largas noches de estudio y apoyo gracias por hacer mucho más ameno este camino.

Gracias a mis maestros que con paciencia siempre me ayudaron

A mi asesor D.C. Juan Manuel Sánchez Yáñez, por compartir sus conocimientos, por guiarme y así poder culminar este sueño, muchas gracias

Se agradece también por el gran apoyo durante toda esta investigación a la Universidad de Harvard Cambridge, Ma, EUA y fundación Rockefeller (2021). Al proyecto 2.7 (2021) CIC-UMSNH y a BIONUTRA, SA de CV Maravatío, Michoacán, México.

| | |
|--|-----------|
| Índice | |
| Acrónimos | 6 |
| Resumen | 7 |
| Abstract | 8 |
| Introducción | 9 |
| Antecedentes | 10 |
| Objetivo | 12 |
| Materiales y métodos | 12 |
| Preparación de <i>Xanthobacter autotrophicus</i> | 12 |
| Condiciones del invernadero y del suelo | 12 |
| Montaje del experimento | 13 |
| Prueba de sensibilidad a antibióticos de <i>X. autotrophicus</i> por la técnica de Kirby-Bauer..... | 14 |
| Análisis cualitativo de la actividad de las fosfatasas de <i>X. autotrophicus</i> | 15 |
| Análisis cuantitativo de la actividad de las fosfatasas de <i>X. autotrophicus</i> | 15 |
| Resultados y discusión | 17 |
| Análisis fisicoquímico del suelo..... | 17 |
| Efecto de <i>X. autotrophicus</i> en la germinación y días de emergencia de <i>S. lycopersicum</i> y <i>L. sativa</i> | 18 |
| Respuesta de <i>S. lycopersicum</i> y <i>L. sativa</i> a <i>X. autotrophicus</i> en la fenología y biomasa a plántula...21 | |
| Respuesta de <i>S. lycopersicum</i> y <i>L. sativa</i> a <i>X. autotrophicus</i> en la fenología y biomasa a floración.24 | |
| Repuesta de <i>S. lycopersicum</i> a <i>X. autotrophicus</i> en la fenología y biomasa a madurez fisiológica ..25 | |
| Repuesta de <i>S. lycopersicum</i> a <i>X. autotrophicus</i> en el rendimiento | 26 |
| Prueba de sensibilidad a antibióticos de <i>X. autotrophicus</i> de <i>S. lycopersicum</i> por la técnica de Kirby-Bauer..... | 31 |
| Prueba de sensibilidad a antibióticos de <i>X. autotrophicus</i> de <i>L. sativa</i> por la técnica de Kirby-Bauer | 32 |
| Análisis cuantitativo de la actividad de las fosfatasas de <i>X. autotrophicus</i> de <i>S. lycopersicum</i> | 33 |
| Análisis cuantitativo de la actividad de las fosfatasas de <i>X. autotrophicus</i> de <i>L. sativa</i> | 34 |
| Conclusión | 37 |
| Bibliografía | 37 |

Índice de los cuadros

| | |
|--|----|
| Cuadro 1. Diseño experimental de la respuesta de <i>Solanum lycopersicum</i> y <i>Lactuca sativa</i> a <i>Xanthobacter autotrophicus</i> a diferentes niveles de fertilizante nitrogenado y fosforado..... | 17 |
| Cuadro 2. Análisis fisicoquímico del suelo de Uruapilla, Mich., México, para la respuesta de <i>Solanum lycopersicum</i> y <i>Lactuca sativa</i> a <i>Xanthobacter autotrophicus</i> a diferentes niveles de fertilizante nitrogenado y fosforado..... | 18 |
| Cuadro 3. Efecto de <i>Xanthobacter autotrophicus</i> en la germinación y días de emergencia de <i>Solanum lycopersicum</i> | 19 |
| Cuadro 4. Efecto de <i>Xanthobacter autotrophicus</i> en la germinación y días de emergencia de <i>Lactuca sativa</i> | 20 |
| Cuadro 5. Respuesta de <i>Solanum lycopersicum</i> a <i>Xanthobacter autotrophicus</i> a plántula 45 días después de siembra a diferentes niveles de fertilizante nitrogenado y fosforado..... | 23 |
| Cuadro 6. Respuesta <i>Lactuca sativa</i> a <i>Xanthobacter autotrophicus</i> a plántula 50 días después de siembra a diferentes niveles de fertilizante nitrogenado y fosforado..... | 24 |
| Cuadro 7. Respuesta de <i>Solanum lycopersicum</i> a <i>Xanthobacter autotrophicus</i> a floración 120 días después de siembra a diferentes niveles de fertilizante nitrogenado y fosforado..... | 27 |
| Cuadro 8. Actividad de las fosfatasaas ácidas y alcalinas de <i>Solanum lycopersicum</i> a floración, 120 días después de siembra al 25% de fertilizante nitrogenado y fosforado con y sin <i>Xanthobacter autotrophicus</i> | 28 |
| Cuadro 9. Actividad de las fosfatasaas ácidas y alcalinas de <i>Lactuca sativa</i> a plántula 50 días después de siembra al 25% de fertilizante nitrogenado y fosforado con y sin <i>Xanthobacter autotrophicus</i> | 28 |
| Cuadro 10. Respuesta de <i>Lactuca sativa</i> a <i>Xanthobacter autotrophicus</i> a floración 90 días después de siembra a diferentes niveles de fertilizante nitrogenado y fosforado..... | 29 |
| Cuadro 11. Respuesta de <i>Solanum lycopersicum</i> a <i>Xanthobacter autotrophicus</i> a madurez fisiológica 180 días después de siembra a diferentes niveles de fertilizante nitrogenado y fosforado | 30 |
| Cuadro 12. Respuesta del fruto de <i>Solanum lycopersicum</i> a <i>Xanthobacter autotrophicus</i> 180 días después de siembra a diferentes niveles de fertilizante nitrogenado y fosforado..... | 31 |
| Cuadro 13. Perfil de sensibilidad a antibióticos por la técnica Kirby-Bauer de <i>Xanthobacter autotrophicus</i> antes y después de inocular a <i>Solanum lycopersicum</i> a floración 120 días después de siembra al 25% de fertilizante nitrogenado y fosforado..... | 34 |
| Cuadro 14. Perfil de sensibilidad a antibióticos por la técnica Kirby-Bauer de <i>Xanthobacter autotrophicus</i> antes y después de inocular a <i>Lactuca sativa</i> a plántula 50 DDS al 25% de fertilizante nitrogenado y fosforado..... | 35 |

Índice de figuras

| | |
|--|----|
| Figura 1. Diseño de la Jarra de Leonard..... | 16 |
| Figura 2. Efecto de <i>Xanthobacter autotrophicus</i> en la germinación de <i>Solanum lycopersicum</i> , 7 días después de siembra..... | 20 |
| Figura 3. Efecto de <i>Xanthobacter autotrophicus</i> en la germinación de <i>Lactuca sativa</i> , 4 días después de siembra..... | 21 |
| Figura 4. Respuesta de <i>Solanum lycopersicum</i> a <i>Xanthobacter autotrophicus</i> a plántula a diferentes niveles de fertilizante nitrogenado y fosforado, 45 días después de siembra..... | 23 |
| Figura 5. Respuesta de <i>Lactuca sativa</i> a <i>Xanthobacter autotrophicus</i> a plántula con fertilizante nitrogenado al 25% y 100% de fosforado, 50 días después de siembra..... | 24 |
| Figura 6. Respuesta de <i>Solanum lycopersicum</i> a <i>Xanthobacter autotrophicus</i> a floración a diferentes niveles de fertilizante nitrogenado y fosforado, 120 días después de siembra..... | 27 |
| Figura 7. Respuesta de <i>Lactuca sativa</i> a <i>Xanthobacter autotrophicus</i> a floración a diferentes niveles de fertilizante nitrogenado y fosforado, 120 días después de siembra..... | 29 |
| Figura 8. Respuesta de <i>Solanum lycopersicum</i> a <i>Xanthobacter autotrophicus</i> a nivel madurez fisiológica, a diferentes niveles de fertilizante nitrogenado y fosforado, 180 días después de siembra..... | 30 |
| Figura 9. Efecto de <i>Xanthobacter autotrophicus</i> en el fruto de <i>Solanum lycopersicum</i> a diferentes niveles de fertilizante nitrogenado y fosforado..... | 31 |
| Figura 10. Actividad de las fosfatasa de <i>Xanthobacter autotrophicus</i> en agar con $\text{Ca}_2(\text{PO}_4)_2$, después de 72h de incubación..... | 33 |
| Figura 11. Perfil de sensibilidad a antibióticos por la técnica Kirby-Bauer de <i>X. autotrophicus</i> de <i>S. lycopersicum</i> | 35 |
| Figura 12. Perfil de sensibilidad a antibióticos por la técnica Kirby-Bauer de <i>X. autotrophicus</i> de <i>L. sativa</i> | 37 |

Acrónimos

| Acrónimo | Significado |
|-----------------|--|
| AP | Altura de la planta |
| BAPOCEVE | Bacterias promotoras del crecimiento vegetal |
| CA | Control absoluto |
| CR | Control relativo |
| DDS | Días después de sembrado |
| FEFO | Fertilizante fosforado |
| FENI | Fertilizante nitrogenado |
| LR | Longitud radical |
| PFA | Peso fresco aéreo |
| PFR | Peso fresco radical |
| PFT | Peso fresco total |
| PSA | Peso seco aéreo |
| PSR | Peso seco radical |
| SOMI | Solución mineral |

Resumen

En México, *Solanum lycopersicum* (jitomate) y *Lactuca sativa* (lechuga) demandan fertilizante nitrogenado (FENI) como NH_4NO_3 ; aplicado sin medida causa pérdida de la productividad del suelo, mientras que el fertilizante fosforado (FEFO) en forma de KH_2PO_4 y K_2HPO_4 , se vuelve no disponible para el sano crecimiento vegetal. Una alternativa para optimizar la dosis reducida de FENI sin afectar negativamente el crecimiento de *S. lycopersicum* y *L. sativa*, además de mejorarla capacidad de absorción del FEFO, es tratar las semillas con el género y especie de bacteria endófito promotora del crecimiento vegetal: *Xanthobacter autotrophicus*. El objetivo de esta investigación fue analizar la respuesta de *S. lycopersicum* y *L. sativa* a *X. autotrophicus* a niveles del 10% y 25% de FENI y FEFO. El experimento se realizó en invernadero, bajo un diseño experimental de bloques al azar con: 2 controles, 4 tratamientos y 9 repeticiones mediante las variables respuesta: porcentaje (%) de germinación; la fenología: altura de planta (AP) y longitud de raíz (LR); y la biomasa: peso fresco/seco aéreo (PFA/PSA) y radical (PFR/PSR) a plántula, a floración, a madurez fisiológica y el rendimiento en *S. lycopersicum*, de la misma forma en *L. sativa* a plántula y floración. Los datos experimentales se analizaron por ANOVA/Tukey HSD $p < 0.05$. Los resultados mostraron una respuesta positiva de *S. lycopersicum* a *X. autotrophicus* en el rendimiento con el FENI y el FEFO al 25% registró 4.6 Ton/ha lo que indica la actividad de la giberelina que indujo la fructificación, además de la auxina que optimizó el FENI y FEFO. A floración 90 DDS, *L. sativa* con *X. autotrophicus* con el FENI y el FEFO al 25% registraron los máximos valores numéricos en el PSA y PSR 0.89g y 0.39g que apoya una actividad de la auxina que indujo la cariocinesis y mitosis.

