

# EFECTO DE BACTERIAS RIZOSFÉRICAS DE *Prosopis limensis* BENTH. EN EL DESARROLLO DE *Solanum lycopersicum* L. BAJO ESTRÉS SALINO

Carmen Calderón-Arias<sup>1</sup>, Kiara Carmen-Calle<sup>1</sup>, Carmen Carreño-Farfán<sup>1,2</sup>, César Estela-Campos<sup>1</sup>, Félix M. Carbajal-Gamarra<sup>2</sup>, Ada P. Barturén-Quispe<sup>1</sup>, Haydeé Y. Chirinos-Cuadros<sup>1</sup>, y Marilín N. Sánchez-Purihuamán<sup>1</sup>.

## RESUMEN

El crecimiento y desarrollo del cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es afectado por la salinidad. La investigación se realizó con el objetivo de determinar el efecto de bacterias rizosféricas de algarrobo (*Prosopis limensis* Benth) en el desarrollo de tomate, bajo salinidad. Se empleó un diseño experimental completamente aleatorio con los siguientes cuatro tratamientos: testigo absoluto (no inoculado) (T1), testigo químico con 180 kg·ha<sup>-1</sup> N, 100 kg·ha<sup>-1</sup> P, 120 kg·ha<sup>-1</sup> K (no inoculado) (T2), y dos tratamientos de bacterias con actividad de la enzima 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) desaminasa (T3 y T4) a una concentración bacteriana de 10<sup>8</sup> cel·mL<sup>-1</sup>. Éstas se aislaron del suelo rizosférico de 37 algarrobos y se seleccionaron aquellas con actividad ACCD. Las dos bacterias con el mayor incremento de la germinación de semillas de plantas indicadoras (rábano), irrigadas con agua salina (80 mM NaCl), fueron inoculadas en semillas y en las raíces de tomate cv. Río Grande antes del trasplante en un sustrato con conductividad eléctrica de 10,28 dS·m<sup>-1</sup>. De la rizósfera de algarrobos se aislaron 388 bacterias, de las cuales 72,16 % fueron Gram positivas y 27,84 % Gram negativas. El 4,12 % presentó actividad ACCD y promovieron entre 89,72 y 100 % de germinación en las semillas de las plantas indicadoras frente a 32,75 % en las semillas no inoculadas, en medio salino. Se identificaron y seleccionaron *Bacillus* spp. que promovieron tasas de germinación de 34,66 y 33,0 día<sup>-1</sup> en medio salino frente a 32,11 día<sup>-1</sup> en las semillas no inoculadas en medio no salino, y de 12,29 día<sup>-1</sup> en las no inoculadas en medio salino. Estas bacterias incrementaron la altura, nivel de clorofila, tasa potasio/sodio, número y peso de frutos de las plantas de tomate, en comparación con el testigo no inoculado. Se concluyó que *Bacillus* spp. pueden constituir biofertilizantes para favorecer al cultivo de tomate en condiciones de salinidad.

**Palabras clave adicionales:** ACC desaminasa, *Bacillus*, promoción de crecimiento, salinidad, tomate

## ABSTRACT

**Effect of rhizospheric bacteria from *Prosopis limensis* Benth. on the development of *Solanum lycopersicum* L. under salt stress**

The growth and development of the *Solanum lycopersicum* "tomato" crops is affected by salinity. The objective of the research was to determine the effect of rhizospheric bacteria of *Prosopis limensis* Benth. "carob" on the development of tomato under salinity. The approach was quantitative and the experimental design completely randomized with four treatments: control (non-inoculated, T1), chemical control with 180 kg·ha<sup>-1</sup> N, 100 kg·ha<sup>-1</sup> P, 120 kg·ha<sup>-1</sup> K (T2), and two treatments of bacteria with 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase enzyme activity (T3, T4) at 10<sup>8</sup> cel·mL<sup>-1</sup>. These were isolated from the rhizospheric soil of 37 carob trees and those with ACCD activity were selected. The two bacteria with the greatest increase on seed germination of an indicator plant (radish) irrigated with saline water (80mM NaCl) were inoculated on tomato cv. Río Grande seeds and roots before transplanting in a substrate with electrical conductivity of 10.28 dS·m<sup>-1</sup>. In the rhizosphere of carob trees, 388 Gram-positive (72.16 %) and Gram-negative (27.84 %) bacteria were isolated. The 4.12 % showed ACCD activity and achieved from 89.72 to 100 % germination of radish seeds compared to 32.75 % in the non-inoculated seeds, in saline conditions. *Bacillus* spp. promoting germination rates of 34.66 and 33.0 day<sup>-1</sup> versus 32.11 day<sup>-1</sup> in the non-inoculated seeds in non-saline conditions, and 12.29 day<sup>-1</sup> in the non-inoculated seeds in saline conditions were identified and selected. These bacteria increased the height, chlorophyll content, potassium/sodium ratio, number and fruit weight of tomato plants compared to the control. It was concluded that *Bacillus* spp. can constitute biofertilizers to favor tomato cultivation under salinity.

**Additional keywords:** ACC deaminase, *Bacillus*, growth promotion, salinity, tomato

## INTRODUCCIÓN

El crecimiento y desarrollo de los cultivos

como el tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es afectado en los suelos salinos (Welle y Mauter, 2017), es decir, aquellos que tienen una elevada

Recibido: Diciembre 3, 2022

Aceptado: Octubre 13, 2023

<sup>1</sup> Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque-Perú. e-mail: ccalderona@unprg.edu.pe; kiara\_16\_sagitario@hotmail; ccarreno@unprg.edu.pe; cestela@unprg.edu.pe; abarturen@unprg.edu.pe; hchirinos@unprg.edu.pe; msanchezpu@unprg.edu.pe (autor de correspondencia)

<sup>2</sup> Energy Engineering, University of Brasilia. Leste, Brasilia, Brazil. e-mail: fcarbajal@unb.br;

concentración de sales solubles expresada como conductividad eléctrica del extracto de saturación (CEe). La salinidad es muy fuerte cuando supera un valor de  $8 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$  y disminuye el potencial osmótico de la solución del suelo e induce estrés hídrico, toxicidad por la elevada concentración de sodio y cloruro y desbalance nutricional (Yue et al., 2022).

Las plantas de tomate son glicófitas, silvestres o cultivadas y sensibles a la salinidad. El umbral de tolerancia como CEe es de  $2,5 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$  (Welle y Mauter, 2017) y el rendimiento disminuye 10 % por cada unidad por encima del umbral. La salinidad afecta en mayor grado la germinación, el número de hojas y el área foliar (Chakma et al., 2019; Sanjuan et al., 2015) y a su vez reduce la altura de las plantas, el número de ramas, el diámetro del tallo (Moles et al., 2019; Ahmed et al., 2017), el contenido de licopeno, calcio y potasio (Moles et al., 2019), el número de frutos y el peso de frutos (Ahmed et al., 2017).

