

# UNIVERSIDAD NACIONAL "PEDRO RUIZ GALLO" ESCUELA DE POSGRADO



MAESTRÍA EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN INGENIERIA AMBIENTAL

Bacillus spp. y Pseudomonas spp. aisladas de la rizósfera de Echinopsis pachanoi "San Pedro hembra" en Lambayeque como potenciales promotores de crecimiento de Solanum lycopersicum L. bajo estrés hídrico

## TESIS

# PRESENTADA PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE MAESTRA EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN INGENIERIA AMBIENTAL

#### **AUTORA:**

Lic. Angiela Tatiana Núñez Montenegro

ASESORA:

Dra. Carmen Rosa Carreño Farfán

LAMBAYEQUE - PERÚ

2022

Bacillus spp. y Pseudomonas spp. aisladas de la rizósfera de Echinopsis pachanoi "San Pedro hembra" en Lambayeque como potenciales promotores de crecimiento de Solanum lycopersicum L. bajo estrés hídrico

Lic. Angiela Tatiana Núñez Montenegro
AUTOR

Dra. Carmen Rosa Carreño Farfán

ASESORA

Tesis presentada a la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo para optar el Grado Académico de: MAESTRA EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN INGENIERÍA AMBIENTAL

Aprobada por:

Dra. Martha Arminda Vergara Espinoza

PRESIDENTE DEL JURADO

Dra. Gianina Llontop Barandiarán

SECRETARIA DEL JURADO

recyclo de Alra

Dra. Elsa Violeta Angulo Plasencia

**VOCAL DEL JURADO** 

Lambayeque, 2022

#### Acta de sustentación (copia)

UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO	ESCUELA DE POSGRADO	Versión:	01
	M. Sc. Francis Villena Rodríguez	Fecha de Aprobación	29-8-2020
UNIDAD DE INVESTIGACION	FORMATO DE ACTA DE SUSTENTACIÓN VIRTUAL <u>DE TESIS</u>	Pág. 1	1 de 3

#### ACTA DE SUSTENTACIÓN VIRTUAL DE TESIS

Siendo las 12:30 p.m. del viernes 30 de diciembre de 2022, se dio inicio a la Sustentación Virtual de Tesis soportado por el sistema Google Meet, preparado y controlado por la Unidad de Tele Educación de la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo de Lambayeque, con la participación en la Video Conferencia de los miembros del Jurado, nombrados con Resolución N°0814-2019-EPG, de fecha 25 de junio del 2019, conformado por:

Dra. MARTHA ARMINDA VERGARA ESPINOZA

Dra. GIANINA LLONTOP BARANDIARAN

Dra. ELSA VIOLETA ANGULO PLASENCIA

Dra. CARMEN ROSA CARREÑO FARFAN

Presidente
Secretaria
Vocal
Asesor

Para evaluar el informe de tesis de la tesista ANGIELA TATIANA NUÑEZ MONTENEGRO, candidata a optar el grado de MAESTRA EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN INGENIERÍA AMBIENTAL con la tesis titulada "BACILLUS SPP, Y PSEUDOMONAS SPP. AISLADAS DE LA RIZOSFERA DE ECHINOPSIS PACHANOI "SAN PEDRO HEMBRA" EN LAMBAYEQUE COMO POTENCIALES PROMOTORES DE CRECIMIENTO DE SOLANUM LYCOPERSICUM L. BAJO ESTRES HIDRICO".

La Srta Presidente, después de transmitir el saludo a todos los participantes en la Video Conferencia de la Sustentación Virtual ordenó la lectura de la Resolución N°1335-2022-EPG de fecha 26 de diciembre de 2022 que autoriza la Sustentación Virtual del Informe de tesis correspondiente, luego de lo cual autorizó a la candidata a efectuar la Sustentación Virtual, otorgándole 30 minutos de tiempo y autorizando también compartir su pantalla.

Culminada la exposición de la candidata, se procedió a la intervención de los miembros del jurado, exponiendo sus opiniones y observaciones correspondientes, posteriormente se realizaron las preguntas al candidato.

Culminadas las preguntas y respuestas, la Sra. Presidente, autorizó el pase de los miembros del Jurado a la sala de video conferencia reservada para el debate sobre la

Formato: Físico/Digital	Ubicación : UI- EPG - UNPRG	Actualización:
-------------------------	-----------------------------	----------------



# ESCUELA DE POSGRADO W. Sc. Francis Villena Rodríguez

Versión:	01		
Fecha de Aprobación	29-8-2020		

## UNIDAD DE INVESTIGACION FORMATO DE ACTA DE SUSTENTACIÓN VIRTUAL DE TESIS

Pág. 2 de 3

Sustentación Virtual del Informe de tesis realizada por la candidata, evaluando en base a la rúbrica de sustentación y determinando el resultado total de la tesis con **19** puntos, equivalente a **MUY BUENO**, quedando la candidata apta para optar el Grado de MAESTRA EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN INGENIERÍA AMBIENTAL.

Se retornó a la Video Conferencia de Sustentación Virtual, se dio a conocer el resultado, dando lectura del acta y se culminó con los actos finales en la Video Conferencia de Sustentación Virtual.

Siendo las 13:45 horas se se dio por concluido el acto de Sustentación Virtual.

Dra. MARTHA ARMINDA VERGARA ESPINOZA PRESIDENTE

Dra. GIANINA LLONTOP BARANDIARAN SECRETARIA

Dra. ELSA VIOLETA ANGULO PLASENCIA VOCAL

Eugufs de alvas

Dra. CARMEN ROSA CARREÑO FARFAN ASESORA

Formato : Físico/Digital Ubicación : UI- EPG - UNPRG Actualización:

V

Constancia de aprobación de originalidad de tesis

Yo, Carmen Rosa Carreño Farfán, asesor de tesis del estudiante Angiela Tatiana Núñez Montenegro,

Titulada:

"Bacillus spp. y Pseudomonas spp. aisladas de la rizósfera de Echinopsis pachanoi "San Pedro

hembra" en Lambayeque como potenciales promotores de crecimiento de Solanum lycopersicum L.

bajo estrés hídrico", luego de la revisión exhaustiva del documento constato que la misma tiene un

índice de similitud de 18% verificable en el reporte de similitud del programa Turnitin.

El suscrito analizó dicho reporte y concluyó que cada una de las coincidencias detectadas no

constituyen plagio. A mi leal saber y entender la tesis cumple con todas las normas para el uso de

citas y referencias establecidas por la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.

Lambayeque, 31 de octubre de 2022

Dra. Carmen Rosa Carreño Farfán

DNI: 16494424 ASESORA

#### **Dedicatoria**

A Dios, quien me ha guiado y me ha dado la fortaleza para seguir adelante sin desmayar y alcanzar mis objetivos trazados.

A mis padres, a quienes amo mucho: Gilberto y Rosa por su apoyo incondicional, consejos, comprensión, amor, ayuda en los momentos difíciles en cada etapa de mi vida.

A mi querido hermano: Marlon por sus buenos consejos y por apoyarme en cada momento de mi vida.

#### Agradecimiento

A mis padres, Gilberto y Rosa por apoyarme con los medios necesarios para culminar y avanzar un paso más en mi etapa profesional. A ustedes por siempre mi corazón y mi agradecimiento eterno.

A mi asesora de tesis: Dra. Carmen Carreño Farfán, por su esfuerzo y dedicación, quién con sus conocimientos, su experiencia, su paciencia y su motivación hizo posible la culminación de mi tesis con éxito.

A mis profesores: Victoria Lora Vargas y Juan López que, durante la realización de mi tesis, influyeron con sus orientaciones acertadas para alcanzar mi meta.

## Índice General

Acta de sustentación (copia)	iii
Constancia de aprobación de originalidad de tesis	v
Dedicatoria	vi
Agradecimiento	vii
Índice General	viii
Índice de Tablas	ix
Índice de Figuras	x
Índice de Anexos	xii
Resumen	xiii
Abstract	xiv
Introducción	14
CAPÍTULO I. Marco teórico	16
1.1 Antecedentes de la Investigación	16
1.2 Base Teórica	18
1.3 Definiciones conceptuales	20
1.4 Operacionalización de Variables	21
1.5 Hipótesis	22
CAPÍTULO II. Métodos y materiales	23
2.1 Tipo de Investigación	23
2.2 Método de Investigación	23
2.3 Diseño de Contrastación	23
2.4 Población, Muestra y Muestreo	23
2.5 Técnicas, instrumentos, equipos y materiales de recolección de datos	28
2.6 Procesamiento y análisis de datos	34
CAPÍTULO III. Resultados	35
3.1 Bacillus spp. y Pseudomonas ssp. identificadas en la rizósfera de E. pachano	i "San
Pedro hembra", Lambayeque 2019	35
3.2 Bacillus spp. y Pseudomonas spp. seleccionadas con base a las característica	s que
evidencian in vitro promoción de crecimiento vegetal, Lambayeque 2019	35
3.3 Efecto comparativo de Bacillus spp. y Pseudomonas spp. en el cultivo de	
S. lycopersicum con y sin estrés hídrico	38

CAPÍTULO IV. Discusión	45
Conclusiones	49
Recomendaciones	50
Referencias Bibliográficas	51
Anexos	59

## Índice de Tablas

Tabla 1. Análisis físico-químico de suelo radicular de Echinopsis pachanoi "San Pedro
hembra" en el distrito de Oyotún, región Lambayeque, 2019
Tabla 2. Tratamientos para determinar el efecto de Bacillus spp. y Pseudomonas spp. en el
crecimiento S. lycopersicum L. con y sin estrés hídrico
Tabla 3. Análisis físico - químico de suelo experimental del distrito de San José,
Lambayeque, 201931
Tabla 4. Densidad óptica (600 nm) de medio mínimo Dworkin y Foster con ACC y sulfato
de amonio como fuentes de nitrógeno cultivado con Bacillus spp. y Pseudomonas
spp., Lambayeque 2019
Tabla 5. Densidad óptica, ácido indol acético y fósforo solubilizados por Bacillus spp. y
Pseudomonas spp. seleccionadas, Lambayeque 2019
Tabla 6. Valores de la altura y biomasa aérea y radicular de Solanum lycopersicum L. sin y
con estrés hídrico
Tabla 7. Parámetros de crecimiento de plantas de S. lycopersicum por efecto de
Bacillus spp. y Pseudomonas ssp. con y sin estrés hídrico
Tabla 8. Índices de efectividad de Bacillus spp. y Pseudomonas spp. en los parámetros de
crecimiento de plantas de S. lycopersicum con y sin estrés hídrico

## Índice de Figuras

Figura 1. Diseño completamente aleatorio con arreglo factorial para determinar el efecto
de Bacillus spp. y Pseudomonas spp. en el crecimiento de Solanum lycopersicum
L. "tomate", bajo diferentes condiciones de estrés y aplicación de bacterias
rizoféricas24
Figura 2. Ubicación del lugar de muestreo en el distrito de Oyotún, región Lambayeque,
2019
Figura 3. Plantas de Echinopsis pachanoi "San Pedro hembra" en el distrito de Oyotún,
región Lambayeque, 201926
Figura 4. Raíces con suelo rizosférico de Echinopsis pachanoi "San Pedro hembra" en el
distrito de Oyotún, región Lambayeque 201926
Figura 5. Plantas de Solanum lycopersicum L. desarrolladas en condiciones de invernadero,
Lambayeque 2019
Figura 6. Medición de altura de planta de Solanum lycopersicum L., Lambayeque 2019 33
Figura 7. Coloración observada en la cuantificación de ácido indol acético (a) y fósforo
soluble (b), Lambayeque 201937
Figura 8. Plantas de Solanum lycopersicum L., sin (a) y con estrés hídrico (b), 30 días
después de la inoculación de Bacillus spp
Figura 9. Plantas de Solanum lycopersicum L. sin (a) y con estrés hídrico (b), 40 días
después de la inoculación de Bacillus spp
Figura 10. Plantas de Solanum lycopersicum L., sin (a) y con estrés hídrico (b), 60 días
después de la inoculación de <i>Pseudomonas</i> spp
Figura 11. Biomasa radicular de Solanum lycopersicum L., sin estrés hídrico 60 días
después de la inoculación de <i>Bacillus</i> sp. 89
Figura 12. Biomasa radicular de Solanum lycopersicum L., con estrés hídrico, 60 días
después de la inoculación de <i>Pseudomonas</i> sp. 81

## Índice de Anexos

Anexo A. Calculo de numero de muestras de raices y suelo rizosferico de <i>Echinopsis</i>
pachanoi (Alvitres, 2000)
Anexo B. Medios de cultivo
Anexo C. Temperaturas registradas durante el cultivo de Solanum lycopersicum L. (Estación
Meteorológica de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, ubicado en el fundo
"El Cienago" de Lambayeque)
Anexo D. Contenido de agua en peso y capacidad de campo (en García et al., 2012; Polo y
Hernández, 2016)64
Anexo E. Cultivos puros de bacilos Gram positivos y Gram negativos según muestra de
suelo rizosférico de <i>E. pachanoi</i> de procedencia, Lambayeque 2019 65
Anexo F. Análisis de varianza de la altura de Solanum lycopersicum L., 60 días después de
la inoculación de Bacillus spp. y Pseudomonas spp. con y sin estrés hídrico, Prueba
t de la altura de Solanum lycopersicum L., con y sin estrés hídrico, Prueba de
comparaciones múltiples de Tukey de la altura de Solanum lycopersicum L., 60
días después de la inoculación de Bacillus spp. y Pseudomonas spp68
Anexo G. Análisis de varianza de la biomasa aérea de Solanum lycopersicum L., 60 días
después de la inoculación de Bacillus spp. y Pseudomonas spp. con y sin estrés
hídrico, Prueba t de la biomasa aérea de Solanum lycopersicum L., con y sin estrés
hídrico, Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de la biomasa aérea de
Solanum lycopersicum L., 60 días después de la inoculación de Bacillus spp. y
Pseudomonas spp69
Anexo H. Análisis de varianza de la biomasa radicular de Solanum lycopersicum L., 60 días
después de la inoculación de Bacillus spp. y Pseudomonas spp. con y sin estrés
hídrico, Prueba T de la biomasa radicular de Solanum lycopersicum L., con y sin
estrés hídrico, Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de la biomasa radicular
de Solanum lycopersicum L., 60 días después de la inoculación de Bacillus spp. y
Pseudomonas spp70

#### Resumen

El potencial como promotoras de crecimiento de Solanum lycopersicum L. "tomate" bajo estrés hídrico se investigó en Bacillus spp. y Pseudomonas spp. aisladas de la rizósfera de Echinopsis pachanoi "San pedro hembra". A las bacterias de ambos géneros se les investigó in vitro la actividad de la enzima 1- aminociclopropano-1- carboxilato (ACC) desaminasa, la producción de ácido indol acético (AIA) y la solubilización de fosfato tricálcico. Asimismo, se determinó el efecto de cuatro cultivos de *Bacillus* spp. y *Pseudomonas* spp. en el crecimiento de tomate, bajo estrés hídrico, con un diseño completamente aleatorio con arreglo factorial 2 x 5. En los tratamientos con estrés hídrico el riego se realizó cada 10 días, con un periodo de sequía de 6 días. Se identificaron 127 cultivos puros de Bacillus spp. y 84 de Pseudomonas spp. El 7,87 % de Bacillus spp. y el 19 % de Pseudomonas spp. demostraron actividad ACC desaminasa, produjeron AIA (34,91- 64,68 ppm) y solubilizaron fosfato (13,03–25,06 ppm fósforo). Bacillus spp. (34 y 89) y Pseudomonas spp. (13 y 81) incrementaron los parámetros de crecimiento de las plantas y alcanzaron índices de efectividad (IE) de 18,58 – 70,49 % en la altura; 41,33 - 67,69 % en la biomasa aérea y 9,67 – 46,36 % en la biomasa radicular de las plantas con estrés hídrico, así como 1,28-45,90%, 15,61-46,3% y 3,24-36,76% respectivamente, en las plantas sin estrés hídrico. Se demostró promoción de crecimiento en plantas de tomate bajo estrés hídrico por bacterias rizosféricas de E. pachanoi.

