

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE INGENIERÍA CAMPUS MEXICALI BIOINGENIERÍA



“MICROORGANISMOS DE UN AMBIENTE EXTREMO Y SU POTENCIAL COMO
BIOFERTILIZANTES”

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA

BIOING. ANA LUISA RESÉNDIZ BRACAMONTES

DIRECTOR DE TESIS:

DR. FERNANDO AMÍLCAR SOLÍS
DOMÍNGUEZ

CO-DIRECTOR DE TESIS:

DR. JAIRO NELVEDIR DIAZ RAMIREZ

Mexicali B.C. a 18 de enero de 2022

ÍNDICE DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	12
1.1. Suelo agrícola.....	12
1.1.1. Rizósfera.....	13
1.2. Factores limitantes de la planta	14
1.3. Fertilizantes inorgánicos	17
1.4. Bacterias promotoras de crecimiento vegetal.....	20
1.5. Biofertilizante bacteriano	22
1.6. Microorganismos extremófilos de la Laguna Salada Baja California.....	24
1.7. Características y principales cultivos del valle de Mexicali B.C.	25
1.8. Fertilizantes en el valle de Mexicali.....	27
1.9. Trigo (<i>Triticum aestivum</i>)	30
1.10. Lechuga (<i>Lactuca sativa</i>)	32
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN	35
3. ANTECEDENTES	36
4. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	37
4.1. Objetivo general	37
4.2. Objetivos específicos.....	37
5. HIPÓTESIS	38
6. MATERIALES Y MÉTODOS	39
6.1. Selección de aislados bacterianos.....	39
6.3. Prueba de termo-sensibilidad	39
6.5. Muestreo de suelo agrícola.....	41
6.6. Análisis fisicoquímicos de suelo	41
6.6.1. pH.....	42
6.6.3. Contenido de materia orgánica por incineración.....	42
6.6.4. Determinación de fosforo disponible	43
6.6.5. Determinación de contenido de nitrógeno.....	44
6.7. Análisis microbiológico del suelo	45
6.8. Selección de cultivos agrícolas a tratar	46
6.9. Obtención de las semillas	46
6.10. Experimento en condiciones de invernadero.....	47
6.10.1. <i>Triticum aestivum</i>	49
6.10.1.1. Evaluación de los tratamientos.....	51

6.10.1.2.	Análisis estadístico.....	52
6.10.2.	<i>Lactuca sativa</i>	52
6.10.2.1.	Evaluación de los tratamientos.....	54
6.10.2.2.	Análisis estadístico.....	55
7.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	56
7.1.	Composición y equivalencia de los estándares de McFarland	56
7.2.	Producción de ácido indolacético.....	57
7.3.	Selección de aislados bacterianos.....	59
7.4.	Recolección de suelo para experimento en maceta	61
7.5.	Características físicas y químicas del suelo	62
7.6.	Análisis microbiológico del suelo	65
7.7.	Porcentaje de germinación de las semillas	66
7.8.	Experimento con <i>Triticum aestivum</i> en condiciones de invernadero	66
7.8.1.	Características de los tratamientos previo a la fertilización	67
7.8.2.	Características de los tratamientos de <i>Triticum aestivum</i> posterior a la fertilización e inoculación bacteriana.....	68
7.8.2.1.	Longitud de la parte aérea	71
7.8.2.2.	Longitud de la raíz.....	76
7.8.2.3.	Peso de la parte aérea	78
7.8.2.4.	Peso de la raíz.....	80
7.8.2.5.	Número de granos	81
7.8.2.6.	Peso de granos	82
7.8.2.7.	Análisis microbiológico del suelo rizosférico	83
7.9.1.	Características de los tratamientos previo a la fertilización	87
7.9.2.	Características de los tratamientos posterior a la fertilización y biofertilización	88
7.9.3.	Características de <i>Lactuca sativa</i> después de la cosecha	90
7.9.3.1.	Longitud de la parte aérea	91
7.9.3.2.	Peso de la parte aérea	92
7.9.3.3.	Peso de la raíz.....	94
7.9.3.4.	Número de hojas.....	96
7.9.3.5.	Índice de contenido de clorofila	97
7.9.3.6.	Análisis microbiológico del suelo	98
8.	Conclusión.....	100
9.	REFERENCIAS	101

10.	ANEXOS	117
10.1.	ANOVA de ICC segunda medición	117
10.2.	ANOVA para longitud de raíz	117
10.3.	ANOVA para peso fresco de la parte aérea de la planta	117
10.4.	ANOVA para peso seco de la parte aérea de la planta.....	118
10.5.	ANOVA para materia seca parte aérea (%)	118
10.6.	ANOVA para peso fresco de la raíz.....	118
10.7.	ANOVA para peso seco de la raíz.....	119
10.8.	ANOVA para materia seca de la raíz (%)	119
10.9.	ANOVA para peso de granos	119
10.10.	ANOVA para UFC gr ⁻¹	120

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Cédula de los principales cultivos 2017-2018 (SEDAGRO)	27
Cuadro 2. Valor de la producción del distrito del río Colorado (SAGARPA, 2017).....	27
Cuadro 3. Resumen de recomendaciones para la fertilización de diferentes cultivos en el valle de Mexicali. Agenda técnica agrícola de la SAGARPA.....	29
Cuadro 4. Método de desinfección superficial de las semillas de las especies vegetales.	47
Cuadro 5. Descripción de los diferentes tratamientos.....	49
Cuadro 6. Densidad óptica (DO) ($\lambda=530$ nm) para los diferentes estándares de McFarland.	56
Cuadro 7. Lectura de la DO a partir de diferentes concentraciones de AIA.....	57
Cuadro 8. Resultados obtenidos después de suplementar el medio con 2.5mM de Trp.	59
Cuadro 9. Características de los aislados para su selección.....	60
Cuadro 10. Características físicas y químicas del suelo.	64
Cuadro 11. Densidad microbiana del suelo utilizado para siembra de <i>Triticum aestivum</i> y <i>Lactuca sativa</i>	65
Cuadro 12. Porcentaje de germinación de semillas de <i>Triticum aestivum</i> y <i>Lactuca sativa</i>	66
Cuadro 13. Características climáticas del invernadero durante el crecimiento de <i>Triticum aestivum</i>	66
Cuadro 14. Características de los tratamientos antes de agregar inóculo bacteriano y fertilizante sintético.	68
Cuadro 15. Medias de los tratamientos por bloque.....	72
Cuadro 16. Medias de la longitud de espiga por bloque.....	74
Cuadro 17. Medias de la longitud de la raíz por bloque	77
Cuadro 18. Tratamientos por bloque que presentaron formación de macollos.....	78
Cuadro 19. Medias del peso seco de la parte aérea.....	79
Cuadro 20. Medias del porcentaje de materia seca por bloque.....	80
Cuadro 21. Medias del peso fresco de la raíz	80
Cuadro 22. Medias de la materia seca de la raíz.....	80
Cuadro 23. Medias del número de granos por bloque	81
Cuadro 24. Medias del peso de los granos.....	81
Cuadro 25. Características físicas y químicas del suelo previas y posteriores al experimento de <i>Triticum aestivum</i>	84
Cuadro 26. Características climáticas del invernadero durante el crecimiento de <i>Lactuca sativa</i> . .	86
Cuadro 27. Porcentaje de macetas con presencia de brote (s) de <i>Lactuca sativa</i> después de 10 días de la siembra.	86
Cuadro 28. Agrupación utilizando el método Fisher para el peso fresco.	91
Cuadro 29. Agrupación utilizando el método Fisher para el peso seco de parte aérea.	93

Cuadro 30. Agrupación utilizando el método Fisher para peso fresco de la raíz.....	94
Cuadro 31. Comparación del peso seco de la raíz según un análisis de Fisher	96
Cuadro 32. Número de hojas según el método de Fisher.....	¡Error! Marcador no definido.
Cuadro 33. Agrupación utilizando el método Fisher para UFC g ⁻¹	98

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1. Tipos de asociación entre raíz de la planta y PGPR..	20
Fig. 2. Mapa temático por grupo de cultivos, cultivos cíclicos y perennes del 2018. Modificado de SEDAGRO.	26
Fig. 3. Etapas de crecimiento de trigo según la escala de Feekes.	32
Fig. 4. Etapas de crecimiento generales de la lechuga.	34
Fig. 5. (A) Representación de la distribución espacial de tratamientos de trigo en los bloques dentro del invernadero. (B) Fotografía de los tratamientos en su posición y bloque dentro del invernadero.	50
Fig. 6. (A) Representación de la distribución espacial de los tratamientos de lechuga. (B) Fotografía de la distribución de los tratamientos dentro de la habitación.	54
Fig. 7. Representación gráfica de la DO ($\lambda=530$ nm) en función de la densidad bacteriana aproximada indicada por los estándares de McFarland.	56
Fig. 8. Recta de calibrado para la cuantificación de AIA por sensibilidad a técnica colorimétrica.	57
Fig. 9. Reacción positiva (+) por cambio de color para el ensayo de producción de AIA con medio King B suplementado con 2.5 mM Trp del aislado bacteriano E por duplicado.	59
Fig. 10. (A) Vista satelital de ubicación de la parcela en el valle de Mexicali. (B) Vista satelital de las coordenadas de los puntos de recolección de muestra para siembra de trigo. (C) Vista satelital de las coordenadas del punto de recolección de muestra para siembra de lechuga. Tomada de Google Maps, INEGI 2019.	61
Fig. 11. Fotografía de las espigas formadas después de 37 días de siembra. ¡Error! Marcador no definido.	
Fig. 12. Promedio del contenido de clorofila por tratamiento.	69
Fig. 13. Comparación del contenido de clorofila entre bloques.	70
Fig. 14. Especificación de las partes de trigo para determinar la longitud.	71
Fig. 15. Intervalos de la longitud de trigo vs bloques.	72
Fig. 16. Descripción general de las partes de la espiga.	73
Fig. 17. Intervalos de la longitud de espiga vs bloque	74
Fig. 18. Fotografía de la raíz de trigo del T15 bloque 4.	74
Fig. 19. Longitud de la raíz vs bloque	76
Fig. 20. Efectos principales para las UFC g ⁻¹ .	77
Fig. 21. Intervalos de las medias de los tratamientos para la primera medición del ICC de <i>Lactuca sativa</i> .	88
Fig. 22. Intervalos de las medias de los tratamientos para la primera medición del ICC de <i>Lactuca sativa</i> .	88
Fig. 23. Fotografía de la raíz de <i>Lactuca sativa</i> .	89
Fig. 24. Especificación del punto para determinar la longitud de <i>Lactuca sativa</i>	90
Fig. 25. Efectos principales para la longitud de la parte aérea de <i>Lactuca sativa</i> .	91

Fig. 26. Efectos principales para el peso fresco de la raíz	95
Fig. 27. Efectos principales para número de hojas de la planta.	97
Fig. 28. Efectos principales para UFC g ⁻¹ de suelo rizosférico.....	¡Error! Marcador no definido.

A mis amados padres

AGRADECIMIENTOS

A mi esposo, padres y hermanos por su incondicional amor que mostraron a lo largo de este camino de mil diferentes formas.

A mis compañeros de laboratorio cuya presencia amenizó mis días con pláticas, café y mucho aprendizaje.

A mi director de tesis el Dr. Fernando Amílcar Solís Domínguez por su paciencia, sabiduría y apoyo durante mi formación académica.

A mis asesores la Dra. Aseneth Herrera, el Dr Jairo Días y la Dra. Lourdes por sus consejos, aportaciones y apoyo durante mi etapa de estudiante de posgrado.

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada para realizar la maestría.

Al Ing. Agrónomo Mario Camarillo Pulido del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP, Mexicali) por proporcionar el suelo agrícola para esta investigación.

Esta tesis fue financiada con recursos del proyecto 105/6/C/40/19 de la 19ª convocatoria interna de la UABC: Potencial de plantas nativas del municipio de Mexicali, para utilizarse en fitorremediación de sitios que contienen metales pesados.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Suelo agrícola

Los recursos de tierra y agua son esenciales para la seguridad alimentaria de la población mundial, actualmente se estima que la cifra es de 7 600 millones de personas y alcanzará los 8 600 millones para el año 2030, esto se traduce en una mayor demanda de alimento. La superficie de tierra mundial es de 13 200 millones de hectáreas de las cuales actualmente poco más del 12% está destinado a la agricultura (ONU, 2017; FAO, 2009).

Para que la producción de alimento satisfaga la necesidad alimentaria mundial actual, se ha optado por aumentar el rendimiento del área de cultivo ya existente en lugar de expandirla (intensificación) (Byerlee et al., 2014), por ello mundialmente se producen y utilizan grandes cantidades de agroquímicos, principalmente fertilizantes químicos y pesticidas (Deknock et al., 2019). Según lo previsto, en los años próximos se tendrá que expandir el área destinada al cultivo agrícola o intensificar el área ya existente. Si se optara por expandir el área de cultivo y se utilizan las mismas prácticas agropecuarias, los posibles escenarios son alarmantes, por ejemplo, la pérdida y desproporción de biodiversidad, liberación masiva de CO₂, carencia de servicios a partir de ecosistemas no agrícolas, duplicación de riego que conlleva problemas adicionales. Por otro lado, la intensificación del suelo destinado a uso agrícola, igualmente impacta a la biodiversidad causando una modificación en la estructura de la red trófica, gran impacto en los ecosistemas marinos, contaminación de aguas subterráneas (Tilman, 1999), y otros que serán abordados más adelante.

El suelo además de generar alimentos, también desempeña funciones medioambientales, sociales y económicas que son fundamentales para la vida: almacenaje,

filtración y transformación de diferentes sustancias; es uno de los principales factores de protección de las aguas subterráneas al ser un filtro natural y es intermediario del intercambio de gases a la atmosfera (Restrepo, 2017).

El suelo es un ecosistema complejo y el estudio de los procesos que ahí suceden igualmente lo son, esto es por el intercambio que existe entre él y el aire, agua, minerales, plantas y microorganismos. Si solamente se estudiara algún proceso que sucediese exclusivamente en el suelo, por ejemplo, el intercambio de algún material entre organismos que ahí habitan, resultaría sumamente complicado, por ello, una práctica que se acostumbra es su evaluación mediante macro parámetros (pH, salinidad, materia orgánica, textura, entre otros) de este modo es posible caracterizarlo, conocer su calidad y también su potencial como suelo de uso agrícola (Dharma-wardana, 2018).

Una buena calidad del suelo es necesaria para el correcto desempeño de todas sus funciones (Stoessel et al., 2018). Es bien sabido que el microbioma del suelo es clave para el control de procesos y estabilidad del ecosistema, ya que regula su funcionamiento y conserva la fertilidad (Singh y Gupta, 2018).

Con base en lo anterior, es imperativa la práctica de una agricultura sostenible, aquella que utiliza diseños benignos y procesos naturales para conservar los recursos, minimizar el desperdicio y el impacto ambiental, previniendo problemas a corto y largo plazo (Macrae et al., 1989).

1.1.1. Rizósfera

La rizósfera es el suelo estrechamente unido a la raíz de la planta, en esta zona se llevan a cabo diversos procesos biológicos y ecológicos (Pantigoso et al., 2018). El suelo rizosférico es un ecosistema complejo poblado de una gran y diversa cantidad de

microorganismos, la densidad de su microbiota es a causa de exudados de la raíz y señalización en dirección binaria de: microbio-microbio, microbio-planta y planta-microbio (Venturi y Keel, 2016). La rizodeposición se compone principalmente de compuestos como carbono (C) e hidrógeno (H), agua, electrones, azúcares, polisacáridos simples, aminoácidos, compuestos fenólicos y compuestos de mayor peso molecular. Los exudados son indispensables para la interacción de la planta con su entorno, ya que inducen la liberación de compuestos volátiles que las protegen de herbívoros, atraen a organismos que facilitan asociaciones simbióticas con hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y reclutan bacterias que promueven el crecimiento vegetal (PGPR, por sus siglas en inglés) (Rasmann y Turlings, 2016).

Los exudados de la raíz promueven la actividad del microbioma y con ello la liberación de enzimas por parte de los microorganismos. Algunas de las enzimas solubilizan nutrientes y descomponen la materia orgánica (MO) permitiéndole a la planta disponer de ellos (Ahmadi et al., 2018). La presencia de microorganismos no solo mejora la nutrición de la planta, crecimiento y desarrollo, sino que también genera resistencia al estrés biótico y abiótico (Umadevi et al., 2018).

1.2. Factores limitantes de la planta

La mayoría de las plantas requieren un balance de energía, agua y nutrientes para un óptimo desarrollo. Cuando el ambiente no provee un entorno ideal, la planta puede adaptarse, sin embargo, si existe algún factor carente éste limitará su crecimiento y en algunos casos provocará la muerte del organismo (Chapin et al., 1987).

Los nutrientes se dividen respecto a la cantidad en que son necesarios por la planta, aquellos requeridos en cantidades mayores son llamados macronutrientes y este grupo lo conforman el C, H y oxígeno (O) que se adquieren del aire y agua; en la zona rizosférica las

plantas toman C, O, H y otros elementos como: nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K), magnesio (Mg), calcio (Ca) y azufre (S) (Young et al., 2018). La deficiencia de macronutrientes se puede apreciar en la apariencia de las plantas y provoca problemas graves de crecimiento. Por otro lado, hay otros ocho elementos que son requeridos en cantidades mucho menores: hierro (Fe), zinc (Zn), manganeso (Mn), boro (B), cobre (Cu), molibdeno (Mo), níquel (Ni) y cloro (Cl) (Trevizan et al., 2008). Las células de las plantas generalmente tienen mecanismos rigurosos y específicos que regulan la adquisición de los micronutrientes, ya que en cantidades elevadas a las necesarias, suelen ser tóxicos (Giehl et al., 2009).

Los nutrientes que mayormente inhiben el crecimiento de las plantas y cultivos agrícolas a nivel mundial por su baja disponibilidad o ausencia en el suelo son N, P y K (FAO, 2017).

