



UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE MICROBIOLOGÍA Y
PARASITOLOGÍA



Efecto de *Bacillus* spp. aisladas de
***Asparagus officinalis* L. en el desarrollo vegetativo de**
***Solanum lycopersicum* L. “tomate”**

TESIS

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN
BIOLOGÍA MICROBIOLOGÍA - PARASITOLOGÍA

PRESENTADA POR:

Br. Patty Yeraldin Santa Cruz Achin

LAMBAYEQUE, PERÚ 2018

UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE MICROBIOLOGÍA Y
PARASITOLOGÍA

**Efecto de *Bacillus* spp. aisladas de
Asparagus officinalis L. en el desarrollo vegetativo de
Solanum lycopersicum L. “tomate”**

TESIS

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN
BIOLOGÍA MICROBIOLOGÍA - PARASITOLOGÍA

PRESENTADA POR:

Br. Patty Yeraldin Santa Cruz Achin

LAMBAYEQUE, PERÚ 2018

**Efecto de *Bacillus* spp. aisladas de
Asparagus officinalis L. en el desarrollo vegetativo de
Solanum lycopersicum L. “tomate”**

TESIS

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN BIOLOGÍA
MICROBIOLOGÍA – PARASITOLOGÍA

APROBADA POR:

MSc. Clara Cueva Castillo

PRESIDENTE

Mblga. María Teresa Silva García

SECRETARIA

Lic. Julio César Silva Estela

VOCAL

Dra. Carmen Carreño Farfán

PATROCINADORA

LAMBAYEQUE, PERÚ

2018

DEDICATORIA

A DIOS

Por la vida, y la hermosa madre que tengo, por la dicha de poder compartir con ella cada paso que doy.

A MI MADRE PATRICIA

Por ser la principal motivación para seguir adelante, por ser mi respaldo en todo momento.

A MI HERMANA LILIANA

Por ser parte de mí día a día, por sus consejos y enseñanzas.

PATTY YERALDIN

AGRADECIMIENTO

A DIOS

Por su infinito amor y bondad,
porque está conmigo en todo
momento, y por permitirme alcanzar
mis anhelos.

A MI MADRE PATRICIA

Por su amor incondicional y lucha
constante, por todas sus
enseñanzas y por hacer de mí una
persona de bien.

A RICHARD SALAZAR

Por el apoyo brindado en la
realización de este trabajo, por ser
mi compañero, mejor amigo y
consejero.

A MI HERMANA LILIANA

Por ser un ejemplo para mí, por
apoyarme en todo momento.

A MI ASESORA CARMEN CARREÑO

Por cada una de sus enseñanzas,
consejos y por contribuir de manera
fundamental en el desarrollo del
presente trabajo, por ser mi guía,
amiga y maestra.

PATTY YERALDIN

Índice

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II.MARCO TEÓRICO.....	4
2.1. Antecedentes de la investigación	4
2.2. Base teórica	6
2.2.1. <i>Solanum lycopersicum</i> L.. “tomate”... ..	8
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	10
3.1. Materiales... ..	10
3.1.1. Material biológico... ..	10
3.1.2. Población y muestra.....	10
3.2. Métodos... ..	10
3.2.1. Variable de la fase descriptiva	10
3.2.2. Variables de la fase explicativa	10
3.2.3. Tipo de estudio y diseño de contrastación de hipótesis.....	11
3.2.4. Reactivación de cultivos de bacterias fijadoras de nitrógeno	11
3.2.5. Primera fase: Cuantificación de nitrógeno, fosfato solubilizado e indoles producidos.....	15
3.2.6. Segunda fase: Efecto de <i>Bacillus</i> spp. en el desarrollo de <i>Solanum lycopersicum</i> L.....	16
IV. RESULTADOS.....	28
4.1. Nitrógeno fijado, fosfato solubilizado e indoles producidos.....	28
4.2. Efecto de 15 cultivos de <i>Bacillus</i> spp. en desarrollo vegetativo de <i>Solanum lycopersicum</i> L.....	30
4.3. Cultivos de <i>Bacillus</i> spp. seleccionados.....	38
4.4. Efecto de <i>Bacillus</i> spp. seleccionados en el desarrollo vegetativo y reproductivo de <i>Solanum lycopersicum</i> L.. ..	48
V. DISCUSIÓN... ..	64
VI. CONCLUSIONES.....	67
VII.RECOMENDACIONES.....	68
VIII.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	69
ANEXOS.....	76

Índice de tablas

Tabla 1.	Análisis físico-químico de suelo agrícola experimental.....	18
Tabla 2.	Nitrógeno fijado como amonio, fósforo soluble e indoles producidos por <i>Bacillus</i> spp.....	29
Tabla 3.	Índices de efectividad en la altura de plantas de <i>Solanum lycopersicum</i> L., 15, 30, 45 y 60 después de la inoculación de <i>Bacillus</i> spp.....	33
Tabla 4.	Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de la altura de plantas de <i>Solanum lycopersicum</i> L. 15, 30, 45 y 60 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> spp.....	34
Tabla 5.	Índices de efectividad (%) y prueba de comparaciones múltiples de Tukey de la longitud de raíces de <i>Solanum lycopersicum</i> L., 60 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> spp.....	45
Tabla 6.	Índices de efectividad (%) en la altura de planta y longitud de raíces de <i>Solanum lycopersicum</i> L. por <i>Bacillus</i> spp. seleccionadas.....	46
Tabla 7.	Índices de efectividad (%) en la emergencia y altura de plantas de <i>Solanum lycopersicum</i> L. por <i>Bacillus</i> spp. seleccionadas.....	49
Tabla 8.	Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de la altura de plantas de <i>Solanum lycopersicum</i> L. 15 y 30 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> spp. seleccionadas.....	51
Tabla 9.	Índices de efectividad (%) en la altura de plantas de <i>Solanum lycopersicum</i> L. por <i>Bacillus</i> spp. inoculadas a la siembra y trasplante.....	54
Tabla 10.	Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de la altura de plantas de <i>Solanum lycopersicum</i> L., 45, 60, 75 y 90 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> spp. a la siembra y trasplante.....	55
Tabla 11.	Índices de efectividad (%) al 50% de la floración en <i>Solanum lycopersicum</i> L., por <i>Bacillus</i> spp. inoculadas a la siembra y trasplante.....	60

Tabla 12. Índices de efectividad (%) al 50% de la fructificación en <i>Solanum lycopersicum</i> L. por <i>Bacillus</i> spp. inoculadas a la siembra y trasplante.....	63
--	----

Índice de figuras

Figura 1.	Cultivos de <i>Bacillus</i> spp	12
Figura 2.	Diseño completamente aleatorio para determinar el efecto de 15 cultivos de <i>Bacillus</i> spp. en la altura y la longitud de raíces de <i>Solanum lycopersicum</i> L.....	13
Figura 3.	Diseño completamente aleatorio para determinar el efecto de cinco cultivos de <i>Bacillus</i> spp. y dos testigos en el desarrollo de <i>Solanum lycopersicum</i> L. "tomate"....	14
Figura 4.	Suelo experimental contenido en macetas de arcilla.....	18
Figura 5.	Semillas de <i>Solanum lycopersicum</i> L. germinadas	20
Figura 6.	Semillas de <i>Solanum lycopersicum</i> L. inoculadas con <i>Bacillus</i> spp ...	20
Figura 7.	Medición de altura de planta de <i>Solanum lycopersicum</i> L.....	21
Figura 8.	Inoculación de semillas de <i>Solanum lycopersicum</i> L. en el suelo experimental contenido en vasos de tecnopor.....	24
Figura 9.	Plántulas de <i>Solanum lycopersicum</i> L., cultivadas durante 10 días en condiciones de invernadero.....	24
Figura 10.	Inmersión de raíces de <i>Solanum lycopersicum</i> L. en inóculo de <i>Bacillus</i> sp	25
Figura 11.	Plantas de <i>Solanum lycopersicum</i> L. 15 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> spp	30
Figura 12.	Altura de plantas de <i>Solanum lycopersicum</i> L. 15 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> sp.56.3.....	31
Figura 13.	Altura de plantas de <i>Solanum lycopersicum</i> L. 15 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> sp.77.5.....	31
Figura 14.	Altura (cm) de <i>Solanum lycopersicum</i> L. 15 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> spp., 2017.....	32
Figura 15.	Altura de plantas de <i>Solanum lycopersicum</i> L. 30 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> sp.11.4.....	35
Figura 16.	Altura de plantas de <i>Solanum lycopersicum</i> L. 30 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> sp.77.5.....	35

Figura 17.	Altura (cm) de <i>Solanum lycopersicum</i> L. 30 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> spp., 2017.....	36
Figura 18.	Altura de plantas de <i>Solanum lycopersicum</i> L. 45 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> sp.81.1.....	38
Figura 19.	Altura de plantas de <i>Solanum lycopersicum</i> L. 45 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> sp.77.5.....	38
Figura 20.	Altura (cm) de <i>Solanum lycopersicum</i> L. 45 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> spp., 2017.....	39
Figura 21.	Altura de plantas de <i>Solanum lycopersicum</i> L. 60 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> sp.52.3	40
Figura 22.	Altura de plantas de <i>Solanum lycopersicum</i> L. 60 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> sp.72.4.....	40
Figura 23.	Plantas de <i>Solanum lycopersicum</i> L., 60 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> spp., (a) <i>Bacillus</i> sp.56.3, (b) <i>Bacillus</i> sp.94.1, (c) <i>Bacillus</i> sp.81.....	41
Figura 24.	Altura Altura (cm) de <i>Solanum lycopersicum</i> L. 60 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> spp., 2017.....	42
Figura 25.	Altura Plantas de <i>Solanum lycopersicum</i> L., 60 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> spp., (a) <i>Bacillus</i> sp.72.4, (b) <i>Bacillus</i> sp.45.6, (c) <i>Bacillus</i> sp.12.4.....	43
Figura 26.	Longitud (cm) de raíces de <i>Solanum lycopersicum</i> L., 60 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> spp., 2017.....	44
Figura 27.	Altura Emergencia de <i>Solanum lycopersicum</i> L., 7 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> spp. seleccionadas, 2017.....	48
Figura 28.	Emergencia de <i>Solanum lycopersicum</i> L., 7 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> spp. seleccionadas, 2017.....	49
Figura 29.	Altura de plantas de <i>Solanum lycopersicum</i> L. 15 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> spp. Seleccionadas, 2017.....	50
Figura 30.	Altura (cm) de <i>Solanum lycopersicum</i> L. 15 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> spp., seleccionadas 2017.....	51
Figura 31.	Altura de plantas de <i>Solanum lycopersicum</i> L. 30 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> spp. seleccionadas, 2017.....	52

Figura 32.	Altura (cm) de <i>Solanum lycopersicum</i> L. 30 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> spp. seleccionadas 2017.....	52
Figura 33.	Altura de plantas de <i>Solanum lycopersicum</i> L. 45 días después de la inoculación de <i>Bacillus megaterium</i> 72.4	53
Figura 34.	Altura de plantas de <i>Solanum lycopersicum</i> L. 45 días después de la inoculación de <i>Bacillus circulans</i> 55.5.....	53
Figura 35.	Altura (cm) de <i>Solanum lycopersicum</i> L. 45 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> spp. seleccionadas 2017.....	54
Figura 36.	Altura de plantas de <i>Solanum lycopersicum</i> L. 60 días después de la inoculación de <i>Bacillus circulans</i> 55.5.....	57
Figura 37.	Altura (cm) de <i>Solanum lycopersicum</i> L. 60 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> spp. seleccionadas 2017.....	57
Figura 38.	Altura de plantas de <i>Solanum lycopersicum</i> L. 75 días después de la inoculación de <i>Bacillus circulans</i> 75.5	58
Figura 39.	Altura (cm) de <i>Solanum lycopersicum</i> L. 75 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> spp. seleccionadas 2017.....	58
Figura 40.	Altura de plantas de <i>Solanum lycopersicum</i> L. 90 días después de la inoculación de <i>Bacillus megaterium</i> 72.4.....	59
Figura 41.	Altura (cm) de <i>Solanum lycopersicum</i> L. 90 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> spp. seleccionadas 2017.....	59
Figura 42.	Días al 50% de la floración en <i>Solanum lycopersicum</i> L. inoculado con <i>Bacillus</i> spp. a la siembra y trasplante.....	60
Figura 43.	Fructificación de <i>Solanum lycopersicum</i> L., (a) Testigo absoluto, Testigo químico, (c) <i>Bacillus circulans</i> 77.5.....	62
Figura 44.	Fructificación de <i>Solanum lycopersicum</i> L., (a) Testigo absoluto, (b) Testigo químico, (c) <i>Bacillus megaterium</i> 72.4.....	62
Figura 45.	Días al 50% de la fructificación en <i>Solanum lycopersicum</i> L., inoculado <i>Bacillus</i> spp. a la siembra y trasplante.....	63

RESUMEN

La presente investigación se realizó con el objetivo de investigar la fijación de nitrógeno, solubilización de fosfato y producción de índoles por *Bacillus* spp. aisladas de *Asparagus officinalis* L. y determinar el efecto de su inoculación en el desarrollo de *Solanum lycopersicum* L. "tomate". Mediante técnicas colorimétricas se cuantificó el nitrógeno fijado como amonio, fósforo soluble producto de la solubilización de fósforo tricálcico e índoles producidos in vitro por *Bacillus* spp. En el invernadero se realizaron dos ensayos, el primero con 15 cultivos de *Bacillus* spp. en inoculación simple a las semillas antes de la siembra y el segundo con cinco cultivos de *Bacillus* spp. con inoculación doble en las semillas y las raíces al momento de trasplante. El diseño experimental fue completamente aleatorio incluyendo a los testigos químico (NPK) y absoluto. *Bacillus* spp. fijaron nitrógeno (1,91 a 26,38ppm de amonio), solubilizaron fosfato tricálcico (0,35 a 8,31ppm de fósforo soluble) y produjeron índoles (2,68 a 23,57ppm). Estos cultivos de *Bacillus* spp. incrementaron el desarrollo de las plantas de tomate destacando *Bacillus megaterium* 72.4 y *Bacillus circulans* 77.5 con índices de efectividad de 42,86% en la emergencia y 6,12 a 49,13% en la altura. Se demostró el incremento en el desarrollo vegetativo y reproductivo del tomate por *Bacillus* spp.

Palabras clave: *Bacillus* spp., *Solanum lycopersicum* L., desarrollo.

ABSTRACT

The present investigation was carried out with the objective of investigating the fixation of nitrogen, the solubilization of phosphate and the production of indoles by *Bacillus* spp. isolated from *Asparagus officinalis* L. and determine the effect of its inoculation on the development of *Solanum lycopersicum* L. "tomato". By means of colorimetric techniques, the nitrogen fixed as ammonium, soluble phosphorus product of the solubilization of tricalcium phosphorus and indoles produced in vitro by *Bacillus* spp. Two trials were carried out in the greenhouse, the first with 15 cultures of *Bacillus* spp. in simple inoculation to the seeds before sowing and the second with five cultures of *Bacillus* spp. with double inoculation in the seeds and roots at the time of transplant. The experimental design was completely randomized with the chemical (NPK) and absolute results. *Bacillus* spp. nitrogen (1.91 to 26.38 ppm of ammonium), solubilized tricalcium phosphate (0.35 to 8.31 ppm of soluble phosphorus) and produced indoles (2.68 to 23.57 ppm). These cultures of *Bacillus* spp. growth in the development of tomato plants highlighting *Bacillus megaterium* 72.4 and *Bacillus circulans* 77.5 with effectiveness rates of 42.86% in the emergency and 6.12 to 49.13% in the height. The increase in the vegetative and reproductive development of the tomato was demonstrated by *Bacillus* spp.

Key words: *Bacillus* spp., *Solanum lycopersicum* L., development.

I. INTRODUCCIÓN

Los fertilizantes químicos incrementan la productividad y rentabilidad de los cultivos agrícolas como *Solanum lycopersicum* L. "tomate"; (Peralta, Knapp & Spooner, 2005, p.425; Ochoa et al., 2016, p.338); no obstante, cada año aumenta la cantidad de fertilizantes por aplicar (Nicolalde y Quintana, 2010, pp.1-2) y bajo un manejo inadecuado los fertilizantes químicos contaminan el ambiente (Aguado, 2012, pp.9-15). En el desarrollo de alternativas para disminuir el uso de fertilizantes químicos (Meng, Jiang & Hao, 2016, p.18; Ochoa et al., 2016, p.338) se realizan investigaciones con las rizobacterias promotoras de crecimiento en plantas (Plant Growth Promoting Rhizobacteria, PGPR). Las PGPR bacterias benefician a los cultivos agrícolas por su intervención directa en los ciclos biogeoquímicos, con lo que hacen disponibles compuestos orgánicos e inorgánicos, que son aprovechados por las plantas y por la producción de metabolitos secundarios capaces de promover respuestas fisiológicas en las células vegetales.

Entre las PGPR se encuentran especies de *Bacillus*, reconocidas por su versatilidad metabólica (Meng et al., 2016, p.18) y formación de esporas que les permiten sobrevivir en condiciones desfavorables (Calvo y Zúñiga, 2008, p.32). Estas bacterias tienen potencial como PGPR debido a mecanismos directos e indirectos. Los directos son: fijación de nitrógeno (Orozco y Martínez, 2009, pp.70-77; Cuervo, 2010, pp.4-5) producción de ácido indolacético (Wahyudi, Astuti, Widyawati, Meryandini & Nawangsih, 2011, pp.34-39; Angulo, Sanfuentes, Rodríguez, y Sosso, 2014, pp.338-347), citoquininas (Ortiz, Valencia y Lopez, 2009, pp.64-71) y giberelinas (Gutiérrez, Ramos, Probanza, Mehouchi, Tadeo & Talon, 2001, pp.206-211) y solubilización de fosfato (Angulo et al., 2014, p.344).

El efecto promotor de crecimiento en plantas por *Bacillus* spp. se ha reportado en tomate (Aysha, Vinothkumar, Vasuki, Nirmala & Reena, 2012, pp.131-135), *Capsicum annum* "chile" (Guillén, Hernández, Gallegos, Rodríguez, Aguilar, Padrón

y Reyes, 2006, pp.105-112), *Zea mays* L. "maíz" (García, Lovaisa y Ulla, 2015, p.19), *Oryza sativa* "arroz" (Masood et al., 2016, pp.120-129) y *Musa* sp. "banano" (Wang et al., 2016, p.347); sin embargo, también se ha reportado ausencia de cambios por efecto de *Bacillus* spp. en maíz (Torres, 2015) e inclusive efecto negativo en *Lolium multiflorum* Lam. "pasto italiano" (Yolcu, Turan, Lithourgidis, Cakmakci & Koc, 2011, pp.1730-1734). Los resultados contradictorios observados son atribuidos a diversos factores, entre los que se menciona la especificidad planta-bacteria, condición que no permitiría la aplicación exitosa de las bacterias en cultivos agrícolas diferentes a los de su procedencia; no obstante, existen reportes científicos que demuestran lo contrario, con bacterias aisladas de *Saccharum officinarum* L. "caña de azúcar" (German, 2015, pp.15-17) y *Asparagus* sp. "espárrago silvestre" (García, 2012, pp.18-23) e inoculadas con éxito en tomate.

En el laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Ciencias Biológicas se aislaron e identificaron diferentes especies de *Bacillus* en el rizoplaneo y rizósfera de plantas de espárrago y se demostró *in vitro* que tienen potencial como promotoras de crecimiento en este cultivo (Casos y Casos, 2017, pp.33-74); sin embargo, no se ha investigado el efecto de estas bacterias en el desarrollo vegetativo de otros cultivos agrícolas como tomate en condiciones de invernadero, requisito indispensable para su aplicación en condiciones de campo. Los resultados de la presente investigación demostrarán la efectividad de *Bacillus* spp. y la posibilidad de utilizarlas como biofertilizantes, asegurando la rentabilidad de cultivo y reducción de la fertilización química, con beneficio para los productores, consumidores y medio ambiente.

1.1 Problema

¿Cuál es el efecto de *Bacillus* spp. aisladas del rizoplaneo y rizósfera de espárrago en el desarrollo vegetativo de tomate en condiciones de invernadero?

1.2 Objetivo general

Determinar el efecto de 15 cultivos de *Bacillus* spp. en el desarrollo vegetativo de tomate, en condiciones de invernadero.

1.3 Objetivos específicos

- 1.3.1 Cuantificar el nitrógeno fijado, fosfato solubilizado e indoles producidos *in vitro* por 15 cultivos de *Bacillus* spp.
- 1.3.2 Comparar el efecto de 15 cultivos de *Bacillus* spp. en la altura y longitud de raíces de plantas de tomate durante 60 días.
- 1.3.3 Seleccionar los cinco cultivos de *Bacillus* spp. con los que se alcanzaron los mayores valores en los parámetros investigados.
- 1.3.4 Comparar el efecto de inoculación de *Bacillus* spp. en el desarrollo vegetativo y reproductivo de tomate en condiciones de invernadero.

1.4 Hipótesis

Los cultivos de *Bacillus* spp. fijadores de nitrógeno, productores de indoles y solubilizadores de fosfatos, incrementan el desarrollo vegetativo y reproductivo del cultivo de tomate en condiciones de invernadero.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes de la investigación

La capacidad metabólica muy diversa les permite a las especies de *Bacillus* tener una colonización exitosa en el ambiente rizosférico después de la inoculación y ejercer su efecto benéfico como bacterias promotoras de crecimiento en plantas (PGPR). Se ha reportado aumento en la altura, número de hojas, peso de follaje y raíces de tomate (Aysha et al., 2012, pp.131-135), rendimiento, peso, calidad de frutos de tomate en términos de firmeza y vida de anaquel (Mena, Cruz, Paredes, Gómez y Olalde, 2009, pp.559-566), biomasa aérea y radicular de maíz (García et al., 2015, p.25), longitud de raíces, número de raíces laterales de soya (Wahyudi et al., 2011, pp.34-39), rendimiento de materia seca y contenido de proteína cruda de pasto (Yolcu et al., 2011, pp.1730-1734) y disminución en la dosis del fertilizante químico nitrogenado en *Solanum tuberosum* L. "papa" (Ekin, Oguz, Erman & Ogün, 2009, pp.4418-4425).

El potencial de biocontrol de hongos causantes de la marchitez se investigó en cuatro cepas de *Bacillus* spp., así como también se determinó su efecto en el desarrollo y rendimiento de chile. Las bacterias se inocularon por inmersión en las raíces de plántulas de 20 cm de altura, al momento del trasplante y con una aspersora manual al pie de la planta, 20 días después del trasplante (ddt), considerándose un testigo absoluto y un tratamiento tradicional (TT) con fungicida químico. A los 54 ddt las plantas inoculadas presentaron 33% más de altura que el testigo y 24% más que TT y a los 84 días los incrementos fueron de 20 y 14% respectivamente. A la cosecha, la severidad de la marchitez fue de 2,1-2,9 en las plantas con *Bacillus* spp.; 3,50 con TT y 3,85 con el testigo. *B. amyloliquefaciens* y *B. licheniformis* superaron en el rendimiento al testigo (174-270%) a TT (28-74%). Se demostró el biocontrol de la marchitez fungosa con el consecuente incremento del rendimiento del cultivo de chile (Guillén et al., 2006).

El efecto de la aplicación de *Bacillus* sp. OSU-142 y tres niveles de fertilizante

nitrogenado (0, 120, 240 kg ha⁻¹) se investigó en el cultivo de papa bajo condiciones de campo, durante 2 años consecutivos. La bacteria se cultivó en caldo nutritivo, se obtuvo una suspensión de células cuya concentración fue estandarizada a 10⁸UFC mL⁻¹ y en ella se remojaron los tubérculos semilla durante 30 minutos. La mitad de las dosis de nitrógeno se aplicó a la siembra y el resto cuando las plantas presentaron 15-25 cm de altura. *Bacillus* spp. incrementaron significativamente la altura, número de tallos, número y peso de tubérculos en comparación con el control no aplicado. El mayor rendimiento total correspondió a *Bacillus* sp. OSU-142 más 120 kg ha⁻¹ (92,7-105,6 tha⁻¹), no diferenciándose significativamente del control 240kg N ha⁻¹ (89-102 tha⁻¹). La aplicación de *Bacillus* sp. OSU-142 permitió disminuir el 50% del fertilizante químico en el cultivo de papa (Ekin et al., 2009).

