

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



Bacterias de Pastos Solubilizadoras de Fosfato y su Efecto en el Desarrollo de
Solanum lycopersicum

Por:

MITZY JANET ORTIZ GARCÍA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Saltillo, Coahuila, México

Junio, 2023

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Bacterias de Pastos Solubilizadoras de Fosfato y su Efecto en el Desarrollo de
Solanum lycopersicum

Por:


MITZY JANET ORTIZ GARCÍA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Aprobada por el Comité de Asesoría:


Dr. Gabriel Gallegos Morales
Asesor Principal


M.C. Omar Jiménez Pérez
Coasesor


M.C. Fidel Maximiano Peña Ramos
Coasesor


Dr. Jerónimo Landeros Flores
Coordinador Interino de la División de Agronomía



Saltillo, Coahuila, México

Junio, 2023

Declaración de no plagio

El autor quien es el responsable directo, jura bajo protesta de decir verdad que no se incurrió en plagio o conducta académica incorrecta en los siguientes aspectos:

Reproducción de fragmentos o textos sin citar la fuente o autor original (corta y pega); reproducir un texto propio publicado anteriormente sin hacer referencia al documento original (autò plagio); comprar, robar o pedir prestados los datos o la tesis para presentarla como propia; omitir referencias bibliográficas o citar textualmente sin usar comillas; utilizar ideas o razonamientos de un autor sin citarlo; utilizar material digital como imágenes, videos, ilustraciones, graficas, mapas o datos sin citar al autor original y/o fuente, así mismo tengo conocimiento de que cualquier uso distinto de estos materiales como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por las autoridades correspondientes.

Por lo anterior me responsabilizo de las consecuencias de cualquier tipo de plagio en caso de existir y declaro que este trabajo es original.

Pasante



Mitzy Janet Ortiz Garcia

AGRADECIMIENTOS

A mi Alma Terra Mater, la **Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro**, por abrirme sus puertas y formarme personal y profesionalmente, por ser mi segunda casa durante mi estancia.

Al **Dr. Gabriel Gallegos Morales** por darme la oportunidad de colaborar en este proyecto, por el apoyo, la paciencia y la disposición proporcionada, así también por instruirme en otras áreas más allá del tema de investigación y por incentivar a seguir aprendiendo.

Al **M.C. Omar Jiménez Pérez** por el por asesoramiento, las recomendaciones y contribuciones a este proyecto de investigación, además del apoyo, la disponibilidad y amistad brindada.

Al **M.C. Fidel Maximiano Peña Ramos** por el tiempo, la disposición y la contribución a este proyecto de investigación y por los nuevos aprendizajes otorgados.

A **mis padres** por la confianza y el apoyo otorgado durante mi formación académica.

A **mis tíos y familia** por el apoyo incondicional, por los consejos y las palabras de aliento que me impulsan a seguir de pie y continuar avanzando, por siempre desearme lo mejor.

A la familia **Cuevas González** por abrirme las puertas de su casa y por brindarme su apoyo incondicional, cariño y confianza.

A **mis compañeros de laboratorio** por ofrecerme su amistad y apoyo, convirtiendo mi estadía en esta investigación en una de las mejores experiencias.

A **mis amigos**, Luz Evelia Mijangos y María Luisa Ayuzo por seguir formando parte de mi vida, por su sincera y perdurable amistad acompañándome en mis mejores y peores momentos, a mis amigos Ambar D. Moreno, Eymar Tovar, Juana Pedro, Marcela Vargas, Joel Pájaro, que de uno u otro modo formaron

parte de mi formación, gracias por ser una familia para mí, por ofrecerme su amistad y su confianza haciendo de esta travesía la mejor.

A todas aquellas personas a las que no mencioné, pero comparto una grata amistad y están involucradas directa o indirectamente en mi formación personal y académica, les estaré enormemente agradecida.

DEDICATORIA

A mi madre, la **Sra. Anastacia García Soriano** por enseñarme con el ejemplo el valor del trabajo, el esfuerzo, la fortaleza y la independencia, gracias por ofrecer un amor eterno y confianza incondicional, por guiarme en el camino correcto con los consejos y enseñanzas que me hicieron ser la persona que soy, gracias por mostrarme que todo tiene solución, que incluso los peores días son parte de aquellos buenos que están por llegar, manteniendo siempre esa actitud entusiasta y optimista que la caracteriza. Te quiero.

A mi hermano, **Néstor Kevin** por ser mi motivación y mi apoyo, gracias por todas las vivencias juntos, por ser parte de mi formación como persona y darme una razón más para esforzarme y seguir adelante.

A mis abuelos, la **Sra. Merced Mendoza †** y el **Sr. Genaro García †**, por el cariño y el amor brindado, por ser parte de los mejores momentos y de mis más grandes alegrías, sobre todo en mi infancia, por las enseñanzas, por cuidar de mí, por preocuparse, por siempre gracias.

A mis tíos **Jesús, Elvia, Gabriel, Gregorio, Valentín, Verónica y Soledad** por ser parte fundamental de mi vida, de lo que he logrado y con quienes he compartido los momentos más jubilosos, de quienes he aprendido, y seguiré aprendiendo, gracias por compartir mis tristezas y mis alegrías, por ser parte de mis aprendizajes en la vida, gracias a todos y a cada uno de ustedes.

A **Raymundo Cuevas González** por ser mi compañero y apoyo en esta travesía, por la paciencia y la motivación brindada, por las nuevas experiencias y aprendizajes que adquirimos durante el proceso.

ÍNDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS.....	IV
DEDICATORIA	VI
ÍNDICE DE CONTENIDO	VII
ÍNDICE DE CUADROS	X
ÍNDICE DE FIGURAS.....	XI
RESUMEN.....	XIII
I. INTRODUCCIÓN	1
Objetivo General.....	3
Objetivos específicos.....	3
Hipótesis.....	3
II. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1. El Fósforo	4
2.2. El Fósforo en el suelo	4
2.2.1. Tipos de fósforo presentes en el suelo.....	4
2.3. Factores que influyen en la disponibilidad del fósforo	6
2.3.1. El pH en el suelo	6
2.3.2. Materia orgánica.....	7
2.3.3. Humedad.....	7
2.3.4. Textura.....	7
2.3.5. Temperatura.....	8
2.4. Ciclo del fósforo	8
2.5. Importancia del fósforo en las plantas	9

2.5.1.	Cultivo de tomate <i>Solanum lycopersicum</i>	10
2.5.1.1.	Producción de tomate en México y el mundo	11
2.5.1.2.	Deficiencia del fósforo	12
2.6.	Eficiencia de absorción de fósforo	13
2.6.1.	Adaptaciones para la absorción de fósforo	14
2.7.	Microorganismos presentes en el suelo.....	15
2.8.	Solubilización de fósforo	15
2.9.	Fosfato.....	16
2.10.	Mecanismos de solubilización del P orgánico	16
2.11.	Mecanismos de solubilización del P inorgánico.....	18
2.12.	Bacterias solubilizadoras de fosfato.	20
2.12.1.	<i>Serratia plymuthica</i>	21
2.12.1.1.	Características	21
2.12.2.	<i>Enterobacter</i> sp.....	22
2.12.2.1.	Características	22
2.12.3.	<i>Brevibacillus parabrevis</i>	23
2.12.3.1.	Características	23
III.	MATERIALES Y MÉTODOS	25
3.1.	Sitio experimental	25
3.2.	Aislamiento de Bacterias Solubilizadoras de Fosfato (BSF)	25
3.3.	Pruebas para la identificación y caracterización de BSF	26
3.3.1.	Tinción Gram.....	26
3.3.2.	Prueba de catalasa	27
3.3.3.	Prueba KOH.....	27
3.4.	Determinación cualitativa de Ácido Indol Acético (AIA)	28

3.5.	Eficiencia de solubilización de fosfatos (ESF)	28
3.5.1.	Evaluación cualitativa de la solubilización de fosfatos	28
3.6.	Evaluación cuantitativa de la solubilización de fosfatos.....	29
3.7.	Efecto de las BSF en el crecimiento y desarrollo de <i>Solanum lycopersicum</i>	30
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	32
4.1.	Bacterias aisladas.....	32
4.2.	Identificación y caracterización de BSF	32
4.3.	Cuantificación de Ácido Indol Acético (AIA).....	35
4.4.	Eficiencia de solubilización de fosfatos (ESF)	36
4.3.	Cuantificación de la solubilización de fosfato inorgánico	40
4.4.	Efecto de las BSF en el crecimiento y desarrollo de <i>Solanum lycopersicum</i>	43
V.	CONCLUSIÓN	48
VI.	LITERATURA CITADA.....	49
	ANEXOS.....	69

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Formas de fósforo inorgánico presente en suelos.....	5
Cuadro 2. Tratamientos de bacterias solubilizadoras de fosfato en diferentes concentraciones de $(Ca_3PO_4)_2$ para determinar ESF en laboratorio.....	29
Cuadro 3. Tratamientos establecidos en <i>Solanum lycopersicum</i>	31
Cuadro 4. Bacterias solubilizadoras de fosfato aisladas de pastos.....	32
Cuadro 5. Características morfológicas de las BSF.....	33
Cuadro 6. Pruebas bioquímicas de las BSF.	34
Cuadro 7. Producción de AIA por BSF.....	35
Cuadro 8. Evaluación de la ESF de bacterias inoculadas en medio NBRIP por horas.....	37
Cuadro 9. Solubilización bacteriana de fosfatos en distintas concentraciones de $Ca_3(PO_4)_2$ durante 408 horas.	39
Cuadro 10. Evaluación del comportamiento de plantas de tomate inoculadas con BSF.....	43

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo del fósforo	9
Figura 2. Volumen de la producción nacional anual en 2012-2021.....	11
Figura 3. Volumen de la producción mundial anual de Tomate en 2012-2021...12	
Figura 4. Síntomas de deficiencia de fósforo	13
Figura 5. Morfología de racimos de raíces inducidas, adaptadas a suelos con concentraciones extremadamente bajas de P.	15
Figura 6. Compuestos de fósforo con valencia de +5 presentes en el suelo ...	16
Figura 7. Vía de C-P liasa	18
Figura 8. Solubilización de fosfatos por ácidos orgánicos.....	19
Figura 9. Fórmula para calcular la eficiencia de solubilización de fosfatos	28
Figura 10. Colonias y halo de solubilización de BSF	33
Figura 11. Pruebas bioquímicas realizadas en BSF	34
Figura 12. Eficiencia de solubilización de fosfatos por bacterias durante 408 horas.....	36
Figura 13. ESF de las bacterias en diferentes concentraciones a las 408 horas.	38
Figura 14. Curva estándar para la determinación de fósforo soluble.	41
Figura 15 . Concentración y ESF de fosfato solubilizado por <i>Serratia plymuthica</i>	41
Figura 16. Concentración y ESF de fosfato solubilizado por <i>Enterobacter</i> sp.	42
Figura 17. Concentración y ESF de fosfato solubilizado por <i>Brevibacillus parabrevis</i>	42
Figura 18. Evaluación del efecto del fosforo soluble por BSF en la altura de plantas de tomate en invernadero.....	44
Figura 19. Evaluación del efecto del fosforo soluble por BSF en el número de hojas de plantas de tomate en invernadero.	45
Figura 20. Evaluación del efecto del fosforo soluble por BSF en el número de flores de plantas de tomate en invernadero.....	46

Figura 21. Evaluación del efecto del fosforo soluble por BSF en el diámetro del tallo de plantas de tomate en invernadero.	47
Figura 22. Medio de cultivo sólido NBRIP con 2.5 g/L de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ antes y después de inocular.....	69
Figura 23. Medio de cultivo líquido NBRIP con 2.5 g/L de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ antes y después de inocular.....	69
Figura 24. Análisis de varianza de la ESF de bacterias evaluadas durante 408 horas.....	70
Figura 25. Prueba de medias de la ESF de bacterias en diferentes concentraciones evaluadas durante 408 horas.....	70
Figura 26. Prueba de media Tukey ($\alpha=0.05$) de la ESF por bacterias evaluadas durante 408 horas.....	70
Figura 27. Eficiencia de solubilización de fosfato por bacterias en diferentes concentraciones de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ evaluadas durante 408 horas.	70
Figura 28. Plantas de tomate tratadas con fosfato solubilizado por BSF.	70

RESUMEN

El fósforo es un elemento esencial para el crecimiento y su deficiencia provoca el retraso en el desarrollo vegetativo, baja calidad y productividad del cultivo, por ello el uso de fertilizantes fosforados son la principal fuente de aporte, aunque parte de éstos se tornan insolubles en suelos ácidos o calcáreos. Existen microorganismos benéficos con capacidad de solubilizar el fosfato a partir de compuestos orgánicos e inorgánicos. Por tal razón, esta investigación tiene como objetivo aislar, identificar y evaluar la capacidad para solubilizar fosfato de tres cepas bacterianas aisladas de pastos y su efecto en el desarrollo del cultivo de tomate *Solanum lycopersicum*. Dichas bacterias fueron identificadas morfológica y molecularmente como *Serratia plymuthica*, *Enterobacter* sp. y *Brevibacillus parabrevis* presentes en la rizosfera de pastos ubicados en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro sede Saltillo. Al evaluar la eficiencia de solubilización in vitro en medio sólido NBRIP a un pH de 6.9, la bacteria *Enterobacter* sp. obtuvo la mejor eficiencia de solubilización de fosfato (ESF) de 1.34 mm en una concentración de 1.5 g/L de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. En medio líquido a una concentración de 2.5 g/L de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ con un pH de 6.9, se observó que las tres cepas solubilizaron fosfatos entre 4.59 a 6.24 mg/L, siendo *Serratia plymuthica* la cepa más eficiente en las 48 horas de incubación. Al aplicar el fósforo soluble producto de las cepas estudiadas en plantas de tomate, promovió el crecimiento favorablemente, con diferencias significativas para *Serratia plymuthica* en el diámetro del tallo (6.25 mm) y el número de flores (8) por planta.

Palabras clave: Bacterias, Solubilización de fosfato, Eficiencia de solubilización, *Solanum lycopersicum*, *Serratia plymuthica*.

I. INTRODUCCIÓN

Entre los cultivos de más demanda para México y el mundo se encuentra el tomate *Solanum lycopersicum*, tanto por su importancia económica como por la fuente de nutrientes que proporciona, por lo que se busca garantizar la calidad y productividad de la hortaliza, dando énfasis a su correcta nutrición, evitando la deficiencia de nutrientes (Pérez *et al.*, 2020; Álvarez-Medina *et al.*, 2017).

Entre los nutrientes esenciales para las plantas, destaca el fósforo (P) por ser el segundo elemento más importante al intervenir en el crecimiento y productividad de las plantas, además de participar en la división celular, procesos fotosintéticos, almacenamiento y uso de energía, respiración, glucólisis, entre otros procesos biológicos, fisiológicos y químicos de la planta (Corrales *et al.*, 2014; Fernández, 2007), se absorbe por la planta en su forma monobásica H_2PO_4^- y dibásica HPO_4^{2-} (Lugtenberg & Kamilova, 2009), su deficiencia provoca el retraso de floración y el crecimiento vegetativo, daños en la formación de semillas, baja germinación, hojas pequeñas y rígidas con bordes rojizos o purpura (Chiera *et al.*, 2002).

En la actualidad la principal fuente de fósforo como aporte nutricional para los cultivos es el uso de fertilizantes químicos, siendo la práctica más empleada para la reposición de P a los suelos cultivados (Pedraza *et al.*, 2010), es importante considerar que parte de los fertilizantes fosforados que se aplican, se tornan insolubles en suelos muy ácidos o calcáreos (Pardo *et al.*, 2009).

No obstante, el uso de Bacterias Solubilizadoras de Fosfatos (BSF) son una alternativa para incrementar la disponibilidad de fósforo en la producción agrícola (Alori *et al.*, 2017), entre estos géneros destacan; *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., *Rhizobium* sp., *Enterobacter*, *Serratia*, *Brevibacillus* entre otros (Patiño-Torres & Sanclemente-Reyes, 2014).

Estas poblaciones microbianas del suelo están inmersas en un marco de interacción involucradas en el desarrollo de las plantas y calidad del suelo, incluyendo la estabilidad y productividad de ecosistemas naturales y agroecosistemas (Richardson *et al.*, 2009), las BSF constituyen un grupo importante de las

rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGRP), siendo capaces de adaptarse, colonizar y persistir en la rizósfera de la planta, favoreciendo su crecimiento y desarrollo por medio de la solubilización de fosfato principalmente bicálcico, tricálcico y de rocas fosfatadas (Buono & Ulla, 2016).

Esta investigación busca aislar, identificar y caracterizar bacterias solubilizadoras de fosfatos de pastos silvestres que se encuentran creciendo en condiciones adversas, relacionando su vigorosidad al posible efecto que producen las rizobacterias con las que cuenta, esto con el fin de utilizar la aplicación de las bacterias solubilizadoras de fosfatos como alternativa para cubrir la deficiencia de fósforo de manera ecológica, económica y sustentable, mejorando la producción y rendimiento de los cultivos.

Objetivo General

Aislar, identificar y evaluar la capacidad para solubilizar fosfato de tres cepas bacterianas aisladas de pastos y su efecto en el desarrollo del cultivo de tomate *Solanum lycopersicum*.

Objetivos específicos

- Aislar e identificar bacterias solubilizadoras de fosfato presentes en pastos.
- Describir morfológicamente las características de las cepas aisladas.
- Determinar cualitativa y cuantitativamente la capacidad solubilizadora de fosfatos de cada cepa en medios de cultivo NBRIP.
- Evaluar el efecto de los fosfatos solubilizados por cada bacteria en plantas de tomate en invernadero.

Hipótesis

H_i: Al menos una de las bacterias aisladas presentará la capacidad de solubilizar fosfato en medio sólido NBRIP en alguna de las diferentes concentraciones utilizadas (1.5 g/L, 2.5 g/L, 3.5 g/L y 5 g/L de Ca₃(PO₄)₂), además el fosfato soluble producido por alguna de las tres bacterias promoverá el crecimiento vegetal al ser aplicados en plantas de tomate.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. El Fósforo

El fósforo (P) es un recurso no renovable, que después del nitrógeno, es el elemento químico considerado como un nutriente esencial para los seres vivos, formando parte de estructuras biológicas y diversos procesos químicos (Hariprasad & Niranjana, 2009), sin embargo, su presencia está limitada en la producción agrícola, agotándose rápidamente al ser absorbidas por las plantas, siendo casi inmóvil en el suelo, pero móvil en la planta (Gorjon *et al.*, 2009).

2.2. El Fósforo en el suelo

El fósforo es un elemento poco disponible en el suelo, se encuentra en bajas concentraciones, siendo altamente reactivo y sumamente demandado por las plantas, existe en el suelo de forma orgánica e inorgánica (Kononova & Nesmeyanova, 2002), se absorbe a través de las raíces por la solución del suelo como ortofosfato, principalmente H_2PO_4^- y en menor cantidad como HPO_4^{2-} (Syers *et al.*, 2008).

2.2.1. Tipos de fósforo presentes en el suelo

En el suelo existen diferentes fuentes de fósforo que pueden ser clasificadas como fósforo orgánico e inorgánico, la distribución de las diferentes formas de fósforo presentes depende de factores que incluyen tipo de suelo, pH, tipo de vegetación, actividad microbiana y entradas de fertilizantes (Rooney & Clipson, 2009), al ser aplicados, una fracción del P es removida parcialmente por las plantas, otra fracción es arrastrada por el agua y el resto se acumula en el suelo en la forma inorgánica, cuya disponibilidad depende fuertemente de la actividad microbiana y en ocasiones llegan a contaminar ríos y lagos (Sánchez de Fuentes, 2001; Abreu *et al.*, 2014).

El fósforo orgánico (Po) constituyendo del 29 al 65% del fósforo presente en la superficie del suelo, suele encontrarse en los primeros centímetros, la fuente principal se encuentra en el seno de moléculas como ATP, ácidos nucleicos, fosfolípidos, fosfoproteínas y fosfoglúcidos que pueden provenir de restos vegetales

y animales que al degradarse por microorganismos del suelo liberan compuestos fosfatados (Alejo-ITurvide *et al.*, 2016; Rebollar & Mateos, 2023).

En cambio, el fósforo inorgánico (Pi) se encuentra en materias primas (Cuadro 1) con diferente solubilidad dependiendo del origen, encontrándose principalmente como ortofosfatos y se clasifica en tres tipos según su disponibilidad, soluble o lábil, intercambiable o moderadamente lábil y fósforo insoluble.

Cuadro 1. Formas de fósforo inorgánico presente en suelos (adaptado de Bobadilla, 2008; Beltrán, 2014).