1.2.1. Importancia del nitrógeno, fósforo y potasio para las plantas

El nitrógeno es un elemento central por su importante rol en todos los organismos vivos y es el nutriente mineral mayormente requerido para el óptimo crecimiento de la planta (Novoa y Loomis, 1981). Es el componente principal de la atmósfera (80%), pero gran parte de los átomos de nitrógeno (aproximadamente el 78%) están unidos a un triple enlace covalente (N_2) que lo hace inaccesible para la mayoría de las formas vivientes, incluidas las plantas (Fields, 2004). El suelo es el medio por el cual los organismos vegetales adquieren nitrógeno en forma disponible, este entra al ecosistema terrestre por tres principales vías de fijación: industrial, biológica y atmosférica, siendo ese el orden descendente respecto a la cantidad de nitrógeno absorbido por las plantas en la actualidad (Kraiser et al., 2011).

En los organismos vegetales el N es un componente clave de proteínas y ácidos nucleicos, se requiere en concentraciones óptimas para un eficiente proceso fotosintético,

desarrollo correcto del área foliar, mayor tamaño de raíz y extender la profundidad de esta (Fang et al., 2018). Cada cultivo requiere cantidades específicas de N y estas tasas aumentan si se quiere incrementar el rendimiento (Ågren et al., 2012). Comúnmente las concentraciones inorgánicas de N lábil (NO_3^- , NH_4^+ y NO_2^-) presentes en las soluciones del suelo son menores a las necesarias y escasas para las tasas de productividad actual de cultivos agrícolas (Liu et al., 2014).

Otro mineral esencial es el P. Las plantas requieren de concentraciones específicas de P para llevar a cabo diferentes actividades metabólicas, al ser un componente esencial del adenosín trifosfato (ATP), fosfolípidos y ácidos nucleicos (Theodorou y Plaxton, 1993). Es también un elemento clave para la fotosíntesis, el metabolismo de carbohidratos, señalización y fijación de N_2 atmosférico (Vance et al., 2003).

Su presencia promedio en el suelo no supera el 1% y de esa cantidad solo el 0.1% está disponible para las plantas (Restrepo, 2017). Lo anterior debido a que la mayoría de las formas de P por su naturaleza química son rápidamente adsorbidas, precipitadas y convertidas a formas orgánicas que las vuelven inaccesibles para los organismos vegetales (Holford, 1997).

Las principales formas de P disponible (H_2PO_4 , H_3PO_4 y HPO_4) están presentes en tasas más altas cuando el pH del suelo se encuentra entre 5 y 6 (Schachtman et al., 1998), ya que, cuando el pH del suelo es ácido, el P forma complejos insolubles con Fe y aluminio (Al) y en suelos alcalinos o neutros, suele precipitarse en presencia de calcio (Ca) (Osborne y Rengel, 2002). El porcentaje de P que se encuentra en forma orgánica (20-80%) requiere ser mineralizado para su posterior absorción por las plantas (Richardson y Simpson, 2011).

La carencia de P limita el crecimiento de plantas a nivel mundial, principalmente aquellas de interés agrícola, comúnmente se agregan fertilizantes químicos (hechos a partir

de recursos no renovables), pero estos suelen rápidamente formar complejos insolubles, debido a ello, el aprovechamiento de P agregado rara vez supera el 30% (Sharma et al., 2013).

Finalmente, el K desempeña también un papel de importancia para la salud de la planta. El K es el catión más abundante en plantas y es necesario para la activación de enzimas, síntesis de proteínas, polarización de la membrana, resistencia a estrés (biótico y abiótico), osmorregulación y procesos fisiológicos como la fotosíntesis y crecimiento (Shin, 2014; Spalding et al., 1999; Wang et al., 2013).

El K es un elemento abundante en la corteza terrestre, pero no siempre se encuentra disponible para las plantas. Características como pH o salinidad suelen comprometer gravemente la disponibilidad del nutriente. Otro factor que disminuye la sencilla adquisición para los organismos vegetales es la textura del suelo. El K se encuentra mayormente en el suelo incorporado a la estructura cristalina de los minerales (90-98%), el porcentaje restante es el K fácilmente disponible para las plantas. Comúnmente se agregan fertilizantes sintéticos en caso de carencia del nutriente (Zörb et al., 2014).

1.3. Fertilizantes inorgánicos

Los fertilizantes o abonos son un factor importante para la producción agrícola, ya que el suelo comúnmente carece de la cantidad adecuada de nutrientes para cultivos de alto rendimiento, por lo tanto, su función es reponer los nutrientes eliminados por cultivos anteriores (Tilman et al., 2001). Se utilizan abonos orgánicos como el estiércol y los mismos residuos de plantas que a largo plazo aportan mayor contenido de MO en el suelo, o fertilizantes inorgánicos que aumentan significativamente la productividad (Geisseler y Scow, 2014).

En el año 2017 según la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO, por sus siglas en inglés) la demanda global de N, P y K en forma de

fertilizante sintético era poco más de 190 mil millones de toneladas, esperando un aumento de casi el 6% para el año 2020. La forma más común en la que estos nutrientes se agregan al suelo es en forma de amonio, ácido fosfórico y potasas.

La adición de N en forma de fertilizante inorgánico es la principal entrada del nutriente a las tierras de cultivo a nivel mundial, seguido de la fijación biológica. Países como África y América del Sur cuentan con un gran territorio de suelo destinado a plantación de soja y leguminosas, cultivos característicos por sus altas tasas de biofijación, por ello es la principal vía de entrada de N, aun así, estos países suelen tener deficiencias de N por una inadecuada gestión y problemas de carácter económico que resultan en un bajo rendimiento de los cultivos y dependencia a los fertilizantes sintéticos (Liu et al., 2010). La continua y excesiva adición de fertilizantes nitrogenados causa efectos adversos en suelo, agua y aire por ejemplo: la emisión y acumulación en la atmosfera de óxido nitroso (N_2O), conocido por dañar la capa de ozono y contribuir al efecto invernadero (Ravishankara, 2013), también las cantidades significativas de nitrato que no se retienen en su punto de aplicación (áreas agrícolas) comúnmente finalizan en los ecosistemas marinos y aguas subterráneas que afectan a la biodiversidad, salud humana y promueven la eutrofización de la mayoría de los estuarios (Schlesinger, 2009; Vitousek et al., 1997). Históricamente el costo del fertilizante N se ha limitado al rendimiento de los cultivos, ignorando el impacto social y la degradación ambiental generada, una buena gestión tomando en cuenta todas las variables es una alternativa para reducir los niveles excesivos de N en el medio ambiente (Gourevitch et al., 2018).

Por otro lado, la cantidad de P disponible en el suelo generalmente es mucho menor (hasta 30 veces) a la cantidad necesaria para cultivos de alto rendimiento (Gupta et al., 2014). Esto es porque el P invariablemente forma complejos químicos insolubles como se mencionó

anteriormente. Por ello, es común que en suelos agrícolas se agreguen fertilizantes fosfatados en cantidades mucho mayores a las necesarias (Goldstein, 1986). La liberación de N y P de campos agrícolas altamente fertilizados provoca la eutrofización de ecosistemas marinos, floración de algas tóxicas, muerte de peces y comúnmente repercute a la pesquería (Tilman, 1999).

La gran mayoría de los fertilizantes P son producidos a partir de recursos no renovables (Van Kauwenbergh, 2010), principalmente rocas sedimentarias o ígneas con contenidos naturales de elementos traza, por ejemplo arsénico (As), cadmio (Cd), Fe y plomo (Pb), por ello, al final de la producción del fertilizante suelen encontrarse elevados contenidos de estos oligoelementos que repercuten a la salud pública y ambiental (Latifi y Jalali, 2018). Sin embargo, algunos autores aseguran que los oligoelementos aplicados junto con el fertilizante contribuyen en una mínima parte (partes por billón) a las cantidades presentes después de su adición en el suelo y que la alta concentración de los elementos mencionados anteriormente se debe a que los fertilizantes fosfatados desencadenan conversiones de los elementos ya presentes en el suelo a formas disponibles, principalmente cuando se combinan fertilizantes NPK, la razón es, porque los fertilizantes nitrogenados promueven la acidificación del suelo mediante la liberación de ácidos al convertir metabólicamente la urea o sales de amonio en nitritos (Dharma-wardana, 2018).

Finalmente, el K es un elemento muy abundante en la corteza terrestre, aunque para motivos agrícolas es de importancia destacar que la cantidad de K total no tiene relación con el K disponible para las plantas en el suelo y el K fitodisponible no es siempre suficiente para la máxima productividad de los cultivos (Li et al., 2018). Lo anterior se debe a que la mayor parte del K está incorporado a minerales y solo menos del 2% del K está fundamentalmente

disponible, por lo tanto, se ha optado por añadir fertilizantes a partir de productos secundarios de la minería (Zörb et al., 2014).

Los fertilizantes de potasa son los terceros más utilizados a nivel mundial y en comparación con los fertilizantes que encabezan la lista (N y P) se le ha restado importancia al impacto ambiental que estos generan. Estudios aseguran que su producción resulta más perjudicial en comparación a los efectos de aplicación (Chen et al., 2018).

Si bien el rendimiento aumenta al aumentar la tasa de N, P y K en forma de fertilizantes sintéticos también la promoción de efectos secundarios que afectan al medio ambiente y la biota en general (Tayefeh et al., 2018).

1.4. Bacterias promotoras de crecimiento vegetal

Las bacterias son el tipo de microorganismo más abundante en la rizósfera (Glick, 1995). El vínculo existente entre planta-bacteria permite dividir a la biomasa microbiana en tres grandes grupos: benéficas, neutrales o perjudiciales (Zeng et al., 2018). Este apartado estará enfocado solamente en las bacterias benéficas, las antes mencionadas como PGPR.

La relación de las PGPR con cada planta es diferente debido a varios factores, uno de ellos es la localización y se enlista como sigue (i) bacterias simbióticas que viven dentro de las células de planta; (ii) bacterias endófitas que residen en el espacio intercelular del tejido de la planta; (iii) bacterias asociativas que colonizan el rededor de la raíz de modo superficial; y (iv) bacterias de vida libre que se localizan en el suelo rizosférico (de Souza et al., 2015) (**Fig. 1**). El siguiente factor es si la promoción es de carácter directo o indirecto. Al ser indirecta, las PGPR tienen la capacidad de prevenir o disminuir los efectos originados por uno o varios organismos fitopatógenos, esto puede ser por síntesis de enzimas, síntesis de antibióticos, competencia por nutrientes, entre otros mecanismos (Beneduzi et al., 2012). La

promoción directa por su parte, influye en el crecimiento y desarrollo de las plantas, facilitándole la adquisición de nutrientes, proporcionándole compuestos ya sintetizados, rizoremediación y control de estrés de la planta (Gopalakrishnan et al., 2015; Vejan et al., 2016). Algunos mecanismos de promoción directa son la fijación biológica de N_2 (Cheung et al., 2017; Fujita et al., 2014; Santi et al., 2013), síntesis de sideróforos para la adquisición de Fe (Ahmed y Holmström, 2014), solubilización de minerales P y K (Y. Li et al., 2017; Meena et al., 2015), síntesis y producción de fitohormonas (Egamberdieva et al., 2017) y regulación del etileno para el correcto desarrollo de la planta y respuesta al estrés abiótico por medio de la enzima 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) desaminasa (Nascimento et al., 2018).

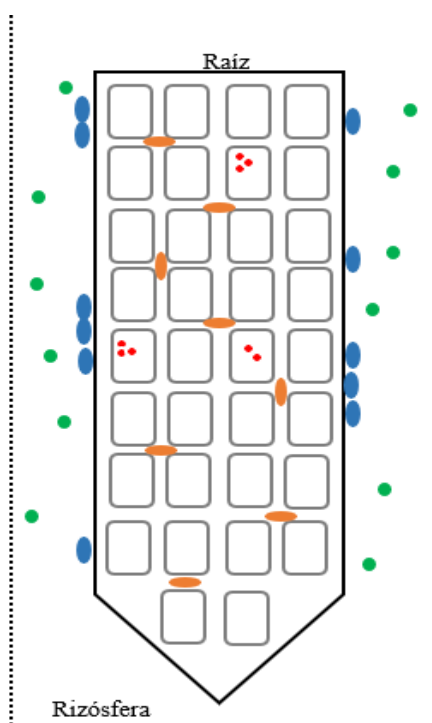


Fig. 1. Tipos de asociación entre raíz de la planta y PGPR. Las interacciones entre planta y PGPR se muestran por color. Endófitas (naranja); simbióticas (rojo); asociativas (azul); de vida libre (verde). Modificado de (de Souza et al., 2015).

Esta particularidad de los microorganismos de promover el crecimiento de la planta al facilitar la adquisición de nutrientes es utilizada para la creación de fertilizantes biológicos (Vessey, 2003), cuyas características serán mencionadas a continuación.

1.5. Biofertilizante bacteriano

La falta de estrategias que regulen la aplicación de fertilizantes químicos ha causado efectos adversos para el ecosistema en general, por consiguiente, en la actualidad se requieren métodos de fertilización benignos con el medio ambiente que a su vez no limiten la productividad de los cultivos. Una opción es la implementación de biofertilizantes (Bhardwaj et al., 2014).

La palabra biofertilizante comúnmente se utiliza erróneamente para referirse a composta, abonos verdes o de origen animal, fertilizantes suplementados con compuestos orgánicos, entre otros, siendo lo correcto utilizar el término cuando se desee indicar alguna sustancia de microorganismos vivos que promueva el crecimiento de la planta (Vessey, 2003).

Según la definición de Suyal et al., (2016), un biofertilizante “es la formulación de cepas activas o latentes de microorganismos principalmente bacterias ya sean solas o en combinación con componentes de algas u hongos que, directa o indirectamente estimulen la actividad microbiana y por lo tanto aumentan la movilización de nutrientes en el suelo.” Por lo tanto, es incorrecto referirse a una sustancia como biofertilizante cuando el principal mecanismo de acción del microorganismo es el control de plagas, en ese caso la definición correcta sería “biopesticida” (Chandler et al., 2011).

Las PGPR, como se mencionó anteriormente, son candidatas para el desarrollo de biofertilizantes y se utilizan en muchas regiones del mundo para este propósito (Ansari et al.,

2014; Cocking, 2003). La falta de conocimiento sobre los biofertilizantes es una limitante para su producción y aplicación a gran escala. Al formular un biofertilizante se debe de proporcionar un entorno que evite la disminución de la población microbiana durante su almacenamiento, transporte y aplicación en el suelo, diseñarlo con el fin de que su aplicación en los cultivos sea sencilla y formularlo a base de materiales rentables, fácilmente disponibles y respetuosos con el medio ambiente (Herrmann y Lesueur, 2013). Para su aplicación se requiere dar indicaciones adecuadas a los agricultores, modificar las prácticas de riego de modo que no perjudiquen la acción del biofertilizante y reducir la cantidad de fertilizantes químicos aplicados en el suelo, ya que las PGPR tienen mejores efectos al existir carencia de nutrientes (Malusá y Vassilev, 2014).

En México por ejemplo no existe en las Normas la palabra biofertilizante. La **NOM-037-FITO-1995** menciona el término “agricultura orgánica” y su definición indica que es la agricultura orientada a la producción de alimentos sin el uso de insumos de síntesis químico industrial. También menciona que organismos biológicos y micorrizas se pueden utilizar como fertilizantes de suelo y vegetales. La **NOM-077-FITO-2000** describe que un inoculante es un insumo de nutrición vegetal elaborado a base de microorganismos que, al aplicarse al suelo o semillas, favorece el aprovechamiento de los nutrientes en asociación con la planta o su rizósfera y **La NOM-182-SSA1-2010** dicta que para el etiquetado de los inoculantes es necesario señalar qué microorganismo es, género, especie y contenido.

Se han desarrollado y aplicado formulaciones de biofertilizantes a base de PGPR que en el ambiente controlado de un laboratorio favorecen el crecimiento vegetal de diferentes cultivos, pero que al escalarlas a campo las condiciones ambientales limitan su crecimiento y no causan efectos positivos significativos (Singh et al., 2011). Por ello el uso de microorganismos extremófilos adaptados a las condiciones ambientales de la zona donde se

deseen implementar son una alternativa prometedora para el desarrollo de nuevos biofertilizantes (Orhan, 2016; Verma et al., 2017).

1.6. Microorganismos extremófilos de la Laguna Salada Baja California

La Laguna Salada es un cuenca ubicada al noreste de la península de Baja California, alineada a la Sierra Juárez al oeste y a la Sierra Cucapá y el Mayor al este y suroeste respectivamente (Savage et al., 1994). Las características del suelo proveen un ambiente extremo para los microorganismos que ahí habitan, comenzando con su bajo contenido de materia orgánica (MO) menor a 0.20% (López, 2015); una conductividad eléctrica (CE) de hasta 185 dS m⁻¹ dentro de la cuenca y en la zona rizosférica llega a ser de hasta 43.5 msm⁻¹ (López, 2015; Saldaña, 2016). Estas características clasifican su suelo como salino (Krulwich et al., 2011). El pH del suelo de la cuenca llega a ser de hasta 9.4 y en la rizósfera supera valores de 9.7 (López, 2015; Saldaña, 2016), denotándolo como un suelo alcalino (Krulwich et al., 2011). Considerando lo ya descrito, los microorganismos nativos de la laguna son halófilos y alcalófilos capaces de vivir bajo una limitada cantidad de nutrientes.