El efecto de la aplicación de cinco cepas bacterianas y estiércol se investigó en pasto italiano, bajo condiciones semiáridas. Los tratamientos correspondieron a: Tres dosis de estiércol (M1:10, M2:20, M3:30 Mg ha⁻¹) cinco cepas de bacterias (*B.subtilis* 11, *Variovorax paradoxus* 21, *Paenibacillus polymyxa* 105, *P. polymyxa* 24/3, *Pseudomonas putida* 29/2) y un control sin bacterias ni estiércol. Las semillas se inocularon por inmersión en una suspensión bacteriana (10⁹UFC mL⁻¹). Las evaluaciones y cosecha se realizaron al segundo año. Los mayores rendimientos en materia seca (2853kg ha⁻¹) correspondieron a *P. polymyxa* 24/3, seguido de *V. paradoxus* 21 (2344 Kg ha⁻¹) y *P. polymyxa* 105 (2066 kg ha⁻¹); superando significativamente al control (1901 kg ha⁻¹). Con el estiércol, *B. subtilis* y *P. putida* se obtuvieron rendimientos de materia seca similares o menores al control. Todos los tratamientos incrementaron la proteína cruda, alcanzando 13-15% con el estiércol, 13-14% con las bacterias y 12% en el control. Se concluyó que las bacterias tienen potencial como promotoras del crecimiento del pasto italiano (Yolcu et al., 2011).

Con la perspectiva de disminuir los costos de producción de las PGPR, se investigó el crecimiento de *Bacillus* spp. en agua de *Cocos nucifera* "coco" y su efecto en plántulas de tomate. Las bacterias se aislaron de la rizósfera de tomate, se cultivaron en agua de coco y se monitoreó el crecimiento durante 48 horas. Las semillas de tomate se sumergieron en el cultivo bacteriano y se cultivaron durante 28 días en condiciones de invernadero. Las bacterias se incrementaron en el agua de coco, alcanzando 7,5 UFC mL⁻¹ en comparación con 5,6UFC mL⁻¹ en el

caldo nutritivo. Estas bacterias influenciaron positivamente en los parámetros de crecimiento de las plántulas de tomate, alcanzando 16 hojas; 3,5 cm de altura; 0,35 g en peso del follaje y 0,85 g en el peso radicular, en comparación con el control con 9 hojas; 1,6 cm; 0,06 g y 0,14 g, respectivamente. *Bacillus* spp. cultivadas en agua de coco incrementaron el desarrollo vegetativo de plántulas de tomate (Aysha et al., 2012).

Bacterias rizosféricas y endófitas se aislaron de árboles de *Eucalyptus nitens*, con el objetivo de determinar su capacidad para promover el crecimiento en las plántulas. Las bacterias se cultivaron en caldo soya triptica (10⁷ UFC mL⁻¹) y se inocularon en las semillas a la siembra y 4 semanas después, en la base de las plántulas emergidas. Las semillas se sembraron en corteza de pino compostada y desde los 12 hasta los 28 días después de la siembra se determinó la emergencia y después de 3 meses la altura, longitud de raíces y peso de la biomasa aérea y radicular. Los aislados en su actividad PGPR se identificaron a nivel molecular y se investigó la producción de índoles, solubilización de fosfatos y actividad ACC desaminasa. Se obtuvieron 105 aislados, entre los que 14% incrementó significativamente el crecimiento de las plántulas; alcanzando 142% en la biomasa aérea, 135% en la biomasa radicular, 50% en la altura y 45% en la longitud de las raíces. Se identificaron *Arthrobacter*, *Lysinibacillus*, *Rahnella* y *Bacillus*. Todos produjeron índoles, el 40% solubilizó fosfato y el 7% presentó actividad ACC desaminasa. Se demostró el potencial de bacterias como promotoras de crecimiento de *E. nitens* (Angulo et al., 2014).

2.2 Base teórica

Los biofertilizantes, bioinoculantes, inoculantes microbianos o inoculantes del suelo son una mezcla de microorganismos benéficos que al ser aplicados restauran nutricional y biológicamente los suelos degradados (Otero, 2011, p.2). Son productos agrotecnológicos que contienen microorganismos (bacterias, hongos, solos o combinados), vivos o latentes y que son aplicados a los cultivos agrícolas para estimular su crecimiento y productividad. Se diferencian de los abonos orgánicos como el estiércol y compost y residuos porque en éstos la composición exacta de los microorganismos es desconocida y variable (Aguado, 2012, p.35).

El ciclo de desarrollo de una planta comprende desde la germinación hasta la floración y formación del fruto, es decir el desarrollo vegetativo y desarrollo reproductivo (Fassio, Carriquiry, Tojo y Romero, 1998, p.1). El desarrollo vegetativo es el crecimiento ordenado de las plantas, con la consiguiente diferenciación de tejidos y órganos (Córdova, 2016, p.14). Kloepper & Schroth (1978), mencionados por Bhattacharyya & Jha (2012), propusieron el término rizobacterias para las bacterias del suelo que competitivamente colonizaban las raíces, estimulaban el crecimiento de las plantas y a la vez reducían la incidencia de las enfermedades. En 1981, estos mismos investigadores denominaron a las bacterias promotoras de crecimiento en plantas (Plant Growth Promoting Rhizobacteria, PGPR). En la actualidad, este concepto se usa para las bacterias que cumplen dos de los tres criterios establecidos, como son colonización agresiva, estimulación del crecimiento vegetal y biocontrol.

Las PGPR benefician a los cultivos agrícolas a través de mecanismos directos e indirectos. Los mecanismos directos incluyen la síntesis de reguladores del crecimiento (auxinas, giberelinas, citoquininas, solubilización de fosfatos minerales, fijación de nitrógeno atmosférico y producción de sideróforos) (Lizárraga, Leyva, Sánchez, Quiroz & Maldonado, 2015, p.19; Meng et al., 2016, pp.18-19; Wang et al., 2016, p.734). Entre los mecanismos indirectos o de biocontrol se encuentran la competencia por un nicho ecológico o por nutrientes, la interacción directa con los patógenos (parasitismo y lisis enzimática), antibiosis, producción de sideróforos e inducción de resistencia sistémica en las plantas (Lizárraga et al., 2015, p.18).

El género *Bacillus*, descrito por primera vez por Cohn, comprende un grupo de especies filogenética y fenotípicamente heterogéneas. Los estudios moleculares de la secuencia del RNA 16S subdividen el género *Bacillus* en cuatro grupos. El primero pertenece a *Bacillus* senso stricto, en el cual se incluye *B. subtilis* y otras especies. El segundo grupo denominado senso lato incluye bacilos formadores de esporas redondeados como *B. cereus*, *B. thuringiensis*, *B. anthracis* y los taxos esporógenos *Caryophanon*, *Exiguobacterium*, *Kurtia* y *Planococcus*. El tercer grupo tiene diez representantes incluyendo *B. polymyxa* y *B. macerans*, los cuales se han reclasificado con el nuevo género *Paenibacillus*. En el cuarto grupo se encuentra especies reclasificadas en los nuevos géneros *Aneuribacillus* y *Brevibacillus* (Tejera, Rojas y Heydrich, 2011, p.132; Tan et al., 2013, p.139; Lizárraga et al., 2015, p.18).

El efecto promotor de crecimiento en plantas por *Bacillus* spp. también se ha reportado en la biomasa aérea y radicular, área, diámetro, volumen radicular (Tan et al., 2013, p.138), diámetro de tallo (Xiao, Chun, Tao & Ouyang, 2015, p.36) y calidad de los frutos de tomate (Ochoa et al., 2016, p.341) así como también en la biomasa y diámetro del pseudotallo de banano (Wang et al., 2016, p.347), biomasa aérea y radicular de *Atriplex lentiformis* (Bashan, de-Bashan, Hernandez & Maier, 2010, pp.346-347) biomasa, contenido de clorofila, o acumulación de nutrientes y actividad antioxidante de plantas de arroz (Masood et al., 2016, pp.120-129), disminución en la incidencia y severidad de las enfermedades fungosas (Lizárraga et al., 2015, p.16), (Wang et al., 2016, p.738) y bacterianas (Tan et al., 2013, p. 137).

2.1.1 *Solanum lycopersicum* L. “tomate”

El tomate es una planta autógama, muy ramificada, rastrera y perenne, aunque se cultiva como anual. La raíz es pivotante, pero tiende a ser fasciculada en las plantas tratadas. El tallo es grueso y anguloso (Matas, 2005). La hoja es compuesta e imparipinnada, con foliolos peciolados, lobulados, con bordes dentados y recubiertos de pelos glandulares. La flor es perfecta, regular e hipógina con cinco o más sépalos, pétalos amarillos, estambres soldados y ovario bi o plurilocular. Las flores (3-10) se agrupan en inflorescencias racimosas. El fruto es una baya, bi o plurilocular, comestible (Reina et al., 1998, citados por Escobar y Horna, 2011).

El cultivo de tomate con riego por surco requiere 180 a 300Kgh⁻¹ de fertilizante nitrogenado, con una absorción lenta desde el trasplante hasta el crecimiento vegetativo temprano, aceleración de la absorción durante el cuajado y llenado del fruto y disminución acentuada en la madurez del cultivo. Para producir 1 tonelada de frutos, la planta requiere absorber en promedio 2,5 a 3,0kg de nitrógeno. En función de los requerimientos, para 60tha⁻¹ se necesitan 150 a 180 unidades Nha⁻¹, estimándose que por cada 100 unidades de nitrógeno aplicadas se aprovechan 50. De esta manera, si se aplica urea con 46%N, de cada 100kg aplicados, el cultivo utiliza 25 unidades (Gaspar, 2000).

El cultivo de tomate se recomienda en suelos francos o franco-arcillosos, con un rango de temperatura de 12 a 16°C en el suelo, 21 a 24°C en el ambiente y un óptimo de 22°C. El tomate puede crecer en condiciones climáticas variables,

altura de 400 a 2000msnm y 70 a 80% de humedad relativa. Las necesidades nutricionales son de 400 a 700kgNha⁻¹, 100 a 200kgPha⁻¹, 1000 a 1200kgKha⁻¹ y 100 a 200kgMgha⁻¹. El periodo más crítico para el riego ocurre antes y después del trasplante (4 días) y después del inicio de la floración hasta el inicio de la maduración de los primeros frutos. La cosecha se realiza de forma manual independientemente que el producto sea para la industria o para el consumo local (Rodríguez y Morales, 2007, p.15).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Materiales

3.1.1 Material biológico

Semillas de tomate y 15 cultivos de *Bacillus* spp. aisladas del rizoplasma y rizósfera de espárrago, caracterizadas *in vitro* como rizobacterias promotoras de crecimiento en plantas PGPR (Casos y Casos, 2017) y proporcionadas por el laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Ciencia Biológicas en la Universidad Pedro Ruiz Gallo.

3.1.2 Población y muestra

Población universal : Bacterias del género *Bacillus*.

Población muestral : *Bacillus* spp. Aisladas del rizoplasma y rizósfera de espárrago durante febrero-abril de 2016.

Unidad muestral : 15 cultivos de *Bacillus* spp.: 78.5, 70.1, 2.1, 52.3, 72.4, 77.5, 55.5, 56.3, 45.6, 66.5, 11.4, 85.7, 94.1, 12.4 y 81.1.

3.2 Métodos

3.2.1 Variable de la fase descriptiva

Variable cuantitativa: Potencial como promotoras de crecimiento en plantas (nitrógeno fijado, fosfato solubilizado, indoles producidos).

3.2.2 Variables de la fase explicativa

Variable independiente: Cultivos (15) de *Bacillus* spp. .

Variable dependiente : Desarrollo vegetativo (altura aérea y radicular).
Desarrollo reproductivo (Días a la floración, días a la fructificación).

3.2.3 Tipo de estudio y diseño de contrastación de hipótesis

El trabajo de investigación se realizó en dos fases. En la primera fase descriptiva con el diseño de “Sólo Después” (Vásquez, A., Díaz, Vásquez, O. y Vásquez, W., 2012) se cuantificó el nitrógeno fijado, fosfato solubilizado e indoles producidos por 15 cultivos de *Bacillus* spp. (Figura 1). En la segunda fase explicativa, se realizaron dos ensayos en condiciones de invernadero, el primero para comparar el efecto de los 15 cultivos de *Bacillus* spp. investigados en la altura y longitud de raíces de plantas de tomate durante 60 días y seleccionar los cinco cultivos bacterianos con los que se alcanzaron los mayores valores. En el segundo ensayo se comparó el efecto de los cultivos *Bacillus* spp. en el desarrollo vegetativo y reproductivo de las plantas de tomate durante 90 días.

En la fase explicativa se utilizó, el diseño experimental completamente aleatorio, DCA (Hernández, Fernández y Baptista, 2014) con 16 tratamientos en el primer ensayo (15 cultivos de *Bacillus* spp. y un testigo: con agua destilada) y siete tratamientos en el segundo ensayo (cinco cultivos de *Bacillus* spp. y dos testigos: absoluto con agua destilada y químico con fertilizante: 180N:100P:120K. A cada tratamiento le correspondieron tres repeticiones, totalizando 48 y 21 unidades experimentales, respectivamente (Figuras 2, 3).

3.2.4 Reactivación de cultivos de *Bacillus* spp.

Las bacterias fueron cultivadas en caldo nutritivo a 30°C, en agitador a 150rpm, durante 24 horas. A continuación, se sembraron mediante la técnica de estría en agar nutritivo, se seleccionaron cinco colonias características y se cultivaron en agar nutritivo, durante 24 horas, constituyendo las bacterias reactivadas o cultivos de trabajo.



Figura 1. *Cultivos de Bacillus spp.*

Autoría propia

4	11	10	5	14	1	12	9	3	15	8	6	13	7	16	2
---	----	----	---	----	---	----	---	---	----	---	---	----	---	----	---

2	11	6	12	3	7	16	4	9	14	5	13	15	1	8	10
---	----	---	----	---	---	----	---	---	----	---	----	----	---	---	----

6	14	4	15	2	12	7	11	13	1	8	10	3	9	5	16
---	----	---	----	---	----	---	----	----	---	---	----	---	---	---	----

T1 : Testigo absoluto

T2 a T16 : *Bacillus* spp.

Figura 2. *Diseño completamente aleatorio para determinar el efecto de 15 cultivos de Bacillus spp. en la altura y longitud de raíces de Solanum lycopersicum L. "tomate".*

Autoría propia

4	3	1	7	5	2	6
---	---	---	---	---	---	---

2	3	6	4	5	7	1
---	---	---	---	---	---	---

7	2	5	6	3	4	1
---	---	---	---	---	---	---

T1 : Testigo absoluto

T2 : Testigo químico

T3 a T7 : *Bacillus* spp.

Figura 3. *Diseño completamente aleatorio para determinar el efecto de cinco cultivos de Bacillus spp. y dos testigos en el desarrollo de Solanum lycopersicum L. "tomate"*

Autoría propia

3.2.5 Primera fase: Cuantificación de nitrógeno fijado, fosfato solubilizado e indoles producidos

Con los cultivos de *Bacillus* spp. se cuantificó el amonio, producto de la fijación de nitrógeno, el fósforo soluble producto de la solubilización de fosfatos y los indoles producidos. Para la obtención del inóculo, las bacterias se cultivaron en 5mL de caldo nutritivo a 30°C, durante 24 horas (Córdova, 2016). Posteriormente, el caldo se centrifugó (3500rpm) durante 5 minutos, el sobrenadante se eliminó, el sedimento se lavó con solución salina esterilizada (NaCl 0,85% p/v) y su concentración se estandarizó a 9×10^8 cel mL⁻¹ por turbidimetría (tubo 3 del nefelómetro de Mc Farland) y con el espectrofotómetro de luz visible (Model Tenso Med NV-203) a 540nm: absorbancia = 0,20, equivalente a 10^8 células mL⁻¹ (Rodríguez, 2013).

a. Cuantificación de nitrógeno fijado *in vitro*

La cuantificación del nitrógeno fijado *in vitro* por las bacterias investigadas se realizó con el método colorimétrico: Técnica de Berthelot o fenol hipoclorito (Cadena y Martinez, 2011). El inóculo (5%:0,15mL) de cada cultivo bacteriano fue sembrado por triplicado en tubos de 15x150mL conteniendo 3mL de caldo extracto de suelo 10% (Anexo 1) y se incubaron a 30°C, por 72 horas, con agitación constante (150rpm). A continuación, se agregaron 9mL de KCl 2M, se agitaron a 150rpm durante 1 hora y se dejaron en reposo 1 hora adicional, para después tomar 10mL de sobrenadante y centrifugarlos (3000rpm) durante 5 minutos.

Los sobrenadantes se vertieron en tubos de dilución y se añadieron 0,4mL de solución alcohólica de fenol al 10%; 0,4mL de nitroprusiato de sodio al 0,5% y 1mL de solución oxidante. Los tubos se agitaron manualmente por 2 minutos y se dejaron en reposo durante 1 hora adicional. La reacción se consideró positiva a la fijación de nitrógeno por la aparición de una coloración azul, leyéndose la absorbancia en espectrofotómetro de luz visible (Model Tenso Med NV-203) a 632,9nm. Las concentraciones de amonio se calcularon con la ecuación de la curva de calibración, obtenida previamente con diluciones sucesivas de una solución de 100ppm de cloruro de amonio (Anexo 1).

b. Cuantificación de fosfato solubilizado *in vitro*

La cuantificación de fosfato solubilizado *in vitro* por las bacterias investigadas se realizó con el método colorimétrico: Técnica del molibdato (Alvarado y Valderrama, 2014). El inóculo (5%: 0,25mL) de cada cultivo bacteriano se sembró por triplicado en 5mL de caldo National Botanical Research Institute's phosphate, NBRIP (Anexo 2) y se incubaron a 30°C, con agitación (150rpm), por 96 horas. Después, los caldos fueron centrifugados a 3000rpm por 5 minutos y en el sobrenadante se cuantificó el fósforo soluble (Rodier y Rodi, 2005), considerándose una coloración azul positiva a la solubilización del fosfato. La absorbancia se leyó en espectrofotómetro de luz visible (Model Tenso Med NV-203) a 690nm y las concentraciones de fósforo soluble se calcularon con la ecuación de la curva de calibración, obtenida previamente con diluciones sucesivas de una solución de 10ppm de fósforo (Anexo 2).

c. Cuantificación de indoles producidos *in vitro*

La cuantificación de indoles producidos *in vitro* se realizó según el método colorimétrico: Técnica de Salkowski (García y Muñoz, 2010). El inóculo (5%:0,25mL) de cada cultivo bacteriano fue sembrado por triplicado en 5mL de caldo tripticasa soya suplementado con triptófano (Anexo 3). Después de la incubación a 30°C, por 72 horas, en agitación constante (150rpm), los cultivos se centrifugaron a 3000rpm, durante 5 minutos. A continuación, 0,4mL de cada sobrenadante se depositaron en tubos, se agregaron 1,6mL de reactivo de Salkowski modificado, se mezclaron y se dejaron en reposo durante 30 minutos en oscuridad. La reacción se consideró positiva a la producción de indoles por la aparición de una coloración grosella, leyéndose la absorbancia en espectrofotómetro de luz visible (Model Tenso Med NV-203) a 530nm. Las concentraciones de indoles se calcularon con la ecuación de la curva de calibración obtenida previamente con diluciones sucesivas de una solución de 100ppm de ácido indolacético (Anexo 3).

3.2.6 Segunda fase: Efecto de *Bacillus* spp. en el desarrollo de *Solanum lycopersicum* L.

El efecto de *Bacillus* spp. en el cultivo de tomate se determinó en dos ensayos, ambos bajo condiciones de invernadero.

a. Primer ensayo

En el primer ensayo se comparó el efecto de 15 cultivos de *Bacillus* spp. en el desarrollo vegetativo de plantas de tomate, durante 60 días, seleccionándose para el siguiente ensayo, los cinco cultivos bacterianos con los que se alcanzaron los mayores valores en los parámetros investigados (Cancino, 2017).

El suelo experimental estuvo constituido por 144kg de una mezcla de suelo agrícola, arena de río y humus en la proporción 2:1:1, que fue distribuido en macetas de arcilla de 3,5kg, a razón de 3kg por maceta (Figura 4). El análisis físico-químico del suelo se realizó en el Instituto Nacional de Investigación y Extensión Agrícola, Estación Experimental Vista Florida de Chiclayo (Tabla 1), determinándose, una textura franco-arenosa, pH ligeramente alcalino (7,2), moderada salinidad (7,9 dSm⁻¹), contenido medio de materia orgánica (2,55%) y contenido alto de fósforo disponible (20,4ppm) y potasio (278ppm).

El cultivo de tomate y la inoculación de *Bacillus* spp. se realizó entre el 7 de marzo al 5 de mayo de 2017, registrándose la temperatura máxima (31°C), mínima (24°C) y media (26°C), valores obtenidos por la Estación Meteorológica de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, ubicado en el fundo “El Cienago” de Lambayeque (Anexo 4).

En el ensayo se sembraron semillas de tomate cv Río Grande que se comercializan luego de ser tratadas con el fungicida Tiofanate metil-Tiram (Homai W.P) en la dosis de 2gkg⁻¹ de semillas. El cultivar precoz de tomate Río Grande fue obtenido por la compañía californiana Petoseed. Las plantas son de crecimiento determinado, con resistencia a *Verticillium*, *Fusarium* y *Alternaria alternata*, 78 días para la madurez fisiológica y 105-140 días (128 días) para el inicio de la cosecha, con un promedio de 4 a 5kg de frutos ovalados por planta, un peso de 150 a 180g por fruto y un rendimiento de hasta 30tha⁻¹. El consumo de los frutos es para el mercado y para la industria, siendo preferidos por su resistencia al transporte y almacenamiento de hasta 10 días (Soplopucó y Navarro, 2005).



Figura 4. Suelo experimental distribuido en macetas de arcilla.

Autoría propia

Tabla 1.

Análisis físico-químico de suelo agrícola experimental, 2017

Clase		CE	MO	N	P	K
textual	pH	(dSm ⁻¹)	(%)	(%)	(ppm)	(ppm)
Franco-arenosa	7,2	7,9	2,55	0,103	20,4	278

Autoría propia

El porcentaje de germinación de las semillas de tomate se determinó en cinco placas de Petri, en cuyo fondo se colocó papel filtro, humedecido con agua destilada esterilizada y con ayuda de pinzas esterilizadas se depositaron 20 semillas de tomate por placa. Las placas de Petri se taparon y se incubaron a una temperatura de 30°C, humedeciéndolas diariamente hasta observar el máximo de germinación (Figura 5).

El inóculo fue obtenido con las bacterias cultivadas en caldo nutritivo, a 30°C, durante 24 horas y después de la centrifugación se obtuvieron 5mL de cada cultivo bacteriano en solución salina esterilizada, NaCl 0,85% p/v, cuya concentración se estandarizó a $9 \times 10^8 \text{ cel mL}^{-1}$ por turbidimetría (tubo 3 del nefelómetro de Mc Farland).

Las semillas de tomate (12) se depositaron en 16 bolsas de polietileno transparentes de 2,5x8,0cm y sobre ellas se depositó 0,1mL del inóculo correspondiente por bolsa, equivalente a 173 mL Kg^{-1} de semilla (Figura 6). Se incluyó un testigo al que se le aplicó agua destilada. El contenido de las bolsas se homogenizó para que las bacterias se distribuyan uniformemente en las semillas y después las bolsas se llevaron hacia la estufa a 30°C, durante 30 minutos, para disminuir el exceso de humedad (Delgado y Suyón, 2017). A continuación, las semillas se sembraron en el suelo experimental, a razón de tres semillas por maceta a una profundidad de 2cm. A los 15 días de la siembra se eliminó la plántula menos vigorosa y se realizaron los riegos correspondientes, con agua declorada (24 horas), según los requerimientos de las plantas.

