

MICROORGANISMOS BIOESTIMULANTES EN LA PRODUCCIÓN DE PLÁNTULAS DE JITOMATE (*Lycopersicon esculentum* P. Mill.)

BIOSTIMULANT MICROORGANISMS IN THE PRODUCTION OF TOMATO SEEDLINGS (*Lycopersicon esculentum* P. Mill.)

Sergio Ramírez-Rojas^{1*}, Jorge Miguel Paulino Vázquez-Alvarado¹, Jesús Orlando-Pérez², Katya Ornelas-Ocampo¹ y Leticia Leyva-Toledo³.

¹Instituto Nacional de Investigación Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Campo Experimental Zacatepec, Km 0.5 Carretera Zacatepec-Galeana. CP 62780, Col. Centro, Zacatepec, Morelos, México. Tel: 55 3871 8700 Ext. 86614.

²Universidad Tecnológica del Sur del Estado de Morelos (UTSEM). Carretera Puente de Ixtla-Mazatepec, Km 2.35, Col. 24 de febrero, CP 62665, Puente de Ixtla, Morelos, México.

³Instituto Tecnológico de Zacatepec (ITZ). Tecnológico 27, Col. Plan de Ayala, CP 62780, Zacatepec, Morelos, México.

*Autor para Correspondencia: sergioinifap@yahoo.com.mx

RESUMEN

La producción de jitomate orgánico en invernadero empieza con la obtención de plántulas con raíces sanas y vigorosas que hayan sido cultivadas con procesos e insumos ecológicos. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de bioestimulantes microbianos para la obtención de plántulas orgánicas de jitomate saludables. Para lograr lo anterior, en el Campo Experimental Zacatepec, ubicado en Zacatepec, estado de Morelos, se evaluó el efecto de la inoculación de *Serratia marcescens*, *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*,

una mezcla de bacterias inductoras del crecimiento vegetal y una mezcla de microorganismos promotores del crecimiento vegetal en plántulas de jitomate. A los 30 días después de la germinación, se midió el efecto en: área foliar, diámetro de tallo, altura de la planta, longitud de raíz, peso seco e incidencia de enfermedades. Los resultados mostraron que con la inoculación de *Bacillus subtilis* se obtuvieron los valores más altos para todas las variables registradas seguido del tratamiento con *Trichoderma harzianum*.

Palabras clave: Agroecología, biofertilizantes, inductores de crecimiento.

ABSTRACT

The production of organic tomato in a greenhouse begins with the obtaining of seedlings with healthy and vigorous roots that have been cultivated with ecological processes and inputs. The objective of this study was to evaluate the effect of biostimulant microorganisms to obtain healthy organic tomato seedlings. To achieve the above, in the Zacatepec Experimental Field, belonging to INIFAP, in Morelos State, was evaluated the effect of inoculation of *Serratia marcescens*, *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, a mixture of plant growth-inducing bacteria and a mixture of microorganisms that promote plant growth to tomato seedlings in the greenhouse. Parameters such as leaf area, stem diameter, plant height, root length, dry weight and disease incidence, were determined at 30 days after germination. The results showed the inoculation of *Bacillus subtilis* obtained the highest values for all the registered variables, followed by the treatment with *Trichoderma harzianum*.

Key words: Agroecology, biofertilizers, growth inducers.

INTRODUCCIÓN

Los consumidores cada día se preocupan más por su salud y la del ambiente, es por esto que la demanda de alimentos orgánicos ha aumentado. Durante 2019, en algunos países, las ventas minoristas aumentaron hasta en 30%, esto estimuló el crecimiento de la producción, tal como lo muestra el aumento de 1.5% en la superficie sembrada con productos orgánicos (Willer et al., 2021). En México, la producción de alimentos orgánicos también ha crecido, particularmente de hortalizas. La producción de jitomate, producto indispensable en la cocina mexicana, aumentó de 36,080 t en 2015, a 44,778 t en 2018. La producción de jitomate orgánico en invernadero también aumentó; en 2015 se produjeron 1,530 t y se incrementó a 7,786 t

en 2018. El creciente uso del invernadero se debe a que la producción es mayor; en 2018, el rendimiento en invernadero fue de 327 t ha⁻¹, mientras que a cielo abierto sólo se cosecharon 43.49 t ha⁻¹ (SIACON, 2020).