Por otro lado, al ser una cuenca carente de vegetación, se podría esperar que la radiación ultravioleta (UV) proveniente del sol sea otra limitante para la vida microbiana. No se encontraron datos contundentes sobre la cantidad de radiación UV radiada sobre el lugar, pero estudios aseguran que microorganismos nativos de zonas con altos flujos de radiación UV del sol, comúnmente exhiben una alta resistencia a radiación UVC en condiciones de laboratorio (Singh y Gabani, 2011). Aislados bacterianos de la Laguna Salada toleran hasta 24 h continuas de radiación UVC (254 nm) de una lámpara germicida (OSRAM G30 T8 30W) en condiciones de laboratorio. Tomando en cuenta las consideraciones antes mencionadas, los aislados bacterianos de la Laguna Salada al adaptarse simultáneamente a

múltiples tenciones se les considera poliextremófilos según la definición de Mesbah y Wiegel (2012).

1.7. Características y principales cultivos del valle de Mexicali B.C.

El municipio de Mexicali es la capital del estado de Baja California, México. Su superficie aproximada es de 13 700 km², las coordenadas geográficas corresponden 32°43' al norte; 30°52' sur y 114° 42', 115°56' al este y oeste respectivamente. El valle de Mexicali encontrado en el municipio de Mexicali es una planicie aluvial formada por la acumulación durante miles de años de material del río Colorado. Los sedimentos acarreados por el río explican la fertilidad del suelo de la región (Grijalva, 2014; Ortega et al., 2013), entre los cationes más frecuentes resaltan el Ca, K, Na y Mg (González-Acevedo et al., 2018). El suelo de la región en su mayor parte es clasificado como Xerosol y Yermosol, es decir que son suelos áridos que contienen MO y debajo de ellos puede haber acumulación de minerales arcillosos y/o sales como carbonatos o sulfatos (Gobierno de Baja California). Otra característica de la zona es su suelo con elevado contenido de sales. Estudios de (Judkins y Myint, 2012) reportan que el 68.3% del suelo del valle muestra niveles ligeramente elevados de salinidad (1.0-1.4 ms cm⁻¹).

A finales del siglo XIX, Mexicali era una zona prácticamente sin habitantes a excepción de algunos asentamientos humanos y la comunidad Cucapah. El desarrollo de la ciudad inició con el aprovechamiento del agua del río Colorado cuando se instalaron empresas dedicadas a la irrigación y se construyeron canales de riego dedicados a la agricultura en el valle de Mexicali (Gobierno Baja California, 2015).

Las características climáticas de la región son comunes de zonas semi áridas, con veranos extremadamente calurosos e inviernos fríos (Ramírez et al., 2015). Los cielos la

mayor parte del año permanecen despejados y se demostró que recibe más luz diurna que Yuma; ciudad a la que se le adjudicó el récord Guinness por ser el lugar más soleado del mundo (Velázquez et al., 2015).

La frontera agrícola del valle de Mexicali (**Fig. 2**) fluctúa entre 194, 337 y 199, 291 ha en los ciclos otoño-invierno y primavera-verano (SAGARPA, 2017). En temporada de otoño invierno el principal cultivo es el trigo, mientras que la temporada de primavera verano está encabezada por el algodón como se puede observar en el **Cuadro 1**.

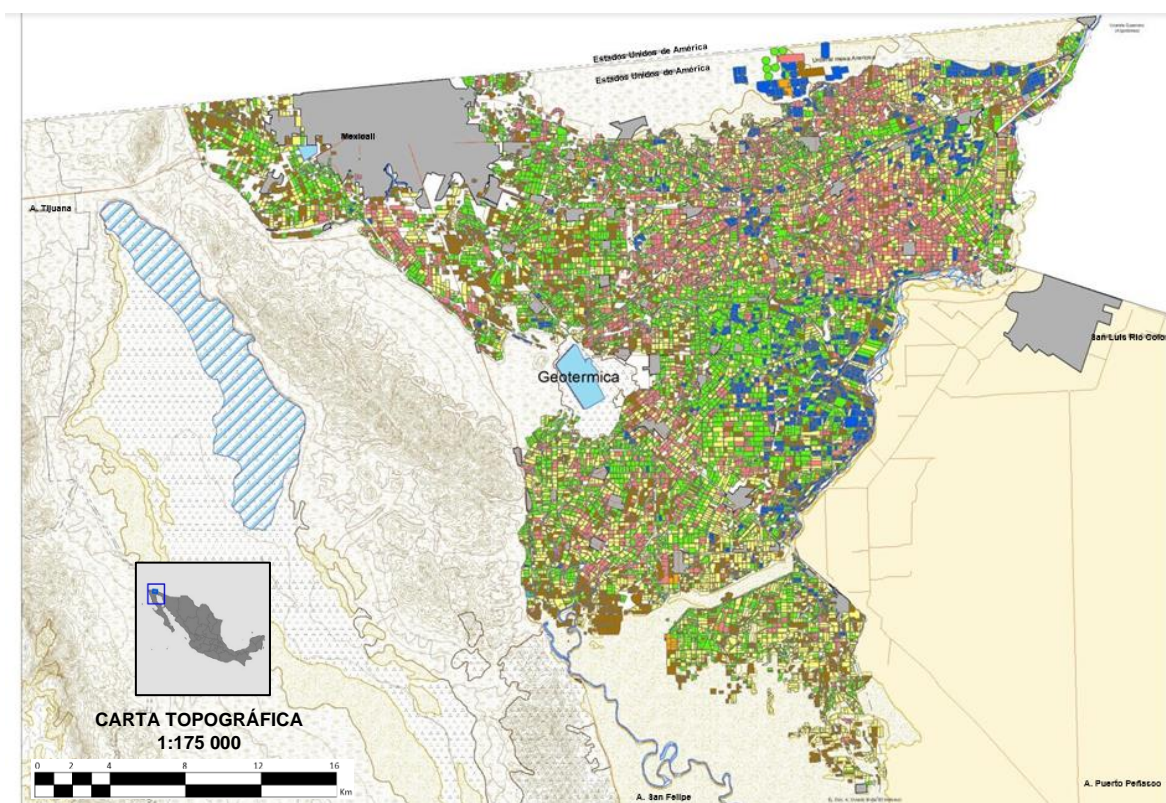


Fig. 2. Mapa temático por grupo de cultivos, cultivos cíclicos y perennes, 2018. Cereal (amarillo), forraje (verde), frutal (naranja), hortaliza (azul añil), industrial (rosa), ornamental (azul celeste) y suelo en descanso (café). Modificado de SEDAGRO.

En el año 2018 según la Secretaria de Desarrollo Agropecuario (SEDAGRO) se sembraron 156 769 ha, de las cuales el 35% corresponden a trigo; 20% algodón; 22% alfalfa y el 23% restante corresponde otros en menor cantidad.

Cuadro 1. Cédula de los principales cultivos 2017-2018 (SEDAGRO)

Ciclo 2017-2018	Cultivo	Hectáreas Sembradas
Otoño-invierno	Trigo	42,282
	Avena forrajera	6,078
	Cebollín	3,468
	Rye-grass	2,424
Perennes	Alfalfa	30,179
	Espárragos	2,772
	Bermuda	1,945
	Palma datilera	1,356
Primavera-verano	Algodón	31,753
	Sudan forrajero (temprano)	5,540
	Cebollín (P.V.)	1349
	Sorgo grano (temprano)	634

La superficie sembrada y cosechada no es el principal indicador del valor de producción, como se puede observar en el **Cuadro 2**, donde se enlistan los cultivos con más valor monetario en el mercado para el año 2017.

Cuadro 2. Valor de la producción del distrito del río Colorado (SAGARPA, 2017).

Cultivo	Superficie cosechada (ha)	Producción obtenida (ton)	Valor de la producción (\$)
Cebolla	5,430.00	88,975.12	1,642,987,280.87
Algodón hueso	25,769.00	145,175.84	1,518,314,079.84
Trigo grano	67,774.00	391,224.02	1,463,140,189.57
Alfalfa archicalada	28,558.00	474,792.66	1,245,567,468.81
Espárrago	2,247.00	23,333.24	1,117,125,440.42
Lechuga	1,205.00	23,103.56	243,974,111.39

1.8. Fertilizantes en el valle de Mexicali

A lo largo de los años el valle de Mexicali ha pasado por varias etapas respecto a la aplicación de agroquímicos (fertilizantes, herbicidas, insecticidas y fungicidas). Desde principios del siglo XX el algodón resultaba ser el cultivo por excelencia; el control biológico

mantenía las plagas a niveles controlables y para fertilizar el suelo se utilizaban solamente abonos naturales. Fue hasta mediados de la década de los cuarenta cuando se comenzaron a utilizar compuestos inorgánicos para contrarrestar las plagas. A mediados de la década de los cuarenta y durante veinte años, los plaguicidas sintéticos modernos fueron el principal método de control de plagas, utilizando compuestos que ocasionaron la destrucción de gran parte de la fauna benéfica de la región. El algodón fue hasta 1965 el principal cultivo del valle de Mexicali, ya que, a partir de ese año la competencia con fibras sintéticas, el alto contenido de sales provenientes del agua del río Colorado, la persistencia y resistencia de las plagas resultaron en la crisis del cultivo de algodón. A partir del brete del algodón, se introdujeron nuevos y variados cultivos y para los años setenta se sembraban hortalizas para su exportación. Desde los años ochenta y hasta la actualidad el alto rendimiento de los cultivos de la zona demanda una extraordinaria cantidad de agroquímicos para contrarrestar las plagas y fertilizar los suelos (Judkins y Myint, 2012; Mena et al., 2005).

Actualmente la fertilización de los suelos varía en función del cultivo (SAGARPA, 2018, **Cuadro 3**). La realidad es que existe una sobre fertilización del suelo que no está debidamente documentada (Fuente personal), pero generalmente para una fertilización convencional los fertilizantes que los agricultores utilizan principalmente se enlistan a continuación:

- Urea 46-00-00
- Fosfato Monoamónico 11-52-00
- Amoniaco (NH₃)
- Mejorador de suelo (Ácido sulfúrico)
- Tripe 17

- Sulfato de Amonio

Los tratamientos de fertilizantes se expresan generalmente con tres cifras separadas por guiones. La primera cifra se refiere al N, seguido del P y finalmente K. Un ejemplo es el tratamiento 120-40-00 en otras palabras, (kg h⁻¹) 120 N; 40 P y 0 K.

La forma de aplicación del fertilizante varía, ya que se debe asegurar que la aplicación promueva la absorción eficiente por el cultivo y se evite el daño por “efecto salino” a las semillas o a la plántula. Existen tres formas básicas para aplicar fertilizantes: directamente al suelo, en el agua de riego y en aspersiones sobre el follaje (SAGARPA, 2017).

Cuadro 3. Resumen de recomendaciones para la fertilización de diferentes cultivos en el valle de Mexicali. Agenda técnica agrícola de la SAGARPA (http://www.inifap.gob.mx/Documents/inicio/Agendas_Tec/2017/Agenda%20T%C3%A9cnica%20Baja%20California%20OK.pdf).

Cultivo	Indicaciones de fertilización
Alfalfa	<p>Es recomendable inocular la semilla con bacterias del género <i>Rhizobium</i> específicas para alfalfa las cuales están en el mercado bajo los nombres de pagador, nitragin y nitrobacter, entre otros.</p> <p>Se recomienda adicionar 40 kg h⁻¹ de N en pre-siembra.</p> <p>Se requiere aplicar 100 kg h⁻¹ de P al año, dividido en dos partes iguales, una en primavera y otra en otoño.</p> <p>Es recomendable la incorporación de estiércol al suelo en pre-siembra.</p>
Algodón	<p>Los nutrientes que requieren ser adicionados son regularmente N, P y ocasionalmente K, S, He, Mg y Zn.</p> <p>Se requiere de 22 a 29 kg de N para producir una paca de fibra de 227 kilogramos.</p> <p>Se recomienda fraccionar la aplicación del Nitrógeno en tres partes iguales; al inicio de formación de cuadros, etapa máxima de cuadro y floración</p> <p>Si hay menos de 21 kg ha⁻¹ de P asimilable, por el método de Olsen, se deberán aplicar 9 kg de Fósforo por cada kg debajo del punto de referencia, ya que el cultivo de algodónero requiere 10 kilogramos de Fósforo por paca cosechada.</p>
Hortalizas	<p>Las hortalizas requieren fertilización constante, pero no en exceso para así obtener el mayor potencial de rendimiento.</p> <p>Los elementos de mayor necesidad, en relación con la cantidad, son el N, P y K.</p> <p>La recomendación general para cultivo a campo abierto es realizar la fertilización de fondo, y posteriormente, aplicaciones equilibradas de nutrimentos en forma sólida o por fertirriego.</p>

	El fertilizante no debe permanecer en contacto con la semilla o la base de las plantas porque puede provocar daños irreversibles al cultivo.
Trigo	Se requieren en promedio 35 kg ha ⁻¹ de N para producir 1 ton de trigo. Se recomienda aplicar todo el P antes de la siembra utilizando 10 kg ha ⁻¹ por tonelada de rendimiento esperado. Se recomienda para P: fosfato monoamónico (11-52-00-2), fosfato diamónico (18-46-00), ácido fosfórico (00-52-00) y ácido súper fosfórico (00-60-00).

1.9. Trigo (*Triticum aestivum*)

Según el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT, por sus siglas en inglés) el trigo y maíz, son críticos para la seguridad alimentaria ya que representan 2/3 de la ingesta energética mundial. El trigo en México es considerado un alimento básico por su contenido de carbohidratos, proteínas y fibra. El contenido de proteína en el grano varía respecto a factores genéticos y ambientales de la planta (Shewry y Hey, 2015).

Conocer y comprender el crecimiento y desarrollo de las plantas, en este caso del trigo es esencial para su buena gestión. El impacto de factores bióticos y abióticos puede ser predicho si se compara la planta en situación de estrés con la etapa de crecimiento en la que se encuentra. El momento de aplicación de riego, adición de agroquímicos o suplementos, varía también respecto a la etapa de crecimiento en la que se encuentre el cultivo ya que la adición de un fertilizante, por ejemplo, podría tener una respuesta positiva o negativa tomando en cuenta en qué etapa se encuentre el cultivo (Ata-Ul-Karim et al., 2019).

Las diez principales etapas de crecimiento por las que la planta de trigo progresa a lo largo de su desarrollo se enlistan a continuación (Acevedo et al., 2002):

1. Germinación
2. Emergencia

3. Macollamiento
4. Iniciación floral o crestas dobles
5. Espillaje terminal
6. Primer nodo o comienzo de alargamiento de tallo
7. Arranque
8. Aparición de espigas
9. Antesis
10. Madurez

A partir de estas etapas, se han desarrollado diferentes sistemas más específicos para enumerar las etapas de crecimiento del trigo. Las escalas de Feekes, Zadoks y Haun son las más utilizadas y se utilizan para diferentes objetivos. La escala de Feekes, suele utilizarse para la identificación del momento óptimo de la aplicación de tratamientos químicos. La escala de Zadoks da una descripción más completa y por lo tanto se utiliza frecuentemente como una manera de recabar abundante información sobre el crecimiento del trigo y finalmente la escala de Haun que es la más sensitiva a fluctuaciones diarias en el desarrollo de la planta desde emergencia a floración (Ellis y McCalla, 1973; McMaster et al., 2003; Onda et al., 2015). Para propósitos de explicar las etapas, se realizará una descripción del desarrollo del trigo con base en la escala de Feekes (**Fig. 3**).

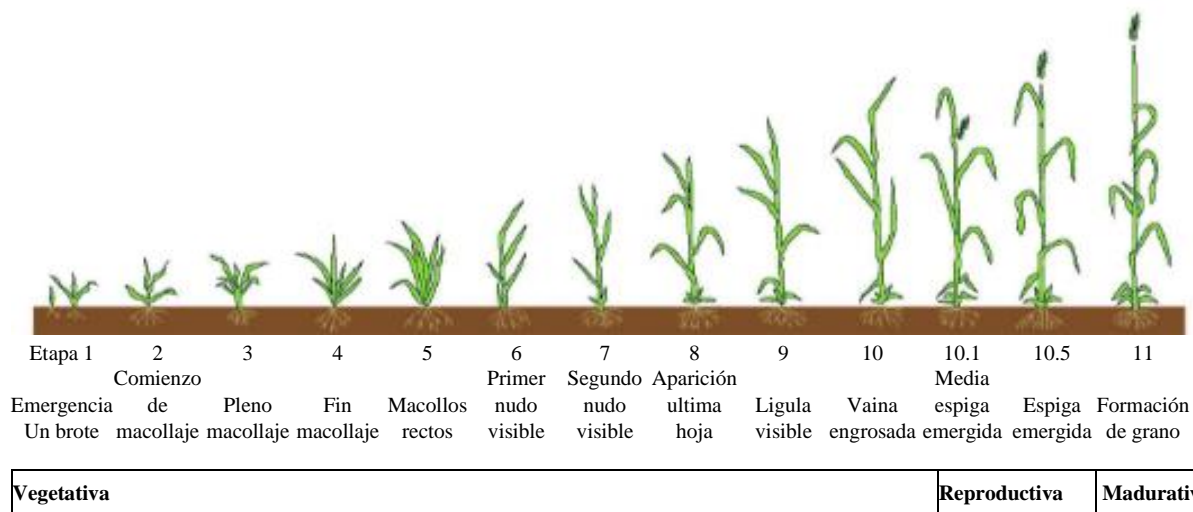


Fig. 3. Etapas de crecimiento de trigo según la escala de Feekes. Modificado de (<https://www.mississippi-crops.com/2015/02/12/identifying-wheat-growth-stages-using-the-feekes-scale/>).

El trigo es capaz de adaptarse a diferentes condiciones de humedad, su temperatura óptima de crecimiento es de 25°C y su tolerancia a cambios de temperatura abruptos varían respecto a la etapa de crecimiento en que se encuentre la planta, siendo la fase vegetativa más sensible a los efectos negativos provocados por esta (Wollenweber et al., 2003).

La FAO publicó un documento que describe a detalle por etapa de crecimiento la duración “normal” de las etapas, el contenido mínimo de agua, temperatura óptima, duración particular de fotoperiodo, concentraciones de CO₂, N y diferentes tipos de estrés a los que puede estar sometida la planta (sequia, salinidad, falta de nutrientes, etc.) y como se traduce esto en la apariencia y características físicas y visibles de la planta (<http://www.fao.org/3/y4011e06.htm>).