Palabras clave: FENI, FEFO, *S. lycopersicum*, *L. sativa*, *X. autotrophicus*

Abstract

In México, *Solanum Lycopersicum* (tomato) and *Lactuca sativa* (lettuce) demand nitrogen fertilizer (FENI) as NH_4NO_3 ; applied without measure causes loss of soil productivity, while phosphorous fertilizer (FEFO) in the form of KH_2PO_4 and K_2HPO_4 , becomes unavailable for healthy plant growth. An alternative to optimize the reduced dose of FENI without negatively affecting the growth of *S. Lycopersicum* and *L. sativa*, in addition to improving the absorption capacity of FEFO, is to treat the seeds with the genus and species of endophytic plant growth-promoting bacteria: *Xanthobacter autotrophicus*. The objective of this research was to analyze the response of *S. lycopersicum* and *L. sativa* to *X. autotrophicus* at levels of 0% and 25% of FENI and FEFO. The experiment was carried out in a greenhouse, under an experimental design of random blocks with: 2 controls, 4 treatments and 9 repetitions using the response variables: germination percentage (%); phenology: plant height (AP) and root length (LR); and biomass: aerial fresh / dry weight (PFA / PSA) and radical (PFR / PSR) at seedling, at flowering, at physiological maturity and yield in *S. lycopersicum*, in the same way in *L. sativa* at seedling and flowering. The experimental data were analyzed by ANOVA / Tukey HSD $p < 0.05$. The results showed a positive response of *S. lycopersicum* to *X. autotrophicus* in the yield with the FENI and the 25% FEFO registered 4.6 Ton / ha, which indicates the activity of gibberellin that induced fruiting, in addition to the auxin that it optimized. The FENI and FEFO at flowering 90 DDS, *L. sativa* with *X. autotrophicus* with FENI and 25% FEFO registered the maximum numerical values in PSA and PSR and PSR 0.89g and 0.39g that support an auxin activity that induced karyokinesis and mitosis.

Introducción

El sano crecimiento de *Solanum lycopersicum* (jitomate) y *Lactuca sativa* (lechuga) demandan fertilizante nitrogenado (FENI) en forma de NH_4NO_3 y fosforado (FEFO) aplicado como KH_2PO_4 y K_2HPO_4 . El FENI en exceso causa pérdida de la productividad del suelo (Kaleem *et al.*, 2007), pues altera la relación carbono/nitrógeno (C: N), porque acelera la mineralización de la materia orgánica, que es la reserva de C (Mohanty *et al.*, 2013), lo que reduce la capacidad de intercambio iónico, la capacidad de retención de agua (Tello y Vega 2015); con un decremento de la diversidad de población microbiana en consecuencia el deterioro del suelo (Rodríguez *et al.* 2015). En el suelo la aplicación de FEFO como PO_4^{3-} es poco soluble debido a la constante de solubilidad (Kps) limitada por un estrecho rango de pH cercano a 2.0 (Chen *et al.*, 2006; Beltrán, 2015). Esto es importante porque el pH del suelo generalmente es de neutro a ligeramente ácido, lo que disminuye drásticamente la disponibilidad de los PO_4^{3-} agregados con ello el sano crecimiento vegetal por lo que, aunque el FEFO se aplique al suelo, un pH neutro o alcalino causa que se precipiten (Naureen *et al.*, 2018; Liu *et al.*, 2010); condición que evita que se absorba por el sistema radical de *S. lycopersicum* y/o de *L. sativa* (Dissanayaka *et al.*, 2018). Una alternativa para optimizar la dosis reducida del FENI y absorber al máximo el FEFO aplicado para que no precipite; es inocular las semillas de *S. lycopersicum* y *L. sativa* con *Xanthobacter autotrophicus* un género y especie de bacteria endófito promotora del crecimiento vegetal (BAPOCEVE), que convierte exudados de semilla en fitohormonas como la giberelina, que induce la germinación temprana por activación de la α -amilasa que debilita el endospermo para una rápida emergencia, mientras que cuando las raíces se forman *X. autotrophicus* ingresa e invade la raíz, ahí transforma metabolitos de la fotosíntesis C3

en la fitohormona auxina (Vargas, 2010) que estimula la elongación radical (Alcántara *et al.*, 2019) con formación de raíces laterales que incrementan el área de exploración lo que optimiza la absorción del FENI, mientras que el FEFO se absorbe al máximo para prevenir que precipite el PO_4^{3-} que se agrega y se solubiliza el del suelo por medio de las fosfatasas ácida y/o alcalina de *X. autotrophicus* (Khan *et al.*, 2007; Chen *et al.*, 2006).

Una solución para reducir y optimizar la dosis del FENI que previene el impacto negativo de la hiperfertilización (Adesemoye *et al.*, 2009) mientras que se mejora la absorción del FEFO, es tratar las semillas de *S. lycopersicum* y *L. sativa* con *X. autotrophicus* con el FENI y el FEFO al 0% y 25%.

Antecedentes

Sánchez *et al.*, 2012 analizaron la respuesta de *S. lycopersicum* con *Enterobacter sp*, *Pseudomonas putida*, *Bacillus sp* individual con el FENI al 50% en invernadero en suelo pobre en NO_3^- y NH_4^+ . Las variables respuesta del experimento fueron: la fenología: altura de planta (AP) y longitud radical (LR); y la biomasa: peso seco aéreo (PSA) y peso seco radical (PSR). Los resultados mostraron que *S. lycopersicum* a *Enterobacter sp* y el FENI al 50% registró el máximo incremento en el PSR con un 23% respecto a *S. lycopersicum* sin *Enterobacter sp* con el FENI al 100% o CR.

Esquivel-Cote *et al.*, 2017 estudiaron la respuesta de *S. lycopersicum* a *Azospirillum sp*, *Azospirillum lipoferum*, *A. brasilense* individual con el FENI al 50% y 75 % en invernadero en suelo pobre en NO_3^- y NH_4^+ . Para lo que inocularon las semillas de *S. lycopersicum* individual y en mezcla con *Azospirillum sp*, *A. lipoferum*, *A. brasilense*. Analizaron las siguientes variables respuesta del

ensayo a los 122 DDS: la biomasa; PSA, PST y el peso fresco de frutos, los datos que se registraron se analizaron por DMS de Fisher $p < 0.05$. Los resultados indicaron que la respuesta de *S. lycopersicum* a *Azospirillum sp* con el FENI al 50% registró en el peso fresco total del fruto (PFT) un valor numérico de 1.7Kg de, con diferencia estadística en comparación con *S. lycopersicum* sin *Azospirillum sp* con el FENI al 100% o CR con 1.2Kg del PFT del fruto.

Cerna-Yamali *et al.*, 2018 evaluaron la respuesta de *L. sativa* a la mezcla de *Azotobacter chroococcum* y *Bradyrhizobium yuanmingense* en invernadero en un suelo con concentración mediana de NO_3^- y NH_4^+ y sin FENI. Las semillas desinfectadas de *L. sativa* se inocularon con *A. chroococcum* y *B. yuanmingense*. Las variables respuesta del experimento fueron: el número de hojas; la fenología; AP y LR; la biomasa; el PSA y el PST que se analizaron por un ANOVA/Duncan, $p < 0.05$. La respuesta de *L. sativa* a la mezcla de *A. chroococcum* y *B. yuanmingense* registraron los máximos valores numéricos en la biomasa con 1.05g de PSA y 1.36g de PST con diferencia estadística comparados con el 0.60g de PSA y 0.70g de PST de *L. sativa* sin *A. chroococcum* ni *B. yuanmingense*.

Espinosa-Palomeque *et al.*, 2019 reportaron la respuesta de *S. lycopersicum* a *B. licheniformis* en invernadero en un suelo pobre en NO_3^- y NH_4^+ con el 75% de FENI. Para ello, las semillas de *S. lycopersicum* se trataron con *B. licheniformis*. Las variables respuesta fue la biomasa; PSA y PSR; y el peso fresco total de frutos, los datos se sometieron a un ANOVA/Tukey $p < 0.05$. Los resultados mostraron un máximo peso fresco total de los frutos de la respuesta de *S. lycopersicum* a *B. licheniformis* con el 75% de FENI con 2.04kg, valor numérico estadísticamente distinto respecto al 1.11kg de *S. lycopersicum* sin *B. licheniformis* con el 100% de FENI o CR.

Jiménez *et al.*, 2020 reportaron la respuesta de *L. sativa* a *B. licheniformis*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas sp*, *Enterobacter cloacae* y *Azotobacter vinelandii* en invernadero en un suelo rico en NO_3^- y NH_4^+ en el FENI al 0%. Para lo cual, las semillas de *L. sativa* se inocularon con: A; B.

licheniformis, *P. putida*, *Pseudomonas sp* y *E. cloacae* o con B; con cepas de la parte A más *A. vinelandii*. Las variables respuesta del ensayo fueron: la biomasa; PSA y PSR, los datos se analizaron por ANOVA/ Tukey $p < 0.05$. Los resultados registraron una respuesta positiva de *L. sativa* al consorcio B con el FENI al 0% con un PSA de 300g un PSR de 20g estos valores numéricos fueron estadísticamente diferentes comparados con los 250g de PSA y 10g de PSR de *L. sativa* sin el consorcio B con el FENI al 100% o CR.

X. autotrophicus es útil para optimizar la absorción de NO_3^- , NH_4^+ disponibles; en cambio en los PO_4^{3-} por solubilización mediante fosfatasas; por lo anterior se espera un efecto positivo de *S. lycopersicum* y *L. sativa* a *X. autotrophicus* a optimizar el FENI y FEFO a dosis menores a las recomendadas.

Objetivo

Analizar la respuesta de *S. lycopersicum* y *L. sativa* a *X. autotrophicus* a dosis de FENI y de FEFO al 0% y 25%.

Materiales y métodos

Preparación de *Xanthobacter autotrophicus*

En el Laboratorio de Microbiología Ambiental, *X. autotrophicus* se activó en agar sin nitrato ni sacarosa (ASNNS) con la siguiente composición química (g/L): K_2HPO_4 1.0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5; KCl 0.5; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01, agar bacteriológico 18.0, pH ajustado a 7; las cajas se incubaron a 30 °C / 48 h (Sánchez-Yañez 2007).

Condiciones del invernadero y del suelo

Esta investigación se realizó en el invernadero del Laboratorio de Microbiología Ambiental del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la UMSNH, las condiciones microclimáticas son: temperatura de 23.2 °C, luminosidad de $450 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ y humedad relativa de 67%. Para

este ensayo se usó un suelo colectado a los 19° 37' 10" de latitud norte 101° 16' 41.999" de longitud oeste, con una altitud de 2013 m.s.n.m. de clima templado en un terreno agrícola denominado "Uruapilla" municipio de Morelia, sobre la carretera Morelia-Pátzcuaro, Mich, México, en el Cuadro 2 se muestran las propiedades fisicoquímicas del suelo.