La obtención de plántulas de jitomate orgánico con raíces fuertes y sin enfermedades es una condición indispensable para que, al momento de trasplantarlas, inmediatamente enraícen y no haya retraso en el crecimiento. Los bioestimulantes microbianos están compuestos por microorganismos promotores del crecimiento vegetal PGPM (Plant growth-promoting microorganisms) que incluye bacterias y hongos benéficos que habitan en las raíces de las plantas (Gangwar et al., 2017; Albrecht, 2019). Los PGPM aplicados a las plantas promueven el crecimiento y desarrollo de las raíces mejorando la absorción de agua, la asimilación de nutrientes y la tolerancia al estrés biótico y abiótico (Kloepper et al., 1989; du Jardin, 2015; Velasco-Jiménez et al., 2020).

Actúan como biofertilizantes para la asimilación de nutrientes vitales mediante la fijación biológica de nitrógeno atmosférico, secuestro de hierro, fitoestimulación con la producción de fitohormonas (auxinas, ácido absísico, giberelinas y citoquininas), solubilización de fosfatos y potasio (Gangwar et al., 2017; Velasco-Jiménez et al., 2020).

Algunas bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPB) reportadas en diferentes cultivos se encuentran en los géneros *Bacillus*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Arthrobacter*, *Serratia*, *Sphingomonas* y *Burkholderia* (Velasco-Jiménez et al., 2020; Aamir et al., 2020); mientras que en los hongos destaca *Trichoderma* spp. que aparte de los beneficios que otorga a las plantas es utilizado como agente de control biológico de otros hongos (du Jardin, 2015; Albrecht, 2019).

Los consorcios se componen de cepas de microorganismos diversos con interacciones complementarias, compatibles o sinérgicas con diferente modo de acción, lo que les daría la capacidad de adaptarse a diferentes condiciones ambientales como temperatura, humedad, pH o la presencia de fitopatógenos (Bradácová et al., 2019).

El objetivo del presente estudio fue evaluar tratamientos con microorganismos bioestimulantes de manera individual y en mezclas, para la obtención de plántulas de jitomate saludables y fuertes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Producción de plántulas de jitomate

El estudio se realizó en 2021 en el Campo Experimental Zacatepec, ubicado en Zacatepec, Morelos; a una altitud de 900 m. En charolas de unicel de 200 cavidades se colocó sustrato compuesto de tezontle, agrolita y abono a base de estiércol de bovino y desecho de hojas; se utilizó 33% de cada material, respectivamente. El pH del sustrato se mantuvo entre 5.5 a 6 para lograr buena germinación. Para realizar el experimento se utilizó semilla híbrida de jitomate Gabi. Con un sembrador manual se hicieron huecos de 5 mm de profundidad en el sustrato; en estos se introdujeron las semillas de jitomate; al terminar, los orificios se rellenaron con sustrato, se humedecieron y se taparon con plástico para evitar la pérdida de humedad. Los primeros 18 días se regaron una vez al día aproximadamente a las 11:00 h. Los últimos 12 días se aplicaron dos riegos, uno a las 11:00 h y el segundo a las 14:00 h. En el primer riego se aplicaron los tratamientos con bioestimulantes y se llevaron al cuarto incubador el cual tenía una temperatura de 36 °C y una humedad relativa de 70%, según el sensor Precision Weather Station (DAVIS, modelo Vintage PRO2).

Preparación de inóculo

En el presente experimento se utilizaron microorganismos de la colección perteneciente a la Universidad Tecnológica del Sur del Estado de Morelos. Los hongos fueron sembrados en cajas Petri con medio PDA (Papa Dextrosa Agar) y se incubaron a 24 °C por siete días, hasta la completa esporulación de los cultivos; mientras que las bacterias se cultivaron en cajas Petri con agar nutritivo durante tres días.