Transcurridos 15, 30, 45 y 60 días después de la siembra se midió la altura de las plantas (Figura 7), considerándose desde la base del tallo hasta el ápice vegetativo del tallo principal (Carreño, 2009). A los 60 días se midió la longitud de la raíz. Con los valores de la altura y longitud de raíces, se calcularon los índices de efectividad de la inoculación (IEI) en porcentaje (Carreño, 2009).

$$\text{IEI (\%)} = \frac{\text{Tratamiento con inoculación} - \text{Control sin inoculación}}{\text{Control sin inoculación}} \times 100$$



Figura 5. Semillas de *Solanum lycopersicum* L. germinadas.

Autoría propia



Figura 6. Semillas de *Solanum lycopersicum* L. inoculadas con *Bacillus* spp.

Autoría propia



Figura 7. Medición de altura de planta de *Solanum lycopersicum* L.

Autoría propia

b. Segundo ensayo

En el segundo ensayo se comparó el efecto de cinco cultivos de *Bacillus* spp. en el desarrollo vegetativo y reproductivo de plantas de tomate, en condiciones de invernadero. Las bacterias se aplicaron en inoculación doble: en las semillas, antes de la siembra y en las raíces al momento del trasplante (Cancino, 2017).

El suelo experimental estuvo constituido por 8,925kg de una mezcla de arena de río y humus (1:1) distribuido en 22 vasos de tecnopor de 16 onzas de capacidad, a razón de 425g por vaso (Figura 8), para la siembra de las semillas y 84kg de una mezcla de suelo agrícola, arena de río y humus (2:1:1), distribuido en 21 macetas de 5kg de capacidad, a razón de 4kg por maceta. El cultivo de tomate y la inoculación de las bacterias se realizó entre 12 de mayo al 18 de octubre de 2017, registrándose la temperatura máxima (26°C), mínima (17°C) y media (21°C), valores obtenidos por la Estación Meteorológica de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, ubicado en el fundo “El Cienago” de Lambayeque (Anexo 4).

El inóculo bacteriano y su aplicación en las semillas de tomate se realizó de manera similar a lo explicado en el ítem 3.2.6 a. Las semillas previamente inoculadas se sembraron en los vasos de tecnopor con el suelo experimental a razón de cinco semillas por vaso (Figura 8), realizándose los riegos correspondientes con agua declorada (24 horas) según los requerimientos de las plantas. A los 7 días se determinó el porcentaje de emergencia y a los 15 y 30 días se midió la altura de las plántulas (Figura 9).

A los 30 días, en cada tratamiento se seleccionaron las dos plántulas con la mayor altura, cuidadosamente se extrajeron, se retiró el suelo radicular y las raíces se sumergieron (Figura 10) en un depósito conteniendo 300mL del inóculo bacteriano previamente obtenido y estandarizado a una concentración de 9×10^8 cel mL⁻¹. Después de 10 minutos las plántulas se trasplantaron en las macetas conteniendo al suelo experimental. En el testigo absoluto, las raíces se sumergieron en agua declorada y en el testigo químico se aplicó fertilizante químico 180N:100P:120K.

El nitrógeno se aplicó como urea (46%N), el fósforo como fosfato diamónico (18%N, 46%P) y el potasio como sulfato de potasio (50%K), correspondiendo 0,7g de urea; 0,8g de fosfato diamónico y 0,8g sulfato de potasio por maceta (Anexo 5).

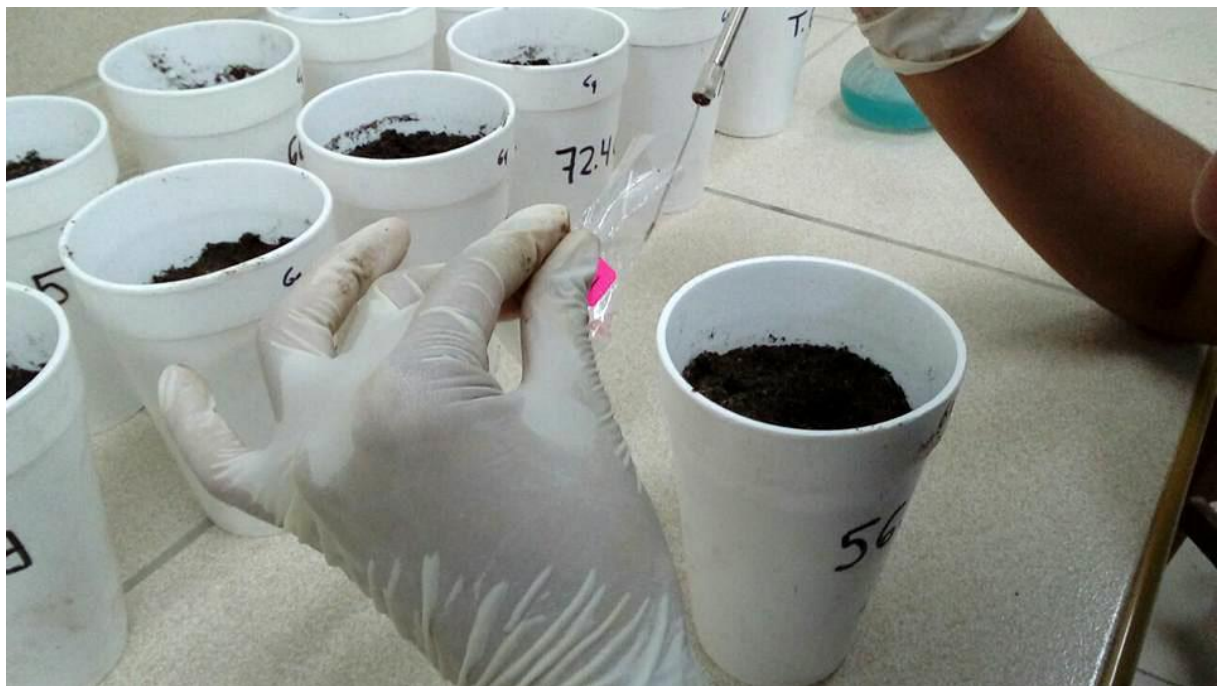


Figura 8. *Inoculación de semillas de Solanum lycopersicum L. en suelo experimental contenido en vasos de tecnopor.*

Autoría propia



Figura 9. *Plántulas de Solanum lycopersicum L. cultivadas durante 10 días en condiciones de invernadero.*

Autoría propia



Figura 10. *Inmersión de raíces de Solanum lycopersicum L. en inóculo de Bacillus sp.*

Autoría propia

La aplicación de nitrógeno en forma de urea (46%N), en la dosis de 391kg ha^{-1} , se realizó fraccionada, 1/3 después de 15 días del trasplante y los 2/3 restantes 15 días después. El fósforo y el potasio se aplicaron junto con la primera dosis de nitrógeno, al momento del trasplante. Cada 15 días después del trasplante hasta los 60 días (90 días después de la siembra) se midió la altura de las plantas. Asimismo, se registró el número de días transcurridos desde la siembra hasta la aparición de por lo menos una flor y un fruto en el 50% de las plantas de cada tratamiento.

Durante el cultivo se controló *Tuta absoluta* “polilla de tomate” y *Prodidiplosis longifila* “caracha” con cinco aplicaciones de Tracer 120 SC (*Bacillus thuringiensis*) a la dosis de 120g L^{-1} y Regent SC (fipronil) a la dosis de 210,5g L^{-1} , con intervalos de 7 a 15 días.

3.2.7 Análisis estadístico de los datos

Para el diseño experimental aleatorio, el modelo aditivo lineal fue:

$$Y_{ij} = u + t_i + E_{ij}$$

Dónde:

Y_{ij} = observación del i-ésimo tratamiento, J-ésima repetición

u = media general de la variable respuesta.

t_i = efecto I-ésimo tratamiento, siendo $i = 1, 2, 3, \dots, 16$ (Primer ensayo)

t_i = efecto I-ésimo tratamiento, siendo $i = 1, 2, 3, \dots, 7$ (Segundo ensayo)

E_{ij} = error experimental en el i-ésimo tratamiento, j-ésima repetición

$H_0 = u_1 = u_2 = u_3, \dots = u_{16}$ (Primer ensayo)

$H_0 = u_1 = u_2 = u_3, \dots = u_7$ (Segundo ensayo)

H_a = Al menos una media es diferente

Con los valores de los parámetros del desarrollo vegetativo y reproductivo de las plantas se realizaron las pruebas de normalidad y homogeneidad de varianza y según los resultados se llevaron a cabo análisis

paramétricos y no paramétricos (Hernández et al., 2014). En el presente trabajo se utilizó el software estadístico SPSS versión 15,0 así como los programas de Microsoft Word, Excel versión 2013 y Minitab 15.

IV. RESULTADOS

4.1 Nitrógeno fijado, fosfato solubilizado e indoles producidos

Las bacterias investigadas fijaron nitrógeno, solubilizaron fosfato y produjeron indoles *in vitro*, cuantificándose 1,91 a 26,38ppm de amonio; 0,35 a 8,31ppm de fósforo soluble y 2,68 a 23,57ppm de indoles (Tabla 2).

4.2 Efecto comparativo de 15 cultivos de *Bacillus* spp. en el desarrollo vegetativo de *Solanum lycopersicum* L.

El 100% (15) de cultivos de *Bacillus* spp. incrementaron la altura de las plantas de tomate, a los 15 días después de la siembra (Figuras 11 a 14), alcanzándose índices de efectividad (Tabla 3) de 4,85% (*Bacillus* sp.12.4) a 47,27% (*Bacillus* sp.77.5). La prueba F del análisis de varianza demostró alta significancia (Anexo 6) y según la prueba de comparaciones múltiples de Tukey los mayores valores se alcanzaron con; *Bacillus* spp.77.5, 55.5 y 72.4, no diferenciándose significativamente entre ellos, pero sí de los demás tratamientos (Tabla 4).

El 100% (15) de cultivos de *Bacillus* spp. incrementaron la altura de las plantas de tomate, a los 30 días después de la siembra (Figuras 15 a 17), alcanzándose índices de efectividad (Tabla 3) de 1,51% (*Bacillus* sp.81.1) a 58,29% (*Bacillus* sp.77.5). La prueba F del análisis de varianza demostró alta significancia (Anexo 7) y según la prueba de comparaciones múltiples de Tukey el mayor valor se alcanzó con *Bacillus* sp.77.5, diferenciándose significativamente de los demás tratamientos (Tabla 4).

Tabla 2.

Nitrógeno fijado como amonio, fósforo soluble e indoles producidos por Bacillus spp.

<i>Bacillus spp.</i>	Amonio (ppm)	Fósforo soluble (ppm)	Indoles (ppm)
<i>Bacillus</i> sp.78.5	18,40	1,62	0,00
<i>Bacillus</i> sp.70.1	26,38	2,00	0,00
<i>Bacillus</i> sp.2.1	20,04	0,70	3,35
<i>Bacillus</i> sp.52.3	18,92	2,13	0,00
<i>Bacillus</i> sp.72.4	20,74	0,35	2,68
<i>Bacillus</i> sp.77.5	5,57	8,31	2,91
<i>Bacillus</i> sp.55.5	4,38	7,85	4,02
<i>Bacillus</i> sp.56.3	5,61	7,97	5,80
<i>Bacillus</i> sp.45.6	5,92	8,30	4,91
<i>Bacillus</i> sp.66.5	1,91	7,79	0,00
<i>Bacillus</i> sp.11.4	3,53	2,84	12,68
<i>Bacillus</i> sp.85.7	15,99	5,44	11,80
<i>Bacillus</i> sp.94.1	9,85	0,00	23,57
<i>Bacillus</i> sp.12.4	9,34	0,58	0,00
<i>Bacillus</i> sp.81.1	3,29	3,34	20,46

Autoría propia



Figura 11. *Plantas de Solanum lycopersicum L. 15 días después de la inoculación de Bacillus spp.*

Autoría propia



Figura 12. *Altura de plantas de Solanum lycopersicum L., 15 días después de la inoculación de Bacillus sp.56.3.*

Autoría propia



Figura 13. *Altura de plantas de Solanum lycopersicum L., 15 días después de la inoculación de Bacillus sp.77.5.*

Autoría propia

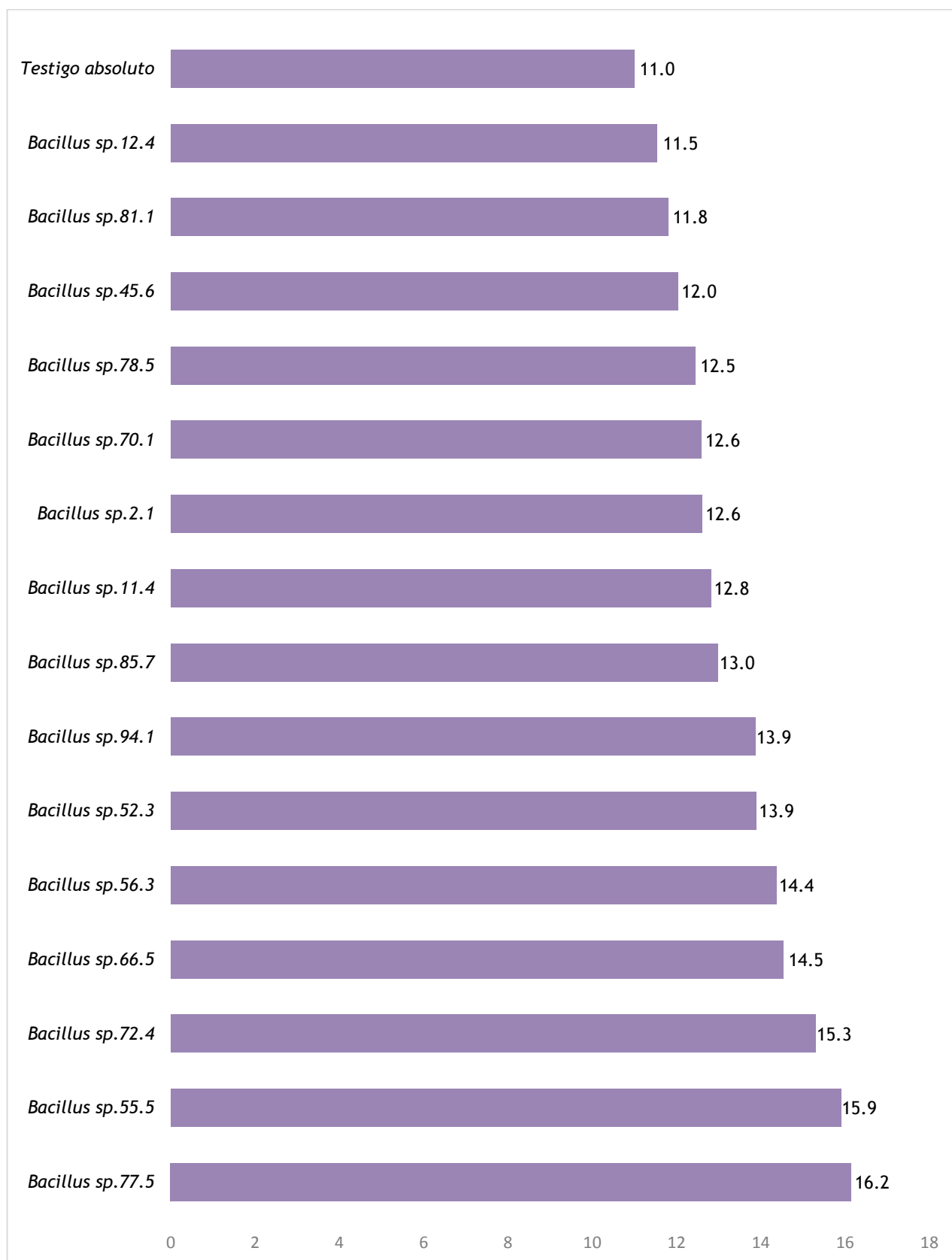


Figura 14. *Altura (cm) de Solanum lycopersicum L., 15 días después de la inoculación de Bacillus spp., 2017.*

Autoría propia

Tabla 3.

Índices de efectividad en la altura de plantas de Solanum lycopersicum L., 15, 30, 45 y 60 después de la inoculación de Bacillus spp.

Tratamientos	IE(%)*			
	15 días	30 días	45 días	60 días
<i>Bacillus</i> sp.78.5	13,63	13,56	20,53	0,44
<i>Bacillus</i> sp.70.1	14,54	14,08	22,52	9,73
<i>Bacillus</i> sp.2.1	14,54	14,08	17,22	12,16
<i>Bacillus</i> sp.52.3	26,36	12,06	24,83	15,26
<i>Bacillus</i> sp.72.4	39,09	57,28	61,00	46,68
<i>Bacillus</i> sp.77.5	47,27	58,29	65,23	32,96
<i>Bacillus</i> sp.55.5	44,54	53,77	54,96	40,26
<i>Bacillus</i> sp.56.3	30,90	52,26	60,59	29,42
<i>Bacillus</i> sp.45.6	9,09	20,60	25,49	17,70
<i>Bacillus</i> sp.66.5	31,81	52,76	57,28	24,33
<i>Bacillus</i> sp.11.4	16,36	21,10	26,15	19,46
<i>Bacillus</i> sp.85.7	18,20	45,22	30,79	14,60
<i>Bacillus</i> sp.94.1	26,36	44,22	27,48	21,23
<i>Bacillus</i> sp.12.4	4,85	3,02	28,14	15,26
<i>Bacillus</i> sp.81.1	7,27	1,51	38,07	23,89

*Promedio de tres repeticiones

Autoría propia

Tabla 4.

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de la altura de plantas de Solanum lycopersicum L., 15, 30, 45 y 60 días después de la inoculación de Bacillus spp.

Tratamientos	Altura (cm)*							
	15días	Sign.	30días	Sign.	45días	Sign.	60días	Sign.
Testigo absoluto	11,0	h	19,9	g	30,2	k	45,2	k
<i>Bacillus</i> sp.78.5	12,5	e f g	22,6	f	36,4	i	45,0	k
<i>Bacillus</i> sp.70.1	12,6	e f g	22,7	f	37,0	h i	49,6	j
<i>Bacillus</i> sp.2.1	12,6	e f g	22,7	f	35,4	j	50,7	i
<i>Bacillus</i> sp.52.3	13,9	c d	22,3	f	37,7	g h	52,1	h
<i>Bacillus</i> sp.72.4	15,3	a b	31,3	a b	48,6	b	66,3	a
<i>Bacillus</i> sp.77.5	16,2	a	31,5	a	49,9	a	60,1	c
<i>Bacillus</i> sp.55.5	15,9	a	30,6	a b c	46,8	c	63,4	b
<i>Bacillus</i> sp.56.3	14,4	b c	30,3	c	48,5	b	58,5	d
<i>Bacillus</i> sp.45.6	12,0	e f g h	24,0	e	37,9	f g	53,2	g
<i>Bacillus</i> sp.66.5	14,5	b c	30,4	b c	47,5	c	56,2	e
<i>Bacillus</i> sp.11.4	12,8	d e f	24,1	e	38,1	f g	54,0	g
<i>Bacillus</i> sp.85.7	13,0	d e	28,9	d	39,5	e	51,8	h
<i>Bacillus</i> sp.94.1	13,9	c d	28,7	d	38,5	e f g	54,8	f
<i>Bacillus</i> sp.12.4	11,5	g h	20,5	g	38,7	e f	52,1	h
<i>Bacillus</i> sp.81.1	11,8	f g h	20,2	g	41,7	d	56,0	e

*Promedio de tres repeticiones

Autoría propia



Figura 15. *Altura de plantas de Solanum lycopersicum L., 30 días después de la inoculación de Bacillus sp.11.4.*

Autoría propia



Figura 16. *Altura de plantas de Solanum lycopersicum L., 30 días después de la inoculación de Bacillus sp.77.5.*

Autoría propia

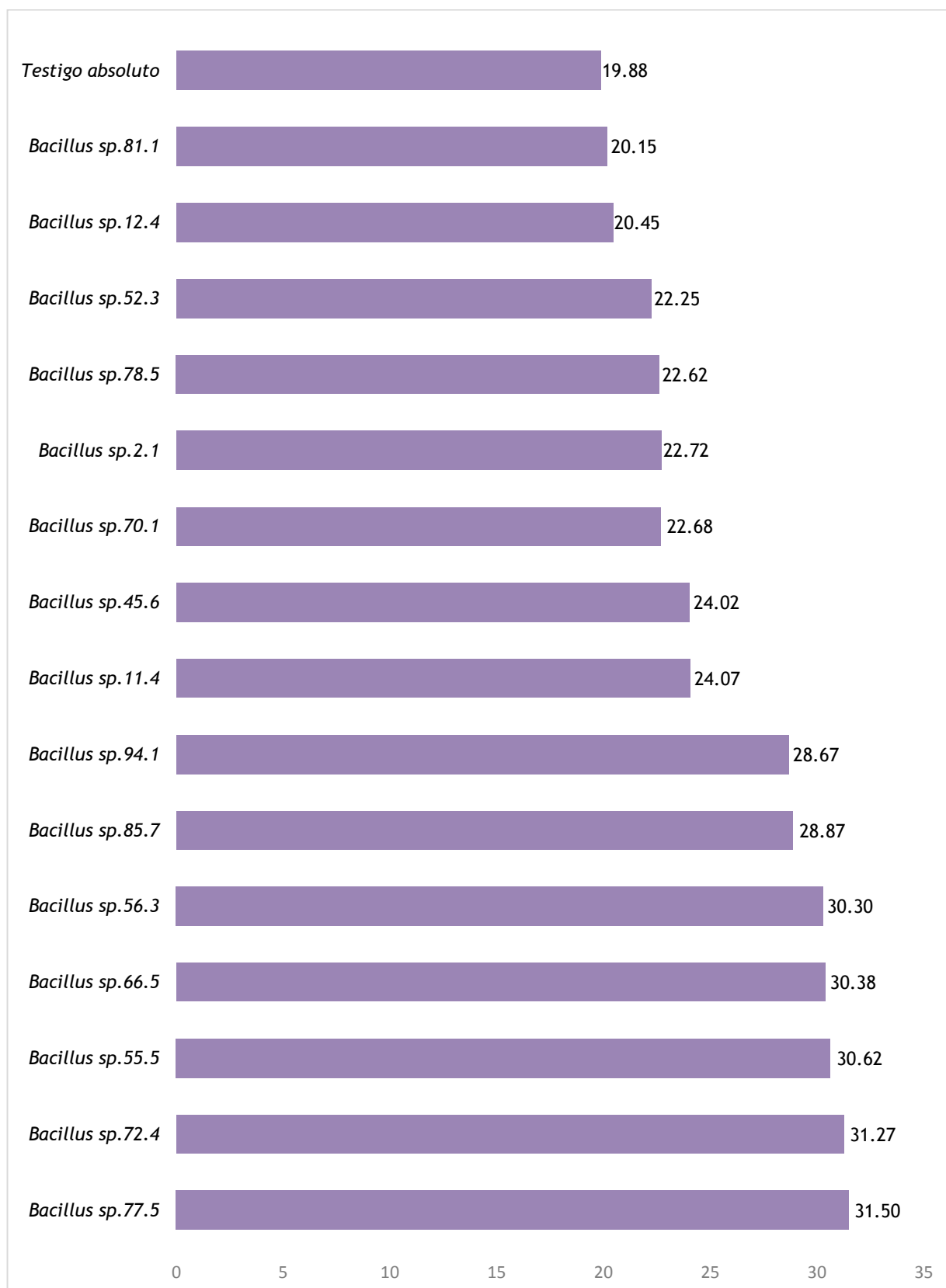


Figura 17. Altura (cm) de *Solanum lycopersicum* L. ,30 días después de la inoculación de *Bacillus* spp., 2017.

Autoría propia

El 100% (15) de cultivos de *Bacillus* spp. incrementaron la altura de las plantas de tomate, a los 45 días después de la siembra (Figuras 18 a 20), alcanzándose índices de efectividad (Tabla 3) de 17,22% (*Bacillus* sp.2.1) a 65,23% (*Bacillus* sp.77.5). La prueba F del análisis de varianza demostró alta significancia (Anexo 8) y según la prueba de comparaciones múltiples de Tukey el mayor valor se alcanzó con *Bacillus* sp.77.5, diferenciándose significativamente de los demás tratamientos (Tabla 4).

El 100% (15) de cultivos de *Bacillus* spp. incrementaron la altura de las plantas de tomate, a los 60 días después de la siembra (Figuras 21 a 24), alcanzándose índices de efectividad (Tabla 3) de 0,44% (*Bacillus* sp.78.5) a 46,68% (*Bacillus* sp.72.4). La prueba F del análisis de varianza demostró alta significancia (Anexo 9) y según la prueba de comparaciones múltiples de Tukey el mayor valor se alcanzó con *Bacillus* sp.72.4, diferenciándose significativamente de los demás tratamientos (Tabla 4).