1.10. Lechuga (*Lactuca sativa*)

Según la FAO en el año 2018 la producción global de *Lactuca Sativa* sobrepasó 27 M toneladas, su territorio de siembra fue mayor a 1M ha. Asia es el principal productor de lechuga, seguido de los Estados Unidos de América; México se sitúa en noveno lugar con

una producción en toneladas de 486,440. Desde el 2008 hasta el 2018 el territorio de siembra y densidad de producción de la lechuga en México creció 35% y 41%, respectivamente (<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>). En el 2017 el Servicio de información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), informó que Baja California fue el quinto productor de lechuga en todo México y en el valle de Mexicali la lechuga es la segunda hortaliza con mayor superficie de siembra después del cebollín. Mexicali es el principal productor de lechuga de Baja California con el 99% de producción del estado (OEIDRUS, 2015).

La vasta diversidad de variedades de lechuga permite que esta sea producida y consumida durante todo el año. Como hortaliza su producción y valor económico a nivel mundial se encuentra en segundo lugar después de la papa (Kim et al., 2020). La Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER) la describe como una hortaliza muy fresca, ya que contiene un alto porcentaje de agua (90-95) y también la considera benéfica para la salud (SADER, 2016) ya que su riqueza en antioxidantes como vitamina C, E y carotenoides promueven el metabolismo de lípidos, por lo tanto, se espera que un consumo regular en humanos del vegetal podría evitar la incidencia de enfermedades crónicas (Nicolle et al., 2004).

La lechuga tiene una temperatura óptima de crecimiento de entre 15-20°C, no es extremadamente sensible a variaciones de temperatura, pero su efectividad y calidad se ven afectadas a temperaturas altas (>30°C) y solo puede soportar unas cuantas heladas ligeras (FAO, 2002). El efecto de las altas temperaturas y sus consecuencias: disminución de la calidad nutricional, baja productividad, deformación, probable sabor amargo son consecuencias de la aceleración del “atornillado” de la planta, es decir la producción prematura de sus flores y semillas que resultan en limitar el periodo de crecimiento de la hoja

de la lechuga (Fukuda et al., 2011; Hao et al., 2018). Las diferentes variedades de lechuga son relativamente sensibles a la salinidad ($1-1.4 \text{ dS m}^{-1}$) y su tiempo de cosecha varía entre 60 y 90 días (Carranza et al., 2009).

Según la FAO, los dos principales tipos de lechuga cultivadas en el mundo son:

- Romana: de hojas largas, rectas y sin cogollo.
- Acogollada: de hojas rizadas que forman una bola. Siendo las de tipo Iceberg, Great Lakes, Batavia, las más cultivadas en Estados Unidos de América.

La SIAP en el 2018 informó que en México los cuatro principales tipos de lechuga fueron: Baby leaf, escarola, orejona, romana.

Características como temperatura, periodo de luz/oscuridad, riego, espaciamento entre las plantas, fertilización oportuna (etapa de crecimiento **Fig. 4** o días post-siembra), etc., deben de ser regulados para un crecimiento óptimo (SADER, 1991).

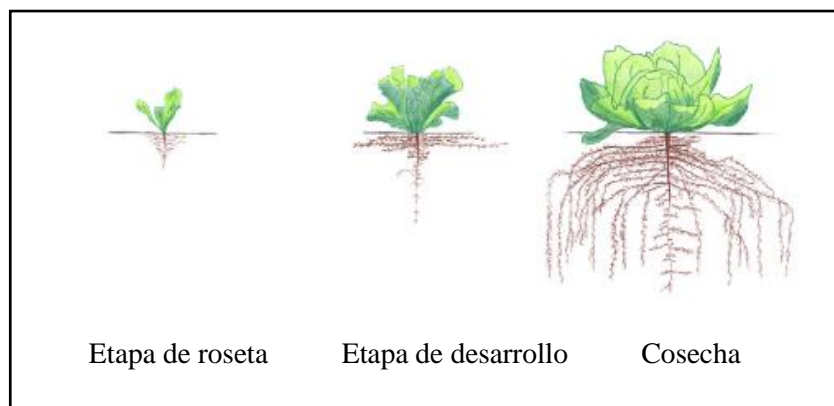


Fig. 4. Etapas de crecimiento generales de la lechuga. Tomada de: (<https://www.cdffa.ca.gov/is/fldrs/frep/FertilizationGuidelines/Lettuce.html>).

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

La agricultura en Mexicali es uno de los principales sectores de relevancia económica para el municipio. El valle agrícola de Mexicali tiene aproximadamente 200 000 hectáreas de suelo fértil destinado a la agricultura. El suelo de la zona es característico de zonas áridas y semiáridas es decir que cuenta con un contenido bajo en materia orgánica (M.O), también es salino y levemente alcalino. Ya que la zona es un área agrícola, para obtener el rendimiento esperado de todos los cultivos se ha optado por la adición constante de fertilizantes sintéticos (Gobierno del Estado de Baja California, 2014). A lo largo de los años el suelo ha sido fertilizado para satisfacer las necesidades y hasta la fecha no se ha implementado algún tipo de restricción o un plan de gestión amigable con el medio ambiente (Fuente personal).

Aislados bacterianos de la zona árida y rizosférica de la Laguna Salada localizada en Mexicali, Baja California, área desértica, con suelo alcalino y salino, mostraron extrema tolerancia a radiación ultravioleta, tolerancia a metales pesados y también características como solubilización de fosfato tricálcico y fijación de N_2 atmosférico. Estos microorganismos extremófilos por sus características antes mencionadas podrían promover el crecimiento vegetal de cultivos de interés agrícola (trigo y lechuga). La implementación de inóculos bacterianos a base de bacterias promotoras de crecimiento vegetal para reducir o reemplazar los fertilizantes sintéticos, es una alternativa económica y ecológicamente prometedora.

3. ANTECEDENTES

Microrganismos aislados del suelo rizosférico de la Laguna Salada, son capaces de producir ácido indolacético y sobrevivir a altas concentraciones de sales (halotolerantes) según pruebas realizadas en la investigación “*Bacterias Asociadas a plantas de La Laguna La Salada Baja California y Posibles Aplicaciones en la Industria*” (Saldaña, 2016). Igualmente, de la Laguna Salada, se aislaron bacterias que mostraron halotolerancia, termoresistencia y producción de auxinas según el trabajo titulado “*Bacterias extremófilas y su potencial en la producción de auxinas y metabolitos con actividad tensoactiva*” (López, 2015). Finalmente se realizaron pruebas en conjunto para los aislados de ambas zonas “*Bacterias de un ambiente extremo, fijadoras de nitrógeno y solubilizadoras de fosfato de calcio tolerantes a elementos potencialmente tóxicos y radiación U.V.*” (Reséndiz, 2018), 8 de ellos fijan N_2 y solubilizan fosfato tricálcico. Dichas características, son biotecnológicamente prometedoras para desarrollar biofertilizantes a base de los aislados bacterianos con las características más prometedoras.

4. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

4.1. Objetivo general

Comparar el efecto de la aplicación individual y combinada de dos diferentes inóculos bacterianos y un fertilizante sintético en *Triticum aestivum* y *Lactuca sativa* en condiciones de invernadero.

4.2. Objetivos específicos

- Seleccionar dos aislados microbianos de ambientes extremos que posean características de promoción de crecimiento vegetal.
- Determinar la dosis de inoculación microbiana para promover el crecimiento vegetal; las tasas de fertilización y desarrollar un diseño experimental.
- Comparar características de planta y suelo de los diferentes tratamientos después de la cosecha.

5. HIPÓTESIS

Los microorganismos estudiados y aislados de un ambiente extremo promueven el crecimiento vegetal de *Triticum aestivum* y *Lactuca sativa*.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Selección de aislados bacterianos

Se consideraron cinco de los aislados bacterianos rizosféricos 5.1.b.1, p.8.bac.2, 2.2.b.4, 4.2.b.1 y 6.b.4 (XXX) (Saldaña, 2016) y 3 de los aislados de suelo no rizosférico E (*Pantoea agglomerans*), M (*Streptomyces sp.*), N (*Streptomyces sp.*) (López, 2015) por su capacidad de fijar N₂ atmosférico y solubilizar fosfato de calcio (Reséndiz, 2018).

6.2. Desarrollo de curva de McFarland

Para cuantificar la cantidad de UFC mL⁻¹, para todos los ensayos se desarrolló la curva de McFarland. Se prepararon soluciones de BaCl₂ y H₂SO₄ al 1% para realizar diez mezclas de BaSO₄ a concentraciones ya establecidas. La densidad óptica (DO) de los estándares de McFarland semeja diferentes concentraciones de una suspensión bacteriana. Todas las lecturas de absorbancia se realizaron a una longitud de onda (λ) de 530 nm en un espectrofotómetro SmartSpec Plus Spectrophotometer de BioRad.

6.3. Prueba de termo-sensibilidad

En condiciones asépticas se inoculó con el asa bacteriológica una colonia de cada aislado rizosférico seleccionado, en 7 mL de caldo Reasoner's 2A (R2A) a pH 8.5 suplementado con NaCl 12% p/p (R2Am). Se incubaron a 35°C en agitación oscilatoria por 48 h. Posterior a la incubación, en condiciones asépticas se ajustó la DO del inóculo (diluyendo la concentración del cultivo con agua destilada estéril) a valor de 1.0 en espectrofotómetro. Se sembraron por extensión con varilla de vidrio 100 μ L de cultivo bacteriano en placas de agar R2Am. Los aislados se incubaron a 45°C durante 48 h. El

proceso se repitió para aquellos aislados que mostraron tolerancia y se aumentó la temperatura de incubación a 50 y 55°C.

6.4. Determinación cuantitativa de producción de ácido indolacético

La cuantificación de la producción de ácido indolacético (AIA) se desarrolló mediante una curva de calibración por sensibilidad colorimétrica a diferentes concentraciones de AIA (marca Sigma-Aldrich) (0.5, 1, 1.5, 2.0, 4.0, 6.0, 10.0 y 15.0 mg ml⁻¹) preparadas en tubos de ensayo de 13 x 100 mm. Se adicionó 1 mL de reactivo Salkowski (12 g L⁻¹ FeCl₃ en 7.9 M H₂SO₄) a los tubos y después de reposar a temperatura ambiente en la oscuridad por 30 minutos se determinó la DO en el espectrofotómetro (SmartSpec Plus Spectrophotometer de BioRad) a $\lambda=530$ nm.

Una colonia aislada se inoculó en 7 mL de Tryptic Soy Broth (TSB), se incubaron a 35°C durante 18 h en agitación oscilatoria de 120 rpm. Posterior al periodo de incubación se centrifugaron a 4000 rpm durante 20 min y se decantó el sobrenadante para agregar el equivalente de agua destilada estéril, esta acción se realizó por triplicado, para evitar que el medio de cultivo interviniera en los resultados del ensayo. Se ajustó la DO a 1.0 en el espectrofotómetro, equivalente a 9×10^8 UFC ml⁻¹.

Del cultivo ajustado se inocularon 150 μ L en caldo de cultivo King B suplementado con 2.5 mM de L-triptófano (Trp) (0.5 g L⁻¹) que consiste en: peptona proteasa, 20 g L⁻¹; K₂HPO₄, 1.15 g L⁻¹; MgSO₄·7H₂O, 1.15 g L⁻¹ y glicerol al 1.5% (vol/vol) con pH ajustado a 7.3 \pm 2. Posteriormente se incubaron a 35°C durante 72h en agitación oscilatoria de 200 rpm.

Al cabo de la incubación, se centrifugaron 4 mL de cada cultivo a 10,000 rpm durante 10 min. Se pasó 1 mL del sobrenadante a tubos estériles nuevos y se adicionó 1 mL

del reactivo Salkowski. Finalmente se dejaron reposar a temperatura ambiente en la oscuridad durante 30 minutos.

La presencia de AIA se observó cualitativamente al tornarse la reacción a color rosado-rojizo. La cuantificación se realizó a partir de la curva de calibración de AIA con lecturas en el espectrofotómetro (SmartSpec Plus Spectrophotometer de BioRad) a una $\lambda=530$ nm utilizando como blanco el medio abiótico negativo (Glickmann y Dessaux, 1995). Las pruebas se realizaron por duplicado.

6.5. Muestreo de suelo agrícola

Las muestras de suelo fueron colectadas de una parcela perteneciente al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) ubicada en valle de Mexicali dentro del ejido Choropo.

Las muestras de suelo utilizadas para la siembra de trigo en este experimento se tomaron en el mes de agosto, después de la siembra y cosecha de cebada. Las muestras se recolectaron de cada extremo de la parcela y se depositaron dentro de cuberas, con capacidad de 20 L, para su transporte al invernadero.

Para el experimento de lechuga, las muestras de suelo fueron tomadas en septiembre, después de la siembra y cosecha de trigo, para ello se llenaron 10 cubetas en varios puntos de la parcela. En ambos casos el suelo se homogeneizó para sus posteriores análisis y pruebas.

6.6. Análisis fisicoquímicos de suelo

El suelo previo y posterior a la experimentación se secó a la sombra y tamizó para obtener diámetros de partículas <2 mm y proseguir con la caracterización. Los análisis para

todas las muestras de suelo fueron pH, conductividad eléctrica (CE), materia orgánica (MO), cantidad de N (N-NO_3^-) y P (P-PO_4^{3-}). Los análisis de textura, capacidad de campo, aniones y cationes se realizaron solamente para el suelo pre-siembra. Cada medición se realizó por triplicado.

6.6.1. pH

Se pesaron 20 g de suelo y se colocaron en vasos de precipitado de 100 ml. Enseguida se añadieron 2 volúmenes de agua destilada (40 g). La mezcla se agitó durante 0.5 h para asegurar que el suelo estuviera completamente húmedo y se dejó reposar por 0.5 h. Posteriormente se agitó durante 0.5 h (Sánchez, 2015). Finalmente se realizó la medición con un medidor de pH (Hanna Instruments PH210).

6.6.2. Conductividad eléctrica

Con el suelo previamente tratado como se indica en el apartado anterior y el equipo antes calibrado (HACH HQ430d flexi) se midió la CE del suelo a 25°C.

6.6.3. Contenido de materia orgánica por incineración

Debido al tipo de suelo característico de la zona descrito en el apartado 1.7 se utilizó el método desarrollado por (Dean, 1974) que se empleó como sigue:

- Se pesaron 3 g de suelo en crisoles de 50 mL.
- El suelo se secó en horno a 105°C durante 12 h.
- Posterior al tiempo de secado se colocaron en un desecador durante 30 min para ponerlos a temperatura ambiente y posteriormente pesarlos.

- El suelo se incineró en mufla a 450°C durante 4 h.
- Se colocaron en el desecador hasta temperatura ambiente y posteriormente se pesaron.

El contenido de MO se calculó mediante la ecuación [1].

$$\%MO = \frac{\text{Peso } 105^{\circ}C - \text{peso } 450^{\circ}C}{\text{Peso } 105^{\circ}C} \times 100 \dots [1]$$

6.6.4. Determinación de fósforo disponible

La **NOM-021-RECNAT-2000** propone para determinar la cantidad de fósforo disponible en suelos alcalinos o calcáreos el método desarrollado por (Olsen et al., 1954). Se pesaron 2.5 g de suelo tamizado y se colocaron en matraces de 125 mL, posteriormente se adicionaron 50 mL NaHCO₃ 0.5 M (pH=8.5) para la extracción. La mezcla se agitó durante 30 min y los extractos se filtraron a través de papel filtro Whatman No. 42. Se tomaron alícuotas de 10 mL del filtrado y se colocaron en un matraz de 50 mL. Se agregó un volumen de 5 mL de la solución reductora (Anexo 8.1) para posteriormente agitar y aforar. La lectura en el espectrofotómetro se realizó a los 45 min a una longitud de onda de 882 nm.

La curva de calibración se preparó con patrones de 0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 10 mg L⁻¹ de P como KH₂PO₄. Se tomaron alícuotas de 0, 1, 2, 4, 6 y 10 mL de una solución de 5 mg L⁻¹ de P en matraces aforados de 50 mL. Posteriormente se agregó un volumen de solución extractante igual a la alícuota empleada. Se llevó a un volumen de 40 mL con agua destilada y se adicionaron 5 mL de solución reductora para finalmente aforar a 50 mL. Se agitó y después de 45 min se realizaron las lecturas correspondientes en espectrofotómetro a 882 nm. Los cálculos se realizan mediante la ecuación 2.

$$P \text{ (mg kg}^{-1} \text{ de suelo)} = CC \times \frac{V_i}{p} \times \frac{V_f}{a} \dots [2]$$

Donde:

CC= mg L^{-1} de P en la solución.

V_i = volumen de la solución extractora adicionada

p = peso de la muestra de suelo seco al aire

V_f = volumen final de la solución colorimétrica a leer

a = alícuota de la muestra empleada para la cuantificación

6.6.5. Determinación de contenido de nitrógeno

Para conocer el índice de disponibilidad de nitrógeno en el suelo se realizó el método macro-Kjeldahl descrito por (Bremner, 1965). La **NOM-021-SEMARNAT-2000** lo sugiere como un procedimiento para generar recomendaciones de fertilización.