Montaje del experimento

El suelo se tamizó con una malla del No. 20 posteriormente se solarizó a 70 °C/48 h para minimizar el problema de plagas y enfermedades (Tavera-Zavala *et al.*, 2017): como unidad experimental se usó una jarra de Leonard (Figura 1) que en el contenedor superior se colocó 1.0 kg de suelo; mientras que la solución mineral (SOMI) o agua en el reservorio de la parte inferior, ambas partes se conectaron por una tira de algodón de aproximadamente 20 cm de largo, para el movimiento del líquido por capilaridad al suelo (Romero-García *et al.*, 2016) según lo especificado en el Cuadro 1 del diseño experimental con 2 controles, 4 tratamientos y 9 repeticiones: *S. lycopersicum* o *L. sativa* sin *X. autotrophicus* irrigado con agua o control absoluto (CA); *S. lycopersicum* o *L. sativa* sin *X. autotrophicus* con el 100% de FENI y FEFO o CR; *S. lycopersicum* o *L. sativa* con *X. autotrophicus* y el FENI al 100% con el 25% de FEFO; *S. lycopersicum* o *L. sativa* con *X. autotrophicus* con el FENI al 25% y el FEFO al 100%; *S. lycopersicum* o *L. sativa* con *X. autotrophicus* con el FENI y FEFO al 25%; *S. lycopersicum* o *L. sativa* con *X. autotrophicus* sin FENI ni FEFO. Las semillas de *S. lycopersicum* y *L. sativa* se desinfectaron con NaClO al 0.1% por 3 minutos se lavaron 5 veces con agua estéril, después con alcohol al 70% por 3 minutos se lavaron 5 veces con agua estéril, posteriormente por cada 10 semillas de *S. lycopersicum* y *L. sativa* se inocularon con 0.3 mL de *X. autotrophicus* que se sembraron en el suelo (García-González *et al.*, 2005) de las jarras de Leonard ahí cada tercer día se alimentaron con una SOMI con la siguiente composición química (g/L): NH₄NO₃ 12.0; KH₂PO₄ 3.0; K₂HPO₄ 3.5; MgSO₄ 1.5; NaCl 0.1; CaCl₂ 0.1; FeSO₄ 0.5 y 1.5mL de solución de oligoelementos con la siguiente composición química (g/L): H₃BO₃ 2.86; ZnSO₄ •7H₂O 0.22; MnCl₂ •7H₂O 1.81; K₂MnO₄ 0.09 y pH ajustado a 6.8-7.0; las variables respuesta de esta

investigación de *S. lycopersicum* y *L. sativa* fueron la fenología: AP y LR; y la biomasa: PFA, PFR, PSA y PSR además del rendimiento de *S. lycopersicum*, a plántula, a floración, a maduración fisiológica de *S. lycopersicum*, a plántula, a floración en *L. sativa* (Sánchez-Yañez 2007).

Prueba de sensibilidad a antibióticos de *X. autotrophicus* por la técnica de Kirby-Bauer

Para demostrar que la respuesta positiva de *S. lycopersicum* fue por *X. autotrophicus*, mediante la técnica de Kirby-Bauer se obtuvo el perfil de sensibilidad a antibióticos de *X. autotrophicus*; antes (referencia) y después de inocular a *S. lycopersicum* donde *X. autotrophicus* se sembró en ASNNS se colocó un multidisco de antibióticos BIO-RAD con; Amikacina (AK) Ampicilina (AM), Carbenicilina (CB), Cefalotina (CF), Cefotaxima (CTX), Ceftriaxona (CRO), Cloranfenicol (CL), Gentamicina (GE), Netilmicina (NET), Nitrofurantoína (NF) Pefloxacina (PEF) y Trimetoprim-Sulfametoxazol (SXT) que se incubó a 30 °C/48 h; se midieron los halos de inhibición junto con los discos para después determinar la resistencia o sensibilidad de acuerdo con el método Kirby-Bauer, el perfil de sensibilidad a antibióticos que se obtuvo se usó como referencia, posteriormente se inoculó la semilla de *S. lycopersicum* con *X. autotrophicus* para que al llegar a floración 120 días DDS, se tomó la raíz, el tallo y las hojas que se desinfectaron con cloro 1% por 3 min se lavaron 5 veces con agua estéril, después se desinfectaron con alcohol 70% por 3 min se lavaron 7 veces con agua estéril se colocaron en un mortero estéril se maceraron con 10 mL de solución salina detergente 0.9%-0.1% estéril, de ahí se tomó 1.0mL con un hisopo estéril que se sembró en ASNNS luego se colocó el multidisco de antibióticos BIO-RAD, las placas se incubaron a 30 °C /48 h se midieron los halos de inhibición de acuerdo con el método Kirby-Bauer, obtenidos estos perfiles de sensibilidad a antibióticos se compararon con el perfil de sensibilidad a antibióticos de *X. autotrophicus* antes de inocular a *S. lycopersicum*; para demostrar la presencia de *X. autotrophicus* en *L. sativa* se obtuvo un perfil de sensibilidad a antibióticos de *X. autotrophicus* antes (referencia) y después de inocular *L. sativa* a plántula en la raíz, el tallo y las hojas, se llevó a cabo también la

técnica Kirby-Bauer que se realizó de la misma manera descrita anteriormente para *S. lycopersicum*, obtenidos ahí los perfiles de sensibilidad a antibióticos de la raíz, el tallo y las hojas de *L. sativa* se compararon el perfil de sensibilidad a antibióticos de *X. autotrophicus* antes de inocular a *S. lycopersicum* o referencia (Long *et al.*, 2008; Surette *et al.*, 2003).

Análisis cualitativo de la actividad de fosfatasas de *X. autotrophicus*

Para determinar si *X. autotrophicus* sintetiza fosfatasa se empleó el método de Nautiyal (1999), para ello *X. autotrophicus* se activó en agar PO_4^{3-} cuya composición química fue la siguiente (g/L): 10.0 $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$; 5.0 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$; 5.0 $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; 0.025 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0.2 KCl; 0.1 $(\text{NH}_4)\text{SO}_4$; 0.05 azul de bromotimol; 20.0 agar bacteriológico pH ajustado a 7, se incubó a 28 °C / 48 h (Gómez *et al.*, 2014) se observó cada 12 h a las 72h se detectó un halo transparente alrededor de la colonia (Figura 12) que indicó liberación de PO_4^{3-} por fosfatasas de (Pérez-Cordero, *et al.*, 2014).

Análisis cuantitativo de la actividad de fosfatasas de *X. autotrophicus*

Para evaluar la actividad de las fosfatasas ácida y alcalina de *X. autotrophicus* en *S. lycopersicum* se realizó indirectamente por liberación de PO_4^{3-} del p-nitrofenilfosfato mediante el método de Gómez-Guiñán (2004), para ello se preparó: una solución salina detergente 0.9%-0.1% como control absoluto; se tomaron las raíces y el tallo de *S. lycopersicum* con y sin *X. autotrophicus* a floración a 120 DDS que se desinfectaron con cloro 1% por 3 min se lavaron 5 veces con agua estéril, luego con alcohol 70% por 3 min, se lavaron 7 veces con agua estéril, se pasaron a un mortero estéril se maceraron con 10 mL de solución salina detergente 0.9%-1% estéril, se tomaron 5mL, se agregaron 45mL de agua destilada estéril con 20mL de amortiguador ajustado a pH de 5.5 para la determinación de la fosfatasa ácida y 9.0 para la alcalina, la mezcla se homogeneizó a 800rpm/30segundos luego se usaron 3mL de la suspensión a la que se le añadió 1mL de p-nitrofenilfosfato (0.025M) se dejaron por 3h/37°C, se centrifugaron a 2000rpm/10min a 0.5mL del

sobrenadante se le agregó 4.5mL de NaOH (0.5M), el p-nitrofenol liberado se midió en espectrofotómetro a 410nm (Gómez-Guiñán 2004) que de manera indirecta se detectó la liberación de los PO_4^{3-} del p-nitrofenilfosfato por las fosfatasas ácida/alcalina de *X. autotrophicus*, *S. lycopersicum*; al mismo tiempo se evaluó la actividad de ambas fosfatasas en *L. sativa* por el método de Gómez-Guiñán (2004), sólo que en este caso se tomó: solución salina detergente 0.9%-0.1% como control absoluto, raíz y tallo de *L. sativa* con y sin *X. autotrophicus* a plántula a 50 DDS donde también ahí se midió el p-nitrofenol liberado en un espectrofotómetro a 410nm (Gómez-Guiñán 2004) que de forma indirecta indicó que ambas fosfatasas en *L. sativa* liberaron PO_4^{3-} a partir del p-nitrofenilfosfato, los datos experimentales se analizaron por la prueba estadística ANOVA/ Tukey HSD $p < 0.05$ con Statgraphics Centurion XVI.I (Gómez-Guiñán 2004).



Figura 1. Diseño de la jarra de Leonard (Sánchez-Yáñez, 2007).

Cuadro 1. Diseño experimental de la respuesta de *Solanum lycopersicum* y *Lactuca sativa* a *Xanthobacter autotrophicus* a diferentes niveles de fertilizante nitrogenado y fosforado.

| <i>S. lycopersicum/L. sativa</i> * | Agua | FENI | FEFO | <i>X. autotrophicus</i> |
|------------------------------------|------|------|------|-------------------------|
| Control absoluto (CA) | + | - | - | - |
| Control relativo (CR) | - | 100% | 100% | - |
| Tratamiento 1 | - | 100% | 25% | + |
| Tratamiento 2 | - | 25% | 100% | + |
| Tratamiento 3 | - | 25% | 25% | + |
| Tratamiento 4 | - | 0% | 0% | + |

(+) aplicado; (-) no aplicado; *n=9 repeticiones

Resultados y discusión

Análisis fisicoquímico del suelo

En el Cuadro 2 se muestran las propiedades fisicoquímicas del suelo con base en la NOM-021-RECNAT-2000; se determinó el pH ácido de 5.75, un alto contenido en materia orgánica de 10.44%, con una textura: arcilla 31.08%, limo 42.00% y arena 26.92% que se clasificó como suelo franco-arcilloso con una concentración media de N total 0.32%, un alto contenido de NO_3^- de 244.16 ppm y de PO_4^{3-} con 219.34 ppm (Sánchez-Yañez 2007).

Cuadro 2. Análisis fisicoquímico de suelo de Uruapilla, Mich., México, para la respuesta de *Solanum lycopersicum* y *Lactuca sativa* a *Xanthobacter autotrophicus* a diferentes niveles de fertilizante nitrogenado y fosforado.

| Parámetro | Valor | Interpretación |
|--|------------------------------|------------------|
| pH (1:2) | 5.75 | ácido |
| Materia orgánica (%) | 10.44 | alto |
| Capacidad de intercambio catiónico (Cmol/Kg) | 11.16 | bajo |
| Conductividad eléctrica 1:2 (H ₂ O) (mS/cm) | 0.91 | bajo |
| Textura (%) | 31.08(AC)-42.00(L)-26.92(AR) | franco-arcilloso |
| Densidad aparente (g/cm ³) | 0.72 | bajo |
| Nitrógeno total (%) | 0.32 | medio |
| Nitrógeno nítrico (ppm) | 244.16 | alto |
| Fósforo (forma de PO ₄ ⁻ ppm) | 219.34 | alto |
| Humedad aprovechable (%) | 13.25 | bajo |

AR: arena; L: limo; AC: arcilla

Efecto de *X. autotrophicus* en la germinación y días de emergencia de *S. lycopersicum* y *L. sativa*

En el Cuadro 3 y Figura 2, se observa el efecto positivo de *X. autotrophicus* sobre la germinación y días de emergencia con un menor tiempo de 4 días con un 71% de germinación; comparado con *S. lycopersicum* sin *X. autotrophicus* o CR que tuvo una germinación del 51% en 6 días de emergencia probablemente por la insuficiente concentración de la fitohormona giberelina, en contraste con la respuesta de *S. lycopersicum* a *X. autotrophicus* con el tiempo menor de emergencia probablemente porque había una mayor concentración de giberelina generada por *X. autotrophicus* a partir de exudados de semilla esta fitohormona activó la α -amilasa que hidrolizó el almidón, con ello debilitó el endosperma para una emergencia temprana (Lara-Núñez *et al.*, 2011), Luna *et al.*, (2013)

reportaron resultados similares en la respuesta de *Capsicum annuum* a *Bacillus sp* con un aumento en el por ciento de germinación en comparación con *C. annuum* sin *Bacillus sp* (Lara-Núñez *et al.*, 2011).