Tipos de fosfato	Denominación	Composición	Características
Fosfatos de calcio	Hidroxiapatita	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	Muy abundante
	Oxiapatita	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6^0$	Menos abundante
	Fluoroapatita	$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$	Muy abundante
	Fosfato tricálcico	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	Menor solubilidad
	Fosfato dicálcico	CaHPO_4	Mayor solubilidad
	Fosfato monocálcico	$\text{Ca}(\text{HPO}_4)_2$	Mayor solubilidad
Fosfato de hierro	Livianita	$\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$	Poco soluble
	Estrengita	$\text{FePO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Poco soluble
Fosfato de aluminio	Variscita	$\text{AlPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Poco soluble

El fósforo soluble o lábil se encuentra en la solución del suelo como ion ortofosfato monoácido o fosfato monohidrógeno (HPO_4^-) y fosfato diácido o dihidrógeno (H_2PO_4^-) (Moron, 1992), disponibles a corto o mediano plazo para las plantas y los microorganismos del suelo (Suñer & Galantini, 2013).

El fósforo intercambiable o también llamado adsorbido posee una disponibilidad menor a la anterior, dependiendo del pH del suelo, originado de formas recalitrantes unido al hierro (Fe^{3+}), aluminio (Al^{3+}) o calcio (Ca^{2+}) y el fósforo insoluble compuesto a base de minerales primarios y secundarios, siendo los más importantes la apatita, estrengita y la variscita, que pueden liberar fósforo muy

lentamente por meteorización, entre las fuentes de fósforo de origen natural se sitúan los depósitos y rocas fosfóricas las cuales desprenden fósforo, en forma de ortofosfato, principalmente mediante la erosión (Sanchez de Fuentes, 2001; Alejo-Turvide *et al.*, 2016).

2.3. Factores que influyen en la disponibilidad del fósforo

El fósforo es un elemento altamente móvil en la planta, tiene una lenta difusión y alta fijación en el suelo, se absorbe por las raíces de la solución del suelo y la eficiencia con la que absorbe son los factores externos que afectan el crecimiento de las plantas, por lo que cualquier cambio en sus propiedades afecta la concentración de fósforo en la solución del suelo, debido a esto su baja disponibilidad es una característica única (Shen *et al.*, 2011; Tapia-Torres & García-Oliva, 2013).

Los factores más importantes que controlan la disponibilidad de P para las raíces de las plantas son su concentración en la solución del suelo y la capacidad amortiguadora de P del suelo, la cual controla la velocidad a la que se repone el P soluble, también son importantes el tamaño del sistema radicular y la extensión a la que las raíces crecen en el suelo, así como la eficiencia con la que las raíces absorben el P (Syers, 2008), el nivel disponible en el suelo es una variable dinámica, influenciada por las propiedades del suelo, la planta y las condiciones ambientales (Gueçaimburu *et al.*, 2019).

2.3.1. El pH en el suelo

El pH es el principal factor que condiciona la disponibilidad del P, en condiciones neutras a básicas se forman minerales secundarios principalmente fosfatos de calcio, en suelos básicos se reduce la disponibilidad del H_2PO_4^- , reaccionando el fósforo con cationes de Ca^{++} o Mg^{++} aumentando la solubilidad de fosfatos de aluminio y hierro (Dhillon *et al.*, 2017) mientras que en suelos ácidos se forman otros compuestos con el HPO_4^- que se fijan al Fe^{++} , Al^{++} y Mn^{++} formando fosfatos poco solubles, disminuyendo las uniones con Calcio (Afif *et al.*, 2013).

Al tener concentraciones elevadas de aluminio en la solución del suelo, las raíces laterales y puntas se espesan, tornándose de color marrón, reduciendo también la absorción de fósforo, además una gran concentración de Al dentro de las partes superiores de la planta disminuye la translocación de fósforo y también interfiere con su metabolismo (Syers, 2008), por lo que el rango de pH óptimo para la disponibilidad del fósforo oscila entre 6 y 7, favoreciendo la presencia de los iones H_2PO_4^- (Hinsinger, 2001).

2.3.2. Materia orgánica

La materia orgánica (MO) es el reservorio principal de nutrientes como el P los cuales son liberados lentamente al mineralizarse por la acción de los microorganismos, que requieren condiciones óptimas de temperatura entre 25°C y 30°C y un pH neutro, este P no está disponible para las plantas en forma inmediata, lo que se conoce como P lábil (Suñer & Galantini, 2013), para después dar lugar a la humificación formando macromoléculas estables. La MO presenta carga negativa, por lo que los ácidos orgánicos reaccionan con cationes tales como $\text{Fe}(\text{OH})_2$ y $\text{Al}(\text{OH})_2$, que son combinaciones complejas que inmovilizan estos iones dejando en libertad los iones fosfatos (Cross & Schlesinger, 2001).

2.3.3. Humedad

El incremento del contenido de agua en el suelo induce a un incremento y movimiento de iones fosfato en solución, hecho ligado a las características de las formas inorgánicas de fósforo presentes en el suelo, de igual forma aumenta cuando la succión de la matriz del suelo disminuye (Múnera & Meza, 2012; Rojas, 2002).

2.3.4. Textura

La FAO (2009) señala que la textura es la proporción de los componentes inorgánicos del suelo, esta propiedad influye en la fertilidad y la capacidad de retención de agua, aireación y contenido de materia del suelo, por lo que influye en la pérdida de fósforo a través de la lixiviación en las aguas superficiales, en los suelos con textura gruesa el contenido de agua es menor por lo que existe una menor difusión del fósforo hacia la raíz, es por ello que, la cantidad de fósforo lábil

o intercambiable será menor en los suelos de textura gruesa y mayor en suelos con textura fina al tener una mayor capacidad de adsorción de aniones (Aguilar-Acuña *et al.*, 2006; Flores *et al.*, 2013).

2.3.5. Temperatura

Según Múnera & Meza (2012) la temperatura también influye en la absorción nutrimental del fósforo, donde su absorción se incrementa cuando se eleva la temperatura del suelo, por el contrario, cuando la temperatura es menor a 16 °C su absorción disminuye drásticamente.

2.4. Ciclo del fósforo

El P tiene origen a partir de las apatitas y depósitos de fosfato natural, constituido a base de rocas fosfóricas y sedimentarias como principal depósito (Céron & Aristizábal, 2012), su ciclo da comienzo con la erosión y meteorización que se dan por la erosión eólica y solar, las lluvias y acciones del ser humano, sacando a flote las reservas del fósforo a la superficie (Figura 1), transportándose a los diversos ecosistemas (Corrales *et al.*, 2014; Cisneros *et al.*, 2016).

Este dinamismo provoca que solo una pequeña porción del fósforo soluble en el suelo sea aprovechado por las plantas, al absorberlos por las raíces distribuyéndolas por todas sus células, al agotarse la fuente lábil de fósforo, la concentración es determinada por los minerales primarios y secundarios, con una movilización lenta que depende de las características físicas y químicas del suelo, del contenido de las diferentes formas de P y de la actividad biológica (Sánchez & Rubiano, 2015; Suñer & Galantini, 2013).

Finalizando con la fijación, ambas maneras retornan al suelo de dos formas, siendo una de ellas la descomposición que realizan la biomasa microbiana, o bien por sedimentación, una vía alterna más larga, donde los restos de los animales vuelven a formar parte de minerales sedimentarios (Corrales *et al.*, 2014), en el caso de los animales lo absorben al alimentarse de las plantas y así sucesivamente repartiéndose a lo largo de la cadena trófica, mientras que el resto del P queda en

formas insolubles o fijadas en la superficie de las arcillas coloidales (Sánchez & Rubiano, 2015).

García-Serrano *et al.* (2009) describen la fijación como la reacción de las formas solubles con compuestos orgánicos e inorgánicos, que dan lugar a las formas insolubles de fósforo según el pH, produciéndose por la adsorción en las arcillas, al haber un intercambio con grupos hidroxilo asociados o no al Fe y Al o por la precipitación de compuestos con estos elementos en los suelos calizos con fosfatos bi y tricálcicos o en algunos casos por la unión con la materia orgánica formando humofosfatos.

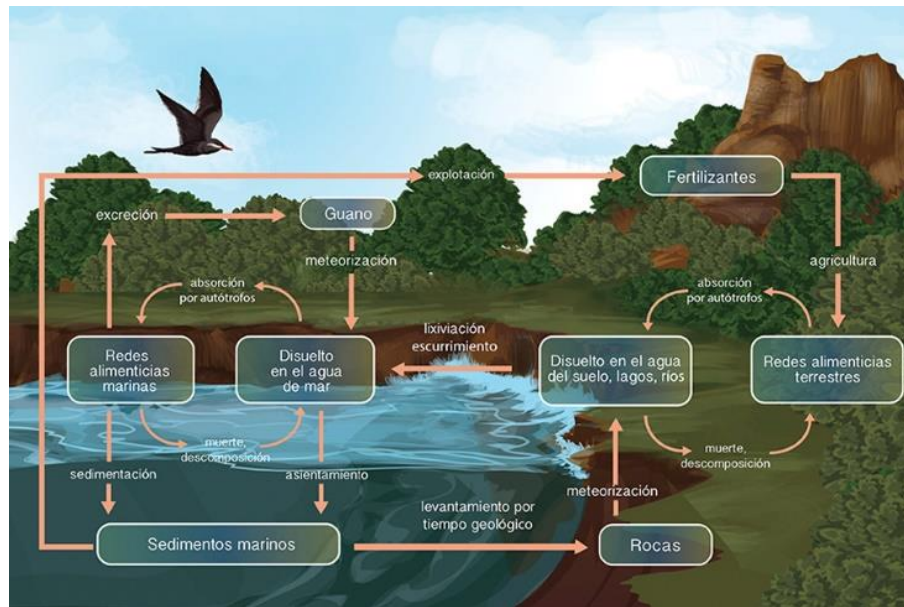


Figura 1. Ciclo del fósforo (Calcáneo *et al.*, 2020).

2.5. Importancia del fósforo en las plantas

Según Corrales *et al.* (2014) el fósforo es un macronutriente esencial para el crecimiento y funcionamiento de la planta, teniendo un papel fundamental en la floración, desarrollo de la raíz y en la formación de semillas, además de participar en el metabolismo energético celular, en procesos fotosintéticos, glucólisis y respiración. Además, constituye un componente primario responsable del almacenamiento, transferencia de energía y componente básico de

macromoléculas como, ácidos nucleicos y fosfolípidos, entre otros procesos fisiológicos de las plantas (Fernández, 2007).

2.5.1. Cultivo de tomate *Solanum lycopersicum*

El Tomate *Solanum lycopersicum* es una planta dicotiledónea herbácea y perenne que pertenece a la familia Solanaceae, con un tallo grueso, erguido, pubescente y largo, tiene un sistema radicular pivotante, profundo y poco ramificado, con la producción de raíces adventicias numerosas, las flores son pequeñas y se encuentran agrupadas en inflorescencia de racimo o cimas racimosas (COVECA, 2010; SIAP, 2022), el fruto es una baya carnosa bilocular, subesférica globosa muy coloreada, típicamente de tonos que van del amarillento al rojo debido a la presencia de los pigmentos licopeno y caroteno, es de forma generalmente redonda y achatada, excepto algunas variedades de fruto alargado, como el saladette, con un sabor ligeramente ácido (Fornaris, 2007).

El tomate es originario de América del sur, sin embargo, México es considerado como centro de domesticación de esta especie, utilizando los materiales nativos para programas de mejoramiento genético con el fin de desarrollar nuevas variedades con las mejores características para el mercado, se clasifica según las características de su forma, madurez y color, puede desarrollarse en el suelo o sin este, en invernadero, malla sombra o bien en campo abierto, se cultivan según su hábito de crecimiento del tallo en forma determinado, indeterminado y semideterminado (Pérez *et al.*, 2020; Álvarez-Medina *et al.*, 2017).

El cultivo se adapta mejor a un clima tropical, sin embargo, se puede producir en clima subtropical y templado, las exigencias del cultivo, en cuanto a temperatura, la óptima oscila entre 20°C y 30°C, pudiendo desarrollarse entre 18°C y 24°C, la humedad relativa optima se ubica entre 60 y 80% (López, 2016), es exigente en cuanto a la intensidad de luz solar pero indiferente al fotoperiodo, en cuanto a la fenología está determinada por la variedad y las condiciones climatológicas en el que se establece el cultivo, iniciando con en el establecimiento de plántula, siguiendo con el crecimiento vegetativo, la floración al primer amarre del fruto y por último la maduración de la fruta hasta la cosecha (Zarza *et al.*, 2018).

2.5.1.1. Producción de tomate en México y el mundo

El tomate es considerado la hortaliza de mayor producción en México con un consumo anual per cápita de 12.4 kg, y una de las tres principales hortalizas cultivadas en el mundo (Pérez *et al.*, 2020), tanto por su importancia económica como por la fuente de nutrientes que proporciona a la alimentación por lo que se busca garantizar productividad, calidad y cantidad de la hortaliza, dando énfasis a su correcta nutrición, evitando la deficiencia de nutrientes (FIRA, 2017).

Según informes del SIAP (2022) los principales estados productores de tomate son Sinaloa, San Luis Potosí, Michoacán, Jalisco y Baja California. Desde el 2017 México ha mantenido su posición entre los primeros 10 productores mundiales, ocupando el 9º puesto a nivel mundial con una producción de 3,324,263 toneladas (Figura 2) obteniendo un valor de 31, 503, 817.27 pesos, mientras que la comercialización exterior logró un record en ventas con casi 1, 730, 000 toneladas, valores significativos para México, teniendo como principales destinos a Francia, Alemania, Pakistán, Reino Unido y Estados Unidos, este último fue el mercado que acaparó la mayor parte del bien durante el 2020-2021.

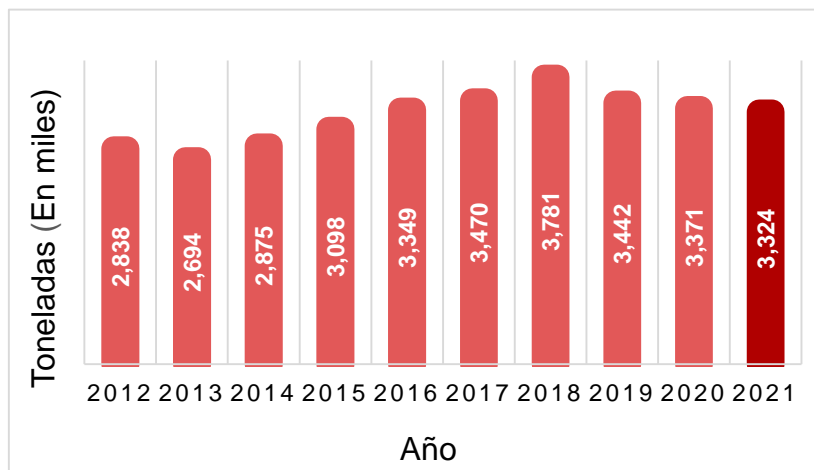


Figura 2. Volumen de la producción nacional anual en 2012-2021 (SIAP, 2022).

Para la producción de tomate a nivel mundial arrojó un mayor número de toneladas para el año 2021 en comparación con los 9 años anteriores (Statista, 2023), tal como se muestra en la Figura 3.

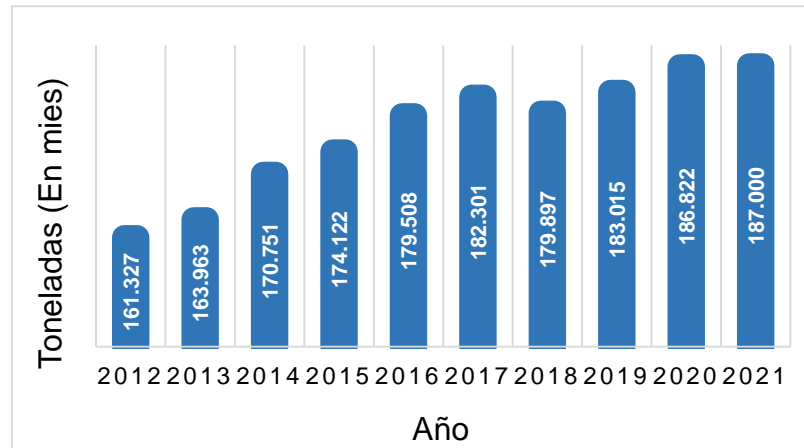


Figura 3. Volumen de la producción mundial anual de Tomate en 2012-2021 (Statista, 2023).

2.5.1.2. Deficiencia del fósforo

La deficiencia de fósforo provoca el retraso en el crecimiento vegetativo con un decrecimiento de la parte aérea (Figura 4-A), disminución de la cantidad y tamaño de hojas, genera un retraso de floración, baja germinación de semillas y daños en su formación (Shen *et al.*, 2011), la deficiencia suele inhibir el crecimiento del tallo, aunque el crecimiento de la parte superior se ve más afectado que el crecimiento de la raíz. Sin embargo, el crecimiento de las raíces primarias también se reduce marcadamente produciendo menor masa radicular para explorar el suelo por agua y nutrientes, generando un crecimiento disparado por lo que la planta tiene un aspecto espigado, causando un bajo rendimiento con poca calidad del fruto y un retraso en la madurez de forrajes, frutas, hortalizas y granos (Ramírez-Soler *et al.*, 2018).

Un síntoma muy notorio en algunas plantas como el tomate y el maíz es un color intenso rojizo o bien púrpura el cual se presenta inicialmente en los peciolo u hojas viejas (Figura 4-C) por la fácil movilización del nutriente, traslocandose de tejidos

viejos a meristemas activos, dicha coloración se debe por la intervención del P en la formación de azúcares de cinco carbonos y en su ausencia se forman antocianinas (pigmentos de color morado) como se muestra en las Figuras 4-B y 4-D, posteriormente los síntomas trascienden a hojas jóvenes (Chiera *et al.*, 2002; Zamora, 2016).

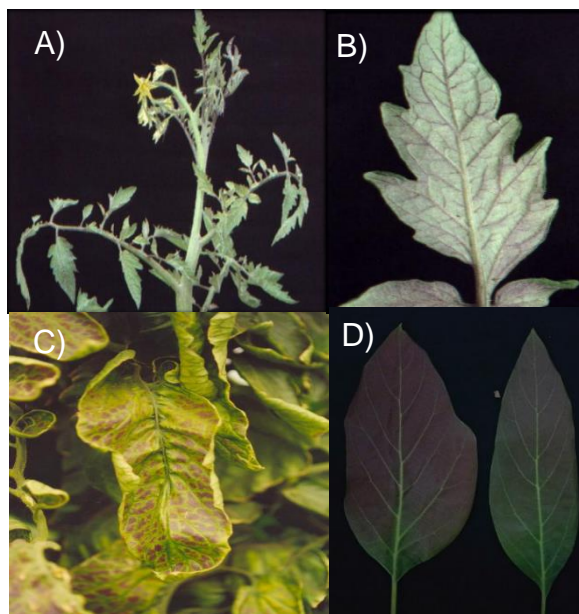


Figura 4. Síntomas de deficiencia de fósforo. A) Retraso en el crecimiento de la parte aérea de la planta, B) Nervaduras de hojas de color morado, síntoma característico de la deficiencia de P, C) Hojas de tomate con síntomas de deficiencia de fósforo, D) Acumulación de antocianinas en hojas jóvenes en hojas de aguacate Hass por deficiencia de fósforo (Novoa *et al.*, 2018).

2.6. Eficiencia de absorción de fósforo

La eficiencia en la absorción de P se refiere a la habilidad que tienen las plantas en adquirir gran cantidad de P del suelo y su uso eficiente, convirtiendo el P en biomasa, o en su caso algunos genotipos tolerantes que tienen la capacidad de tomar P en condiciones donde el elemento es bajo (Alves *et al.*, 2002; Cruz-Flores *et al.*, 2001), así también Cogliatti *et al.* (2004) señala que la eficiencia de absorción de P ha sido definida por algunos investigadores como la cantidad de P absorbida

en un determinado período o la cantidad de P presente en toda, o bien, en la parte aérea de la planta.

2.6.1. Adaptaciones para la absorción de fósforo

Lynch & Brown (2008) consideran de gran importancia la absorción del P para un completo desarrollo de las plantas, su eficiencia en la absorción se atribuye a diversas adaptaciones de las raíces, entre ellas las morfológicas, buscando disponibilidad espacial y una fuente de fósforo a través de la modificación en la arquitectura de las raíces, que abarcan cantidad, densidad y longitud, o bien mediante procesos fisiológicos y bioquímicos en la rizosfera, respondiendo con la expresión y secreción de enzimas como fosfatasa ácida y ribonucleasas, con la síntesis y exudación de ácidos orgánicos o con un aumento en la síntesis de transportadores de Pi (Zhang *et al.*, 2014).

Sumado a esto, la fertilización con fuentes nitrogenadas influye en la disponibilidad de P, produciendo respuestas dependiendo de la forma química en la que se suministra; en los dos procesos anteriores, las plantas participan generando un cambio de pH en el suelo (Neumann & Römheld, 2002).