Se agregaron 10 mL de agua destilada estéril a las cajas Petri con hongos, cubriendo el inóculo completamente. Las cajas se agitaron con movimientos suaves y con la ayuda de una espátula de Drigalski se desprendieron las esporas y fueron transferidas a 1 L de agua estéril. De la suspensión se tomaron 200 µL para determinar la concentración total de esporas con ayuda de la cámara de Neubauer Blau Brand®. De las concentraciones obtenidas, se realizaron diluciones hasta obtener la concentración deseada para cada microorganismo por separado, o para realizar las mezclas correspondientes de microorganismos.

Aplicación de bioestimulantes

Se evaluó, sobre las plántulas de jitomate, la adición por aspersión de *Serratia marcescens* (10^{10} UFC mL⁻¹), *Trichoderma harzianum* (10^{12} UFC mL⁻¹), *Bacillus subtilis* (10^{12} UFC mL⁻¹) y *Pseudomonas fluorescens* (10^9 UFC mL⁻¹); una mezcla de bacterias inductoras de resistencia y crecimiento vegetal (BIRC) que contenía: *B. subtilis* (10^{12} UFC mL⁻¹), *Azospirillum brasilense* (10^{10} UFC mL⁻¹), *Azotobacter vinelandii* (10^{11} UFC mL⁻¹), *P. fluorescens* (10^{10} UFC mL⁻¹), *S. marcescens* (10^{10} UFC mL⁻¹) y *Streptomyces lydicus* (10^8 UFC mL⁻¹) y la mezcla de hongos y bacterias promotores del crecimiento vegetal BIOPRO que incluye: *T. harzianum* (10^{12} UFC mL⁻¹), *T. viride* (10^{12} UFC mL⁻¹), *T. koningii* (10^{12} UFC mL⁻¹), *B. subtilis* (10^9 UFC mL⁻¹), *A. brasilense* (10^9 UFC mL⁻¹), *S. lydicus* (10^8 UFC mL⁻¹) y *P. fluorescens* (10^9 UFC mL⁻¹) y el testigo

absoluto al cual no se le agregó ningún microorganismo, únicamente agua. De cada tratamiento se aplicaron 10 mL L⁻¹ de agua de forma foliar con un atomizador. Las aplicaciones se realizaron en el primer riego, cada tercer día, desde la germinación de la plántula hasta que estuvieron listas para el trasplante a los 30 días.

Diseño Experimental

Se utilizó un diseño experimental en bloques al azar con cuatro repeticiones, la parcela experimental fue de 20 plántulas y la parcela útil fue de 10 plántulas, se eliminaron 10 para eliminar efectos de borde. Se evaluaron siete tratamientos con cuatro repeticiones cada uno; a los 30 días después de la siembra se tomaron 10 plántulas por repetición dando un total de 40 plántulas por tratamiento.

Los datos obtenidos fueron analizados por medio de estadística descriptiva de variables continuas, se comprobó la distribución normal de los datos mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov para la bondad de ajuste y se aplicó la prueba de Levene para evaluar la homogeneidad de la varianza. Cuando existió normalidad y homogeneidad se realizó un análisis de varianza simple, las medias fueron comparadas por la prueba de Rangos Múltiples de Tukey ($p < 0.05$). Los datos fueron procesados con el programa Statistical Analysis System (SAS), versión 9.1.