En el Cuadro 4 y Figura 3, se muestra el efecto de *X. autotrophicus* sobre la germinación y días de emergencia de *L. sativa* registró un 79.0% de germinación en 4 días; este hecho apoya que fue por una giberelina generada por *X. autotrophicus* a partir de los exudados de semilla que aceleraron la emergencia en contraste con *L. sativa* sin *X. autotrophicus* o CR con un tiempo de emergencia de 7 días y un 65% de germinación, por lo que hubo menor concentración de giberelina y en consecuencia menor porcentaje de germinación y tiempo de emergencia (Sadsk *et al.*, 2016).

Cuadro 3. Efecto de *Xanthobacter autotrophicus* en la germinación y días de emergencia de *Solanum lycopersicum*.

| Tratamiento/ <i>S. lycopersicum</i> * | Días de emergencia | Germinación (%) |
|---|--------------------|-----------------|
| Agua (control absoluto) | 7 ^{d**} | 68 ^b |
| Fertilizante nitrogenado (FENI) y fosforado (FEFO) al 100% (control relativo) | 6 ^c | 51 ^e |
| Suelo con FENI al 100% y FEFO al 25% | 4 ^a | 54 ^d |
| Suelo con FENI al 25% y FEFO al 100% | 4 ^a | 60 ^c |
| Suelo con FENI y FEFO al 25% | 5 ^b | 60 ^c |
| Suelo con FENI y FEFO al 0% | 4 ^a | 71 ^a |

*n=6 repeticiones, **letras distintas indican diferencia estadística (p<0,05) según Tukey.



Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo
Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas
Laboratorio de Microbiología Ambiental



Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo
Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas
Laboratorio de Microbiología Ambiental

Efecto de *Xanthobacter autotrophicus* en la germinación de semillas de *Solanum Lycopersicum*

Responsable. González Naranjo Gladis Oliva

Germinación de semillas de *Solanum lycopersicum* sin inocular ni fertilización nitrogenada ni fosforada irrigada con agua

Responsable. González Naranjo Gladis Oliva

Figura 2. Efecto de *Xanthobacter autotrophicus* en la germinación de *Solanum lycopersicum*, 7 días después de siembra.

Cuadro 4. Efecto de *Xanthobacter autotrophicus* en la germinación y días de emergencia de *Lactuca sativa*.

| Tratamiento/ <i>L. sativa</i> * | Días de emergencia | Germinación (%) |
|---|--------------------|-----------------|
| Agua (control absoluto) | 6 ^{c**} | 57 ^c |
| Fertilizante nitrogenado (FENI) y fosforado (FEFO) al 100% (control relativo) | 7 ^d | 65 ^b |
| Suelo con FENI al 100% y FEFO al 25% | 4 ^a | 73 ^a |
| Suelo con FENI al 25% y FEFO al 100% | 4 ^a | 76 ^a |
| Suelo con FENI y FEFO al 25% | 5 ^b | 74 ^a |
| Suelo con FENI y FEFO al 0% | 4 ^a | 79 ^a |

*n=6 repeticiones, **letras distintas indican diferencia estadística (p<0,05) según Tukey.



Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo
Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas
Laboratorio de Microbiología Ambiental



Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo
Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas
Laboratorio de Microbiología Ambiental

Efecto de *Xanthobacter autotrophicus* en la germinación de semillas de *Lactuca sativa*

Responsable. González Naranjo Gladis Oliva

Germinación de semillas de *Lactuca sativa* sin inocular ni fertilización nitrogenada ni fosforada irrigada con agua

Responsable. González Naranjo Gladis Oliva

Figura 3. Efecto de *Xanthobacter autotrophicus* en la germinación de *Lactuca sativa*, 4 días después de siembra.

Respuesta de *S. lycopersicum* y *L. sativa* a *X. autotrophicus* en la fenología y biomasa a plántula

En el Cuadro 5 y Figura 4 se presenta la respuesta positiva de *S. lycopersicum* a *X. autotrophicus* a plántula 45 días DDS con el FENI y FEFO al 25 % con 10.5cm de AP, 6.3cm de LR valores numéricos sin diferencia estadística comparados con los 10.1cm de AP y 5.9cm de LR de la respuesta benéfica de *S. lycopersicum* a *X. autotrophicus* con el FENI y FEFO al 0%, de acuerdo al análisis fisicoquímico del suelo contenía una alta concentración de NO_3^- con 244.26ppm y PO_4^{3-} con 219.34ppm, lo que apoya que fueron suficientes para la demanda nutricional de ambos aniones en la planta (Foth y Ellis 1997) además fueron absorbidos al máximo por un incremento en la densidad radical por la fitohormona auxina (Mok y Mok, 2001) de *X. autotrophicus* a diferencia de *S. lycopersicum* sin *X. autotrophicus* con el FENI y FEFO al 100% o CR que registró 8.1cm de AP, 4.6cm de LR que a pesar de que la dosis de FENI y FEFO fue mayor esta no se absorbe adecuadamente; respecto al PSA la respuesta de *S. lycopersicum* a *X. autotrophicus* con el FENI y FEFO al 25% registró 0.044g y de PSR 0.0014g valores numéricos con diferencia estadística comparados con los análogos de *S. lycopersicum* sin *X. autotrophicus* con el FENI y FEFO al 100%

o CR con un PSA de 0.044g y 0.0014g de PSR, lo que indica que el NH_4^+ del FENI incrementó el pH del suelo, lo que en un exceso causa desnaturalización proteica de algunas enzimas que participan en degradación de sustancias perjudiciales que al acumularse provocan fitotoxicidad (Varnero *et al.*, 2007; Paungfoo *et al.*, 2019).

En el Cuadro 6 y Figura 5 se observa la respuesta positiva de *L. sativa* a *X. autotrophicus* a plántula 50 DDS con el FENI al 25% y el FEFO al 100% donde *L. sativa* alcanzó los máximos valores de AP con 10.7cm y 12.5cm de LR, respecto al PSA registró un 0.18g y un PSR de 0.16g valores numéricos con diferencia estadística comparados a los 7.0cm de AP, 8.5cm de LR, 0.04g de PSA y 0.013g de PSR de la respuesta de *L. sativa* a *X. autotrophicus* con el FENI al 100% ya que indica que la concentración de NO_3^- y NH_4^+ fue tóxica (Foth y Ellis 1997) para *L. sativa* ya que alteran el pH del suelo lo que a valores muy bajos o altos de pH causa desnaturalización de enzimas importantes en procesos del crecimiento vegetal lo que repercute en un efecto negativo en la fenología y biomasa (Paungfoo *et al.*, 2019) dichos valores numéricos de fenología y biomasa de la respuesta de *L. sativa* a *X. autotrophicus* con el FENI al 25% y el FEFO al 100% registraron diferencia estadística en comparación con *L. sativa* sin *X. autotrophicus* con el FENI y FEFO al 100% o CR con 7.2cm y 7.4cm de LR, en tanto al PFA registró 0.29g y 0.02g de PSA, que indica que un exceso de FENI es fitotóxico en el crecimiento de *L. sativa* (Moreno *et al.*, 2018) ya que el NH_4^+ en altas concentraciones aumenta el pH del suelo lo que inhibe o retarda algunos sistemas enzimáticos importantes para el crecimiento vegetal debido a la desnaturalización de ciertas enzimas (Varnero *et al.*, 2007; Paungfoo *et al.*, 2019).

Cuadro 5. Respuesta de *Solanum lycopersicum* a *Xanthobacter autotrophicus* a plántula 45 días después de siembra a diferentes niveles de fertilizante nitrogenado y fosforado.

| Tratamiento/ <i>S. lycopersicum</i> * | Altura de planta (cm) | Longitud radical (cm) | Peso fresco (g) | | Peso seco (g) | |
|---|-----------------------|-----------------------|-------------------|--------------------|--------------------|---------------------|
| | | | aéreo | radical | aéreo | radical |
| Agua (control absoluto) | 11.0 ^{a**} | 4.5 ^b | 0.21 ^a | 0.008 ^b | 0.045 ^a | 0.0010 ^a |
| Fertilizante nitrogenado (FENI) y fosforado (FEFO) al 100% (control relativo) | 8.1 ^b | 4.6 ^b | 0.10 ^b | 0.002 ^c | 0.024 ^b | 0.0008 ^b |
| Suelo con FENI al 100% y FEFO al 25% | 7.9 ^c | 4.9 ^b | 0.08 ^c | 0.001 ^c | 0.006 ^c | 0.0006 ^b |
| Suelo con FENI al 25% y FEFO al 100% | 10.4 ^a | 6.1 ^a | 0.10 ^b | 0.004 ^c | 0.034 ^a | 0.0009 ^a |
| Suelo con FENI y FEFO al 25% | 10.5 ^a | 6.3 ^a | 0.13 ^b | 0.013 ^a | 0.044 ^a | 0.0014 ^a |
| Suelo con FENI y FEFO al 0% | 10.1 ^a | 5.9 ^a | 0.07 ^c | 0.001 ^c | 0.005 ^c | 0.0005 ^b |

*n=6 repeticiones, **letras distintas indican diferencia estadística (p<0,05) según Tukey.

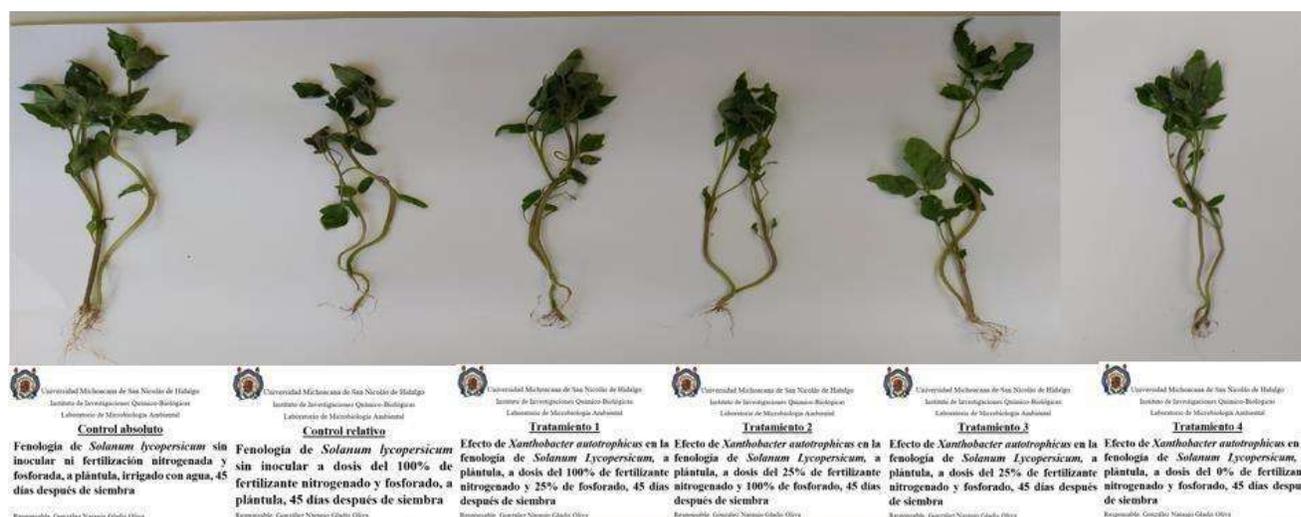


Figura 4. Respuesta de *Solanum lycopersicum* a *Xanthobacter autotrophicus* a plántula a diferentes niveles de fertilizante nitrogenado y fosforado, 45 días después de siembra.