Palabras clave: tomate, estrés hídrico, San Pedro hembra, Bacillus spp., Pseudomonas spp.

#### Abstract

The potential as growth promoters of *Solanum lycopersicum* L. "tomato" under water stress was investigated in Bacillus spp. and Pseudomonas spp. isolated from the rhizosphere of Echinopsis pachanoi "San Pedro female". Bacteria of both genders were investigated in vitro for the activity of the enzyme 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase, the production of indole acetic acid (IAA) and the solubilization of tricalcium phosphate. Likewise, the effect of four cultures of *Bacillus* spp. and *Pseudomonas* spp. in tomato growth, under hydric stress, with a completely random design with a 2 x 5 factorial arrangement. In the treatments with hydric stress, irrigation was carried out every 10 days, with a dry period of 6 days. 127 pure cultures of Bacillus spp. and 84 from Pseudomonas spp. 7.78 % of Bacillus spp. and 19 % of Pseudomonas spp. showed ACC deaminase activity, produced IAA (34.91-64.68 ppm) and solubilized phosphate (13.03-25.06 ppm phosphorus). Bacillus spp. (34 and 89) and Pseudomonas spp. (13 and 81) increased the growth parameters of the plants and reached effectiveness indices (EI) of 20.51 - 72.58 % in height; 42.58-62.26% in aerial biomass and 11.03-51.52 in root biomass of plants with water stress, as well as 1.30-45.90%, 15.62-46.3% and 3.24 - 36.76% respectively, in plants without water stress. Growth promotion was demonstrated in tomato plants under water stress by rhizospheric bacteria of *E. pachanoi*.

**Keywords:** tomato, water stress, female San Pedro, *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp.

#### Introducción

El estrés abiótico causado por la sequía, salinización, inundación, metales pesados y temperaturas extremas limita la producción de los cultivos agrícolas y causa pérdidas que superan el 30% a nivel mundial (Goswami et al., 2016). La sequía afecta más del 50 % de las zonas áridas y semiáridas (Shrivastava et al., 2015; Arzanesh et al., 2011) y en el Perú, constituye uno de los mayores desastres naturales (Gil, 2018). Lambayeque se encuentra entre las tres regiones con riesgo alto (RA) a la sequía (Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú [SENAMHI, 2015]. El estrés por déficit hídrico o por sequía se produce en las plantas en ambientes con escasez de agua, donde la tasa de transpiración es mayor que la absorción de agua, así como también en condiciones de bajas temperaturas y en suelos con salinidad elevada (Gupta et al., 2022; Moreno, 2009).

El cultivo de *Solanum lycopersicum* L. "tomate" es sensible al estrés hídrico, condición desfavorable que afecta la elongación celular, fotosíntesis y actividad antioxidante (Ngumbi y Kloepper, 2016) y como consecuencia se reduce la altura, la biomasa foliar y radicular, el número de flores y frutos y el rendimiento (Lui et al., 2019; Bacallo y Bao, 2014). En suelos con sequía, las plantas incrementan el nivel de fitohormonas como el etileno (Zhang et al., 2020; Saleem et al., 2018), que inhibe el crecimiento de las raíces, causa abscisión, senescencia y clorosis foliar, caída de flores y disminución en el rendimiento (Singh et al., 2015).

Las cactáceas como *Echinopsis pachanoi* (Britton & Rose) H. Friedrich & G. Rowley denominado cactus "San Pedro hembra" o achuva (Laguna et al., 2013), desarrollan en suelos donde las lluvias son escasas, la evapotranspiración es elevada y la fertilidad es baja (Chávez et al., 2016). En la rizósfera de las plantas de San Pedro hembra como en otras cactáceas se encuentran bacterias promotoras de crecimiento en plantas (Plant Growth Promoting Rhizobacteria, PGPR), que mediante mecanismos como la actividad de la enzima 1- aminociclopropano-1- carboxilato (ACC) desaminasa (ACCD) hidrolizan el ACC o precursor del etileno y de esta manera disminuyen el etileno y sus efectos adversos (Kour y Jadav, 2022); sin embargo, se desconoce el potencial benéfico de estas bacterias en el cultivo de tomate bajo condiciones de estrés hídrico.

En el cultivo de tomate bajo estrés hídrico se ha demostrado que bacterias de los géneros *Bacillus y Pseudomonas* con actividad ACCD, incrementaron la germinación, el vigor de las plántulas, la altura, el peso de la biomasa aérea y radicular, el contenido de clorofila, prolina, nutrientes, la actividad enzimática antioxidante y el rendimiento. Por el contrario, disminuyeron las especies reactivas de oxígeno (ROS) y el malondialdehido que evidencia peroxidación de lípidos (Gowtham et al, 2020; Astorga et al., 2021; Haque et al., 2020)

En este contexto, se planteó la siguiente investigación cuyo problema fue: ¿Cuál es el potencial de *Bacillus* spp. y *Pseudomonas* spp. aisladas de la rizósfera de *E. pachanoi* "San Pedro hembra" en Lambayeque como promotoras de crecimiento en *Solanum lycopersicum* L. "tomate" bajo estrés hídrico? El objetivo general de la investigación fue: Determinar el potencial *Bacillus* spp. y *Pseudomonas* spp. aisladas de la rizósfera de *E. pachanoi* "San Pedro hembra" en Lambayeque como promotoras de crecimiento de *S. lycopersicum* L. "tomate" bajo estrés hídrico. Los objetivos específicos fueron: Identificar fenotípicamente los géneros *Bacillus* y *Pseudomonas* en las bacterias aisladas de la rizósfera de *E. pachanoi* "San Pedro hembra" en Lambayeque, seleccionar *Bacillus* spp. y *Pseudomonas* spp. con base a las características que evidencian *in vitro* promoción de crecimiento vegetal y comparar el efecto de cuatro cultivos *Bacillus* spp. y *Pseudomonas* spp. en el crecimiento de *S. lycopersicum* L. "tomate" con y sin estrés hídrico, bajo condiciones de invernadero.

El cultivo de tomate es uno de los más importantes en términos económicos a nivel mundial. En la región Lambayeque el tomate es cultivado a pesar de la escasez de agua y se obtienen rendimientos que en su mayoría afectan la rentabilidad del agricultor. Las bacterias de los géneros *Bacillus y Pseudomonas* caracterizadas en la presente investigación pueden constituir la base para la obtención de biofertilizantes a ser utilizados como biofertilizantes en plantas de tomate y en diversos cultivos agrícolas bajo condiciones de estrés hídrico.

#### CAPÍTULO I. Marco teórico

#### 1.1 Antecedentes de la Investigación

Las cactáceas constituyen una fuente de microrganismos con potencial biotecnológico. En la rizósfera de *Mammillaria magnimamma* y *Coryphantha radians* se aislaron bacterias del género *Bacillus*, con el objetivo de investigar el efecto *in vitro* e *in vivo* en el desarrollo *Mammillaria* spp. Se identificaron cuatro aislados de *Bacillus* spp. con actividad ACC desaminasa, fijación de nitrógeno, producción de indoles y solubilización de fosfato tricálcico. Todas las bacterias incrementaron (17 - 34 %) la germinación de semillas de *M. magnimamma* respecto al testigo no inoculado. *Bacillus* sp. AP24 aumentó en 31 % el número de plantas de *M. zeilmanniana* y la floración durante 1 año. Se concluyó que estas bacterias pueden ser utilizadas para mejorar el desarrollo de las especies vegetales en zonas áridas (Chávez et al., 2016).

Costa y Melo (2012), aislaron bacterias en la rizósfera y tejidos de *Opuntia ficus*indica "tuna", con el objetivo de caracterizarlas y determinar el efecto de su aplicación en
el cultivo de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. "frejol caupí". Las bacterias de raíces, tallos y
suelo rizosférico se aislaron en medio sin nitrógeno (NFb) y se investigó la producción de
ácido indol acético, solubilización de fosfato y presencia del gen nifH. Se obtuvieron 37
cultivos de bacterias endófitas y 31 de rizosféricas. *Ochrobactrum anthopi* (cepas 1 y 2), *Rhodococcus erythropolis* y *Stenotrophomonas maltophilia* incrementaron (18 - 37 %) el
número de nódulos y las dos cepas de *O. anthopi* aumentaron la altura y peso de la biomasa.
Se demostró la promoción del crecimiento de frijol caupí por las bacterias procedentes de
la tuna.

Astorga et al. (2021), investigaron las características que evidencian *in vitro* promoción de crecimiento vegetal en rizobacterias de plantas de *Cistanthe longiscapa* nativas del desierto de Atacama y determinaron el efecto de la inoculación en la germinación y crecimiento de plántulas de tomate durante 60 días, bajo estrés hídrico. Las bacterias se mezclaron en tres consorcios (tres bacterias por consorcio) y se inocularon en las semillas y en la rizósfera de las plántulas a los 20, 30 y 40 días después de la siembra, momento en el que se estableció el estrés hídrico (24,72 y 120 horas). Bacterias de los

géneros *Bacillus*, *Brevibacillus* y *Paenibacillus* solubilizaron fosfato, fijaron nitrógeno, produjeron auxinas, exopolisacáridos y presentaron actividad ACCD. El consorcio B (*B. subtilis* + *B. mojavensis* + *B. polymyxa*) alcanzó los mayores incrementos en la tasa de germinación (50 %), longitud de la raíz (38 %), altura (38 %), biomasa (16 %) y número de hojas (23 %). Se demostró el potencial como biofertilizantes de las rizobacterias de *C. longiscapa*.

Andryei et al. (2021) investigaron durante 2 años consecutivos el efecto de tres consorcios de rizobacterias en el desarrollo de plantas de tomate bajo sequía, en condiciones de campo. El ensayo se condujo bajo un diseño de bloques completamente aleatorizados, con y sin déficit de riego. Las semillas se inocularon con los consorcios bacterianos B1, B2 y B3, se sembraron en surcos con distanciamientos de 20 cm entre plantas y se contaron los frutos de acuerdo a su calidad comercial. En promedio durante los 2 años, el consorcio B2 (*Alcaligenes* sp. + *Bacillus* sp.) incrementó el rendimiento de frutos y se alcanzaron 81,77 t ha<sup>-1</sup> (déficit de riego) y 78,99 t ha<sup>-1</sup> (sin déficit), sin diferencias significativas con el testigo, cuyos rendimientos fueron de 77,63 y 59,50 t ha<sup>-1</sup> respectivamente. El consorcio B2 disminuyó el impacto negativo del déficit de riego en el rendimiento comercial de las plantas de tomate.

Gowtham et al. (2020), estudiaron el efecto de la inoculación de 10 rizobacterias con actividad ACC desaminasa en el crecimiento de plantas de tomate bajo estrés por sequía. Las bacterias se inocularon en las semillas, se determinó el efecto en la germinación y parámetros de crecimiento durante 35 días y la bacteria con la que se alcanzaron los mayores valores se inoculó nuevamente para investigar el efecto en las plantas sin riego, con períodos de 2, 3, 4 y 5 días. Transcurridos 40 días se evaluaron los parámetros bioquímicos de las plantas. Entre las rizobacterias con actividad ACC desaminasa, *Bacillus subtilis* SF48 incrementó la germinación, el índice de vigor, la altura y el peso de las plántulas de tomate. Esta bacteria aumentó el contenido relativo de agua, prolina, actividad de las enzimas superóxido dismutasa (SOD) y ascorbato peroxidasa (APX). Por el contrario, disminuyó el peróxido de hidrógeno y el malondialdehido (MDA). Se demostró la efectividad de *B. subtilis* SF48 en la disminución del impacto negativo de la falta de riego en las plantas de tomate.

Brilli et al. (2019), investigaron el efecto de *Pseudomonas chlororaphis* en plantas

de tomate bajo estrés por sequía. Las semillas se inocularon con las bacterias y se sembraron en macetas con suelo esterilizado dos veces a 121 °C por 30 minutos. Transcurridos 2 meses de la emergencia de las plántulas, se indujo el estrés hídrico por 9 días y se cuantificaron la prolina, peróxido de hidrógeno, malondialdehido, actividad de las enzimas SOD y catalasa (CAT), ácido indol acético (AIA) y abscísico (ABA). La colonización de las raíces por *P. chlororaphis* incrementó la prolina, AIA, ABA, SOD y CAT. Por el contrario, disminuyó el peróxido de hidrógeno y el MDA. *P. chlororaphis* aumentó la actividad antioxidante y el nivel de ABA, lo que demostró una mayor eficiencia en la regulación del cierre de las estomas y evidenció un mayor control de la pérdida de agua en las plantas bajo estrés hídrico.

#### 1.2 Base Teórica

La microbiota del suelo es esencial para el mantenimiento de los ecosistemas desérticos, donde los microorganismos establecen relaciones benéficas con las plantas y contribuyen a su sobrevivencia, nutrición y crecimiento en estos ambientes adversos (Chávez et al., 2016). Las PGPR habitan la rizósfera o región del suelo influenciada por los exudados de la raíz: aminoácidos, ácidos grasos, nucleótidos, ácidos orgánicos, fenoles, reguladores de crecimiento, esteroles, azúcares y vitaminas. Las rizobacterias compiten por estos metabolitos y por el sitio que ocupan sobre las células epidérmicas y el área donde emergen las raíces (Molina et al., 2015).

Las rizobacterias promotoras de crecimiento de plantas (PGPR) ejercen su efecto benéfico mediante una combinación de mecanismos. El buen desempeño de las PGPR requiere tres pasos: i) atracción de las bacterias hacia la rizósfera del hospedero, ii) Adhesión y colonización en la superficie de la raíz, iii) funcionalidad de la simbiosis asociativa o establecimiento efectivo de una relación microorganismo-planta, lo que favorece la modulación del balance hormonal de la planta (producción de fitohormonas, compuestos volátiles o precursores del catabolismo vegetal), el mejoramiento en la nutrición de la planta (fijación biológica de nitrógeno y solubilización de fosfatos) y el mantenimiento del estado normal de la planta (Gakegne et al., 2017; Molina et al., 2015).

