



Identificación molecular de cepas de *Bacillus* spp. y su uso como rizobacteria promotora del crecimiento en tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.)

Molecular identification of strains of *Bacillus* spp. and its use as growth-promoting rhizobacteria in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.)

Ramiro Daniel Acurio Vásconez^{1,*} ; Estefany Michelle Tenorio Moya¹ ;
Katherine Alejandra Medrano Jara¹ ; Viviana Pamela Chiluisa-Utreras² 

¹ Universidad Politécnica Salesiana, Campus El Girón, Av. Isabel La Católica N. 23-52 y Madrid, 170525, Quito, Ecuador.

Received May 8, 2020. Accepted October 1, 2020.

Resumen

La aplicación de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (RPCV), constituye una práctica ecológica que contribuye a optimizar los sistemas de producción agrícola y se presenta como una opción para la reducción del uso de fertilizantes químicos. El tomate riñón tiene alta demanda alrededor de todo el mundo, su producción requiere una nutrición eficiente para suplir la demanda de cantidad y calidad que el mercado requiere, por lo tanto, en la presente investigación se evaluaron dos cepas bacterianas: *Bacillus licheniformis* (IB10) y *Bacillus megaterium* (CT11) como promotoras del crecimiento en plántulas de tomate riñón mediante pruebas en semilleros. Se evidenció diferencias estadísticas en las distintas variables evaluadas, la aplicación de *B. licheniformis* únicamente al momento de la siembra provocó un incremento del 10% en el grosor del tallo y un aumento del 100% en cantidad de biomasa seca, la aplicación semanal de *B. megaterium* aumentó la eficiencia fotosintética en un 18% y aumentó en un 11% la longitud de las raíces de las plántulas. Los resultados generados permiten determinar que ambas cepas bacterianas pueden ser utilizadas como alternativas a fertilizantes químicos.

Palabras clave: Rizobacterias promotoras del crecimiento en plantas; *Bacillus*; rizobacteria; biofertilizante; promotor.

Abstract

The application of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) constitutes an ecological practice that contributes to agricultural production systems and is presented as an option for reducing the use of chemical fertilizers. The tomato is in high demand around the world, its production requires efficient nutrition to supply the quantity and quality demand that the market requires, therefore, in the present investigation two bacterial strains were evaluated: *Bacillus licheniformis* (IB10) and *Bacillus megaterium* (CT11) as growth promoters in kidney tomato seedlings by testing in seedbeds. Statistical differences are evident in the different variables evaluated, the application of specific *B. licheniformis* at the time of planting caused an increase of 10% in the thickness of the stem and a 100% increase in the amount of dry biomass, the weekly application of *B. megaterium* problems the photosynthetic efficiency in 18% and problems in 11% the length of the roots of the seedlings. The results generated may allow the bacterial strains to be used as alternatives to chemical fertilizers.

Keywords: Plant growth promoting rhizobacteria; *Bacillus*; rhizobacteria; biofertilizer; promoter.

1. Introducción

El término “Rizobacteria Promotora de Crecimiento Vegetal” (RPCV) ha sido usado

para describir bacterias que se desarrollan en las raíces de las plantas y que provocan efectos positivos para las mismas (Kalita et

Cite this article:

Acurio, R.D.; Tenorio, E.M.; Medrano, K.A.; Chiluisa-Utreras, V.P. 2020. Identificación molecular de cepas de *Bacillus* spp. y su uso como rizobacteria promotora del crecimiento en tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Scientia Agropecuaria 11(4): 575-581.

* Corresponding author
E-mail: racurio@ups.edu.ec (R.D. Acurio).

al., 2015). Tales beneficios han sido aplicados en diferentes áreas como los biofertilizantes, control de enfermedades, biorremediación y biopesticidas (Adesemoye et al., 2008). Estos microorganismos pueden también reducir los efectos negativos causados por estrés en las plantas y contribuir a la rizorremediación (Porcel et al., 2014). Los mecanismos de acción de las RPCV pueden también subdividirse en mecanismos indirectos y directos (Shameer y Prasad, 2018). Los indirectos abarcan la resistencia sistémica adquirida y resistencia sistémica inducida, inhibición de agentes fitopatógenos (Singh et al., 2017). Los mecanismos directos comprenden la fijación de nitrógeno, inhibición de la síntesis de etileno, síntesis de hormonas vegetales, la solubilización de nutrientes como fósforo, hierro y potasio (Olanrewaju et al., 2017).