Por otra parte, en las investigaciones revisadas por Shane & Lambers (2005) se menciona la adaptación que generan las raíces de algunas variedades de especies pertenecientes a la familia Myricaceae, Proteaceae, Casuarinaceae y Fabaceae (Marschner *et al.*, 2005) a la que pertenece *Lupinus albus*, la planta más utilizada para realizar estudios sobre el metabolismo de este tipo de raíz, formando raíces en racimos protoides y dauciformes con el fin de obtener nutrientes de suelos pobres como se muestra en la Figura 5, el crecimiento de este tipo de raíces mejora cuando la planta carece de fosfatos y el suministro es muy bajo ($\leq 1 \mu\text{m P}$), reduciendo este tipo de raíz cuando el suministro aumenta.

Además, las evidencias genéticas moleculares demuestran que la punta de las raíces detecta y responde a las bajas concentraciones de fosfato inorgánico, hecho observado en las investigaciones realizadas en *Arabidopsis* y mutantes de la misma, adapta su fisiología radicular ante un déficit de fosfato (Lambers *et al.*, 2006) este

crecimiento radicular está relacionado posiblemente con el agotamiento del meristemo de la raíz que probablemente interfiere en la circulación de auxina en la punta de la raíz, influyendo en la ramificación de las raíces viejas, sin embargo, aún no se sabe con exactitud la causa (Desnos, 2008).

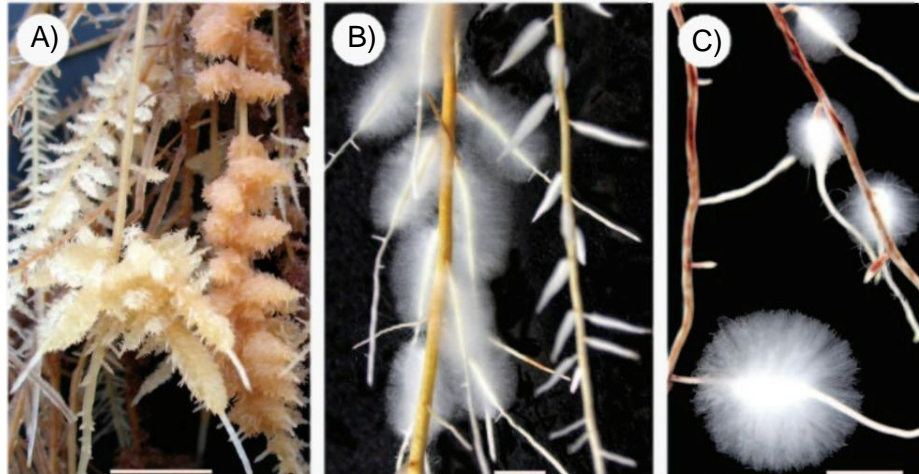


Figura 5. Morfología de racimos de raíces inducidas en A) Proteaceae-raíces protoides, B) Proteaceae-raíz protoide, C) Cyperaceae- raíces dauciformes, adaptadas a suelos con concentraciones extremadamente bajas de P, endémicas de la provincia botánica del suroeste de Australia Occidental (Lambers *et al.*, 2006).

2.7. Microorganismos presentes en el suelo

El suelo se encuentra conformado por microorganismos que interactúan con las plantas a través de las raíces, como lo son los hongos, actinomicetos y bacterias promotoras de crecimiento en las plantas, beneficiándolas a través de la fijación de N_2 , producción de fitohormonas, sideróforos, síntesis de enzimas y en la solubilización de fosfato (Holguin *et al.*, 2003), además participan continuamente en todas las transformaciones regulando la descomposición y utilización del fósforo de la solución del suelo según la calidad del material presente (Suñer & Galantini, 2013).

2.8. Solubilización de fósforo

La solubilización del P del suelo es el proceso por el cual las reacciones de precipitación se revierten, liberando P en solución, que se absorbe y asimila por las

raíces de las plantas como fosfato inorgánico (H_2PO_4^- y HPO_4^{2-}), sin embargo, se pueden desprender grupos fosfatos de compuestos orgánicos, a través de la descomposición que es llevada a cabo por microorganismos solubilizadores de fosfato (MSF) incluidas las bacterias, entre los géneros destacan; *Bacillus* sp., *Stenotrophomonas* sp., *Burkholderia* sp., *Pseudomonas* sp., *Rhizobium* sp., *Vibrio proteolyticus*, *Enterobacter*, *Achromobacter*, *Agrobacterium* y *Streptomyces* sp, *Serratia*, *Flavobacterium* entre otros (Tilak et al., 2005; Patiño-Torres & Sanclemente-Reyes, 2014).

2.9. Fosfato

El fósforo se encuentra en el suelo en su estado más oxidado, es decir con una valencia de +5 como se muestra en la Figura 6, la estructura molecular comparte un átomo de oxígeno común en cada uno de los extremos del tetraedro, es decir cuatro átomos de oxígeno se unen a un solo átomo de fósforo (Sanchez de Fuentes, 2021), formando un ortofosfato PO_4^{3-} , mientras que la oxidación y reducción de compuestos de fósforo forman el fosfato, a través de reacciones de transferencia de electrones (White & Metcalf, 2007).

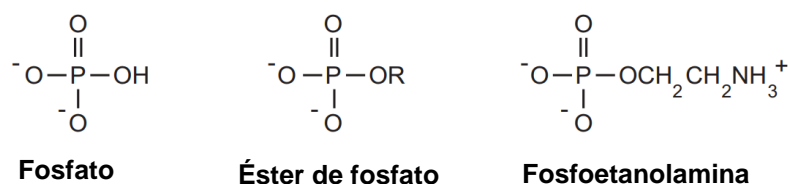


Figura 6. Compuestos de fósforo con valencia de +5 presentes en el suelo (White & Metcalf, 2007).

2.10. Mecanismos de solubilización del P orgánico

La solubilización de fosfato orgánico en el suelo se lleva a cabo a partir de los residuos de plantas, animales y biomasa microbiana muerta, que están compuestos por formas químicas de fósforo orgánico (Dao, 2011), que pueden ser hidrolizados y mineralizados bioquímicamente por acción de enzimas de origen microbiano y vegetal, generando la liberación de iones fosfatos (Pi) a la en la solución del suelo (Tapia-Torres & García-Oliva, 2013).

La liberación del P de estos compuestos orgánicos se realiza mediante exoenzimas como fosfatasas, fitasas y C-P liasas (White & Metcalf, 2007), las enzimas fosfatasas llevan a cabo la desfosforilación de enlaces fosfoéster o fosfoanhídrido en materia orgánica, presentan actividad hidrolasa capaz de eliminar un grupo fosfato de un compuesto orgánico mediante la hidrólisis, estas enzimas han sido clasificadas en cinco subclases diferentes: fosfatasas alcalinas, fosfatasas ácidas, fosfatasas histidinas ácidas y proteínas fosfatasas (Lynch & Brown, 2008).

También participan las enzimas fitasas, encargadas de catalizar la hidrólisis del fitato (mio-inositol hexakisfosfato) derivados del mio-inositol menos fosforilados y a fosfato inorgánico, estos compuestos son los más abundantes y representan cerca de 50% del fósforo orgánico total, siendo el fitato la principal forma de almacenamiento de fosfato, encontrándose principalmente en las semillas de la planta, siendo considerada por científicos como una proteína con gran aplicación comercial y ambiental, (Oh *et al.*, 2004; Kononova & Nesmeyanova, 2002).

La composición de la parte orgánica del suelo es muy variable por lo que su mineralización es diferente, siendo los di ésteres de fosfato principalmente ácidos nucleicos y fosfolípidos los más rápidos por impregnarse débilmente a los demás componentes del suelo en comparación con los mono ésteres como el mio-inositol hexakisfosfato (fitato) o los mononucleótidos, que son difícilmente mineralizados por su fuerte adsorción a los componentes del suelo debido a su carga negativa formando moléculas complejas con hierro, aluminio y calcio, acumulándose grandes cantidades en el suelo, sobre todo vírgenes (Lim *et al.*, 2007; Turner *et al.*, 2002).

Kononova & Nesmeyanova (2002) señalan que cada vez hay más datos que muestran la capacidad de las bacterias para utilizar los compuestos organofosforados más reducidos como fuentes de fósforo, en particular, fosfonatos que son una clase de compuestos organofosforados libres caracterizados por tener enlaces carbono-fósforo (C-P) estables, siendo químicamente distintos a los éster de fosfatos con enlaces C-P-O (White & Metcalf, 2007), esta habilidad es por la presencia de enzimas hidrolasas y C-P liasa (Figura 7) que rompen el enlace C-P, en la revisión realizada por Tapia-Torres & García-Oliva (2013) mencionan a las

fosfonoacetaldehído hidrolasa (fosfonatasa), fosfonoacetato hidrolasa y fosfonopiruvato hidrolasa como las 3 hidrolasas que pueden ser las encargadas de romper dicho enlace.

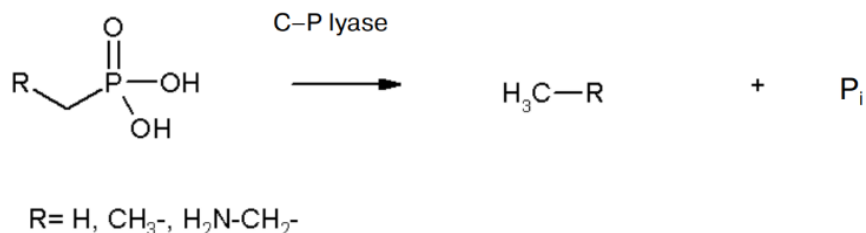


Figura 7. Vía de C-P liasa Kononova & Nesmeyanova (2002).

2.11. Mecanismos de solubilización del P inorgánico

La solubilización de fósforo inorgánico (Pi) se reporta desde principios de los años 90', a través de las bacterias que transforman los fosfatos insolubles a formas solubles, mediante la producción y liberación extracelular de ácidos orgánicos producidos por los microorganismos del suelo, los cuales utilizan en su mayoría la ruta metabólica de la glucosa para producir dichos ácidos, esta producción tiene acción directa en la acidificación, quelación, precipitación y las reacciones de óxido reducción en la rizosfera o bien por la asimilación directa de fosfatos insolubles que son acumulados en las células de los microorganismos para posteriormente liberarlos (Toledo-Garcia *et al.*, 2013; Puente, Ching, & Yoav, 2009).

De acuerdo con Paredes-Mendoza (2010) los ácidos orgánicos son compuestos de bajo peso molecular, al ser liberadas aumentan el pH en la rizosfera, facilitando la absorción del elemento e incrementando la disponibilidad de micronutrientes como Fe, Zn y Mn en el suelo. Se encuentran formadas estructuralmente por uno o más grupos carboxilo, con cargas negativas quelatando los cationes (Ca⁺², Mg⁺², Fe⁺³, y Al⁺³) unidos al fosfato convirtiéndolas en formas solubles y desplazando los aniones en el suelo, como se muestra en la Figura 8 (Fernández *et al.*, 2005).



Fosfato tricálcico + ácido oxálico → Fosfato dicálcico + Oxalato de Ca

Figura 8. Solubilización de fosfatos por ácidos orgánicos (Plaza, 2007 citado en Corrales *et al.*, 2014).

Los ácidos orgánicos que actúan sobre compuestos insolubles de fosfato inorgánico son el ácido butírico, málico, acético, láctico, fumárico, 2-cetoglucónico, indolacético, adíptico, y principalmente el cítrico, oxálico, glucónico, así como el succínico (Paredes-Mendoza 2010; Restrepo-Franco *et al.*, 2015).

Otro posible mecanismo de solubilización puede ser a través de la liberación de H⁺ del citoplasma al exterior de la célula, por el intercambio de cationes (particularmente el NH₄⁺) o por el efecto de una ATPasa localizada en la envoltura celular que trasloca el H⁺, utilizándolo en la hidrólisis del ATP, absorbiendo el fosfato a través de la envoltura celular (Patiño-Torres & Sanclemente-Reyes, 2014).

Chalarca-Vélez & Gaviria (2020) exponen un medio alternativo de solubilización dada mayormente por bacterias Gram negativas, a través de una vía de oxidación directa de glucosa (DOPG por sus siglas en inglés) cuyo papel fisiológico permanece desconocido, las enzimas de esta ruta, la quinoproteína glucosa deshidrogenasa (GDH) y la gluconato deshidrogenasa (GADH) están orientadas a la parte exterior de la membrana citoplasmática pudiendo oxidar sustratos en el espacio periplásmico. Difundiendo los ácidos orgánicos hacia el exterior de las células, causando la liberación de grandes cantidades de fósforo soluble a partir de fosfatos minerales debido a que se proporcionan protones y aniones de ácidos orgánicos que se unen al metal liberando el fosfato (Pérez *et al.*, 2007).

Hasta la fecha se han identificado dos tipos de quinoproteína glucosa deshidrogenasa, la primera, unida a la membrana celular interna (GDH) y la otra presente en forma soluble (sGDH), las cuales muestran actividad en el periplasma de bacterias negativas (An & Moe, 2016).

2.12. Bacterias solubilizadoras de fosfato.

Las bacterias, comparados con los hongos y actinomicetos, son los microorganismos predominantes en solubilizar fosfato mineral en los suelos, se han aislado de distintos suelos bacterias pertenecientes a los géneros *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Burkholderia*, *Achromobacter*, *Micrococcus*, *Aerobacter*, *Flavobacterium* y *Erwinia* (Fernández *et al.*, 2005), creciendo en medios con fosfato tricálcico, apatita o materiales insolubles similares como única fuente de fosfato y no solo asimilan el elemento, sino que solubilizan una gran proporción del mismo, liberándolo en cantidades superiores a sus demandas nutricionales (Guang-Can *et al.*, 2008).

Las bacterias transforman los fosfatos a solubles por diferentes mecanismos de acción, entre ellos por la acción de ácidos orgánicos, quelación de los elementos y asimilación directa de fosfatos insolubles por microorganismos (Restrepo-Franco *et al.*, 2015), entre las bacterias que se asocian con la producción de ácidos orgánicos se encuentran generalmente rizobacterias como *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Enterobacter* sp., *Burkholderia*, *Agrobacterium*, *Flavobacterium*, *Rhizobium*, *Yarrowia*, *Streptosporangium*, *Aerobacter*, *Achromobacter*, *Erwinia* y *Serratia* (Corrales *et al.*, 2014).

Se ha reportado al ácido glucónico como el agente más frecuente de solubilización de fosfato (Velasco-Jiménez *et al.*, 2020), el cual es producido por *Pseudomonas* sp., *Serratia*, *Erwinia herbicola*, *Pseudomonas cepacia* y *Burkholderia cepacia*, otro metabolito solubilizador de fosfato es el ácido 2-cetoglucónico, sintetizado por *Rhizobium leguminosarum*, *Rhizobium meliloti*, *Bacillus firmus* y otras bacterias del suelo aún no identificadas (Rodríguez *et al.*, 2006).

Por otra parte, Idriss *et al.* (2002) menciona a *Bacillus* y *Enterobacter* sp., como los microorganismos que producen actividad fitasa extracelular estimulando el crecimiento vegetal por aumento en la disponibilidad de fosfatos, se ha reportado la producción de esta enzima en bacterias Gram-positivas, como es el caso de las bacterias del género *Bacillus* y bacterias Gram-negativas, *Klebsiella* y *Pseudomonas* sp. (Beltrán, 2014).

Entre los principales microorganismos que producen a las fosfatasa extracelulares, se encuentran *Bacillus subtilis*, *Nostoc* sp., *Caulobacter crescentus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Sinorhizobium meliloti* y *Mesorhizobium loti*, por mencionar algunos (Céron & Aristizábal, 2012).

2.12.1. *Serratia plymuthica*

El género *Serratia* lleva el nombre del físico italiano Serafino Serrati, siendo un organismo de vida libre y endófito. Grimont *et al.* (1978) describieron cuatro especies dentro del género, *S. marcescens*, *Serratia liquefaciens*, *Serratia plymuthica* y *S. marinorubra*, asociándose más a *S. plymuthica* con plantas, el cual se ha aislado de la rizosfera de trigo, maíz, uva, melón, cebolla, entre otros (Vleesschauwer & Höfte, 2007).

2.12.1.1. Características

Serratia sp., es un género que pertenece a la familia Enterobacteriaceae, es una gammaproteobacteria, bacilo Gram negativo corto y recto de 0.5-0.8 µm de ancho x 0.9-2.0 µm de longitud, no forman esporas, generalmente móvil por flagelos periticos, anaeróbio facultativo, oxidasa negativa, crece bien en medios de cultivo ordinarios sobre todo en agar sangre, agar chocolate y agar McConkey, bajo condiciones aerobias o anaerobias, son capaces de crecer en un rango de temperaturas entre 10 y 36°C con un pH entre 5 y 9, produciendo colonias que pueden ser pigmentadas (Mahlen, 2011; Golemi-Kotra, 2008).

Las especies de *Serratia* se caracterizan por tener colonias de aspecto opaco pudiendo ser de color blanco, rosa o incluso rojo intenso (debido a los pigmentos prodigiosina y pirimina) dependiendo del genotipo y de las condiciones en las que se establezcan (Rafii, 2014), pueden producir quitinasas, así como la hormona vegetal ácido indol-3-acético (AIA) para algunas especies; *S. plymuthica* se pueden distinguir de otros géneros por la producción las enzimas ADNasa, lipasa y gelatinasa, dando positivas a las reacciones de citrato, Vogues-Proskuer y pueden fermentar manitol y trehalosa (Weise *et al.*, 2013).

Algunas cepas de *S. plymuthica* poseen un gran potencial como agente de control biológico de hongos fitopatógenos por la amplia gama de compuestos antimicrobianos que producen, además de considerarse una rizobacteria promotora de crecimiento vegetal (Vleeschauwer & Höfte, 2007), y algunas cepas pueden crecer en temperaturas de 4-5°C (Rafii, 2014).

El principal mecanismo propuesto por Goldstein (1996) citado por Rodríguez *et al.* (2006) para la solubilización de fosfato mineral es la oxidación directa de glucosa a ácido glucónico (GA) en bacterias Gram-negativas en el que se incluye el género *Serratia*, siendo corroborado por Krishnaraj & Goldstein (2001), al aislar *Serratia marcescens* en una muestra endorrizosférica con un alto nivel de actividad solubilizadora de fosfato mineral, correlacionándolo con la expresión de la vía de oxidación directa produciendo ácido glucónico para la solubilización.

Además Esparza (2020), demuestra en sus investigaciones la síntesis de ácidos orgánicos por *Serratia* sp., así mismo Chen *et al.*, (2006) señala en sus estudios a *S. marcescens* quien sintetizó el máximo número de orgánicos entre los que se encuentra el ácido cítrico, succínico, glucónico y láctico, disminuyendo el pH de 6.8 a 4.9, aumentando el nivel de solubilización.

2.12.2. *Enterobacter* sp.

Son microorganismos saprofitos en el medio ambiente ampliamente distribuidos en la naturaleza, se les puede encontrar en el suelo, agua y como parte de la microbiota de seres vivos, se les atribuye la capacidad de solubilizar fósforo, promoviendo el crecimiento de las plantas (Kumar *et al.*, 2010).

2.12.2.1. Características

Las bacterias del género *Enterobacter* son bacilos Gram-negativo, anaeróbicas facultativas, pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae, suelen ser bacterias grandes que miden de 2 a 4 µm, forman colonias con turbidez difusa en caldo nutritivo después de 12 a 18 horas de incubación, tienen la capacidad de solubilizar fosfato tricálcico (TCP), fermentan glucosa y son capaces de reducir nitratos en nitritos (Davin-Regil *et al.*, 2019; Fu-Ping *et al.*, 2014).

Según lo indica Sánchez *et al.* (2012) en los estudios realizados en *Enterobacter* sp., la bacteria posee la habilidad de solubilizar fosfatos a través de la producción de ácidos orgánicos y fosfatas ácidas, esta última desempeña su papel en los suelos contienen variaciones de pH de valores ácidos a neutros, donde *Serratia* es una de las bacterias que sintetizan esta enzima (Vargas, 2012) y así mismo Yi *et al.* (2008) en sus investigaciones realizadas con *Enterobacter* sp., muestran la producción de al menos tres tipos de ácidos orgánicos para disolver eficientemente el fosfato poco soluble como el ácido oxálico, glucónico, cítrico, fumárico y succínico, además se le atribuye la acción de la glucosa deshidrogenasa inducible por falta de fosfato (GDH).

Lo que es confirmado por Sharma *et al.* (2011) al evidenciar la producción de ácido glucónico por *Enterobacter asburiae* y por *Enterobacter cloacae* (Fu-Ping *et al.*, 2014).