Las características que evidencian *in vitro* promoción de crecimiento vegetal por *Bacillus* spp. son: fijación de nitrógeno, producción de AIA, solubilización de fosfato, actividad ACC desaminasa (Chávez et al., 2016), producción de sideróforos (Wahyudi et al., 2011), actividad antifúngica (Minaxi et al., 2012) e inducción de resistencia sistémica (Gakegne et al., 2017). En *Pseudomonas* spp. las características son: fijación de nitrógeno, producción de AIA y reducción de acetileno (Pérez y Sánchez, 2017), solubilización de fosfato (Caiza et al., 2019), actividad ACC desaminasa (Zhang et al., 2020), producción de sideróforos (Sah et al., 2017), actividad antifúngica e inducción de resistencia sistémica (Gakegne et al., 2017).

El estrés en un organismo es el conjunto de respuestas bioquímicas o fisiológicas diferentes a las observadas bajo condiciones óptimas. El estrés puede ser ambiental, fisiológico y bioquímico (Basurto et al., 2000). El estrés ambiental es causado por las condiciones desfavorables, como altas y bajas temperaturas, sequía, inundación, salinidad, déficit de nutrientes y por toxicidad de metales pesados. La sequía, salinidad y temperaturas extremas son los principales tipos de estrés que afectan el crecimiento y productividad de los cultivos agrícolas (Martínez et al., 2011).

El etileno es una hormona vegetal que induce la ruptura de la dormancia, diferenciación de raíces y tallos, formación de raíces adventicias, abscisión de hojas y frutos, inducción de florecimiento, senescencia de hojas y flores y madurez de frutos (Saleem et al., 2007). Los niveles de etileno en las plantas se incrementan como respuesta al estrés provocado por la temperatura, escasez de agua, salinidad y ataques de patógenos, entre otros. Altas concentraciones de etileno inhiben el crecimiento de las plantas, inducen marchitamiento, abscisión, senescencia y clorosis foliar, caída de flores, disminución del rendimiento y muerte prematura (De Souza et al., 2017).

El ácido 1-aminociclopropano-carboxílico (ACC), es un intermediario en la biosíntesis de etileno que regula el proceso de crecimiento de las plantas, desarrollo y senescencia. En las plantas superiores el ACC es sintetizado a partir del S-adenosil-metionina (SAM) mediante la ACC sintasa. Esta enzima inducida por el estrés ambiental y estimulada por las auxinas, citoquininas y el propio etileno convierte a SAM en ACC. Este intermediario a su vez origina etileno, dióxido de carbono y cianuro de hidrógeno (HCN) mediante la ACC oxidasa con hierro como cofactor y ascorbato como cosustrato. El ACC exudado por las

raíces es utilizado como fuente de nitrógeno para la cual es hidrolizado hasta amonio y  $\alpha$ -cetobutirato por las bacterias con actividad ACC desaminasa, con la consecuente disminución del nivel de etileno e inhibición causada en condiciones de estrés (Esquivel et al., 2013).

En las plantas de tomate con estrés hídrico se modifica la expresión de los genes involucrados con la tolerancia a la sequía (Liu et al., 2019). A nivel morfológico se observa elongación rápida de las raíces, reducción de la altura de planta, área foliar, biomasa, desprendimiento de hojas y frutos, enrollamiento de hojas y disminución del número de flores, frutos y rendimiento del cultivo. A nivel fisiológico se produce el ajuste osmótico por biosíntesis de osmolitos (prolina, glicina, betaina y trehalosa), acumulación de iones K<sup>+</sup> y NO<sub>3</sub> y cierre de estomas regulado por el ácido abscísico (ABA) con reducción de la tasa de transpiración. La respuesta bioquímica de las plantas de tomate incluye la alteración en la expresión de las proteínas relacionadas con las enzimas clave en la síntesis de osmolitos, enzimas antioxidantes y otras proteínas asociadas a la respuesta al estrés hídrico (Florido y Bao, 2014).

#### **1.3 Definiciones conceptuales**

- 1.3.1 Suelo rizosférico: Suelo adherido a las raíces. Es influenciado por los exudados secretados de las raíces como aminoácidos, ácidos grasos, nucleótidos, ácidos orgánicos, fenoles, reguladores de crecimiento, azúcares y vitaminas (Kumawat et al., 2022; Molina et al., 2015).
- 1.3.2 Rizobacterias: Bacterias que se encuentran en el suelo rizosférico y cuando favorecen a las plantas se les denomina rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (Kaushal y Wani, 2016).
- 1.3.3 Rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal: Microorganismos que mediante mecanismos directos e indirectos favorecen el crecimiento de las plantas. Los mecanismos directos son la fijación de nitrógeno, producción de reguladores de crecimiento (AIA, ABA, ácido giberélico), solubilización de nutrientes (fósforo, potasio) y regulación del nivel de fitohormonas (actividad de la enzima ACCD). Los mecanismos indirectos o de control biológico son la competencia, antibiosis, producción de enzimas líticas y resistencia sistémica reducida (Gupta et al., 2022).

- 1.3.4 Estrés abiótico: Condición observada en las plantas bajo factores abióticos adversos como la sequía, salinidad, temperaturas extremas, luz ultravioleta, inundaciones, contaminantes en el aire, desbalance nutricional y metales pesados. El estrés abiótico disminuye de manera significativa el crecimiento y rendimiento vegetal (Murali et al.,2021).
- 1.3.5 Estrés hídrico: Condición observada en las plantas bajo deficiencia de agua. El estrés hídrico reduce la abertura de las estomas, el potencial hídrico en las hojas, disminuye el crecimiento de la parte aérea y raíz y la productividad (Osakabe et al., 2014).
- 1.3.6 Desarrollo y crecimiento vegetal: El desarrollo es el resultado de la combinación de la división celular que produce nuevos células, el crecimiento que incrementa el tamaño de las células y órganos y la diferenciación o cambios que llevan a la especialización de la estructura y función de la célula (Pimienta et al.,2006). El crecimiento y el desarrollo ocurre en forma simultánea. El crecimiento es una combinación de procesos biológicos y bioquímicos que incrementan el volumen y masa por una expansión de las células, tejidos y órganos (Ortuño et al.,2015)

#### 1.4 Operacionalización de Variables

Variables	Definición de variables	Dimensión	Indicadores	Instrumentos
	Crecimiento: Incremento	Altura de planta	cm	Cinta métrica
Dependiente:	del tamaño (volumen y masa) de las células,	Peso de biomasa	g	Balanza de
Crecimiento de	tejidos y órganos (Ortuño	aérea		precisión
tomate	et al.,2015)	Peso de biomasa	g	Balanza de
		de raíces		precisión
Independientes: A: Condición de estrés	Estrés hídrico: Condición observada en las plantas bajo deficiencia de agua	Actividad ACC desaminasa	Densidad óptica	Espectrofotómetro
(sin y con estrés hídrico) B: Rizobacterias	(Osaka et al., 2014) Rizobacterias: Bacterias que habitan el suelo	Producción de AIA	ppm	Espectrofotómetro
(sin rizobacterias, Bacillus sp.1, Bacillus sp.2 y Pseudomonas sp.1 y Pseudomonas sp.2)	rizosférico y cuando favorecen a las plantas se les denomina rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (Kaushal y Wani; 2016)	Solubilización de fosfatos	ppm	Espectrofotómetro

#### 1.5 Hipótesis

La hipótesis planteada fue: *Bacillus* spp. y *Pseudomonas spp*. aisladas de la rizósfera de *E. pachanoi* presentan actividad ACC desaminasa, producen ácido indol acético, solubilizan fosfato y promueven el crecimiento de *S. lycopersicum* L. "tomate" con y sin estrés hídrico.

#### **CAPÍTULO II.** Métodos y materiales

#### 2.1 Tipo de Investigación

Investigación descriptiva (primera fase) y explicativa (segunda fase).

#### 2.2 Método de Investigación

Investigación aplicada con método deductivo y enfoque cuantitativo (Hernández et al., 2014 a).

#### 2.3 Diseño de Contrastación

En la fase explicativa de la investigación la hipótesis se contrastó con el diseño experimental completamente aleatorio (DCA), con arreglo factorial 2x5 (Hernández et al., 2014 a). El factor A correspondió a la condición de estrés: sin estrés (A1) y con estrés hídrico (A2) y el factor B correspondió a las rizobacterias: sin rizobacterias (B1), *Bacillus* sp.1 (B2), *Bacillus* sp.2 (B3), *Pseudomonas* sp.1 (B4) y *Pseudomonas* sp.2 (B5)

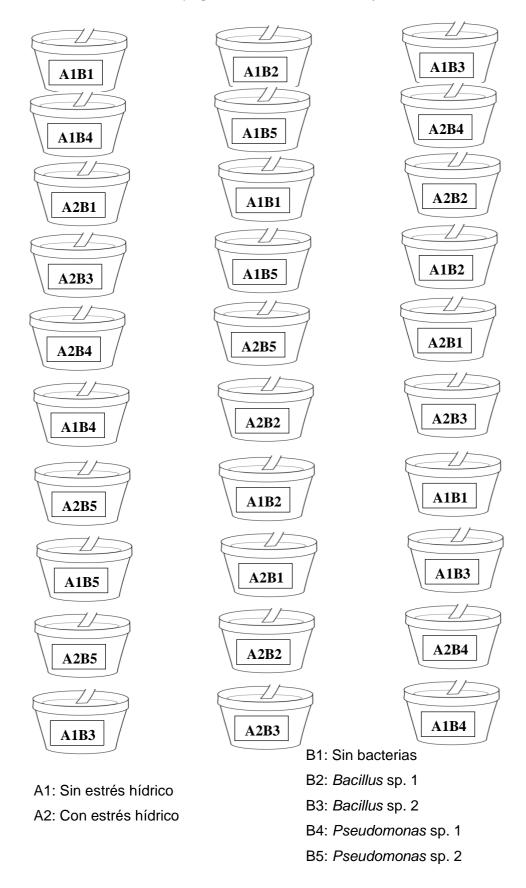
#### 2.4 Población, Muestra y Muestreo

En la investigación descriptiva la población estuvo constituida por el suelo rizosférico de plantas de *E. pachanoi* desarrolladas en el distrito de Oyotún, región Lambayeque y se investigaron 54 muestras no probabilísticas de suelo rizosférico colectadas en agosto de 2019. El número de muestras fue calculado (Alvitres, 2000) considerando una prevalencia de 90 %, determinada por la investigadora en un muestreo piloto (Anexo A). En la investigación explicativa la población y muestra de estudio correspondió a 60 plantas de tomate distribuidas en diez tratamientos, tres repeticiones y dos plantas por repetición (Figura 1).

Las muestras de suelo rizosférico adheridos a las raíces de *E. pachanoi* se colectaron en el distrito de Oyotún (Figura 2), ubicado a 6°50′52.5" latitud Sur y 79°18′3.4" longitud oeste. Limita por el norte con el distrito de Chongoyape, por el sur con el distrito de Nueva Arica, por el este con el departamento de Cajamarca y por el oeste con los distritos de Cayalti y Zaña.

#### Figura 1

Diseño completamente aleatorio con arreglo factorial para determinar el efecto de Bacillus spp. y Pseudomonas spp. en el crecimiento de Solanum lycopersicum L. "tomate", bajo diferentes condiciones de estrés y aplicación de bacterias rizoféricas.



En plantas de *E. pachanoi* con 1 - 2,50 m de altura y un diámetro de 26 - 32 cm en el tallo, se colectaron las muestras de raíces con el suelo rizosférico adherido, para lo cual a 0,2 m de la base del tallo de las plantas (Figura 2), con un pico se fragmentó la capa superficial del suelo y con una palana se retiró el suelo hasta una profundidad de 0,15-0,20 m para alcanzar las raíces (Figuras 3, 4). Las raíces junto con el suelo rizosférico adherido (0,1 kg), se depositaron en bolsas de polietileno debidamente identificadas y se transportaron en una caja térmica (10± 1 °C) hacia el laboratorio de Investigación Biotecnología Microbiana de la Facultad de Ciencias Biológicas en la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo en Lambayeque.

En simultáneo al muestreo de raíces con suelo rizosférico de *E. pachanoi* para el aislamiento de las bacterias, se colectaron 2 kg de suelo radicular para realizar el análisis químico en el Laboratorio Agrícola Análisis de Suelo y Agua, CYSAG. Según los resultados (Tabla 1), el suelo es franco arenoso, con pH neutro (pH 7,31), bajo en sales (CE 1,51 dSm<sup>-1</sup>), ausencia de CaCO<sub>3</sub> (0), nivel medio de materia orgánica (3,64 %) y niveles altos de fósforo disponible (55 mg kg<sup>-1</sup>) y potasio (299 mg kg<sup>-1</sup>).

**Figura 2**Ubicación del lugar de muestreo en el distrito de Oyotún, región Lambayeque, 2019. https://earth.google.com/web/@6.89793455,79.20921503,1390.08830587a,4867
4.45685554d,35y,138.89299831h,0t,0r



Figura 3

Plantas de Echinopsis pachanoi "San Pedro hembra" en el distrito de Oyotún, región Lambayeque, 2019.



Figura 4

Raíces con suelo rizosférico de Echinopsis pachanoi "San Pedro hembra" en el distrito de Oyotún, región Lambayeque 2019.



**Tabla 1**Análisis físico-químico de suelo radicular de Echinopsis pachanoi "San Pedro hembra" en el distrito de Oyotún, región Lambayeque, 2019

Clase textural	pН	CE (dSm <sup>-1</sup> )	MO (%)	P (mg/kg <sup>-1</sup> )	K (mg/kg <sup>-1</sup> )	CaCo <sup>3</sup> (%)
Franco arenosa	7,31	1,51	3,64	55	299	0

Métodos empleados

Textura: Método de hidrómetro

pH: Medido en la suspensión suelo: agua (1:1) con el potenciómetro

CE<sub>e</sub>: Medida en el extracto de saturación (Conductímetro)

Materia orgánica: Método de Walkey & Black

Fósforo: Método de Olsen modificado

Potasio: Extracción con acetato de amonio Calcáreo total: Método gaso - volumétrico

#### 2.5 Técnicas, instrumentos, equipos y materiales de recolección de datos

# 2.5.1 Aislamiento e identificación fenotípica de *Bacillus* spp. y *Pseudomonas* spp. en la rizósfera de *E. pachanoi* Lambayeque, 2019

Para el aislamiento de los microorganismos, las muestras de raíces y suelo rizosférico se deshidrataron bajo sombra durante 72 horas y luego las raíces se golpearon suavemente contra la mano para desprender el suelo rizosférico, el cual se colectó en un papel Kraft (Vardharajula et al., 2011). Se pesó 1g del suelo rizosférico, se depositó en 9 mL de solución salina esterilizada (NaCl 0,85, p/v) y se agitó manualmente durante 10 minutos.

Para el aislamiento de *Bacillus* spp. se tomó 1 mL de la suspensión del suelo, se llevó a tratamiento térmico, a 80 °C, durante 10 minutos y se enfrió rápidamente con agua de caño (Ngangom et al., 2019). Una alícuota de la suspensión de suelo tratada, se sembró mediante la técnica de agotamiento y estría sobre la superficie de agar nutritivo (Anexo B) y se incubó en aerobiosis, a 30 °C, durante 48 horas. Con las colonias de las bacterias desarrolladas se realizaron tinciones de Gram y se seleccionaron los bacilos Gram positivos con esporas no deformantes. La identificación fenotípica del género *Bacillus* se realizó mediante las pruebas de catalasa, oxidasa, motilidad, hidrolisis del almidón y gelatina y crecimiento en anaerobiosis (Xu et al., 2013).