Evaluación de tratamientos sobre plántulas de jitomate

En cada tratamiento se evaluó la incidencia de enfermedad como parámetro epidemiológico, además se determinaron las siguientes variables agronómicas: área foliar, diámetro del tallo, altura, longitud de la raíz, peso fresco y peso seco de tallo y raíz. La incidencia de enfermedad se calculó con la fórmula:

$$\% \text{ Incidencia} = \frac{\text{número de plantas enfermas}}{\text{número total de plantas}} \times 100$$

Con una regla graduada (ARLY) y un calibrador vernier digital (Truper) se midió la altura de las plántulas y diámetro de los tallos, respectivamente. Para estimar el área foliar y la longitud de la raíz se utilizó el programa Assess 2.0: Image Analysis Software de la American Phytopathological Society. Las plántulas evaluadas fueron pesadas al inicio para registrar el peso fresco; para determinar el peso seco las plántulas se deshidrataron a 70 °C durante 48 h en un horno eléctrico (SANYO, modelo MOV-2125). El peso fresco y seco se determinó en una báscula analítica (METTLER TOLEDO, modelo PG802-S).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para evaluar el efecto de los bioestimulantes en la producción de plántulas de jitomate se consideró la altura de planta, diámetro de tallo, área foliar, longitud de raíz y el peso seco de la planta o acumulación de la materia seca (Cuadro 1).

En este trabajo se observó que los efectos de la aplicación de bioestimulantes sobre las plántulas de jitomate influyeron en el desarrollo de las mismas, como en el caso de frijol (Quintero *et al.*, 2018), donde se observó que la aplicación foliar de microorganismos incrementó el crecimiento del follaje (22%), el área fotosintética, la materia seca acumulada y el rendimiento de grano.

La altura de las plantas fue superior con la aplicación de *B. subtilis* en comparación con los demás tratamientos, con el testigo se observó una diferencia de 4.44 cm, lo que significó un incremento de 23.8%. En un estudio similar, con plantas de frijol, Luna y Mesa (2016) notaron que la aplicación de bioestimulantes durante la etapa vegetativa y reproductiva beneficia la altura de las plantas. En segundo lugar, aparece la aplicación del tratamiento BIRC,

este efecto positivo coincide con los resultados de Quintero *et al.* (2018) al aplicar bioestimulantes en plantas de frijol. Los componentes de este tratamiento tienen bacterias de vida libre, fijadoras de nitrógeno atmosférico, lo reducen y lo convierten en ion amonio aprovechable por las plantas (Steenhoudt y Vanderleyden, 2000).

El diámetro del tallo fue significativamente superior para todos los tratamientos con *B. subtilis*, se observó un incremento de 0.08 cm con relación al testigo y una diferencia de 29.62%. El tratamiento BIRC tuvo un efecto estadístico similar a la aplicación de *B. subtilis*, el tratamiento contiene algunas bacterias promotoras del crecimiento como *P. fluorescens* y *A. brasilense*, las cuales en la rizosfera de *Gerbera jamesonii*, ayudan a metabolizar una gama de sustancias exudadas por las raíces de las plantas (Loredo-Osti *et al.*, 2004; Hernández-Rodríguez *et al.*, 2008)

En el tratamiento a base de *B. subtilis*, se observa que el área foliar tuvo un incremento de 7.87 cm² y una diferencia de 36.37%, comparado con el testigo. En segundo lugar, aparece el tratamiento a base de *T. harzianum*. El cual promueve el crecimiento de las plantas, mejora el crecimiento e inducen respuestas de defensa sistémicas en las plantas.

Chowdappa *et al.* (2013) evaluaron la eficacia de *B. subtilis* y *T. harzianum* en plantas de jitomate en condiciones *in vitro* y observaron un aumento significativo del crecimiento de raíces y brotes, el área foliar y el índice de vigor de las plántulas, resultados similares a los del presente estudio.

La longitud de la raíz no mostró diferencias significativas, estadísticamente, con excepción del testigo y *S. marcescens*. El efecto de *B. subtilis* en la longitud de la raíz con relación al testigo fue de 12.3 cm con una diferencia de 42%. *S. marcescens* es una bacteria capaz de degradar ácido 2,4-diclorofenoxiacético (Gómez de Jesús *et al.*, 2018).