En las plantas desarrolladas en suelos salinos se genera el estrés por etileno que afecta en forma negativa el crecimiento y rendimiento vegetal; no obstante, el nivel de esta fitohormona puede ser regulado por las denominadas rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR), con actividad de la enzima 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) desaminasa (ACCD) que transforma el precursor (ACC) del etileno en alfa cetobutirato y amonio que pueden ser metabolizados (Mehmood et al., 2018; Sathya et al., 2017).

Además de la actividad ACCD, las PGPR que favorecen el desarrollo vegetal bajo salinidad presentan mecanismos como la formación de solutos compatibles u osmoprotectantes; exopolisacáridos que protegen y retienen la humedad, regulando la expresión de los transportadores de iones que disminuyen la absorción de  $\text{Na}^+$  (Kumawat et al., 2022), la producción y regulación del nivel de hormonas (Kim et al., 2017) y antioxidantes, la fijación de nitrógeno (Misra y Chauhan, 2020) y la solubilización de fosfatos que aumentan la disponibilidad de nutrientes. El efecto positivo de las bacterias con actividad ACCD se ha reportado en tomate (Egamberdieva et al., 2017), *Zea mays* “maíz”, (Misra y Chauhan, 2020) y *Hordeum vulgare* “cebada” (Azadikhaj et al., 2019).

*Prosopis limensis* Bent. “algarrobo” es una especie adaptada a las regiones con prolongada sequía (Lazo, 2018), condición que también favorece el estrés por etileno en las plantas. Los algarrobos se mantienen bajo condiciones desfavorables debido a sus mecanismos de adaptación y también a los microorganismos de rizósfera con actividad ACCD (Khan et al., 2015; Piccoli et al., 2010). Éstos deben ser aislados y caracterizados para utilizarlos como biofertilizantes en plantas cultivadas en condiciones de salinidad. La investigación tuvo como objetivo determinar el efecto de dos bacterias rizosféricas de *P. limensis* Benth en el desarrollo de *Solanum lycopersicum* L. bajo estrés salino.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se desarrolló en dos etapas: una descriptiva y otra explicativa, en el invernadero de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú. En la investigación descriptiva la población estuvo constituida por el suelo de la rizósfera de algarrobos en el distrito de San José, Lambayeque y se investigaron 37 muestras al azar. Por su parte, en la explicativa la población fue de 48 plantas de tomate, en cuatro tratamientos, seis repeticiones y dos plantas por unidad experimental. El ensayo se condujo bajo un diseño experimental completamente aleatorio (DCA) con cuatro tratamientos, correspondientes a un testigo no inoculado (T1), un testigo químico con  $180 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1} \text{ N}$ ,  $100 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1} \text{ P}$ ,  $120 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1} \text{ K}$  (no inoculado) (T2), y dos tratamientos con bacterias: *Bacillus* sp.13 (T3) y *Bacillus* sp.21 (T4), a una concentración de  $10^8 \text{ cel}\cdot\text{mL}^{-1}$ .

El muestreo de suelo de la rizósfera para coleccionar las rizobacterias se realizó en 37 árboles de algarrobo, con un diámetro de tallo de 0,2-0,3 m, establecidos en un bosque artificial en el distrito de San José a  $6^{\circ}45'35''$  de latitud sur y  $79^{\circ}57'41''$  de longitud oeste. El análisis del suelo mostró una conductividad eléctrica (CEe) de  $23,68 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$  y un porcentaje de sodio intercambiable (PSI) de 14,65. En cada árbol, a 0,60 m de profundidad, se colectaron dos muestras de raíces con suelo de la rizósfera adherido, las cuales se deshidrataron por 72 horas y golpearon contra la mano para recuperar el suelo rizosférico (Albdaiwi et al., 2020).

El aislamiento de las rizobacterias se realizó

con 1 g de cada muestra de suelo que se mezcló con 9 mL de solución salina 5 % NaCl (0,85 M), y de la suspensión obtenida se tomó una alícuota para la siembra en agar nutritivo suplementado con NaCl 0,85 M y 100 mg·L<sup>-1</sup> de nistatina (Szymanska et al., 2016). Para la obtención de los cultivos puros de bacterias, después de la incubación a 30 °C en aerobiosis durante 72 horas, las colonias desarrolladas se agruparon según su forma y se purificaron por cultivo en el mismo medio por tres veces consecutivas. Luego se seleccionó una colonia representativa de cada morfotipo, se realizaron coloraciones de Gram y se sembraron en agar tripticosa soya, ATS (Khan et al., 2015).

La actividad ACCD se determinó cultivando las rizobacterias en 5 mL del medio mínimo Dworkin & Foster (DF) con NaCl 0,85 M y 3 mM de ACC (medio selectivo) y en 5 mL del medio DF con NaCl 0,85 M y 2 g·L<sup>-1</sup> de sulfato de amonio (control positivo). Después de 48 horas de incubación a 30 °C, se leyó la densidad óptica en un espectrofotómetro de luz visible (Tenso Med NV-203) a 405 nm. Las bacterias con actividad ACCD fueron aquellas cuya densidad óptica del medio selectivo fue igual o mayor a la del control positivo (Azadikhah et al., 2019). En *Bacillus* sp.13 (T3) la densidad óptica promedio del control positivo fue 1,200 y del medio selectivo 1,234. En *Bacillus* sp. 21 (T4) el control positivo 1,008 y el medio selectivo 1,020.

El efecto de las rizobacterias en la germinación de semillas de rábano (*Raphanus sativus* L.) (seleccionadas por su rapidez de germinación), bajo estrés salino, se determinó en placas de Petri previamente acondicionadas con cuatro capas de papel de filtro humedecido con una solución 80 mM NaCl (CE = 6,94 dS·m<sup>-1</sup>) y se consideró como testigo tres placas con agua destilada a las que no se les agregó la solución de NaCl (semillas en medio no salino). El inóculo fue una suspensión de bacterias centrifugada y con la concentración ya señalada (10<sup>8</sup> cel·mL<sup>-1</sup>). Las semillas de rábano se desinfectaron con una solución 1 % de hipoclorito de sodio comercial por 5 minutos y se enjuagaron con agua destilada estéril. Luego se inocularon con 1 mL de la suspensión bacteriana, se mantuvieron a 30 °C por 10 horas y se acondicionaron en placas de Petri (40 semillas por placa). A partir de las 48 horas se contaron las semillas germinadas (radícula > 2

mm) y se calculó el porcentaje de germinación durante 12 días. Asimismo, se calculó la tasa de germinación  $GR = p_1/t_1 + p_2/t_2 + \dots + p_n/t_n$ , donde p<sub>1</sub>, p<sub>2</sub>...es el porcentaje de semillas germinadas en el tiempo t<sub>1</sub>, t<sub>2</sub>...en días (Pire y Vargas, 2019).