Para el aislamiento de *Pseudomonas* spp. se tomaron alícuotas de cada suspensión de suelo, se sembraron mediante la técnica de agotamiento y estría en agar nutritivo (Anexo B), se incubaron a 30 °C, durante 48 horas y se seleccionaron las colonias constituidas por bacilos Gram negativos (Guerra et al., 2011). La identificación fenotípica del género *Pseudomonas*, se realizó mediante las pruebas de catalasa, oxidasa, fermentación de carbohidratos en agar hierro- triple azúcar (TSI), descarboxilación de la lisina en agar lisina hierro (LIA), utilización de citrato de sodio fuente de carbono y energía, producción de indol e hidrólisis de la gelatina (Noreen et al., 2012).

# 2.5.2 Selección de *Bacillus* spp. y *Pseudomonas* spp. con base de las características que evidencian *in vitro* promoción de crecimiento vegetal, Lambayeque 2019

Las bacterias de los géneros *Bacillus* y *Pseudomonas* rizosféricas de *E. pachanoi* se seleccionaron con base a las características que evidencian *in vitro* promoción de crecimiento vegetal: actividad de la enzima ACCD, producción de ácido indol acético y solubilización de fosfatos. Las bacterias se sembraron por duplicado en caldo mínimo Dworkin y Foster (DF) con ACC (3 mmol) y sulfato de amonio (2 gL<sup>-1</sup>) como fuentes de nitrógeno (Anexo B), se incubaron a 30°C por 48 horas y se determinó la densidad óptica en el espectrofotómetro (Modelo Tenso Med NV-203) a 405 nm. Las bacterias con actividad ACCD fueron aquellas que crecieron en ambos caldos y la densidad óptica del caldo con ACC fue similar o mayor al caldo de sulfato de amonio (Azadikhah et al., 2019).

La producción de ácido indol (AIA) se investigó mediante el método colorimétrico de Salkowski. Las bacterias se cultivaron en caldo nutritivo con triptófano (Anexo B), a 30 °C por 72 horas. Los caldos se centrifugaron (3000 rpm por 5 minutos), 1 mL del sobrenadante se mezcló con 4 mL de reactivo de Salkowski, se dejó en reposo por 30 minutos y la absorbancia se determinó en el espectrofotómetro (Modelo Tenso Med NV-203) a 530 nm. La concentración del AIA se calculó con la ecuación  $X = \frac{Y-0,0089}{0,0045}$  obtenida previamente con diluciones sucesivas de una solución de 100 ppm de AIA (García et al., 2010).

La solubilización de fosfato se investigó mediante el método colorimétrico del molibdato. Las bacterias se cultivaron en caldo National Botanical Research Institute's phosphate NBRIP (Anexo B), a 30 °C, por 72 horas. Los caldos se centrifugaron (3000 rpm por 5 minutos), 5mL del sobrenadante se mezclaron con 1 mL del reactivo indicador, se completó a 6,25 mL con agua destilada, se dejó en reposo por 20 minutos y la absorbancia se determinó en el espectrofotómetro (Modelo Tenso Med NV-203) a 630 nm. La concentración del fósforo soluble se calculó con la ecuación  $X = \frac{Y-0,705}{0,069}$  obtenida previamente con diluciones sucesivas de una solución de 20 ppm de fósforo (Escobar et al., 2011). Los dos cultivos de *Bacillus* spp. y *Pseudomonas* spp. con actividad ACCD y con los mayores valores en la concentración de AIA y fósforo soluble se seleccionaron para la fase experimental de la investigación.

# 2.5.3 Efecto comparativo de *Bacillus* spp. y *Pseudomonas* spp. en el crecimiento de *S. lycopersicum* con y sin estrés hídrico

En el ensayo se determinó el efecto de dos cultivos de *Bacillus* spp. y dos cultivos de *Pseudomonas* spp. en el crecimiento de tomate, bajo un diseño completamente aleatorio con arreglo factorial 2 × 5. El factor A correspondió a la condición de estrés: sin estrés (A1) y con estrés hídrico (A2) y el factor B a las rizobacterias: sin bacterias (B1), *Bacillus* sp. 1 (B2), *Bacillus* sp. 2 (B3), *Pseudomonas* sp. 1 (B4) y *Pseudomonas* sp. 2 (B5). Los tratamientos fueron diez, con tres repeticiones, 30 unidades experimentales y dos plantas en cada una (Tabla 2).

En el caserío La Tiza del sector de riego Bodegones en el distrito de San José, región Lambayeque, se recolectaron 140 kg de suelo, se esterilizaron en el autoclave a 121°C por 3 horas, durante 3 días consecutivos (Chandra et al., 2018) y se acondicionaron en macetas de arcilla de 5 kg de capacidad a razón de 4,5 kg por cada maceta. En la base de cada maceta internamente se depositaron 0,5 kg de grava, para facilitar el drenaje. El análisis físico-químico del suelo se realizó en el laboratorio de Suelos del Instituto Nacional de Innovación Agraria, INIA. Según el análisis el suelo fue normal con una textura franco arenosa, ligeramente alcalino (pH 7,24), no salino (CE<sub>e</sub> 2,66 dSm<sup>-1</sup>), con un contenido medio de materia orgánica y fósforo disponible y contenido alto de potasio y carbonato de calcio (Tabla 3).

El cultivo de tomate cultivar Rio Grande y la inoculación de cuatro rizobacterias con actividad ACC desaminasa, productoras de AIA y solubilizadoras de fosfato se realizó en el invernadero de la Facultad de Ciencias Biológicas en Lambayeque. El ensayo fue conducido entre el 1 de octubre al 29 de noviembre de 2019 con temperaturas máximas de 20 – 25 °C, mínimas de 15 – 18 °C y medias de 18 – 22 °C, valores obtenidos por la Estación Meteorológica de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, ubicado en el fundo "El Ciénago" de Lambayeque (Anexo C).

**Tabla 2**Tratamientos para determinar el efecto de Bacillus spp. y Pseudomonas spp. en el crecimiento S. lycopersicum L. con y sin estrés hídrico

Tratamientos	Clave	Condición de estrés	Rizobacterias
T1	A1B1	Sin estrés hídrico	Sin rizobacterias
T2	A1B2	Sin estrés hídrico	Bacillus sp. 1
T3	A1B3	Sin estrés hídrico	Bacillus sp. 2
T4	A1B4	Sin estrés hídrico	Pseudomonas sp. 1
T5	A1B5	Sin estrés hídrico	Pseudomonas sp. 2
T6	A2B1	Con estrés hídrico	Sin rizobacterias
T7	A2B2	Con estrés hídrico	Bacillus sp. 1
T8	A2B3	Con estrés hídrico	Bacillus sp. 2
T9	A2B4	Con estrés hídrico	Pseudomonas sp. 1
T10	A2B5	Con estrés hídrico	Pseudomonas sp. 2

**Tabla 3**Análisis físico – químico de suelo experimental del distrito de San José, Lambayeque, 2019

Clase textural	pН	CE (dSm <sup>-1</sup> )	MO (%)	P (mg/kg <sup>-1</sup> )	K (mg/kg <sup>-1</sup> )	CaCo <sup>3</sup> (%)
Fr Ar	7,40	2,66	2,0	14,00	380	2,63

Métodos empleados

Textura: Método de hidrómetro

pH: Medido en la suspensión suelo: agua (1:1) con el potenciómetro

CE<sub>e</sub>: Medida en el extracto de saturación (Conductímetro)

Materia orgánica: Método de Walkey & Black

Fósforo: Método de Olsen modificado

Potasio: Extracción con acetato de amonio Calcáreo total: Método gaso - volumétrico El inóculo se obtuvo con las bacterias cultivadas en 5 mL de caldo mínimo DF, a 30 °C por 18 horas. Los caldos se centrifugaron (3000 rpm por 5 minutos), el sedimento celular se lavó en una solución 0,03M MgSO<sub>4</sub>, se centrifugó, se resuspendió en la misma solución y la concentración se estandarizó a una densidad óptica de 1 en el espectrofotómetro de luz visible (Modelo Tenso Med NV-203) a 600nm (Khan et al., 2018).

Las semillas de tomate (18) se depositaron en cinco bolsas de polietileno transparentes (2,5 x 8,0 cm). Las semillas de cuatro bolsas se mezclaron con 0,5 mL del inóculo bacteriano correspondiente y las semillas de la última bolsa con 0,5 mL de agua destilada. Transcurridas 3 horas (Khan et al., 2018), las semillas se sembraron en el suelo experimental, a razón de tres semillas por maceta (1 cm de distanciamiento entre semillas y 2 cm profundidad).

Después de 10 días después de la siembra (dds) se eliminó la plántula menos vigorosa y quedaron dos por maceta. Las plantas se regaron con 0,5 L de agua cada 4 días en los tratamientos sin estrés y cada 10 días en los tratamientos con estrés, correspondiente a un período de sequía de 6 días (Vurukonka et al., 2016). El número de días establecido para la sequía se determinó previamente y fue el tiempo requerido para alcanzar: 58,9 % en la capacidad de campo (CC) del suelo con estrés (riego cada 10 días) y 90,83 % en la CC del suelo con riego normal cada 4 días (Anexo D).

A los 30, 40, 50 y 60 días después de la siembra, se midió la altura de las plantas, desde la base del tallo hasta el brote terminal (Figuras 5, 6). A los 60 días se extrajeron las plantas y se determinó el peso de la biomasa aérea y radicular. Con estos valores se calcularon (García et al., 2010) los índices de efectividad de la inoculación (IEI) en porcentaje:

$$IEI (\%) = \frac{Tratamiento con inoculación - Control sin inoculación}{Control sin inoculación} x100$$

Figura 5

Plantas de Solanum lycopersicum L. desarrolladas en condiciones de invernadero,

Lambayeque 2019



Figura 6

Medición de altura de planta de Solanum lycopersicum L., Lambayeque 2019



#### 2.6 Procesamiento y análisis de datos

Los valores de la altura y peso de la biomasa aérea y radicular de las plantas de tomate, registrados a los 60 días después de la siembra fueron ordenados en tablas para las pruebas de normalidad (Shapiro - Wilk) y homogeneidad de varianzas (Bartlett). Al cumplirse la normalidad y homocedasticidad, se realizó el análisis de varianza para determinar las diferencias entre los tratamientos y la prueba de comparaciones múltiples de Tukey para establecer la significancia entre ellos: p=0,05 (Hernández et al., 2014 a). Se utilizaron los programas Microsoft Office Word y Excel 2016.

#### **CAPÍTULO III. Resultados**

# 3.1 *Bacillus* spp. y *Pseudomonas* ssp. identificadas en la rizósfera de *E. pachanoi* "San Pedro hembra", Lambayeque 2019

En las muestras de suelo rizosférico de *E. pachanoi* "San Pedro hembra" se aislaron 239 bacterias, entre las que 53,13 % correspondió a bacilos Gram positivos y 46,87 % a bacterias Gram negativas (Anexo E). Los bacilos Gram positivos con esporas no deformantes, positivos en las pruebas de catalasa, oxidasa y motilidad e hidrólisis del almidón y gelatina y sin crecimiento en anaerobiosis se identificaron en el género *Bacillus*. Los bacilos Gram negativos, positivos en las pruebas de catalasa y oxidasa, no fermentadores de carbohidratos en agar TSI, descarboxilantes de la lisina en agar LIA, positivos en las pruebas de indol y utilización de citrato como fuente de carbono y energía y negativos en la prueba de hidrolisis de gelatina, se identificaron en el género *Pseudomonas*. De esta forma en la rizósfera de *E. pachanoi* se obtuvieron 127 cultivos puros de *Bacillus* spp y 84 de *Pseudomonas* spp.

# 3.2 Bacillus spp. y Pseudomonas spp. seleccionadas con base a las características que evidencian in vitro promoción de crecimiento vegetal, Lambayeque 2019

El 7,87 % de *Bacillus* spp. y el 19 % de *Pseudomonas* spp. demostraron tener actividad ACC desaminasa porque desarrollaron en medio mínimo Dworkin & Foster con ACC como fuente de nitrógeno durante 72 horas. La densidad óptica por el crecimiento bacteriano en este medio fue mayor a la observada en el testigo con sulfato de amonio (Tabla 4) y se seleccionaron los cinco cultivos de *Bacillus* spp. y *Pseudomonas* spp. que alcanzaron los mayores valores en la densidad óptica (Tabla 5).

Los cultivos de *Bacillus* spp. y *Pseudomonas* spp. seleccionados produjeron ácido indol acético (AIA) y solubilizaron fosfato tricálcico y se cuantificaron 34,91 - 65,80 ppm de AIA y 13,03 - 25,06 ppm de fósforo soluble. Los cultivos de *Bacillus* sp.89, *Bacillus* sp.34, *Pseudomonas* sp.13 y *Pseudomonas* sp.81 que alcanzaron los mayores valores en la concentración de AIA y fósforo soluble se seleccionaron para la fase experimental de la investigación (Tabla 5).

**Tabla 4**Densidad óptica (600 nm) de medio mínimo Dworkin y Foster con ACC y sulfato de amonio como fuentes de nitrógeno cultivado con Bacillus spp. y Pseudomonas spp., Lambayeque 2019

	A	CC	Sulfato o	le amonio
Bacterias	Densidad	Densidad corregida	Densidad	Densidad corregida
Control	0,450	-	0,696	-
Bacillus sp. 83	2,324	1,870	1,600	0,904
Bacillus sp. 34	2,073	1,620	2,090	1,394
Bacillus sp. 89	1,090	0,640	1,095	0,399
Bacillus sp. 62	1,098	0,640	1,200	0,504
Bacillus sp. 120	1,084	0,630	1,102	0,406
Bacillus sp. 23	1,020	0,570	0,994	0,298
Bacillus sp. 21	0,990	0,540	1,200	0,504
Bacillus sp. 84	0,980	0,530	0,984	0,288
Bacillus sp. 80	0,930	0,480	1,120	0,424
Bacillus sp. 27	0,880	0,430	1,070	0,374
Pseudomonas sp. 27	3,080	2,630	3,245	2,549
Pseudomonas sp. 61	2,985	2,535	2,900	2,204
Pseudomonas sp. 81	2,801	2,551	2,850	2,154
Pseudomonas sp. 13	2,640	1,944	2,198	1,748
Pseudomonas sp. 35	2,580	1,884	2,090	1,640
Pseudomonas sp. 58	2,280	1,830	2,300	1,604
Pseudomonas sp. 53	2,520	1,824	2,118	1,668
Pseudomonas sp. 24	1,198	0,748	0,975	0,279
Pseudomonas sp. 65	2,198	1,748	2,200	1,504
Pseudomonas sp. 46	2,430	1,734	2,014	1,564
Pseudomonas sp. 21	2,108	1,658	1,990	1,294
Pseudomonas sp. 40	2,089	1,639	1,334	0,638
Pseudomonas sp. 56	1,089	0,639	1,200	0,504
Pseudomonas sp. 70	2,025	1,575	2,090	1,394
Pseudomonas sp. 67	2,018	1,568	2,108	1,412
Pseudomonas sp.97	2,018	1,568	2,180	1,484

Figura 7

Coloración observada en la cuantificación de ácido indol acético (a) y fósforo soluble (b),

Lambayeque 2019





**Tabla 5**Densidad óptica, ácido indol acético y fósforo solubilizados por Bacillus spp. y

Pseudomonas spp. seleccionadas, Lambayeque 2019

Bacterias rizosféricas	Densidad óptica ACC (600 nm)	AIA (ppm)	Fósforo soluble (ppm)
Bacillus sp. 83	1,870	64,68	13,03
Bacillus sp. 34*	1,620	59,80	25,06
Bacillus sp. 89*	0,640	62,46	19,27
Bacillus sp. 62	0,640	62,24	19,70
Bacillus sp. 120	0,630	65,80	21,30
Pseudomonas sp. 27	2,630	62,24	22,16
Pseudomonas sp. 61	2,535	34,91	13,70
Pseudomonas sp. 81*	2,551	38,02	22,60
Pseudomonas sp. 13*	1,944	42,02	21,30
Pseudomonas sp. 35	1,884	53,57	24,20

<sup>\*</sup>Bacterias seleccionadas

# 3.3 Efecto comparativo de *Bacillus* spp. y *Pseudomonas* spp. en el cultivo de *S. lycopersicum* con y sin estrés hídrico

El estrés hídrico disminuyó la altura (1,73 - 51,87 %) y el peso de la biomasa fresca aérea (16,17 - 24,39 %) y radicular (13,04 - 21,62 %) de las plantas de tomate, en comparación con los tratamientos sin estrés (Tabla 6).