2.12.3. *Brevibacillus parabrevis*

El género *Brevibacillus* se estableció en el año 1996, creado por la variedad de cepas clasificadas anteriormente como *Bacillus brevis* en base a las características fenotípicas similares que poseían, pertenece a la familia Paenibacillaceae, suelen habitar en el suelo y agua (Johnson & Dunlap, 2019).

2.12.3.1. Características

El género pertenece al grupo de bacterias Gram-positivas más difundidas, aunque contiene bacterias Gram variables como *B. brevis*, son aeróbicas y anaeróbicas facultativas, en forma de bastoncillos ovales, con capacidad de fermentación, formadoras de endosporas (Panda *et al.*, 2014), sus colonias son lisas y presentan un color gris amarillento en medios estándar (Hooda *et al.*, 2018).

Las investigaciones de Vivas *et al.* (2005) señalan a *B. brevis* como positivo a la producción de IAA (Ácido Indol Acético), solubilización de fosfato, reducción de acetileno, y actividad antifúngica como agentes de biocontrol, la reactividad *B. parabrevis* es positiva a la reducción de nitrato a nitrito, utilización de amonio y la producción de ácidos a partir de D-glucosa, trehalosa, D-manitol y otros carbohidratos (Ray *et al.*, 2020).

Este género posee la habilidad de solubilizar fosfatos mediante la actividad de fosfatasas ácidas como es el caso de *B. brevis* (Vivas *et al.*, 2005) además la mayoría de las especies tienen la capacidad de formar ácidos orgánicos como ácido cítrico, L-málico, fórmico y L- butírico, sin embargo, en los estudios realizados por Johnson & Dunlap (2019) indican que *B. brevis* no produce ninguno de los ácidos mencionados.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Sitio experimental

El presente trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología e Invernadero del Departamento de Parasitología, perteneciente a la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) ubicado en las coordenadas 25°23'36" latitud norte, 101°00'02" longitud Oeste, en la ciudad de Saltillo, Coahuila, México.

3.2. Aislamiento de Bacterias Solubilizadoras de Fosfato (BSF)

El aislamiento de las bacterias consistió en la selección de diferentes pastos, *Chloris gayana* (Zacate Rhodes), *Cenchrus ciliaris* (Zacate buffel) que crecían en las distintas áreas de la UAAAN campus Saltillo, para la recolección de sus raíces se realizó con ayuda de guantes de látex y tijeras desinfectadas.

Las raíces fueron trasladadas por especie de pasto individualmente al laboratorio de microbiología en bolsas plásticas de polietileno, utilizando la metodología de Esparza (2020). Las muestras fueron previamente lavadas para eliminar el exceso de suelo, posteriormente se desinfectaron con una gota jabón líquido en 40 ml de agua destilada estéril, agitándolo por 30 seg, en seguida se enjuagó y agitó en tres ocasiones con agua destilada estéril hasta eliminar el exceso de jabón, parte del material recolectado se colocó y maceró en tubos falcón con agua destilada estéril, inmediatamente con la ayuda de un asa bacteriológica se sembró en forma de estría en el medio NBRIP (National Botanical Research Institute Phosphate growth médium) formulado por Nautiyal (1999) con modificaciones el cual contiene Dextrosa (10g), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (0.15g), KCl (0.2g), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.25g), $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (2.5g) y Agar (18g). Con el restante de cada una de las muestras se continuo con el procedimiento reportado por Campoy *et al.*, (2020), tomando fragmentos de las raíces cortados en pequeños trozos de aproximadamente 1-2 cm sembrándolos directamente en el medio antes mencionado. Las placas de ambos métodos se incubaron a 28°C por 72 horas.

Pasando el periodo de incubación, se seleccionaron los aislamientos que mostraban la aparición de halos claros alrededor de las colonias, característica de la actividad

solubilizadora de fosfato, finalizando con la purificación de cada bacteria a través de la resiembra con la técnica de estrías cruzadas (Chakraborty *et al.*, 2010).

3.3. Pruebas para la identificación y caracterización de BSF

Se realizó la caracterización morfológica de las colonias mediante la observación de frotis al microscopio compuesto, describiendo morfología celular, por forma, pigmentación, consistencia, borde, elevación y textura, asimismo se realizó la tinción Gram y pruebas bioquímicas como catalasa y KOH. Por último, se enviaron 2 muestras purificadas de cada cepa al Laboratorio Nacional de Biotecnología Agrícola, Médica y Ambiental (LANBAMA) del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica (IPICYT), para realizar la caracterización de cada especie a través de la secuenciación de las regiones internas transcritas ITS1 e ITS4 del DNAr amplificados a través del método de reacción en cadena de polimerasa (PCR) (Villalobos *et al.*, 2005).

3.3.1. Tinción Gram

La tinción Gram es definida como una tinción diferencial, esta técnica fue creada por el médico danés Christian Gram en 1884, quien clasificó las bacterias en gram positivas y negativas de acuerdo a la composición de la pared celular; las bacterias Gram negativas está constituida por una capa fina de peptidoglicano y una membrana celular externa, mientras que las bacterias Gram positivas poseen una pared celular gruesa constituida por peptidoglicano, pero no cuentan con membrana celular externa (López-Jácome *et al.*, 2014; Rodríguez, 2001).

El procedimiento consistió en realizar un frotis fijándolo al calor y se utilizó como colorante primario el cristal violeta durante 1 min, posteriormente, se enjuagó con agua y se colocó lugol durante 30 segundos, el cual sirve como mordente que impide la salida del cristal violeta, se lavó nuevamente y se aplicó alcohol-acetona durante 15 segundos, la cual deshidrata la pared celular y cierra los poros de la misma, también destruye la membrana externa de las bacterias Gram negativas, mientras que las Gram positivas, logran contener este complejo por poseer una gran cantidad de peptidoglicano, manteniendo un color azul a morado, por último,

se colocó safranina sobre el frotis por 1 min, como colorante de contraste para teñir las bacterias que no pudieron retener el cristal violeta, es decir las bacterias Gram negativas, que al observarse al microscopio muestra un color rosa o rojo.

3.3.2. Prueba de catalasa

La catalasa se puede considerar como una enzima desintoxicante, pues elimina sustancias que se producen durante el metabolismo celular llegando a ser tóxicas, es una enzima que cataliza la descomposición del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en agua y oxígeno, dando como resultado la liberación de burbujas de gas (Soto *et al.*, 2007; Ordaz, 2004).

Se tomó suficiente cantidad de la colonia fresca de un cultivo de 18 a 24 horas, con un asa de inoculación estéril colocándolo en el portaobjeto y sobre ella se agregó una gota de peróxido de hidrógeno al 3%, desprendiéndose burbujas inmediatamente al ser catalasa positiva, de lo contrario, se consideran catalasa negativa.

3.3.3. Prueba KOH

La prueba hidróxido de potasio (KOH) consiste en la capacidad del KOH (potasa) que tiene para disolver las paredes de bacterias Gram negativas, debido a que poseen una pared de peptidoglicano mucho más fina que las Gram positivas, por tanto, al ser KOH positivos, se rompe la pared, liberándose el contenido interior incluido el material genético, éste hará que la solución tenga una apariencia viscosa que al levantarse con una asa bacteriológica crea una especie de hilos o cuerdas hialinas (Rodríguez, 2001).

Para ello se tomó con una asa una porción de la colonia y se colocó en un portaobjetos, agregándole una gota de solución de KOH removiendo y mezclándolo por 30 segundos, si toma una apariencia mucosa que al levantar el asa se forma un hilo, dando como positivo a la prueba, de lo contrario, se considera negativa.

3.4. Determinación cualitativa de Ácido Indol Acético (AIA)

Se determinó la producción de AIA por colorimetría utilizando el reactivo de Salkowski (Glickmann & Deessaux, 1995) que permite la oxidación de compuestos indólicos por sales férricas, cuando la respuesta es positiva se obtiene una coloración rosada que va desde el rosa claro a intenso dependiendo la concentración del ácido indol acético presente (Lara *et al.*, 2011).

3.5. Eficiencia de solubilización de fosfatos (ESF)

Según Kumar & Narula (1999), citado en Ruíz-Chután *et al.*, (2021) la ESF se determinó a partir del diámetro de la colonia y del halo de solubilización con cada una de las cepas como se indica en la fórmula representada en la Figura 9, se utiliza como instrumento un Vernier digital y se mide el diámetro en mm del área de hidrólisis.

$$ESF = \frac{A \text{ (Diámetro del halo de solubilización)}}{B \text{ (Diámetro de la colonia)}}$$

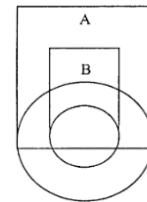


Figura 9. Fórmula para calcular la eficiencia de solubilización de fosfatos (Sitepu *et al.*, 2023).

3.5.1. Evaluación cualitativa de la solubilización de fosfatos

La capacidad cualitativa de solubilización se evaluó en el medio NBRIP modificado, con un pH de 6.9, se incubó cada una de las 3 cepas en distintas concentraciones de fosfato tricálcico (Ca_3PO_4)₂ de 1.5, 2.5, 3.5 y 5 g/L con 4 repeticiones cada uno (Cuadro 2), se incubaron a 28°C, registrando el crecimiento de la hidrólisis cada 24 horas por aproximadamente 17 días, hasta notar una constante en el crecimiento.

Los datos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) bajo un diseño completamente al azar con arreglo factorial de A X B (3x4), donde A=Bacterias y B=Concentraciones. Para lo anterior, se utilizó el programa estadístico R versión 4.2.0 (R Core Team, 2022), se compararon y estratificaron según la prueba de Tukey a un nivel de significancia de $p \leq 0.05$, bajo el siguiente modelo lineal:

$$y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

y_{ijk} = Variable respuesta en la repetición k, nivel i de A y nivel j de B

μ = Media general

A_i = Efecto del factor A al nivel i

B_j = Efecto del factor B al nivel j

$(AB)_{ij}$ = Efecto de la interacción AB al nivel i,j

ε_{ijk} = Error aleatorio

Cuadro 2. Tratamientos de bacterias solubilizadoras de fosfato en diferentes concentraciones de $(Ca_3PO_4)_2$ para determinar ESF en laboratorio.

Cepa	Concentración g/L	Repetición
<i>Serratia plymuthica</i>	1.5	5
	2.5	5
	3.5	5
	5	5
<i>Enterobacter sp.</i>	1.5	5
	2.5	5
	3.5	5
	5	5
<i>Brevibacillus parabrevis</i>	1.5	5
	2.5	5
	3.5	5
	5	5

3.6. Evaluación cuantitativa de la solubilización de fosfatos.

Se inoculo 1 ml de cada una de las cepas en matraces Erlenmeyer bafleados con capacidad de 1000 ml, ocupando 350 ml de medio liquido estéril NBRIP modificado,

con un pH de 6.9 a una concentración de 2.5 g/L de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, incubándolas a 12, 24, 36 y 48 horas a temperatura ambiente, manteniéndose en agitación constante a 150 rpm en un agitador VWR®, posteriormente se recolectaron 20 ml de cada una de las muestras a cada una de las horas de incubación mencionadas, se prosiguió a dejarlas en reposo para que se sedimentara el $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ y después tomar aproximadamente 10 ml del sobrenadante, mezclándose con los reactivos del kit de pruebas High Range Phosphorus Colorimeter Checker® HC HI706, para poder cuantificar la absorbancia de P.

Para la cuantificación de fosfato soluble, se requirió realizar también una curva estándar con concentraciones de 0, 3, 6, 9 y 15 mg/L a partir de una solución madre de 17 mg/L de fosfato di potásico (K_2HPO_4).

Con ambos tipos de muestras se permitió establecer la relación entre la absorbancia y la concentración de P soluble (ppm), la absorbancia de la reacción colorimétrica se leyó en el espectrofotómetro Thermo Scientific™ Multiskan™ GO a 880nm (Beltrán, 2014; Esparza, 2020).

3.7. Efecto de las BSF en el crecimiento y desarrollo de *Solanum lycopersicum*

Se evaluó el efecto del fosfato solubilizado por BSF aplicadas en plantas de *Solanum lycopersicum* trasplantadas a un sustrato estéril compuesto por peat moss y perlita con una proporción 3:1 bajo invernadero, la aplicación de fósforo solubilizado por BSF en un medio NBRIP con una concentración de 2.5 g/L de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, dicha aplicación se inició 8 días después del trasplante (ddt), la aplicación se realizó semanalmente, a través del riego con una dosis de 120 ml/L de agua a pH de 6.8. Transcurridos 62 ddt se evaluaron 5 diferentes parámetros agronómicos (altura de la planta, diámetro del tallo, número de hojas, número de flores y número de frutos).

Se estableció un diseño experimental completamente al azar, que constó de 3 tratamientos y un testigo, con 4 repeticiones cada uno (Cuadro 3), distribuyéndose en un cuadro de 4 x 4, con un total de 16 unidades experimentales bajo el siguiente modelo lineal:

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

y_{ij} = Es la observación del tratamiento i en la repetición j

μ = Media general

τ_i = Efecto del i -ésimo tratamiento

ε_{ij} = Error experimental

Los datos obtenidos fueron sometidos a un ANOVA con una prueba de Tukey ($P \leq 0.05$), a través del programa estadístico R versión 4.2.0 (R Core Team, 2022).

Cuadro 3. Tratamientos establecidos en *Solanum lycopersicum*

	Tratamientos 120ml/L	Repeticiones
1	<i>Serratia plymuthica</i>	4
2	<i>Enterobacter</i> sp.	4
3	<i>Brevibacillus parabrevis</i>	4
4	Testigo absoluto (agua)	4

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Bacterias aisladas

Se aislaron y purificaron tres diferentes bacterias con capacidad de solubilizar fosfato en medio NBRIP, recuperadas de la raíz de diferentes pastos (Cuadro 4) colectadas en la UAAAN sede Saltillo, Coahuila. Se identificaron morfológicamente a nivel de género según la caracterización mencionada por Valdés (2015).

Los aislamientos purificados en el medio mencionado anteriormente, fueron enviados al LANBAMA donde se identificaron a nivel de especie mediante PCR. La caracterización molecular realizada arrojó para la primera cepa aislada un 98.84% de similitud con *Serratia plymuthica* teniendo el número de acceso al Genbank MK530265.1, de la misma manera para la segunda cepa que mostró un 99.18% de similitud con *Enterobacter* sp. con el número de acceso MN719050.1 y por último se obtuvo un 83.45 % de semejanza con *Brevibacillus parabrevis* con acceso al Genbank con el número MN2040651, sin embargo, para esta última cepa el porcentaje de similitud obtenido mediante PCR es bajo para reafirmar que realmente se trata de esta especie, por lo que para trabajos futuros, se podrían realizar pruebas bioquímicas para comprobar que realmente se trate de este género y especie.

Cuadro 4. Bacterias solubilizadoras de fosfato aisladas de pastos.

Pastos	Bacteria aisladas
<i>Chloris gayana</i> (Zacate Rhodes)	<i>Serratia plymuthica</i>
<i>Chloris gayana</i> (Zacate Rhodes)	<i>Enterobacter</i> sp.
<i>Cenchrus ciliaris</i> (Zacate buffel)	<i>Brevibacillus parabrevis</i>

4.2. Identificación y caracterización de BSF

Una vez aisladas se realizó primeramente una identificación morfológica de cada bacteria tal y como se muestra en el Cuadro 5.

Cuadro 5. Características morfológicas de las BSF.

Cepa	<i>Serratia Plymuthica</i>	<i>Enterobacter sp.</i>	<i>Brevibacillus parabrevis</i>
Característica			
Forma de la bacteria	Bacilar	Bacilar	Bacilar
Forma de la colonia	Irregular	Circular	Irregular
Pigmentación	Cremoso	Cremoso	Cremoso
Consistencia	Mucoide	Mucoide	Mucoide
Borde	Ondulados	Enteros	Ondulado
Elevación	Convexo	Convexo	Plano
Textura	Sinuosa	Concéntrica	Sinuosa

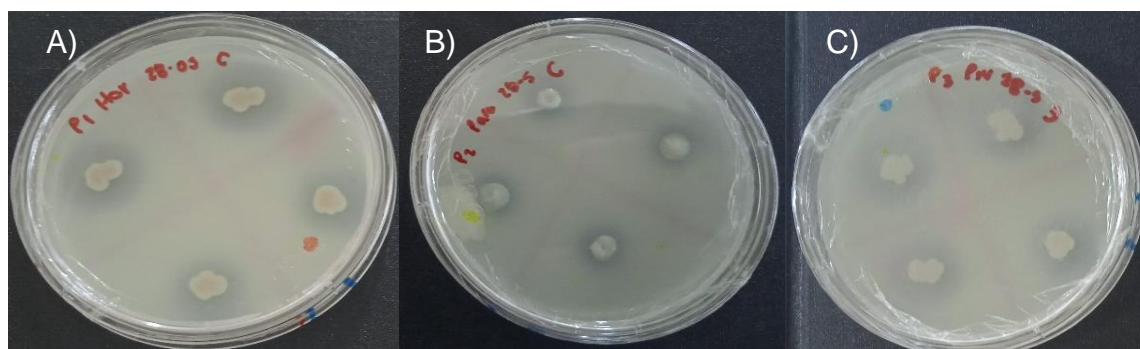


Figura 10. Colonias y halo de solubilización de BSF. A) *S. plymuthica*, B) *Enterobacter* sp., C) *Brevibacillus parabrevis*.

La caracterización morfológica coincide con lo mencionado por Lara (2013) haciendo referencia al género *Enterobacter* como bacilos Gramnegativos, con colonias circulares, de color cremoso (Figura 10- B), midiendo entre 1 y 3 mm, con un borde entero, elevado y una superficie suave y brillante, mismas características que menciona Sarkar (2018) en su investigación.

En el caso de *Serratia plymuthica* autores como Neupane *et al.* (2012) mencionan la formación de colonias de color rojo a rosa, a diferencia de lo reportado en este trabajo donde no se observa ninguna pigmentación sino la colonia es de color marfil a blanca (Figura 10-A), es importante considerar que la producción de pigmento rojo por prodigiosina depende de los ingredientes y tipo de medio.

Los resultados presentados en el estudio realizado por Hooda *et al.* (2018) corresponden con lo indicado en la morfología presente con la cepa *Brevibacillus parabrevis*, teniendo una colonia cremosa, plana y lisa, notándose también en la cepa una consistencia mucosa e irregular (Figura 10-C).

Además, se realizó la prueba de tinción Gram (Cuadro 6) con ello se ubicó a dos de las bacterias como Gram positiva y una como Gram negativo (Figura 11- Aabc), al igual la prueba de KOH (Figura 11- C) fue negativa para *S. plymuthica* (Figura 11- Cb) y los dos restantes como positivas y de manera similar para la prueba de catalasa (Figura 11- B), asimismo poseen la capacidad de crecer en diferentes concentraciones de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (1-5 g/L).

Cuadro 6. Pruebas bioquímicas de las BSF.

Cepa bacteriana	Tinción Gram	Catalasa	KOH	Medio NBRIP
<i>Serratia plymuthica</i>	-	-	-	+
<i>Enterobacter sp.</i>	-	+	+	+
<i>Brevibacillus parabrevis</i>	+	+	+	+

(+) Prueba positiva (-) Prueba negativa

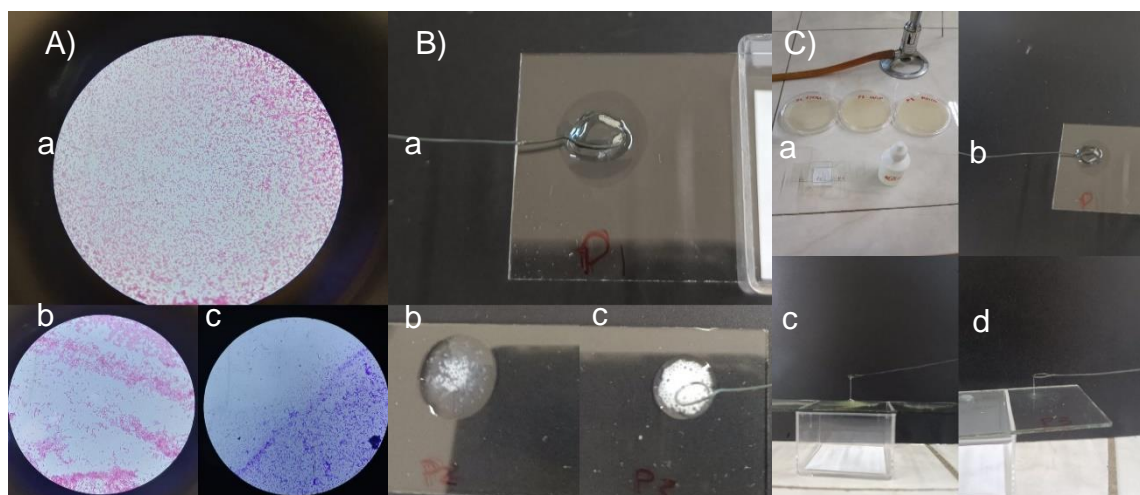


Figura 11. Pruebas bioquímicas realizadas en BSF. A) Tinción Gram a- *S. plymuthica* (-), b- *Enterobacter sp.* (-), c- *B. parabrevis* (+), B) Prueba de Catalasa a- *S. plymuthica* (-), b- *Enterobacter sp.* (+), c- *B. parabrevis* (+), C) Prueba de KOH a- Materiales, b- *S. plymuthica* (-), c- *Enterobacter sp.* (+), d- *B. parabrevis* (+).