El 79% (12) de cultivos de *Bacillus* spp. incrementaron la longitud de la raíz de las plantas de tomate, a los 60 días después de la siembra (Figuras 25 y 26), alcanzándose índices de efectividad (Tabla 5) de 2,01% (*Bacillus* sp.11.4) a 65,83% (*Bacillus* sp.85.7). La prueba F del análisis de varianza demostró alta significancia (Anexo 10) y según la prueba de comparaciones múltiples de Tukey el mayor valor se alcanzó con, *Bacillus* spp.85.7 y 72.4, no diferenciándose significativamente entre ellos, pero si de los demás tratamientos (Tabla 5).

4.3 Cultivos de *Bacillus* spp. seleccionados

Los cultivos de *Bacillus* spp. seleccionados (Tabla 6), fueron los que alcanzaron los mayores índices de efectividad en la altura (*Bacillus megaterium* 72.4, *Bacillus circulans* spp.77.5 y 55.5) y en la longitud de las raíces de tomate (*Bacillus subtilis* spp.66.5 y 56.3).



Figura 18. Altura de plantas de *Solanum lycopersicum* L., 45 días después de la inoculación de *Bacillus* sp.81.1.

Autoría propia



Figura 19. Altura de plantas de *Solanum lycopersicum* L., 45 días después de la inoculación de *Bacillus* sp.77.5.

Autoría propia

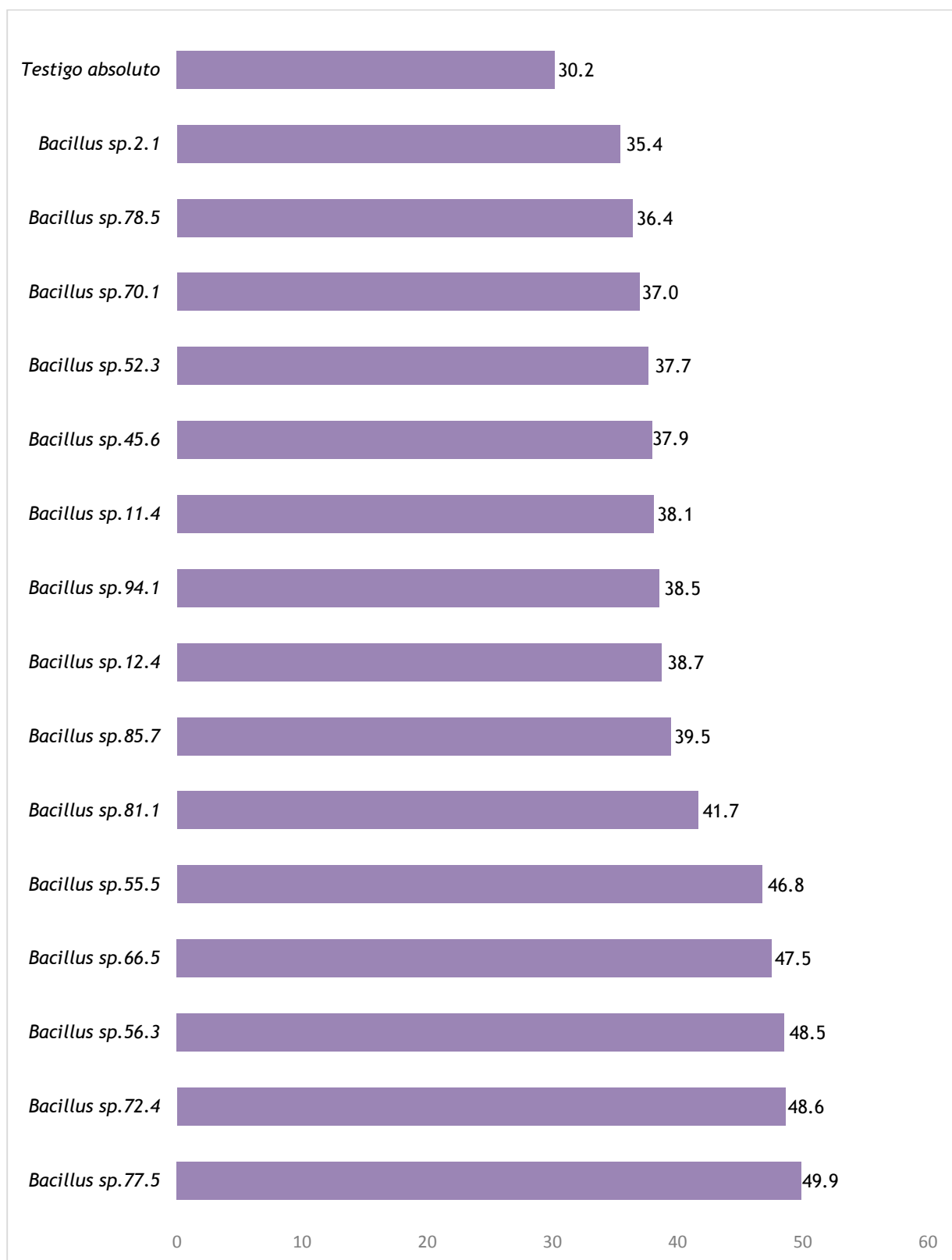


Figura 20. *Altura (cm) de Solanum lycopersicum L., 45 días después de la inoculación de Bacillus spp., 2017.*

Autoría propia



Figura 21. *Altura de plantas de Solanum lycopersicum L., 60 días después de la inoculación de Bacillus sp.52.3.*

Autoría propia



Figura 22. *Altura de plantas de Solanum lycopersicum L., 60 días después de la inoculación de Bacillus sp.72.4.*

Autoría propia



Figura 23. Plantas de *Solanum lycopersicum* L., 60 días después de la inoculación de *Bacillus* spp., (a) *Bacillus* sp.56.3, (b) *Bacillus* sp.94.1, (c) *Bacillus* sp. 81.1.

Autoría propia

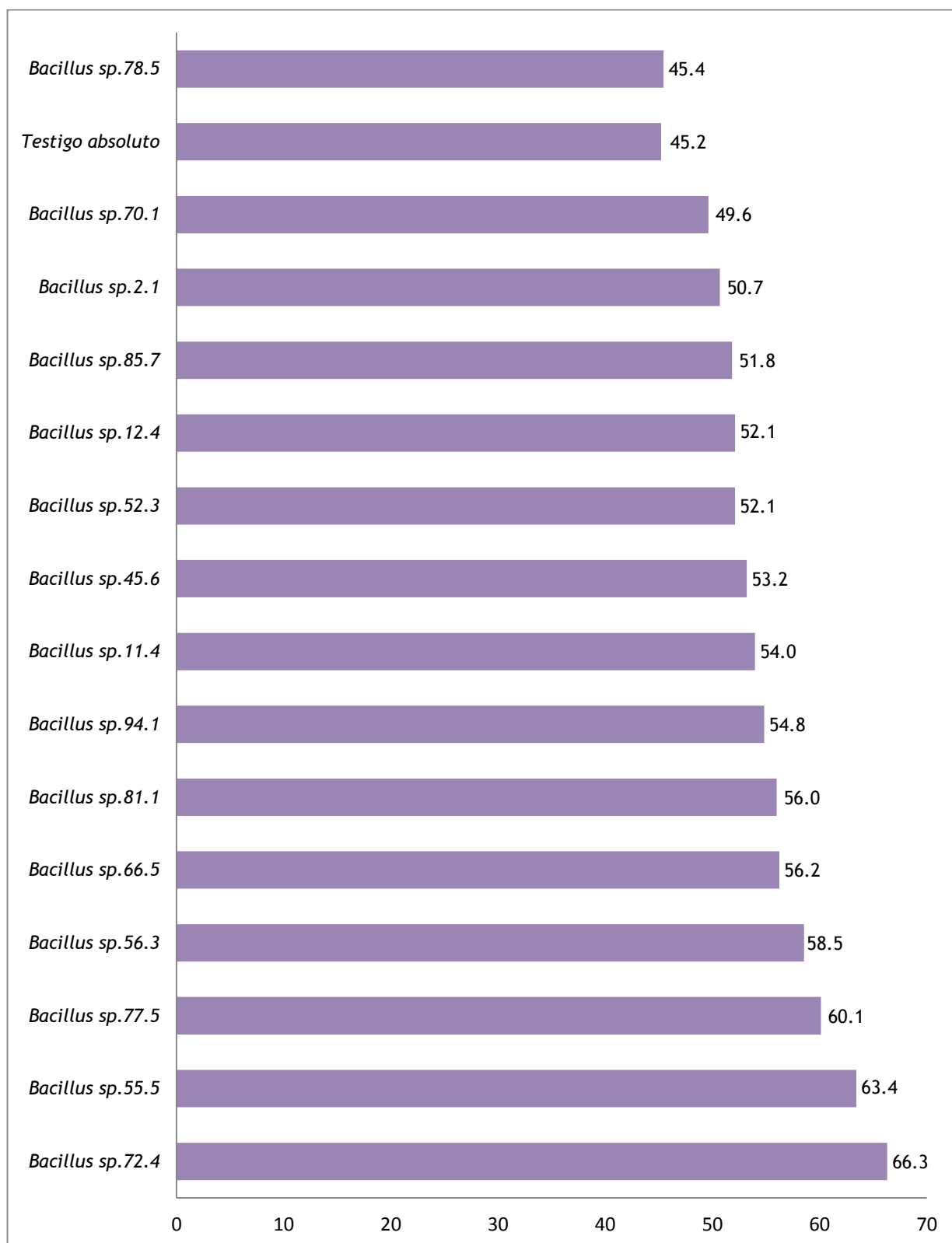


Figura 24. Altura (cm) de *Solanum lycopersicum* L., 60 días después de la inoculación de *Bacillus* spp., 2017.

Autoría propia



Figura 25. Plantas de *Solanum lycopersicum* L., 60 días después de la inoculación de *Bacillus* spp., *Bacillus* sp.72.4, (b) *Bacillus* sp.45.6, (c) *Bacillus* sp.12.4.

Autoría propia

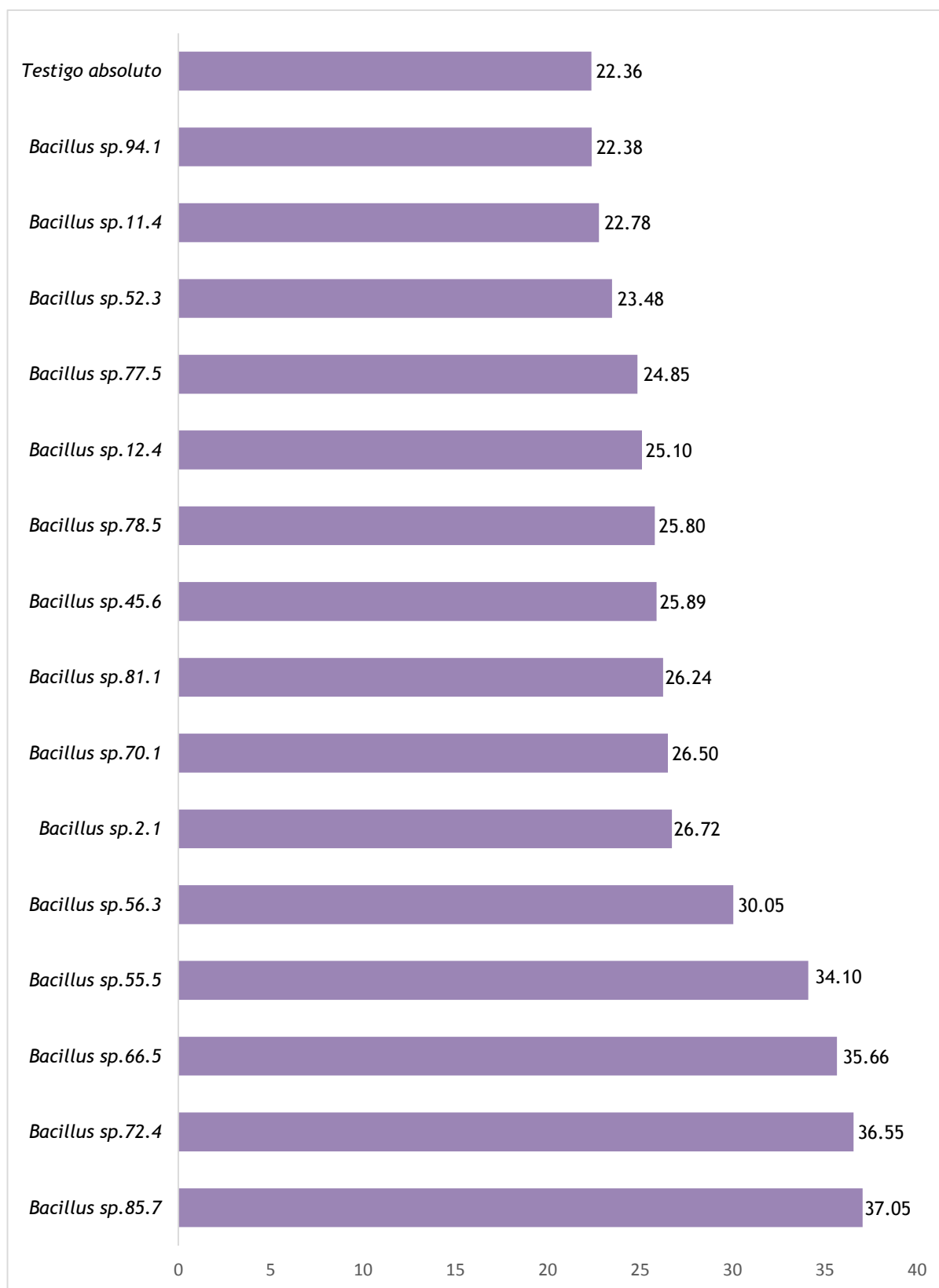


Figura 26. Longitud (cm) de raíces de *Solanum lycopersicum* L., 60 días después de la inoculación de *Bacillus* spp., 2017.

Autoría propia

Tabla 5.

Índices de efectividad (%) y prueba de comparaciones múltiples de Tukey de la longitud de raíces de Solanum lycopersicum L., 60 días después de la inoculación de Bacillus spp.

Tratamientos	Longitud (cm)*	IE (%)*	Sign. ($\alpha=0,05$)
Testigo absoluto	22,36	-	h
<i>Bacillus</i> sp.78.5	25,80	15,38	e f g
<i>Bacillus</i> sp.70.1	26,50	18,51	e
<i>Bacillus</i> sp.2.1	26,72	19,50	e
<i>Bacillus</i> sp.52.3	23,48	5,00	h
<i>Bacillus</i> sp.72.4	36,55	63,46	a b
<i>Bacillus</i> sp.77.5	24,85	11,27	g
<i>Bacillus</i> sp.55.5	34,10	52,50	c
<i>Bacillus</i> sp.56.3	30,05	34,39	d
<i>Bacillus</i> sp.45.6	25,89	15,78	e f g
<i>Bacillus</i> sp.66.5	35,66	59,48	b
<i>Bacillus</i> sp.11.4	22,78	2,01	h
<i>Bacillus</i> sp.85.7	37,05	65,83	a
<i>Bacillus</i> sp.94.1	22,38	-	h
<i>Bacillus</i> sp.12.4	25,10	12,25	f g
<i>Bacillus</i> sp.81.1	26,24	17,35	e f

*Promedio de tres repeticiones

Autoría propia

Tabla 6.

Índices de efectividad (%) en la altura de planta y longitud de raíces de Solanum lycopersicum L. por Bacillus spp. seleccionadas

Tratamientos	IE (%)*				
	Altura de planta/días				Longitud de raíces/días
	15	30	45	60	60
<i>Bacillus circulans</i> 55.5	44,54	53,77	54,96	40,26	52,50
<i>Bacillus subtilis</i> 56.3	30,90	52,26	60,59	29,42	34,39
<i>Bacillus subtilis</i> 66.5	31,81	52,76	57,28	24,33	59,48
<i>Bacillus megaterium</i> 72.4	39,09	57,28	61,00	46,68	63,46
<i>Bacillus circulans</i> 77.5	47,27	58,29	65,28	32,96	11,27

*Promedio de tres repeticiones

Autoría propia

4.4 Efecto de *Bacillus* spp. seleccionados en el desarrollo vegetativo y reproductivo de *Solanum lycopersicum* L.

El 70% (3) de cultivos de *Bacillus* spp. incrementaron la emergencia de las plántulas de tomate, a los 7 días después de la siembra (Figuras 27, 28), alcanzándose índices de efectividad (Tabla 7) de 14,28% (*B. subtilis* 56.3) a 42,86% (*Bacillus megaterium* 72.4, *Bacillus circulans* 77.5).

El 80% (4) de cultivos de *Bacillus* spp. incrementaron la altura de las plantas de tomate, a los 15 días después de la siembra (Figuras 29, 30), alcanzándose índices de efectividad (Tabla 8) de 2,35% (*B. subtilis* 66.5) a 21,64% (*B. megaterium* 72.4). La prueba F del análisis de varianza demostró alta significancia (Anexo 11) y según la prueba de comparaciones múltiples de Tukey los mayores valores se alcanzaron con *B. circulans* 55.5 y *B. megaterium* 72.4, no diferenciándose significativamente entre ellos, pero si de los demás tratamientos (Tabla 8).

El 100% (5) de cultivos de *Bacillus* spp. incrementaron la altura de las plantas de tomate, a los 30 días después de la siembra (Figuras 31, 32), alcanzándose índices de efectividad (Tabla 8) de 22,47% (*Bacillus subtilis* 66.5) a 52,79% (*B. megaterium* 72.4). La prueba F del análisis de varianza demostró alta significancia (Anexo 12) y según la prueba de comparaciones múltiples de Tukey el mayor valor se alcanzó con *B. megaterium* 72.4 y *B. circulans* 55.5, no diferenciándose significativamente entre ellos, pero si de los demás tratamientos (Tabla 8).

El 100% (5) de cultivos de *Bacillus* spp. incrementaron la altura de las plantas de tomate, a los 45 días después de la siembra (Figuras 33 a 35), alcanzándose índices de efectividad (Tabla 9) de 16,03% (*B. subtilis* 66.5) a 29,92% (*B. megaterium* 72.4). La prueba F del análisis de varianza demostró alta significancia (Anexo 13) y según la prueba de comparaciones múltiples de Tukey los mayores valores se alcanzaron con *B. circulans* 55.5 y *B. megaterium* 72.4, no diferenciándose significativamente entre ellos, pero si de los demás tratamientos (Tabla 10).



Figura 27. *Emergencia de Solanum lycopersicum L.*, 7 días después de la inoculación de *Bacillus spp.* seleccionadas, 2017.

Autoría propia

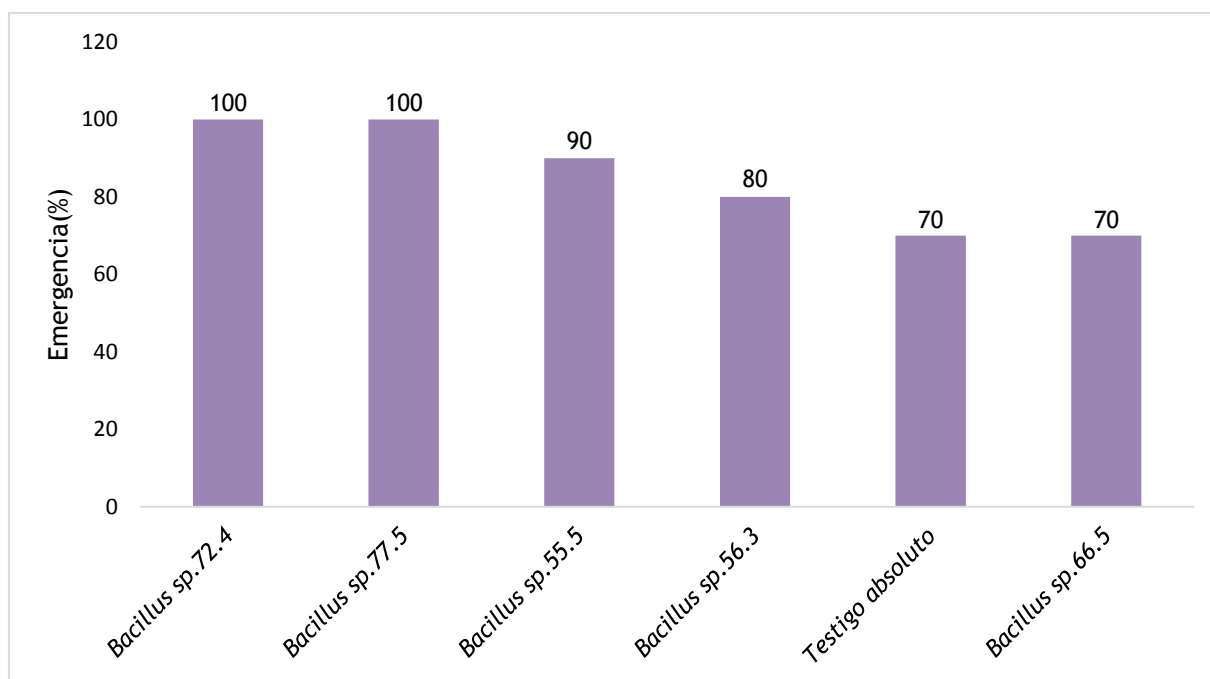


Figura 28. Emergencia de *Solanum lycopersicum* L., 7 días después de la inoculación de *Bacillus* spp. seleccionadas, 2017.

Autoría propia

Tabla 7.

Índices de efectividad (%) en la emergencia y altura de plantas de *Solanum lycopersicum* L. por *Bacillus* spp. seleccionadas

Tratamientos	IE(%)*		
	Emergencia	Altura (15 días)	Altura (30 días)
<i>Bacillus circulans</i> 55.5	28,57	20,14	36,49
<i>Bacillus subtilis</i> 56.3	14,28	7,55	25,31
<i>Bacillus subtilis</i> 66.5	-	2,35	22,47
<i>Bacillus megaterium</i> 72.4	42,86	21,64	52,79
<i>Bacillus circulans</i> 77.5	42,86	6,12	25,88

*Promedio de tres repeticiones

Autoría propia



Figura 29. *Altura de plantas de Solanum lycopersicum L., 15 días después de la inoculación de Bacillus spp. seleccionadas, 2017.*

Autoría propia

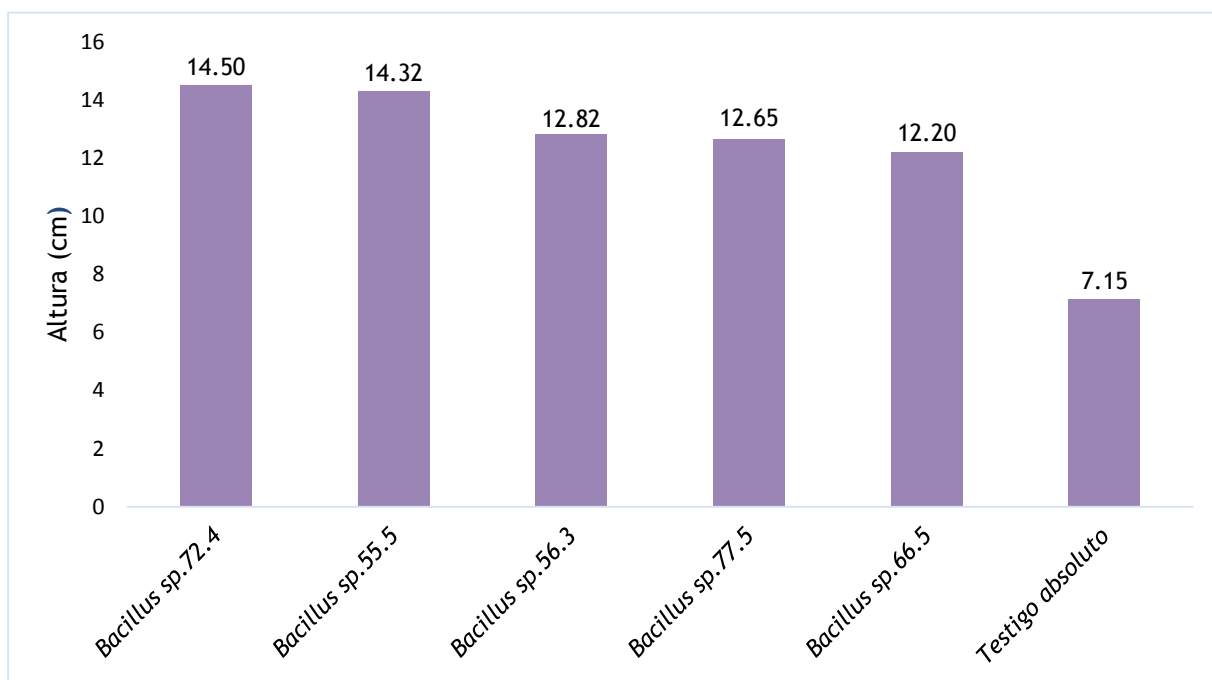


Figura 30. Altura (cm) de plantas de *Solanum lycopersicum* L., 15 días después de la inoculación de *Bacillus* spp. seleccionadas, 2017.