Los géneros predominantes que actúan como RPCV son *Pseudomonas* y *Bacillus* (Grover et al., 2011), las especies del género *Bacillus* son formadoras de esporas tolerantes al estrés, secretan exopolisacáridos y sideróforos que inhiben el movimiento de iones tóxicos y promueven el movimiento del agua en los tejidos vegetales lo que favorece al desarrollo de la planta (Radhakrishnan et al., 2017).

En la actualidad, el tomate riñón (*Lycopersicon esculentum* Mill.) es uno de los vegetal más cultivados y consumidos alrededor del mundo, alcanzando una producción de 182.258 millones de kg por año (ESPAC, 2018).

La gran demanda de tomate riñón y la exigencia del mercado han hecho que los productores se interesen por nuevos sistemas de producción que generen mayor rendimiento y productos de calidad (Espinosa et al., 2017), en este sentido la aplicación de RPCV en plántulas representa una alternativa para mejorar el desarrollo, rendimiento y la obtención de biomasa vegetal (Chaudhary et al., 2012; Martínez, 2011). En varios estudios se ha demostrado que la inoculación con RPCV ha logrado mejorar el crecimiento y desarrollo del cultivo de tomate riñón (Cabra et al., 2017; Martínez et al., 2013; Santillana et al., 2005; Terry y Galán, 2006).

Las RPCV que permite disminuir o sustituir la fertilización química, con la finalidad de

mejorar las características de rendimiento y calidad, evitando la contaminación de recursos naturales dentro de los sistemas productivos agrícolas (Espinosa-Palomeque y Cano-Rios, 2019).

En este contexto, esta investigación tuvo como objetivo determinar la capacidad promotora de crecimiento de dos cepas de *Bacillus* en plántulas de tomate riñón (*Lycopersicon esculentum* Mill.) y de esta manera obtener una herramienta biotecnológica para el uso en la agricultura.

2. Materiales y métodos

La evaluación se llevó a cabo en Ecuador, provincia de Tungurahua, cantón Ambato, la cual se encuentra a 2590 m.s.n.m., una humedad media de 68,57% y 14,6 °C como temperatura media.

Las cepas utilizadas estaban identificadas previamente como pertenecientes al género *Bacillus* y fueron las siguientes: IB10, CT11, ambas cepas pertenecen al cepario del CIVABI, ubicado en la Universidad Politécnica Salesiana de la ciudad de Quito. Estas cepas en ensayos *in vitro* obtuvieron los mejores resultados en ensayos de solubilización de fósforo, producción de auxinas y fijación biológica de nitrógeno, resultados reportados en el trabajo de investigación de Mamarandi y Ojeda (2019).

2.1. Identificación molecular de las cepas de *Bacillus*

Los microorganismos bacterianos se cultivaron en Tripticasa Soya Agar (TSB) y se incubaron a 30 °C y 100 rpm. El ADN se extrajo a partir de cultivos de 24 horas mediante la metodología descrita por Sambrook y Russell (2001).

Para la identificación molecular de las especies, se utilizaron cebadores de genes específicos que sirven para identificar especies bacterianas del género *Bacillus*, detallados en *Tabla 1* los cuales fueron descritos por Madslie et al. (2013) y Nayak et al. (2013).

La reacción de la cadena de polimerasa se realizó con el siguiente protocolo: desnaturalización inicial a 95 °C por 2 minutos, 24 ciclos de desnaturalización a 95 °C por 30 segundos, hibridación del cebador a 58 °C por 1 minuto, extensión inicial por 2 minutos a 72 °C y extensión final de 9 minutos a 72 °C, la muestra amplificada se mantuvo a 4 °C.