Se pesaron 10 g de suelo tamizado ($<2\text{mm}$) y se le añadieron 20 mL de agua destilada estéril, se agitó y se dejó la mezcla en reposo durante 30 min dentro del matraz Kjeldahl. Posteriormente se le añadieron 11.1 g de una mezcla catalizadora (1 kg, K_2SO_4 ; 100 g; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y 10 g de selenio metálico). Enseguida se adicionaron 30 mL de H_2SO_4 y se calentaron de forma lenta en el equipo Kjeldahl hasta que cesó el desprendimiento de vapores. En ese momento se aumentó la temperatura a 390°C hasta que la muestra se aclaró (color blancuzco) y se dejó ebullición lentamente durante 1 h. Después del periodo de ebullición se dejó reposar hasta que bajó su temperatura. Se lavó el residuo sólido cuatro veces con 50 mL de agua destilada y se vació el sobrenadante en un nuevo matraz de destilación. Se colocaron perlas de ebullición y 150 mL de disolución NaOH 10 N por las paredes para su destilación. Se agregaron 50 mL de solución de ácido bórico con indicadores (**Anexo 10.1**) y se colectó un condensado de 150 mL. Para la titulación se midió el gasto de H_2SO_4 0.05 N

hasta que se observara el cambio de color de verde a rosado. El N Kjeldahl (%) se calculó con base a la siguiente ecuación [3].

$$\frac{\%NT = (Vm - Vb) \times N \times 14}{p \times 10} \dots [3]$$

Donde:

V_m= volumen de H₂SO₄ empleado para titular la muestra

V_b= volumen de H₂SO₄ empleado para titular el blanco

N= normalidad de H₂SO₄

14= peso equivalente del N

10= factor de conversión %

p= peso de la muestra en g

6.6.6. Textura, capacidad de campo, aniones y cationes.

Los análisis de textura, capacidad de campo, aniones y cationes se realizaron en el Instituto de Ciencias Agrícolas (ICA) en el laboratorio de agua y suelo, todos con base en la **NOM-021-SEMARNAT-2000**.

6.7. Análisis microbiológico del suelo

En condiciones asépticas se añadieron 10 g de suelo a 90 ml de agua destilada estéril. La mezcla se agitó para su homogeneización.

Se tomó 1 mL de la mezcla homogénea para verterla en tubos de ensaye de 15 mL con 9 mL de agua destilada estéril. Se agitó vigorosamente y 1 mL de la mezcla se transfirió

a un nuevo tubo con 9 mL de agua destilada estéril. Se repitió el proceso con el propósito de realizar diluciones sucesivas.

En condiciones de esterilidad se sembró por extensión con varilla de vidrio en placas de agar nutritivo la dilución 10^{-4} con el fin de contar las UFC bacterianas. El mismo método de siembra fue utilizado para realizar conteo de hongos en placas de agar PDA para la dilución 10^{-2} . Las placas para conteo de UFC bacterianas se incubaron durante 24 h y para conteo de hongos por 48 h ambos a 35°C .

6.8. Selección de cultivos agrícolas a tratar

Se eligieron *Triticum aestivum* y *Lactuca sativa* (comúnmente conocidos como trigo y lechuga) para este trabajo de investigación debido a su importancia en la zona, extensión de suelo destinado a su cultivo y factibilidad para experimentación en invernadero.

6.9. Obtención de las semillas

Las semillas de *Triticum aestivum* fueron donadas por un agricultor del valle de Mexicali. Las semillas de *Lactuca sativa* se obtuvieron de un proveedor de semillas de la zona (Semilleros de la frontera S.A de C.V). En el **Cuadro 4** se puede observar el método utilizado para la desinfección superficial de las semillas de cada especie vegetal. Las semillas desinfectadas fueron utilizadas para calcular el porcentaje de germinación.

Cuadro 4. Método de desinfección superficial de las semillas de las especies vegetales.

Organismo vegetal	Método de desinfección superficial
<i>Triticum aestivum</i>	<ul style="list-style-type: none">- Se colocaron en viales de 15 mL (40 semillas).- Se añadió un volumen de NaClO al 2% hasta sumergirlas completamente.- Se agitaron suavemente durante 15 min.- Se drenó el NaClO para enjuagar 3 veces con agua destilada estéril (Sajjad et al., 2017).
<i>Lactuca sativa</i>	<ul style="list-style-type: none">- Se colocaron en viales de 15 mL (80 semillas).- Se vertió volumen suficiente de etanol hasta cubrirlas.- Se agitó y se retiró el etanol inmediatamente.- Se añadió NaClO al 10% y se agitaron suavemente por 10 min.- Finalmente se drenó y se realizaron cuatro enjuagues con agua destilada estéril.

Las semillas se secaron en papel secante estéril y se almacenaron para su posterior uso. Todos los pasos se realizaron en condiciones asépticas.

Por triplicado, 50 semillas desinfectadas de cada organismo vegetal se transfirieron a placas de Petri con papel secante húmedo (todo en condiciones de esterilidad) procurando que hubiera espacio suficiente entre ellas para determinar su porcentaje de germinación (PG) después de 72 h. Cada 24 h se humedecía el papel con agua purificada estéril en condiciones asépticas.

6.10. Experimento en condiciones de invernadero

En macetas con capacidad de 1.4 kg se añadieron 1.2 kg de suelo previamente caracterizado. Las condiciones de temperatura, agua y luz/oscuridad se controlaron a lo largo del experimento de *Triticum* que tuvo lugar del 17 de abril al 15 de junio de 2019 en un espacio adaptado como invernadero. El experimento de *Lactuca sativa* se realizó bajo las condiciones ambientales y climáticas durante todo el proceso de crecimiento de la planta, del

día 03 de diciembre de 2019 al 22 de marzo de 2020 en un espacio recubierto de material transparente que permitió la entrada uniforme de radiación solar. Ambos experimentos se realizaron en Mexicali Baja California en la Universidad Autónoma de Baja California, Campus Mexicali, laboratorio de Bioingeniería 32°37'48.7''N 115°26'16.8''W.

El proceso de siembra se realizó con espátulas desinfectadas previamente con alcohol etílico concentrado (96%) cavando dos pequeñas zanjas de aproximadamente 1.5 cm de profundidad. En cada una de las zanjas se colocaron 5 semillas y se cubrieron con el suelo, con un total de 10 semillas por maceta. Las semillas utilizadas para el tratamiento control (T1) y el tratamiento suplementado solamente con fertilizante sintético (T10) se sembraron tal cual fueron proporcionadas. Las semillas utilizadas para los tratamientos T2-T9 y T11-T18 que contienen alguna concentración de inóculo bacteriano (1×10^7 y/o 1×10^9 UFC mL⁻¹), se sembraron después de ser sumergidas en un caldo con las concentraciones específicas del inóculo para cada tratamiento. Los caldos fueron preparados de la siguiente manera: primeramente, en condiciones asépticas se tomó con un asa bacteriológica una colonia aislada de cada microorganismo (p.8.bac 2 o E) y se sembró en 7 mL de caldo soja tripticaseína. Se incubaron a 35°C en agitación oscilatoria de 100 rpm durante 24 h. Posterior a la incubación, el cultivo se centrifugó a 4000 rpm durante 30 min y en condiciones asépticas se retiró el sobrenadante para agregar el equivalente de agua destilada estéril. Esta acción se realizó por triplicado, con el fin de que al momento de sumergir las semillas en el medio de cultivo y posteriormente verterlo en la maceta este no interfiriera con el crecimiento y desarrollo de la microbiota. En condiciones asépticas se tomaron 3 mL de las células lavadas y suspendidas en agua y se pasaron a cubetillas para su lectura en espectrofotómetro. El ajuste se realizó diluyendo las concentraciones con agua destilada estéril hasta obtener la densidad óptica

requerida según la escala de McFarland para 1×10^7 y 1×10^9 UFC mL⁻¹ (densidades de inóculo utilizadas) a una $\lambda=530$ nm. Las semillas se sumergieron en los tubos con las concentraciones indicadas y se agitaron suavemente durante 10 min. Aquellos tratamientos con combinación de ambas concentraciones las semillas se sumergieron primeramente en la concentración menor y posterior al tiempo de agitación ya indicado se pasaron a la segunda concentración para agitar nuevamente.

Después de la siembra, se agregó el volumen necesario de agua hasta su capacidad de campo. Tanto *Triticum aestivum* como *Lactuca sativa* se mantuvieron a capacidad de campo durante todo el experimento.

6.10.1. *Triticum aestivum*

Para comparar la acción provocada por la adición del fertilizante químico UAN 32, inóculos bacterianos o la combinación de ambos se optó por desarrollar el experimento a base de un diseño factorial completo con bloques aleatorizados. Como factores: (i) aislado P.8bac2 (BI), (ii) aislado E (BII) y (iii) fertilizante sintético (UAN 32). Los 3 niveles equivalen a 3 diferentes concentraciones para los inóculos bacterianos: 0, 1×10^7 y 1×10^9 UFC mL⁻¹ y 2 niveles equivalentes a tasas de aplicación para el fertilizante sintético 0 y 35 kg ha⁻¹, que serán indicados como “-” cuando la concentración sea 0 y “+” cuando la concentración sea equivalente a 35 kg ha⁻¹. Por lo tanto, se tiene un diseño factorial 3x3x2 con un total de 18 tratamientos (**Cuadro 5**). Para cada tratamiento se tuvo n=6 distribuyendo cada tratamiento de forma aleatoria en cada uno de los bloques, debido a que por la naturaleza del espacio adaptado como invernadero existió un gradiente de luz solar que va de mayor a

menor intensidad luminosa, siendo el B1 el bloque que recibió mayor intensidad luminosa y el B6 el que recibió una menor cantidad (**Fig. 5**).

Después de 17 días de siembra se agregaron a los tratamientos 10 mL de células suspendidas en agua con las respectivas concentraciones de BI y BII según sea el caso (0 , 1×10^7 y 1×10^9 UFC mL^{-1}). El fertilizante sintético UAN 32 fue proporcionado por agricultores del Valle Imperial de Calexico, California, que se adicionó por método de riego a una concentración equivalente de 35 kg ha^{-1} según recomienda SAGARPA (**Cuadro 3**).

Cuadro 5. Descripción de los diferentes tratamientos.

T1: F ₀ , B ₁₀ , B ₂₀	T7: F ₀ , B _{1X10⁷} , B _{2X10⁹}	T13: F ₁ , B ₁₀ , B _{2X10⁷}
T2: F ₀ , B _{1X10⁷} , B ₂₀	T8: F ₀ , B _{1X10⁹} , B _{2X10⁷}	T4: F ₁ , B ₁₀ , B _{2X10⁹}
T3: F ₀ , B _{1X10⁹} , B ₂₀	T9: F ₀ , B _{1X10⁹} , B _{2X10⁹}	T15: F ₁ , B _{1X10⁷} , B _{2X10⁷}
T4: F ₀ , B ₁₀ , B _{2X10⁷}	T10: F ₁ , B ₁₀ , B ₂₀	T16: F ₁ , B _{1X10⁷} , B _{2X10⁹}
T5: F ₀ , B ₁₀ , B _{2X10⁹}	T11: F ₁ , B _{1X10⁷} , B ₂₀	T17: F ₁ , B _{1X10⁹} , B _{2X10⁷}
T6: F ₀ , B _{1X10⁷} , B _{2X10⁷}	T12: F ₁ , B _{1X10⁹} , B ₂₀	T18: F ₁ , B _{1X10⁹} , B _{2X10⁹}

F₀= sin adición de fertilizante sintético.

F₁= adición de fertilizante sintético.

B_{1X10⁷} y B_{1X10⁹} = aislado bacteriano p.8.bac 2 con 1×10^7 y 1×10^9 UFC, respectivamente.

B_{2X10⁷} y B_{2X10⁹} = aislado bacteriano E con 1×10^7 y 1×10^9 UFC, respectivamente.

La intensidad luminosa osciló entre 17.8-1.7 klx, según mediciones diarias a horas diurnas aleatorias a lo largo de los días en los que el experimento estuvo en marcha. Las mediciones de la iluminancia se realizaron con un medidor de luz digital Sunche HS1010.

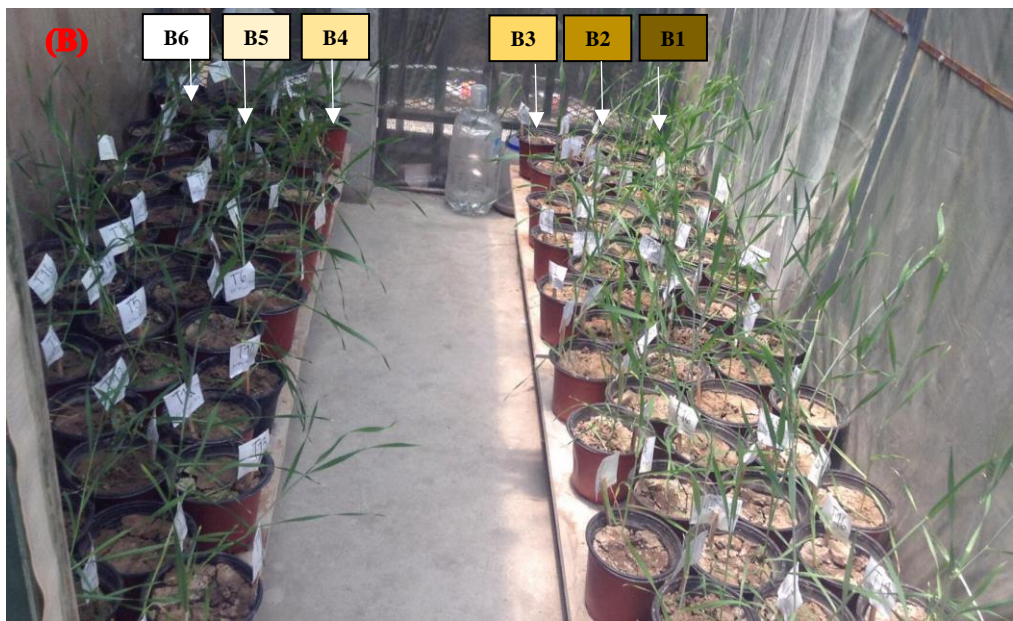
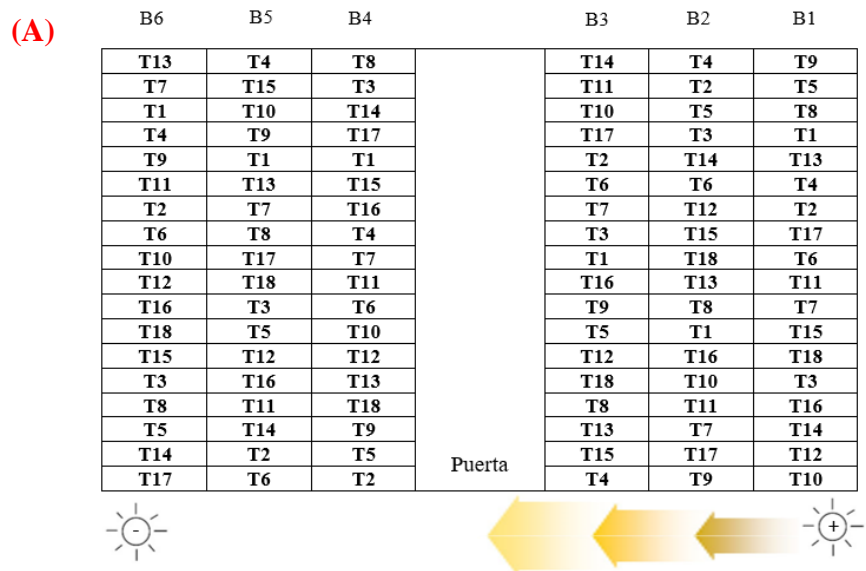


Fig. 5. (A) Representación de la distribución espacial de tratamientos de trigo en los bloques dentro del invernadero. (B) Fotografía de los tratamientos en su posición y bloque dentro del invernadero.

6.10.1.1. Evaluación de los tratamientos

Durante el crecimiento del trigo se midió el contenido de clorofila con el medidor de clorofila marca OPTI-SCIENCES modelo CCM-200plus. La cosecha se realizó hasta observar el máximo crecimiento posible el día 20 de julio de 2019. La parte aérea de la planta

se cortó con una navaja para realizar las mediciones. Se contó el número de hojas; se pesó y contó el número de granos; se midió la longitud de la planta completa, de la espiga y raíz con una cinta métrica. La raíz se separó del suelo con cuidado de rescatarla completa. El suelo rizosférico se recolectó mientras se separaba la raíz en condiciones asépticas. De la parte aérea y radical se pesó el peso fresco con una balanza analítica (Mettler Toledo modelo ML204/03), después de secar al horno (QUINCY LAB modelo 10 Lab Oven) durante 48 h a 70°C se pesó y se reportó como peso seco; en condiciones asépticas se recolectó un total de 10 g de suelo rizosférico para obtener la densidad microbiana, por dilución y conteo en placa de la rizósfera (**Apartado 6.7**). De cada tratamiento se recuperaron 166.66 g de suelo a granel para los análisis fisicoquímicos (**Apartado 6.6**).

6.10.1.2. Análisis estadístico

Se realizó el análisis de varianza (ANOVA) utilizando el software Minitab con $\alpha=0.05$, para detectar efectos en los tratamientos y se compararon las medias de las variables mencionadas anteriormente (apartado 6.11) mediante las pruebas de Tukey y Dunnett.

6.10.2. *Lactuca sativa*

Se retomó el mismo diseño experimental mencionado en el apartado 6.10.1 (**Cuadro 5**). Como única diferencia para este caso se omitió el uso de bloques, ya que, la cantidad y periodo de radiación solar fue uniforme independientemente de la posición para todos los tratamientos (**Fig. 6**).

Se adicionó tres veces UAN 32 al suelo como lo recomienda la California Fertilization Guidelines del California Department of Food and Agriculture (CDFA). A partir del porcentaje calculado de N en el suelo (Apartado 6.6.6.) se añadió justo antes de la siembra a los tratamientos T10-T18 un equivalente a 20 kg ha⁻¹ para asegurar un contenido de N no menor a 20 ppm.