El efecto de las dos rizobacterias (tratamientos T3 y T4) en el crecimiento y rendimiento de tomate cultivar Río Grande se determinó en condiciones de invernadero. Previamente, las dos rizobacterias fueron identificadas a nivel de género mediante las pruebas de catalasa, oxidasa, motilidad, producción de acidez a partir de la glucosa, hidrólisis del almidón, gelatina y urea, utilización del citrato y reducción de nitratos a nitritos (Leoncio y Botelho, 2017).

En el invernadero las plantas de tomate fueron cultivadas en contenedores de 6 L de capacidad, con una mezcla de suelo salino: arena (9,5:0,5) con una CEE de 10,28 dS·m<sup>-1</sup> y PSI de 9,58 %. El suelo se esterilizó en un autoclave (121 °C) durante 3 horas. En un ensayo previo en similares condiciones (Sánchez et al., 2023) se determinó que en este suelo salino hubo un 53,69 % de disminución en la altura de la planta a los 60 días, en comparación con las plantas de tomate cultivadas en suelo no salino.

Las rizobacterias se cultivaron en caldo DF con NaCl 0,85 M y ACC 3 mM por 24 horas, la biomasa se obtuvo por centrifugación y la concentración se estandarizó por turbidimetría a 10<sup>8</sup> cel·mL<sup>-1</sup>. Las semillas de tomate se inocularon por inmersión en la suspensión bacteriana por 3 horas y luego se sembraron en vasos de poliestireno expandido con 425 g de la mezcla suelo:arena (cuatro semillas por vaso). Transcurridos 30 días se extrajeron las dos plántulas más vigorosas en cada vaso, sus raíces se inocularon por inmersión en la suspensión bacteriana por 3 horas y se trasplantaron a los contenedores. El fertilizante químico se aplicó como urea fraccionada a la siembra y 30 días después, superfosfato triple y sulfato de potasio, ambos en el suelo a la siembra. Antes del trasplante (30 días), a los 45 y 60 días se registró la altura, al 50 % de floración se determinó por triplicado el contenido relativo de clorofila en las hojas de la parte media de la planta, mediante un clorofilómetro (Minolta SPAD- 502 Plus). Los valores obtenidos (SPAD) se transformaron según clorofila total (mg·g<sup>-1</sup>) = [0,0306 (x) + 0,1443]

(Jiang et al., 2017).

A los 100 días después del trasplante se realizó la primera cosecha y a los 110 días la segunda cosecha. Los frutos se pesaron y se agruparon según Balderas et al. (2021) en: primera calidad ( $\geq 100$  g), segunda calidad (entre 60 y 99 g), y tercera calidad ( $< 59$  g). Asimismo, se determinó (mediante digestión seca y lectura en fotómetro) la concentración de sodio y potasio foliar de las plantas del tratamiento con el mayor rendimiento y el testigo no inoculado.

Los valores que presentaron normalidad en la prueba de Shapiro-Wilk y homogeneidad de varianzas en la prueba de Levene se analizaron

con pruebas paramétricas de ANOVA y separación de medias de Tukey. Los valores que no presentaron normalidad se analizaron con la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis (Hernández et al., 2014), en ambos casos con los programas Excel y Rstudio.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las rizobacterias aisladas, de muestras de suelo de la rizósfera de algarrobos, se obtuvieron seis morfotipos cada uno con diferente número de colonias (Cuadro 1).

**Cuadro 1.** Características de los seis morfotipos de rizobacterias aisladas de muestras de suelo de la rizósfera de algarrobos en el distrito de San José, Lambayeque, Perú

Morfotipo	Características	Número de colonias
M1	Forma irregular, borde lobulado, consistencia seca, elevación plana, sin coloración	185
M2	Forma circular, borde entero, consistencia cremosa, elevación convexa, sin coloración	95
M3	Forma circular, borde entero, consistencia ligosa, elevación convexa, sin coloración	60
M4	Forma irregular, borde ondulado, consistencia ligosa, elevación plana, sin coloración	23
M5	Forma circular, borde entero, consistencia cremosa, elevación convexa, con coloración	17
M6	Forma filamentosa, borde filamentoso, consistencia seca, elevación plana, sin coloración	8

**Bacterias con actividad de la enzima ACC desaminasa seleccionadas en la rizósfera de algarrobos.** En la rizósfera de 37 algarrobos, se aislaron 388 bacterias, de las que 72,16 % correspondió a formas Gram positivas y 27,84 % a Gram negativas. El aislamiento de bacterias rizosféricas en algarrobos concuerda con lo reportado por Barcos et al. (2019) en *Prosopis glandulosa*, Ramírez et al. (2019) en *P. laevigata* y Khan et al. (2015) en *P. juliflora*. La predominancia de bacterias Gram positivas en el suelo rizosférico de plantas desarrolladas en suelos salinos es similar al reporte de Albdaiwi et al. (2020) con bacterias Gram positivas (62,2 %) y Gram negativas (37,8 %) aisladas de *Triticum turgidum* cultivado en suelo salino ( $CEe = 6,64-17,7$  dSm<sup>-1</sup>). Al respecto, Szymanska et al. (2016)

concluyeron que a nivel molecular las bacterias Gram negativas predominan en los suelos muy salinos ( $CEe=55-112$  dSm<sup>-1</sup>) asociadas con plantas halófitas; sin embargo, cuando se trabaja con medios de cultivo las bacterias Gram positivas se identifican con mayor frecuencia.

Un total de 16 rizobacterias (4,12 % de las bacterias aisladas) presentó actividad ACCD, por utilizar *in vitro* el ACC como fuente de nitrógeno (81,25 % bacterias Gram positivas y 18,75 % Gram negativas). En bacterias rizosféricas y endófitas de *P. juliflora* también se determinó la actividad de esta enzima (Khan et al., 2015). Las bacterias con actividad ACCD hidrolizan el ACC y así disminuyen el “estrés por etileno”, causado por el aumento del nivel de la fitohormona en las plantas bajo condiciones no favorables como

salinidad, sequía, inundación y temperaturas extremas (Kour y Yadav, 2022). En plantas de tomate (200 mM NaCl) se registró 31 % de incremento de etileno (Wi et al., 2018). Por el contrario, el nivel de la fitohormona fue disminuido en 46 % con *Pseudomonas* sp. ACCD en tomate (Pandey y Gupta, 2020). La actividad ACCD ha sido demostrada en *Bacillus paranthracis* (Yadav et al., 2022), *B. mycooides* (Ali et al., 2022), *B. subtilis* (Misra y Chauhan, 2020), *B. amyloliquefaciens* (Zafar et al., 2019) y *B. megaterium* (Aslam et al., 2018). Estas bacterias pueden constituir fertilizantes para

favorecer el desarrollo vegetal bajo salinidad (Gupta et al., 2022; Rodríguez et al., 2020).