Cuadro 6. Respuesta de *Lactuca sativa* a *Xanthobacter autotrophicus* a plántula 50 días después de siembra a diferentes niveles de fertilizante nitrogenado y fosforado.

| Tratamiento/ <i>L. sativa</i> * | Altura de planta (cm) | Longitud radical (cm) | Peso fresco (g) | | Peso seco (g) | |
|---|-----------------------|-----------------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | | | aéreo | radical | aéreo | radical |
| Agua (control absoluto) | 5.0 ^{c**} | 7.47 ^b | 0.14 ^b | 0.043 ^b | 0.013 ^c | 0.004 ^c |
| Fertilizante nitrogenado (FENI) y fosforado (FEFO) al 100% (control relativo) | 7.2 ^b | 7.4 ^b | 0.29 ^b | 0.09 ^b | 0.02 ^c | 0.006 ^c |
| Suelo con FENI al 100% y FEFO al 25% | 7.0 ^b | 8.5 ^b | 0.32 ^b | 0.06 ^b | 0.04 ^b | 0.013 ^a |
| Suelo con FENI al 25% y FEFO al 100% | 10.7 ^a | 12.5 ^a | 0.88 ^a | 0.18 ^a | 0.06 ^a | 0.016 ^a |
| Suelo con FENI y FEFO al 25% | 4.2 ^d | 11.6 ^a | 0.20 ^b | 0.09 ^b | 0.04 ^b | 0.010 ^b |
| Suelo con FENI y FEFO al 0% | 5.0 ^c | 9.9 ^b | 0.11 ^b | 0.03 ^b | 0.03 ^b | 0.009 ^b |

*n=6 repeticiones, **letras distintas indican diferencia estadística (p<0,05) según Tukey.

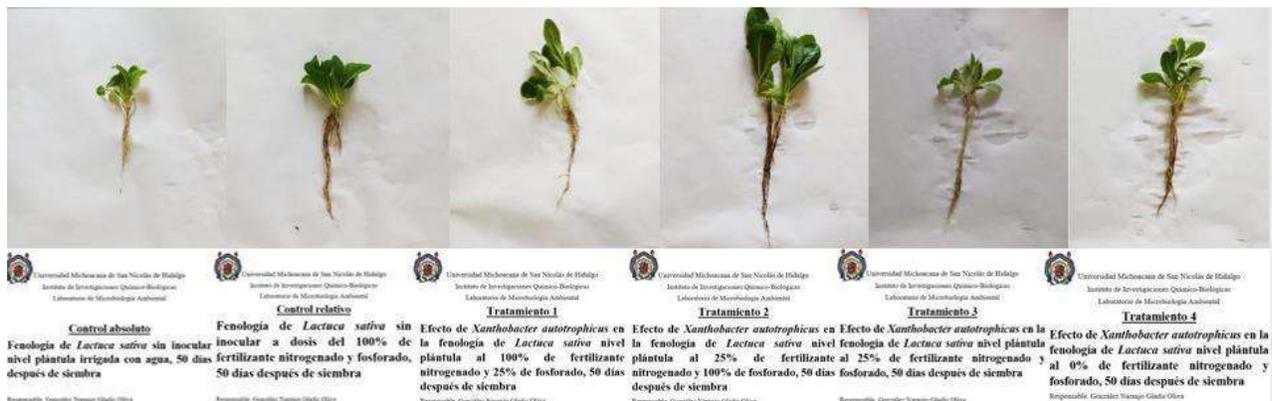


Figura 5. Respuesta de *Lactuca sativa* a *Xanthobacter autotrophicus* a plántula con fertilizante nitrogenado al 25% y 100% de fosforado, 50 días después de siembra.

Respuesta de *S. lycopersicum* y *L. sativa* a *X. autotrophicus* en la fenología y biomasa a floración

En el Cuadro 7 y Figura 6 se muestra la respuesta positiva de *S. lycopersicum* a *X. autotrophicus* a floración 120DDS con el FENI al 25% y el FEFO al 100% *S. lycopersicum* alcanzó 32.0cm de AP, un PSA de 1.15g y 0.29g de PSR; lo que indica la acción de una auxina en el interior de raíz sintetizada por *X. autotrophicus* a partir de compuestos de la fotosíntesis C3 (Ljung, 2013) que provocaron un aumento en la densidad radical (Sánchez et al., 2012) para la máxima optimización del FENI al 25%, los pasados valores numéricos de fenología y biomasa de la respuesta de *S. lycopersicum* a *X. autotrophicus* con el FENI al 25% y el

FEFO al 100% mostraron diferencia estadística en comparación con los 28.6cm de AP, 0.69g de PSA y 0.17g de PSR de *S. lycopersicum* sin *X. autotrophicus* con el FENI y el FEFO al 100% o CR, lo anterior indica que la dosis recomendada de FENI/FEFO no fue absorbida adecuadamente por *S. lycopersicum* (Espinosa- Palomeque *et al.* 2019).

En el Cuadro 10 y Figura 7, se presenta la respuesta benéfica de *L. sativa* a *X. autotrophicus* a floración 90 DDS con el FENI y FEFO al 25%, ahí *L. sativa* registró 12.3cm de AP y 25.4cm de LR, en el PSA alcanzó 0.89g y 0.39g de PSR; debido a un mayor número de células en las raíces por la auxina (Rojas-Solís *et al.*, 2015) de la conversión de metabolitos de la fotosíntesis C3 por *X. autotrophicus* que optimizó el FENI; los anteriores valores numéricos de fenología y biomasa de la respuesta de *L. sativa* a *X. autotrophicus* con el FENI y FEFO al 25% mostraron diferencia estadística en comparación con los 10.3cm de AP, 14.8cm de LR, 0.30g de PSA y 0.08 de PSR de *L. sativa* sin *X. autotrophicus* con el FENI y el FEFO al 100% o CR, lo anterior indica que la dosis del 100% de FENI y FEFO no se aprovechó totalmente por *L. sativa* comparado con la respuesta de *L. sativa* a *X. autotrophicus* con el FENI y FEFO al 25% (Cerna-Yamali *et al.*, 2018).

Respuesta de *S. lycopersicum* a *X. autotrophicus* en la fenología y biomasa a madurez fisiológica

En el Cuadro 11 y Figura 8, se observa la respuesta positiva de *S. lycopersicum* a *X. autotrophicus* a madurez fisiológica 180 DDS con el FENI y el FEFO al 25% ahí *S. lycopersicum* registró una AP de 86.8cm, 35.1cm de LR, en tanto al PSA alcanzó 13.2g con 5.6g de PSR; lo anterior indica que desde el interior de las raíces de *S. lycopersicum*; *X. autotrophicus* transformó compuestos de la fotosíntesis C3 en auxina, la que incrementó el área de exploración radical para la máxima optimización del FENI al 25% (Cerna-Yamali *et al.*, 2018) con un aumento de absorción del FEFO al 25% que evitó que precipite (López-Arredondo *et al.*, 2014); los pasados valores numéricos de

fenología y biomasa de la respuesta de *S. lycopersicum* a *X. autotrophicus* con el FENI y el FEFO al 25% registraron diferencia estadística comparados con los valores numéricos de *S. lycopersicum* sin *X. autotrophicus* con el FENI y el FEFO al 100% o CR con 70.0 cm de AP, 32.5cm de LR, además un 6.2g de PSA y 2.4g de PSR, esto indica que la dosis recomendada de FENI y el FEFO al 100% no fueron absorbidos totalmente (Rojas-Solís *et al.*, 2015).

En el Cuadro 12 y Figura 9, se presenta la respuesta benéfica de *S. lycopersicum* a *X. autotrophicus* en el rendimiento 180 DDS con el FENI y el FEFO al 25% que registró los máximos valores numéricos del PFT del fruto con 470 g y 470g 4.7Ton/ha de rendimiento; lo anterior indica que *X. autotrophicus* sintetizó giberelina para el máximo número de flores con un mayor número de frutos (Alcántara *et al.*, 2019) de *S. lycopersicum* (Ozga y Reinecke 2003) además de que estos valores de PFT y rendimiento sin diferencia estadística respecto a la respuesta de *S. lycopersicum* a *X. autotrophicus* con el FENI al 100% así como con el FEFO al 100% esto indica que la dosis del FENI y FEFO al 25% fue la necesaria para el máximo rendimiento del fruto de *S. lycopersicum* (Esquivel-Cote *et al.*, 2017) esto apoya que se optimizó el FENI como el FEFO (Martín *et al.*, 2016) en comparación con *S. lycopersicum* sin *X. autotrophicus* con el FENI y FEFO al 100% o CR con 0.342kg de PFT de los frutos y 3.42Ton/ha de rendimiento, lo que indica que el FENI y el FEFO al 100% no fueron aprovechados totalmente por *S. lycopersicum* (Rodríguez, 1999); estos efectos positivos de *X. autotrophicus* en el PFT del fruto y rendimiento de *S. lycopersicum* coinciden con lo reportado por Espinosa-Palomeque *et al.*, (2019) que señalaron un incremento del 83% en el rendimiento de *S. lycopersicum* con *Bacillus paralicheniformis* con el FENI al 25% comparado con *S. lycopersicum* sin *B. paralicheniformis* con el FENI al 100% (Esquivel-Cote *et al.*, 2017).

Cuadro 7. Respuesta de *Solanum lycopersicum* a *Xanthobacter autotrophicus* a floración 120 días después de siembra a diferentes niveles de fertilizante nitrogenado y fosforado.

| Tratamiento/ <i>S. lycopersicum</i> * | Altura de planta (cm) | Longitud radical (cm) | Peso fresco (g) | | Peso seco (g) | |
|---|-----------------------|-----------------------|------------------|------------------|-------------------|-------------------|
| | | | aéreo | radical | aéreo | radical |
| Agua (control absoluto) | 17.3 ^{c**} | 13.9 ^c | 1.6 ^c | 0.7 ^c | 0.14 ^c | 0.04 ^c |
| Fertilizante nitrogenado (FENI) y fosforado (FEFO) al 100% (control relativo) | 28.6 ^b | 26.2 ^a | 6.3 ^b | 4.3 ^a | 0.69 ^b | 0.17 ^b |
| Suelo con FENI al 100% y FEFO al 25% | 17.5 ^c | 13.8 ^c | 2.8 ^c | 0.5 ^c | 0.29 ^c | 0.04 ^c |
| Suelo con FENI al 25% y FEFO al 100% | 32.0 ^a | 21.6 ^a | 9.8 ^a | 3.3 ^a | 1.15 ^a | 0.29 ^a |
| Suelo con FENI y FEFO al 25% | 24.6 ^b | 15.9 ^b | 4.4 ^b | 1.5 ^b | 0.95 ^a | 0.15 ^b |
| Suelo con FENI y FEFO al 0% | 25.3 ^b | 23.3 ^a | 7.3 ^a | 5.0 ^a | 0.93 ^a | 0.38 ^a |

*n=6 repeticiones, **letras distintas indican diferencia estadística (p<0,05) según Tukey.



Figura 6. Respuesta de *Solanum lycopersicum* a *Xanthobacter autotrophicus* a floración a diferentes niveles de fertilizante nitrogenado y fosforado, 120 días después de siembra.