Pasados 57 días de la siembra se realizó la primera fertilización sintética y adición de los inóculos bacterianos. Se añadió a los tratamientos correspondientes un equivalente a 20 kg ha⁻¹ de UAN 32 mediante técnica de riego. Los inóculos se vertieron a los tratamientos en 10 mL de caldo con la concentración de BI y BII correspondiente a cada tratamiento (0, 1x10⁷ y 1x10⁹ UFC mL⁻¹). La última fertilización y suplementación biológica se realizó 97 días después de la siembra (7 días previo a la cosecha y 40 días después de la primera fertilización), bajo los mismos términos y concentraciones que la fertilización mencionada anteriormente.

T7	T14	T3	T2	T18	T13	T10	T16	T12	T17	T4	T5	T9	T15	T1	T6	T11	T8
T17	T15	T11	T10	T7	T3	T8	T12	T1	T9	T6	T13	T2	T16	T18	T14	T4	T5
T1	T8	T15	T2	T6	T11	T12	T16	T13	T17	T4	T3	T7	T9	T14	T5	T10	T18
(A)															T2	T1	T10
															T15	T5	T14
															T17	T11	T15
															T11	T9	T7
															T14	T3	T16
															T16	T17	T5
															T9	T18	T6
															T10	T15	T9
															T8	T7	T2
															T13	T6	T12
															T6	T12	T4
															T4	T14	T17
															T3	T8	T13
															T7	T10	T18
															T5	T13	T3
															T18	T4	T11
															T1	T2	T8
T12	T16	T1															

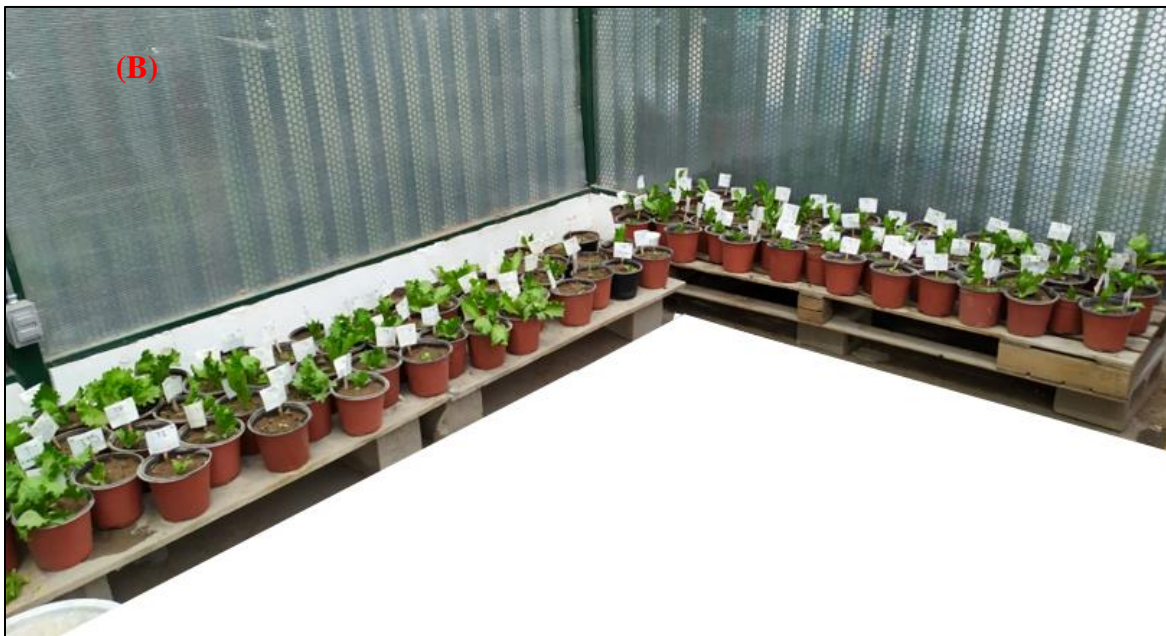


Fig. 6. (A) Representación de la distribución espacial de los tratamientos de lechuga. (B) Fotografía de la distribución de los tratamientos dentro del invernadero.

6.10.2.1. Evaluación de los tratamientos

Durante el desarrollo de la lechuga se realizaron 5 mediciones del contenido de clorofila con el medidor de clorofila marca OPTI-SCIENCES modelo CCM-200plus. La cosecha se realizó hasta la madures del cultivo. Al cosechar se contó el número de hojas, se midió el índice de clorofila; se determinó la longitud de la planta completa con una cinta métrica. De la parte aérea y radical se determinó el peso fresco con una balanza analítica (Mettler Toledo modelo ML204/03), después de secar al horno (QUINCY LAB modelo 10 Lab Oven) durante 48 h a 70°C se pesó y se consideró como peso seco; en condiciones asépticas se colectó un total de 10 g de suelo rizosférico para obtener la densidad microbiana en rizósfera que se calculó por dilución en placa (**Apartado 6.7**). De cada tratamiento se recuperaron 166.66 g de suelo para los análisis fisicoquímicos (**Apartado 6.6**).

6.10.2.2. Análisis estadístico

Se realizó el análisis de varianza (ANOVA) utilizando el software Minitab con $\alpha=0.05$, para detectar efectos en los tratamientos y se compararon las medias de las variables mencionadas anteriormente (apartado 6.11) mediante las pruebas de Tukey y Dunnett.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

7.1. Composición y equivalencia de los estándares de McFarland

La densidad de inóculo para una densidad óptica (DO) conocida según los índices de McFarland se puede observar en el (**Cuadro 6**). Se graficó la DO en función de la absorbancia para encontrar la ecuación de la curva por mínimos cuadrados (**Fig. 7**). El desarrollo de una ecuación basada en la curva permite conocer con base a la DO una cantidad aproximada de las UFC mL⁻¹ que se encuentran en el medio.

Cuadro 6. Densidad óptica (DO) ($\lambda=530$ nm) para los diferentes estándares de McFarland.

Tubo	Solución acuosa de H ₂ SO ₄ 1%	Solución acuosa de BaCl ₂ 1%	Densidad bacteriana (x10 ⁸) (UFC mL ⁻¹)	DO ($\lambda=530$ nm)
1	9.9	0.1	3	0.295
2	9.8	0.2	6	0.586
3	9.7	0.3	9	0.902
4	9.6	0.4	12	1.116
5	9.5	0.5	15	1.381
6	9.4	0.6	18	1.627
7	9.3	0.7	21	1.810
8	9.2	0.8	24	2.078
9	9.1	0.9	27	2.300
10	9.0	1.0	30	2.426

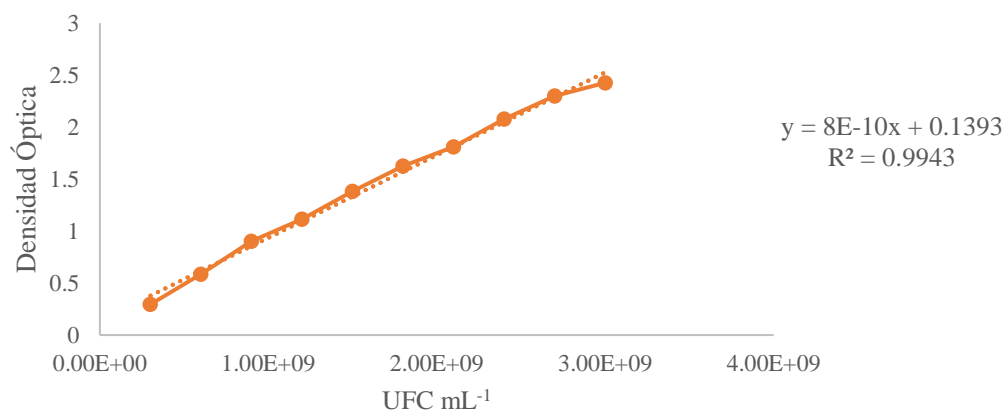


Fig. 7. Curva de McFarland. Representación gráfica de la DO ($\lambda=530$ nm) en función de la densidad bacteriana aproximada indicada por los estándares de McFarland.

7.2. Producción de ácido indolacético

Se preparó una curva de calibración (**Cuadro 7**) mediante la reacción de diferentes concentraciones de AIA con el reactivo Salkowski. La reacción colorimétrica se debe a la oxidación del AIA por las sales férricas y entre más elevada sea la concentración de AIA la coloración provocará una mayor DO (Mayer, 1958).

Se determinó por mínimos cuadrados una ecuación para determinar la cantidad de AIA producida por los aislados bacterianos (**Fig. 8**).

Cuadro 7. Lectura de la DO a partir de diferentes concentraciones de AIA.

Concentración de AIA (mg ml ⁻¹)	DO ($\lambda=530$ nm)
0.5	0.342
1	0.657
1.5	0.739
2	0.944
4	1.476
6	1.964
10	3.036
15	3.989

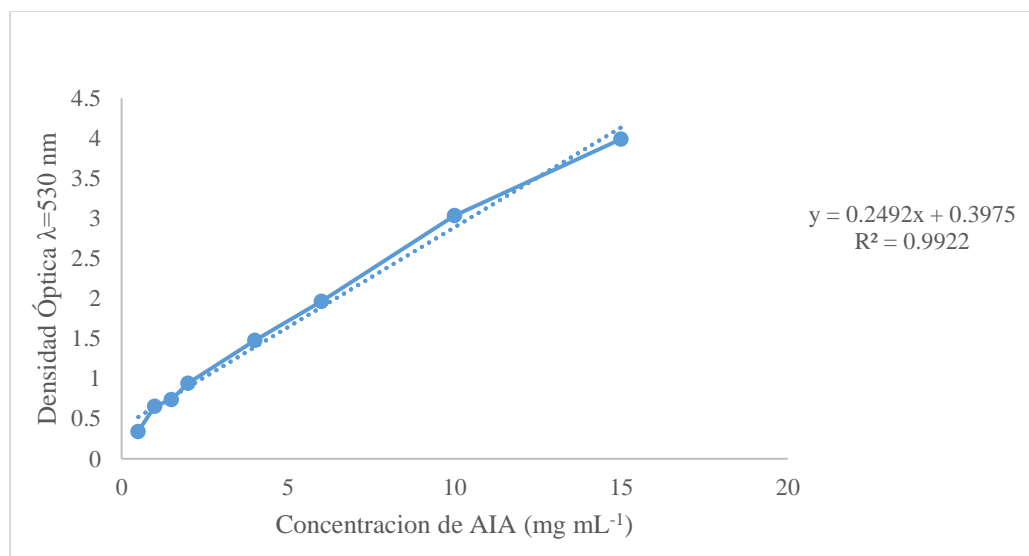


Fig. 8. Recta de calibrado para la cuantificación de AIA por sensibilidad a la técnica colorimétrica. Los valores de DO₅₃₀ se midieron en función de la concentración de AIA.

Los resultados obtenidos por (López, 2015) indican que un bajo porcentaje del total de sus aislados (10.52%) produce AIA. Por otro lado (Saldaña, 2016) reporta que el 50% de los aislados provenientes de la rizósfera producen esta fitohormona. Solo dos de los aislados seleccionados (5.1.b.1 y p.8.bac2) como candidatos para este trabajo de investigación presentan esta característica. Por lo tanto, se compararon los resultados obtenidos al agregar una concentración de 2.5 mM de Trp al medio de crecimiento (**Cuadro 8**), ya que el AIA comúnmente es sintetizado a través del precursor Trp mediante cuatro diferentes rutas conocidas, siendo esta la vía de biosíntesis más común en la naturaleza y conocida por los efectos benéficos que produce en las plantas (Kasahara, 2016; Wang et al., 2015). Además, los estudios sugieren que las vías de síntesis para AIA en la naturaleza independientes del Trp no generan un impacto significativo en la síntesis de la auxina o en la promoción de crecimiento de las plantas a partir de AIA.

Al adicionar Trp en el medio de cultivo del aislado p.8.bac2 para la prueba de AIA, este produjo una mayor cantidad de AIA a lo reportando anteriormente (Saldaña, 2016), los aislados 2.2.b.4, 6.b.4, E y M, fueron reportados como no productores de AIA, pero al suplementar el medio con Trp se puede observar una mayor producción principalmente del aislado E, que es el máximo productor de AIA de esta lista (**Fig. 9**). Los aislados 4.2.b.1 y N aun con Trp en el medio de cultivo no sintetizaron AIA y finalmente el aislado 5.1.b.1 al añadirle Trp no se observó producción de AIA. Por lo tanto, se puede observar en la **Cuadro 8** el efecto benéfico de la adición de Trp para la producción de AIA de la mayoría de los aislados.

Cuadro 8. Resultados obtenidos después de suplementar el medio con 2.5mM de Trp.

Aislados bacterianos	Producción de AIA sin Trp*	Cuantificación (mg ml ⁻¹)*	Producción de AIA + 2.5mM Trp	Cuantificación (mg ml ⁻¹)
5.1.b.1 ^a	+	0.068	-	-
p.8.bac 2 ^a	+	0.047	+	0.08
2.2.b.4 ^a	-	-	+	0.01
4.2.b.1 ^a	-	-	-	-
6.b.4 (XXX) ^a	-	-	+	0.20
E ^b	-	-	++	6.34
M ^b	-	-	+	0.007
N ^b	-	-	-	-

a= Aislados de suelo rizosférico (Saldaña 2016).

b=Aislados de suelo no rizosférico (López, 2015).

*= Resultados obtenidos por (López, 2015) y (Saldaña, 2016).

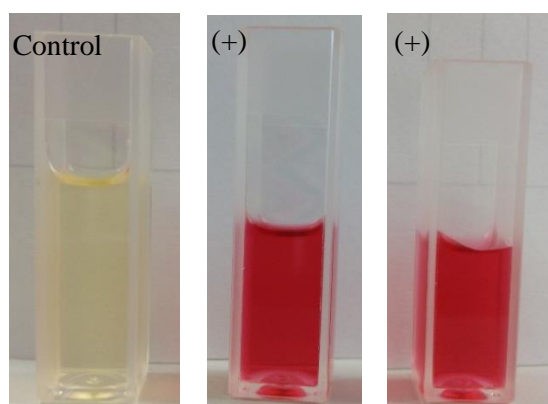


Fig. 9. Reacción positiva (+) por cambio de color (rojo) para el ensayo de producción de AIA con medio King B suplementado con 2.5 mM Trp del aislado bacteriano E, prueba por duplicado.

7.3. Selección de aislados bacterianos

Con base en los resultados reportados en ensayos anteriores (**Cuadro 9**) y los descritos anteriormente en este trabajo (apartado 7.2). Se seleccionó el aislado p.8 bac2 de suelo rizosférico y el aislado E de suelo sin vegetación. Los resultados en las diferentes pruebas mostraron que ambos aislados presentaron las características más prometedoras para las pruebas posteriores de este trabajo de investigación.

Cuadro 9. Características de los aislados para su selección (+ = resultado positivo y ++ = resultado positivo con mayor concentración de N₂ fijado).

Aislados bacterianos	Máxima T tolerable (°C)	Máxima concentración tolerable de NaCl (% p/v)	Máximo periodo de tolerancia a radiación UV (h) ^c	Fijación de N ₂ ^c	Diámetro de halo de solubilización de P (mm) ^c
5.1.b.1 ^a	45 ^d	8 ^{a*}	24	+	1.3
p.8.bac 2^a	50^d	14^{a*}	6	+	1.0
2.2.b.4 ^a	45 ^d	12 ^{a*}	24	+	0.2
4.2.b.1 ^a	45 ^d	12 ^{a*}	0.5	+	1.0
6.b.4 (XXX) ^a	50 ^d	12 ^{a*}	12	++	0.6
E^b	55^{b*}	11^{b*}	24	++	1.1
M ^b	50 ^{b*}	3.5 ^{b*}	12	+	0.7
N ^b	45 ^{b*}	7 ^{b*}	24	+	1.2

a=aislados de suelo rizosférico (Saldaña, 2016).

b=aislados de suelo no rizosférico (López, 2015).

a*=pruebas realizadas por (Saldaña, 2016).

b*=pruebas realizadas por (López, 2015).

c=pruebas realizadas por (Reséndiz, 2018).

d=pruebas realizadas en este trabajo de investigación.

7.3.1. Identificación molecular de los aislados seleccionados

Los aislados bacterianos p.8.bac 2 de suelo rizosférico y E de la zona árida, respectivamente (López, 2015; Saldaña, 2016) se sembraron en placas de agar nutritivo y se incubaron a 35°C por 24 h. Ambos aislados se enviaron para su análisis molecular al laboratorio *Dorado* en Mexicali Baja California, México. La identificación se realizó mediante el método de espectrometría de masas MALDI-TOF. El resultado indicó que los aislados bacterianos seleccionados p.8.bac 2 y E son cepas pertenecientes a la especie *Bacillus megaterium* y *Kocuria rhizophila*, respectivamente. La cepa *Bacillus megaterium* es comúnmente encontrada en suelos y se ha reportado su potencial para la agricultura por sus características PGPB y también como resistente a diferentes tipos de estrés por su habilidad de formar esporas (Nascimento et al., 2020; Nicholson et al., 2002). Por otro lado, la bacteria *Kocuria rhizophila* ha sido aislada de ambientes extremos con altos niveles de

radiación (Mehrabadi et al., 2016) y se han reportado sus capacidades de solubilizar fosfato y producción de AIA, habilidades que podrían promover el crecimiento vegetal (Li et al., 2020).