Finalmente, la mayor acumulación de materia seca de las plantas se observó con la aplicación de *B. subtilis*, con relación al testigo la diferencia fue de 0.10 g, es decir 45.45%. El género *Bacillus* es uno de los microorganismos más ampliamente estudiado para la promoción del crecimiento de las plantas (Pérez-Montaña *et al.*, 2014). Se ha demostrado que estas bacterias poseen características que les permiten su utilización como promotores del crecimiento vegetal y antagonistas de fitopatógenos (Gobelak *et al.*, 2015).

Cuadro 1. Promedios de los datos registrados de las variables evaluadas a los 30 días después de la germinación.

Variables registradas	Sm	Th	Bs	Pf	BIRC	BIOPRO	Testigo
Altura de planta (cm)	14.75 c	16.91 c	18.66 a	17.67 ab	17.82 ab	17.10 b	14.22 c
Diámetro de tallo (cm)	0.22 c	0.23 bc	0.27 a	0.21 c	0.25 ab	0.23 c	0.18 c
Área foliar (cm ²)	12.67 d	18.43 ab	21.64 a	15.51 bcd	14.38 cd	16.26 bc	13.77 cd
Longitud de raíz (cm)	24.94 b	27.57 a	28.10 a	27.86 a	28.13 a	29.21 a	16.91 c
Peso seco de planta (g)	0.18 ab	0.18 ab	0.23 a	0.14 ab	0.18 ab	0.16 ab	0.12 ab

Los resultados son el promedio de 10 plantas por tratamiento. En las filas, valores con la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

Sm= *Serratia marcescens*; Th= *Trichoderma harzianum*; Bs= *Bacillus subtilis*; Pf= *Pseudomonas fluorescens*; BIRC= *Bacillus subtilis*, *Azospirillum brasilense*, *Azotobacter vinelandii*, *Pseudomonas fluorescens*, *Serratia marcescens* y *Streptomyces lydicus*; BIOPRO= *Trichoderma harzianum*, *T. viride*, *T. koningii*, *Bacillus subtilis*, *Azospirillum brasilense*, *Streptomyces lydicus* y *Pseudomonas fluorescens*.

B. subtilis resultó el mejor tratamiento en todas las variables. Esto se debió a que mejora la absorción de agua y nutrientes, solubilizan minerales y controlan patógenos. El segundo mejor tratamiento fue el de *T. harzianum*.

CONCLUSIONES

La aplicación de los diferentes bioestimulantes incrementan los parámetros morfo fisiológicos y la acumulación de materia seca. Las mejores plántulas de jitomate se obtuvieron con la aplicación de los bioestimulantes a base de *B. subtilis* o *T. harzianum*, en primer y segundo lugar respectivamente.