Cuadro 8. Actividad de las fosfatasas ácidas y alcalinas de *Solanum lycopersicum* a floración, 120 días después de siembra al 25% de fertilizante nitrogenado y fosforado con y sin *Xanthobacter autotrophicus*.

| <i>S. lycopersicum</i> * | | p-nitrofenol liberado (µg/mL) | p-nitrofenol liberado (mmoles/L) |
|-------------------------------------|----------|-------------------------------|----------------------------------|
| Solución salina (control absoluto) | ácida | - | - |
| | alcalina | - | - |
| Tallo sin inocular | ácida | 0.45 ^{t**} | 0.003 ^t |
| | alcalina | 0.13 ^t | 0.001 ^t |
| Raíz sin inocular | ácida | 1.49 ^e | 0.010 ^e |
| | alcalina | 0.16 ^f | 0.001 ^f |
| <i>X. autotrophicus</i> en el tallo | ácida | 140.22 ^c | 1.009 ^c |
| | alcalina | 102.66 ^d | 0.739 ^d |
| <i>X. autotrophicus</i> en la raíz | ácida | 222.48 ^a | 1.600 ^a |
| | alcalina | 170.52 ^b | 1.227 ^b |
| <i>X. autotrophicus</i> de tallo | ácida | 139.77 ^c | 1.006 ^c |
| | alcalina | 102.53 ^d | 0.738 ^d |
| <i>X. autotrophicus</i> de raíz | ácida | 220.99 ^a | 1.590 ^a |
| | alcalina | 170.36 ^b | 1.226 ^b |

*n=3 repeticiones, **letras distintas indican diferencia estadística (p<0,05) según Tukey.

Cuadro 9. Actividad de las fosfatasas ácidas y alcalinas de *Lactuca sativa* a plántula 50 días después de siembra al 25% de fertilizante nitrogenado y fosforado con y sin *Xanthobacter autotrophicus*.

| <i>L. sativa</i> * | | p-nitrofenol liberado (µg/mL) | p-nitrofenol liberado (mmoles/L) |
|------------------------------------|----------|-------------------------------|----------------------------------|
| Solución salina (control absoluto) | ácida | - | - |
| | alcalina | - | - |
| Raíz sin inocular | ácida | 0.64 ^c | 0.005 ^c |
| | alcalina | 0.38 ^c | 0.003 ^c |
| <i>X. autotrophicus</i> en la raíz | ácida | 75.06 ^a | 0.540 ^a |
| | alcalina | 1.72 ^b | 0.012 ^b |
| <i>X. autotrophicus</i> de raíz | ácida | 74.68 ^a | 0.537 ^a |
| | alcalina | 1.08 ^b | 0.007 ^b |

*n=3 repeticiones, **letras distintas indican diferencia estadística (p<0,05) según Tukey.

Cuadro 10. Respuesta de *Lactuca sativa* a *Xanthobacter autotrophicus* a floración 90 días después de siembra a diferentes niveles de fertilizante nitrogenado y fosforado.

| Tratamiento/ <i>L. sativa</i> * | Altura de planta (cm) | Longitud radical (cm) | Peso fresco (g) | | Peso seco (g) | |
|---|-----------------------|-----------------------|--------------------|------------------|-------------------|-------------------|
| | | | aéreo | radical | aéreo | radical |
| Agua (control absoluto) | 8.0 ^{d**} | 11.9 ^e | 1.4 ^{d**} | 0.6 ^d | 0.13 ^d | 0.07 ^c |
| Fertilizante nitrogenado (FENI) y fosforado (FEFO) al 100% (control relativo) | 10.3 ^b | 14.8 ^d | 3.4 ^c | 0.7 ^d | 0.30 ^c | 0.08 ^c |
| Suelo con FENI al 100% y FEFO al 25% | 11.0 ^b | 20.2 ^b | 6.3 ^b | 2.6 ^b | 0.75 ^a | 0.31 ^a |
| Suelo con FENI al 25% y FEFO al 100% | 14.0 ^a | 21.9 ^b | 6.6 ^b | 3.1 ^a | 0.82 ^a | 0.38 ^a |
| Suelo con FENI y FEFO al 25% | 12.3 ^a | 25.4 ^a | 8.3 ^a | 3.5 ^a | 0.89 ^a | 0.39 ^a |
| Suelo con FENI y FEFO al 0% | 9.0 ^c | 18.5 ^c | 3.6 ^c | 1.5 ^c | 0.41 ^b | 0.23 ^b |

*n=6 repeticiones, **letras distintas indican diferencia estadística (p<0,05) según Tukey.

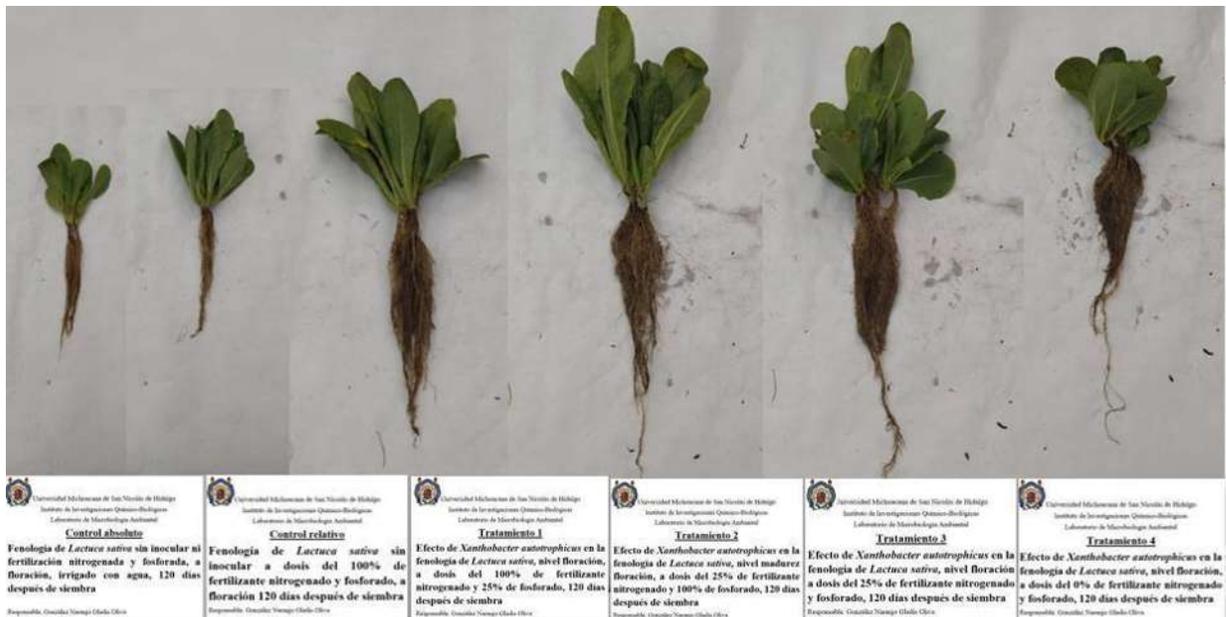


Figura 7. Respuesta de *Lactuca sativa* a *Xanthobacter autotrophicus* a floración a diferentes niveles de fertilizante nitrogenado y fosforado, 120 días después de siembra.

Cuadro 11. Respuesta de *Solanum lycopersicum* a *Xanthobacter autotrophicus* a madurez fisiológica 180 días después de siembra a diferentes niveles de fertilizante nitrogenado y fosforado.

| Tratamiento/ <i>S. lycopersicum</i> * | Altura de planta (cm) | Longitud radical (cm) | Peso fresco (g) | | Peso seco (g) | |
|---|-----------------------|-----------------------|-------------------|-------------------|-------------------|------------------|
| | | | aéreo | radical | aéreo | radical |
| Agua (control absoluto) | 59.0 ^{b**} | 47.5 ^a | 26.7 ^c | 16.6 ^c | 3.8 ^c | 1.8 ^d |
| Fertilizante nitrogenado (FENI) y fosforado (FEFO) al 100% (control relativo) | 70.0 ^b | 32.5 ^b | 64.7 ^a | 28.0 ^a | 6.2 ^b | 2.4 ^c |
| Suelo con FENI al 100% y FEFO al 25% | 112.0 ^a | 33.2 ^b | 51.0 ^b | 20.0 ^b | 7.0 ^b | 3.0 ^b |
| Suelo con FENI al 25% y FEFO al 100% | 70.0 ^b | 27.3 ^c | 56.9 ^b | 25.0 ^b | 8.1 ^b | 3.2 ^b |
| Suelo con FENI y FEFO al 25% | 86.8 ^b | 35.1 ^b | 64.0 ^a | 32.2 ^a | 13.2 ^a | 5.6 ^a |
| Suelo con FENI y FEFO al 0% | 62.0 ^c | 30.1 ^b | 27.9 ^c | 22.3 ^b | 4.4 ^c | 3.4 ^b |

*n=6 repeticiones, **letras distintas indican diferencia estadística ($p < 0,05$) según Tukey.

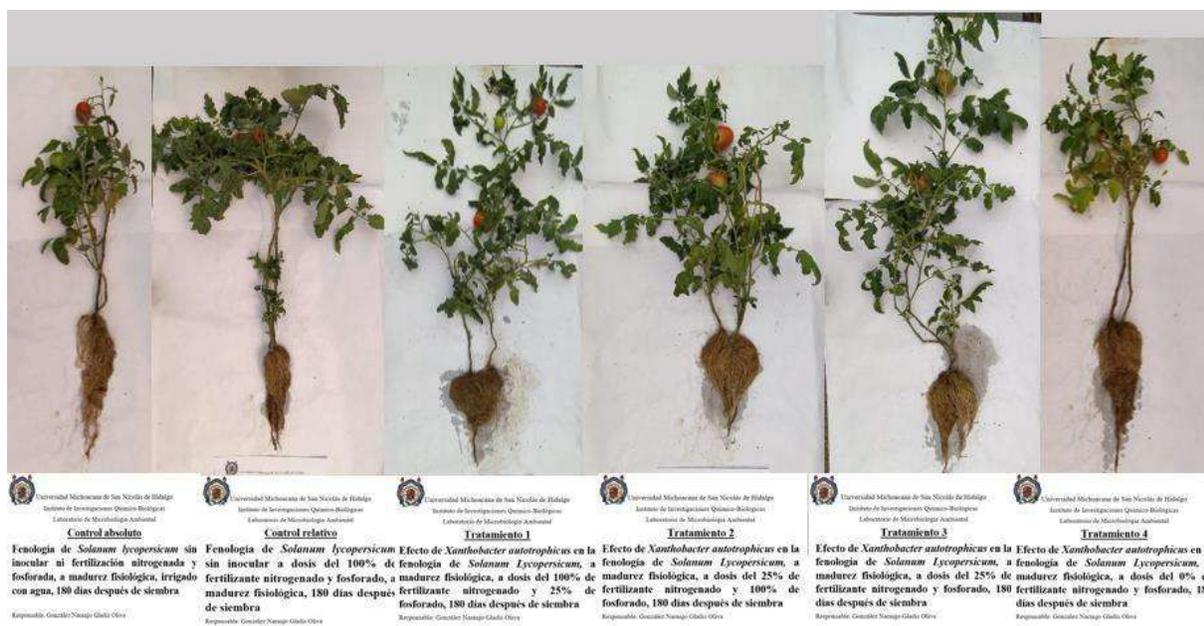


Figura 8. Respuesta de *Solanum lycopersicum* a *Xanthobacter autotrophicus* a nivel madurez fisiológica, a diferentes niveles de fertilizante nitrogenado y fosforado, 180 días después de siembra.