Autoría propia

Tabla 8.

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de la altura de plantas de *Solanum lycopersicum* L., 15 y 30 días después de la inoculación de *Bacillus* spp. seleccionadas

Tratamientos	Altura (cm)*			
	15 días	Sign.	30 días	Sign.
Testigo absoluto	11,92	c	17,62	d
<i>Bacillus circulans</i> 55.5	14,32	a	24,05	a b
<i>Bacillus subtilis</i> 56.3	12,82	b	22,08	b c
<i>Bacillus subtilis</i> 66.5	12,20	b c	21,58	b c
<i>Bacillus megaterium</i> 72.4	14,50	a	26,92	a
<i>Bacillus circulans</i> 77.5	12,65	b	22,18	b c

* Promedio de tres repeticiones

Autoría propia



Figura 31. *Altura de plantas de Solanum lycopersicum L., 30 días después de la inoculación de Bacillus spp. seleccionadas, 2017.*

Autoría propia

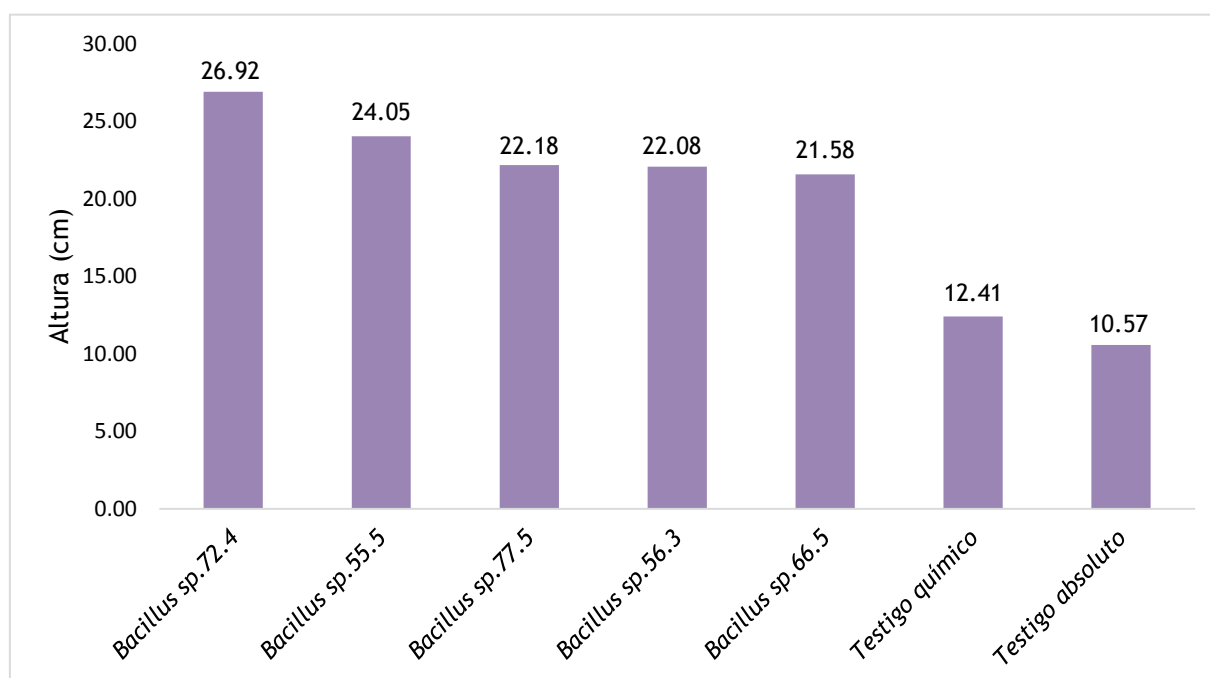


Figura 32. *Altura (cm) de plantas de Solanum lycopersicum L., 30 días después de la inoculación de Bacillus spp. seleccionadas, 2017.*

Autoría propia



Figura 33. *Altura de plantas de Solanum lycopersicum L., 45 días después de la inoculación de Bacillus megaterium 72.4.*

Autoría propia

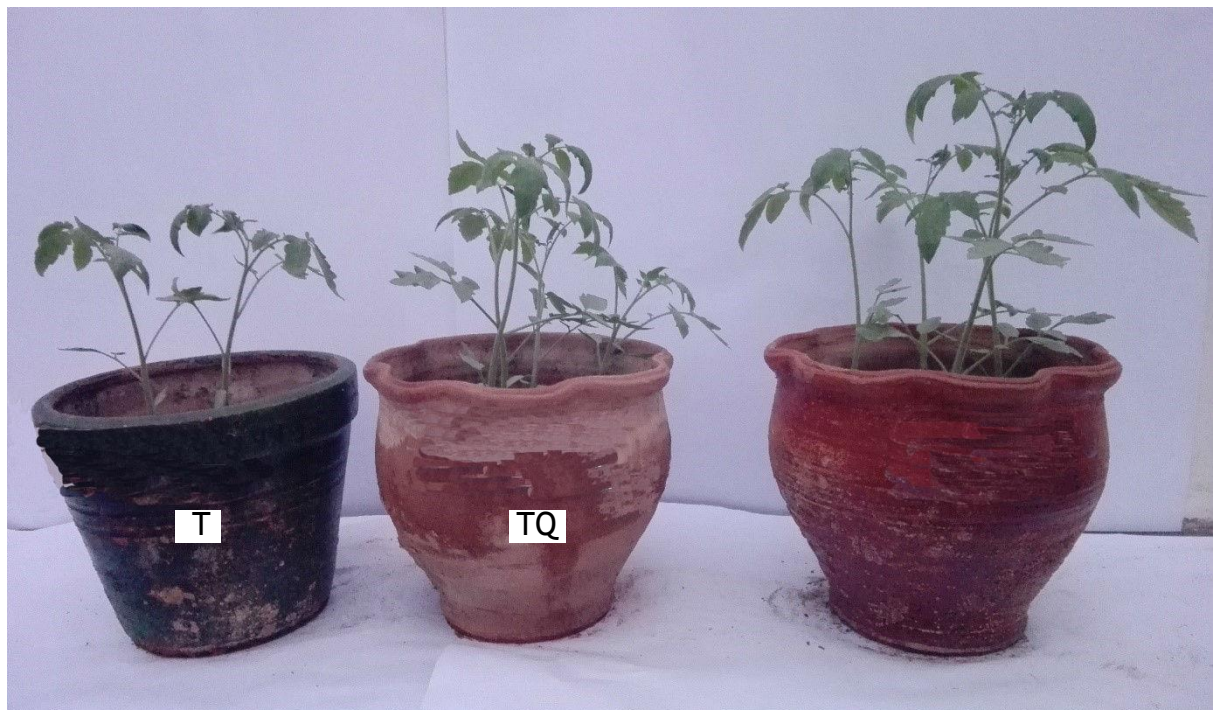


Figura 34. *Altura de plantas de Solanum lycopersicum L., 45 días después de la inoculación de Bacillus circulans 55.5.*

Autoría propia

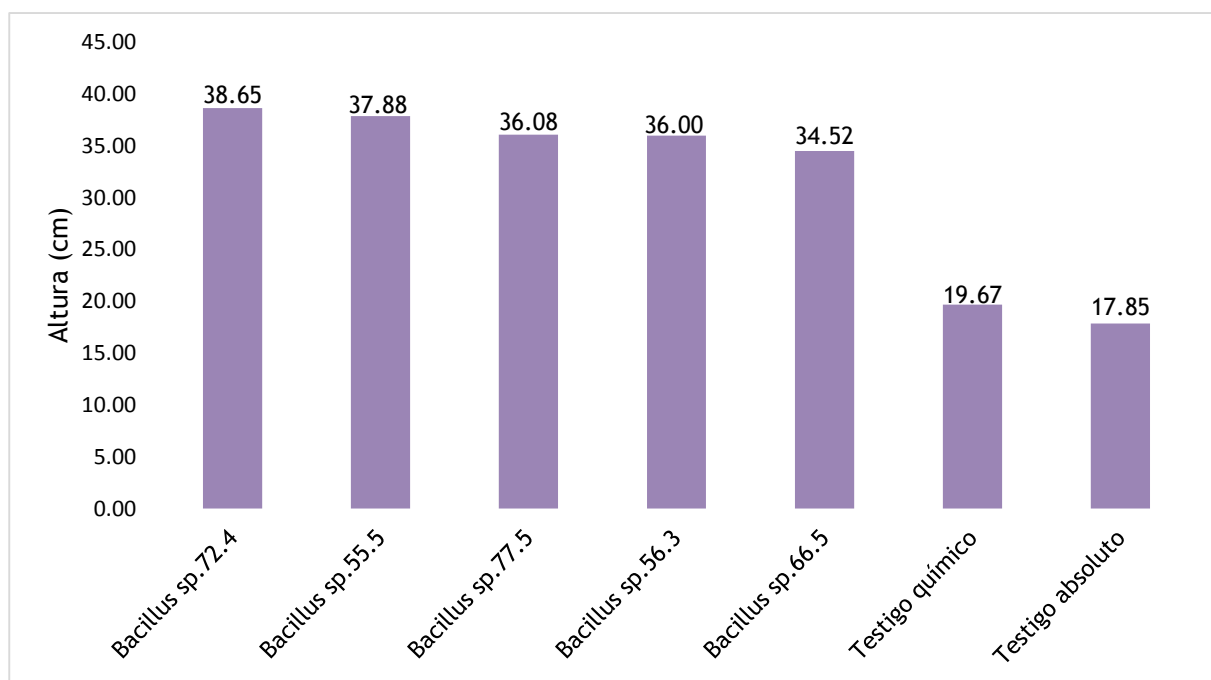


Figura 35. Altura (cm) de *Solanum lycopersicum* L., 45 días después de la inoculación de *Bacillus* spp. seleccionadas, 2017.

Autoría propia

Tabla 9.

Índices de efectividad (%) en la altura de plantas de *Solanum lycopersicum* L., por *Bacillus* spp. inoculadas a la siembra y trasplante

Tratamientos	IE (%)*			
	Altura (45 días)	Altura (60 días)	Altura (75 días)	Altura (90 días)
Testigo químico	10,10	12,36	7,23	7,15
<i>Bacillus circulans</i> 55.5	27,33	25,80	37,01	32,75
<i>Bacillus subtilis</i> 56.3	21,01	11,48	26,42	22,62
<i>Bacillus subtilis</i> 66.5	16,03	14,36	22,64	24,83
<i>Bacillus megaterium</i> 72.4	29,92	26,96	49,13	37,77
<i>Bacillus circulans</i> 77.5	21,28	25,44	37,93	33,48

*Promedio de tres repeticiones

Autoría propia

Tabla 10.

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de la altura de plantas de Solanum lycopersicum L., 45, 60, 75 y 90 días después de la inoculación de Bacillus spp. a la siembra y trasplante

Tratamientos	Altura (cm)*							
	45 días	Sign.	60 días	Sign.	75 días	Sign.	90 días	Sign.
Testigo absoluto	29,75	d	37,47	c	45,93	f	50,32	f
Testigo químico	32,78	e	42,10	b	49,25	e	53,90	e
<i>Bacillus circulans</i> 55.5	37,88	a	47,13	a	62,93	b	66,80	b
<i>Bacillus subtilis</i> 56.3	36,00	b	41,77	b	58,07	c	61,70	d
<i>Bacillus subtilis</i> 66.5	34,52	c	42,85	b	56,33	d	62,82	c
<i>Bacillus megaterium</i> 72.4	38,65	a	47,57	a	68,50	a	69,33	a
<i>Bacillus circulans</i> 77.5	36,08	b	47,00	a	63,35	b	67,17	b

*Promedio de tres repeticiones

Autoría propia

El 100% (5) de cultivos de *Bacillus* spp. incrementaron la altura de las plantas de tomate, a los 60 días después de la siembra (Figuras 36, 37), alcanzándose índices de efectividad (Tabla 9) de 11,48% (*Bacillus subtilis* 56.3) a 26,96% (*Bacillus megaterium* 72.4). La prueba F del análisis de varianza demostró alta significancia (Anexo 14) y según la prueba de comparaciones múltiples de Tukey el mayor valor se alcanzó con *B. circulans* 77.5 y *B. megaterium* 72.4 diferenciándose significativamente de los demás tratamientos (Tabla 10).

El 100% (5) de cultivos de *Bacillus* spp. incrementaron la altura de las plantas de tomate, a los 75 días después de la siembra (Figuras 38, 39), alcanzándose índices de efectividad (Tabla 9) de 22,64% (*Bacillus subtilis* 66.5) a 49,13% (*Bacillus megaterium* 72.4). La prueba F del análisis de varianza demostró alta significancia (Anexo 15) y según la prueba de comparaciones múltiples de Tukey el mayor valor se alcanzó con *Bacillus megaterium* 72.4, diferenciándose significativamente de los demás tratamientos (Tabla 10).

El 100% (5) de cultivos de *Bacillus* spp. incrementaron la altura de las plantas de tomate, a los 90 días después de la siembra (Figuras 40, 41), alcanzándose índices de efectividad (Tabla 9) de 22,62% (*Bacillus subtilis* 56.3) a 37,77% (*Bacillus megaterium* 72.4). La prueba F del análisis de varianza demostró alta significancia (Anexo 16) y según la prueba de comparaciones múltiples de Tukey el mayor valor se alcanzó con *Bacillus megaterium* 72.4, diferenciándose significativamente de los demás tratamientos (Tabla 10).

El 90% (4) de cultivos de *Bacillus* spp. disminuyeron los días requeridos para la floración, siendo de 64 días con *B. circulans* 77.5 y *B. megaterium* 72.4, y 68 días con *B. circulans* 55.5 (Figura 42), alcanzándose índices de efectividad de 2,98% (*B. circulans* 55.5) a 8,71 (*B. circulans* 77.5) (Tabla 11).

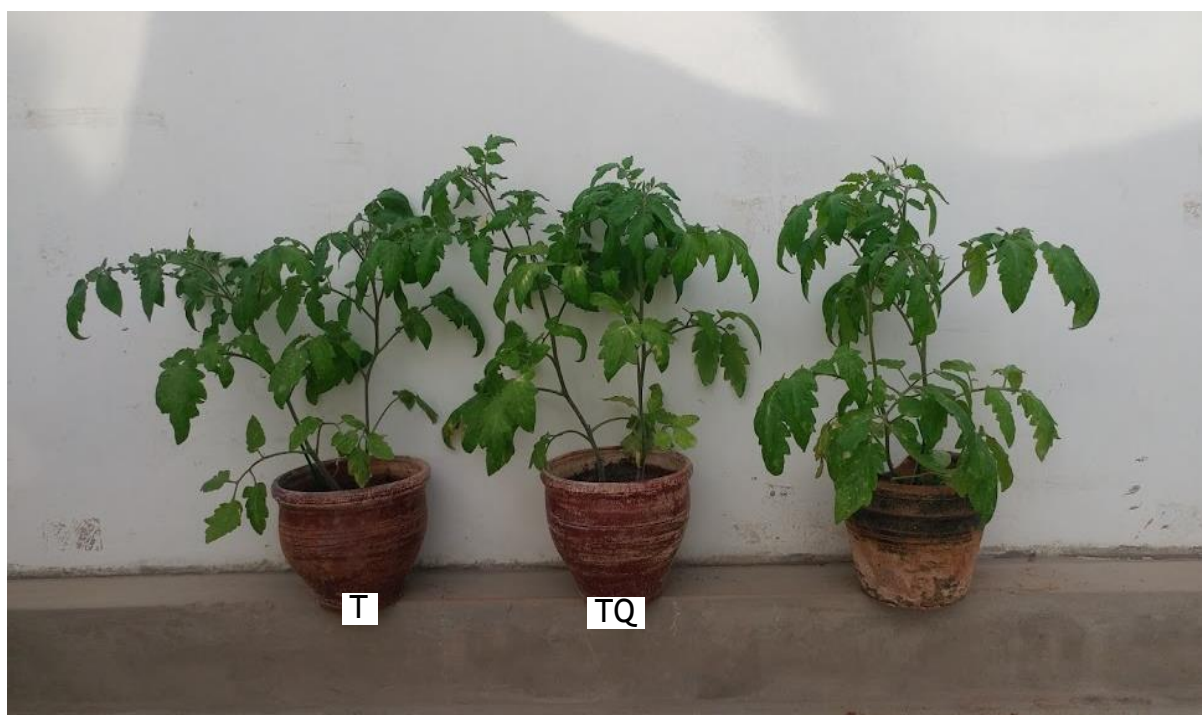


Figura 36. Altura de plantas de *Solanum lycopersicum* L., 60 días después de la inoculación de *Bacillus circulans* 55.5.

Autoría propia

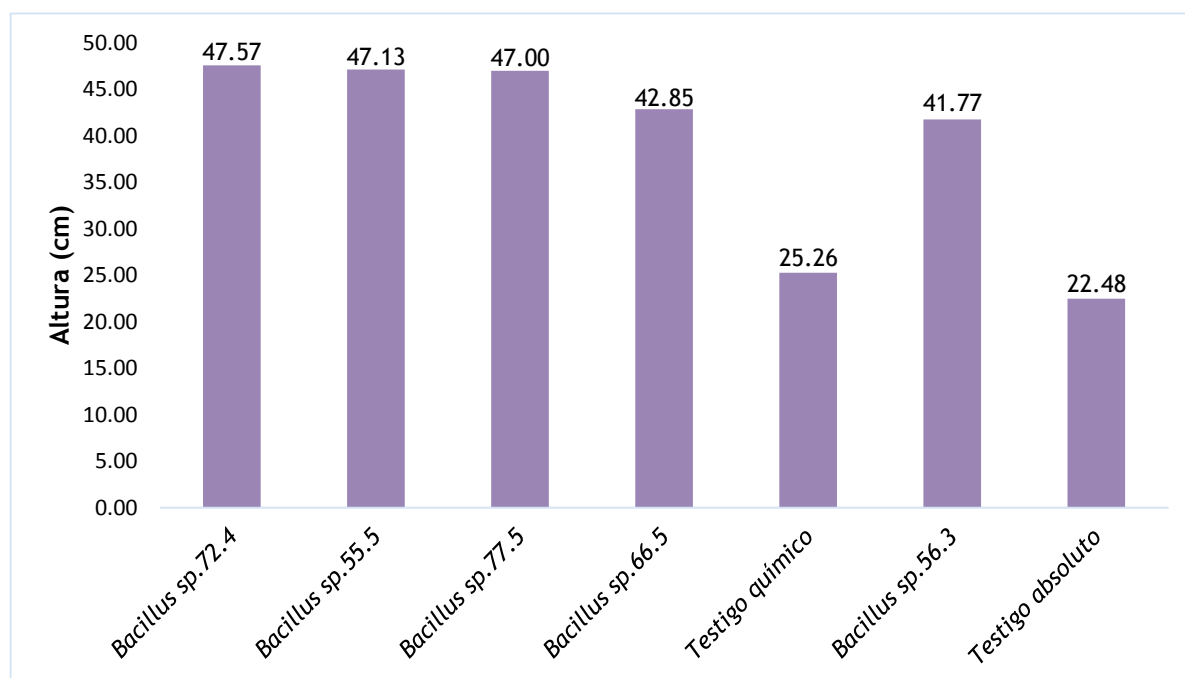


Figura 37. Altura (cm) de *Solanum lycopersicum* L., 60 días después de la inoculación de *Bacillus* spp. seleccionadas, 2017.

Autoría propia



Figura 38. Altura de plantas *Solanum lycopersicum* L., 75 días después de la inoculación de *Bacillus circulans* 77.5.

Autoría propia

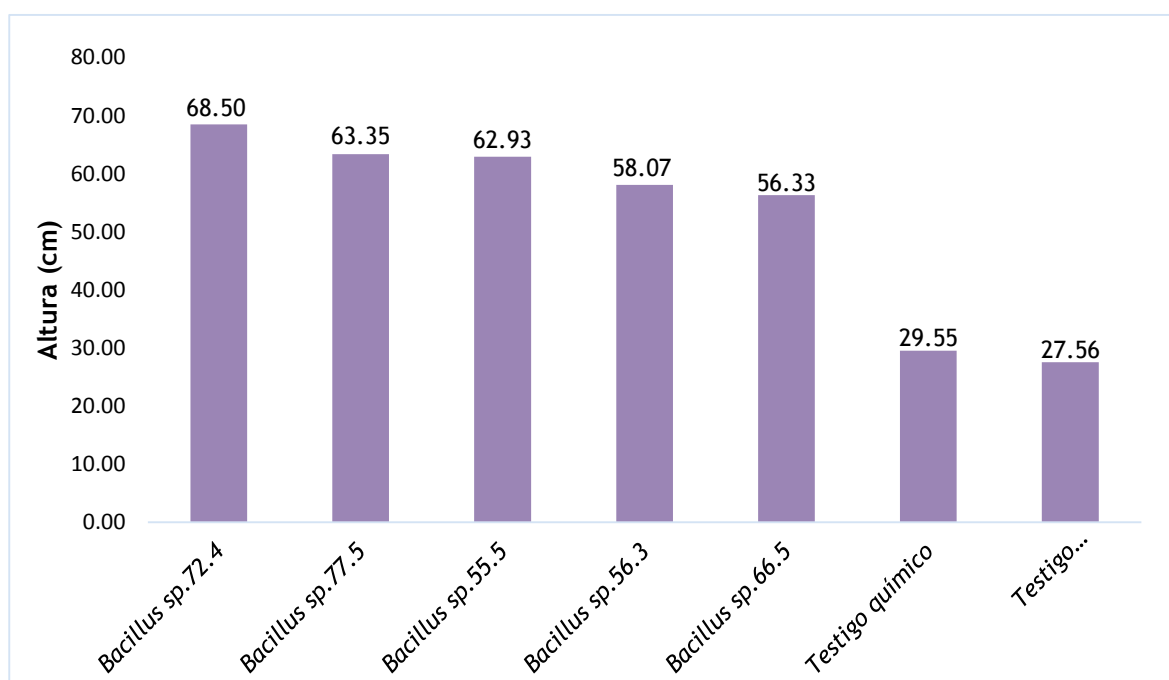


Figura 39. Altura (cm) de *Solanum lycopersicum* L., 75 días después de la inoculación de *Bacillus* spp. seleccionadas, 2017.

Autoría propia



Figura 40. Altura de plantas de *Solanum lycopersicum* L., 90 días después de la inoculación de *Bacillus megaterium* 72.4.