Las rizobacterias incrementaron los parámetros de crecimiento y se alcanzaron índices de efectividad de 18,58 – 70,49 % (altura); 41,33 - 67,69 % (biomasa aérea) y 9,67 – 46,36 % (biomasa radicular) en las plantas bajo estrés hídrico y 1,28 - 45,90 % (altura); 15,61 - 46,3 % (biomasa aérea) y 3,24 - 36,76 % (biomasa radicular) en las plantas de tomate sin estrés hídrico (Figuras 8 a 12, tablas 7,8).

El análisis de varianza de la altura de las plantas de tomate en el factorial 2 x 5 demostró alta significancia para el factor A (condición de estrés), factor B (rizobacterias) y la interacción A x B (Anexo F). La prueba t demostró que la mayor altura se alcanzó en las plantas sin estrés hídrico y según la prueba de comparaciones múltiples de Tukey la mayor altura correspondió a las plantas inoculadas con *Bacillus* sp. 89, con diferencias significativas frente a los demás tratamientos. En cuanto a la interacción A x B la mayor altura se alcanzó en las plantas sin estrés hídrico, inoculadas con *Bacillus* spp. 34 y 89, con diferencias estadísticas frente a los demás tratamientos (Tabla 7).

El análisis de varianza de la biomasa aérea de las plantas de tomate en el factorial 2 x 5 demostró alta significancia para el factor A (condición de estrés), factor B (rizobacterias) y la interacción A x B (Anexo G). La prueba t demostró que la mayor biomasa aérea se alcanzó en las plantas sin estrés hídrico y según la prueba de comparaciones múltiples de Tukey la mayor biomasa aérea correspondió a las plantas inoculadas con *Bacillus* sp. 89, con diferencias significativas frente a los demás tratamientos. Respecto a la interacción A x B la mayor biomasa aérea se alcanzó en las plantas sin estrés hídrico inoculadas con *Bacillus* sp. 89, con diferencias estadísticas frente a frente a los demás tratamientos (Tabla 7).

**Tabla 6**Valores de la altura y biomasa aérea y radicular de Solanum lycopersicum L. sin y con estrés hídrico

Parámetros	Sin estrés hídrico	Con estrés hídrico	Rango de disminución (%)
Altura (cm)			
30 días	16,82 - 18,45	12,82 - 18,13	23,78 - 1,73
40 días	27,34 – 39,89	17,34 - 29,92	36,57 - 24,99
50 días	42,41 - 50,90	20,41 - 32,96	51,87 – 35,24
60 días	60,87 - 80,22	30,87 - 48,23	49,28 - 39,87
Biomasa aérea (g)	410 - 600	310 - 503	24,39 – 16,17
Biomasa radicular (g)	185 - 253	145 - 220	21,62 – 13,04

Figura 8

Plantas de Solanum lycopersicum L., sin (a) y con estrés hídrico (b), 30 días después de la inoculación de Bacillus spp.

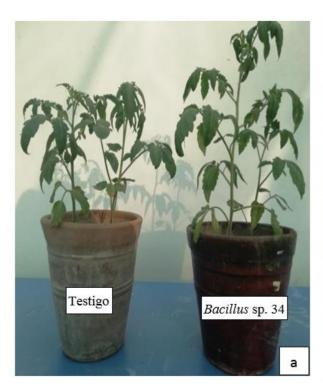




Figura 9

Plantas de Solanum lycopersicum L. sin (a) y con estrés hídrico (b), 40 días después de la inoculación de Bacillus spp.



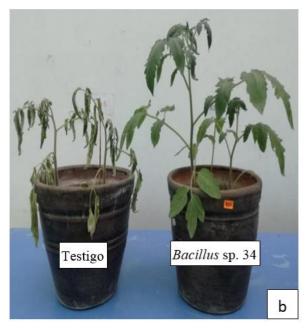


Figura 10

Plantas de Solanum lycopersicum L., sin (a) y con estrés hídrico (b), 60 días después de la inoculación de Pseudomonas spp.

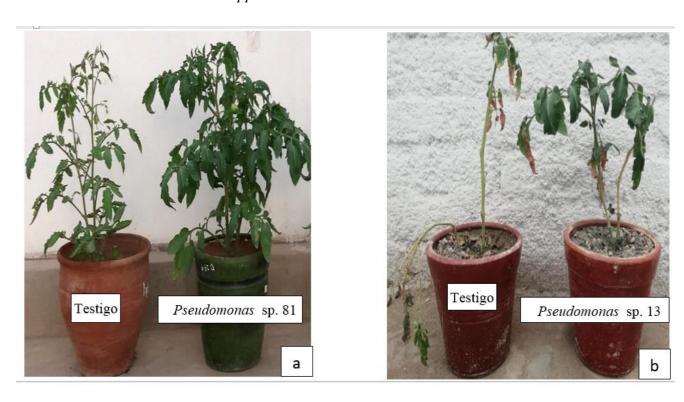


Figura 11
Biomasa radicular de Solanum lycopersicum L., sin estrés hídrico 60 días después de la inoculación de Bacillus sp. 89.



Figura 12

Biomasa radicular de Solanum lycopersicum L., con estrés hídrico, 60 días después de la inoculación de Pseudomonas sp. 81.



**Tabla 7**Parámetros de crecimiento de plantas de S. lycopersicum por efecto de Bacillus spp. y Pseudomonas ssp. con y sin estrés hídrico

	Tratamientos		Altura (cm)*			Biomasa (g)*				
		30 días	40 días	50 días	60 días	Sign	Aérea	Sign	Radicular	Sign
T1	Sin estrés - Sin rizobacterias	16,82	27,34	42,41	60,87	С	410,00	g	185,00	d
T2	Sin estrés - Bacillus sp. 34	18,45	39,89	50,90	80,22	a a	523,00	bc	241,00	b
Т3	Sin estrés - Bacillus sp. 89	18,13	33,54	50,29	78,23	a	600,00	a	253,00	a
T4	Sin estrés - Pseudomonas sp. 13	17,45	28,76	42,96	61,69	c	542,00	b	191,00	d
T5	Sin estrés - Pseudomonas sp. 81	17.57	29,92	50,63	74,93	b	474,00	d	245,00	ab
T6	Estrés hídrico - Sin rizobacterias	12,16	17,01	20,00	30,02	f	300,00	h	151,00	e
T7	Estrés hídrico - Bacillus sp. 34	15,00	29,00	30,02	40,11	e	463,00	de	221,00	c
Т8	Estrés hídrico - Bacillus sp. 89	16,00	23,11	30,00	48,00	d	503,00	c	213,00	c
Т9	Estrés hídrico - Pseudomonas sp. 13	15.13	23,00	32,17	41,42	e	442,00	ef	165,00	e
T10	Estrés hídrico -Pseudomonas sp. 81	15,09	20,17	30,01	49,00	d	424,00	fg	220,00	c

<sup>\*</sup> Promedio de tres repeticiones

 Tabla 8

 Índices de efectividad de Bacillus spp. y Pseudomonas spp. en los parámetros de crecimiento de plantas de S. lycopersicum con y sin estrés hídrico

Tratamientos			Altura (%)			Biomasa (%)	
		30 días	40 días	50 días	60 días	Aérea	Radicular
T2	Sin estrés - Bacillus sp. 34	9,96	45,90	20,02	31,79	27,56	30,27
Т3	Sin estrés - Bacillus sp. 89	7,79	22,68	18,58	28,52	46,34	36,76
T4	Sin estrés - Pseudomonas sp. 13	3,75	5,19	1,28	1,35	32,20	3,24
T5	Sin estrés - Pseudomonas sp. 81	4,46	9,44	19,38	23,10	15,61	32,43
T7	Estrés hídrico - Bacillus sp. 34	23,36	70,49	50,1	33,61	54,33	46,36
T8	Estrés hídrico - Bacillus sp. 89	31,58	35,86	50,0	59,89	67,69	41,06
Т9	Estrés hídrico - Pseudomonas sp. 13	24,42	35,21	60,85	37,97	47,33	9,27
T10	Estrés hídrico -Pseudomonas sp. 81	24,10	18,58	50,05	63,22	41,33	45,70

El análisis de varianza de la biomasa radicular de las plantas de tomate en el factorial 2 x 5 demostró alta significancia para el factor A (condición de estrés), factor B (rizobacterias) y la interacción A x B (Anexo H). La prueba t demostró que la mayor biomasa radicular se alcanzó en las plantas sin estrés hídrico y según la prueba de comparaciones múltiples de Tukey la mayor biomasa radicular correspondió a las plantas inoculadas con *Bacillus* sp. 89 y *Pseudomonas* sp. 81, con diferencias significativas frente a de los demás tratamientos. En cuanto a la interacción A x B la mayor biomasa radicular se alcanzó en las plantas sin estrés hídrico, inoculadas con *Bacillus* sp. 89 y *Pseudomonas* sp. 81, con diferencias estadísticas frente a los demás tratamientos (Tabla 7).

## CAPÍTULO IV. Discusión

Las cactáceas pueden desarrollar en ambientes hostiles gracias a sus mecanismos inherentes de adaptación (Hernández et al., 2014 a), pero también desempeñan un rol importante las bacterias rizosféricas que favorecen el desarrollo de las plantas, por lo que son denominadas promotoras de crecimiento en plantas o PGPR (Kavamura et al., 2018; Chávez et al., 2016; Fonseca et al., 2014). Al respecto, Astorga et al. (2021) estudiaron rizobacterias en plantas nativas de *Cistanthe longiscapa* en el desierto de Atacama y concluyeron que las plantas prevalentes en ambientes desfavorables constituyen una fuente de PGPR con uso potencial para cultivos agrícolas bajo limitación de agua. En este contexto, se investigaron bacterias de los géneros *Bacillus y Pseudomonas* en la rizósfera de *E. pachanoi* "San Pedro hembra".

Las PGPR disminuyen el estrés en las plantas causado por las condiciones desfavorables (Kour y Yadav, 2022), por lo que el aislamiento de estas bacterias en los ambientes hostiles favorece la selección de microorganismos promotores de crecimiento eficientes (Vurukonda et al., 2016). De esta manera, especies de *Bacillus* fueron aisladas en las cactáceas *Opuntia ficus* – indica (Costa y Melo, 2012), *M. magnimamma y C. radians* (Chávez et al., 2016), *Myrtillocactus geometrizans* y *O. robusta* (Fonseca et al., 2014). A su vez, especies de *Pseudomonas* se identificaron en la cactácea *Neoboxbaumia macrocephala* (Bustillos et al., 2017).

Las bacterias de *E. pachanoi* presentaron actividad ACC desaminasa, produjeron indoles y solubilizaron fosfato, características que evidencian *in vitro* promoción de crecimiento en las plantas, bajo condiciones de sequía, como lo demostraron previamente Astorga et al. (2021) y Haque et al. (2020) en *Bacillus* spp. y Danish et al. (2020) y Chandra et al. (2018) en *Pseudomonas* spp. En condiciones de estrés abiótico como la sequía, las plantas incrementan el nivel de etileno (estrés por etileno) y como consecuencia se inhibe la elongación de las raíces, aumenta la senescencia y abscisión foliar y se destruye la clorofila (Singh et al., 2015). Las bacterias con actividad de la enzima ACC desaminassa hidrolizan el ACC o precursor del etileno hasta amoniaco y alfa-cetobutirato y de esta manera disminuyen el estrés por etileno (Kour y Yadav, 2022; Gamalero y Glick, 2015).

Saleem et al. (2018), en plantas de *Mucuna pruriens* (L.) DC. "frijol terciopelo" bajo estrés hídrico severo determinaron que la concentración del ACC se incrementó en las hojas (0,18 nmolg<sup>-1</sup>) y raíces (0,19 nmolg<sup>-1</sup>), así como también el etileno (2,7 y 0,38 nl g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, respectivamente). Por el contrario, la inoculación de *Bacillus* sp. con actividad ACCD disminuyó el ACC en 41 % (hojas) y 46 % (raíces) y el etileno en 45 % (hojas) y 72 % (raíces). Respecto a la actividad ACCD en *Pseudomonas* spp., Zhang et al. (2020) inocularon *Pseudomonas lini* DT6 y su mutante *P. lini* DT6<sub>s</sub> (sin ACCD) en las raíces de plántulas de *Ziziphus jujuba*. Transcurridos 20 días los investigadores determinaron disminución del etileno en las hojas de las plantas inoculadas con *P. lini* DT6; no obstante, con el mutante con ACCD los valores (nmol g<sup>-1</sup>FWh<sup>-1</sup>) de etileno (0,1210 en sequía moderada y 0,1501 en sequía severa) fueron estadísticamente iguales a los del testigo no inoculado (0,1232 y 0,1521 respectivamente).