**Género de rizobacterias seleccionadas por la mayor tasa de germinación de semillas de *R. sativus* bajo estrés salino.** Las 16 rizobacterias con actividad ACCD incrementaron la germinación del rábano y se alcanzó entre 89,72 y 100,0 %, a los 12 días, en comparación con 32,75 % en semillas no inoculadas en medio salino (Cuadro 2). Asimismo, las bacterias Gram positivas 13 y 21 identificadas como *Bacillus* sp.13 y *Bacillus* sp. 21 alcanzaron 34,66 y 33,0 día<sup>-1</sup>, respectivamente, y superaron a las semillas no inoculadas en medio no salino, con 32,11 día<sup>-1</sup>.

**Cuadro 2:** Germinación de semillas (%) en función del tiempo y tasa de germinación (TG) de plantas indicadoras (rábano) inoculadas con 16 bacterias con actividad ACCD en condiciones de salinidad

Tratamiento	Días				TG (día <sup>-1</sup> )
	3	6	9	12	
Semillas en MNS	24,12 ±1,15	47,20 ±1,53	73,00 ±1,00	97,10 ±1,15	32,11
Semillas en MS	10,67 ±1,53	19,30 ±0,58	25,10 ±1,00	32,75 ±1,53	12,29
Gram positiva 54	25,32 ±1,73	45,90 ±1,15	69,80 ±2,08	96,85 ±1,15	31,92
Gram positiva 77	22,32 ±1,53	45,32 ±0,58	69,15 ±1,53	90,00 ±1,53	30,18
Gram positiva 109	15,92 ±0,58	40,10 ±1,00	63,92 ±2,00	89,72 ±1,53	26,57
Gram positiva 115	17,42 ±1,00	40,97 ±0,00	63,90 ±1,15	89,75 ±1,53	27,21
Gram positiva 9	23,00 ±0,58	43,60 ±1,00	70,17 ±0,58	100,00 ±2,00	31,06
Gram negativa 10	17,25 ±0,58	41,10 ±0,58	64,68 ±1,15	90,47 ±2,08	24,55
Gram positiva 35	28,00 ±1,00	43,90 ±1,15	67,47 ±1,53	93,27 ±1,53	31,92
Gram positiva 21	24,07 ±0,58	49,37 ±1,53	75,72 ±1,15	100,00 ±0,58	33,00
Gram negativa 32	20,57 ±1,15	43,87 ±1,00	71,32 ±0,00	98,42 ±2,65	30,29
Gram negativa 34	22,07 ±2,00	45,42 ±0,58	70,10 ±1,00	96,17 ±1,00	30,73
Gram positiva 61	21,82 ±1,15	46,07 ±1,15	71,92 ±1,53	100,00 ±1,53	31,28
Gram positiva 13	27,32 ±1,73	51,70 ±1,53	77,52 ±0,58	99,90 ±1,53	34,66
Gram positiva 125	21,67 ±1,53	46,62 ±2,00	72,15 ±1,00	96,82 ±1,00	31,08
Gram positiva 127	21,00 ±1,15	44,90 ±1,15	71,25 ±0,58	97,10 ±1,53	30,49
Gram positiva 148	23,82 ±1,53	44,60 ±0,58	67,32 ±1,00	98,12 ±1,00	31,03
Gram positiva 165	20,82 ±1,15	39,45 ±0,58	65,52 ±2,08	98,25 ±1,15	28,98

Promedio de tres repeticiones; MNS: medio no salino; MS: medio salino

El efecto de la salinidad en la germinación es consecuencia del efecto osmótico y del Na<sup>+</sup> acumulado que alteran la actividad enzimática en las semillas (Chakma et al., 2019). El incremento de la germinación de las semillas de rábano bajo salinidad por *Bacillus* spp. es explicado por la actividad ACCD, pero también por los metabolitos bacterianos. Al respecto, Yaghoubian et al. (2022) determinaron que la germinación de

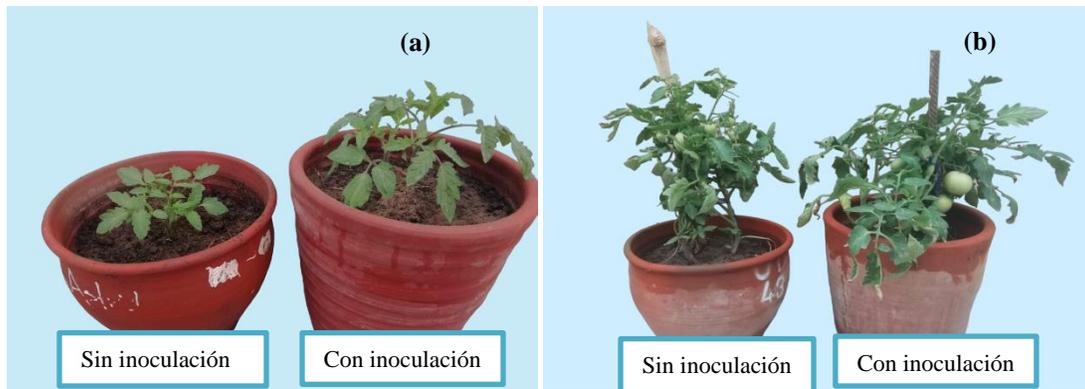
semillas de maíz disminuyó hasta 63,04 % conforme se incrementó la salinidad (0, 100, 150 mM NaCl); no obstante, la aplicación del caldo cultivado libre de células de *Bacillus* spp. disminuyó el tiempo requerido para la germinación y aumentó la longitud de la radícula y el peso de la biomasa, resultado explicado por la presencia de enzimas hidrolíticas (alfa amilasa) y ácido indol acético. Por su parte, Li et al. (2021)

relacionaron el efecto benéfico de las bacterias en la germinación con el aumento de la eficiencia en el uso del agua. Asimismo, se consideran las enzimas microbianas debido a que la salinidad disminuye el contenido de giberelinas y como consecuencia la actividad de la alfa amilasa, con impacto en el metabolismo del almidón (Liu et al. 2018).

Bacterias del género *Bacillus* con características de promoción de crecimiento vegetal se identificaron en *P. juliflora* como *B. licheniformis*, *B. pumilus*, *B. aquimaris*, *B. aerophilus* (Khan et al., 2015) y *P. laevigata* con *B. cereus* (Ramírez et al., 2019). Por su parte, Albaiwi et al. (2020) identificaron en la clase Bacilli la mayoría de bacterias aisladas de suelo rizosférico de *T. turgidum* y especies del género *Bacillus* presentaron actividad ACCD, fijaron nitrógeno, solubilizaron fosfato, produjeron ácido indol acético y sideróforos. Uno de los grupos bacterianos más abundantes de los ecosistemas agrícolas corresponde a las bacterias del género *Bacillus*, presentes en el suelo rizosférico y

capaces de colonizar y sobrevivir como endófitas en los tejidos vegetales (Orozco et al., 2020).