Los resultados en las pruebas bioquímicas concuerdan con lo señalado por George *et al.* (2013) en las pruebas realizada con *Enterobacter*, mismo resultado de Sarkar *et al.* (2018) que obtienen datos positivos para catalasa, oxidasa, proteasa y negativo para la tinción Gram, prueba de amilasa y producción de indol.

Van *et al.* (2005) reportan resultados similares en *Serratia plymuthica* señalándola como Gram negativo, oxidasa positiva, mostrando motilidad, así como pigmentación roja.

Hooda (2018) indica en las pruebas bioquímica aplicadas en *Brevibacillus parabrevis* como positivo para la tinción Gram, motilidad, catalasa y oxidasa, coincidiendo con los resultados obtenidos con las dos primeras pruebas realizadas, además el autor también presenta resultados negativos para la prueba de Indo, hidrolisis de urea entre otros.

4.3. Cuantificación de Ácido Indol Acético (AIA)

La determinación de producción de AIA por colorimetría, en donde se utilizó el reactivo Salkowski (Glickmann & Deessaux, 1995) resultó negativa para las tres bacterias (Cuadro 7), no se obtuvo una coloración rosácea que indica la síntesis de indol al reaccionar como positiva a la prueba.

Cuadro 7. Producción de AIA por BSF.

Aislado bacteriano	AIA
<i>Serratia plymuthica</i>	-
<i>Enterobacter</i> sp.	-
<i>Brevibacillus parabrevis</i>	-

El resultado obtenido en *Serratia plymuthica* es similar al obtenido por Misra *et al.* (2012) en *Serratia* sp. al no producir AIA, en cambio, en la especie *S. marcescens* se obtuvo una producción de AIA de 65.6 µg/ml.

También el resultado negativo obtenido en *Enterobacter* sp., coincide con lo obtenido por Sarkar *et al.* (2018) utilizando el mismo método, sin embargo, George

et al. (2013) reportan en sus investigaciones la capacidad que presentan *Serratia marcescens* y *Enterobacter* sp. para producir AIA obteniendo 2.88 µg/ml y 2.40 µg/ml respectivamente al realizar la prueba en caldo Luria-Bertani (LB), con L-triptófano para su conversión a AIA, mientras que nuestra determinación fue efectuada de manera directa del caldo NBRIP que se utilizó para solubilizar fosfatos sin triptofano como nutriente en el medio de cultivo.

El resultado obtenido en *B. parabrevis* coincide con lo reportado por Hooda *et al.* (2018) al obtener una respuesta negativa en la prueba de AIA, por su parte Nehra *et al.* (2016) menciona la capacidad de producción de AIA por *Brevibacillus brevis*, (4.74 µg/ml de AIA) en presencia de L-triptófano. Este tipo de reportes indican en realidad una transformación y no una síntesis ya que se añade un precursor (triptófano) para transformarlo en una hormona (Indol).

4.4. Eficiencia de solubilización de fosfatos (ESF)

La EFS de las bacterias en medio NBRIP se determinó a través del crecimiento de la colonia y el halo traslucido que se forma a su alrededor, como se puede observar en la Figura 12, las tres bacterias mostraron una constante de ESF de 1.20, 1.15 y 1.10 mm para *Enterobacter* sp., *B. parabrevis* y *S. plymuthica* respectivamente a partir de las 96 h de la inoculación, obteniendo su máxima solubilización a las 408 h con una eficiencia de 1.2 mm para *Enterobacter* sp., seguido de *B. parabrevis* (1.18 mm) y con la menor eficiencia en el caso de *S. plymuthica* (1.16 mm).

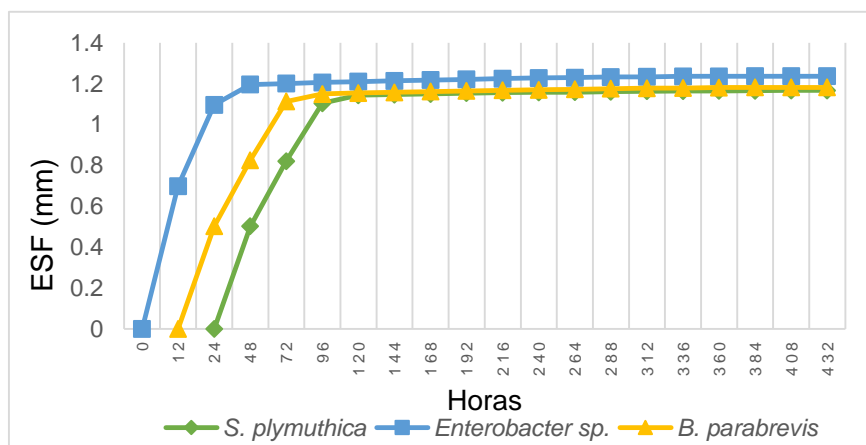


Figura 12. Eficiencia de solubilización de fosfatos por bacterias durante 408 horas.

Cuadro 8. Evaluación de la ESF de bacterias inoculadas en medio NBRIP por horas.

Horas	Tratamientos						Pr>F	C. V
	<i>S. plymuthica</i>	<i>Enterobacter</i> sp.	<i>B. parabrevis</i>					
12	0.000	b G	0.699	a C	0.000	b F	0.0001	114.49
24	0.000	c G	1.097	a B	0.503	b D	0.0001	3.120
48	0.503	c F	1.196	b AB	0.826	a C	0.0001	2.678
72	0.821	c D	1.201	a AB	1.113	b B	0.0001	2.853
96	1.105	c B	1.206	a AB	1.150	b A	0.0001	3.183
120	1.144	b A	1.210	a AB	1.155	b A	0.0001	3.236
288	1.161	b A	1.233	a A	1.176	b A	0.0001	3.201
360	1.165	b A	1.236	a A	1.181	b A	0.0001	3.208
384	1.166	b A	1.237	b A	1.182	a A	0.0001	3.197
408	1.167	b A	1.237	a A	1.182	b A	0.0001	3.194
Pr>F	0.0001		0.0001		0.0001			
Coef Var	3.568		11.064		3.322			

Las medias con la misma literal no tienen diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

Se comparó la ESF de las tres cepas de bacterias durante 408 horas como se muestra en el cuadro 8. Los datos obtenidos muestran a *Enterobacter* sp. como la bacteria con una mayor ESF, la cual se presentó a partir de las primeras 12 h (0.699 mm) de la inoculación y con una máxima ESF de 1.23 mm desde las 288 h hasta las 408 h. Mientras que para *B. parabrevis* y *S. plymuthica*, presentaron ESF a partir de las 24 y 48 h (0.503 y 0.503 mm) respectivamente, presentando una mayor solubilización de 1.167 y 1.182 mm a las 408 h para ambos casos, siendo estadísticamente iguales entre ambas, pero significativamente inferiores a la presentada por *Enterobacter* sp.

Los datos obtenidos en este estudio para la bacteria *Enterobacter* sp., comprueban de cierta manera lo reportado en la investigación de Garcia (2017), quien determinó la ESF de diferentes bacterias evaluadas entre ellas *Enterobacter* spp., en medio NBRIP con distintas fuentes de Pi, siendo uno de ellos el fosfato tricálcico, como

resultado comprobó la ESF de esta especie, la cual fue de 1.70 y 1.78 mm, siendo estos resultados mayores a los obtenidos en este estudio, pero a su vez comprobando que el género *Enterobacter* posee la capacidad de solubilizar fosfato inorgánico.

En cuanto a las diferentes concentraciones utilizadas de fosfato tricálcico (1.5 g/L, 2.5 g/L, 3.5 y 5 g/L), las cepas de *Serratia plymuthica* y *Brevibacillus parabrevis* presenta una mayor solubilización de fosfatos a una concentración de 2.5 g/L de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ con un promedio de 1.178 y 1.199 respectivamente, mientras que *Enterobacter* sp. muestra una ESF mayor a una concentración de 1.5 g/L, sin embargo, a una concentración de 2.5 g/L la cepa presenta mayor solubilización en comparación con el resto; siendo menor la ESF a concentraciones de 3 y 5 g/L para las tres bacterias (Figura 13), por lo que se considera la concentración más adecuada para el desarrollo de estos microorganismos la de 2.5 g/L de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$.

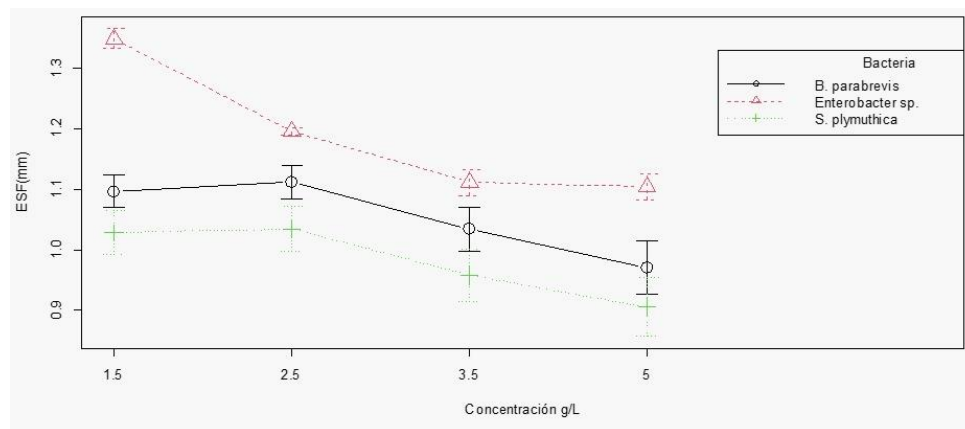


Figura 13. ESF de las bacterias en diferentes concentraciones a las 408 horas.

Investigaciones realizadas por Vera (2018) quien ha reportado que *Azotobacter nigricans* puede solubilizar $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, en el medio PVK modificado obteniendo un ESF de 2.45 en una concentración de 2.5 g/L, disminuyendo el ESF a 2.1 en una concentración de 5 g/L de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, esto posiblemente se deba a una disminución de pH en fuentes de fosfato asociadas al calcio a medida que aumentaba la concentración de fósforo solubilizado (García, 2017). Este tipo de ensayos en medio sólido pueden poner en duda los resultados obtenidos o bien no ser del todo exactos, ya que pueden influir varios factores como el tipo de inóculo y la

concentración del mismo (Yi *et al.*, 2008), así como la preparación del medio como lo señala Nautiyal (1999) con base en las observaciones obtenidas en la solubilización por *Pseudomonas* sp. en un nuevo medio NBRIP mejorando la solubilización de fosfato con la exclusión de extracto de levadura, aumentando glucosa y MgSO₄ incluyendo MgCl₂ para un mejor efecto sinérgico sobre la solubilización; en este trabajo se inocularon las bacterias en medio NBRIP modificado, por lo que para algunas cepas pudieron presentar EFS baja o altas por las modificaciones realizadas.

Entre todas las cepas, las mejores fueron *B. parabrevis* y *Enterobacter* sp., esta última con la mayor eficiencia en sus dos primeras concentraciones, mientras que *S. plymuthica* presentó la menor solubilización en la concentración 5 g/L de Ca₃(PO₄)₂, como se muestran en el Cuadro 9.

Cuadro 9. Solubilización bacteriana de fosfatos en distintas concentraciones de Ca₃(PO₄)₂ durante 408 horas.

Bacteria	Concentración de Ca ₃ (PO ₄) ₂ (g/L)	ESF (mm)	
<i>Enterobacter</i> sp.	1.5	1.349	a
<i>Enterobacter</i> sp.	2.5	1.196	b
<i>B. parabrevis</i>	2.5	1.112	bc
<i>Enterobacter</i> sp.	3.5	1.111	bc
<i>Enterobacter</i> sp.	5	1.104	bcd
<i>B. parabrevis</i>	1.5	1.095	bcd
<i>S. plymuthica</i>	2.5	1.035	cde
<i>B. parabrevis</i>	3.5	1.034	cde
<i>S. plymuthica</i>	1.5	1.028	cde
<i>B. parabrevis</i>	5.	0.970	cde
<i>S. plymuthica</i>	3.5	0.958	de
<i>S. plymuthica</i>	5	0.905	e

Las medias con la misma literal no tienen diferencias significativas (p≤0.05).

4.3. Cuantificación de la solubilización de fosfato inorgánico

Se realizó la cuantificación colorimétrica de fósforo soluble presente en el caldo NBRIP, a una concentración de 2.5 g/L de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ como fuente de fosfato, para esto se realizó inicialmente una curva estándar con la utilización de K_2HPO_4 en diferentes concentraciones de fósforo total (Figura 14).

Con los datos obtenidos en la cuantificación se realizó un análisis de regresión lineal simple y no lineal a través de la gráfica de Lineweaver-Burk basada en la reordenación de la cinética de Henri-Michaelis-Menten que describe la velocidad de muchas reacciones enzimáticas (Herrera *et al.*, 2019; Segel, 1991), en este trabajo se realizó para cada bacteria, incluido la curva estándar para estimar la relación entre la absorbancia de P durante las 48 horas de incubación por las diferentes bacterias.

Para la cinética se utilizó la ecuación (Ec.1) y para obtener estos parámetros, se llevó a cabo la regresión no lineal utilizando el método de Lineweaver-Burk.

$$ESF = \frac{Kx}{K_n + x} \quad \text{Ec. 1}$$

Donde:

ESF: Eficiencia de solubilización del fosforo

K: Constante

t: Tiempo en hora

Kn: Constante

Como se observa en la cuantificación colorimétrica de fósforo (Figura 14), existe una relación proporcional entre la concentración de fosforo soluble y la absorbancia que se obtiene a 880 nm al presentar un coeficiente de determinación de 0.95.

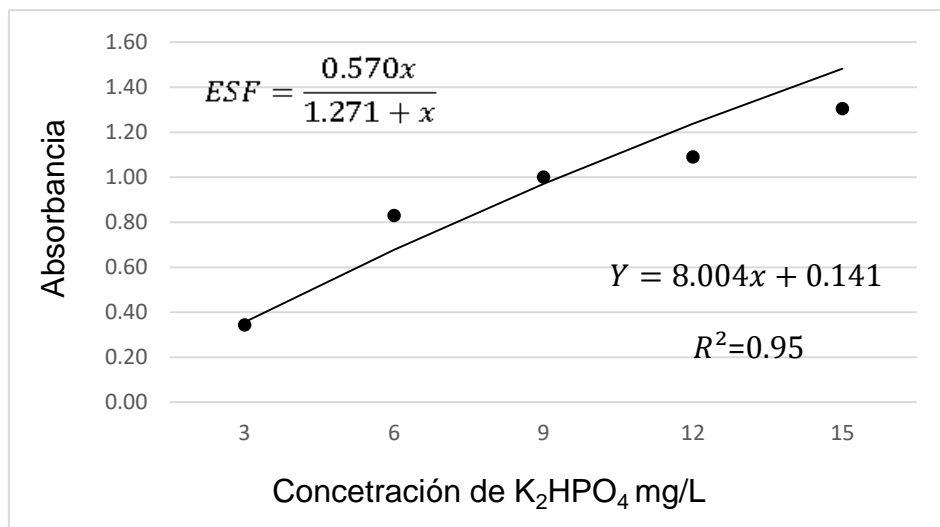


Figura 14. Curva estándar para la determinación de fósforo soluble.

S. plymuthica es la bacteria que solubilizó la mayor cantidad de fósforo con una concentración de 6.24 mg/L y una ESF de 0.21 a las 48 horas de incubación (Figura 15), siendo mayor a lo reportado por Misra *et al.* (2012), quienes obtuvieron una concentración de 3.417 y 2.214 mg/L de fósforo soluble por *Serratia* sp., y 2.103 mg/L por *S. marcescens* además de obtener 1.975 mg/L en *Enterobacter* sp. 4 días después de la incubación de las bacterias.

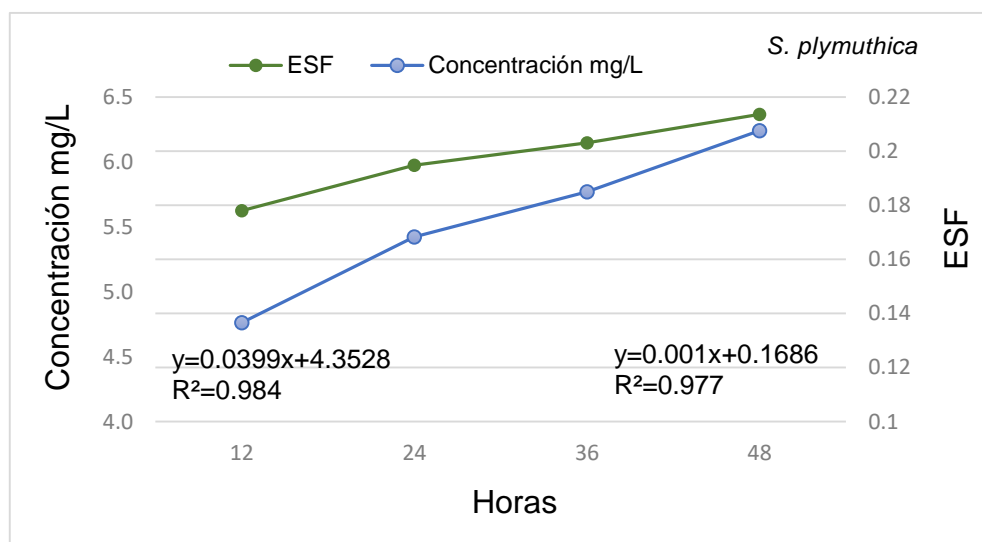


Figura 15 . Concentración y ESF de fosfato solubilizado por *Serratia plymuthica*.

La concentración de fósforo solubilizado por *Enterobacter* sp. fue de 4.592 mg/L con una ESF de 0.17 a las 48 horas de su incubación (Figura 16), concentración mayor a lo reportado por George *et al.* (2013) en *Serratia marcescens* de 0.216 mg/L y en *Enterobacter* sp. una concentración de 0.217 mg/L a las 144 horas de incubación, de igual manera Sánchez-López *et al.* (2012) reporta una concentración 189.5 mg/L y 192.5 mg/L de fosforo solubilizado por *Enterobacter* sp. a las 48 horas de ser incubada.

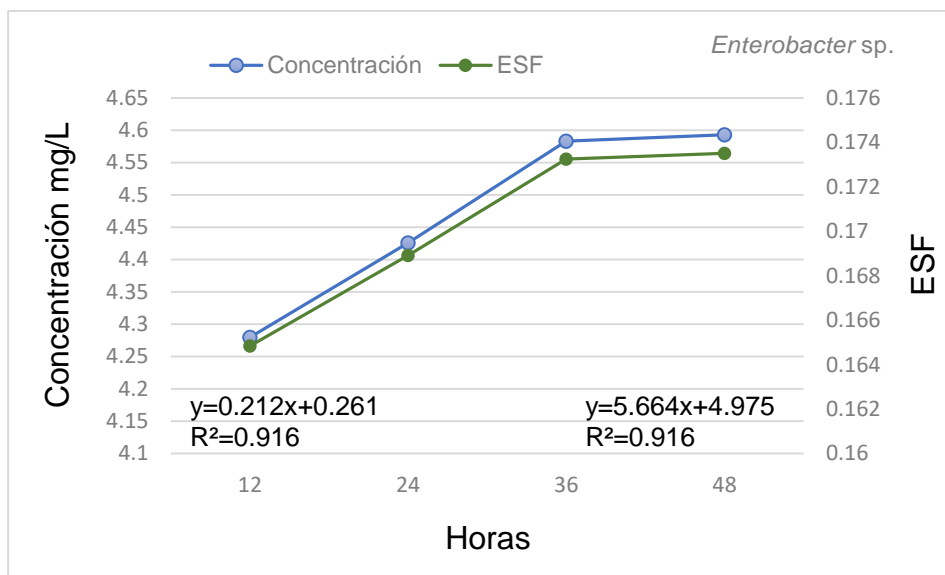


Figura 16. Concentración y ESF de fosfato solubilizado por *Enterobacter* sp.