El cambio de la morfología de la raíz es uno de los principales mecanismos de adaptación al estrés (Saghafi et al., 2019). Las auxinas como el ácido indol acético (AIA) producido por las bacterias promueven directamente el crecimiento radicular al estimular la elongación o la división de las células e indirectamente al influenciar la actividad ACC desaminasa (Glick, 2013). El incremento radicular favorece la absorción de agua y nutrientes (Vurukonda et al., 2016). El AIA induce la actividad de la ACC sintasa para producir ACC, precursor del etileno, el cual a su vez es hidrolizado por las bacterias con actividad ACC desaminasa (Kour y Yadav, 2022). En cuanto al mecanismo de solubilización de fosfatos, favorece la disponibilidad del fósforo a las plantas (Saghafi et al., 2019), nutriente que al igual que el potasio, cobre y hierro disminuyen en los suelos con sequía (Papadopoulu et al., 2022)

En la presente investigación el estrés por sequía (58,9 %), equivalente a 60 % de la capacidad de campo (CC) del suelo y calificado como moderado en plantas de *Ziziphus jujuba* por Zhang et al. (2020), disminuyó la altura y el peso de la biomasa aérea y radicular de las plantas de tomate, efecto negativo reportado previamente por Astorga et al. (2021), Haque et al. (2020) y Gowtham et al. (2020). La reducción en el crecimiento de las plantas es consecuencia del estrés hídrico porque la elongación celular es el primer proceso afectado, así como también la fotosíntesis y la actividad antioxidante (Ngumbi y Kloepper, 2016). En condiciones de estrés hídrico la fotosíntesis, concentración intercelular de

dióxido de carbono, tasa de transpiración, conductancia estomática y nivel de nutrientes (fósforo, potasio) son reducidos en forma significativa en las plantas de tomate. Por el contrario, se incrementa la actividad antioxidante y se acumulan las especies reactivas de oxígeno (ROS), que generan el estrés oxidativo con efecto negativo en el crecimiento vegetal (Papadopoulu et al., 2022). En las plantas de tomate se reduce la altura, área foliar, número de flores y frutos y el rendimiento del cultivo. Asimismo, las hojas se enrollan y desprenden y se observa una baja conductancia osmótica al vapor de agua (Florido y Bao, 2014).

La disminución de la biomasa aérea por efecto del estrés hídrico coincide con Abdel et al. (2018), investigadores que además observaron una ligera disminución en la altura de las plantas cuando el intervalo de sequía aumentó de 3 a 5 días. Asimismo, Ahmed et al. (2017), cuantificaron 8,52 g en la biomasa de plantas de tomate regadas cada 4 días y 5,56 g en plantas con intervalo de riego de 7 días. Por su parte, Liu et al. (2019), determinaron que la humedad del suelo afectó de forma significativa el rendimiento de tomate. El menor peso de frutos correspondió a W1 (60 – 70 % de la capacidad de campo, CC), que a su vez fue 15,69 % menor que W2 (70 – 80 % CC) y 23,23 % menor que W3 (80 – 90 % CC). La menor disminución de la biomasa radicular, en comparación con la biomasa foliar se atribuye a que la disponibilidad de agua afecta la relación entre el crecimiento de la parte aérea y la raíz. En las plantas con estrés hídrico, la parte aérea deja de crecer, mientras que la raíz continúa creciendo en la búsqueda de agua en lugares más profundos del suelo (Gupta et al., 2022).

La promoción de crecimiento de plantas bajo estrés por sequía por rizobacterias con actividad ACC desaminasa ha sido reportada previamente en tomate por Haque et al. (2020) con *Pseudomonas* sp., *B. cereus* y *B.megaterium*; Astorga et al. (2021) con *Bacillus* sp y Gowtham et al. (2020) con *B. subtilis*. En las plantas de tomate inoculadas con rizobacterias con actividad ACC desaminasa bajo estrés hídrico se observa incremento de la germinación altura, número de hojas, biomasa aérea y radicular (Astorga et al., 2021), clorofila, carotenoides, prolina, contenido relativo de agua, actividad catalasa (Haque et al.,2020), SOD y APX. Por el contrario, las rizobacterias disminuyen el malondialdehido que evidencia peroxidación de lípidos, el peróxido de hidrógeno y la pérdida de electrolitos (Gowtham et al., 2020; Haque et al.,2020)

La altura de planta y el peso de la biomasa aérea y radicular son parámetros usados para medir el efecto del estrés hídrico en las plantas como la demostraron Carlson et al. (2020) en *Sorghum bicolor*. El incremento en la biomasa aérea de las plantas de tomate bajo estrés hídrico por las rizobacterias es atribuido al aumento de nivel de ABA en las hojas de las plantas bajo estrés hídrico, lo que favorece la regulación del cierre de los estomas y por tanto mejora la eficiencia con el uso de agua y la acumulación de biomasa (Brilli et al., 2019). Asimismo, *Bacillus* sp. y *Pseudomonas* spp. incrementan la actividad antioxidante y de esta manera disminuyen el estrés oxidativo que impacta los pigmentos fotosintéticos además de las membranas lipídicas, proteínas y ácidos nucleicos (Brilli et al., 2019; Bindu et al., 2018). Al respecto, Andryei et al. (2021) concluyeron que rizobacterias como *P. putida* y *Bacillus* sp. mantienen la actividad fotosintética de las plantas de tomate bajo sequía y por tanto minimizan la reducción en el crecimiento y rendimiento.

El incremento en el peso de la biomasa radicular de las plantas de tomate bajo estrés hídrico es explicado por efecto del AIA producido por las bacterias, que aumenta el número de pelos radiculares y raíces laterales y como consecuencia el aérea de la superficie de la raíz que facilita una mayor absorción de agua y nutrientes (Pathania et al., 2020; Haque et al., 2020). También es importante el efecto del etileno cuya concentración reduce en forma significativa al crecimiento de la raíz; no obstante, las bacterias ACCD disminuyen el nivel de esta fitohormona y promueven al crecimiento radicular (Haque et al., 2020).

Bacillus spp. y Pseudomonas spp. presentan actividad ACC desaminasa que favorece a las plantas bajo estrés hídrico (Astorga at al., 2021; Gowtham et al., 2020; Haque et al., 2020), no obstante, también tienen otros mecanismos como el incremento de la actividad enzimática y no enzimática antioxidante, disminución del MDA y especies reactivas de oxigeno (Gowtham et al., 2020), fijación de nitrógeno, solubilización de potasio y zinc, producción de enzimas hidrolíticas (Brilli et al., 2019) y exopolisacáridos (Haque et al., 2020), además del AIA y la solubilización de fosfatos (Kumar et al., 2021). Las plantas de tomate en los ecosistemas bajo sequía están asociados con una variedad de rizobacterias en diversas características de promoción de crecimiento vegetal, por lo que se concluye que los PGPR como Bacillus spp. y Pseudomonas spp. rizosféricas de E. pachanoi presentan efecto aditivo que beneficia el crecimiento y rendimiento vegetal (Haque et al., 2020).

#### **Conclusiones**

- En las bacterias aisladas de la rizósfera de *E. pachanoi* "San Pedro hembra" en Lambayeque, se identificaron 127 cultivos puros de *Bacillus* spp. y 84 de *Pseudomonas* spp.
- El 7,78% de *Bacillus* spp. y el 19% de *Pseudomonas* spp. demostraron actividad aminociclopropano-1-carboxilato, ACC desaminasa. Estas bacterias produjeron AIA (34,91–64,68 ppm), solubilizaron fosfato tricálcico (13,03–25,06 ppm fósforo soluble) y se seleccionaron *Bacillus* sp.89, *Bacillus* sp.34, *Pseudomonas* sp. 13 y *Pseudomonas* sp.81
- Bacillus spp. y Pseudomonas spp. incrementaron los parámetros del crecimiento de las plantas de tomate y a los 60 días se alcanzaron índices de efectividad (IE) de 18,58 70,49 % en la altura; 41,33 67,69 % en la biomasa aérea y 9,27 46,36 % en la biomasa radicular de las plantas con estrés hídrico, así como 1,28 45,90 %; 15,61 46,34 % y 3,24 36,76 % en las plantas sin estrés hídrico respectivamente.

### Recomendaciones

- Identificar a nivel molecular *Bacillus* spp. 89 y 34 y *Pseudomonas* spp. 13 y 81, promotoras de crecimiento de tomate.
- Determinar el efecto de *Bacillus* sp.89, *Bacillus* sp.34, *Pseudomonas* sp. 13 y *Pseudomonas* sp.81 en el rendimiento de tomate en condiciones de campo.
- Investigar sustratos de bajo costo para la propagación masiva de Bacillus spp. y Pseudomonas spp.

### Referencias

- Abdel, Y., Hassan, H., Abdel, A., Abd, M., y Matouk, M. (2018). Potassium fertilization role in tomato tolerance of water salinity and stress under drip irrigation System. *Journal of Soil Sciences and Agricultural Engineering*, *9*(8), 295-306. https://jssae.journals.ekb.eg/article\_35876\_d0d826c5bcb64a8366a539dfa2dc7345.pd f
- Ahmed, N., Mahmud, N., Zaman, M., Ferdous, Z., y Halder, S. (2017). Effect of different salinity level on tomato (*Lycopersicon esculentum*) production under climate change condition in Bangladesh. *Annual Research & Review in Biology, 13 (3),* 1–9. https://doi.org/10.9734. ARRB/2017/33613.
- Alvitres, V. (2000). Método Científico. Planificación de la Investigación (6<sup>ta</sup> ed). Ed. Ciencia.
- Andryei, B., Horváth, K., Agyemang Duah, E., Takács, S., Égei, M., Szuvandzsiev, P., y Neményi, A. (2021). Use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) in the mitigation of water deficiency of tomato plants (*Solanum lycopersicum L.*). *Journal of Central European Agriculture*, 22(1), 167-177. https://doi.org/10.5513/JCEA01/22.1.3036.
- Astorga, M., Gonzalez, S., Acuña, J., Sadowsky, J., y Jorquera, M. (2021). Rhizobacteria from 'flowering desert' events contribute to the mitigation of water scarcity stress during tomato seedling germination and growth. *Scientific Reports*. https://doi.org/10.1038/s41598-021-93303-8.
- Arzanesh, M., Alikhami, A., Khavazi, K., Rahimian, A., y Miransari, M. (2011). Wheat (*Triticum aestivum* L.) growth enhancement by *Azospirillum* sp. under drought stress. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27, 197-201. https://doi.org/10.1007/s11274-010-0444-1.
- Azadikhah, M., Jamali, F., Nooryazdan, H., y Bayat, F. (2019). Growth promotion and yield enhancement of barley cultivars using ACC deaminase producing *Pseudomonas fluorescens* strains under salt stress. *Spanish Journal of Agricultural Research*, *17*(1), 0801. https://doi.org/10.5424/sjar/2019171-13828
- Bacallao, M. y Bao, L. (2014). Tolerancia a estrés por déficit hídrico en tomate (*Solanum lycopersicum* L.). *Cultivos Tropicales*, 35(3), 70-88.
- Basurto, M., Núñez, A., Pérez, R., y Hernández, O. (2008). Fisiología del estrés ambiental en plantas. Synthesis, 48, 1-5.

- Brilli, F., Pollastri, S., Raio, A., Baraldi, R., Neri, L., Bartolini, P., Podda, A., Loreto, F., Maserti, B., y Balestrini, B. (2019). Root colonization by *Pseudomonas chlororaphis* primes tomato (*Lycopersicum esculentum*) plants for enhanced tolerance to water stress. *Journal of Plant Physiology*, 232, 82-93. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2018.10.029
- Bindu, G., Selvakumar, G., Shivashankara, K., y Sunil Kumar, N. (2018). Osmotolerant Plant Growth Promoting Bacterial inoculation enhances the antioxidant enzyme levels of tomato plants under water stress conditions. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 7(1), 2824-2833. https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.701.337
- Bustillos, M., Corona, I., Castañeda, M., Águila, C., Seynos, E., Hernández, I., Muños, R., Medina, A., y Fuentes, L. (2017). Culturable facultative methylotrophic bacteria from the cactus *Neobuxbaumia macrocephala* possess the locus xoxF and consume methanol in the presence of Ce<sup>3+</sup>and Ca<sup>2+</sup>. *Microbes and Environments*, *32*(3), 244-251. https://doi.org/10.1246/jsme2.ME17070
- Caiza, C., Guzmán, C., y García, M. (2019). Respuesta de la absorción de nitrógeno y fósforo de una variedad de maíz al inocular *Azospirillum* sp. y *Pseudomonas fluorescens*. *ACI Avances en Ciencias e Ingenierías*, 11(1). https://doi.org/10.18272/aci.v11i1.943
- Carlson, R., Tugizimana, F., Steenkamp, P., Dubery, I., Hassen, A., y Labuschagne, N. (2020) Rhizobacteria-induced systemic tolerance against drought stress in *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *Microbiological Research*, 232. https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.126388
- Chandra, D., Srivastava, R., y Sharma, A. (2018). Influence of IAA and ACC deaminase producing fluorescent *Pseudomonads* in alleviating drought stress in Wheat (*Triticum aestivum*). *Agricultural Research*, 7, 290–299. https://doi.org/10.1007/s40003-018-0305-y
- Chávez, L., Hernández, A., Cabrera, J., Luna, L., y Pacheco, J. (2016). Aislados de *Bacillus* provenientes de la rizósfera de cactus incrementan la germinación y la floración en *Mammillaria* spp. (Cactaceae). *Revista Argentina* de *Microbiología*, 48(4), 333-341. https://doi.org/10.1016/j.ram.2016.09.001
- Costa, F., y Melo, J. (2012). Endophytic and rhizospheric bacteria from *Opuntia ficus*-indica mill and their ability to promote plant growth in cowpea, *Vigna unguiculata* (L.) Walp. *African Journal of Microbiology Research*, 6 (6), 1345-1353. http://doi.org/10.5897/AJMR11.1503

- Danish, S., Zafar, M., Hussain, S., Riaz, M., y Farooq, M. (2020). Mitigation of drought stress in maize through inoculation with drought tolerant ACC deaminase containing PGPR Under axenic conditions. *Pakistan Journal of Botany*, 52(1), 49-60. http://doi.org/10.30848/PJB2020-1(7)
- De Souza, L., Blandon, L., Rodrigues, C., Candido, M., de Melo, G., de Oliveira, J., y Soccol, C. (2017) Potential applications of plant probiotic microorganisms in agriculture and forestry. *Microbiology*, *3* (3), 629-648. http://doi.org/10.3994/micobol.2017.3.629
- Escobar, C., Horna, Y., Carreño, C., y Mendoza, G. (2011). Caracterización de cepas nativas de *Azotobacter* spp. y su efecto en el desarrollo de *Lycopersicum esculentum* Mill. "tomate" en Lambayeque. *Scientia Agropecuaria*, 2 (*I*), 39-49. https://www.redalyc.org/pdf/3576/357633697005.pdf
- Esquivel, C., Gavilanes, R., Cruz, O., y Huante, P. (2013). Importancia agrobiotecnológica de la enzima ACC desaminasa en rizobacterias, una revisión. *Revista Fitotecnia Mexicana*, *36*(3), 251-258. http://www.scielo.org.mx/pdf/rfm/v36n3/v36n3a10.pdf
- Florido, M., y Bao, L. (2014). Tolerancia a estrés por déficit hídrico en tomate (*Solanum lycopersicum* L.). *Cultivos Tropicales*, 35(3), 70-88. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S02585936201400030 0008
- Fonseca, C., Coleman, D., Garrido, E., Visel, A., Tringe, S., y Partida, L (2014). The cacti microbiome: Interplay between habitat-filtering and host-specificity. *Frontiers in Microbiology*, 7, 150. https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00150
- Gamalero, E., y Glick, B. (2015). Bacterial modulation of plant ethylene levels. *Plant Physiology*, *169*(1), 13 22. https://doi.org/10.1104/pp.15.00284
- García, F., Muñoz, H., Carreño, C., y Mendoza, G. (2010). Caracterización de cepas nativas de *Azospirillum* spp. y su efecto en el desarrollo de *Oryza sativa* L "arroz" en Lambayeque. *Scientia Agropecuaria*, 1, 107-116. http://www.revistas.un itru.edu.pe/index.php/scientiaagrop/article/view/19
- García, M., Puppo, L., Hayashi, R., y Morales, P. (2012). Metodología para determinar los parámetros hídricos de un suelo a campo. http://www.Fagro.Edu.uy/hidrología/paisajismo/AGUA%20EN%20EL%20SUEL O.pdf.
- Gakegne, E., Plasencia, O., Hernández, A., de La Fe, Y., y Martínez, B. (2017). Actividad antagónica de *Pseudomonas* spp. fluorescentes ante *Alternaria solani Sorauer*, patógeno de la papa (*Solanum tuberosum L.*). *Revista de Protección Vegetal*, 32(3).1-