7.4. Recolección de suelo para experimento en maceta

El suelo que fue recolectado para el experimento de trigo y lechuga, corresponde al suelo de una parcela cultivada con cebada y trigo. La ubicación de la parcela donde se tomaron las muestras de suelo para los experimentos se muestra en la **Fig. 10 (A)**. Los puntos de recolección de muestra de suelo para los experimentos de trigo y lechuga se observan en la **Fig. 10 (B y C)** respectivamente. Las coordenadas de cada punto de muestreo de suelo para trigo se describen a continuación:

- Punto 1. Latitud: N: 32°32'25.3''; Longitud: O: 115°24'59.9''
- Punto 2. Latitud: N: 32°32'19.9''; Longitud: O: 115°24'57.48''
- Punto 3. Latitud: N: 32°32'22.05''; Longitud: O: 115°24'57.48''
- Punto 4. Latitud: N:32°32'20.09''; Longitud: O: 115°24'56.48''
- Punto 5. Latitud: N: 32°32'24.53''; Longitud: O:115°24'57.38''

Las coordenadas del punto de recolección de suelo para la siembra de lechuga es el siguiente:

- Latitud: N 32°32'25.1''; Longitud: O: 115°25'00.0''

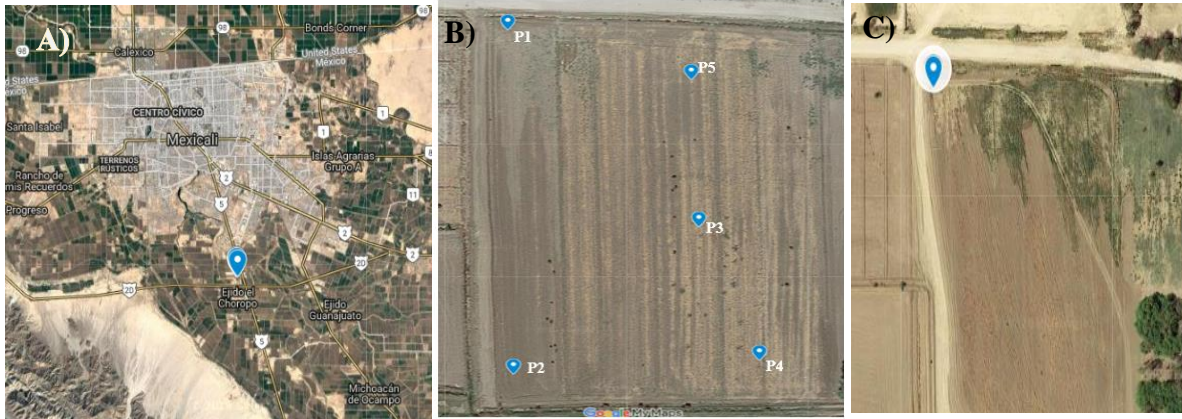


Fig. 10. (A) Vista satelital de ubicación de la parcela en el valle de Mexicali. (B) Vista satelital de las coordenadas de los puntos de recolección de muestra para siembra de trigo. (C) Vista satelital de las coordenadas del punto de recolección de muestra para siembra de lechuga. Tomada de Google Maps, INEGI 2019.

7.5. Características físicas y químicas del suelo

Las características físicas del suelo utilizado para el experimento de *Triticum aestivum*, *Lactuca sativa* y del suelo del que provienen los aislados p.8.bac (*Bacillus megaterium*) 2 y E (*Kocuria rhizophila*) (López, 2015; Saldaña, 2016) se muestran en el **Cuadro 10**.

El porcentaje de saturación es, según la **NOM-021-RECNAT-2000**, la proporción de suelo que es saturada con cationes intercambiable (Ca, Mg, Na y K). El suelo utilizado para los experimentos de *Triticum aestivum* y *Lactuca sativa* son por poco menores al porcentaje ideal para el desempeño agrícola (58 y 58.5%, respectivamente) ya que, según Espinoza et al., (2006) un porcentaje de saturación de bases alta (>60%) es deseable en el suelo.

La FAO considera la elevada salinidad en el suelo agrícola como degradante de suelo y vegetación. Cuando la conductividad eléctrica (CE) del suelo rebasa los 4 mS cm⁻¹ se considera como un suelo salino (Munns y Tester, 2008). La CE del suelo para los experimentos de *Triticum aestivum* y *Lactuca sativa* son de 6.53 y 4.72 mS cm⁻¹,

respectivamente y la **NOM-021-RECNAT-2000** establece que ambos valores de CE clasifican a los suelos como salinos. En la zona del valle de Mexicali la salinidad del suelo es un problema conocido (Judkins y Myint, 2012).

El pH ideal del suelo para cultivos agrícolas, según la FAO es de 6.5. Suelos agrícolas con pH elevado ($\text{pH} > 8.5$) tienden a dispersarse y suelen presentar problemas para absorber Fe debido a que la planta no puede solubilizarlo, aunque este se encuentre presente. Los resultados para el suelo utilizado en este caso de estudios revelan que según la **NOM-021-RECNAT-2000** el suelo es medianamente alcalino, con valores de 8.43 y 7.83 para los experimentos de *Triticum aestivum* y *Lactuca sativa*, respectivamente.

El ion de Ca en suelos arcillosos comúnmente se encuentra en concentraciones mayores a 2500 mg kg^{-1} , ya que la arcilla eleva el contenido de Ca (Espinoza et al., 2006). Son considerados con un medio contenido de Ca aquellos con concentraciones entre 1000-2000 mg kg^{-1} (Marx et al., 1999). El contenido de Ca del suelo para este trabajo de investigación es de una concentración media. Por otro lado, el Mg suele ser insuficiente si el contenido es $< 31 \text{ mg kg}^{-1}$, suele agregarse en forma sintética, ya su deficiencia provoca un envejecimiento temprano y reducción de la productividad (Guo et al., 2015). El suelo utilizado para los experimentos en la presente investigación cuenta con un alto contenido de Mg hasta de 1008 mg kg^{-1} . El Na por su parte, al no ser un nutriente vegetal no es necesario para el crecimiento de las plantas y sus altos niveles resultan perjudiciales para su crecimiento. Ambos suelos utilizados en este trabajo de estudio según la **NOM-021-RECNAT-2000** son de carácter salino con valores de 8.17 y 5.9% para los experimentos de trigo y lechuga, respectivamente, aunque no llegan a ser un factor preocupante por no exceder un valor de 10%.

El contenido de N-NO_3^- en los suelos utilizados para los dos experimentos es bajo de acuerdo a la **NOM-021-RECNAT-2000**. Las concentraciones adecuadas de N-NO_3^- para los cultivos, varía a partir del tipo de suelo y sus características, el rendimiento esperado del cultivo y el tipo de cultivo (FAO, 1992). Con base en la **NOM-021-RECNAT-2000** el P-PO_4^{-3} que es también un nutriente esencial para el crecimiento y desarrollo de las plantas, se encuentra a una concentración baja en ambas muestras de suelo utilizadas para los experimentos. El contenido de materia orgánica del área de estudio se encuentra solo un poco por debajo del contenido típico en suelos agrícolas, que comúnmente oscila entre 1-3% (Cantú y Yañez, 2018) y según la **NOM-021-RECNAT-2000** al ser menor a 1.5% es un suelo con bajo contenido de materia orgánica.

Cuadro 10. Características físicas y químicas del suelo.

Propiedad analizada	Resultado de la medición		Conclusión		
	Suelo agrícola ^a	Suelo agrícola ^b	NOM-021-RECNAT-2000	Suelo rizosférico ^c	Suelo no rizosférico ^d
Porcentaje de saturación (%)	58.0	58.5			
Conductividad eléctrica (mS cm ⁻¹)	6.53±0.11*	4.72±0.01*	Suelo salino	43.5	71-185
Potencial de hidrógeno (pH)	8.43±0.01*	7.83±0.04*	Medianamente alcalino	7.5-9.77	8.3-9.4
Calcio (ppm)	1200.0	1120.0	Medio		
Magnesio (ppm)	1008.0	528.0	Alto		
Sodio (ppm)	1343.2	828.0	Suelo salino		
Bicarbonatos (ppm)	854.0	732.0			
Cloruros (ppm)	5893.0	3337.0			
Sulfatos (ppm)	1075.2	1440.0			
Sólidos disueltos totales (ppm)	11373	7985			
Relación de adsorción de sodio (RAS)	6.88	5.1			
Porcentaje de sodio intercambiable (%)	8.17	5.9	Suelo salino		
N-NO_3^- (kg ha ⁻¹)	11.7	14.9	Bajo	18-33	18-33
P-PO_4^{-3} (kg ha ⁻¹)	2.0	4.1	Bajo		
Materia orgánica (%)	0.92±0.40*	3.00±0.00*	Bajo	0.18-1.82	0.18-1.82
Capacidad de campo	33.6	32.8			

Arena (%)	2.2	2.2
Limo (%)	22	22
Arcilla (%)	75.8	75.8

Clase textural	Arcilla	Arcilla	Arcillo-limoso y arcilloso	Franco arcilloso limoso y arcilloso
----------------	---------	---------	----------------------------	-------------------------------------

a= Parcela agrícola INIFAP 2016 (suelo utilizado para el experimento de trigo).

b= Parcela agrícola INIFAP 2019 (suelo utilizado para el experimento de lechuga).

c= Suelo rizosférico de la Laguna Salada B.C. de donde fue aislada la bacteria p.8 bac 2 (Saldaña, 2016).

d=Suelo no rizosférico de la Laguna Salada B.C. de donde fue aislada la bacteria E (López, 2015).

*=promedio de tres repeticiones \pm desviación estándar.

7.6. Análisis microbiológico del suelo

Se realizó siembra en agar nutritivo, agar nutritivo adicionado con 5% de NaCl(p/p) para proporcionar a los aislados un suelo salino similar al de las parcelas agrícolas, sin embargo, la adición de sal limitó su crecimiento. Se realizó un análisis de conteo en placa en agar nutritivo para las muestras de suelo. En el **Cuadro 11** se observa la densidad bacteriana del suelo se encontró que el suelo donde se llevaron a cabo ambos experimentos (*Triticum aestivum* y *Lactuca sativa*). La presencia de hongos o levaduras fue inconsistente o nula en las diferentes siembras mediante la técnica de dilución y extensión en placa en los diferentes medios (apartado 6.7), por lo tanto, se descartaron los resultados de la presencia de hongos para este trabajo de investigación.

Cuadro 11. Densidad bacteriana del suelo utilizado antes de la siembra de *Triticum aestivum*. y *Lactuca sativa*

Suelo	UFC g ⁻¹ *
Parcela INIFAP 2016 ^a	2x10 ⁴ \pm 1.16
Parcela INIFAP 2019 ^b	1x10 ⁵ \pm 1.69

a= suelo utilizado para la siembra de *Triticum aestivum*.

b= suelo utilizado para la siembra de *Lactuca sativa*.

*=promedio de seis repeticiones \pm desviación estándar

7.7. Porcentaje de germinación de las semillas

Después de 72 h a temperatura ambiente, se calculó el porcentaje de germinación (PG) de las semillas de *Triticum aestivum* y *Lactuca sativa* (n=6) (**Cuadro 12**). El bajo porcentaje de germinación de las semillas de *Triticum aestivum* probablemente es debido a las condiciones de T, humedad o periodo en que estuvieron almacenadas y que son desconocidas.

Cuadro 12. Porcentaje de germinación de semillas de *Triticum aestivum*. y *Lactuca sativa*

Tipo de semilla	Porcentaje de germinación (%) *
<i>Triticum aestivum</i>	74±1.67
<i>Lactuca sativa</i>	81.22±1.09

*=promedio de 6 repeticiones ± desviación estándar.

7.8. Experimento con *Triticum aestivum* en condiciones de invernadero

La siembra de *Triticum aestivum* se realizó el día 17 de abril de 2019. El proceso de siembra, germinación y crecimiento y cosecha del vegetal se llevó a cabo en un espacio habilitado como invernadero con características climáticas resumidas en el **Cuadro 13**. La germinación de las semillas comenzó a partir del sexto día después de la siembra. Donde la mayor respuesta se obtuvo en el tratamiento T5, seguido de T10, T6, T1 Y T13 (**Cuadro 5**).

Cuadro 13. Características climáticas del invernadero durante el crecimiento de *Triticum aestivum*.

Temperatura (°C)		Fotoperiodo (h)		Intensidad Luminosa (lx)	
Mínima	Máxima	Luz	Oscuridad	Mínima	Máxima
20	28	12	12	17.8	1,700

7.8.1. Características de los tratamientos previo a la fertilización

Veinte días después de la siembra, previo a la adición del fertilizante e inóculo bacteriano correspondiente se comparó el porcentaje de germinación y la altura de las plántulas de todos los tratamientos **Cuadro 14**. Siendo el tratamiento control T1 (**Cuadro 5**) el que mostró el mayor porcentaje de germinación, seguido del tratamiento T10, siendo T1 y T10 los únicos tratamientos a los que no se les adicionó inóculo bacteriano. Los tratamientos, que presentaron una mayor altura promedio fueron T6, T5 y T4 en ese orden, en los tres casos las semillas fueron sumergidas en alguna concentración del aislado bacteriano p.8. bac2 (*Bacillus megaterium*). Se realizó una comparación de medias mediante la prueba Tukey con un nivel de confianza del 95% para observar el efecto que la posición de las unidades experimentales ejerció a la respuesta del crecimiento de las plantas en cada tratamiento. Al momento de la medición, el único tratamiento con medias diferentes entre sus réplicas para altura en función de la posición fue el tratamiento T10 que fue suplementado únicamente con fertilizante sintético. El restante 94% mostró estadísticamente la misma media para sus réplicas en todos los bloques (B1-B6).

Posterior a la medición de la longitud de las plántulas (cm), se seleccionó la plántula por maceta que representara la media de cada uno de los tratamientos y enseguida se procedió a añadir el suplemento: fertilizante sintético y/o inóculo bacteriano según sea el caso (**Cuadro 5**).

Cuadro 14. Características de los tratamientos antes de agregar inoculo bacteriano y fertilizante sintético.

Tratamiento	Porcentaje de germinación (%)*	Altura promedio (cm)*	Resultado prueba Tukey (PG)
T1(control)	6.83±0.75	18.89±2.20	A
T2 ^a	3.5±1.51	20.77±2.93	AB
T3 ^b	4.33±1.96	21.24±2.88	AB
T4 ^c	4.16±0.75	21.58±3.27	AB
T5 ^d	4.5±1.97	22.56±2.26	AB
T6 ^{ac}	6.33±1.21	23.56±2.72	AB
T7 ^{ad}	4.5±1.51	21.11±1.26	AB
T8 ^{bc}	4.33±1.36	21.70±2.54	AB
T9 ^{bd}	5.16±1.94	19.88±1.64	AB
T10 ^e	6.66±1.86	20.80±3.22	AB
T11 ^{ae}	3.33±1.33	19.17±1.71	B
T12 ^{be}	4.5±2.07	19.34±3.23	AB
T13 ^{ce}	4.66±1.63	14.12±2.06	AB
T14 ^{de}	3.5±1.22	20.9±2.01	AB
T15 ^{ace}	3.33±0.51	21.90±1.96	B
T16 ^{ade}	4.0±1.54	19.27±2.70	AB
T17 ^{bce}	4.5±2.74	19.40±2.30	AB
T18 ^{bde}	4.83±1.83	20.92±2.95	AB

*= Promedio de los 6 tratamientos ± desviación estándar.

a= B1(1x10⁷ UFC mL⁻¹).

b= B1(1x10⁹ UFC mL⁻¹).

c= B2(1x10⁷ UFC mL⁻¹).

d= B2(1x10⁹ UFC mL⁻¹).

e= Fertilizante UAN 32 (35 kg ha⁻¹).

7.8.2. Características de los tratamientos de *Triticum aestivum* posterior a la fertilización e inoculación bacteriana.

La primera formación de espiga en los tratamientos se observó a partir de los 35 días después de la siembra (**Fig. 11**). A los 40 días después de la siembra el 89% de los tratamientos desarrollaron espiga y para el momento de la cosecha, el 100% de los tratamientos formó al menos una espiga.

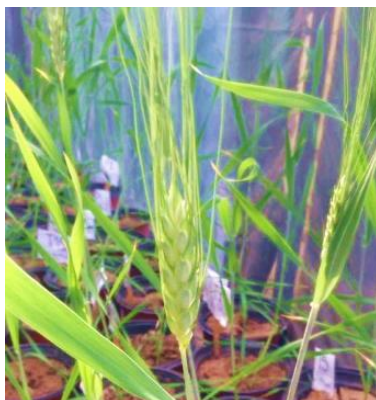


Fig. 11. Espigas formadas a los 37 días después de la siembra.

Se realizaron tres mediciones de clorofila en la etapa reproductiva del cultivo hasta el comienzo de la maduración. Se utilizó el equipo CCM-200 plus de la marca OPTI-SCIENCES con longitudes de onda de 665 (rojo) y 940 nm (infrarrojo). El equipo realiza una medición en tiempo real no invasiva, midiendo la transmitancia de la radiación roja e infrarroja, que convertirá la lectura de absorción de ambas longitudes a un valor índice, llamado índice del contenido de clorofila (ICC) (Lunagaria et al., 2015). El ICC tiene una relación lineal con el contenido real de cantidad de clorofila en hojas de trigo. Para este caso de estudio se reportará el contenido de clorofila como ICC.

La medición se realizó en la hoja bandera del tallo principal y en las hojas inmediatamente inferiores (hoja 2 y hoja 3). La primera lectura del contenido de clorofila realizado 53 días después de la siembra resultó en un mayor contenido de clorofila para aquellos tratamientos que fueron suplementados con fertilizante sintético (**Fig. 12**).

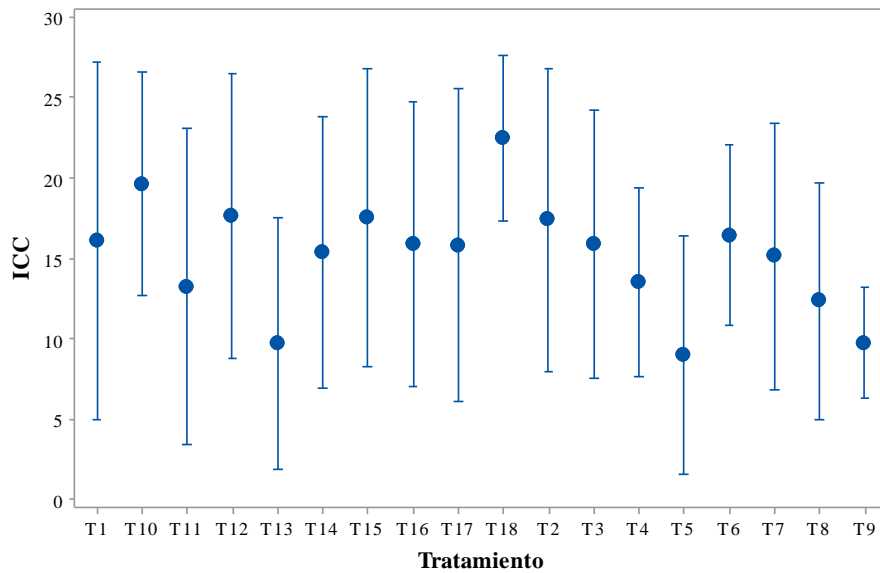


Fig. 12. Promedio del contenido de clorofila por tratamiento. Los puntos representan el promedio de los tratamientos y las líneas los valores mayor y menor de cada tratamiento.