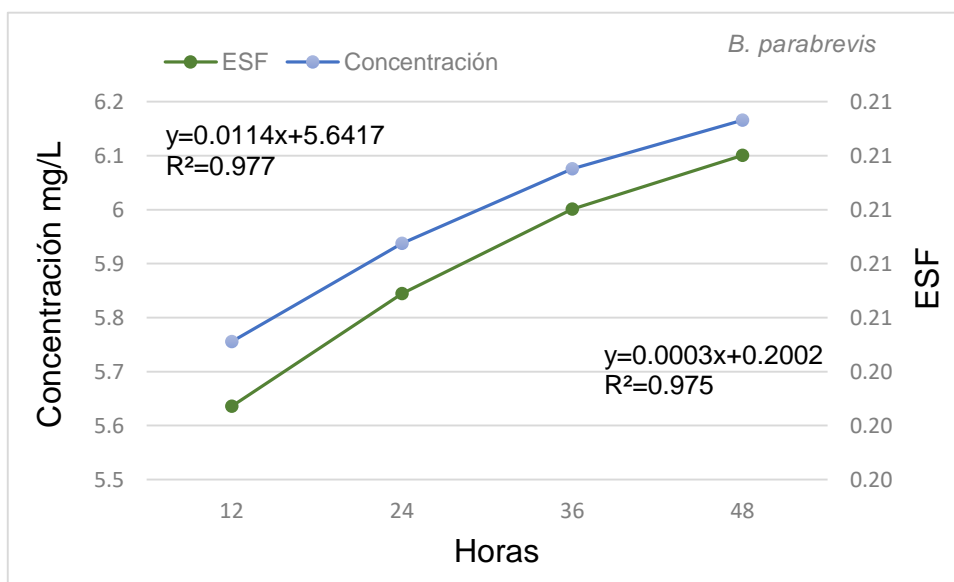


Figura 17. Concentración y ESF de fosfato solubilizado por *Brevibacillus parabrevis*.

La concentración de 6.165 mg/L con una ESF de 0.21 por *B. parabrevis* (Figura 17) es muy similar a la concentración de fosfatos solubilizado por *Serratia plymuthica* (Figura 14), las tres cepas muestran una solubilización mayor a 3 mg/L, cantidad que fue determinada a través del espectrofotómetro utilizando como referencia de comparación la curva estándar realizada con K₂HPO₄ (Figura 14).

4.4.Efecto de las BSF en el crecimiento y desarrollo de *Solanum lycopersicum*

En el Cuadro 10 se encuentran concentrados los datos obtenidos para evaluar el crecimiento y desarrollo de la planta de tomate con la aplicación de BSF cada semana durante 62 ddt.

Cuadro 10. Evaluación del comportamiento de plantas de tomate inoculadas con BSF.

Tratamientos	Altura (cm)	Diámetro tallo (mm)	Nº de hojas	Flores	Frutos
T1- <i>S. plymuthica</i>	59.62 a	6.17 a	11.75 a	8.00 a	1.25 a
T2- <i>Enterobacter</i> sp.	34.62 a	4.53 b	9.50 a	2.25 c	0.50 a
T3- <i>B. parabrevis</i>	45.00 a	5.16 ab	10.50 a	6.25 ab	1.00 a
T4-Testigo	42.00 a	5.02 b	11.00 a	4.25 bc	0.75 a
Pr>F	0.17	0.02	0.30	0.02	0.25
Coef. Var	25.91	9.43	10.83	31.84	73.77

Las medias con la misma literal no tienen diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

De las 5 variables analizadas, las variables altura (Figura 18), número de hojas y número de frutos no mostraron diferencias significativas, debido a que el experimento se evaluó a los 62 ddt y el desarrollo de la planta se encontraba en proceso, situación que se sustenta con lo observado por Reyes-Ramírez *et al.* (2014) en la evaluación de la efectividad de inoculantes bacterianos en el chile habanero en donde no hubo diferencias significativas en la altura y el diámetro de las plantas a los 30 y 62 ddt, obteniendo diferencias estadísticas significativas en la altura después de los 90 ddt.

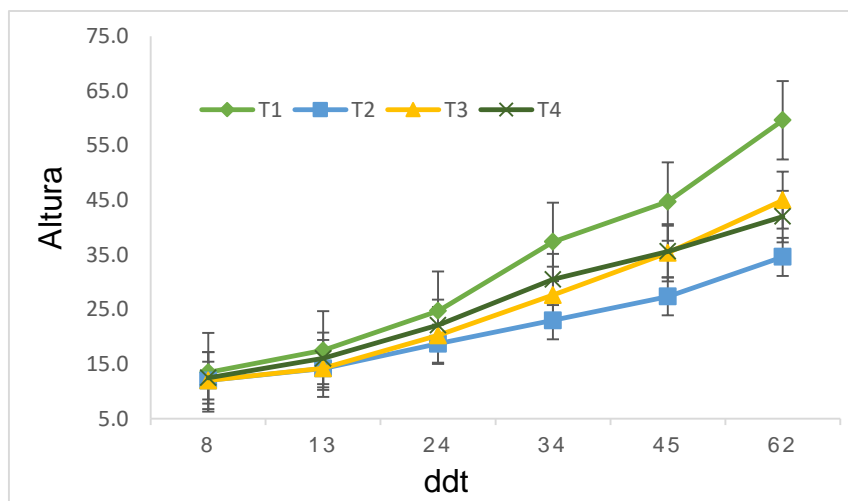


Figura 18. Evaluación del efecto del fosforo soluble por BSF en la altura de plantas de tomate en invernadero.

En los resultados se aprecia un comportamiento similar estadísticamente entre todos los tratamientos para 3 de las variables, a pesar de ello, numéricamente son diferentes destacando el primer tratamiento en la variable altura (Figura 18) con la bacteria *Serratia plymuthica*, seguido del segundo tratamiento con *B. parabrevis*, resultados que podrían verse afectados por las condiciones que se mantenían en el invernadero en las que se encontraban las plantas, siendo un impedimento para un mejor efecto diferencial de las BSF.

El argumento es sustentado por las investigaciones realizadas por Camacho *et al.* (2022) en plántulas de chile jalapeño a nivel *in vitro*, donde aplicaron 4 rizobacterias, una de ellas *Serratia plymuthica*, en los resultados obtenidos en cuanto a altura fueron estadísticamente diferentes con la cepa *S. plymuthica*, presentando mayor altura de plántulas con un 38% de incremento en comparación con la altura del testigo y para el número de hojas, las plantas tratadas con *S. plymuthica* obtuvieron el mayor número de hojas con un 33% más respecto a las plántulas sin inoculación microbiana. Así mismo se repitió el experimento en plántulas trasplantadas en macetas cultivadas en invernadero, teniendo un efecto en el crecimiento y rendimiento, nuevamente los resultados fueron estadísticamente diferentes pero esta vez el mejor tratamiento fue *S. marcescens* con un 45% más de altura, mientras que en *S. plymuthica* se obtuvo el valor más bajo.

De la misma manera González *et al.* (2017) realizó la inoculación de cepas bacterianas en plántulas de chile poblano en invernadero, mostraron diferencias estadísticas significativas en la altura, evidencia que el 49% de los tratamientos mostraron incrementos, sobresaliendo los tratamientos a base de *Rhizobium nepotum* y *Serratia plymuthica* con un incremento en un 15%.

En el Cuadro 10 se aprecia que no existen diferencias estadísticas significativas en el número de hojas (Figura 19), coincidiendo con Lara *et al.* (2013), en su ensayo con el rábano, en cuanto a la cantidad de hojas, no hubo diferencias significativas entre el tratamiento con fertilizante químico y los tratamientos con bioinoculantes (Del genero *Enterobacter* sp. y *Klebsiella*), aunque sí las hubo entre el tratamiento T7 (fertilizante químico comercial) y el control, en la segunda evaluación (50 días), todos los tratamientos fueron estadísticamente similares.

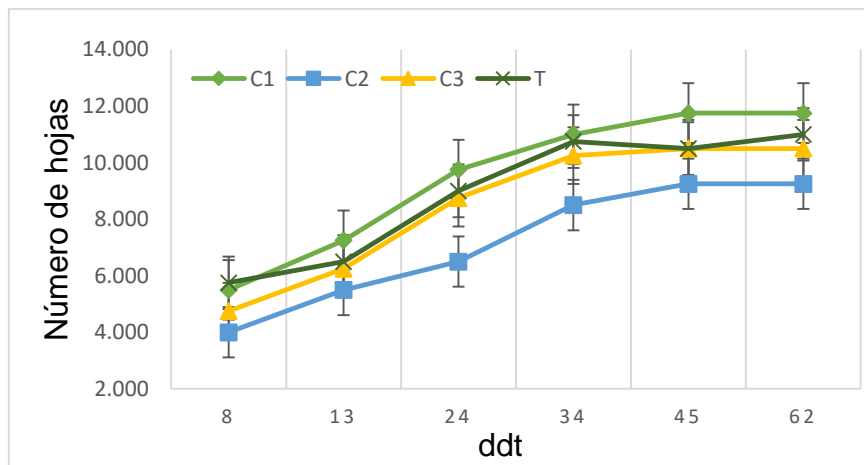


Figura 19. Evaluación del efecto del fósforo soluble por BSF en el número de hojas de plantas de tomate en invernadero.

El número de flores muestra diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos, teniendo los mejores resultados en *S. plymuthica* seguido de *B. parabrevis* (Figura 20), sin embargo, en el número de frutos no mostró diferencias estadísticas entre los tratamientos aplicados (Cuadro 10), aunque numéricamente el tratamiento con *S. plymuthica* tuvo más frutos, lo cual factiblemente se deba al no contar con las condiciones climáticas favorables, dada las altas temperaturas en las condiciones del invernadero y la caída de las flores como efecto de temperaturas

elevadas (López, 2016) o bien retardar la floración (Guzmán *et al.*,2017), todo esto dependiendo de la variedad de tomate utilizado. Sánchez *et al.* (2012) reportan que cuando se inoculan bacterias promotoras de crecimiento en tomate bajo invernadero a los 90 ddt, muestran diferencias estadísticamente significativas en el número de flores y frutos con respecto al control absoluto, exhibiendo los mejores promedios con la inoculación de la cepa *Enterobacter* sp., mientras que Camacho *et al.* (2022) señala en su ensayo, un número relativamente bajo de frutos producidos en plantas inoculadas por *S. plymuthica* y *S. marcescens* con diferencias estadísticas significativas al testigo fertilizado, encontrándose por debajo de los mejores tratamientos aplicados con *S. liquefaciens* y *Arthrobacter* sp.

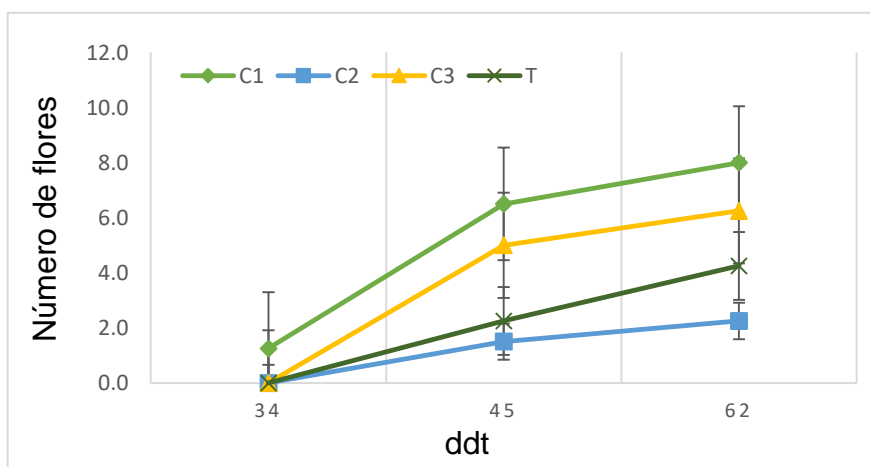


Figura 20. Evaluación del efecto del fosforo soluble por BSF en el número de flores de plantas de tomate en invernadero.

Los resultados en cuanto al número de flores son similares con lo demostrado por Nordstedt & Jones (2021) en la capacidad de *S. plymuthica* MBSA-MJ1 para aumentar el tamaño de los brotes y el número de flores de múltiples especies de plantas ornamentales después de la recuperación de un estrés hídrico severo. Las cepas con mejor efecto en cuanto al diámetro del tallo (Figura 21) y número de flores fueron *Serratia plymuthica* y *Brevibacillus parabrevis*, esta última especie también reportada por Chalé-Carrillo *et al.* (2016) en genotipos de Chile, en donde todas las plantas aumentaron significativamente su altura y diámetro de tallo, con los incrementos más sobresalientes de la altura de planta (41 %) y el diámetro de tallo (11.3 %).

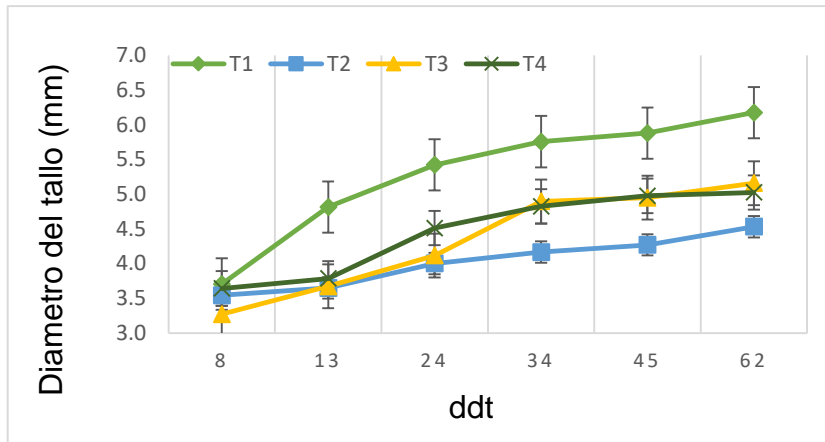


Figura 21. Evaluación del efecto del fósforo soluble por BSF en el diámetro del tallo de plantas de tomate en invernadero.

V. CONCLUSIÓN

Se aislaron 3 bacterias solubilizadoras de fosfato de pastos silvestres, identificadas morfológica y molecularmente como *Serratia plymuthica*, *Enterobacter* sp. y *Brevibacillus parabrevis*. Al evaluar su eficiencia solubilizadora de fosfato (ESF) en medio NBRIP sólido con un pH de 6.9 destacó entre todas *Enterobacter* sp., que presentó una ESF media total de 1.23 mm, mientras que en el mismo medio, pero líquido, las tres cepas logran solubilizar fosfatos, obteniendo la mayor concentración de fósforo soluble por *S. plymuthica* (6.24 mg/L), seguido de *B. parabrevis* (6.16 mg/L), y *Enterobacter* sp. con la menor concentración (4.59 mg/L).

La aplicación de *S. plymuthica* y *B. parabrevis* en plantas de tomate en invernadero, logró promover el crecimiento vegetal al favorecer el diámetro del tallo (6.17mm - 5.16 mm) y el número de flores (8-6.25) respectivamente.

Los pastos silvestres son fuente de bacterias solubilizadoras de fosfato que puede promover el crecimiento y desarrollo de cultivo de tomate, las cuales se pudieran considerar como una alternativa para disminuir la aplicación de grandes cantidades de fertilizantes químicos como nutrientes en la agricultura comercial.

VI. LITERATURA CITADA

- Afif, E., Palencia, P., & Oliveira, A. (2013). Aplicación de fuentes de fósforo al suelo en diferentes cortes de césped cultivado. *Agrociencia*. 47(6): 553-566. <https://www.scielo.org.mx/pdf/agro/v47n6/v47n6a3.pdf>
- Aguilar-Acuña, J., Martínez-Hernández, J., Volke-Haller, V., Etchevers-Barra, J., Mata-Vázquez, H., & Hernández-Martínez, M. (2006). Distribución del fósforo en suelo, raíces y materia seca de tubérculos de papa cultivada con fertirriego. *Terra Latinoamericana*. 24(2); 269-276. <https://www.redalyc.org/pdf/573/57311108014.pdf>
- Alejo-ITurvide, F., Márquez, L., González-López, C., & De la Riva, A. (2016). Biosolubilizadores de fósforo orgánico e inorgánico del bosque templado de Santa Rosa Guanajuato, México. *Revista de Ciencias Ambientales y Recursos Naturales*. 2(3); 10. https://www.ecorfan.org/spain/researchjournals/Ciencias_Ambientales_y_Recursos_Naturales/vol2num3/Revista_de_Ciencias_Ambientales_y_Recursos_Naturales_V2_N3_2.pdf
- Alori, E., Glick, B. R., & Babalola, O. O. (2017). Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. *Frontiers in Microbiology*. 8: 1-8. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2017.00971>
- Álvarez-Medina, M. T., Núñez-Ramírez, M. A., & Wendlandt Amezaga, T. R. (2017). Caracterización de la cadena de valor del tomate rojo fresco en México. *Revista Global de Negocios*. 5(3): 45-58. https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract_id=2914481
- Alves, V., Parentoni, S., Vasconcellos, C., Pitta, G., & Franca, C. (2002). Cinética de absorção de fósforo e crescimento do sistema radicular de genótipos de milho contrastantes para eficiência a fósforo. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*. 1(1): 85-92.

<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/30480/1/Cinetica-absorcao.pdf>

- An, R., & Moe, L. (2016). Regulation of PQQ-dependent glucose dehydrogenase activity in the model rhizosphere dwelling bacterium *Pseudomonas putida* KT2440. *American Society for Microbiology*. 82(16): 4955-4964. <https://doi.org/10.1128/aem.00813-16>
- Beltrán, P. M. E. (2014). Hongos solubilizadores de fosfato en suelo de páramo cultivado con papa (*Solanum tuberosum*). *Revista Ciencia en Desarrollo*. 5(2): 145-154. <http://www.scielo.org.co/pdf/cide/v5n2/v5n2a09.pdf>
- Bobadilla, H. C., & Rincón Vanegas, S. (2008). Aislamiento y producción de bacterias fosfato solubilizadoras a partir de compost obtenido de residuos de plaza. Pontificia Universidad Javeriana: 1-97. <http://hdl.handle.net/10554/8433>
- Buono, N. I., & Ulla, E. L. (2016). Efectos de la inoculación con bacterias solubilizadoras de fosfato en tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) y pimiento (*Capsicum annuum* L.) en condiciones controladas. *Revi. de Agron. Noreste Argent*. 36(2): 45-54. <http://www.scielo.org.ar/pdf/ranar/v36n2/v36n2a03.pdf>
- Calcáneo, G. M., & De la Cueva Garcés, B. L. (2020). Procesos en el ecosistema. Portal Académico CCH. <https://e1.portalacademico.cch.unam.mx/alumno/biologia2/estructura-procesos-ecosistema/ciclo-fosforo>
- Camacho, R. M., Almaraz Suárez, J. J., Vázquez Vázquez, C., Angulo Castro, A., Ríos Vega, M. E., & González Mancilla, A. (2022). Efecto de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal en el desarrollo y rendimiento del chile jalapeño. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 28: 185-196. <https://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v13nspe28/2007-0934-remexca-13-spe28-185.pdf>

- Campoy, O. E., Santana, V. A., Estrada B. D., Estrada, M. J. C., Hernández, M. M. M., & Aguilar Ayala, I. (2020). Aislamiento e identificación de bacterias cultivables de la zona de raíz de granada roja (*Punica granatum*) en un huerto del Tephé Ixmiquilpan, Hidalgo, México. *Revista Tendencias en Docencia e Investigación en Química*. 6: 647. [http://zaloamati.azc.uam.mx/bitstream/handle/11191/7777/Aislamiento e identificación de bacterias cultivables 2020.pdf](http://zaloamati.azc.uam.mx/bitstream/handle/11191/7777/Aislamiento_e_identificacion_de_bacterias_cultivables_2020.pdf)
- Castillo, G., Altuna, B., Michelena, G., Sánchez-Bravo, J., & Acosta, M. (2005). Cuantificación del contenido de ácido indolacético (AIA) en un caldo de fermentación microbiana. *Anales de Biología*. 27: 137-142. <https://www.um.es/analesdebiologia/numeros/27/PDF/16-CUANTIFICACION.pdf>
- Céron, R. L., & Aristizábal, G. F. (2012). Dinámica del ciclo del nitrógeno y fósforo en suelos. *Rev. Colomb. Biotecnol.* 14(1): 285-295. <http://www.scielo.org.co/pdf/biote/v14n1/v14n1a26.pdf>
- Chakraborty, B. N., Chakraborty, U., Saha, A., Sunar, K., & Dey, P. L. (2010). Evaluation of phosphate solubilizers from soils of north Bengal and their diversity analysis. *World Journal of Agricultural Sciences*. 6(2): 195-200. https://www.researchgate.net/publication/242630621_Evaluation_of_Phosphate_Solubilizers_from_Soils_of_North_Bengal_and_Their_Diversity_Analysis
- Chalarca-Vélez, J., & Gaviria, D. (2020). Modelamiento por homología in silico de la quinoproteína glucosa deshidrogenasa unida a membrana en *Pseudomonas fluorescens*. *Rev. Acad. Colomb. Cienc.* 44(173): 1099-1112. <http://www.scielo.org.co/pdf/racefn/v44n173/0370-3908-racefn-44-173-1099.pdf>
- Chalé-Carrillo, V. M., Ruiz-Sánchez, E., Reyes-Ramírez, A., Borges-Gómez, L., Cristobal-Alejo, J., & Pacheco-Aguirre, J. (2016). Crecimiento y respuesta a *Bemisia tabaci* en genotipos de *Capsicum annuum* inoculados con