- 13. http://200.14.50.70/index.php/RPV/article/view/924/974
- Gil, J. (2018). Sequía en Cusco. http://cebem.org/wp-content/uploads/2018/12/SEQU%C3%8DA-EN-CUSCO.pdf
- Glick, B. (2013). Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiological Research*, 169, 39-39. https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.09.009
- Goswami, D., Thakker, J., y Dhandhukia, P. (2016). Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR). *Cogent Food & Agriculture*, 2(1), 1127500. https://doi.org/10.1080/23311932.2015.1127500
- Gowtham, H., Brijesh S., Murali, M., Shilpa N., Melvin, P., Mohammed, A., Amruthesh K., y Niranjana S. (2020). Induction of drought tolerance in tomato upon the application of ACC deaminase producing plant growth promoting rhizobacterium *Bacillus subtilis* Rhizo SF 48. *Microbiological Research*, 234. https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126422
- Guerra, G., Betancourth, C., y Salazar, C (2011). Antagonismo de *Pseudomonas fluorescens* Migula frente a *Fusarium oxysporum* fsp. *pisi* Schtdl en arveja *Pisum sativum* L.. *Actualidad & Divulgación Científica*, 14(2), 33 42. http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v14n2/v14n2a04.pdf
- Gupta, A., Bano, A., Rai, S., Mishra, R., Singh, M., Sharma, S., y Pathak, N. (2022). Mechanistic insights of plant-microbe interaction towards drought and salinity stress in plants for enhancing the agriculture productivity. *Plant Stress*, 4, 100073. https://doi.org/10.1016/j.stress.2022.100073
- Haque, M., Mosharaf, K., Khatun, M., Haque, A., Biswas, S., Islam, S., Islam, M., Shozib,
  H., Miah, M., Molla, A., y Siddiquee, M. (2020). Biofilm producing rhizobacteria
  with multiple plant growth-promoting traits promote growth of tomato under waterdeficit stress. *Frontiers in Microbiology*, 11,542053.
  https://doi.org.10.3389/fmicb.2020.542053
- Hernández, T., Brown, J., Schlumpbeiger, B., Eguiarte, L., y Magallón, S. (2014 a). Beyond aridification: multiple explanations for the elevated diversification of cacti in the New World Succulent Biome. *New Phytologist*, 202(4), 1382-1397. https://doi.org.10.1111/nph.12752
- Hernández, R., Fernández, C., y Baptista, P. (2014 b). *Metodología de la Investigación* (6<sup>ta</sup> ed.). Hill Interamericana Editores S.A.
- Khan, N., Bano, A., y Zandi, P. (2018). Effects of exogenously applied plant growth

- regulators in combination with PGPR on the physiology and root growth of chickpea (*Cicer arietinum*) and their role in drought tolerance. *Journal of Plant Interactions*, 13 (1), 239-247. https://doi.org.10.1080/1742914502018.1471527
- Kaushal, M., y Wani, S. (2016). Rhizobacterial-plant interactions: strategies ensuring plant growth promotion under drought and salinity stress. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 231, 68–78. https://doi.org.10.1016/j.agee.2016.06.031.
- Kavamura, V., Taketani, R., Ferreira, C., Melo, Y., y Mendes, R. (2018). The role of species turnover in struturing bacterial communities in a local scale in the cactus rhizosphere. *Plan Soil*, 425 (1-2), 101-112. https://doi.org.10.1007/s11104-018-3570-4
- Kour, D., y Yadav A. (2022). Bacterial mitigation of drought stress in plants: Current perspectives and future challenges. *Current Microbiology*, 79(9), 248. https://doi:10.1007/s00284-022-02939-w. PMID: 35834053.
- Kumar, A., Triptia, Malevab, M., Bruno, B., y Rajkumar, M. (2021). Synergistic effect of ACC deaminase producing Pseudomonas sp. TR15a and siderophore producing *Bacillus aerophilus* TR15c for enhanced growth and copper accumulation in *Helianthus annuus* L. *Chemosphere*, 276. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130038
- Kumawat, K., Nagpal, S., y Sharma, P. (2022). Potential of plant growth-promoting rhizobacteria-plant interactions in mitigating salt stress for sustainable agricultura. A review. *Pedosphere*, 32, 223, 245. https://doi.org/10.1016/S1002-0160(21)60070-X
- Laguna, E., Ferrer, P., Deltoro, V., Ferrando, I., y Guillot, D. (2013). *Echinopsis pachanoi* (Britton & Rose) H. Friedrich & G.D. Rowley (Cactaceae) primera cita como alóctona en España. *Bouteloua*, 16, 34-35. https://www.researchgate.net/profile/Emilio\_Laguna/publication/259267561.pdf
- Liu, J., Hu, T., Feng, P., Wang, L., y Yang, S. (2019). Tomato yield and water use efficiency change with various soil moisture and potassium levels during different Growth stages. *PLoS ONE*, 14(3), 1-14.
- Martínez, N., López, C., Basurto, M., y Pérez, R. (2011). Efectos por salinidad en el desarrollo vegetativo. *Tecnociencia Chihuahua*, 3, 156-161.
- Minaxi, L., Yadav, R., y Saxena, J. (2012). Characterization of multifaceted Bacillus sp.

- RM-2 for its use as plant growth promoting bioinoculant for crops grown in semi arid deserts. *Applied Soil Ecology*, 59,124-135. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2011.08.001
- Molina, D., Bustillos, M., Rodriguez, O., Morales, Y., Castañeda, M., y Muñoz, J. (2015). Mecanismos de fitoestimulación por rizobacterias, aislamientos en América y potencial biotecnológico. *Biológicas*, 17(2), 24-34. https://www.researchgate.net/profile/Jesus\_MunozRojas/publication/293086 504. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0213643
- Moreno, L. (2009). Respuesta de las plantas al estrés por déficit hídrico. Una revisión. *Agronomía Colombiana*, 27 (2), 179-191.
- Murali, M., Brijesh Singh, S., Gowtham, H., Shilpa, N., Prasad, M., Mohammed, A., y Amruthesh, K. (2021). Induction of drought tolerance in Pennisetum glaucum by ACC deaminase producing PGPR- *Bacillus* amyloliquefaciens through Antioxidant defense system. *Microbiological Research*. https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126891
- Ngangom, I., Nisha, M., Kumar, S., Ravindra, K., Tewari, L., y Sushmitha, S. (2019). Role of *Bacillus aryabhattai* in plant growth and development. *Agricultural Science Digest-A Research Journal*, *39*(1), 46-50. https://doi: 10.18805/ag. D-4723
- Ngumbi, E., y Kloepper, J., (2016). Bacterial-mediated drought tolerance: Current and future prospects. *Applied Soil Ecology*, 105, 109–125. https://doi.org/10.1016/j. apsoil.2016.04.009.
- Noreen, S., Ali, B., y Hasnain, S. (2012). Growth promotion of Vigna mungo (L.) by *Pseudomonas* spp. exhibiting auxin production and ACC-deaminase activity. *Ann Microbiol*, 62, 411–417 https://doi.org/10.1007/s13213-011-0277-7
- Ortuño, A., Díaz, L., y Del Río, J. (2015). Evolución de la Fisiología Vegetal en los últimos 100 años. *Revista Eubacteria. Cien años de Avances en Ciencias de la Vida*, 34. https://digitum.um.es/digitum/bitstream/10201/48183/1/Fisiologia\_vegetal\_Eubacteri a34.pdf
- Osakabe, Y., Osakabe, K., Shinozaki, K., y Tran, L.S. (2014) Response of Plants to Water Stress. *Frontiers in Plant Science*, 5, 86. https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00086
- Papadopoulou, A., Matsi, T., Kamou, N., Avdouli, D., Mellidou, I., y Karamanoli, K. (2022). Decoding the potential of a new *Pseudomonas putida* strain for inducing drought tolerance of tomato (*Solanum lycopersicum*) plants through seed biopriming. *Journal of Plant Physiology*, 271, 153658. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2022.153658

- Pathania, P., Bhatia, R., y Khatri, M. (2020). Cross-competence and affectivity of maize rhizosphere bacteria *Bacillus* sp. MT7 in tomato rhizosphere. *Scientia Horticulturae*, 272. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109480
- Penrose, D., y Glick, B. (2003). Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting Rhizobacteria. *Physiologia Plantarum*, 118(1), 10-15. https://DOI:10.1034/j.1399-3054.2003.00086.x
- Pérez, J., y Sánchez, D. (2017). Caracterización y efecto de *Azotobacter, Azospirillum* y *Pseudomonas* asociadas a Ipomoea batatas del Caribe Colombiano. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 19(2), 35-46. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0213643
- Pimienta, E., Muñoz, A., Ramirez, B., y Méndez, L. (2006). *Desarrollo vegetal*. Biblioteca Digital wdg.biblio. https://riudg.udg.mx//handle/20.500.12104/94Universidad de Guadalajara
- Polo, L., y Hernández, J. (2016). Capacidad de campo y punto de marchitez permanente.

  Universidad de Sucre Facultad de educación y ciencias. Programa de Biología
  Fisiología
  Vegetal.

  1-7.

  https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/60250337.
- Saghafi, D., Delangiz, N., Lajayer, B. A., y Ghorbanpour, M. (2019). An overview on improvement of crop productivity in saline soils by halotolerant and halophilic PGPRs. *3 Biotech*, *9*(7), 1-14. https://doi.org/10.1007/s13205-019-1799-0
- Saleem, M., Arshad, M., Hussain, S., y Bhatti, A. (2007). Perspective of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) containing ACC deaminase in stress agriculture. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 34, 635-648. https://doi.org/10.1007/s10295-007-0240-6
- Saleem, M., Brunetti C., Khalid, A., Della Rocca, G., Raio, A., Emiliani, G., De Carlo, A., Mahmood, G., y Centritto, M. (2018). Drought response of *Mucuna pruriens* (L.) DC. Inoculated with ACC deaminase and IAA producing rhizobacteria. *PLoS ONEL*,13(2),e0191218. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0191218
- Sah, S., Singh, N., y Singh, R. (2017). Iron acquisition in maize (*Zea mays L.*) using *Pseudomonas siderophore*. *3 Biotech*, 2(7), 1-7.
- Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú, SENAMHI. (2015). Regionalización y caracterización de sequías en el Perú. Lima, Perú: MINAM. https://www.senamhi.gob.pe/load/file/01401SENA-69.pdf
- Shrivastava, S., Patel, J., Singh, H., Sinha, A., y Kumar, M. (2015). *Streptomyces rochei* SM3 induces stress tolerance in chickpea against *Sclerotinia sclerotiorum* and

- NaCl. *Journal of Phytopathology*, *163* (7-8), 583- 592. https://doi.org/10.1111/jph.12358
- Singh, R., Shelke, G., Kumar, A., y Jha, P. (2015). Biochemistry and genetics of ACC deaminase: a weapon to "stress ethylene" produced in plants. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1 14. http://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00937
- Vardharajula, S., Ali, S., Grover, M., Reddy, G., y Bandi, V. (2011). Drought- tolerant plant growth promoting *Bacillus* spp.: effect on growth, osmolytes, and antioxidant status of maize under drought stress. *Journal of Plant Interactions*, 6(1), 1-14. https://doi:10.1080/17429145.2010.535178.
- Vurukonda, S., Vardharajula, S., Shrivastava, M., y SkZ, A. (2016). Multifunctional *Pseudomonas putida* strain FBKV2 from arid rhizosphere soil and its growth promotional effects on maize under drought stress. *Rhizosphere*, 1, 4-13. https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2016.07.005
- Wahyudi, A., Astuti, R., Widyawati, A., Meryandini, A., Nawangsih, A. (2011). Characterization of *Bacillus* sp. strains isolated from rhizosphere of soybean plants for their use as potential plant growth for promoting rhizobacteria. *Journal of Microbiology and Antimicrobials*, 3(2), 34-40. https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20113166385
- Xu, M,. Sheng, J., Chen, L., Men, Y., Gan, L., Guo, S., y Shen, L. (2013). Bacterial community compositions of tomato (*Lycopersicum esculentum* Mill.) seeds and plant growth promoting activity of ACC deaminase producing *Bacillus subtilis* (HYT-12-1) on tomato seedlings. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30(3), 835–845. https://DOI 10.1007/s11274-013-1486-y
- Zhang, M., Yang, L., Hao, R., Bai, X., Wang, Y., y Yu, X. (2020). Drought-tolerant plant growth-promoting Rhizobacteria isolated from jujube (*Ziziphus jujuba*) and their potential to enhance drought tolerance. *Plant Soil*, 452(1–2), 423–440. https://doi.org/10.1007/s11104-020-04582-5

### Anexos

### Anexo A

Cálculo de número de muestras de raíces y suelo rizosférico de *Echinopsis pachanoi* (Alvitres, 2000)

$$n = \frac{Z^2 (p x q)}{T^2}$$

$$n = \frac{(1,96)^2 (0,90 \times 0,10)}{0,8^2}$$

$$n = 54,02$$

# Donde:

n = Tamaño de la muestra

 $Z = 1,96 (\alpha = 0,05)$  valor estándar

p = prevalencia o presencia de Bacillus spp. y Pseudomonas spp. en el suelo rizosférico.

q = 1-p, ausencia (0,10)

T = error estimado (8 %)

Anexo B Medios de cultivo

# a. Agar nutritivo, AN (en Noreen et al., 2012)

Componentes	gL <sup>-1</sup>
Peptona	5,0
Extracto de carne	3,0
Agar agar	15,0
Agua destilada csp	1000 mL

# b. Medio Dworkin & Foster (en Penrose y Glick, 2003)

Componentes	L-1
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	4 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	6 g
MgSO <sub>4</sub>	0,2 g
FeSO <sub>4</sub>	1 mg
$H_3BO_3$	10 μg
MnSO <sub>4</sub>	10 μg
CuSO <sub>4</sub>	50 ug
$Na_2MoO_4$	22,5 μg
ZnSO <sub>4</sub>	70 ug
Sacarosa	5 g
Agua destilada csp	1000 mL

Agregar como fuente de nitrógeno una solución 0,5 M de ACC previamente esterilizada (filtración en membrana de 0,2 µm), en cantidad suficiente para alcanzar 0,3 mmol ACC

# c. Caldo Tripticasa Soya suplementado con triptófano (en García et al., 2010)

Componentes	gL <sup>-1</sup>
Peptona de caseína	17g
Peptona de harina de soya	3,0
D(+) glucosa (dextrosa)	2,5
Cloruro de sodio	5,0
Fosfato dipotásico	2,5
Triptófano	0,01
Agua destilada csp	1000 mL