**Efecto de las rizobacterias seleccionadas en el desarrollo de tomate bajo estrés salino.** Las rizobacterias promovieron el incremento en la altura de las plantas (Figura 1) y se observó que los mayores valores se alcanzaron con *Bacillus* sp.21 a los 60 días, y los menores en el testigo absoluto en todas las fechas (Cuadro 3). El testigo químico mostró valores intermedios y superó al testigo absoluto a los 30 y 60 días. Esta diferencia se atribuye al efecto de los nutrientes del fertilizante químico que tienen disponibilidad inmediata ayudan a superar el desbalance nutricional causado por la salinidad. El efecto negativo de ésta en el desarrollo se puede explicar por la menor absorción de agua debido a la disminución del potencial osmótico en el suelo, al efecto tóxico del sodio y a la inhibición que este ion produce sobre la absorción del K, Ca y Mg (Pan et al., 2019); así mismo, buena parte de la energía se utiliza para el mantenimiento, afectando así el crecimiento y la fructificación (Orozco et al., 2020).



**Figura 1.** *Solanum lycopersicum* a los 30 días (a) y 60 días (b) después de la inoculación con *Bacillus* sp. 21 en comparación con plantas no inoculadas en un suelo salino

La salinidad ha afectado el desarrollo en plantas de tomate como lo reportaron Llahy et al. (2022) en el cultivar Río Grande y Chakma et al. (2019), Moles et al. (2019) y Ahmed et al. (2017) en diversos cultivares de la planta. Al respecto, Li et al. (2019) reportaron que en suelos no salinos la tasa de crecimiento de plantas de tomate fue  $0,84-1,80 \text{ cm}\cdot\text{día}^{-1}$  y en suelos salinos ( $6-12 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$ ) se

redujo a  $0,09-1,30 \text{ cm}\cdot\text{día}^{-1}$ , por el efecto negativo en la morfología de la raíz (longitud, área superficial y volumen) y por la disminución de 23-50 % en el contenido de clorofila total. Por su parte, Ahmed et al. (2017) demostraron que la salinidad redujo 39 % el número y 56 % el peso de los frutos de tomate.

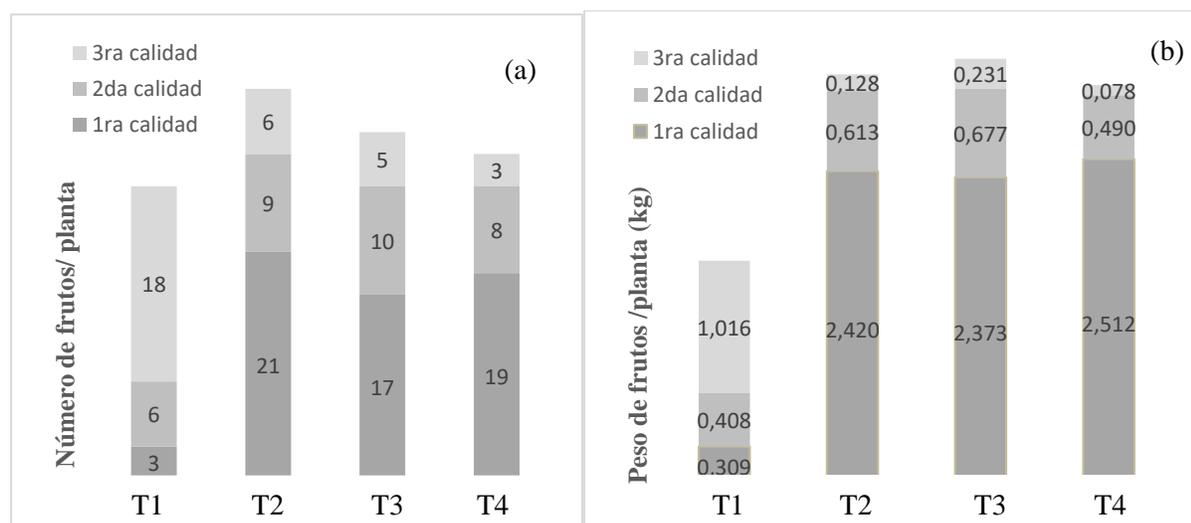
**Cuadro 3.** Altura de plantas de tomate a los 30, 45 y 60 días, y clorofila total después de la inoculación o no con *Bacillus* spp. en un suelo salino

Tratamientos	30 días*	45 días*	60 días**	Clorofila total*
	(cm)			
Testigo absoluto NI	8,3 b	12,4 b	33,43 d	1,32 b
Testigo químico NI	11,0 a	17,0 ab	43,10 c	1,65 ab
<i>Bacillus</i> sp. 13	13,1 a	24,4 a	48,63 b	1,73 ab
<i>Bacillus</i> sp. 21	12,3 a	24,7 a	54,53 a	1,83 a

NI: no inoculado; \*Prueba de Dunn ( $P \leq 0,05$ ); \*\*Prueba de Tukey ( $P \leq 0,05$ )

El aumento en la altura de las plantas por *Bacillus* spp. está relacionado con la producción de ácido indol acético, regulador que induce elongación celular y formación de raíces secundarias (Azadikhah et al., 2019). Las PGPR modifican la arquitectura de la raíz y favorecen la absorción de agua y nutrientes, a la vez que aumentan la disponibilidad de nitrógeno y fósforo, así como el contenido de clorofila, con el consecuente aumento del crecimiento vegetal (Maheshwari et al., 2020; Misra y Chauhan, 2020). Por otra parte, el uso de bacterias PGPR en tomate, favorece la tolerancia a estreses abióticos (Saglam et al., 2022).

Al contabilizar el número y peso de frutos según su calidad, se observa que la salinidad tendió a disminuir estas variables en los frutos de primera calidad; no obstante, las rizobacterias lograron incrementar estos valores (Figura 2 a, b). El mayor promedio de frutos de primera calidad (2,512 kg por planta) y el mayor peso de frutos cosechados (3,281 kg por planta) se alcanzó en los tratamientos con *Bacillus* sp. 21 y *Bacillus* sp. 13, respectivamente con diferencias estadísticas frente al testigo absoluto (Cuadro 4). De igual manera, Balderas et al. (2021) reportaron que *B. velezensis* presentó 64 % los frutos de primera calidad de plantas de tomate var. Frodo, en comparación con 55 % en el testigo sin bacterias.