- Brevibacillus brevis* cepa CBTC1. *Agrociencia*. 50: 323-334.
<https://www.scielo.org.mx/pdf/agro/v50n3/1405-3195-agro-50-03-323.pdf>
- Chen, Y. P., Rekha, P. D., Arun, A. B., Shen, F. T., Lai, W. A., & Young, C. C. (2006). Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. *Applied Soil Ecology*. 34(1): 33-41.
<https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2005.12.002>
- Chiera, J., Tomás, J., & Rufty, T. (2002). Leaf initiation and development in soybean under phosphorus stress. *Journal of Experimental Botany*. 53: 73-481.
<https://doi.org/10.1093/jexbot/53.368.473>
- Cisnero-Rojas , C. A., Sánchez-de Prager, M., & Menjivar-Flores, J. C. (2017). Efecto de bacterias solubilizadoras de fosfatos sobre el desarrollo de plántulas de café. *Agronomía Mesoamericana*. 28(1): 149-158.
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43748637011>
- Cisneros R., C. A., Sánchez de P., M., & Menjivar F., J. C. (2016). Influencia de microorganismos solubilizadores de fósforo del suelo y su absorción por plántulas de café. *Bioagro*. 28(2): 95-106.
<https://ve.scielo.org/pdf/ba/v28n2/art04.pdf>
- Cogliatti, D. H., Manfreda, V. T., & Cardozo, J. A. (2004). Índices para estimar las eficiencias de absorción y uso de fósforo en genotipos de trigo. *Agriscientia*. 21(1): 1-12.
https://www.researchgate.net/publication/281529844_Indices_para_estimar_las_eficiencias_de_absorcion_y_uso_de_fosforo_en_genotipos_de_trigo
- Corrales, R. L., Arévalo, G. Z., & Moreno, B. V. (2014). Solubilización de fosfatos: una función microbiana importante en el desarrollo vegetal. *NOVA*. 12(21), 69-75. <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v12n21/v12n21a06.pdf>
- COVECA. (2010). Monografía del tomate. COVECA: 1-21.
<https://es.scribd.com/document/53356202/MONOGRAFIA-20TOMATE2010#>

- Cross, A., & Schlesinger, H. (2001). Biological and geochemical controls on phosphorus fractions in semiarid soil. *Biogeochemistry*: 155-172. <https://doi.org/10.1023/A:1006437504494>
- Cruz-Flores, G., Tirado Torres, J. L., Alcántar González, G., & Santizo Rincón, J. A. (2001). Eficiencia de uso de fósforo en triticale y trigo en dos suelos con diferente capacidad de fijación de fósforo. *Terra Latinoamericana*, 19(1): 47-54. <https://redalyc.org/pdf/573/57319106.pdf>
- Dao, T. H. (2011). Extracellular enzymes in sensing environmental nutrients and ecosystem changes: Ligand mediation in organic phosphorus cycling. En *Soil Enzymology*. USA: Springer-Verlag Berlin: 75-101. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-14225-3>
- Davin-Regil, A., Lavigne, J.-P., & Pagés, J.-M. (2019). *Enterobacter* spp.: Update on taxonomy, clinical aspects, and emerging antimicrobial resistance. *Clinical Microbiology Reviews*. 32: 02-19. <https://doi.org/10.1128/cmr.00002-19>
- Desnos, T. (2008). Root branching responses to phosphate and nitrate. *Curr Opin Plant Biol*. 11(1): 82.87. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2007.10.003>
- Dhillon, J., Torres, G., Driver, E., Figueired, B., & Raun R., W. (2017). World phosphorus use efficiency in cereal crops. *Agronomy Journal*. 109(4): 1670-1677. <https://doi.org/10.2134/agronj2016.08.0483>
- Esparza, A. I. J. (2020). Bacterias relictas supresoras de síntomas de deficiencia de fósforo en plantas. Tesis de Grado de Maestría en Ciencias en Parasitología Agrícola: 13-19. <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/handle/123456789/47044>
- FAO. (2009). Guía para la descripción de suelos. FAO: 1-111. <https://es.slideshare.net/oscarleoncueva/guia-para-la-descripcion-de-suelos>
- Fernández, L., Zalba, P., Gómez, M., & Sagardoy, M. (2005). Bacterias solubilizadoras de fosfato inorgánico aisladas de suelos de la región sojera.

Ciencias del Suelo. 23(1): 31-37.
<http://www.scielo.org.ar/pdf/cds/v23n1/v23n1a04.pdf>

Fernández, M. T. (2007). Fósforo: amigo o enemigo. ICIDCA. 40(2): 51-57.
https://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/F%C3%B3sforo_amigo_%20o_enemigo.pdf

FIRA, Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura. (2017). Tomate Rojo. Panorama Agroalimentario: 2-24.
https://r.search.yahoo.com/_ylt=AwrEtRfzhFBkCRUHkU7D8Qt.;_ylu=Y29sbwNiZjEEcG9zAzkEdnRpZAMEc2VjA3Ny/RV=2/RE=1683027315/RO=10/RU=https%3a%2f%2fwww.fira.gob.mx%2fInfEspDtoXML%2fabrirArchivo.jsp%3fabreArc%3d100235/RK=2/RS=3fAXXqX_dPBrSc_VxYiFoe3yHDw-

Flores, M. J. P., Valero, C. C., Osuna, A. P., Corral, D. B., Shukla, M. K., & Salazar, S. E. (2013). Textura del suelo y tipo de agua de riego en la disponibilidad de fósforo de estiércol bovino. Terra Latinoamericana. 31(3): 211-220.
<https://www.scielo.org.mx/pdf/tl/v31n3/2395-8030-tl-31-03-00211.pdf>

Fornaris, G. J. (2007). Características de la planta. Conjunto Tecnológico para la Producción de Tomate de Ensalada: 2-6. <https://www.upr.edu/eea/wp-content/uploads/sites/17/2016/03/TOMATE-Caracter%C3%ADsticas-de-la-Planta-v2007.pdf>

Fu-Ping, L., Hai-Qing, L., Hai-Long, Z., Zhi-Gou, D., Xu-Hao, B., Peng, B., & Jian-Jun, Q. (2014). Isolation and characterization of phosphate-solubilizing bacteria from betel nut (*Areca catechu*) and their effects on plant growth and phosphorus mobilization in tropical soils. Biol Fertil Soils. 50: 927-937.
<https://doi.org/10.1007/s00374-014-0913-z>

García, A. M. (2017). Identificación y caracterización de bacterias solubilizadoras de múltiples fuentes de fosfato inorgánico. Tesis presentada para obtener el grado de Maestro en Ciencias Cinvestav: 1-60.
<https://repositorio.cinvestav.mx/bitstream/handle/cinvestav/1609/SSIT0014743.pdf?sequence=1>

- García-Serrano, P., Lucena Marotta, J. J., Ruano Criado, S., & Nogales García, M. (2009). Fertilización fosfatada. Guía práctica de la fertilización racional de los cultivos en España: 1-120. [https://www.mapa.gob.es/es/agricultura/publicaciones/01_FERTILIZACION%203%93N\(BAJA\)_tcm30-57890.pdf](https://www.mapa.gob.es/es/agricultura/publicaciones/01_FERTILIZACION%203%93N(BAJA)_tcm30-57890.pdf)
- George, P., Gupta, A., Gopal, M., Thomas, L., & Thomas V., G. (2013). Multifarious beneficial traits and plant growth promoting potential of *Serratia marcescens* K1SII and *Enterobacter* sp. RNF 267 isolated from the rhizosphere of coconut palms (*Cocos nucifera* L.). *World J Microbiol Biotechnol.* 29: 109-117. <https://doi.org/10.1007/s11274-012-1163-6>
- Glickmann, E., & Dessaux, Y. (1995). A critical examination of the specificity of the Salkowski reagent for indolic compounds produced by phytopathogenic bacteria. *Applied and environmental microbiology.* 61: 793-796. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1388360/pdf/hw0793.pdf>
- Golemi-Kotra, D. (2008). *Serratia*, *Edwardsiella* and *Morganella* Infections. *xPharm: la referencia completa de farmacología:* 1-6. <https://doi.org/10.1016/B978-008055232-3.63827-9>
- González Mancilla, A., Almaraz Suárez, J. J., Ferrera Cerrato, R., Rodríguez Guzmán, M. D., Taboada Gaytán, O. R., Trinidad Santos, A., & Arteaga Garibay, R. I. (2017). Caracterización y selección de rizobacterias promotoras de crecimiento en plántulas de chile poblano (*Capsicum annum* L.). *Rev. Int. Contam. Ambie.* 33(3): 463-474. <https://redalyc.org/journal/370/37054390010/html/>
- Gorjon, A., Nacry, P., & Davidian, J.-C. (2009). Root uptake regulation: a central process for NPS homeostasis in plants. *Current Opinion in Plant Biology.* 12: 328-338. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2009.04.015>
- Grimont P., A. D., Grimont, F., C., R., B., R. D., Steigerwalt, A. G., & Brenner, D. J. (1978). Deoxyribonucleic acid relatedness between *Serratia plymuthica* and other *Serratia* species, with a description of *Serratia odorifera* sp. nov. (Type

- Strain: ICPB 3995). *International Journal of Systematic Bacteriology*. 28(4): 453-463. <https://doi.org/10.1099/00207713-28-4-453>
- Gueçaimburu, J. M., Vázquez, J. M., Tancredi, F., Reposo, G. P., Rojo, V., Martínez, M., & Introcaso, R. M. (2019). Evolución del fósforo disponible a distintos niveles de compactación por tráfico agrícola en un argiudol típico. *Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences*. 35(1): 81-89. <http://dx.doi.org/10.4067/S0719-38902019005000203>
- Guzmán L. A., Corradini S. F., Martínez C. J. P., Allende C. M., Abarca R. P., Felmer E. S., & Sepúlveda R. P. (2017). Manual de cultivo del tomate al aire libre. INIA: 9-91. <https://hdl.handle.net/20.500.14001/6707>
- Hariprasad, P., & Niranjana, S. R. (2009). Isolation and characterization of phosphate solubilizing rhizobacteria to improve plant health of tomato. *Plant soil*. 316: 13-24. <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9754-6>
- Herrera, B. A. A., Rodríguez Ramírez, F. J., Prieto Mélenz, R., & Calva, G. (2019). Cinética enzimática y el modelo de Michaelis-Menten. Una revisión crítica. SOMI-XXXIV Congreso de Instrumentación. 6(1): 1-10. https://www.researchgate.net/publication/337403079_Cinetica_enzimatica_y_el_modelo_de_Michaelis-Menten_Una_revision_critica
- Hinsinger, P. (2001). Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: a review. *Plant and soil*: 173-195. <https://doi.org/10.1023/A:1013351617532>
- Holguin, G., Bashan, Y., Puente, E., Carrillo, Á., Bethlenfalvay, G., Rojas, A., & Hernández, J. (2003). Promoción de crecimiento en plantas por bacterias de la rizosfera. *Agricultura Técnica en México*. 29(2): 201-211. <https://bashanfoundation.org/gmaweb/pdfs/agricultech.pdf>
- Hooda, R., Bhardwaj, N., & Singh, P. (2018). *Brevibacillus parabrevis* MTCC 12105: a potential bacterium for pulp and paper effluent degradation. *World Journal*

of Microbiology and Biotechnology: 34-31. <https://doi.org/10.1007/s11274-018-2414-y>

Johnson, E., & Dunlap, C. A. (2019). Phylogenomic analysis of the *Brevibacillus brevis* clade: a proposal for three new *Brevibacillus* species, *Brevibacillus fortis* sp. nov., *Brevibacillus porteri* sp. nov. and *Brevibacillus schisleri* sp. nov. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 112(7), 991-999. <https://doi.org/10.1007/s10482-019-01232-4>

Kononova, S., & Nesmeyanova, M. (2002). Phosphonates and their degradation by microorganisms. *Biochemistry*: 184-195. <https://doi.org/10.1023/A:1014409929875>

Krishnaraj, P. U., & Goldstein, A. H. (2001). Cloning of a *Serratia marcescens* DNA fragment that induces quinoprotein glucose dehydrogenase-mediated gluconic acid production in *Escherichia coli* in the presence of stationary phase *Serratia marcescens*. *FEMS Microbiology Letters*. 205(2): 215-220. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2001.tb10950.x>

Kumar, A., Bhargava, P., & Rai, L. (2010). Isolation and molecular characterization of phosphate solubilizing *Enterobacter* and *Exiguobacterium* species from paddy fields of Eastern Uttar Pradesh, India. *Afr. J. Microbiol. Res.* 4(9): 820-829. https://www.academicjournals.org/app/webroot/article/article1380209667_Kumar%20et%20al.pdf

Lambers, H., Shane, M. W., Cramer, M. D., Pearse, S. J., & Veneklaas, E. J. (2006). Root structure and functioning for efficient acquisition of phosphorus: Matching Morphological and Physiological Traits. *Annals of Botany*. 98(4): 693-713. <https://doi.org/10.1093/aob/mcl114>

Lara, C., Oviedo, L., & Alemán, A. (2011). Aislados nativos con potencial en la producción de ácido indol acético para mejorar la agricultura. *Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial*. 9(1): 17-23. <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v9n1/v9n1a03.pdf>

- Lara, C., Sanes, S., & Oviedo, L. (2013). Impacto de bacterias nativas solubilizadoras de fosfato en el crecimiento y desarrollo de plantas de rábano (*Raphanus sativus* L.). *Biología aplicada*. 30(4): 271-275. <https://www.medigraphic.com/pdfs/biotecapl/ba-2013/ba134d.pdf>
- Lim, B., Yeung, P., Cheng, C., & Hill, J. (2007). Distribution and diversity of phytate-mineralizing bacteria. *The ISME Journal*: 321-330. <https://doi.org/10.1038/ismej.2007.40>
- López, M. L. M. (2016). Manual técnico del cultivo de tomate *Solanum lycopersicum*. Innovación para la seguridad alimentaria y nutricional en Centroamérica y Panamá: 13-62. <http://repositorio.iica.int/handle/11324/3143>
- López-Jácome, L. E., Hernández-Durán, M., Colín-Castro, C. A., Ortega-Peña, S., Cerón-González, G., & Franco-Cendejas, R. (2014). Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología. *Investigación en Discapacidad*. 3(1): 10-18. <https://www.medigraphic.com/pdfs/invdiss/ir-2014/ir141b.pdf>
- Lugtenberg, B., & Kamilova, F. (2009). Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Rev. Microbiol.* 63: 541-556. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.62.081307.162918>
- Lynch P., J., & Brown, K. (2008). Root strategies for phosphorus acquisition in: white, P.J., Hammond, J.P. *The Ecophysiology of Plant-Phosphorus Interactions*. 7: 83-85. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8435-5_5
- Mahlen, S. (2011). *Serratia* Infections: from military experiments to current practice. *Clinical microbiology reviews*. 24: 755-791. <https://doi.org/10.1128%2FCMR.00017-11>
- Marschner, P., Gmrierson, P. F., & Rengel, Z. (2005). Microbial community composition and functioning in the rhizosphere of three *Banksia* species in native woodland in Western Australia. *Applied Soil Ecology*. 28: 191-201. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2004.09.001>

- Misra, N., Gupta, G., & Jha, P. N. (2012). Assessment of mineral phosphate-solubilizing properties and molecular characterization of zinc-tolerant bacteria. *Journal of Basic Microbiology*. 52: 1-10. <https://doi.org/10.1002/jonbm.201100257>
- Moron, A. (1992). El fósforo en el sistema suelo-planta. *INIA inv. Agr.* (1): 46.
- Múnera V., G. A., & Meza S., D. C. (2014). El Fósforo Elemento Indispensable para la Vida Vegetal. Universidad Tecnológica de Pereira: 1-52. <https://hdl.handle.net/11059/5248>
- Nautiyal, C. S. (1999). An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiology Letters*. 170: 265-270. [https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(98\)00555-2](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(98)00555-2)
- Nehra, V., Saharai, B. S., & Choudhary, M. (2016). Evaluación de *Brevibacillus brevis* como potencial rizobacteria promotora del crecimiento vegetal para el cultivo de algodón (*Gossypium hirsutum*). *Springer Plus*. 5(948): 1-10. <https://doi.org/10.1186/s40064-016-2584-8>
- Neumann, G., & Römheld, V. (2002). Root-induced changes in the availability of nutrients in the rhizosphere. (E. A. In: Waisel Y, Ed.) *Plant roots, the hidden half*: 617-649. <https://doi.org/10.1002/chin.200304265>
- Neupane, S., Högberg, N., Alström, S., Lucas, S., Han, J., Lapidus, A., & Finlay, R. D. (2012). Complete genome sequence of the rapeseed plant-growth promoting *Serratia plymuthica* strain AS9. *The Genomic Standards Consortium*. 6: 54-62. <https://doi.org/10.4056/sigs.2595762>
- Nordstedt, N. P., & Jones, M. L. (2021). Genomic Analysis of *Serratia plymuthica* MBSA-MJ1: A plant growth promoting rhizobacteria that improves water stress tolerance in greenhouse ornamentals. *Frontiers in Microbiology*. 12: 1-15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.653556>
- Novoa, M. A., Miranda, D., & Melgarejo, L. M. (2018). Efecto de las deficiencias y excesos de fósforo, potasio y boro en la fisiología y el crecimiento de plantas

- de aguacate (*Persea americana*, cv. Hass). Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas. 12(2): 293-307. <http://www.scielo.org.co/pdf/rcch/v12n2/2011-2173-rcch-12-02-293.pdf>
- Oh, B., Choi, W., Park, S., Kim, Y., & Oh, T. (2004). Biochemical properties and substrate specificities of alkaline and histidine acid phytases. Appl Microbiol Biotechnol. 63: 362-372. <https://doi.org/10.1007/s00253-003-1345-0>
- Ordaz, S. S. (2004). Control microbiano mediante bacterias esporuladas de la costra negra de la papa (*Rhizoctonia solani*) Kühn en invernadero. UAAAN Tesis Requisito parcial para Ingeniero Agronomo Parasitologo: 1-63. <http://www.repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/handle/123456789/4181>
- Panda, A. K., Bisht, S. S., DeMondal, S., Kumar, N. S., Gurusubramanian, G., & Panigrahi, A. K. (2014). *Brevibacillus* as a biological tool: a short review. Antonie van Leeuwenhoek. 105: 623-639. <https://doi.org/10.1007/s10482-013-0099-7>
- Pardo, G., Cavero, J., Aibar, J., & Zaragoza, C. (2009). Nutrient evolution in soil and cereal yield under different fertilization type in dryland. Nutr Cycl Agroecosyst. 84: 267-279. <https://doi.org/10.1007/s10705-008-9241-8>
- Paredes-Mendoza, M., & Espinosa-Victoria, D. (2010). Ácidos orgánicos producidos por rizobacterias que solubilizan fosfato: Una Revisión Crítica. Tierra Latinoamericana. 28(1): 61-70. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57316076007>
- Patiño-Torres, C., & Sanclemente-Reyes, O. E. (2014). Los microorganismos solubilizadores de fósforo (MSF): una alternativa biotecnológica para una agricultura sostenible. Entramado. 10(2): 288-297. <http://www.scielo.org.co/pdf/entra/v10n2/v10n2a18.pdf>
- Pedraza, R. O., Teixeira R., S. K., Scavino, A. F., Garcia de Salome, I., Baca E., B., Azcón, R., & Bonilla, R. (2010). Microorganismos que mejoran el crecimiento de las plantas y la calidad de los suelos. Corpoica Ciencia y Tecnología

Agorpecuaria. 11(2): 155-164.
<https://www.redalyc.org/pdf/4499/449945029007.pdf>

Pérez Díaz, F., Arévalo-Galarza, M., Pérez-Flores, L. J., Lobato-Ortiz, R., & Ramírez-Guzmán, M. E. (2020). Crecimiento y características postcosecha de frutos de genotipos nativos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.). Rev. Fitotec. Mex. 43(1): 89-99. <https://www.scielo.org.mx/pdf/rfm/v43n1/0187-7380-rfm-43-01-89.pdf>