Tabla 1
Cebadores utilizados en la identificación molecular

Región para amplificar	Secuencia 5´-3´	Temperatura de hibridación (°C)
<i>Bacillus licheniformis</i>		
Gen (IchAA) Cebador Forward	ACTGAAGCGATTGCGCAAGTT	58
Gen (IchAA) Cebador Reverse	TCGCTTCATATTGTGCGTTC	
<i>Bacillus megaterium</i>		
Gen (phaC) Cebador Forward	CGTGCAAGAGTGGGAAAAAT	58
Gen (phaC) Cebador Reverse	TCGCAATATGATCACGGCTA	

Para el control negativo se utilizó agua grado molecular y como control positivo las cepas de *B. megaterium* ATCC®14581 y *B. licheniformis* ATCC®14580 (Chiluisa-Utreras et al., 2020).

2.2. Siembra de semillas

La siembra de las semillas de tomate riñón (*Lycopersicon esculentum* Mill.) se realizó en bandejas de germinación de 220 hoyos con turba (Promix GTX) humedeciendo el sustrato y dejando las bandejas bajo condiciones de invernadero. La variedad evaluada fue Pietro (Clause).

2.3. Preparación del inóculo

Siguiendo lo descrito por Acurio et al. (2020), se elaboró un biopreparado sólido para cada cepa. La aplicación se realizó mediante aspersión utilizando una bomba de mochila, la solución aplicada tuvo una concentración bacteriana final de 1×10^6 UFC/mL.

Se realizó la aplicación de 5 tratamientos, descritos en la Tabla 2.

Tabla 2

Tratamientos aplicados

Tratamientos		
T1	IB10 (<i>Bacillus licheniformis</i>)	Única aplicación a la siembra
T2	IB10 (<i>Bacillus licheniformis</i>)	4 aplicaciones, 1 por semana
T3	CT11 (<i>Bacillus megaterium</i>)	Única aplicación a la siembra
T4	CT11 (<i>Bacillus megaterium</i>)	4 aplicaciones, 1 por semana
T5	Testigo (agua)	

Cada tratamiento se realizó por triplicado, dando un total de 15 unidades experimentales, cada bandeja de germinación consistió en una unidad experimental.

Las variables para evaluar fueron: grosor del tallo, eficiencia fotosintética, peso seco y longitud de la raíz.

2.4. Grosor del tallo

Para medir el grosor del tallo, se tomaron 20 plántulas al azar de cada bandeja de germinación y mediante el uso de un pie de rey se procedió a tomar las mediciones del diámetro del tallo en milímetros, las mediciones se realizaron semanalmente desde la segunda semana después de la siembra, hasta la semana que las plántulas estuvieron listas para el trasplante (semana 5).

2.5. Eficiencia fotosintética

Se tomaron 10 plántulas indistintamente de cada unidad experimental, mediante el equipo OS-30p+Chlorophyll Fluorometer se les realizó la medición de la eficiencia cuántica del fotosistema II (PSII), mediciones que se efectuaron en las semanas 3, 4 y 5.

2.6. Materia seca de la parte aérea

De las 20 plántulas seleccionadas en un inicio se pesaron la parte fresca de la planta

sin la raíz, el material vegetal se colocó en fundas de papel dentro de una estufa a 70 °C durante 48 horas, a continuación, se colocaron las fundas en un desecador por 24 horas, se tomó los datos de las muestras secas mediante el uso de una balanza analítica.

2.7. Longitud de la raíz

A las raíces de las plántulas se las lavó con agua para retirar la turba, se dejaron a temperatura ambiente hasta que se secaron y mediante un pie de rey se midió la longitud en milímetros.

2.8. Análisis estadístico

Los datos obtenidos de cada variable se evaluaron a través de un DCA (diseño completamente al azar) y se realizó la prueba Post Hoc de Tukey ($\alpha = 0,05$), en el software Infostat Versión 2018.

3. Resultados y discusión

3.1. Identificación molecular de las cepas de *Bacillus*

En la cepa CT11 los cebadores específicos para el gen phaC, permitieron la amplificación de la secuencia diana, región del genoma que sirve para reconocer especies de *B. megaterium*

Por otra parte, en la cepa IB10 los cebadores específicos para el gen lchAA, permitió la amplificación de la secuencia de interés, región que permite identificar especies en *B. licheniformis*.