**Figura 2.** Número (a) y peso (b) de frutos de primera, segunda y tercera calidad en plantas de *S. lycopersicum* inoculadas con los aislamientos de *Bacillus* spp. T1, T2, T3 y T4 representan el testigo absoluto, testigo químico, *Bacillus* sp. 13 y *Bacillus* sp. 21, respectivamente

La salinidad aumentó el nivel de sodio (Na<sup>+</sup>) redujo la clorofila foliar, el potasio (K<sup>+</sup>) y la tasa

K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> en las hojas y raíces de las plantas de tomate; sin embargo, *Bacillus* sp. 21 disminuyó el

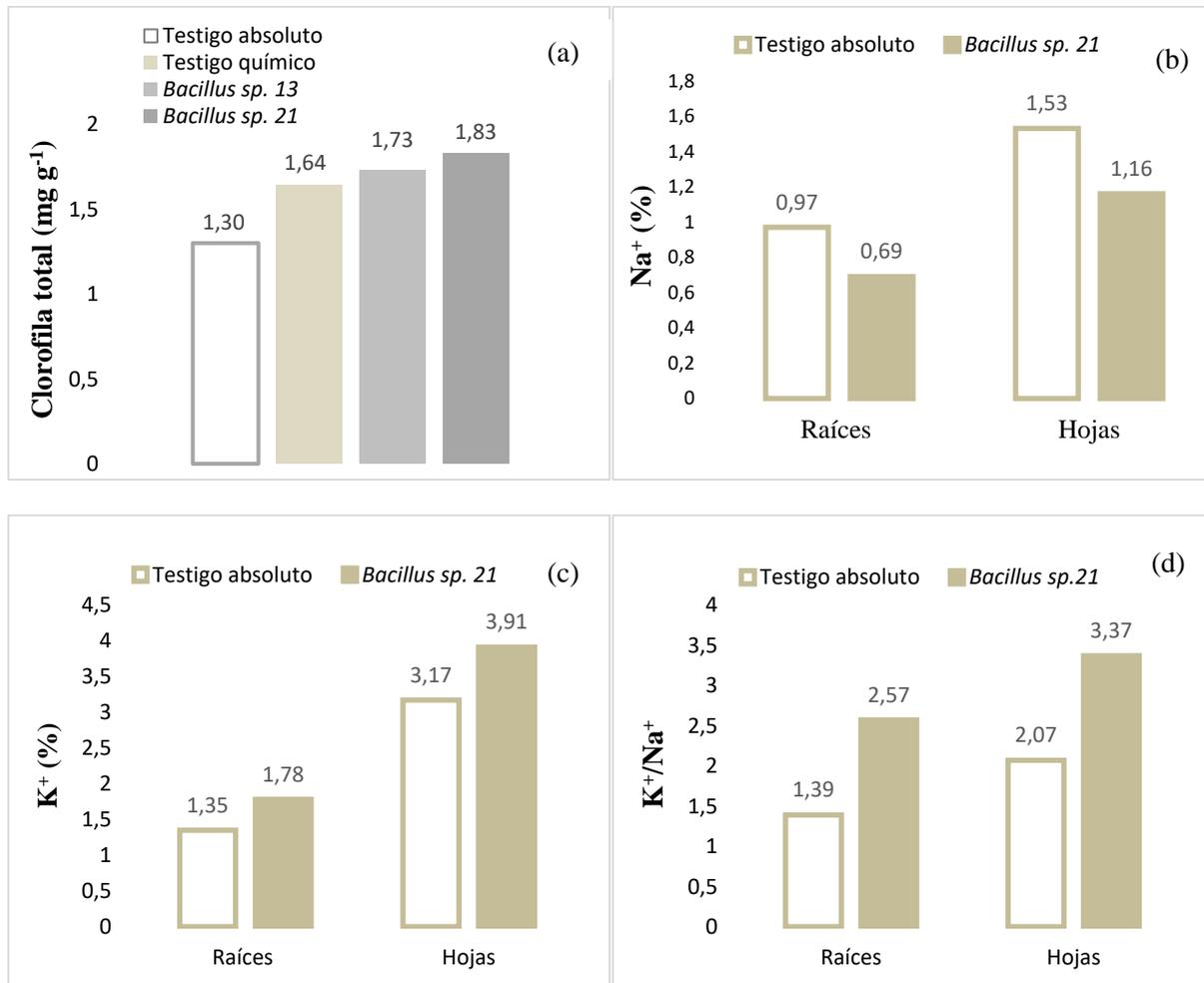
Na<sup>+</sup>, aumentó la clorofila foliar, el K<sup>+</sup> y la tasa K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> (Figura 3). Las rizobacterias aumentaron la clorofila y por tanto favorecieron la fotosíntesis, biomasa y el rendimiento, efecto benéfico demostrado por Ali et al. (2022) en plantas de

maíz inoculadas con *B. mycoides* con actividad ACCD. Se ha reportado que la PGPR favorecen el pigmento fotosintético mediante la expresión de genes relacionados con la síntesis (Gong et al., 2020)

**Cuadro 4.** Número y peso de frutos totales por planta en *S. lycopersicum* inoculado con *Bacillus* spp.

Tratamientos	Número*	Peso (kg)**
Testigo absoluto	27 c	1,733 b
Testigo químico	36 a	3,161 a
<i>Bacillus</i> sp. 13	32 ab	3,281 a
<i>Bacillus</i> sp. 21	30 bc	3,080 a

\*Prueba de Tukey ( $P \leq 0,05$ ); \*\*Prueba de Dunn ( $P \leq 0,05$ )



**Figura 3.** Clorofila foliar (a), Na<sup>+</sup> (b), K<sup>+</sup> (c) y tasa K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> (d) en hojas de *S. lycopersicum* inoculadas con *Bacillus* sp. 21 en un suelo salino

En suelos salinos, la absorción de Na<sup>+</sup> inhibe la absorción del K<sup>+</sup>, Ca<sup>+</sup> y Mg<sup>+</sup> (Pan et al., 2019). El

aumento de la tasa K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> demostró que las rizobacterias favorecen la homeostasis iónica,

como lo reportaron previamente Gong et al. (2020) en plantas de tomate bajo 200 mM NaCl. Estos investigadores reportaron que *Streptomyces* sp. KLBMP508 con actividad ACCD aumentó la exclusión del Na<sup>+</sup> y la tasa K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup>. De igual manera, Tchuisseu et al. (2020) en plantas de maíz inoculadas con *Bacillus* spp. registraron disminución del sodio y aumento de la tasa K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> en las hojas (0,9-2,2) y raíces (0,7-1,2).

La promoción de crecimiento de las plantas bajo salinidad por las bacterias se atribuye a la actividad ACCD porque la ausencia del gen *acdS* que codifica para la enzima conduce a la pérdida de la capacidad bacteriana para la elongación radicular, proliferación de raíces, disminución de la senescencia de flores (Glick et al., 2021); no obstante, se considera que el efecto benéfico de las rizobacterias bajo salinidad es multifuncional y además de disminuir el etileno (ACC desaminasa), incrementan la actividad enzimática antioxidante (Egamberdieva et al., 2017), el contenido de solutos para la regulación osmótica (Gong et al., 2020), reducen el sodio y las especies reactivas de oxígeno (Misra y Chauhan, 2020; Kim et al., 2017), fijan nitrógeno, solubilizan fósforo y producen reguladores del crecimiento vegetal (Rodríguez et al., 2020).