Disolver por calentamiento y ajustar a pH 7,3

# d. Medio de cultivo National Botanical Research Institute, NBRIP (en Escobar et al., 2011)

Componentes	gL <sup>-1</sup>
Glucosa	10,0
$Ca_3(PO_2)$	5,0
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0,1
MgSO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> O	0,25
KCl	0,2
MgCl <sub>2</sub> .H <sub>2</sub> O	5,0
Agar agar	15,0
Agua destilada	1000 mL

Anexo C
Temperaturas registradas durante el cultivo de *Solanum lycopersicum* L. (Estación Meteorológica de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, ubicado en el fundo "El Ciénago" de Lambayeque)

Fechas	Temperatura mínima (°C)	Temperatura media (°C)	Temperatura máxima (°C)
1/10/2019	16	21	23
2/10/2019	15	19	22
3/10/2019	16	21	23
4/10/2019	16	18	20
5/10/2019	15	18	22
6/10/2019	15	18	22
7/10/2019	16	19	22
8/10/2019	16	21	23
9/10/2019	16	21	24
10/10/2019	16	21	23
11/10/2019	16	22	24
12/10/2019	16	21	23
13/10/2019	16	20	22
14/10/2019	16	20	22
15/10/2019	16	22	24
16/10/2019	18	21	24
17/10/2019	17	21	24
18/10/2019	17	19	20
19/10/2019	17	20	22
20/10/2019	17	21	23
21/10/2019	16	21	23
22/10/2019	16	20	21
23/10/2019	16	21	23
24/10/2019	17	22	24
25/10/2019	18	22	25
26/10/2019	17	21	24
27/10/2019	16	22	24

28/10/2019	16	18	22
29/10/2019	17	19	22
30/10/2019	16	20	23
31/10/2019	16	21	23
01/11/2019	16	21	22
02/11/2019	16	20	21
03/11/2019	16	21	23
04/11/2019	16	20	21
05/11/2019	17	20	21
06/11/2019	17	22	24
07/11/2019	17	20	21
08/11/2019	17	21	23
09/11/2019	17	21	23
10/11/2019	17	22	24
11/11/2019	16	21	23
12/11/2019	16	21	23
13/11/2019	16	21	24
14/11/2019	16	20	23
15/11/2019	16	22	24
16/11/2019	16	21	23
17/11/2019	16	22	24
18/11/2019	16	22	24
19/11/2019	16	21	23
20/11/2019	16	21	23
21/11/2019	16	21	23
22/11/2019	16	22	24
23/11/2019	17	22	24
24/11/2019	17	22	24
25/11/2019	16	21	23
26/11/2019	17	22	23
27/11/2019	16	21	23
28/11/2019	16	21	23
29/11/2019	16	22	24

#### Anexo D

# Contenido de agua en peso y capacidad de campo (en García et al., 2012, Polo y Hernández, 2016)

La capacidad de campo (CC), es el contenido de agua que tiene un suelo después que se satura y drena libremente por espacio de 24 a 72 horas. En un suelo saturado todos los poros están ocupados por agua. En un suelo a CC los macroporos perdieron el agua y están llenos de aire y los microporos están llenos de agua, la cual es retenida contra la fuerza de gravedad.

En tres macetas de 4 kg de capacidad con 3 kg de suelo se agregó suficiente agua (1,5 L) hasta que ésta comenzara a salir por las perforaciones de la base. Después de 24 horas de reposo, en cada maceta con ayuda de un tubo de agua (0,5 pulgadas de diámetro) se realizaron tres perforaciones, hasta el fondo de la maceta. El contenido de suelo extraído de las tres perforaciones, en cada maceta se depositó en bolsas de papel Kraft (una por maceta), previamente pesada, se determinó el peso inicial y luego se deshidrataron en estufa a 105 °C durante 24 horas.

A continuación, se determinó el peso final y se realizaron los cálculos correspondientes del contenido de agua en peso (HP %) a CC:

Tratamientos	Peso	Peso de suelo		CC*
	de	Húmedo	Seco	(%)
	papel			
Con estrés hídrico	2,10	207,9	130,0	58,9
Sin estrés hídrico	2,10	250,0	131,1	90,83

<sup>\*</sup>Promedio de tres repeticiones

Cultivos puros de bacilos Gram positivos y Gram negativos según muestra de suelo rizosférico de *E. pachanoi* de procedencia, Lambayeque 2019

Anexo E

N°	Cultivos	Bacilos	Bacilos	Bacilos
	puros	Gram positivas	Gram negativas	Gram negativas
	N°	códigos	códigos	Pseudomonas sp.
1	4	1,2	1,2	Pseudomonas sp. 1
2	3	3	3,4	Pseudomonas sp.4
3	5	4,5	5,6,7	Pseudomonas sp. 5
				Pseudomonas sp. 6
				Pseudomonas sp. 7
4	2	6	8	Pseudomonas sp. 8
5	2	7	9	-
6	3	8,9	10	Pseudomonas sp. 10
7	3	10	11,12	Pseudomonas sp. 12
8	2	11	13	Pseudomonas sp. 13
9	3	12,13	14	Pseudomonas sp. 14
10	3	14	15,16	Pseudomonas sp. 15
				Pseudomonas sp. 16
11	4	15,16	17,18	Pseudomonas sp. 18
12	1	17	-	-
13	2	18	19	Pseudomonas sp. 19
14	2	19	20	Pseudomonas sp. 20
15	3	20,21	21	Pseudomonas sp. 21
16	3	22	22,23	Pseudomonas sp. 22
				Pseudomonas sp. 23
17	4	23,24	24,25	Pseudomonas sp. 24
18	4	25	26,27,28	Pseudomonas sp. 27
				Pseudomonas sp. 28
19	4	26,27	29,30	Pseudomonas sp. 29
				Pseudomonas sp. 30

20	3	28,29	31	Pseudomonas sp. 31
21	3	30	32,33	Pseudomonas sp. 32
				Pseudomonas sp. 33
22	5	31,32,33	34,35	Pseudomonas sp. 35
23	6	34,35,36	36,37,38	Pseudomonas sp. 36
				Pseudomonas sp. 37
				Pseudomonas sp. 38
24	5	37,38	39,40,41	Pseudomonas sp. 39
				Pseudomonas sp. 40
25	7	39,40,41,42	42,43,44	Pseudomonas sp. 43
				Pseudomonas sp. 44
26	7	43,44,45,46	45,46,47	Pseudomonas sp. 46
				Pseudomonas sp. 47
27	3	47	48,49	Pseudomonas sp. 48
28	6	48,49,50	50,51,52	Pseudomonas sp. 50
				Pseudomonas sp. 52
29	7	51,52,53	53,54,55,56	Pseudomonas sp. 53
				Pseudomonas sp. 55
				Pseudomonas sp. 56
30	5	54,55	57,58,59	Pseudomonas sp. 58
				Pseudomonas sp. 59
31	4	56	60,61,62	Pseudomonas sp. 60
				Pseudomonas sp. 61
32	5	57,58,59	63,64	Pseudomonas sp. 63
				Pseudomonas sp. 64
33	6	60,61,62	65,66,67	Pseudomonas sp. 65,
				Pseudomonas sp. 67
34	7	63,64,65	68,69,70,71	Pseudomonas sp. 68
				Pseudomonas sp. 70
				Pseudomonas sp. 71
35	8	66,67,68,69	72,73,74,75	Pseudomonas sp. 72
				Pseudomonas sp. 73
				Pseudomonas sp. 75

26		70.71.72	77.77.70.70	D 1 76
36	7	70,71,72	76,77,78,79	Pseudomonas sp. 76
				Pseudomonas sp. 78
				Pseudomonas sp. 79
37	7	73,74,75,76,77	80,81	Pseudomonas sp. 81
38	7	78,79,80,81	82,83	Pseudomonas sp. 82
				Pseudomonas sp. 83
39	7	82,83,84	85,86,87,88	Pseudomonas sp. 85
				Pseudomonas sp. 86
				Pseudomonas sp. 88
40	5	85,86	89,90,91	Pseudomonas sp. 90
				Pseudomonas sp. 91
41	4	87,88,89	92	Pseudomonas sp. 92
42	5	90,91,92	93,94	Pseudomonas sp. 93
				Pseudomonas sp. 94
43	5	93,94	95,96,97	Pseudomonas sp. 95
				Pseudomonas sp. 97
44	4	95,96,97	98	Pseudomonas sp. 98
45	5	98,99,100	99,100	Pseudomonas sp. 99
				Pseudomonas sp. 100
46	4	101,102,103	101	Pseudomonas sp. 101
47	5	104,105,106,107	102	-
48	4	108,109	103,104	Pseudomonas sp. 103
				Pseudomonas sp. 104
49	6	110,111,112,113,114	105	Pseudomonas sp. 105
50	5	115,116,117,118	106	Pseudomonas sp. 106
51	4	119,120,121	107	-
52	4	122,123,124	108	Pseudomonas sp. 108
53	4	125	109,110,111	Pseudomonas sp. 109
				Pseudomonas sp. 111
54	3	126, 127	112	Pseudomonas sp. 112
Total	239	127	112	84

Análisis de varianza de la altura de *Solanum lycopersicum* L., 60 días después de la inoculación de *Bacillus* spp. y *Pseudomonas* spp. con y sin estrés hídrico

Fuente de variación	Suma de cuadros	GL	Media cuadrática	Fc	p	Sign
Condición de estrés (A)	6747,90	1	6747,90	8316,23	0,000	**
Rizobacterias (B)	1239,93	4	309,98	382,03	0,000	**
Interacción de primer orden A x B	299,20	4	74,80	92,19	0,000	**
Error	16,23	20	0,81			
Total	8303,26	0,81				

# Prueba t de la altura de Solanum lycopersicum L., con y sin estrés hídrico

Estrés hídrico	Altura (cm)	Sign
Sin estrés hídrico	71, 1880	a
Con estrés hídrico	41,1927	b

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de la altura de *Solanum lycopersicum* L., 60 días después de la inoculación de *Bacillus* spp. y *Pseudomonas* spp.

Rizobacterias	Altura (cm)	Sign
Bacillus sp. 89	63,2317	a
Bacillus sp. 34	60,2300	b
Pseudomonas sp. 81	59,9317	b
Pseudomonas sp. 13	51,6867	c
Testigo	45,8717	d

Análisis de varianza de la biomasa aérea de *Solanum lycopersicum* L., 60 días después de la inoculación de *Bacillus* spp. y *Pseudomonas* spp. con y sin estrés hídrico

Anexo G

Fuente de variación	Suma de cuadros	GL	Media cuadrática	Fc	p	Sign
Condición de estrés (A)	49 695	1	49694,7	654,74	0,000	**
Rizobacterias (B)	121 153	4	30288,3	399,06	0,000	**
Interacción de primer orden A x B	3569	4	892,2	11,75	0,000	**
Error	1518	20	1518			
Total	175 935	29	75, 9			

Prueba t de la biomasa aérea de Solanum lycopersicum L., con y sin estrés hídrico

Estrés hídrico	Biomas aérea (cm)	Sign
Sin estrés hídrico	509,8	a
Con estrés hídrico	428,4	b

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de la biomasa aérea de *Solanum lycopersicum* L., 60 días después de la inoculación de *Bacillus* spp. y *Pseudomonas* spp.

Rizobacterias	Altura (cm)	Sign
Bacillus sp. 89	551,5	a
Bacillus sp. 34	493,0	b
Pseudomonas sp. 81	492,0	b
Pseudomonas sp. 13	499,0	c
Testigo	360,0	d

Análisis de varianza de la biomasa radicular de *Solanum lycopersicum* L., 60 días después de la inoculación de *Bacillus* spp. y *Pseudomonas* spp. con y sin estrés hídrico

Anexo H

Fuente de variación	Suma de cuadros	GL	Media cuadrática	Fc	p	Sign
Condición de estrés (A)	22687,5	1	22687,5	1815,0	0,000	**
Rizobacterias (B)	31716,0	4	7929,0	634,32	0,000	**
Interacción de primer orden A x B	5400,0	4	1350,0	108,0	0,000	**
Error	250,0	20	12,5			
Total	60053,5	0,81				

Prueba T de la biomasa radicular de Solanum lycopersicum L., con y sin estrés hídrico

Estrés hídrico	Biomas aérea (cm)	Sign
Sin estrés hídrico	223	a
Con estrés hídrico	168	b

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de la biomasa radicular de *Solanum lycopersicum* L., 60 días después de la inoculación de *Bacillus* spp. y *Pseudomonas* spp.

Rizobacterias	Altura (cm)	Sign
Bacillus sp. 89	233,0	a
Pseudomonas sp. 81	232,5	a
Bacillus sp. 34	191,0	b
Pseudomonas sp. 13	165,0	c
Testigo	156,0	d

TESIS MAESTRIA			
INFORME DE ORIGINALIDAD			
	8% 15% EDE SIMILITUD FUENTES DE INTERNET	2% PUBLICACIONES	7% TRABAJOS DEL ESTUDIANTE
FUENTE	S PRIMARIAS		
1	repositorio.unprg.edu.pe	<b>)</b>	6%
2	es.scribd.com Fuente de Internet		3%
3	dspace.unitru.edu.pe  Fuente de Internet		
4	Submitted to Universidad Nacional de Colombia Trabajo del estudiante		
5	www.redalyc.org Fuente de Internet		
6	Submitted to Universidad de Costa Rica Trabajo del estudiante		
7	L. SADEGHI POUR MARVI. "THE DIVERSITY OF SULFUR-OXIDIZING BACTERIAL POPULATIONS AT AN IRANIAN COPPER MINE AND THE SURROUNDING AGRICULTURAL SOILS", Applied Ecology and		

Dra. Carmen Rosa Carreño Farfán

Environmental Research, 2016

Publicación

DNI: 16494424 ASESORA



# Recibo digital

Este recibo confirma quesu trabajo ha sido recibido por Turnitin. A continuación podrá ver la información del recibo con respecto a su entrega.

La primera página de tus entregas se muestra abajo.

Autor de la entrega: Angela Nuñez

Título del ejercicio: INFORME PARCIAL II
Título de la entrega: TESIS MAESTRIA

Nombre del archivo: TESIS\_MAESTRIA\_sin\_anex.pdf

Tamaño del archivo: 4.84M

Total páginas: 79

Total de palabras: 15,269
Total de caracteres: 80,270

Fecha de entrega: 13-mar-2020 01:49p.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 1275136764



UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO GALLO
ESCUELA DE POSTGRADO
MAESTRÍA EN CIENCIAS
MENCIÓN EN INGENIERÍA AMBIENTAL



Bacillus spp. y Pseudomonas spp. aisladas de la rizósfera de Echinopsis pachanoi 
"San Pedro hembra" en Lambayeque como potenciales promotores de crecimiento de 
Solanum lycopersicum L. bajo estrés hídrico

TESIS

PARA OPTAR EL GRADO DE ACADÉMICO DE MAESTRO EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN INGENIERÍA AMBIENTAL

PRESENTADA POR:

Lic. Angiela Tatiana Nuñez Montenegro

Lambayeque, Perú

2020

Dra. Carmen Rosa Carreño Farfán

DNI: 16494424 ASESORA