Puente, E. M., Ching, Y. L., & Yoav, B. (2009). Rock-degrading endophytic bacteria in cacti. Environmental and Experimental Botany. 66: 389-401. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2009.04.010>

R Core Team. (2022). R: A language and environment for statistical computing. Viena, Australia. <https://www.R-project.org/>

Rafii, F. (2014). *Serratia*. Encyclopedia of Food Microbiology. 3: 371-375. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00304-9>

Ramírez-Soler, C. H., Magnitsky, S., Melo M., S. E., & Melgarejo, L. M. (2018). Efecto de dosis de nitrógeno, fósforo y potasio sobre el crecimiento del tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.) en etapa vegetativa. Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas. 12(1): 31-40. <http://www.scielo.org.co/pdf/rcch/v12n1/2011-2173-rcch-12-01-31.pdf>

Ray, S., Patel, N., & Amin, D. (2020). Chapter 9 - *Brevibacillus*. Beneficial Microbes in Agro-Ecology: 149-167. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823414-3.00009-5>

Rebollar , P. G., & Mateos, G. G. (2023). El fósforo en nutrición animal: necesidades, valoración de materias primas y mejora de la disponibilidad. Avances en nutrición y alimentación animal: 1-32. https://www.produccion-animal.com.ar/suplementacion_mineral/62-el_fosforo_en_nutricion_animal.pdf

- Restrepo-Franco, G., Marulanda-Moreno, S., De la Fe-Pérez, Y., Díaz- de la Osa, A., Lucia-Baldani, V., & Hernández-Rodríguez, A. (2015). Bacterias solubilizadoras de fosfato y sus potencialidades de uso en la promoción del crecimiento de cultivos de importancia económica. *CENIC Ciencias Biológicas*. 46(1): 63-76. <https://redalyc.org/articulo.oa?id=181238817006>
- Reyes-Ramírez, A., López-Arcos, M., Ruiz-Sánchez, E., Latournerie-Moreno, L., Pérez-Gutiérrez, A., Lozano-Contreras, M. G., & Zavala-León, M. J. (2014). Efectividad de inoculantes microbianos en el crecimiento y productividad de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.). *Agrociencia*. 48: 285-294. <https://www.scielo.org.mx/pdf/agro/v48n3/v48n3a4.pdf>
- Richardson, A. E., Barea, J. M., McNeill, A. M., & Prigent-Combaret, C. (2009). Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion v. *Plant Soil*. 321: 305-339. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-9895-2>
- Rives, N., Acebo, Y., Almaguer, M., García, J. C., & Hernández, A. (2009). Actividad antagónica frente a *Pyricularia grisea* (sacc.) y fitoestimulación en el cultivo del arroz de cepas autóctonas de *Pseudomonas putida* (TREV.). *Rev. Protección*. 24(2): 106-116. <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v24n2/rpv06209.pdf>
- Rodríguez, M. M. D. (2001). Reacción KOH. Manual para la identificación de bacterias fitopatógenas. Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Parasitología Agrícola. Segunda edición: 1-119
- Rodríguez, H., Fraga, R., González, T., & Bashan, Y. (2006). Genetics of phosphate solubilization and its potential applications for improving plant growth-promoting bacteria. *Plant and Soil*: 15.21. <https://doi.org/10.1007/s11104-006-9056-9>
- Rodríguez-Gómez, O., Aguilera-Rodríguez, I., & Pérez-Silva, R. M. (2013). Adecuación de un micrométodo colorimétrico para la cuantificación de fósforo soluble en cultivos microbianos. *Revista Cubana de Química*. 25(1): 3-8. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=443543730001>

- Rojas W., C. (2002). Disponibilidad del fosforo y su corrección. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. (15): 67-81. <https://hdl.handle.net/20.500.14001/8765>
- Rooney, D., & Clipson, N. (2009). Phosphate addition and plant species alters microbial community structure in acidic upland glassland. *Microbial Ecology*: 4-13. <https://doi.org/10.1007/s00248-008-9399-2>
- Ruíz-Chután, J. A., Berdúo-Sandoval, J., Sacbajá, A., Kalousvá, M., Lojka, B., Fernández, E., & Sánchez-Pérez, A. (2021). Eficiencia de solubilización de fósforo de aislados nativos guatemaltecos de *Pseudomonas fluorescens*. *Ciencia, Tecnología y Salud*. 8(2): 184-201. <https://pdfs.semanticscholar.org/33e2/cb98bcf1388122bc0bd231cc5f2d8c394006.pdf>
- Sánchez de Fuentes, J. (2001). El fósforo, parámetro crítico de calidad de agua técnicas analíticas y de muestreo. *Abes-Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental*: 1-9. <http://www.ingenieroambiental.com/junio/fosforo.pdf>
- Sánchez, E. J., & Rubiano S. Y. (Junio de 2015). Procesos específicos de formación en andisoles, alfisoles y ultisoles en Colombia. *EIA*. 12: 85-97. <http://www.scielo.org.co/pdf/eia/nspe2/nspe2a08.pdf>
- Sánchez-López, D. B., Gómez-Vargas, R. M., Garrido-Rubiano, M. F., & Bonilla-Buitrago, R. R. (2012). Inoculación con bacterias promotoras de crecimiento vegetal en tomate bajo condiciones de invernadero. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 3(7): 1401-1415. <https://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v3n7/v3n7a9.pdf>
- Sarkar, A., Kumar Ghosh, P., Pramanik, K., Mitra, S., Soren, T., Pandey, S., & Kanti Maiti, T. (2018). A halotolerant *Enterobacter sp.* displaying ACC deaminase activity promotes rice seedling growth under salt stress. *Research in Microbiology*: 20-32. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2017.08.005>

- Segel, I. H. (1991). Biochemical calculations. John Wiley and Sons. Segunda edición : 400-464
- Shane, M. W., & Lambers, H. (2005). Cluster roots: A curiosity in context. *Plant and Soil*. 274: 101-125. <https://doi.org/10.1007/s11104-004-2725-7>
- Sharma, V., Archana, G., & Kumar, N. (2011). Plasmid load adversely affects growth and gluconic acid secretion ability. Elsevier GmbH. All rights reserved. 166(1): 36-46. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2010.01.008>
- Shen, J., Yuan, L., Zhang, J., Li, H., Zhaohai, B., Chen, X., & Zhang, F. (2011). Phosphorus dynamics: From soil to plant. *Plant Physiology*. 156: 997-1005. <https://doi.org/10.1104/pp.111.175232>
- SIAP, S. D. (2022). Jitomate. *Panorama Agroalimentario 2022*: 86-87. <https://drive.google.com/file/d/1jVWS4EFKK7HGwQOBpGeljUyaDT8X8lyz/view>
- Sitepu, I. R., Hashidoko, Y., & Tahara, S. (2023). Potent phosphate-solubilizing bacteria isolated from dipterocarps grown in peat swamp forest in central kalimantan and their possible utilization for biorehabilitation of degraded peatland. Graduate School of: 1-7. [https://www.researchgate.net/publication/242409326 POTENT PHOSPHATE-SOLUBILIZING BACTERIA ISOLATED FROM DIPTEROCARPS GROWN IN PEAT SWAMP FOREST IN CENTRAL KALIMANTAN AND THEIR POSSIBLE UTILIZATION FOR BIOREHABILITATION OF DEGRADED PEATLAND](https://www.researchgate.net/publication/242409326_POTENT_PHOSPHATE-SOLUBILIZING_BACTERIA_ISOLATED_FROM_DIPTEROCARPS_GROWN_INPEAT_SWAMP_FOREST_IN_CENTRAL_KALIMANTAN_ANDTHEIR_POSSIBLE_UTILIZATION_FOR_BIOREHABILITATION_OF_DEGRADEDPEATLAND)
- Soto, L. I., Meléndez, B. L., & Jiménez, H. A. (2007). El tema de la catalasa en los diferentes niveles de enseñanza aprendiza. *Revista Iberoamericana de Producción Académica y Gestión Educativa*: 1-15. <https://www.studocu.com/es-mx/document/universidad-de-guanajuato/biologia-celular/el-tema-de-la-catalasa-en-los-diferentes-niveles-de-ensenanza-aprendizaje/25213170>

- Statista. (2023). Volumen de la producción mundial anual de Tomate en 2012-2021. Recuperado el 05 de mayo de 2023 de statista: <https://es.statista.com/estadisticas/529413/produccion-de-tomates-frescos-en-el-mundo/>
- Suñer, L., & Galantini, J. (2013). Importancia del equilibrio de las formas de fósforo edáfico. Ciencia y experiencia para una siembra directa sustentable en los ambientes frágiles del S y SO Bonaerense: 67-70. <https://www.aapresid.org.ar/wp-content/uploads/sites/7/2013/10/Revista-AAPRESID-2013-Galantini-et-al-FINAL.pdf>
- Syers, J. K., Johnston, A. E., & Curtin, D. (2008). Efficiency of soil and fertilizer phosphorus use. *FAO Fertilizer and Plant Nutrition Bulletin*: 1-123. <https://www.fao.org/3/a1595e/a1595e00.pdf>
- Tapia-Torres, Y., & García-Oliva, F. (2013). La disponibilidad del fósforo es producto de la actividad bacteriana en el suelo en ecosistemas oligotróficos: una revisión crítica. *Terra Latinoamericana*. 31(3): 231-242. <https://www.scielo.org.mx/pdf/tl/v31n3/2395-8030-tl-31-03-00231.pdf>
- Tilak, K., Ranganayaki, N., Pal, K., De, R., Saxena, A., Shekhar Nautiyal, C., & Johri, B. (2005). Diversity of plant growth and soil health supporting bacteria. *Current Science*. 89(1): 136-150. <https://www.jstor.org/stable/24110439>
- Toledo-Garcia, M., Adriano-Anaya, M. d., Albores-Flores, V., Ruiz-Gonzales, S., & Salvador-Figueroa, M. (2013). Solubilización de fósforo inorgánico por hongos aislados de la rizosfera de banano (*Mussa AAA*). *Quehacer Científico en Chiapas*. 8(2): 51-60. <https://1library.co/document/yr6k25py-solubilizaci%C3%B3n-f%C3%B3foro-inorg%C3%A1nico-hongos-aislados-rizosfera-banano-mussa.html>
- Turner, B., Papházy, M., Haygarth, P., & Mckelvie, D. (2002). Inositol phosphates in the environment. *Phil. Trans. R. Soc. Lond.*: 357. <https://doi.org/10.1098/rstb.2001.0837>

- Valdés, R. J. (2015). Gramíneas de Coahuila. Manual para la identificación de bacterias fitopatógenas. Comisión Nacional para el conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). Primera edición: 1-559
- Van, H. R., Moons, P., Jansen, A., Vanoirbeek, K., & Michiels, C. (2005). Genotypic and phenotypic characterization of a biofilm-forming *Serratia plymuthica* isolate from a raw vegetable processing line. FEMS Microbiology Letters: 265-272. <https://doi.org/10.1016/j.femsle.2005.04.016>
- Vargas, R. S. J. (2012). Microorganismos solubilizadores de fosfato en suelo. Universidad Industrial de Santander Especialización en Química Ambiental: 1-69. <https://1library.co/document/z34nl88y-microorganismos-solubilizadores-fosfato-suelos-silvia-juliana-vargas-ramirez.html>
- Velasco-Jiménez, A., Castellanos-Hernández, O., Acevedo-Hernández, G., Clarenc Aarland, R., & Rodríguez-Sahagún, A. (2020). Bacterias rizosféricas con beneficios potenciales en la agricultura rhizospheric bacteria with potential benefits in agriculture. Terra Latinoamericana. 38(2): 333-345. <https://www.scielo.org.mx/pdf/tl/v38n2/2395-8030-tl-38-02-333.pdf>
- Vera, G. S. L. (2018). Evaluación de la capacidad de *Azotobacter nigricans* para solubilizar fosfato. Tesis para obtener el grado de Maestro en ciencias en la especialidad de Biotecnología CINVESTAV: 1-101. <https://repositorio.cinvestav.mx/bitstream/handle/cinvestav/2541/SSIT0015658.pdf>
- Villalobos, A. A. R., Escobar, I. M., & Santerre, A. (2005). Extracción de DNA y amplificación de secuencias de its en *psilocybe* (Agaricales, fungi). Avances en la Investigación Científica en el CUCBA: 548-553. http://www.cucba.udg.mx/sites/default/files/publicaciones1/avances/avances_2005/Biologia/VillalobosArambulaAlmaRosa/VillalbosArambulaAlmaRosa.pdf
- Vivas, A., Barea, J. M., & Azcón, R. (2005). Interactive effect of *Brevibacillus brevis* and *Glomweius mosseae*, both isolated from Cd contaminated soil, on plant

- growth, physiological mycorrhizal fungal characteristics and soil enzymatic activities in Cd polluted soil. *Environmental Pollution*. 134: 257-266.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2004.07.029>
- Vleeschauwer, D., & Höfte, M. (2007). Using *Serratia plymuthica* to control fungal pathogens of plants. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*. 2(46): 189-257.
<https://www.cabi.org/bni/FullTextPDF/2007/20073193349.pdf>
- Weise, T., Thürmer, A., Brady, S., Kai, M., Daniel, R., Gottschalk, G., & Piechulla, B. (2013). VOC emission of various *Serratia* species and isolates and genome analysis of *Serratia plymuthica* 4Rx13. *FEMS Microbiology Letters*. 352: 45-53. <https://doi.org/10.1111/1574-6968.12359>
- White, A., & Metcalf, W. (2007). Microbial metabolism of reduced phosphorus compounds. *Annual Review of Microbiology*: 379-400.
<https://doi.org/10.1146/annurev.micro.61.080706.093357>
- Yi, Y., Huang, W., & Ge, Y. (2008). Exopolysaccharide: a novel important factor dissolution of tricalcium phosphate. *World J Microbiol Biotechnol*. 24: 1059-1065. <https://doi.org/10.1007/s11274-007-9575-4>
- Zamora, E. (2016). Algunas deficiencias nutricionales en cultivos protegidos. Universidad de Sonora: 1-9.
<https://dagus.unison.mx/Zamora/2.%20ALGUNAS%20DEFICIENCIAS%20NUTRICIONALES%20EN%20CULTIVOS%20PROTEGIDOS.pdf>
- Zarza, S. H. A., Huespe, C., Trabuco, M., Mayeregger, M., Guillén, O., & López, F. (2018). Manual básico de cultivos sin suelo para producción de tomate en invernadero. IPTA-CONACYT: 1-60.
<https://es.scribd.com/document/480099666/Manual-Basico-de-cultivo-sin-suelo-Tomate-pdf>

Zhang, Z., Liao, H., & Lucas, G. (2014). Molecular mechanisms underlying phosphate sensing, signaling, and adaptation in plants. *J Integr Plant Biol.* 56(3): 192-220. <https://doi.org/10.1111/jipb.12163>

ANEXOS

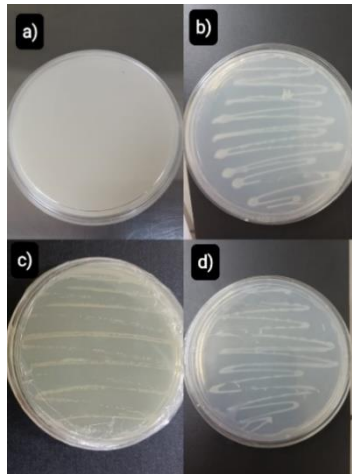


Figura 22. Medio de cultivo sólido NBRIP con 2.5 g/L de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ antes y después de inocular. a) Medio antes de inocular, b) Medio sólido 48 horas después de la inoculación con *Serratia plymuthica*, c) Medio sólido 48 horas después de la inoculación con *Enterobacter* sp. d) Medio sólido 48 horas después la inoculación con *Brevibacillus parabrevis*.

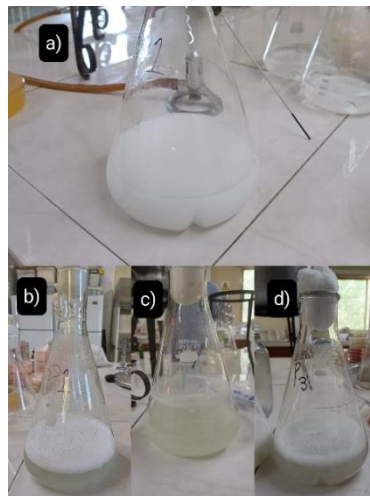


Figura 23. Medio de cultivo líquido NBRIP con 2.5 g/L de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ antes y después de inocular. a) Medio sin inocular, b) Medio líquido 48 horas después de la inoculación con *Serratia plymuthica*, c) Medio líquido 48 horas después de la inoculación con *Enterobacter* sp., d) Medio líquido 48 horas después de la inoculación con *Brevibacillus parabrevis*.

```

Analysis of Variance Table

Response: ESF

          Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
Bacteria    2   8.517   4.2587  41.8026 < 2.2e-16 ***
Conc        3   4.759   1.5865  15.5725  6.266e-10 ***
Bacteria:Conc  6   1.202   0.2003   1.9664  0.06759 .
Residuals 1128 114.917   0.1019
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

Figura 24. Análisis de varianza de la ESF de bacterias evaluadas durante 408 horas.

```

          ESF      std  r      Min      Max      Q25      Q50      Q75
Bparab:C15 1.0958858 0.26249614 95 0.000000 1.188708 1.151040 1.164000 1.176123
Bparab:C25 1.1124614 0.27010269 95 0.000000 1.251376 1.131186 1.170312 1.224661
Bparab:C35 1.0345872 0.35989220 95 0.000000 1.221162 1.127095 1.149798 1.193464
Bparab:C5  0.9704028 0.42572267 95 0.000000 1.220480 1.077470 1.165881 1.182823
Enter:C15  1.3490589 0.15621516 95 0.000000 1.435510 1.340269 1.384434 1.404959
Enter:C25  1.1962822 0.05426926 95 1.014815 1.270642 1.171905 1.193228 1.240853
Enter:C35  1.1115902 0.20547620 95 0.000000 1.198589 1.127061 1.149392 1.180351
Enter:C5   1.1042365 0.20475097 95 0.000000 1.198481 1.115000 1.150906 1.164641
SPly:C15  1.0286746 0.35971423 95 0.000000 1.232262 1.086441 1.153137 1.202087
SPly:C25  1.0352458 0.36028791 95 0.000000 1.213085 1.108939 1.163604 1.192405
SPly:C35  0.9580751 0.41990233 95 0.000000 1.216678 1.079131 1.133183 1.170869
SPly:C5   0.9059244 0.47210722 95 0.000000 1.191667 1.003216 1.129707 1.175907

```

Figura 25. Prueba de medias de la ESF de bacterias en diferentes concentraciones evaluadas durante 408 horas.

```

          ESF      std  r Min      Max      Q25      Q50      Q75
Bparab 1.0533343 0.3397087 380  0 1.251376 1.130234 1.162490 1.186514
Enter  1.1902919 0.1933611 380  0 1.435510 1.144604 1.179180 1.263172
SPly   0.9819799 0.4076140 380  0 1.232262 1.089843 1.144166 1.185487

$comparison
NULL

$groups
      ESF groups
Enter 1.1902919  a
Bparab 1.0533343  b
SPly  0.9819799  c

```

Figura 26. Prueba de media Tukey ($\alpha=0.05$) de la ESF por bacterias evaluadas durante 408 horas.

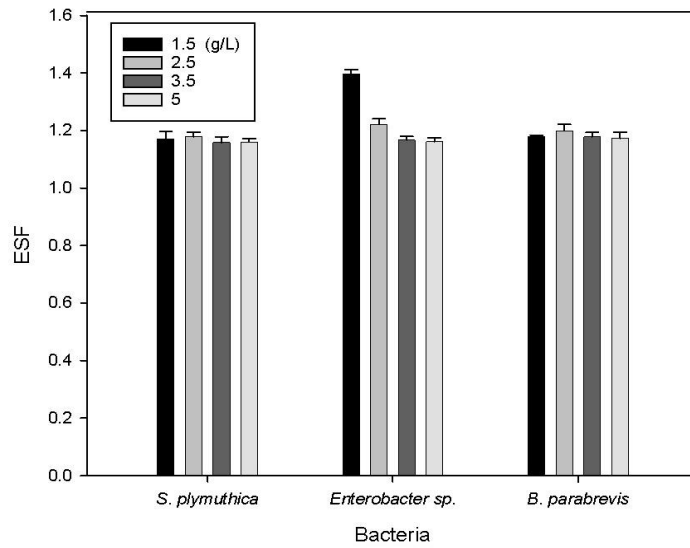


Figura 27. Eficiencia de solubilización de fosfato por bacterias en diferentes concentraciones de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ evaluadas durante 408 horas.



Figura 28. Plantas de tomate tratadas con fosfato solubilizado por BSF: (P1) *S. plymuthica*, (P2) *Enterobacter sp.*, (P3) *B. parabrevis*.