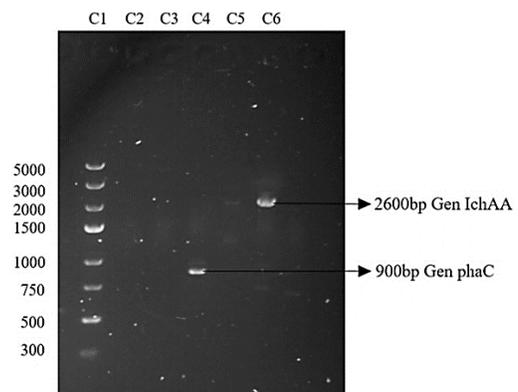


Figura 1. Electroforesis de PCR de los genes phaC y lchAA. C1: marcador de peso molecular, C2: control negativo gen phaC, C3: control negativo gen lchAA, C4: gen phaC y C6: gen lchAA.

En la cepa IB10 se amplificó el gen lchAA, correspondiente a la secuencia que se utilizó para identificar a la especie *Bacillus licheniformis* como se observa en la Figura 1, de acuerdo a lo reportado por Coronel et al. (2016) el gen tiene 2600 pb.

Para la cepa CT11 se amplificó el gen phaC, según reporta Nayak et al. (2013) esta región tiene 900 pb y se utiliza para identificar a la especie *Bacillus megaterium*.

Tabla 3

Variables evaluadas (Tukey 5 %)

Tratamientos	Media del diámetro del tallo (mm) ± sd	Eficiencia fotosintética (Fv/Fm) ± sd	Materia seca (g) ± sd	Longitud de raíz (mm) ± sd
T1	2,63 ± 0,07 a	2,87 ± 0,23 ab	0,22 ± 0,00 a	79,34 ± 1,71 ab
T2	1,95 ± 0,10 c	2,89 ± 0,13 ab	0,16 ± 0,16 b	80,75 ± 3,88 a
T3	2,43 ± 0,10 ab	2,76 ± 0,06 b	0,15 ± 0,01 b	80,26 ± 1,91 a
T4	2,11 ± 0,29 bc	3,22 ± 0,04 a	0,15 ± 0,01 b	81,85 ± 2,62 a
T5	2,37 ± 0,18 abc	2,72 ± 0,18 b	0,11 ± 0,02 c	73,37 ± 0,47 b

Nota: sd: desviación estándar; Fv: Fluorescencia variable; Fm: Fluorescencia máxima.

3.2. Parámetros de crecimiento

Para incrementar los rendimientos del cultivo de tomate es de vital importancia la obtención de plántulas sanas y con características de vigor (Costales et al., 2007), por esta razón se evaluó longitud de raíz, diámetro de tallo, eficiencia fotosintética y peso seco de plántula (Tabla 3).

Grosor del tallo

En cuanto al grosor del tallo se logró evidenciar que existió diferencia significativa entre los tratamientos con un p valor < 0,01.

En la Tabla 3 se puede observar en base a la prueba Tukey al 5%, que los tratamientos 1, 3 y 5 tuvieron una acción similar sobre la planta, influyendo de manera positiva en cuanto al grosor del tallo.

En la investigación realizada por Rojas-Badía et al. (2020), donde se inoculó *Bacillus* sp. a la siembra de tomate (*Solanum lycopersicum*), el grosor del tallo de la planta obtuvo un incremento del 90% frente al testigo, reportes que también concuerdan con los presentados por Calero et al. (2019) donde al aplicar RPCV a la siembra y aplicaciones foliares semanales obtuvo un incremento en el diámetro del tallo desde un 30% al 100% en diferentes variedades de *Solanum lycopersicum*, los resultados obtenidos en esta investigación al aplicar *B. megaterium* y *B. licheniformis* a la siembra de tomate el grosor del tallo aumentó hasta en un 10% respecto al testigo.

Según Gómez et al. (2010) uno de los criterios para considerar una óptima calidad en plántulas de tomate a los 25 - 30 días de germinada la semilla es que el grosor del tallo el cual debe estar entre de 2,3 - 5 mm y debido al efecto de las RPCV se evidencia que se alcanza este parámetro de calidad.