## CONCLUSIONES

En la rizósfera de algarrobos se aislaron bacterias del género *Bacillus* con actividad de la enzima ACCD que redujeron el efecto negativo de la salinidad en la altura de planta, contenido de clorofila foliar, número y peso de frutos y tasa K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> en raíces y hojas. El efecto promotor de *Bacillus* sp.13 y *Bacillus* sp. 21. en el desarrollo de una planta diferente a la de su procedencia demostró su potencial para constituir biofertilizantes en diversos cultivos agrícolas, bajo condiciones salinas.

## AGRADECIMIENTOS

A los licenciados David Cuyate, Paulina Guzmán, Elmy Santos, Jorge Hernández, Shirley Cárdenas, Roni Monteza, Marco García, Carlos Uypan, Dogminiq García y Karen Moreno, por su colaboración en la presente investigación.

## LITERATURA CITADA

1. Ahmed N., N. Mahmud, M. Zaman, Z. Ferdous y S. Halder. 2017. Effect of different salinity level on tomato (*Lycopersicon esculentum*) production under climate change condition in Bangladesh. Annual Research & Review in Biology 13(3): 1-9.
2. Albdaiwi R., H. Khyami-Horani, J. Ayad, K. Alananbeh y R. Al-Sayaydeh. 2020. Isolation and characterization of halotolerant plant growth promoting rhizobacteria from durum wheat (*Triticum turgidum* subsp. durum) cultivated in saline areas of the dead sea region. Oxidative Medicine and Cellular Longevity 10: 1639
3. Ali B., X. Wang, M. Saleem, M. Azeem, M. Afridi, M. Nadeem et al. 2022. *Bacillus mycoides* PM35 reinforces photosynthetic efficiency, antioxidant defense, expression of stress-responsive genes, and ameliorates the effects of salinity stress in maize. Life 12(2): 219.
4. Aslam H., S. Ahmad, T. Anjum y W. Akram. 2018. Native halotolerant plant growth promoting bacterial strains can ameliorate salinity stress on tomato plants under field conditions. International Journal of Agriculture & Biology 20(2): 315-322.
5. Azadikhah M., F. Jamali, H. Nooryazdan y F. Bayat, F. 2019. Growth promotion and yield enhancement of barley cultivars using ACC deaminase producing *Pseudomonas fluorescens* strains under salt stress. Spanish Journal of Agricultural Research 17(1): e0801.
6. Balderas K., C. Gómez, M. Trujillo, N. Valdez, S. Aranda, A. Juárez et al. 2021. *Bacillus velezensis* 83 increases productivity and quality of tomato (*Solanum lycopersicum* L.): Pre and postharvest assessment. Current Research in Microbial Sciences 2: 100076.
7. Barcos M., M. Maldonado, J. Vera y J. Peña. (2019). Characterization of rhizospheric bacteria of the surrounding soil of a lead [Pb] recycling plant. Revista Internacional de Contaminación Ambiental 35(2): 349-359.
8. Chakma P., M. Hossain y M. Rabbani. 2019. Effects of salinity stress on seed germination

- and seedling growth of tomato. *Journal of the Bangladesh Agricultural University* 17(4): 490-499.
9. Egamberdieva D., K. Davranov, S. Wirth, A. Hashem, y E. Abd-Allah. 2017. Impact of soil salinity on the plant-growth promoting and biological control abilities of root associated bacteria. *Saudi Journal of Biological Sciences* 24(7): 1601-1608.
  10. Gong Y., J.L. Chen, S.Y. Pan, X.W. Li, M.J. Xu, C.M. Zhang et al. 2020. Antifungal potential evaluation and alleviation of salt stress in tomato seedlings by a halotolerant plant growth-promoting actinomycete *Streptomyces* sp. KLBMP5084. *Rhizosphere* 16: 100262.
  11. Gupta A., A. Bano, S. Rai, R. Mishra, M. Singh, S. Sharma y N. Pathak. 2022. Mechanistic insights of plant-microbe interaction towards drought and salinity stress in plants for enhancing the agriculture productivity. *Plant Stress* 4: 100073.
  12. Hernández R., C. Fernández y L. Baptista 2014. *Metodología de la Investigación*. Hill Interamericana Editores. México.
  13. Jiang C., M. Johkan, M. Hohjo, S. Tsukagoshi y T. Maruo. 2017. A correlation analysis on chlorophyll content and SPAD value in tomato leaves. *Horticulture Research* 71: 37-42.
  14. Khan M., A. Sesstsch, M. Harris, K. Fatima, A. Imran, M. Arshan, et al. 2015. Cr-resistant rhizo- and endophytic bacteria associated with *Prosopis juliflora* and their potential as phytoremediation enhancing agents in metal-degraded soils. *Frontiers in Plant Science* 5: 755
  15. Kim M., R. Radhakrishnan, S. Kang, Y. You, E. Jeong, J. Kim y I. Lee 2017. Plant growth promoting effect of *Bacillus amyloliquefaciens* H-2-5 on crop plants and influence on physiological changes in soybean under soil salinity. *Physiology and Molecular Biology of Plants* 23(3): 571-580.
  16. Kour D. y A. Yadav. 2022. Bacterial mitigation of drought stress in plants: Current perspectives and future challenges. *Current Microbiology* 79(9): 248.
  17. Kumawat K., S. Nagpal, y P. Sharma. 2022. Potential of plant growth-promoting rhizobacteria-plant interactions in mitigating salt stress for sustainable agriculture: A review. *Pedosphere* 32(2): 223-245.
  18. Lazo J. 2018. La edad de los árboles de *Prosopis limensis* en el Santuario Histórico Bosque de Pomac-Lambayeque. Tesis. Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima. 130 p.
  19. Leoncio, M. y G. Botelho. (2017). Isolation and characterization of plant growth promoting bacteria isolated from garlic (*Allium sativum*). *Scientia Agraria* 18(3): 95-106.
  20. Li H., H. Yue, L. Li, Y. Liu, H. Zhang, J. Wang, y X. Jiang. 2021. Seed biostimulant *Bacillus* sp. MGW9 improves the salt tolerance of maize during seed germination. *AMB Express* 11(74): 1-15.
  21. Li Y., W. Niu, X. Cao, J. Wang, M. Zhang, X. Duan y Z. Zhang. 2019. Effect of soil aeration on root morphology and photosynthetic characteristics of potted tomato plants (*Solanum lycopersicum*) at different NaCl salinity levels. *BMC Plant Biology* 19(1): 331.
  22. Liu L., W. Xia, H. Li, H. Zeng, B. Wei, S. Han y C. Yin. 2018. Salinity inhibits rice seed germination by reducing  $\alpha$ -amylase activity via decreased bioactive gibberellin content. *Frontiers in Plant Science* 9: 275.
  23. Llahy R., Z. Pék, A. Montefusco, H., Daood, M. Azam, M. Siddiqui et al. 2022. Effect of individual and select combined treatments with saline solutions and spent engine oil on the processing attributes and functional quality of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit: In memory of Professor Leila Ben Jaballah Radhouane (1958 - 2021). *Frontiers in Nutrition* 9: 844162.
  24. Mehmood U., M. Inam, M. Saeed, A. Altaf, F. Azam y S. Hayat. 2018. Plant protection a brief review on plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A key role in plant growth promotion. *Plant Protection* 2(2): 77-82.