Autoría propia

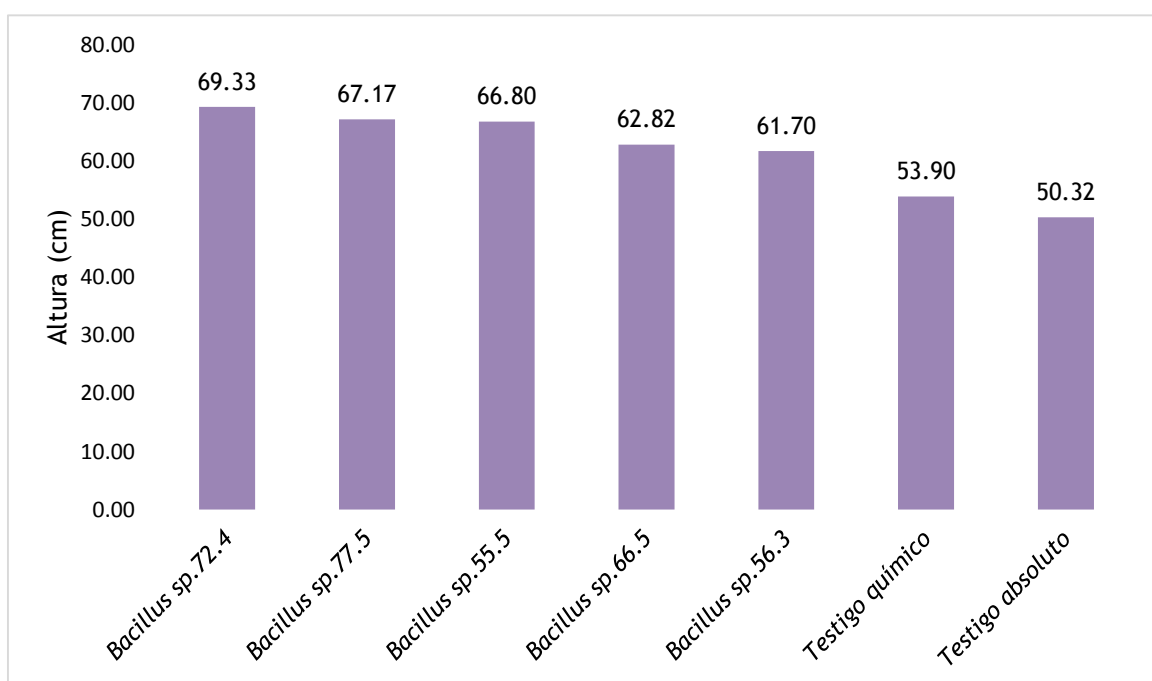


Figura 41. Altura (cm) de *Solanum lycopersicum* L., 90 días después de la inoculación de *Bacillus* spp. seleccionadas, 2017.

Autoría propia

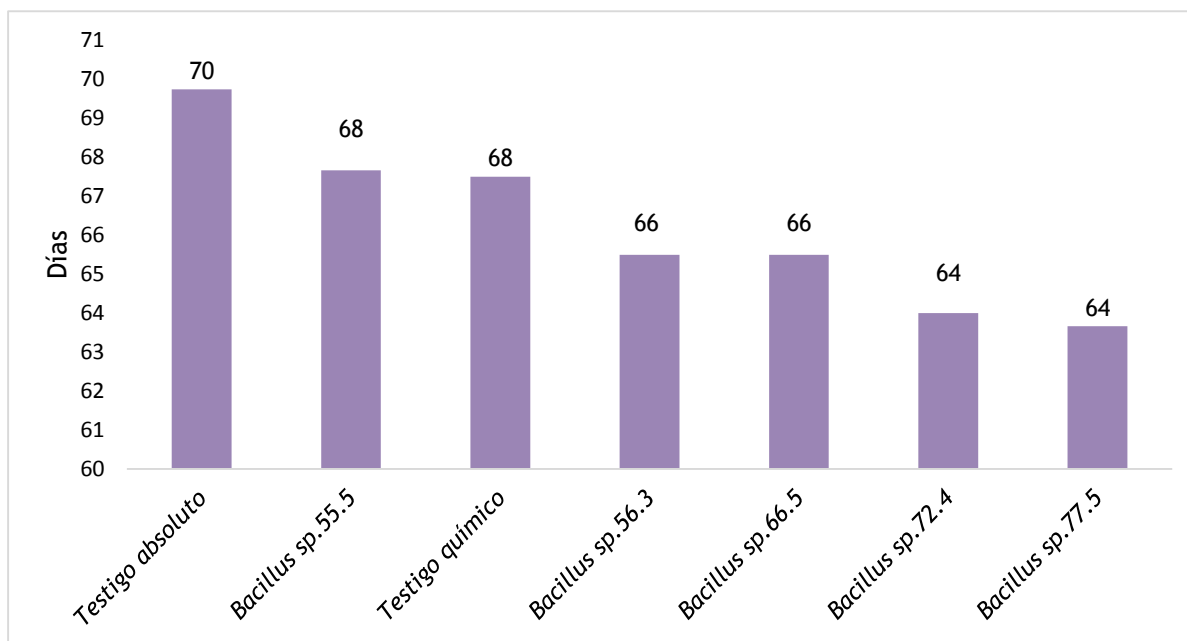


Figura 42. Días al 50% de la floración en *Solanum lycopersicum* L., inoculado con *Bacillus* spp. a la siembra y al trasplante.

Autoría propia

Tabla 11.

Índices de efectividad (%) al 50% de la floración en *Solanum lycopersicum* L., por *Bacillus* spp. inoculadas a la siembra y trasplante

Tratamientos	Tiempo requerido para la floración	
	Días	IE (%)*
Testigo absoluto	70	-
Testigo químico	68	3,22
<i>Bacillus circulans</i> 55.5	68	2,98
<i>Bacillus subtilis</i> 56.3	66	6,09
<i>Bacillus subtilis</i> 66.5	66	6,09
<i>Bacillus megaterium</i> 72.4	64	8,24
<i>Bacillus circulans</i> 77.5	64	8,71

*Promedio de tres repeticiones

Autoría propia

El 100% (5) de cultivos de *Bacillus* spp. disminuyeron los días requeridos para la fructificación, siendo de 80 días con *Bacillus circulans* 77.5 y 84 días con *Bacillus circulans* 55.5, (Figuras 43 a 45), valores correspondientes a índices de efectividad de 7,82 y 2,22%, respectivamente (Tabla 12).

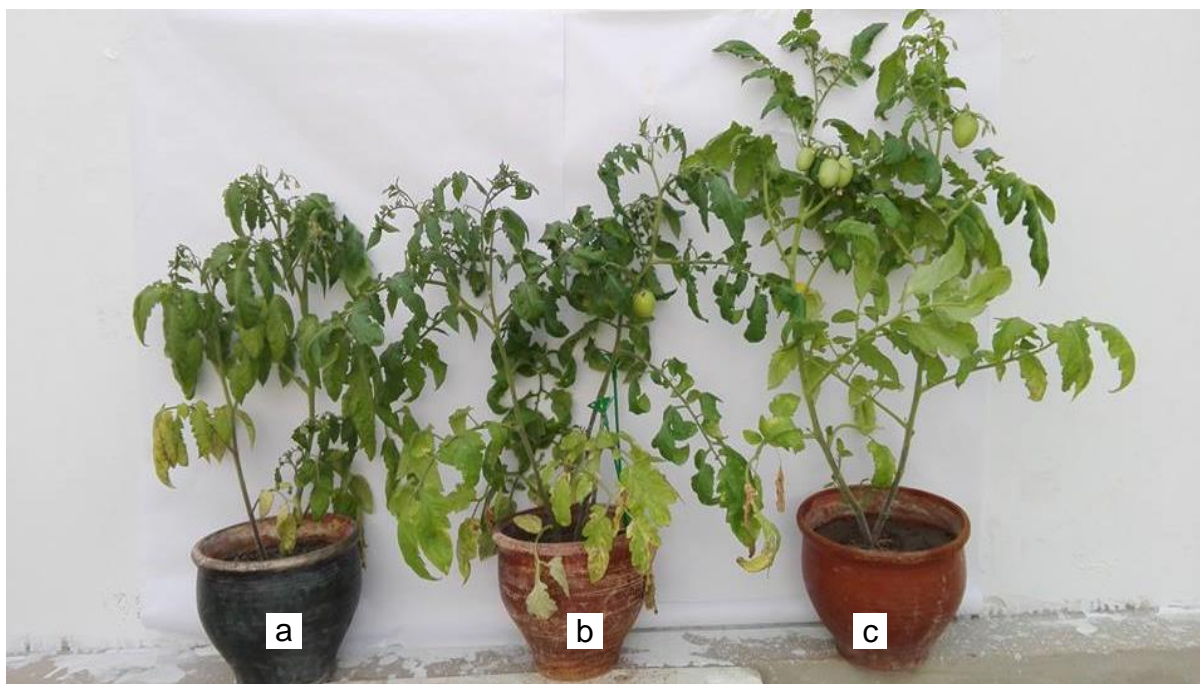


Figura 43. *Fructificación de Solanum lycopersicum L., (a) Testigo absoluto, (a) Testigo químico, (c) Bacillus circulans 77.5.*

Autoría propia



Figura 44. *Fructificación de Solanum lycopersicum L., (a) Testigo absoluto, (b) Testigo químico, (c) Bacillus megaterium 72.4.*

Autoría propia

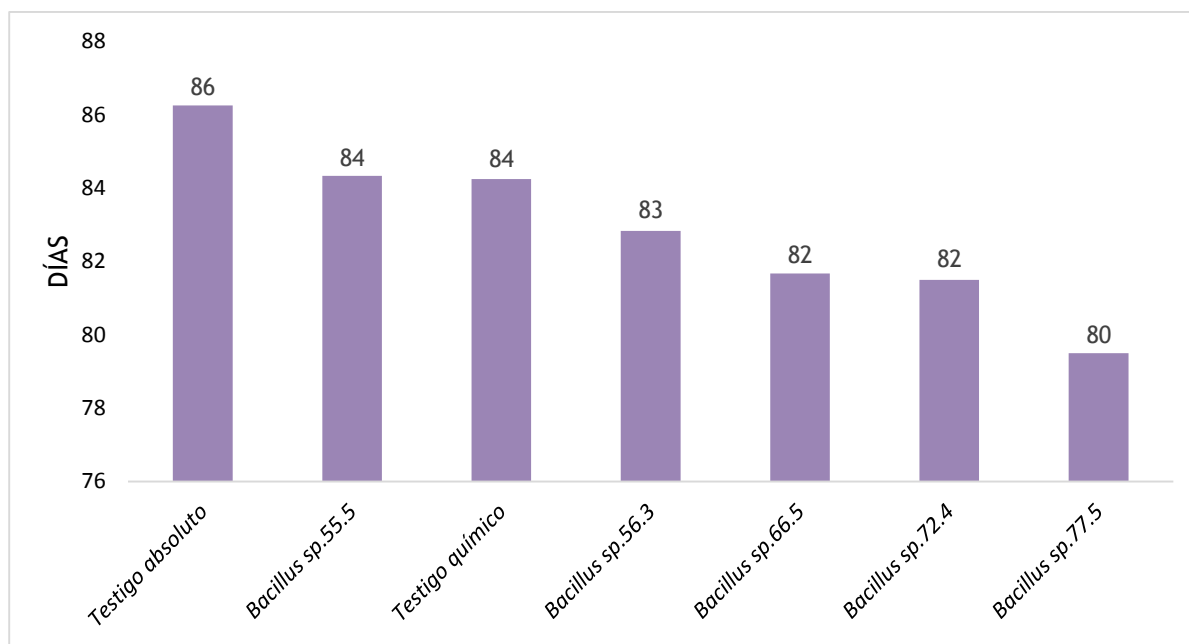


Figura 45. Días al 50% de la fructificación en *Solanum lycopersicum* L., inoculado *Bacillus* spp. a la siembra y trasplante.

Autoría propia

Tabla 12.

Índices de efectividad (%) al 50% de la fructificación *Solanum lycopersicum* L., por *Bacillus* spp. inoculadas a la siembra y trasplante

Tratamientos	Tiempo requerido para la fructificación	
	Días	IE (%)*
Testigo absoluto	86	-
Testigo químico	84	2,31
<i>Bacillus circulans</i> 55.5	84	2,22
<i>Bacillus subtilis</i> 56.3	83	3,96
<i>Bacillus subtilis</i> 66.5	82	5,31
<i>Bacillus megaterium</i> 72.4	82	5,50
<i>Bacillus circulans</i> 77.5	80	7,82

*Promedio de tres repeticiones

Autoría propia

VI. DISCUSIÓN

La capacidad fisiológica de las bacterias para promover el crecimiento en plantas es investigada para seleccionar aquellas con potencial (Tejera et al., 2011, pp.131-136) o para verificar la estabilidad de las características por las que fueron seleccionadas (Carreño, 2009, pp.100-101). En este contexto, se verificó la actividad *in vitro* de las especies de *Bacillus* investigadas, potencial previamente reportado por Luna, Martínez, Hernández, Arvizu & Pacheco, (2013, p.66) y Tan et al. (2013, p.134) respecto a la fijación de nitrógeno; Tejera et al. (2013, p.361) y Angulo et al.(2014, p.344) en la solubilización de fosfatos y Tan et al. (2013, p.134), Angulo et al. (2014, p.344) y Wang et al. (2016, p.741) en lo concerniente a producción de indoles.

Los resultados de los dos ensayos en la presente investigación demostraron que las especies de *Bacillus* aisladas proveniente de espárrago, incrementaron el desarrollo de las plantas de tomate, evidenciando que la especificidad planta de procedencia -bacteria no es determinante en el efecto positivo de las rizobacterias promotoras de crecimiento en plantas PGPR. De igual manera, bacterias aisladas de caña de azúcar (German, 2015), espárrago silvestre (García, 2012) y residuos lignocelulósicos de *Ricinus communis* "higuerilla" (Rodríguez, 2013, pp.31-40) fueron inoculadas en tomate, observándose promoción del desarrollo vegetal.

Meng et al. (2016, pp.18-25) observaron promoción del crecimiento por *B. velezensis* BACO3 en nueve especies vegetales, incluyendo tomate; no obstante, el incremento (20-100%) en los parámetros investigados fue diferente en las distintas plantas. En *Rhapanus sativus* L. "rabanito" se observó incremento en la altura, peso de la biomasa aérea y radicular y en tomate en la altura, número de

flores, peso de la biomasa aérea, pero no en la radicular. De igual manera, Adesemoye et al. (2008, pp.424-425) reportaron el efecto positivo de *B. subtilis* en tres especies vegetales, con índices de efectividad en la biomasa de 31% en tomate, 36% en oca y 83% en espinaca.

El efecto de una bacteria en diferentes especies vegetales varía por la quimioatracción de los exudados radicales producidos durante la interacción planta-microorganismo (Luna et al., 2013, p.68), así como también por la concentración de bacterias en el inóculo, momento y frecuencia de inoculación (Meng et al., 2016, pp.18-25), tiempo transcurrido después de la inoculación (Wang et al., 2016, p.737) y dosis de fertilizante químico (Ochoa et al., 2016, p.342).

Las bacterias del género *Bacillus* incrementaron el desarrollo de las plantas de tomate, coincidiendo con Luna (2013, p.67), Rodriguez (2013, p.40), Tan et al (2013, p.138), Xiao et al (2015, p.32-40), Meng et al (2016, pp.18-25) y Ochoa et al (2016, p.338), quienes demostraron el efecto benéfico de *B.subtilis*, *B. megaterium*, *B. amyloliquefaciens* y *B. licheniformis* en el cultivo de tomate. La promoción del crecimiento en las plantas por *Bacillus* spp. se atribuye en mecanismos directos como la fijación de nitrógeno (Luna et al., 2013, p.66), producción de ácido indolacético (Wang et al., 2016, p.741), solubilización de fosfatos (Angulo et al., 2014, p.344) y a mecanismos indirectos o de control biológico (Lizárraga et al., 2015, p.16).

La efectividad de *Bacillus* spp. demostrada en la emergencia de las plántulas de tomate coincide con Adesemoye et al. (2008, p.424) quienes observaron que con la inoculación de *B. subtilis* la emergencia se incrementó 30% respecto al control. Asimismo, Luna et al. (2013, p.67) reportaron 5% de aumento en la germinación de semillas de tomate inoculadas con *B. subtilis* y *B.megaterium* y también incremento en la altura, diámetro del tallo y peso de la biomasa de las plántulas de tomate 30 días después de la siembra. Por el contrario, Meng et al. (2016, pp.22-23) observaron inhibición en la emergencia de plántulas de tomate por efecto de la inoculación de *B. velezensis* BAC03, efecto negativo relacionado con la concentración de bacterias del inóculo: 5% (10^5 UFC mL⁻¹) y 80% de

inhibición (10^7 UFC mL⁻¹). Este resultado se atribuye a la síntesis de compuestos volátiles como el 2,3-butanodiol y su precursor la acetoina, que tiene acción frente a los fitopatógenos, pero que debido a su inespecificidad pueden inhibir hasta en 90% la germinación y crecimiento de las plántulas de tomate.

La germinación depende de la viabilidad del embrión y ruptura del letargo generado por las condiciones ambientales. Las especies de *Bacillus* en su mayoría presentan actividad ACC desaminasa que reduce el nivel de etileno y aumenta la germinación de las semillas. Asimismo, la producción de AIA estimula la división celular y favorece el inicio del crecimiento del embrión (Luna et al., 2013, p.67). El incremento en la altura de las plantas inoculadas con *Bacillus* spp. ha sido reportado en diversos cultivos agrícolas alcanzando 1-54% en tomate con *B.subtilis* (Xiao et al., 2015, p.32), *B.amyloliquefaciens* (Tan et al., 2013, p.138), 24-38% en maíz con *B. megaterium* y *B. cereus sensu lato* (Lizárraga et al., 2015, p.16), 10-24% en banano con *B. amyloliquefaciens* (Wang et al., 2016, p.738) y 52% con *A. lentiformis* con *B.pumilus* (Bashan et al, 2010, p.347).

Respecto al incremento en la longitud radicular por *Bacillus* spp. también fue observado por Tan et al. (2013, p.138) en tomate (55%) y Bashan et al. (2010, p.347) en *A.lentiformis*. El desarrollo reproductivo también fue afectado en forma positiva por *Bacillus* spp. coincidiendo con Adesemoye et al. (2008, p.424), quienes registraron 56 días para la fructificación en plantas de tomate inoculadas con *B. subtilis*, en comparación con 65 días en el control.

Las especies de *Bacillus* spp. fijadoras de nitrógeno, solubilizadoras de fosfatos y productoras de índoles *in vitro*, demostraron su potencial para incrementar el desarrollo vegetativo y reproductivo de tomate en condiciones de invernadero, requiriéndose de la investigación en condiciones de campo (Carreño, 2009, pp.117-120), con la perspectiva de constituir un biofertilizante a nivel comercial.

VII. CONCLUSIONES

- ✓ Los cultivos de *Bacillus* spp. fijaron *in vitro* nitrógeno (1,91 a 26,38ppm de amonio), solubilizaron fosfato tricálcico (0,35 a 8,31ppm de fósforo soluble) y produjeron índoles (2,68 a 23,57ppm).
- ✓ Los 15 cultivos de *Bacillus* spp. previamente aislados de espárrago, incrementaron el desarrollo vegetativo de tomate, alcanzando índices de efectividad de 0,44 a 46,68% en la altura y 2,01 a 65,83% en la longitud de raíces.
- ✓ Los cultivos de *Bacillus* spp. seleccionados fueron los cinco que alcanzaron los mayores valores en la altura, (*B. megaterium* 72.4, *B. circulans* spp.77.5 y 55.5 y en la longitud de las raíces de tomate *B. subtilis* spp.66.5 y 56.3).
- ✓ Los cultivos de *Bacillus* spp. seleccionados incrementaron el desarrollo del cultivo de tomate, destacando significativamente *B. megaterium* 72.4 y *B. circulans* 77.5, con índices de efectividad de 42,86% en la emergencia y 6,12 a 49,13% en la altura.

VIII. RECOMENDACIONES

- ✓ Identificar a nivel molecular *B. megaterium* 72.4 y *B. circulans* 77.5.
- ✓ Determinar el efecto de *B. megaterium* 72.4 y *B. circulans* 77.5 en el desarrollo de tomate en condiciones de campo, con y sin la aplicación de fertilizante químico.
- ✓ Investigar sustratos orgánicos de bajo costo para el incremento masivo de *B. megaterium* 72.4 y *B. circulans* 77.5
- ✓ Investigar el efecto de cultivos de *Bacillus* spp. en el desarrollo de otros cultivos agrícolas en condiciones de invernadero y campo.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adesemoye, A., Obini, M. & Ugoji, E. (2008). Comparison of plant growth-promotion with *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus subtilis* in three vegetables. *Brazilian Journal of Microbiology*, 38, 423-426.
- Aguado, S. (Ed.). (2012). *Introducción al Uso y Manejo de los Biofertilizantes en la Agricultura*. México: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, INIFAP/Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, SAGARPA.
- Alvarado, P. y Valderrama, M. (2014). *Caracterización de los géneros Burkholderia y Pseudomonas solubilizadoras de fosfato aisladas de Zea mays L. en el distrito de Reque en Lambayeque, marzo-mayo, 2014*. (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo, Lambayeque, Perú.
- Angulo, V., Sanfuentes, E., Rodríguez, F. y Sosso, K. (2014). Caracterización de rizobacterias promotoras de crecimiento en plántulas de *Eucalyptus nitens*. *Revista Argentina de Microbiología*, 46(4), 338 – 347.
- Aysha, O., Vinothkumar, P., Vasuki, S., Nirmala, P. & Reena, A. (2012). PGPR *Bacillus* isolated from tomato plant – a comparative study on coconut water enrichment. *International Journal for Bioassays*, 1(11), 131 – 137.
- Bashan, Y., de-Bashan, L.E., Hernandez, J. & Maier, R. (2010). *Bacillus pumilus* ES4: Candidate plant growth-promoting bacterium to enhance establishment of plants in mine tailings. *Environmental and Experimental Botany*, 69, 343–352.
- Bhattacharyya, P. & Jha, D. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World Journal Microbiology and Biotechnology* 28, 1327-1350.
- Cadena, S. y Martínez, B. (2011). *Caracterización de cepas de Pseudomonas spp. y su efecto en la germinación y emergencia de Zea mays L. “maíz” en Lambayeque*. (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo, Lambayeque, Perú.

- Calvo, P. y Zúñiga, D. (2010). Caracterización fisiológica de cepas de *Bacillus* spp. aisladas de la rizósfera de papa (*Solanum tuberosum*). *Ecología Aplicada*, 9(1), 31 - 39.
- Cancino, I. (2017). *Efecto de Actinobacterias aisladas de Asparagus officinalis L. en el desarrollo vegetativo de Lycopersicon esculentum Mill.* (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú.
- Carreño, C. (2009). *Efecto de la inoculación de bacterias nativas solubilizadoras de fósforo en el desarrollo y rendimiento de tres cultivos agrícolas en Mochumí, Lambayeque, Perú.* (Tesis de Doctorado). Universidad Nacional de Trujillo, La Libertad, Perú.
- Casos, N. y Casos, M. (2017). *Caracterización de especies de Bacillus aisladas de rizoplasma y rizósfera de Asparagus officinalis L. y su potencial como promotoras de crecimiento en plantas.* (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú.
- Cuervo, J. (2010). *Aislamiento y caracterización de Bacillus spp. como fijadores biológicos de nitrógeno y solubilizadores de fosfatos en dos muestras de biofertilizantes comerciales.* (Tesis de Pregrado). Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.
- Córdova, L. (2016). *Efecto de Azospirillum spp. nativas en el desarrollo vegetativo de Zea mays L. "maíz" en invernadero.* (Tesis de Maestría). Universidad Nacional de Trujillo, La Libertad, Trujillo.
- Delgado, J. y Suyón, L. (2017). *Bacterias endófitas y rizosféricas fijadoras de nitrógeno aisladas de Asparagus officinalis L. en Virú, región La Libertad y su potencial como promotoras de crecimiento en plantas.* (Tesis de Pregrado). Universidad Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú.
- Ekin, Z., Oguz, F., Erman, M. & Ogün, E. (2009). The effect of *Bacillus* sp. OSU-142 inoculation at various levels of nitrogen fertilization on growth, tuber distribution and yield of potato (*Solanum tuberosum* L.) *African Journal of Biotechnology*, 8(18), 4418 - 4424.