Esto puede atribuirse a la capacidad de las bacterias promotoras de crecimiento vegetal, entre ellas especies del género *Bacillus*, de producir fitohormonas como auxinas y giberelinas que incrementan el crecimiento y grosor de las plántulas, así lo afirma Camelo et al. (2011).

Eficiencia fotosintética

Para la variable eficiencia fotosintética se logró evidenciar que existió diferencia significativa entre los tratamientos con un p valor < 0,05.

Como se puede observar dentro de la Tabla 3 al aplicar la prueba Tukey al 5% se presentan los grupos diferenciados a y b, donde los tratamientos 4, 2 y 1 corresponden al primer grupo ejerciendo un efecto similar en la planta de manera positiva sobre la eficiencia fotosintética.

La fluorescencia del pigmento de clorofila proporciona información sobre la variación que se presentan en la dispersión de calor y la eficiencia fotoquímica, fenómeno que, al ser medido, permite discernir entre los niveles máximos de fluorescencia (Fm) y los niveles mínimos (Fo), valor que representa la supresión del proceso fotoquímico. En plántulas de tomate al inocular *B. megaterium* semanalmente se presentó un valor mayor de eficiencia fotosintética alcanzando el valor de 3,22 ± 0,04 para la relación Fv/Fm, resultados similares a los obtenidos por Lu et al. (2019), donde al inocular bacterias promotoras de crecimiento a plántulas de *Solanum lycopersicum* evidenciaron que la eficiencia fotosintética aumenta al doble frente a los controles.

Gracias a la acción de los RPCV, la mayoría de los nutrientes se encuentran a disposición de la planta, lo cual evita que este pase por un proceso de estrés, lo que se evidencia en las elevadas lecturas de Fv/Fm, es decir presentan una mayor eficiencia fotosintética (Gonzales et al., 2008).

Russo y Perkins-Veazie (2010) afirman que cuando se presenta una disminución de la eficiencia fotosintética se puede dar debido a una reducción de nitrógeno en la hoja o en la clorofila y las bacterias promotoras de crecimiento aumentan la disponibilidad de nitrógeno hacia las plantas y a su vez de nutrientes por lo que existe un aumento en la eficiencia fotosintética en las plántulas inoculadas.

Materia seca de la parte aérea

Se presentó diferencia significativa en cuanto al peso de materia seca entre los tratamientos con un p valor < 0,01; donde el tratamiento 1 destaca al aumentar la cantidad de materia seca de la planta (Tabla 3).

Adesemoye et al. (2008) demostraron que al inocular a *Solanum lycopersicum* L. con *B. subtilis* a la siembra, la planta de tomate a los 60 días presentó un 36% más de biomasa

seca en comparación con el control, Chauhan *et al.* (2014) reportaron que la cepa CKT1, identificada molecularmente como *B. licheniformis*, aumentó en un 63,50% el peso seco de *Solanum lycopersicum* L. En la presente investigación se evidenció que la inoculación de *B. licheniformis* a la siembra de tomate (T1) provocó un aumento del 100% en la biomasa seca de la planta con respecto al testigo (T5), resultado superior a los reportados en otras investigaciones. Como lo mencionan Corrales *et al.* (2017), esto puede deberse a que las rizobacterias promotoras de crecimiento pueden solubilizar nutrimentos que se encuentran inmovilizados y en baja disposición en el suelo o sustratos, como es el caso del fósforo, lo que mejora la asimilación de estos nutrimentos hacia la planta, dando como resultado una mayor a cantidad de biomasa.

Longitud de raíz

En cuanto a longitud de raíz existió diferencia significativa entre los tratamientos con un p valor < 0,05; en la [Tabla 3](#) se puede evidenciar en base a la prueba Tukey al 5%, que todos los tratamientos presentan un comportamiento parecido sobre la planta y causan un efecto positivo sobre la longitud de la raíz a excepción del tratamiento 5, el cual corresponde al testigo.