25. Misra S. y P. Chauhan. 2020. ACC deaminase-producing rhizosphere competent *Bacillus* spp. mitigate salt stress and promote *Zea mays* growth by modulating ethylene metabolism. *3 Biotech* 10(3): 119.
26. Moles T., R. de Brito Francisco, L. Mariotti, A. Pompeiano, A. Lupini, L. Incrocci et al. 2019. Salinity in autumn-winter season and fruit quality of tomato Landraces. *Frontiers in Plant Science* 10: 1078.
27. Orozco M., B. Glick y G. Santoyo. 2020. ACC deaminase in plant growth-promoting bacteria (PGPB): An efficient mechanism to counter salt stress in crops. *Microbiological Research* 235: 126439.
28. Pan J., F. Peng, X. Xue, Q. You, W. Zhang, T. Wang y C. Huang. 2019. The growth promotion of two salt-tolerant plant groups with PGPR inoculation: a meta-analysis. *Sustainability* 11(2): 378.
29. Pandey S. y S. Gupta. 2020. Evaluation of *Pseudomonas* sp. for its multifarious plant growth promoting potential and its ability to alleviate biotic and abiotic stress in tomato (*Solanum lycopersicum*) plants. *Scientific Reports* 10: 20951.
30. Piccoli P., C. Travaglia, A. Cohen, L. Sosa, P. Cornejo, R. Masuelli y R. Bottini 2010. An endophytic bacterium isolated from roots of the halophyte *Prosopis strombulifera* produces ABA, IAA, gibberellins A<sub>1</sub> and A<sub>3</sub> and jasmonic acid in chemically-defined culture medium. *Plant Growth Regul* 64: 207-210.
31. Pire, R., y G. Vargas-Simón. 2019. Recurrent inconsistencies in publications that involve Maguire's germination rate formula. *Forest systems* 28(1): eSCO2.
32. Ramírez V., A. Báez, P. López, R. Bustillos, M. Villalobos, R. Carreño et al. 2019. Chromium hyper-tolerant *Bacillus* sp. MH778713 assists phytoremediation of heavy metals by mesquite trees (*Prosopis laevigata*) *Frontiers in Microbiology* 10.
33. Rodríguez A., A. Velasco, O. Castellanos, G. Acevedo y R. Clarenc. 2020. Bacterias rizosféricas con beneficios potenciales en la agricultura. *Revista Terra Latinoamericana* 38(2): 333-345.
34. Saglam, A., M. Demiralay, D. Nigar-Colak, N. Pehlivan-Gedik, O. Basok y A. Kadioglu. 2022. *Pseudomonas putida* KT2440 Induces drought tolerance during fruit ripening in tomato. *Bioagro* 34(2): 139-150.
35. Sánchez-Puriaman, M., J. Hernández-Hernández, J. Caro-Castro y C. Carreño-Farfán. 2023. Rhizospheric actinobacteria of *Opuntia* sp. "prickly pear" with deaminase activity as growth promoting in *Solanum lycopersicum* L. under salinity stress. *Scientia Agropecuaria* 14(1): 21-30.
36. Sanjuan F., P. Ramírez, P. Sánchez, M. Sandoval, M. Livera, J. y C. Perales, C. 2015. Tolerancia de líneas nativas de tomate (*Solanum lycopersicum*) a la salinidad con NaCl. *Interciencia* 40(10): 704-709.
37. Sathya A., R. Vijayabharathi y S. Gopalakrishnan. 2017. Plant growth-promoting actinobacteria: a new strategy for enhancing sustainable production and protection of grain legumes. *3 Biotech* 7(2): 102.
38. Szymanska S., T. Płociniczak, Z. Piotrowska y K. Hryniewicz. 2016. Endophytic and rhizosphere bacteria associated with the roots of the halophyte *Salicornia europaea* L. Community structure and metabolic potential. *Microbiological Research* 192: 37-51.
39. Tchuisseu V., B. Berger, S. Patz, M. Becker, V. Turečková, O. Novák, y et al. 2020. The response of maize to inoculation with *Arthrobacter* sp. and *Bacillus* sp. in phosphorus-deficient, salinity-affected soil. *Microorganisms*, 8(7): 1005.
40. Welle P. y M. Mauter. 2017. High-resolution model for estimating the economic and policy implications of agricultural soil salinization in California. *Environmental Research Letters* 12(9): 094010.
41. Wi K., T. Fukuyo, O. Keiki y Y. Ohwaki. 2018. The ACC deaminase expressing endophyte *Pseudomonas* spp. enhances NaCl stress tolerance by reducing stress-related ethylene production, resulting in improved

- growth, photosynthetic performance, and ionic balance in tomato plants. *Plant Physiology and Biochemistry* 127: 599-607.
42. Yadav V., R. Yadav, P. Choudhary, S. Sharma y N. Bhagat. 2022. Mitigation of drought stress in wheat (*Triticum aestivum* L.) by inoculation of drought tolerant *Bacillus paramycoides* DT-85 and *Bacillus paranthracis* DT-97. *Journal of Applied Biology & Biotechnology* 10: 59-69.
43. Yaghoubian I., L. Msimbira y D. Smith. 2022. Cell-Free supernatant of *Bacillus* strains (CFS) can improve seed vigor index of corn (*Zea mays* L.) under salinity stress. *Frontiers in Sustainable Food Systems* 6: 857643
44. Yue H., L. Zhao, D. Yang., M. Zhang, J. Wu., Z. Zhao et al. 2022. Comparative analysis of the endophytic bacterial diversity of *Populus euphratica* oliv. in environments of different salinity intensities. *Microbiology Spectrum*, 10(3): e00500-22
45. Zafar-ul-Hye, M., S. Danish, M. Abbas, M. Ahmad y T. Munir. 2019. ACC deaminase producing PGPR *Bacillus amyloliquefaciens* and *Agrobacterium fabrum* along with biochar improve wheat productivity under drought stress. *Agronomy* 9(7): 343-358.