- Escobar, C. y Horna, G. (2011). *Caracterización de cepas nativas de Azotobacter spp. y su potencial como promotoras del desarrollo vegetativo del tomate (Lycopersicon esculentum Mill).* (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú.
- Fassio, A., Carriquiry, A., Tojo, C. y Romero, R. (1998). *Maíz: Aspecto sobre Fenología.* Montevideo: Unidad de Difusión e Información Tecnológica del Instituto Nacional de Investigación Agraria, INIA.
- García, F. y Muñoz, H. (2010). *Caracterización de cepas nativas de Azospirillum spp. y su efecto como promotoras del desarrollo vegetativo de arroz (Oryza sativa).* (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo, Lambayeque, Perú.
- García, M. (2012). *Efecto de la inoculación con bacterias diazotróficas de vida libre endófitas sobre el crecimiento de Lycopersicon esculentum "tomate".* (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional de Trujillo, La Libertad, Perú.
- García, R., Lovaisa, N. y Ulla, E. (2015). Aislamiento y caracterización de bacterias solubilizadoras de fosfatos del Noroeste Argentino y su efecto en la promoción de crecimiento en maíz (*Zea mays* L.) *Revista Agronomía Noroeste Argentino*, 35(1), 19-28.
- Gaspar, L. (2000). Nutrición del cultivo de tomate para industria. Recuperado de <http://agroestrategias.com/pdf/cultivos%20%20fertiyeccion%20de%20tomate%20para%20Lobesto.pdf>.
- Germán, J. (2015). *Efecto de las concentraciones de Azotobacter sp. aislado de rizósfera de suelo de Saccharum officinarum sobre el crecimiento de Lycopersicon esculentum "tomate".* (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional de Trujillo, La Libertad, Perú.
- Guillén, R., Hernández, F., Gallegos, G., Rodríguez, R., Aguilar, C., Padrón, E. y Reyes, M. (2006). *Bacillus spp.*, como biocontrol en un suelo infestado con *Fusarium spp.*, *Rhizoctonia solani* Kühn y *Phytophthora capsici* Leonian y su efecto en el desarrollo y rendimiento del cultivo de chile (*Capsicum annuum* L.). *Revista Mexicana de Fitopatología*, 24(2), 105-114.

- Gutiérrez, F., Ramos, B., Probanza, A., Mehouchi, J., Tadeo, F. & Talon, M. (2001). The plant – growth - promoting rizobacteria *Bacillus pumilus* and *Bacillus licheniformis* produce high amounts of physiologically active gibberellins. *Physiologia Plantarum*, 111, 206 - 211.
- Hernández, R., Fernández, C. y Baptista, P. (2014). *Metodología de la Investigación* (6^{ta} ed). México: Mc Graw, Hill Interamericana Editores S.A.
- Lara, C., Villalba, M. y Oviedo, L. (2007). Bacterias fijadoras asimbióticas de nitrógeno de la zona agrícola de San Carlos. *Revista Colombiana de Biotecnología*, IX (2), 6-14.
- Lizárraga, G., Leyva, K., Sánchez, P., Quiroz, F. & Maldonado, I. (2015). *Bacillus cereus* sensu lato strain B25 controls maize stalk and ear rot in Sinaloa, Mexico. *Field Crops Research*, 176, 11-21.
- Luna, L., Martínez, R., Hernández, M., Arvizu, S. & Pacheco, J. (2013). Caracterización de rizobacterias aisladas de tomate y su efecto en el crecimiento de tomate y pimiento. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 36(1), 63-69.
- Masood, S., Khan, A., Sirajuddin, Baig, Z., Zhao X. Q.,...Shen, R. (2016). *Bacillus pumilus* enhances the tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) to combined stresses of NaCl and high boron due to limited uptake of Na⁺. *Environmental and Experimental Botany*, 124, 120-129.
- Matas, A. (2005). *Estudio de los factores incidentes en el agrietado del fruto de tomate (Lycopersicon esculentum Mill.) tipo cereza: El papel de la cutícula del fruto*. (Tesis de Doctorado). Universidad de Málaga, Málaga, España.
- Mena, H., Cruz, A., Paredes, O., Gómez, M. y Olalde, V. (2009). *Fruit texture related changes and enhanced shelf-life through tomato root inoculation with Bacillus subtilis BEB-13BS*. *Agrociencia*, 43(6), 559-567.
- Meng, Q., Jiang, H. & Hao, J. (2016). Effects of *Bacillus velezensis* strain BAC03 in promoting plant growth. *Biological Control*, 98, 18–26.

- Nicolalde, A. y Quintana, D. (2010). *Utilización de bacterias fijadoras de nitrógeno (Azotobacter) y solubilizadoras de fósforo en el cultivo de brócoli (Brassica oleraceae var. Legacy) en Otavalo*. Ecuador, Universidad Técnica del Norte.
- Ochoa, C., Valadez, R., Salas, R., Sustaita, F., Hernández, B., García, S. & Santos, N. (2016). Effect of nitrogen fertilization and *Bacillus licheniformis* biofertilizer addition on the antioxidants compounds and antioxidant activity of greenhouse cultivated tomato fruits (*Solanum lycopersicum* L. var. Sheva). *Scientia Horticulturae*, 201, 338–345.
- Orozco, C. y Martínez, P. (2009). Evaluación de la inoculación con microorganismos fijadores de nitrógeno simbióticos aislados de la rizósfera de *Pinus patula* en Colombia. *Bosque*, 30(2), 70 - 77.
- Ortiz, R., Valencia, E. y López, J. (2009). Participación de las citocininas en la estimulación del crecimiento vegetal por *Bacillus megaterium*. *Revista Biológicas*, 11, 64 – 72.
- Otero, V. (2011). *Aislamiento, selección e identificación de actinomiceto, bacterias fotosintéticas no sulfurosas y bacterias ácido lácticas, a partir de suelos asociados al cultivo de plátano en la Costa Atlántica de Colombia*. (Tesis de Maestría). Universidad Nacional de Colombia, Colombia.
- Peralta, I., Knapp, S., Spooner, D., New Species of Wild Tomatoes (*Solanum* Section *Lycopersicon*: Solanaceae) from Northern Peru. *Systematic Botany* (2005), 30(2), 424–434.
- Rodier, J. y Rodi, L. (2005). *Análisis de Aguas*. España: Ediciones Omega.
- Rodríguez, C. (2013). *Evaluación de microorganismos promotores de crecimiento vegetal en tomate (Solanum lycopersicum) variedad Santa Clara, aislados de residuos lignocelulósicos de higuera (Ricinus communis)*. (Tesis de Pregrado). Universidad Católica de Manizales, Colombia.

- Rodríguez, V. y Morales, J. (2007). *Evaluación de alternativas de protección física y química de semilleros de tomate (Lycopersicum esculentum Mill) contra el ataque del complejo mosca blanca (Bemisia tabaci, Genadius)-Geminivirus y su efecto en el rendimiento, en el municipio de Tisma, Masaya.* (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional Agraria, Managua, Nicaragua.
- Soplopucó, L. y Navarro, C. (2005). *Efecto de cinco fuentes y dosis de abono orgánico sobre el rendimiento y calidad de tomate (Lycopersicon esculentum Mill.) en Lambayeque.* (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú.
- Tan, S., Jiang, Y., Song, S., Huang, J., Ling, N., Xu, Y. & Shen, Q. (2013). Two *Bacillus amyloliquefaciens* strains isolated using the competitive tomato root enrichment method and their effects on suppressing *Ralstonia solanacearum* and promoting tomato plant growth. *Crop Protection*, 43, 134-140.
- Tejera, B., Rojas, M. y Heydrich, M. (2011). Potencialidades del género *Bacillus* en la promoción del crecimiento vegetal y el control biológico de hongos fitopatógenos. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 42(3), 131-138.
- Torres, I. (2015) *Efecto de Bacillus spp. en el desarrollo vegetativo de Zea mays L. "maíz", en condiciones de invernadero, 2014.* (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú.
- Vásquez, A., Díaz, N., Vásquez, O. y Vásquez, W. (2012). *Metodología de la Investigación Científica.* Lambayeque, Perú: Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo.
- 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.

- Wang, B., Shen, Z., Zhang, F., Raza, W., Yuan J., Huang, R.,...Shen, Q. (2016). *Bacillus amyloliquefaciens* Strain W19 can promote growth and yield and suppress *Fusarium* wilt in banana under greenhouse and field conditions. *Pedosphere*, 26(5), 733-744.
- Xiao, G., Chun, H., Tao, L. & Ouyang, Z. (2015). Effect of *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas fluorescens* on growth of greenhouse tomato and rhizosphere microbial community. *Journal of Northeast Agricultural University*, 22(3), 32-42.
- Yolcu, H., Turan, M., Lithourgidis, A., Cakmakci, R. & Koc, A. (2011). Effects of plant growth-promoting rhizobacteria and manure on yield and quality characteristics of Italian ryegrass under semi arid conditions. *Australian Journal of Crop Science*, AJCS, 5(13), 1730-1736.

ANEXOS

ANEXO 1

Procedimiento para elaborar la curva de calibración para cuantificar el ión amonio

a. Reactivos (en Lara et al., 2007; Cadena y Martinez, 2011)

- **Cloruro de potasio 2M**

Cloruro de potasio	149,12g
Agua destilada	1000mL

- **Solución alcohólica de fenol 10%**

Fenol concentrado	10mL
Alcohol 97°	90mL

- **Nitroprusiato de sodio 0,5%**

Nitroprusiato de sodio	0,5g
Agua destilada	100mL

- **Solución oxidante**

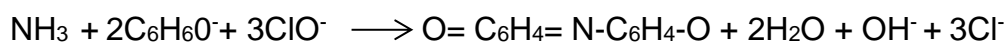
Citrato de sodio	20g
Hidróxido de sodio	1g
Hipoclorito de sodio 5% (lejía comercial)	2mL
Agua destilada	100mL

b. Método indirecto de valoración del ión amonio, utilizando la técnica colorimétrica de Berthelot (fenol-hipoclorito, en Lara et al., 2007)

b.1 Fundamento del método colorimétrico de Berthelot (fenol-hipoclorito)

Se basa en la formación de un color azul intenso de indofenol, que resulta de la reacción del ión amonio (NH_4) con los compuestos fenólicos, en presencia de un agente oxidante como el hipoclorito de sodio u o-fenol y un catalizador, principalmente nitroprusiato de sodio o de potasio. El mecanismo de la reacción depende de la luz presente, la temperatura ambiente, catalizadores y pH alcalino.

Cuando se utiliza fenol o sodio la reacción puede ser representada de la siguiente manera:



b.2 Preparación de diluciones a partir de una solución madre de NH_4Cl

Para obtener la curva patrón se prepara una solución madre de 100ppm de NH_4Cl , para lo cual se pesa 0,1g de NH_4Cl y se disuelve en 1L de agua bidestilada. Posteriormente, a partir de la solución madre se efectúan las siguientes diluciones:

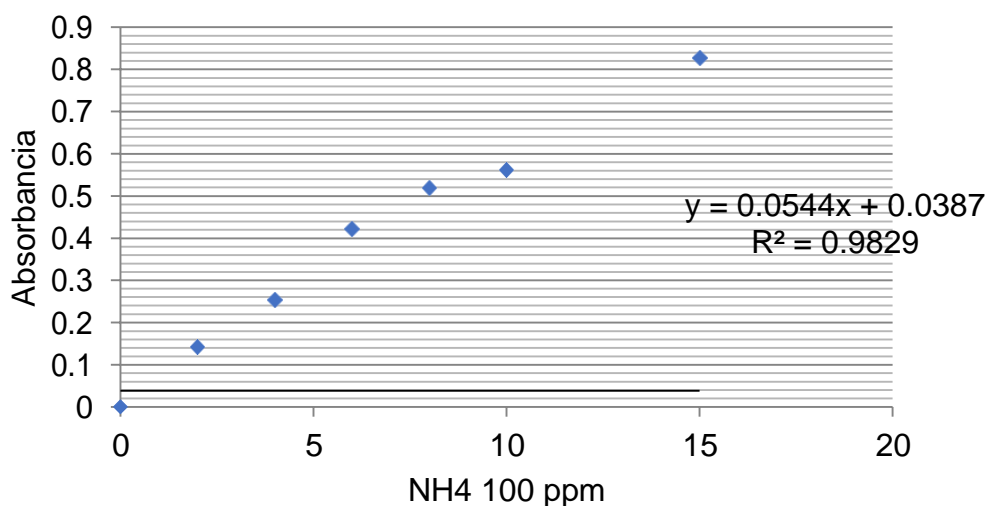
N° de tubo	Solución patrón [mL]	H_2O bidestilada [mL]	NH ₄ Cl (Ug/mL = ppm)
			NH ₄ Cl
			[μ g /mL= ppm]
1	0	1	0
2	0	9	2
3	0	9	4
4	0	9,4	6
5	0	9	8
6	1	9	10
7	1	8	15
8	2	8	20

b.3 Procedimiento para la cuantificación de amonio por colorimetría

Obtenidas las diluciones, agregar a cada tubo 0,4mL de solución alcohólica de fenol al 10%; 0,4mL de nitroprusiato de sodio al 0,5% y 1mL de solución oxidante, luego agitar para mezclar y dejar en reposo durante 1 hora. Observar una coloración que varía del verde azul al azul intenso según la concentración de amonio. Leer la absorbancia de cada dilución en el espectrofotómetro a 632,9nm. Una vez obtenida la absorbancia de todas las concentraciones de amonio, corregir los valores y mediante regresión lineal con el programa Microsoft Excel 2010, obtener la ecuación de la recta y el coeficiente de determinación (R^2) que deberá ser mayor a 0,9 para demostrar una dispersión homogénea de los valores sobre la recta.

Nº tubo	NH ₄ 100 (ppm)	Absorbancia	Absorbancia corregida
01	0	0,058	0,000
02	2	0,199	0,141
03	4	0,311	0,253
04	6	0,480	0,422
05	8	0,576	0,518
06	10	0,619	0,561
07	15	0,884	0,826

Obtenida la absorbancia de las siete concentraciones de amonio, introducir los datos en el programa Microsoft Office Excel 2007 y construir la curva patrón de calibración:



En la ecuación obtenida:

$$y = 0,0544x + 0,0387$$

Donde:

y: representa la absorbancia captada (variable dependiente).

x: cantidad de amonio en ppm (variable independiente).

Despejar "x" para obtener la cantidad de amonio (ppm) fijado por cada bacteria nativa.

$$x = \frac{y - 0,0387}{0,0544}$$

ANEXO 2

Cuantificación de fósforo solubilizado *in vitro*

a. Reactivos (en Rodier y Rodi, 2005)

- **Solución de ácido sulfúrico 5N**

Ácido sulfúrico ($d = 1,84$) 14mL

Agua destilada hasta enrase 100mL

- **Solución de molibdato amónico 4% 20mL**

- **Solución de ácido ascórbico**

Ácido ascórbico 1,76mL

Agua destilada hasta enrase 100mL

- **Solución de amético (Preparar al momento del uso)**

Tartrato doble de antimonio y potasio 0,0274g

Agua destilada hasta enrase 100mL

- **Reactivo para determinación de ortofosfatos**

Ácido sulfúrico 5N 40mL

Solución de Molibdato amónico 12mL

Solución de ácido ascórbico 24mL

Solución de emético 4mL

- **Solución madre de $0,2\text{mgL}^{-1}$ de fósforo**

Fosfato monopotásico previamente desecado

en estufa a $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ 877g

Agua destilada hasta enrase 100mL

- **Solución hija de 2mgL^{-1} de fósforo**

Diluir 1mL de solución madre en 99mL de agua destilada (1/100)

b. Método colorimétrico del Molibdato para cuantificar fósforo soluble (en Rodier y Rodi, 2005)

b.1. Fundamento

En medio ácido y en presencia de molibdato amónico, los ortofosfatos forman un complejo fosfomolibdico que, reducido por el ácido ascórbico, desarrolla una coloración azul susceptible de una determinación colorimétrica y cuya aparición se acelera utilizando el catalizador emético, tartrato doble de antimonio y potasio.

b.2. Limpieza de los recipientes de vidrio

Para la limpieza del material de vidrio no utilizar detergentes que contengan fosfato. Lavados con ácido clorhídrico diluido y enjuagados cuidadosamente con agua destilada.

b.3. Preparación de la curva de calibración

Colocar en una serie de matraces aforados de 25mL:

Número de matraces	T	I	II	III
Solución salina de fósforo de 2 mgL ⁻¹ (mL)	0	1	2	5
Agua bidestilada (mL)	20	19	18	15
Reactivo indicador (mL)	4	4	4	4
Agua destilada hasta enrase (mL)	25	25	25	25
Correspondencia de fósforo en mgL ⁻¹	0	0,1	0,2	0,5

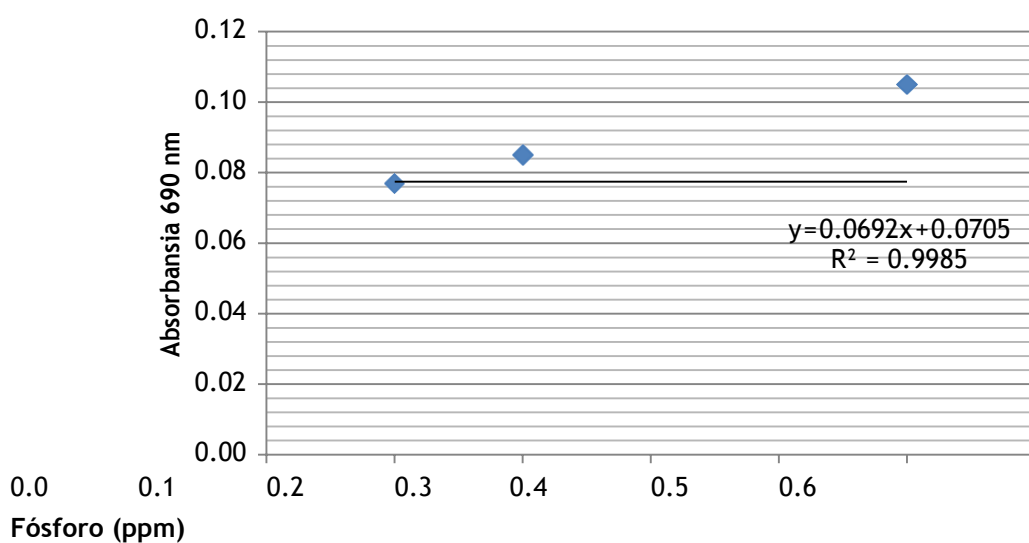
Esperar 20 minutos y efectuar las lecturas en el espectrofotómetro a la longitud de onda de 690nm en cubetas de 10cm. Construir la curva de calibración. Los datos de la absorbancia corregida se analizan mediante regresión lineal con el programa Microsoft Excel 2007 para obtener la ecuación de la recta y el coeficiente (R^2) que deberá ser mayor a 0,9 para demostrar una dispersión homogénea de los valores sobre la recta.

b.4. Procedimiento para cuantificar fosfatos en la muestra

Introducir 20mL de la muestra a analizar en un matraz aforado de 25mL. Añadir 4mL de reactivo indicador, completar el volumen a 25mL con agua destilada. Esperar 20 minutos y efectuar la lectura en el espectrofotómetro de luz visible con una longitud de onda de 690nm. Tener en cuenta el valor leído para el testigo. Obtener los resultados en la curva de calibración. Para una muestra de 20mL, la curva indica el contenido de fósforo expresado en miligramos por litro.

N° de tubo	Fósforo soluble (ppm)	Absorbancia
1	0,1	0,077
2	0,2	0,085
3	0,5	0,105

Una vez obtenida la absorbancia de las tres concentraciones de fosfato dicálcico, introducir los datos en el programa Microsoft Office Excel 2007 y construir la curva patrón de calibración:



En la ecuación obtenida:

$$y = 0,0692x + 0,071$$

Donde:

y: representa la absorbancia captada (variable dependiente)

x: cantidad de fósforo en ppm (variable independiente)

Despejar "x" para obtener la cantidad de fósforo (ppm) producido por cada bacteria nativa.

$$x = \frac{y - 0,071}{0,0692}$$

ANEXO 3

Procedimiento para elaborar la curva de calibración para cuantificar indoles

a. Rectivos

- **Reactivo de Salkowski (en García y Muñoz, 2010)**

H ₂ SO ₄ Concentrado	150mL
Agua destilada	250mL
FeCl ₃ 0,5M en agua destilada	7,5mL

Al momento de la preparación, verter el ácido sulfúrico concentrado en un balón con 250mL de agua destilada y simultáneamente enfriar con chorro de agua constante. Finalmente agregar el cloruro férrico al 0,5M. Utilizar 4mL del reactivo para 1mL de la muestra investigada.

b. **Método Colorimétrico de Salkowski para cuantificar indoles (en Mantilla, 2007)**

b.1. **Fundamento de la reacción de Salkowski**

Mediante la reacción de Salkowski se detectan grupos indol presentes en el medio de cultivo y la concentración de indol es directamente proporcional a la intensidad de color rojo producido. A su vez, el cambio de color es el resultado de una reacción oxidativa con el ácido sulfúrico, donde por medio de una transaminación un grupo amino es sustituido por el cloro proveniente del FeCl₃, originando un compuesto visible de color rosado a rojo en el caso del indol acético. Otras coloraciones indican la presencia de productos intermedios de la síntesis del ácido indol acético, que pueden ser generados a partir del triptófano.

b.2. **Preparación de diluciones a partir de una solución madre de AIA**

Para obtener una curva patrón de ácido indolacético, preparar una solución madre de 100ppm, para lo cual se pesan 10mg de ácido indol acético y se disuelven con unas gotas de NaOH en un matraz aforado a 100mL. A continuación, enrasar con agua bidestilada y agitar hasta homogenizar. Posteriormente se realizan las siguientes diluciones:

N° de tubo	Solución patrón (100 µg mL ⁻¹)	H ₂ O bidestilada [µL]*	Concentración AIA (mg L ⁻¹)
1	0	1000	0
2	20	980	2
3	40	960	4
4	60	940	6
5	80	920	8
6	100	900	10
7	150	850	15
8	200	800	20
9	300	700	30
10	400	600	40
11	500	500	50
12	600	400	60

*1000 µL = 1mL

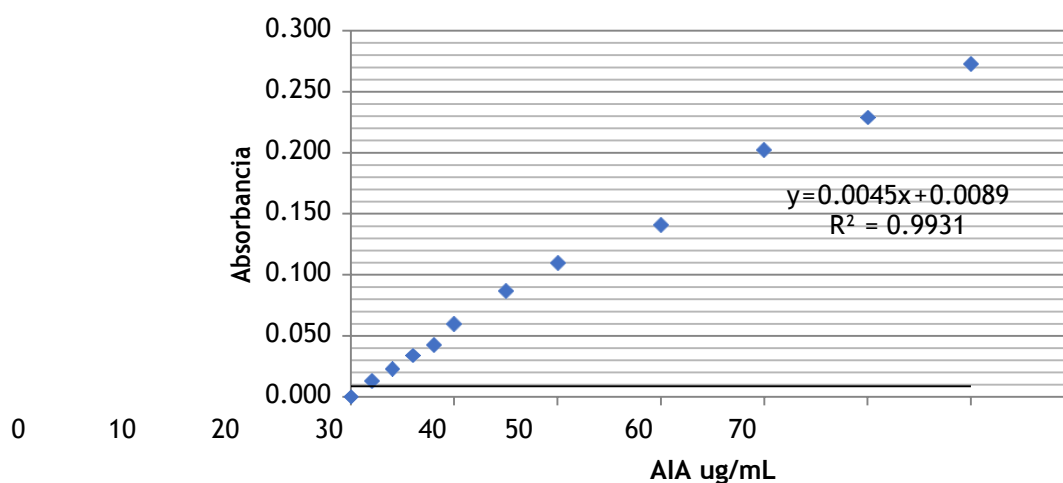
b.3. Procedimiento para la cuantificación de AIA por colorimetría

Obtenidas las concentraciones parciales de AIA extraer de cada tubo 0,4mL de solución, verter en tubos de 13 x 75mm y agregar 1,6mL de reactivo de Salkowski (1:4). Dejar en reposo en oscuridad por 30 minutos. Observar la presencia de una coloración rojiza en los tubos. A continuación, leer la absorbancia de cada dilución en espectrofotómetro a 530nm.

Una vez obtenida la absorbancia en todas las concentraciones de ácido indol acético, corregir los valores y mediante regresión lineal en el programa Microsoft Excel 2007, obtener la ecuación de la recta y el coeficiente (R²) que deberá ser mayor a 0,9 para demostrar una dispersión homogénea de los valores sobre la recta.