En la investigación realizada por Chauhan *et al.* (2014), se afirma que en plantas de tomate inoculadas con diversas cepas de *Bacillus* como *B. licheniformis*, *B. vallismortis*, *B. subtilis*, aumentan la longitud de la raíz desde un 10% al 100% en comparación con las plantas que no han recibido ningún tratamiento, de igual manera Martínez *et al.* (2013) Evidencian que al adicionar especies del género *Bacillus* como *B. megaterium*, *B. firmus* y *B. subtilis* sobre la germinación y desarrollo de plántulas de tomate, la longitud de la raíces aumenta desde un 20% al 50% frente a las plántulas que solo se las trató con agua, los resultados presentados en este estudio manifiestan que al inocular *B. megaterium* y *B. licheniformis* a las plántulas de tomate semanalmente aumentó en un 11% respecto al testigo.

Según Ribaudó *et al.* (2006) y Saleem *et al.* (2007), el ácido indolacético (AIA) absorbido tanto por las semillas como por las raíces de las plántulas, podría incitar la acción de la enzima 1-aminociclopropano-1-carboxilato sintetasa (ACC), la cual es parte de la síntesis del etileno y este en bajas concentraciones incrementa el crecimiento de los pelos radicales de las plantas inoculadas, aumentando así la superficie radicular que favorece a una mayor absorción de nutrimentos y

esto se traduce a una mayor longitud de raíces.

3.3. Comparación con estudios previos

No todas las variedades se adaptan a una región, por tal razón, es necesario que se conozca resultados de estudios de comportamientos agronómicos de las variedades, esto permitirá definir qué tipo de variedades presentan mejores características, resultados de producción y rendimiento para cada zona de un país (INIAP, 2009), esto puede explicar la variabilidad de los resultados en los estudios ([Tabla 4](#)).

Tabla 4

Cuadro comparativo de resultados de esta investigación con otros estudios

Variable	Resultado	Referencia
Grosor de tallo	De 3,00 ± 0,50 mm a 3,3 ± 0,30 mm	Rojas-Badía <i>et al.</i> (2020)
	5 - 5,5 mm	Calero, A <i>et al.</i> (2019).
Grosor de tallo	3,4 - 3,8 mm	Martínez <i>et al.</i> (2013)
	De 2,43 ± 0,10 mm a 2,63 ± 0,07 mm	Esta investigación
Longitud de raíz	204,10 ± 39 mm	Rojas-Badía <i>et al.</i> (2020)
	80,26 ± 1,91 mm	Esta investigación
Materia seca	0,3 - 0,39 g	Adesemoye <i>et al.</i> (2008)
	0,22 ± 0,00 g	Esta investigación

Por otro lado, la expresión de genes implicados en el crecimiento y desarrollo vegetal varía en función de los cambios ambientales, los cuales modifican dicha expresión génica del organismo (Molina Romero *et al.*, 2015).

4. Conclusiones

Los resultados obtenidos en plántulas inoculadas con los microorganismos eficientes (*Bacillus licheniformis* y *Bacillus megaterium*) fueron superiores en comparación con los valores del tratamiento testigo. *Bacillus licheniformis* incrementó significativamente el grosor del tallo y la cantidad de biomasa seca de las plántulas de tomate riñón. En cuanto a la eficiencia fotosintética expresada en Fv/Fm, esta aumentó significativamente debido a la inoculación semanal de *Bacillus megaterium*. Las aplicaciones de *Bacillus licheniformis* y *Bacillus megaterium* semanalmente aumentaron significativamente la longitud de las raíces de las plántulas de tomate.

Se recomienda estudiar la aplicación de los dos microorganismos de manera combinada y en condiciones de invernadero o campo abierto.

Agradecimientos

Al señor Leonardo Vásconez, por haber permitido instalar el ensayo en su vivero de producción de plántulas.