LITERATURA CITADA

- Aamir, M., K.K. Rai, A. Zehra, M.K. Dubey, S. Kumar, V. Shukla, R.S. Upadhyay. 2020. 8-Microbial bioformulation-based plant biostimulants: A plausible approach toward next generation of sustainable agriculture. In: Ajay Kumar, E.K. Radhakrishnan, editors. Microbial Endophytes. Woodhead Publishing. pp 195-225. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819654-0.00008-9>.
- Albrecht, U. 2019. Plant Biostimulants: Definition and overview of categories and effects. UF/IFAS. <https://edis.ifas.ufl.edu/pdf/HS/HS133000.pdf>.
- Bradácová, K., A.S. Florea, A. Bar-Tal, D. Minz, U. Yermiyahu, R. Shawahna, J. Kraut-Cohen, A. Zolti, R. Erel, K. Dietel, M. Weinmann, B. Zimmermann, N. Berger, U. Ludewig, G. Neumann, G. Posta. 2019. Microbial Consortia versus Single-Strain Inoculants: An Advantage in PGPM-Assisted Tomato Production? *Agronomy* 9:105. <https://doi.org/10.3390/agronomy9020105>
- Chowdappa, P., S.M. Kumar, M.J. Lakshmi, K.K. Upreti. 2013. Growth stimulation and induction of systemic resistance in tomato against early and late blight by *Bacillus subtilis* OTPB1 or *Trichoderma harzianum* OTPB3. *Biological control* 65:109-117.
- du Jardin, P. 2015. Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae* 196: 3-14. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.021>
- Gangwar, M., P. Saini, P. Nikhanj, S. Kaur. 2017. Plant growth-promoting microbes (PGPM) as potential microbial bio-agents for eco-friendly agriculture. In: Adhya T., B. Mishra, K. Annapurna, D. Verma, U. Kumar (editors). *Advances in soil microbiology: Recent Trends and Future Prospects. Microorganisms for Sustainability*, 4: P. 37-55. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-10-7380-9_3
- Gómez de Jesús, A., M.A. Rosales-Esquinca, M. Lizardi-Jiménez, G. Treviño-Quintanilla, C. Reyes-Reyes, H. Castañón-González, H. Barrales-Cureño. 2018. Aislamiento e identificación de una cepa de *Serratia marcescens* degradadora de ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D). *Agroproductividad* 11:118-123. <https://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/281>.
- Gobelak, A., A. Napora, M. Kacprzak. 2015. Using plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) to improve plant growth. *Ecological Engineering* 84: 22-8. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2015.07.019>
- Hernández-Rodríguez, A., M. Heydrich-Pérez, Y. Acebo-Guerrero, M.G. Velasquez-del Valle, A.N. Hernández-Lauzardo. 2008. Antagonistic activity of Cuban native rhizobacteria against *Fusarium verticillioides* (Sacc) Nirenb. in maize (*Zea mays* L.). *Applied Soil Ecology* 39: 180-186. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2007.12.008>
- Koepller, J.W., R. Lifshitz, R.M. Zablotowicz. 1989. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends in Biotechnology* 7: 39-44. [https://doi.org/10.1016/0167-7799\(89\)90057-7](https://doi.org/10.1016/0167-7799(89)90057-7).

- Loredo-Osti, C., L. López-Reyes, D. Espinosa-Victoria. 2004. Bacterias promotoras del crecimiento vegetal asociadas con gramíneas: Una revisión. *Terra Latinoamericana* 22: 225-239. <https://www.redalyc.org/pdf/573/57322211.pdf>.
- Luna F., M.A., J.R. Mesa R. 2016. Microorganismos eficientes y sus beneficios para los agricultores. *Agroecosistemas* 4: 31-40. <https://aes.ucf.edu.cu/index.php/aes/article/view/84>.
- Pérez-Montaño, F., C. Alías-Villegas, R.A. Bellogín, P. Del Cerro, R. Espuny M., Jiménez-Guerrero. 2014. Plant growth promotion in cereal and leguminous agricultural important plants: from microorganism capacities to crop production. *Microbiological research* 169: 325-336.
- Quintero, R., E., A. Calero H., Y. Pérez D., L. Enríquez G. 2018. Efecto de diferentes bioestimulantes en el rendimiento del frijol común. *Centro Agrícola* 45: 73-80. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-57852018000300073.
- SIACON. 2020. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Sistema de información agropecuaria de consulta. <https://www.gob.mx/siap/prensa/sistema-de-informacion-agroalimentaria-de-consulta-siacon> Consultado en línea: 7 de diciembre de 2021.
- Steenhoudt, O., J. Vanderleyden. 2000. *Azospirillum*, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects. *FEMS Microbiology Reviews* 24:487-506. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2000.tb00552.x>
- Velasco-Jiménez, A., O. Castellanos-Hernández, G. Acevedo-Hernández, R.C. Aarland, A. Rodríguez-Sahagún. 2020. Bacterias rizosféricas con beneficios potenciales en la agricultura. *Terra Latinoamericana* 38: 333-345. <https://doi.org/10.28940/terra.v38i2.470>.
- Willer, H., J. Trávníček, C. Meier, B. Schlatter. 2021. The World of Organic Agriculture Statistics and Emerging Trends. Research Institute of Organic Agriculture FiBL, Frick, and IFOAM–Organics International, Bonn. <https://www.fibl.org/fileadmin/documents/shop/1150-organic-world-2021.pdf>