N° de tubo	AIA (µg/mL)	Absorbancia
01	0	0,000
02	2	0,013
03	4	0,023
04	6	0,034
05	8	0,043
06	10	0,060
07	15	0,087
08	20	0,110
09	30	0,141
10	40	0,202
11	50	0,229
12	60	0,273

Obtenida la absorbancia de las doce concentraciones de ácido indolacético, introducir los datos en el programa Microsoft Office Excel 2007 y construir la curva patrón de calibración:



En la ecuación obtenida:

$$y = 0,0045x + 0,0089$$

Donde:

y: representa la absorbancia captada (variable dependiente)

x: ácido indol acético en ppm (variable independiente)

Despejar "x" para obtener la cantidad de ácido indol acético (ppm) producido por cada bacteria nativa.

$$x = \frac{y - 0,0089}{0,0045}$$

ANEXO 4
Temperaturas mínima, media y máxima durante el cultivo de
***Solanum lycopersicum* L..**

Fecha	Temperatura mínima (°C)	Temperatura media (°C)	Temperatura máxima (°C)
07/03/2017	27	27	33
08/03/2017	24	25	32
09/03/2017	24	26	32
10/03/2017	24	23	31
11/03/2017	24	25	32
12/03/2017	24	27	31
13/03/2017	23	24	32
14/03/2017	23	25	31
15/03/2017	23	25	30
16/03/2017	24	27	31
17/03/2017	24	25	31
18/03/2017	24	25	32
19/03/2017	24	27	31
20/03/2017	24	27	29
21/03/2017	24	26	31
22/03/2017	25	27	31
23/03/2017	25	27	34
24/03/2017	25	27	32
25/03/2017	24	27	32
26/03/2017	25	27	31
27/03/2017	24	26	31
28/03/2017	24	27	32
29/03/2017	25	29	31

Continuación...

Fecha	Temperatura mínima (°C)	Temperatura media (°C)	Temperatura máxima (°C)
30/03/2017	21	26	31
31/03/2017	23	25	29
01/04/2017	23	26	30
02/04/2017	22	25	30
03/04/2017	22	25	30
04/04/2017	20	24	30
05/04/2017	22	24	28
06/04/2017	21	24	30
07/04/2017	21	26	31
08/04/2017	23	25	30
09/04/2017	20	25	30
10/04/2017	23	25	30
11/04/2017	23	26	31
12/04/2017	22	25	30
13/04/2017	22	26	30
14/04/2017	21	27	39
15/04/2017	21	25	28
16/04/2017	21	25	30
17/04/2017	21	26	28
18/04/2017	22	26	30
19/04/2017	22	26	30
20/04/2017	21	25	30
21/04/2017	21	26	29

ANEXO 4

Temperaturas mínima, media y máxima durante el cultivo de *Solanum lycopersicum* L..

Fecha	Temperatura mínima (°C)	Temperatura media (°C)	Temperatura máxima (°C)
12/05/2017	21	25	30
13/05/2017	21	24	29
14/05/2017	19	24	27
15/05/2017	20	24	27
16/05/2017	20	25	28
17/05/2017	21	24	28
18/05/2017	20	24	26
19/05/2017	21	25	27
20/05/2017	20	25	27
21/05/2017	20	25	27
22/05/2017	20	25	28
23/05/2017	20	25	27
24/05/2017	18	23	27
25/05/2017	19	23	25
26/05/2017	20	26	27
27/05/2017	20	24	26
28/05/2017	20	24	26
29/05/2017	19	24	26
30/05/2017	20	23	25
31/05/2017	20	23	25
01/06/2017	20	23	26
02/06/2017	19	24	26
03/06/2017	17	23	25
04/06/2017	18	23	25
05/06/2017	19	23	25
06/06/2017	19	24	27
07/06/2017	19	24	27
08/06/2017	16	23	26
09/06/2017	18	23	25
10/06/2017	18	23	25

Continuación...

Fecha	Temperatura mínima (°C)	Temperatura media (°C)	Temperatura máxima (°C)
11/06/2017	19	22	24
12/06/2017	18	23	25
13/06/2017	17	23	26
14/06/2017	18	23	25
15/06/2017	18	23	25
16/06/2017	19	22	24
17/06/2017	18	21	23
18/06/2017	19	21	22
19/06/2017	17	23	26
20/06/2017	19	23	26
21/06/2017	18	23	25
22/06/2017	19	21	24
23/06/2017	18	20	23
24/06/2017	18	22	24
25/06/2017	19	23	25
26/06/2017	18	20	21
27/06/2017	18	21	24
28/06/2017	18	20	23
29/06/2017	18	21	24
30/06/2017	18	21	24
01/07/2017	17	22	24
02/07/2017	17	23	25
03/07/2017	16	23	25
04/07/2017	17	21	22
05/07/2017	18	21	24
06/07/2017	17	22	24
07/07/2017	17	19	21
08/07/2017	17	22	24
09/07/2017	17	22	24
10/07/2017	18	20	21
11/07/2017	18	20	21
12/07/2017	19	21	22
13/07/2017	17	20	22

Continuación...

Fecha	Temperatura mínima (°C)	Temperatura media (°C)	Temperatura máxima (°C)
14/07/2017	17	21	24
15/07/2017	17	21	24
16/07/2017	16	21	24
17/07/2017	17	22	24
18/07/2017	15	21	24
19/07/2017	17	22	24
20/07/2017	17	21	23
21/07/2017	18	21	24
22/07/2017	17	22	24
23/07/2017	17	21	22
24/07/2017	17	19	21
25/07/2017	18	21	24
26/07/2017	16	21	24
27/07/2017	16	20	23
28/07/2017	17	20	23
29/07/2017	17	21	24
30/07/2017	17	21	24
31/07/2017	22	26	30
01/08/2017	18	21	24
02/08/2017	17	21	24
03/08/2017	17	19	20
04/08/2017	17	20	22
05/08/2017	17	21	23
06/08/2017	16	21	23
07/08/2017	16	20	21
08/08/2017	16	21	23
09/08/2017	17	22	24
10/08/2017	18	22	25
11/08/2017	17	21	24
12/08/2017	16	22	24
13/08/2017	16	18	22
14/08/2017	17	19	22
15/08/2017	16	20	23

Continuación...

Fecha	Temperatura mínima (°C)	Temperatura media (°C)	Temperatura máxima (°C)
16/08/2017	16	21	23
17/08/2017	16	21	22
18/08/2017	16	20	21
19/08/2017	16	21	23
20/08/2017	16	20	21
21/08/2017	17	20	21
22/08/2017	17	22	24
23/08/2017	17	20	21
24/08/2017	17	21	23
25/08/2017	17	21	23
26/08/2017	17	22	24
27/08/2017	16	21	23
28/08/2017	16	21	23
29/08/2017	16	21	24
30/08/2017	16	20	23
31/08/2017	16	22	24
01/09/2017	16	21	23
02/09/2017	16	22	24
03/09/2017	16	22	24
04/09/2017	16	21	23
05/09/2017	16	21	23
06/09/2017	16	21	23
07/09/2017	16	22	24
08/09/2017	17	22	24
09/09/2017	17	22	24
10/09/2017	16	21	23
11/09/2017	17	22	23
12/09/2017	16	21	23
13/09/2017	16	21	23
14/09/2017	16	22	24
15/09/2017	16	20	23
16/09/2017	16	20	23
17/09/2017	16	21	24

Continuación...

Fecha	Temperatura mínima (°C)	Temperatura media (°C)	Temperatura máxima (°C)
18/09/2017	16	23	25
19/09/2017	16	21	23
20/09/2017	16	18	20
21/09/2017	15	18	22
22/09/2017	15	18	22
23/09/2017	16	19	22
24/09/2017	16	21	23
25/09/2017	16	21	24
26/09/2017	16	21	23
27/09/2017	16	22	24
28/09/2017	16	21	23
29/09/2017	16	20	22
30/09/2017	16	20	22
01/10/2017	15	20	22
02/10/2017	16	20	22
03/10/2017	16	21	23
04/10/2017	16	20	21
05/10/2017	16	21	23
06/10/2017	16	21	23
07/10/2017	16	21	23
08/10/2017	16	20	22
09/10/2017	15	19	21
10/10/2017	15	19	21
11/10/2017	15	20	22
12/10/2017	16	21	23
13/10/2017	16	22	24
14/10/2017	16	21	23
15/10/2017	16	22	24
16/10/2017	15	22	24
17/10/2017	16	21	23
18/10/2017	15	19	22

ANEXO 5

Fertilizante N:P:K = 180:100:120 = urea : fosfato diamónico : sulfato de potasio

1. Fosfato diamónico FDA: 18%N; 46%P (P_1O_5)

100Kg FDA \rightarrow 46 UP

X \rightarrow 100 UP

$$X = \frac{100 \times 100}{46} = \boxed{217,3\text{Kg FDA ha}^{-1}}$$

2. Urea 180 – 39,111 = 140,889 UN

Urea: 46% N

100Kg urea \rightarrow 46 UN

X \rightarrow 140,889 UN

$$X = \frac{100 \times 140,889}{46} = \boxed{306,2\text{Kg urea ha}^{-1}}$$

3. Sulfato de potasio: 50% K

100Kg sulfato de potasio \rightarrow 50 UK

X \rightarrow 120 UK

$$X = \frac{100 \times 120}{50} = \boxed{240\text{Kg sulfato de potasio ha}^{-1}}$$

Radio de la maceta = 8,6cm

Área circunferencia = $\pi \cdot r^2$

$$A = (3.14) (8.6)^2$$

$$\boxed{A = 232\text{cm}^2} \rightarrow 0,0232 \text{ m}^2$$

Fosfato diamónico: 217,3Kg FDA ha^{-1}

217,3Kg \rightarrow 10 000 m^2

X \rightarrow 0,0232 m^2

$$X = 0,000504136\text{Kg} = \boxed{0,504136\text{g}}$$

Urea: 306,2Kg urea ha⁻¹

306,2Kg → 10 000 m²

X → 0,0232m²

X = 0,000710384Kg = 0,710384g

Sulfato de potasio: 240Kg sulfato de potasio ha⁻¹

240Kg → 10 000 m²

X → 0,0232m²

X = 0,0005568Kg = 0,5568g

ANEXO 6

Prueba de normalidad, homogeneidad de varianza y análisis de varianza de la altura de *Solanum lycopersicum* L.. a los 15 días después de la inoculación de 15 cultivos de *Bacillus* spp.

Prueba de Normalidad

ALTURA A LOS 15 DÍAS

Tratamientos	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
Testigo Absoluto	,935	6	,617
Testigo químico	,765	6	,028
<i>Bacillus</i> sp.78.5	,860	6	,189
<i>Bacillus</i> sp.70.1	,853	6	,165
<i>Bacillus</i> sp. 2.1	,809	6	,071
<i>Bacillus</i> sp.52.3	,983	6	,965
<i>Bacillus</i> sp.72.4	,912	6	,452
<i>Bacillus</i> sp.77.5	,863	6	,201
<i>Bacillus</i> sp.55.5	,888	6	,307
<i>Bacillus</i> sp.56.3	,881	6	,273
<i>Bacillus</i> sp.45.6	,885	6	,294
<i>Bacillus</i> sp.66.5	,837	6	,124
<i>Bacillus</i> sp.11.4	,858	6	,181
<i>Bacillus</i> sp.85.7	,914	6	,460
<i>Bacillus</i> sp.94.1	,911	6	,442
<i>Bacillus</i> sp.12.4	,967	6	,873
<i>Bacillus</i> sp.81.1	,800	6	,059

Prueba de homogeneidad de varianzas

ALTURA A LOS 15 DÍAS

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
1,225	15	80	0,053

Anova de un Factor

ALTURA A LOS 15 DÍAS

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	217,695	15	14,513	38,798	0,000
Intra-grupos	29,925	80	0,374		
Total	247,620	95			

ANEXO 7

Prueba de normalidad, homogeneidad de varianza y análisis de varianza de la altura de *Solanum lycopersicum* L. a los 30 días después de la inoculación de 15 cultivos de *Bacillus* spp.

Prueba de Normalidad

ALTURA A LOS 30 DÍAS

Tratamientos	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
Testigo Absoluto	,975	6	,926
Testigo químico	,907	6	,415
<i>Bacillus</i> sp.78.5	,881	6	,276
<i>Bacillus</i> sp.70.1	,851	6	,159
<i>Bacillus</i> sp. 2.1	,824	6	,095
<i>Bacillus</i> sp.52.3	,898	6	,364
<i>Bacillus</i> sp.72.4	,972	6	,908
<i>Bacillus</i> sp.77.5	,929	6	,572
<i>Bacillus</i> sp.55.5	,922	6	,518
<i>Bacillus</i> sp.56.3	,896	6	,351
<i>Bacillus</i> sp.45.6	,934	6	,614
<i>Bacillus</i> sp.66.5	,851	6	,161
<i>Bacillus</i> sp.11.4	,942	6	,677
<i>Bacillus</i> sp.85.7	,883	6	,283
<i>Bacillus</i> sp.94.1	,888	6	,306
<i>Bacillus</i> sp.12.4	,942	6	,678
<i>Bacillus</i> sp.81.1	,929	6	,576

Prueba de homogeneidad de varianzas

ALTURA A LOS 30 DÍAS

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
1,560	15	80	0,104

Anova de un Factor

ALTURA A LOS 30 DÍAS

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	1726,783	15	115,119	392,953	0,000
Intra-grupos	23,437	80	0,293		
Total	1750,220	95			

ANEXO 8

Prueba de normalidad, homogeneidad de varianza y análisis de varianza de la altura de *Solanum lycopersicum* L. a los 45 días después de la inoculación de 15 cultivos de *Bacillus* spp.

Prueba de Normalidad

ALTURA A LOS 45 DÍAS

Tratamientos	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
Testigo Absoluto	,974	6	,918
Testigo químico	,960	6	,823
<i>Bacillus</i> sp.78.5	,898	6	,360
<i>Bacillus</i> sp.70.1	,940	6	,656
<i>Bacillus</i> sp. 2.1	,961	6	,830
<i>Bacillus</i> sp.52.3	,908	6	,421
<i>Bacillus</i> sp.72.4	,983	6	,967
<i>Bacillus</i> sp.77.5	,964	6	,850
<i>Bacillus</i> sp.55.5	,878	6	,258
<i>Bacillus</i> sp.56.3	,994	6	,996
<i>Bacillus</i> sp.45.6	,866	6	,209
<i>Bacillus</i> sp.66.5	,997	6	,999
<i>Bacillus</i> sp.11.4	,891	6	,324
<i>Bacillus</i> sp.85.7	,871	6	,231
<i>Bacillus</i> sp.94.1	,717	6	,009
<i>Bacillus</i> sp.12.4	,881	6	,274
<i>Bacillus</i> sp.81.1	,838	6	,125

Prueba de homogeneidad de varianzas

ALTURA A LOS 45 DÍAS

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
1,694	15	80	0,069

Anova de un Factor

ALTURA A LOS 45 DÍAS

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	2987,310	15	199,154	644,772	0,000
Intra-grupos	24,710	80	0,309		
Total	3012,020	95			

ANEXO 9

Prueba de normalidad, homogeneidad de varianza y análisis de varianza de la altura de *Solanum lycopersicum* L.. a los 60 días después de la inoculación de 15 cultivos de *Bacillus* spp.

Prueba de Normalidad

ALTURA A LOS 60 DÍAS

Tratamientos	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
Testigo Absoluto	,951	6	,745
Testigo químico	,917	6	,487
<i>Bacillus</i> sp.78.5	,855	6	,171
<i>Bacillus</i> sp.70.1	,813	6	,077
<i>Bacillus</i> sp. 2.1	,906	6	,413
<i>Bacillus</i> sp.52.3	,984	6	,968
<i>Bacillus</i> sp.72.4	,880	6	,269
<i>Bacillus</i> sp.77.5	,889	6	,310
<i>Bacillus</i> sp.55.5	,927	6	,559
<i>Bacillus</i> sp.56.3	,923	6	,529
<i>Bacillus</i> sp.45.6	,851	6	,161
<i>Bacillus</i> sp.66.5	,989	6	,985
<i>Bacillus</i> sp.11.4	,929	6	,574
<i>Bacillus</i> sp.85.7	,775	6	,035
<i>Bacillus</i> sp.94.1	,865	6	,209
<i>Bacillus</i> sp.12.4	,880	6	,268
<i>Bacillus</i> sp.81.1	,842	6	,135

Prueba de homogeneidad de varianzas

ALTURA A LOS 60 DÍAS

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
1,265	15	80	0,244

Anova de un Factor

ALTURA A LOS 60 DÍAS

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	3043,267	15	202,884	581,574	0,000
Intra-grupos	27,908	80	0,349		
Total	3071,175	95			

ANEXO 10

Prueba de normalidad, homogeneidad de varianza y análisis de varianza de la longitud de raíces de *Solanum lycopersicum* L. a los 60 días después de la inoculación de 15 cultivos de *Bacillus* spp.

Prueba de Normalidad

LONGITUD DE RAÍCES A LOS 60 DÍAS

Tratamientos	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
Testigo Absoluto	,874	3	,306
<i>Bacillus</i> sp.78.5	,998	3	,908
<i>Bacillus</i> sp.70.1	,991	3	,817
<i>Bacillus</i> sp. 2.1	,988	3	,788
<i>Bacillus</i> sp.52.3	,888	3	,350
<i>Bacillus</i> sp.72.4	,999	3	,946
<i>Bacillus</i> sp.77.5	1,000	3	,980
<i>Bacillus</i> sp.55.5	,988	3	,794
<i>Bacillus</i> sp.56.3	,937	3	,517
<i>Bacillus</i> sp.45.6	,855	3	,253
<i>Bacillus</i> sp.66.5	,844	3	,225
<i>Bacillus</i> sp.11.4	,828	3	,182
<i>Bacillus</i> sp.85.7	,877	3	,315
<i>Bacillus</i> sp.94.1	,938	3	,518
<i>Bacillus</i> sp.12.4	1,000	3	,985
<i>Bacillus</i> sp.81.1	,917	3	,443

Prueba de homogeneidad de varianzas

LONGITUD DE RAÍCES A LOS 60 DÍAS

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
2,166	15	32	0,033

Anova de un Factor

LONGITUD DE RAÍCES A LOS 60 DÍAS

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	1201,248	15	80,083	395,868	0,000
Intra-grupos	6,474	32	0,202		
Total	1207,721	47			

ANEXO 11

Prueba de normalidad, homogeneidad de varianza y análisis de varianza de la altura de *Solanum lycopersicum* L. a los 15 días después de la inoculación de *Bacillus* spp. seleccionadas

Prueba de Normalidad

ALTURA A LOS 15 DÍAS

Tratamientos	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
Testigo absoluto	,941	6	,668
Testigo químico	,941	6	,668
<i>Bacillus</i> sp.55.5	,891	6	,324
<i>Bacillus</i> sp.56.3	,935	6	,621
<i>Bacillus</i> sp.66.5	,982	6	,960
<i>Bacillus</i> sp.72.4	,594	6	,000
<i>Bacillus</i> sp.77.5	,973	6	,909

Prueba de homogeneidad de varianzas

ALTURA A LOS 15 DÍAS

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
,607	6	35	,723

Anova de un Factor

ALTURA A LOS 15 DÍAS

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	57,201	6	9,534	28,707	,000
Intra-grupos	11,623	35	,332		
Total	68,825	41			

ANEXO 12

Prueba de normalidad, homogeneidad de varianza y análisis de varianza de la altura de *Solanum lycopersicum* L. a los 30 días después de la inoculación de *Bacillus* spp. seleccionadas

Prueba de Normalidad

ALTURA A LOS 30 DÍAS

Tratamientos	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
Testigo absoluto	,987	6	,981
Testigo químico	,783	6	,041
<i>Bacillus</i> sp.55.5	,865	6	,207
<i>Bacillus</i> sp.56.3	,886	6	,296
<i>Bacillus</i> sp.66.5	,868	6	,219
<i>Bacillus</i> sp.72.4	,701	6	,006
<i>Bacillus</i> sp.77.5	,874	6	,242

Prueba de homogeneidad de varianzas

ALTURA A LOS 30 DÍAS

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
4,364	6	35	,002

Anova de un Factor

ALTURA A LOS 30 DÍAS

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	296,156	6	49,359	16,627	,000
Intra-grupos	103,905	35	2,969		
Total	400,061	41			

ANEXO 13

Prueba de normalidad, homogeneidad de varianza y análisis de varianza de la altura de *Solanum lycopersicum* L. a los 45 días después de la inoculación de *Bacillus* spp. seleccionadas

Prueba de Normalidad

ALTURA A LOS 45 DÍAS

Tratamientos	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
Testigo absoluto	,901	6	,383
Testigo químico	,792	6	,050
<i>Bacillus</i> sp.55.5	,778	6	,037
<i>Bacillus</i> sp.56.3	,895	6	,343
<i>Bacillus</i> sp.66.5	,883	6	,283
<i>Bacillus</i> sp.72.4	,696	6	,006
<i>Bacillus</i> sp.77.5	,895	6	,348

Prueba de homogeneidad de varianzas

ALTURA A LOS 45 DÍAS

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
,983	6	35	,452

Anova de un Factor

ALTURA A LOS 45 DÍAS

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	338,736	6	56,456	237,400	,000
Intra-grupos	8,323	35	,238		
Total	347,059	41			

ANEXO 14

Prueba de normalidad, homogeneidad de varianza y análisis de varianza de la altura de *Solanum lycopersicum* L. a los 60 días después de la inoculación de *Bacillus* spp. seleccionadas

Prueba de Normalidad

ALTURA A LOS 60 DÍAS

Tratamientos	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
Testigo absoluto	,907	6	,418
Testigo químico	,754	6	,022
<i>Bacillus</i> sp.55.5	,915	6	,473
<i>Bacillus</i> sp.56.3	,807	6	,067
<i>Bacillus</i> sp.66.5	,897	6	,356
<i>Bacillus</i> sp.72.4	,759	6	,024
<i>Bacillus</i> sp.77.5	,781	6	,040

Prueba de homogeneidad de varianzas

ALTURA A LOS 60 DÍAS

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
3,539	6	35	,008

Anova de un Factor

ALTURA A LOS 60 DÍAS

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	501,021	6	83,504	226,765	,000
Intra-grupos	12,888	35	,368		
Total	513,910	41			

ANEXO 15

Prueba de normalidad, homogeneidad de varianza y análisis de varianza de la altura de *Solanum lycopersicum* L. a los 75 días después de la inoculación de *Bacillus* spp. seleccionadas

Prueba de Normalidad

ALTURA A LOS 75 DÍAS

Tratamientos	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
Testigo absoluto	,923	6	,524
Testigo químico	,852	6	,162
<i>Bacillus</i> sp.55.5	,872	6	,234
<i>Bacillus</i> sp.56.3	,966	6	,864
<i>Bacillus</i> sp.66.5	,865	6	,207
<i>Bacillus</i> sp.72.4	,885	6	,291
<i>Bacillus</i> sp.77.5	,878	6	,260

Prueba de homogeneidad de varianzas

ALTURA A LOS 75 DÍAS

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
1,288	6	35	,288

Anova de un Factor

ALTURA A LOS 75 DÍAS

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	2326,670	6	387,778	1222,357	,000
Intra-grupos	11,103	35	,317		
Total	2337,773	41			

ANEXO 16

Prueba de normalidad, homogeneidad de varianza y análisis de varianza de la altura de *Solanum lycopersicum* L. a los 90 días después de la inoculación de *Bacillus* spp. seleccionadas

Prueba de Normalidad

ALTURA A LOS 90 DÍAS

Tratamientos	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
Testigo absoluto	,915	6	,473
Testigo químico	,936	6	,625
<i>Bacillus</i> sp.55.5	,752	6	,021
<i>Bacillus</i> sp.56.3	,889	6	,315
<i>Bacillus</i> sp.66.5	,792	6	,049
<i>Bacillus</i> sp.72.4	,762	6	,026
<i>Bacillus</i> sp.77.5	,948	6	,722

Prueba de homogeneidad de varianzas

ALTURA A LOS 90 DÍAS

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
3,609	6	35	,007

Anova de un Factor

ALTURA A LOS 90 DÍAS

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	1842,069	6	307,012	1170,948	,000
Intra-grupos	9,177	35	,262		
Total	1851,246	41			