ORCID

R.D. Acurio Vásconez  <https://orcid.org/0000-0002-2305-4349>

E.M. Tenorio Moya  <https://orcid.org/0000-0001-6414-1337>

K.A. Medrano Jara  <https://orcid.org/0000-0001-8108-9825>

V.P. Chiluisa-Utreras  <https://orcid.org/0000-0001-8647-1791>

Referencias bibliográficas

- Adesemoye, A.; Obini, M.; Ugoji, O. 2008. Comparison of plant growth-promotion with *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus subtilis* in three vegetables. *Brazilian Journal of Microbiology* 39: 423-426.
- Acurio, D.; Tenorio, E.; Collaguazo, L.; et al. 2020. Evaluation of *Bacillus megaterium* strain AB4 as a potential biocontrol agent of *Alternaria japonica*, a mycopathogen of *Brassica oleracea* var. *italica*. *Biotechnology Reports* 26: 454.
- Cabra, T.; Rodríguez, C.; Villota, C.; et al. 2017. Efecto de *Bacillus* sobre la germinación y crecimiento de plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.). *Acta Biológica Colombiana* 22: 37-44.
- Calero, A.; Quintero, E.; Pérez, Y.; et al. 2019. Evaluación de microorganismos eficientes en la producción de plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.). *Revista de Ciencias Agrícolas* 36(1): 67-78.
- Camelo, M.; Vera, S. P.; Bonilla, R. R. 2011. Mecanismos de acción de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria* 12(2): 159-166.
- Chaudhary, D.; Kumar, A.; Mandhania, S.; et al. 2012. Maize As Fodder An alternative approach. Disponible en: www.maizeindia.org
- Chauhan, A.; Guleria, S.; Walia, A.; et al. 2014. Isolation and characterization of *Bacillus* sp. With their effect on growth of tomato seedlings. *Indian Journal of Agricultural Biochemistry* 27: 193-201.
- Chiluisa-Utreras, V.; Campaña, M.; Acurio, D. 2020. Determinación microbiológica y molecular mediante PCR en tiempo real de dos bacterias del género *Bacillus* de interés agro biotecnológico. *Bionatura* 5(2): 1106-1110.
- Corrales, C.; Caycedo, L.; Gómez, M.; et al. 2017. *Bacillus* spp.: una alternativa para la promoción vegetal por dos caminos enzimáticos. *Nova Scientia* 15(27): 45-65.
- Coronel, J.; Maresa, A.; Marques, A. 2016. Lichenysin production and application in the pharmaceutical field. *Research Signpost* 37: 147-163.
- Costales, D.; Martínez, L.; Núñez, M. 2007. Efecto del tratamiento de semillas con una mezcla oligogalacturónidos sobre el crecimiento de plántulas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Cul. Trop* 28: 85-91.
- ESPA - Encuesta de superficie y producción Agropecuaria Continúa. 2018. Tabulados ESPA. Disponible en <https://www.ecuadorencifras.gob.ec/estadisticas-agropecuarias-2/>
- Espinosa, B.; Moreno, A.; Cano, P.; et al. 2017. Inoculación de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal en tomate (*Solanum lycopersicum* L.) cv. afrodita en invernadero. *Tierra Latinoamericana* 35: 169-178.
- Espinosa-Palomeque, B.; Cano-Rios, P. 2019. Bioinoculantes y concentración de la solución nutritiva sobre la producción y calidad de tomate. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud* 21: 100-107.
- Gómez, O.; Casanova, A.; Cardoza, H.; et al. 2010. Guía Técnica para la producción de cultivo de tomate. Editora Agroecológica. Biblioteca ACTAF. IHH "Liliana Dimitrova". La Habana, Cuba.
- Gonzales, S.; Perales, H.; Álvarez, M. 2008. La fluorescencia de la clorofila a como herramienta en la investigación de efectos tóxicos en el aparato fotosintético de plantas y algas. *Revista de Educación Bioquímica* 27: 119-129.
- Grover, M.; Ali, S.; Sandhya, V.; et al. 2011. Role of microorganisms in adaptation of agriculture crops to abiotic stresses. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 27: 1231-1240.
- INIAP. 2009. Comportamiento de las principales variedades comerciales de tomate de mesa (*Lycopersicon esculentum* mili) al parasitismo de los nematodos "nudo de la raíz" (*Meloidogyne incognita*) y "rosario de la tálal" (*Nacobbus aberrans*) en Ibarra - Imbabura. Tesis bachiller, Universidad Técnica del Norte. Ecuador.