Cuadro 12. Respuesta del fruto de *Solanum lycopersicum* a *Xanthobacter autotrophicus* 180 días después de siembra a diferentes niveles de fertilizante nitrogenado y fosforado.

| Tratamiento/ <i>S. lycopersicum</i> * | Peso fresco del fruto (g) | Peso total fresco de los frutos (g) | Rendimiento (ton/ha) |
|---|---------------------------|-------------------------------------|----------------------|
| Agua (control absoluto) | 16 ^{c**} | 190 ^c | 1.9 ^c |
| Fertilizante nitrogenado (FENI) y fosforado (FEFO) al 100% (control relativo) | 19 ^b | 340 ^b | 3.4 ^b |
| Suelo con FENI al 100% y FEFO al 25% | 26 ^a | 470 ^a | 4.7 ^a |
| Suelo con FENI al 25% y FEFO al 100% | 24 ^a | 440 ^a | 4.4 ^a |
| Suelo con FENI y FEFO al 25% | 25 ^a | 460 ^a | 4.6 ^a |
| Suelo con FENI y FEFO al 0% | 20 ^b | 360 ^b | 3.6 ^b |

*n=6 repeticiones, **letras distintas indican diferencia estadística (p<0,05) según Tukey.



Figura 9. Efecto de *Xanthobacter autotrophicus* en el fruto de *Solanum lycopersicum* a diferentes niveles de fertilizante nitrogenado y fosforado

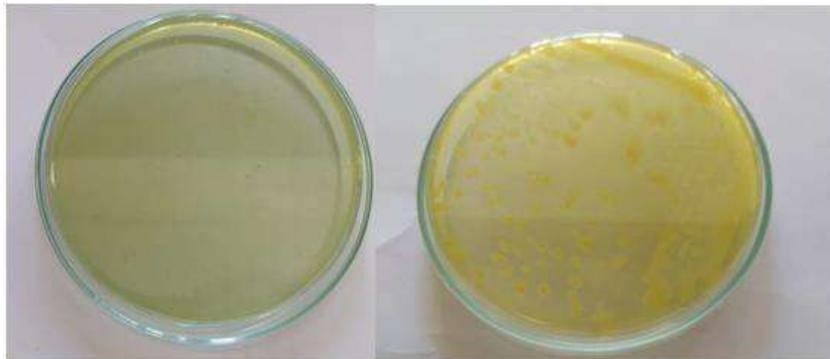
Prueba de sensibilidad a antibióticos de *X. autotrophicus* de *S. lycopersicum* por la técnica de Kirby-Bauer

En el Cuadro 13 y Figura 11, se muestra el perfil de sensibilidad a antibióticos de *X. autotrophicus* endófito de *S. lycopersicum* a floración a 120 DDS; donde se evidenció que la respuesta positiva de *S. lycopersicum* fue por acción de *X. autotrophicus* ya que se recuperó del tallo y la raíz de *S. lycopersicum* pues el perfil de sensibilidad a antibióticos fue igual al obtenido por *X. autotrophicus* antes y después de recuperarlo de *S. lycopersicum*; *X. autotrophicus* presentó sensibilidad a: AK, CRO, NET, PEF y SXT, lo que indica que ingresó a la raíz *S. lycopersicum* y se transportó a través del xilema hasta el tallo (Roodi *et al.*, 2020) ahí convirtió metabolitos derivados de la fotosíntesis en fitohormonas (Pérez *et al.*, 2010; Rosenblueth y Martínez-Romero 2006) para optimizar el FENI

reducido y absorber al máximo el FEFO pero *X. autotrophicus* no llegó hasta las hojas al no observarse crecimiento en esta parte vegetativa lo que sugiere que fue porque en las raíces de *S. lycopersicum* hay un mayor contenido de carbohidratos de reserva como el almidón (Surette *et al.*, 2003).

Prueba de sensibilidad a antibióticos de *X. autotrophicus* de *L. sativa* por la técnica de Kirby-Bauer

En el Cuadro 14 y Figura 12, se muestra el perfil de sensibilidad a antibióticos de *X. autotrophicus* antes (referencia) y después de inocular *L. sativa* a plántula a 50 DDS recuperado de tallo y raíz donde estos perfiles de sensibilidad a antibióticos fueron iguales, lo que indica que *X. autotrophicus* infectó la raíz se transportó por el xilema hasta el tallo (Pérez *et al.*, 2010) para efectuar un crecimiento vegetal positivo (Roodi *et al.*, 2020), Pérez *et al.*, reportaron que la densidad poblacional de bacterias endófitas fue mayor en raíz y tallo sin crecimiento en hojas por la deficiencia de carbohidratos de reserva en esta parte vegetal (Lamb *et al.*, 1996; Mocali *et al.*, 2003). En la Figura 10, se muestra la actividad de las fosfatasas de *X. autotrophicus* en agar con PO_4^{3-} insolubles donde se observó un color amarillo en la colonia de *X. autotrophicus* con un halo transparente que indicó solubilización de PO_4^{3-} , evidencia cualitativa de la actividad fosfatasa (López-Arredondo *et al.*, 2014).




 Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo
 Instituto Químico-Biológicas
 Laboratorio de Microbiología Ambiental


 Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo
 Instituto Químico-Biológicas
 Laboratorio de Microbiología Ambiental

Control
Medio NBRIP con $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, 72h de incubación
 Responsables: Gladis Oliva González Naranjo

Actividad de las fosfatasa de *Xanthobacter autotrophicus* en medio NBRIP con $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, 72h de incubación
 Responsables: Gladis Oliva González Naranjo

Figura 10. Actividad de las fosfatasa de *Xanthobacter autotrophicus* en agar con $\text{Ca}_2(\text{PO}_4)_2$, después de 72h de incubación.

Análisis cuantitativo de la actividad de las fosfatasa de *X. autotrophicus* de *S. lycopersicum*

En el Cuadro 8, se muestra la actividad de las fosfatasa ácida y alcalina de *X. autotrophicus* de raíz de *S. lycopersicum* a floración a 120 DDS con el FENI y el FEFO al 25%, donde *X. autotrophicus* registró la máxima actividad de fosfatasa ácida con 1.600 mmoles/L y de la alcalina con 1.227 mmoles/L; lo anterior demostró que *X. autotrophicus* sintetizó fosfatasa ácida y alcalina que solubilizaron PO_4^{3-} para la posterior absorción (Fernández y Rodríguez, 2006) de *S. lycopersicum*, dichos valores numéricos de las fosfatasa de *X. autotrophicus* en raíz de *S. lycopersicum* registraron diferencia estadística comparados con la nula actividad fosfatasa de la raíz de *S. lycopersicum* sin *X. autotrophicus* con 0.010 y 0.001 mmoles/L de fosfatasa ácida y alcalina, lo anterior indica que son necesarias las fosfatasa de *X. autotrophicus* para aumentar la solubilización de los PO_4^{3-} ; mientras que *X. autotrophicus* en tallo de *S. lycopersicum* alcanzó 1.009 mmoles/L de p-nitrofenol de fosfatasa ácida y 0.739 mmoles/L de fosfatasa alcalina, lo anterior indica que los PO_4^{3-} del suelo se solubilizaron por ambas fosfatasa, se absorbieron por las raíces los trasladaron al tallo

(Mixquititla-Casbis y Villegas-Torres, 2016) que después se asimilaron, además, se indica que hubo una mayor actividad de fosfatasa ácida a diferencia de la alcalina por la acidez del suelo indicada en el análisis fisicoquímico de este (Widding *et al.*, 2019).

Análisis cuantitativo de la actividad de las fosfatasas de *X. autotrophicus* de *L. sativa*

En el Cuadro 9, se observa la actividad de las fosfatasas ácida y alcalina de *X. autotrophicus* de raíz de *L. sativa* a plántula a 50 DDS con el FENI y el FEFO al 25% que alcanzó en la fosfatasa ácida un valor numérico del 0.540 mmoles/L y 0.012mmoles/L de fosfatasa alcalina, comparado con raíz de *L. sativa* sin *X. autotrophicus* que no registró actividad fosfatasa; lo anterior indica que *L. sativa* no sintetizó fosfatasas pero con las fosfatasas generadas por *X. autotrophicus* aumentaron la concentración de PO_4^{3-} disponibles (Fernández y Rodríguez, 2006; Pineda, 2014) en tanto a la mayor cantidad de fosfatasa ácida que alcalina, se indica que fue porque en el análisis fisicoquímico el suelo registró un pH ácido (Widding *et al.*, 2019).

Cuadro 13. Perfil de sensibilidad a antibióticos por la técnica Kirby-Bauer de *Xanthobacter autotrophicus* antes y después de inocular a *Solanum lycopersicum* a floración 120 días después de siembra al 25% de fertilizante nitrogenado y fosforado.

| Antibiótico (clave)* | Perfil de sensibilidad de <i>Xanthobacter autotrophicus</i> (referencia) | <i>X. autotrophicus</i> de <i>S. lycopersicum</i> a floración al 25% de FENI y FEFO | | |
|----------------------------------|--|---|-------|------|
| | | hoja | tallo | raíz |
| Amikacina (AK) | + | - | + | + |
| Ampicilina (AM) | - | - | - | - |
| Carbenicilina (CB) | - | - | - | - |
| Cefalotina (CF) | - | - | - | - |
| Cefotaxima (CTX) | - | - | - | - |
| Ceftriaxona (CRO) | + | - | + | + |
| Cloranfenicol (CL) | - | - | - | - |
| Gentamicina (GE) | - | - | - | - |
| Netilmicina (NET) | + | - | + | + |
| Nitrofurantoína (NF) | - | - | - | - |
| Pefloxacina (PEF) | + | - | + | + |
| Trimetropim-Sulfametoxazol (SXT) | + | - | + | + |

*n=3 repeticiones + = sensible; -= resistente



Figura 11. Sensibilidad a antibióticos por la técnica Kirby-Bauer de *Xanthobacter autotrophicus*, de izquierda a derecha; control sin inocular, *X. autotrophicus* antes y después de inocular a *S. lycopersicum* aislado del interior de raíz.

Cuadro 14. Perfil de sensibilidad a antibióticos por la técnica Kirby-Bauer de *Xanthobacter autotrophicus* antes y después de inocular a *Lactuca sativa* a plántula 50 DDS al 25% de fertilizante nitrogenado y fosforado.

| Antibiótico (clave)* | Perfil de sensibilidad de <i>Xanthobacter autotrophicus</i> (referencia) | <i>X. autotrophicus</i> de <i>L. sativa</i> plántula al 25% de FENI y FEFO | | |
|----------------------------------|--|--|-------|------|
| | | hoja | tallo | raíz |
| Amikacina (AK) | + | - | + | + |
| Ampicilina (AM) | - | - | - | - |
| Carbenicilina (CB) | - | - | - | - |
| Cefalotina (CF) | - | - | - | - |
| Cefotaxima (CTX) | - | - | - | - |
| Ceftriaxona (CRO) | + | - | + | + |
| Cloranfenicol (CL) | - | - | - | - |
| Gentamicina (GE) | - | - | - | - |
| Netilmicina (NET) | + | - | + | + |
| Nitrofurantoína (NF) | - | - | - | - |
| Pefloxacina (PEF) | + | - | + | + |
| Trimetropim-Sulfametoxazol (SXT) | + | - | + | + |

*n=3 repeticiones + = sensible; - = resistente



Figura 12. Sensibilidad a antibióticos por la técnica Kirby-Bauer de *Xanthobacter autotrophicus*, de izquierda a derecha; control sin inocular, *X. autotrophicus* antes y después de inocular a *L. sativa* aislado del interior de raíz.