- Kalita, M.; Bharadwaz, M.; Dey, T.; et al. 2015. Developing novel bacterial based bioformulation having PGPR properties for enhanced production of agricultural crops. *Indian Journal of Experimental Biology* 53: 56-60.
- Lu, T.; Yu, H.; Li, Q.; et al. 2019. Improving plant growth and alleviating photosynthetic inhibition and oxidative stress from low-light stress with exogenous GR24 in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) seedlings. *Frontiers in Plant Science* 10: 8-15.
- Madslie, E.; Rønning, H.; Lindbäck, T.; et al. 2013. Lichenysin is produced by most *Bacillus*. *Journal of Applied Microbiology* 115:1068-1080.
- Mamarandi, J.; Ojeda, A. 2019. Evaluación de cepas de *Bacillus* spp. como microorganismos promotores del crecimiento vegetal (PGPR) en brócoli (*Brassica oleracea*) y lechuga (*Lactuca sativa*). Trabajo de titulación. Universidad Politécnica Salesiana. 103 pp.
- Martínez, L. 2011. Micorrizas arbusculares en ecosistemas semiáridos: respuesta a factores de estrés ambiental. *Ecosistemas* 20: 117-120.
- Martínez, L.; Martínez, R.; Hernández, M.; et al. 2013. Caracterización de rizobacterias aisladas de tomate y su efecto en el crecimiento de tomate y pimiento. *Revista Fitotecnia Mexicana* 36: 63-69.
- Molina-Romero, D.; Bustillos-Cristales, M.; Rodríguez-Andrade, O.; et al. 2015. Mecanismos de fitoestimulación por rizobacterias, aislamientos en América y potencial biotecnológico. *Revista de La DES Ciencias Biológico Agropecuarias* 17: 24-34.
- Nayak, P.; Mohanty, A.; Gaonkar, T.; et al. 2013. Rapid Identification of Polyhydroxyalkanoate Accumulating Members of Bacillales Using Internal Primers for phaC Gene of *Bacillus megaterium*. *ISRN Bacteriology* 2: 1-12.
- Olanrewaju, O.; Glick, B.; Babalola, O. 2017. Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 33: 1-16.
- Porcel, R.; Zamarreño, A.; García-Mina, J.; Aroca, R. 2014. Involvement of plant endogenous ABA in *Bacillus megaterium* PGPR activity in tomato plants. *BMC Plant Biology* 14: 1-12.
- Radhakrishnan, R.; Hashem, A.; Allah, E. 2017. *Bacillus*: A biological tool for crop improvement through bio-molecular changes in adverse environments. *Frontiers in Physiology* 8: 1-14.
- Ribaud, C.; Krumholz, E.; Cassán, F.; et al. 2006. *Azospirillum* sp. Promotes root hair development in tomato plants through a mechanism that involves ethylene. *Journal of Plant Growth Regulation* 25: 175-185.
- Rojas-Badía, M. M.; Bello-González, M. A.; Ríos-Rocafull, Y.; et al. 2020. Utilización de cepas de *Bacillus* como promotores de crecimiento en hortalizas comerciales. *Acta Agronómica*, 69: 54-60.
- Russo, V.; Perkins-Vaezi, A. 2010. Yield and Nutrient Content of Bell Pepper Pods from Plants Developed from Seedlings Inoculated, or Not, with Microorganisms. *American Society for Horticultural Science* 45: 3525-358.
- Saleem, M.; Arshad, M.; Hussain, S.; et al. 2007. Perspective of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) containing ACC deaminase in stress agriculture. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 34: 635-648.

- Sambrook, J.; Russell, W. 2001. Molecular Cloning. A Laboratory Manual. 3rd Ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York, EE.UU.
- Santillana, N.; Arellano, C.; Zúñiga, D. 2005. Capacidad del *Rhizobium* de promover el crecimiento en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Miller). *Ecología Aplicada* 4: 47-51.
- Shameer, S.; Prasad. T. 2018. Plant growth promoting rhizobacteria for sustainable agricultural practices with special reference to biotic and abiotic stresses. *Plant Growth Regulation* 84: 603-615.
- Singh, V.; Singh, A.; Kumar, A. 2017. Disease management of tomato through PGPB: current trends and future perspective. *Biotech* 7: 255.
- Terry, E.; Galán, L. 2006. Evaluación agrobiológica de la coinoculación micorrizas-rizobacterias en tomate. *Agronomía Costarricense* 30: 65-73.