Conclusión

X. autotrophicus es una opción biológica para reducir, optimizar la dosis de FENI, solubilizar y absorber el FEFO, dado que convierte exudados de semilla y de metabolitos de la fotosíntesis en fitohormonas, ya que invade el interior de raíces para ahí ejercer efectos benéficos como las fosfatasa que solubilizan PO_4^{3-} precipitados, estos mecanismos en conjunto permiten un sano crecimiento de *S. lycopersicum* y *L. sativa*, donde al mismo tiempo previene la pérdida de productividad del suelo.

Bibliografía

1. Adesemoye, A., O., Torbert, H., A. & Kloepper, J., W. (2009). Plant growth-promoting allow reduced application rates of chemical fertilizers. *Microbial Ecology*. 58(4): 921-929. DOI: 10.1007/s00248-009-9531-y.
2. Alcántara, J., Godoy, A. & Alcántara J. (2019). Principales reguladores hormonales y sus interacciones en el crecimiento vegetal. *Nova*. 17(32): 109-129. DOI: 10.25058/24629448.3639.

3. Cerna-Yamali, T., Salinas-Aranda, E., & Soriano-Bernilla, B. (2018). Sinergismo entre *Azotobacter chroococcum* y *Bradyrhizobium yuanmingense* en el crecimiento de *Lactuca sativa* "lechuga". *Scientia Agropecuaria*. 9(4): 519-526. DOI: 10.17268/sci.agropecu.2018.04.07.
4. Chen, Y., Rekha, P., Arun, F., Schen, W., Lai, C. & Young, C. (2006). Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. *Applied Soil Ecology*. 34: 33-41. DOI: 10.1016/j.apsoil.2005.12.002.
5. Dissanayaka, D., Plaxton, W., Lambers, H., Siebers, M., Marambe, B. & Wasaki, J. (2018). Molecular mechanisms underpinning phosphorus use efficiency in rice. *Plant, Cell & Environment*. 41: 1483-1496. DOI: 10.1111/pce.13191.
6. Espinosa-Palomeque, B., Cano-Ríos, P., Salas-Pérez, L., García-Hernández, J. L., PreciadoRangel, P., Sáenz-Mata, J., & Reyes-Carrillo, J. L. (2019). Bioinoculantes y concentración de la solución nutritiva sobre la producción y calidad de tomate. *Biotecnia*. 21(3): 100-107. DOI: 10.18633/biotecnia.v2li3.1038.
7. Esquivel-Cote, R., Tsuzuki-Reyes, G., Ramírez-Gama, R.M. & Huante, P. (2017). Efecto de la inoculación con *Azospirillum sp* y fertilización nitrogenada en el crecimiento y

- producción de jitomate (*Solanum lycopersicum* Mill.). *Agro Productividad*. 10(7): 88-93.
DOI: 10.15517/am.v30i2.33896.
8. Foth, H. & Ellis B. (1997). *Soil Fertility*. 2 edición. Lexis Publishers. Boca Raton, Florida, pp: 290. ISBN: 978-036-74483-9-4. Estados Unidos de América.
 9. Jiménez, T., Blanco, M., Vejar, A., Bello-Martínez, J., Palemón, A., Ramírez, R. & Díaz, O. (2020). Bacterias promotoras de crecimiento vegetal para incrementar la producción de *Lactuca sativa* L. en campo. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 11(2): 449-452.
DOI: 10.29312/remexca.v11i2.1944.
 10. Kaleem, M., Hina, M., Khalique, A., & Razaq, S. (2007). Mineralization of three organic manures used as nitrogen source in a soil incubated under laboratory conditions. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 38(13-14): 1691-1711. DOI: 10.1080/00103620701435464.
 11. Khan, S., Zaidi, A., & Wani, A. (2007). Role of phosphate-solubilizing microorganisms in sustainable agriculture a review. *Agronomy for Sustainable Development*. 27(1): 29-43.
DOI:10.1051/agro:2006011.
 12. Liu, E., Yan, C., Mei, X., He, W., Bing, S., Ding, L., Liu, Q., Liu, S. & Fan, T. (2010). Long-term effect of chemical fertilizer, straw, and manure on soil chemical and biological properties in northwest China. *Geoderma*. 158(3):173-180.
DOI:10.1016/j.geoderma.2010.04.029.
 13. Ljung, K. (2013). Auxin metabolism and homeostasis during plant development. *Development*. 140: 943-1016. DOI: 10.1242/dev.086363.
 14. Long, H., Schmidt, D. & Baldwin, T. (2008). Native bacterial endophytes promote host growth in a species-specific manner; phytohormone manipulations do not result in common growth responses. *Plos One*. 3(7): 2702. DOI: doi:10.1371/journal.pone.0002702.

15. López-Arredondo, D., Leyva-González, M., González-Morales, S., López-Bucio, J. & Herrera-Estrella, L. (2014). Phosphate nutrition: improving low-phosphate tolerance in crops. *Annual Review of Plant Biology*. 65: 95-123. DOI: 10.1146/annurev-arplant-050213-035949.
16. López-Salmerón, V., Hyunwoo, C., Tonn, N. & Greb, T. (2019). The phloem as a mediator of plant growth plasticity. *Current Biology*. 29(5): 173-181. DOI: 10.1016/j.cub.2019.01.015.
17. Luna-Martínez, L., Martínez-Peniche, R., Hernández-Iturriaga, M., Arvizi-Medrano S. & Pacheco-Aguilar, J. (2013). Caracterización de rizobacterias aisladas de tomate y su efecto en el crecimiento de tomate y pimiento. *Revista Fitotécnica Mexicana*. 36(1): 63-69.
18. Martín, G., Pérez, A., Rivera, R., Bustamante, C., Viñals, R. & Varela, M. (2016). Comparación de dos modelos de respuesta a dosis de nitrógeno en maíz y café. *Cultivos Tropicales*. 37: 155-164. DOI: 10.13140/RG.2.1.2631.8322.
19. Mocali, S., Bertelli, E., Di Cello, F., Mengoni, A., Sfalanga, A., Viliani, F. & Fani, R. (2003). Fluctuation of bacteria isolated from elm tissues during different seasons and from different plant organs. *Research in Microbiology*. 154(2): 105-114. DOI: 10.1016/S0923-2508(03)00031-7.
20. Mohanty, S., Nayak, K., Kumar, A., Tripathi, R., Shahid, M., Bhattacharyya, P., Raja, R. & Panda, B. (2013). Carbon and nitrogen mineralization kinetics in soil of rice–rice system under long term application of chemical fertilizers and farmyard manure. *European Journal of Soil Biology*. 58: 113-121. DOI: 10.1016/j.ejsobi.2013.07.004.
21. Mok, S. & Mok, M. (2001). Cytokinin metabolism and action. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 82: 59-118. DOI: 10.1146/annurev.arplant.52.1.89.

22. Moreno, A., García V., Reyes, J., Vásquez, J. & Cano, P. (2018). Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal: una alternativa de biofertilización para la agricultura sustentable. *Revista Colombiana de Biotecnología*. 20(1): 68-83. DOI: 10.15446/rev.colomb.biote.v20n1.73707.
23. Naureen, Z., Sham, A., Al Ashram, H., Gilani, A., Al Gheilani, S., Mabood, F., Hussain, J., Al Harrasi, A. & AbuQamar, F. (2018). Effect of phosphate nutrition on growth, physiology and phosphate transporter expression of cucumber seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*. 127: 211-222. DOI: 10.1016/j.plaphy.2018.03.028.
24. Nautiyal, C. (1999). An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganism. *Federation of European Microbiological Societies Microbiology Letters*. 170: 264-270. DOI: 10.1111/j.1574-6968.1999.tb13383.x.
25. Ozga, J. & Reinecke, D. (2003). Hormonal interactions in fruit development. *Journal of Plant Growth Regulation*. 22 (1):73-81. DOI: 10.1007/s00344-003-0024-9.
26. Paungfoo-Lonhiennea, C., Reddingb, M., Prattc, C. & Wang, W. (2019). Plant growth promoting rhizobacteria increase the efficiency of fertilizers while reducing nitrogen loss. *Journal of Environmental Management*. 233: 337-341. DOI: 10.1016/j.jenvman.2018.12.052.
27. Pérez, A., Rojas, J. & Fuentes, J. (2010). Diversidad de bacterias endófitas asociadas a raíces del pasto colosuana (*Bothriochloa pertusa*) en tres localidades del departamento de Sucre, Colombia. *Acta Biológica Colombiana*.15(2): 219-228. DOI: 10.21930/agrosavia.model.740-272-8.
28. Pineda, M. (2014). La solubilización de fosfatos como estrategia microbiana para promover el crecimiento vegetal. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*. 15(1): 101-113. DOI:10.21930/rcta.vol15_num1_art:401.

29. Rojas-Solís, D., Hernández-Pacheco, C.E. & Santoyo, G. (2015). Evaluation of *Bacillus* and *Pseudomonas* to colonize the rhizosphere and their effect on growth promotion in tomato (*Physalis ixocarpa*). *Revista Chapingo Serie Horticultura*. 22(1): 45-57. DOI: 10.5154/r.rchsh.2015.06.009.
30. Romero-García V.E., García-Ortiz V. R., Hernández-Escareño J.J., Sánchez-Yáñez J.M. (2016). Respuesta de *Phaseolus vulgaris* a microorganismos promotores de crecimiento vegetal. *Scientia Agropecuaria*. 7(3): 313-319. DOI: 10.17268/sci.agropecu.2016.03.20.
31. Roodi, D., Millner, J., McGill, C., Johnson, R., Jauregui, R. & Card, S. (2020). Methylobacterium, a major component of the culturable bacterial endophyte community of *Brassica* seed. *Peer J*. 8: 2-20. DOI: 10.7717/jpeerj.9514.
32. Rosenblueth, M. & Martínez-Romero, E. (2006). Bacterial endophytes and their interactions with hosts. *International Society for Molecular Plant-Microbe Interactions*. 19 (8): 827-837. DOI: 10.1094/MPMI-19-0827.
33. Sánchez, D.B., Gómez-Vargas, R.M., Garrido, M.F. & Bonilla, R.R. (2012). Inoculación con bacterias promotoras de crecimiento vegetal en tomate bajo condiciones de invernadero. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícola*. 3(7): 1401-1415.
34. Sánchez-Yáñez, J.M. (2007). Breve Tratado de Microbiología Agrícola, teoría y práctica, Ed., Instituto de Investigaciones Químico Biológicas. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. COSUSTENTA, SA de CV, CIDEM, SEDAGRO. Morelia, Michoacán. ISBN: 978-970-95424-1-7. México.

35. Surette, M., Sturz, A., Lada, R. & Nowak, J. (2003). Bacterial endophytes in processing carrots (*Daucus carota* L. var. *sativus*): their localization, population density, biodiversity and their effects on plant growth. *Plant and Soil*. 253 (2): 381–390. DOI: 10.1023/a1024835208421
36. Tello, L. & Vega, R. (2015). Methodologies to determine the water holding capacity and density in compost. *Anales Científicos*. 76(1): 186-192. DOI: 10.21704/ac.v76il.780.
37. Varnero, T., Rojas, C., & Orellana, R. (2007). Índices de fitotoxicidad en residuos orgánicos durante el compostaje. *Revista de la ciencia del suelo y nutrición vegetal*. 7(1): 28-37. DOI: 10.4067/S0718-27912007000100003.