Las medias más altas se encuentran en los primeros dos bloques (**Fig. 13**), aunque según la prueba Tukey para análisis de medias, con un nivel de significancia del 0.05%, ninguna media de los tratamientos es significativamente diferente entre sí.

Realizando un análisis de varianza (**Anexo 10.1**), solamente el bloque tiene un efecto significativo en el contenido de clorofila de la hoja bandera de los tratamientos, específicamente hay una diferencia significativa entre el bloque 2 y bloque 6.

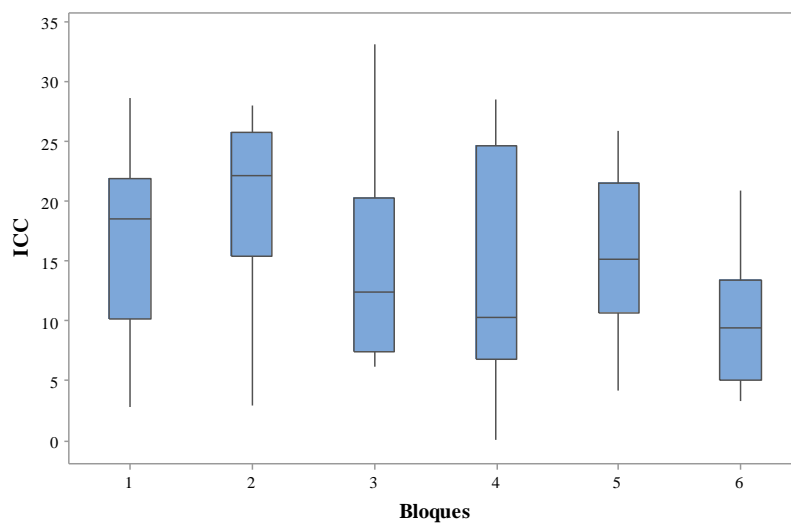


Fig. 13. Comparación del contenido de clorofila entre bloques.

Ya que el ICC de la segunda medición es estadísticamente igual a la primera medición se mostrarán solo los datos de la tercera y última lectura a los 84 días del inicio del experimento. Donde ningún factor influyó significativamente en el ICC de la hoja bandera y todos los tratamientos en ese punto resultaron significativamente iguales.

La medición de la clorofila se detuvo ya que el trigo comenzó su etapa de maduración y por lo tanto las hojas y la planta a secarse.

Realizando un análisis de correlación de Pearson se observó el ICC tiene una correlación positiva con el número y peso de los granos de 0.530 y 0,543, respectivamente.

7.8.2.1. Longitud de la parte aérea

Se realizó la prueba de Tukey con un nivel de confianza del 95% y ninguno de los tratamientos mostró diferencia estadística con respecto a la parte aérea (**Fig. 14**).

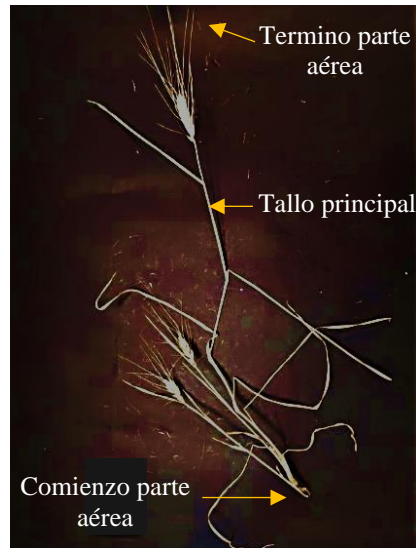


Fig. 14. Especificación de las partes de trigo para determinar la longitud. Fotografía del Tratamiento 16 bloque 5.

El análisis de varianza (**Anexo 10.2**) mostró que se cumple la hipótesis nula de que los bloques provocan un efecto significativo en la longitud de la planta para los diferentes tratamientos (**Fig. 15**) y realizando la prueba de Tukey a 95% de confidencialidad se muestra cuales bloques son estadísticamente diferente de otros (**Cuadro 15**), donde el valor de las medias va en orden descendente del bloque 1 al 6, siendo los primeros dos (B1 y B2) diferentes de los últimos dos (B5 y B6), recordando que la diferencia entre los bloques es la cantidad e intensidad de luz solar que recibieron los tratamientos. La longitud del trigo fue influenciada por la intensidad de la energía solar recibida por la planta, ya que fue el único factor diferente entre los bloques. El desarrollo de las plantas depende en gran medida de la cantidad de agua y la energía solar recibida (Asrar et al., 1984). El efecto en la productividad de los cultivos a partir de las condiciones de luz y radiación recibida se ha estudiado en *Triticum aestivum* anteriormente. Por un lado en algunos casos se reportado que trigo de invierno (*Triticum aestivum*) se ha adaptado y tolerado periodos de sombra (hasta 60%), sin mostrar una diferencia significativa en su desarrollo y características en la cosecha con aquellos que fueron irradiados con una intensidad luminosa mayor (Zheng et al., 2011). Sin

embargo, otros estudios demuestran la estrecha relación positiva entre la radiación absorbida del trigo desde su segunda semana de desarrollo y la biomasa total de la planta (Gallagher y Biscoe, 1978). En este caso en particular, la intensidad luminosa influyó positivamente en la longitud del trigo (*Triticum aestivum*), ya que en general, los tratamientos del B6 son casi 25% más altos que los tratamientos del B1. A pesar de la influencia positiva de la intensidad luminosa a la que estuvieron expuestos los tratamientos de los tres primeros bloques (B1, B2 y B3), la media de altura (cm) está por debajo de algunos otros experimentos bajo condiciones similares (Tomar & Agarwal, 2013).

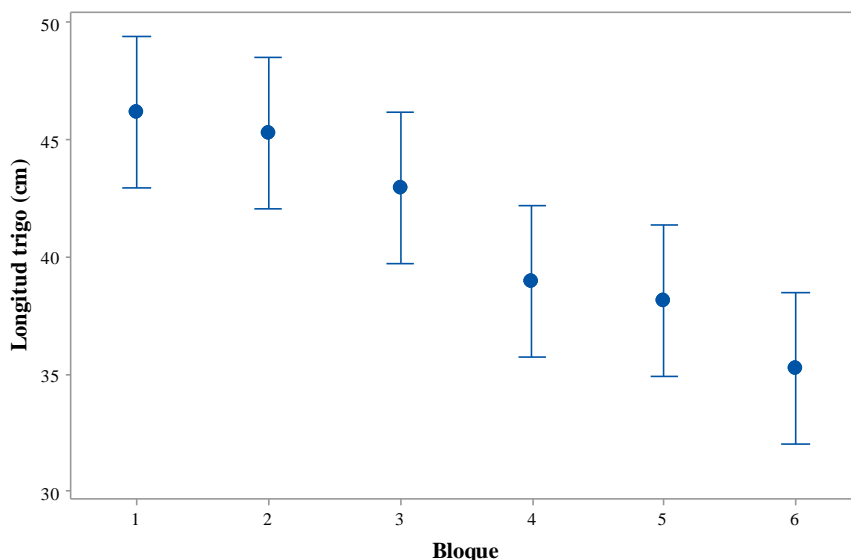


Fig. 15. Intervalos de la longitud de trigo vs bloques. Los puntos representan el valor promedio y las líneas de los extremos el dato mayor y menor de cada bloque.

Cuadro 15. Valor de las medias de la longitud del trigo por bloque. Los bloques que no comparten letra son significativamente diferentes entre sí.

Bloque	N	Media (cm)	Grupo
1	18	46.16	A
2	18	45.28	AB
3	18	42.92	ABC
4	18	38.94	BCD
5	18	38.11	CD
6	18	35.21	D

Para la parte de la espiga, se tomó solamente en consideración la zona del grano desde el comienzo de la vaina de gluma hasta la parte terminal de esta misma sin tomar en cuenta las aristas (**Fig. 16**).



Fig. 16. Descripción general de las partes de la espiga. Fotografía del tratamiento 13 del bloque 3.

La media de la longitud de la espiga según el análisis de Tukey al 95% de confidencialidad para todos los tratamientos es estadísticamente igual. Esto quiere decir que los diferentes factores de los tratamientos no impactaron significativamente en la altura de espiga. Sin embargo, el análisis de varianza (**Anexo 10.3**) indica que el bloque en el que se encuentran los tratamientos si es un factor que genera una diferencia significativa y esto se puede observar mediante una prueba Tukey al 95% de confidencialidad (**Fig. 17 y Cuadro 16**).

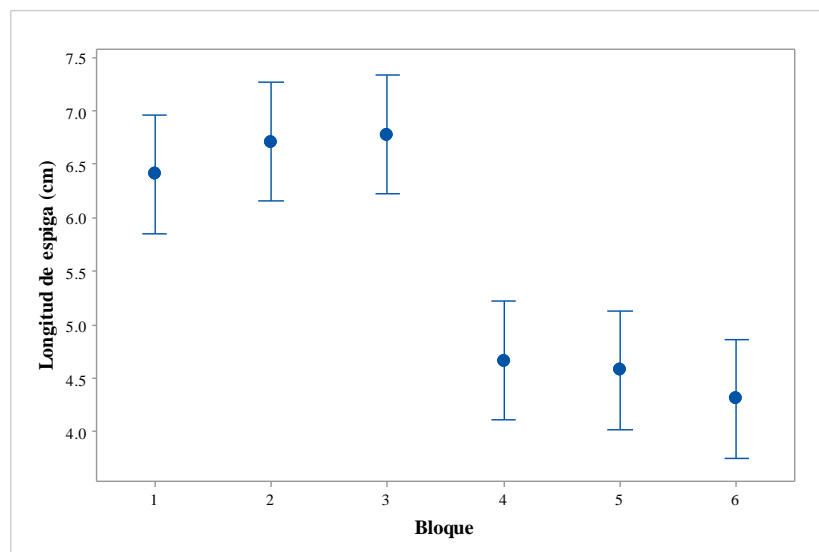


Fig. 17. Intervalos de la longitud de espiga vs bloque. Los puntos representan el valor promedio y los extremos de las líneas de cada dato los valores mayor y menor.

La diferencia entre el promedio del tamaño de las espigas (cm) de los primeros tres bloques (B1-B3) es 30% mayor a la de los bloques (B4-B6). Recordando que la diferencia entre los primeros tres bloques (B1-B3) y los tres últimos (B4-B6) es la intensidad luminosa natural que reciben los tratamientos debido a la locación y diseño de la habitación invernadero. Se sabe que la ausencia de luz en el periodo de llenado de grano tiene un impacto negativo en el peso del grano de trigo (Abbate et al., 1997). Sin embargo, los bloques B4-B6 nunca tuvieron ausencia de luz sino una menor exposición, por lo tanto, en este estudio se puede observar el impacto positivo de la luz natural de las condiciones ambientales de Mexicali B.C para el desarrollo de la espiga.

Cuadro 16. Longitud de espiga por bloque. Los grupos A y B son significativamente diferentes entre sí.

Bloque	n	Media (cm)	Grupo
1	18	6.772	A
2	18	6.706	A
3	18	6.406	A
4	18	4.656	B
5	18	4.567	B
6	18	4.300	B

7.8.2.2. Longitud de la raíz

Las raíces se midieron con una cinta métrica desde el comienzo (cuello radical) hasta la punta más larga de la raíz (**Fig. 18**).

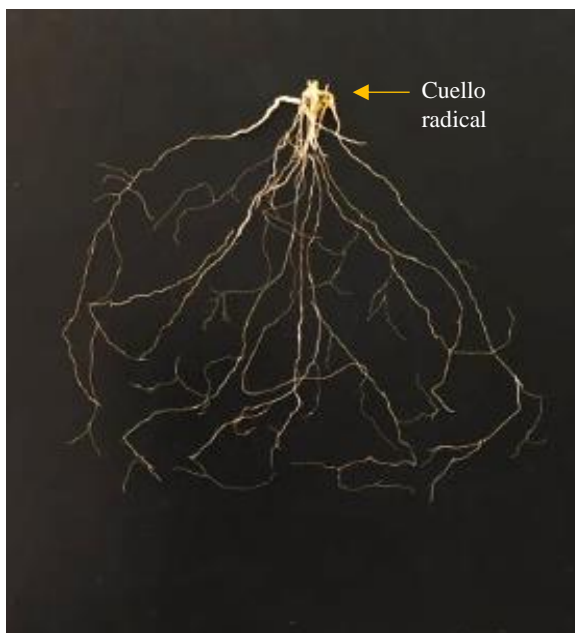


Fig. 18. Fotografía de la raíz de trigo del T15 bloque 4.

El análisis de varianza con $\alpha=0.05$ (**Anexo 10.3**) describe que el único factor que genera un efecto estadísticamente significativo para la longitud de la raíz son los bloques (**Fig. 19**). Las raíces juegan un papel esencial en el crecimiento de las plantas ya que son las responsables de la adquisición de agua y nutrientes provenientes del suelo. Debido a que los primeros bloques (B1-B4) son estadísticamente iguales, comparados con los siguientes (B5-B6), podría ser entonces, la exposición de la luz natural uno de los factores que contribuyó al mejor desarrollo de los tratamientos del B1 al B3. Aunque el desarrollo de las raíces sea en ausencia de luz bajo el suelo, la mayoría de los fotorreceptores se encuentran en la parte radical y la luz es por tanto un modificador del crecimiento de las raíces (Silva-Navas et al., 2015).

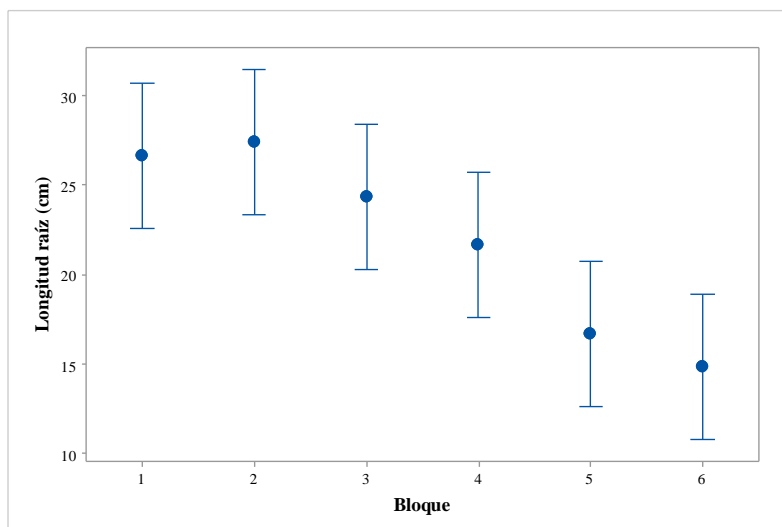


Fig. 19. Longitud de la raíz vs bloque. Los puntos representan el valor promedio mientras que las líneas especifican los valores menor y mayor de cada bloque.

Se realizó una prueba Tukey de 95% de confidencialidad para conocer cuales bloques son estadísticamente diferentes o iguales entre sí (**Cuadro 17**). Los bloques del 1 al 4, tienen una media estadísticamente igual entre sí a diferencia de los últimos dos bloques (5 y 6).

Cuadro 17. Prueba de Tukey de la longitud de la raíz por bloque. Los bloques que no comparten letra son significativamente diferentes entre sí.

Bloque	n	Media (cm)	Grupo
2	18	27.38	A
1	18	26.61	A
3	18	24.32	AB
4	18	21.61	ABC
5	18	16.67	BC
6	18	14.84	C

El análisis de correlación de Pearson, indicó que la longitud de la raíz tiene una correlación positiva de 0.535 respecto a la cantidad de granos de los diferentes tratamientos. Estudios demuestran que la densidad de la raíz aumenta el rendimiento del trigo, dejando la longitud como un aspecto secundario para el desarrollo del trigo, ya que a mayor longitud se presenta una menor densidad radical (Bai et al., 2019); por otro lado, en este trabajo de

investigación la longitud de la raíz demostró un impacto positivo en el desarrollo de granos del trigo.

7.8.2.3. Peso de la parte aérea

El peso del trigo se evaluó tanto fresco como seco. Algunos de los tratamientos desarrollaron macollos con espiga, los cuales se enlistan en el **Cuadro 18** por bloque. Los tratamientos no formaron macollos en el bloque 1 y en el bloque 6 se formaron más macollos con espiga.

Cuadro 18. Tratamientos por bloque que presentaron formación de macollos.

Bloque Tratamiento	2	3	4	5	6
1		2		*	
2					1,*
3				1	2
4				*	2
5	2			1	2
8			2	2	1,*
9			1,*	1	2
10			1,**		2
11					1,*
12			1,*		2
13				1	
14				2	2
15			2		
16		1,*	1,*	2	2
18				*	

*= macollos que no desarrollaron espiga.

El análisis de varianza (**Anexo 10.3**) mostró que ningún factor ni interacción entre los factores produce algún efecto significativo para el peso fresco de los tratamientos. Las medias de los bloques 2 y 6 son estadísticamente diferentes, es decir que la diferencia de peso entre todos los tratamientos del B2 y B6 se debe a la posición espacial en el invernadero y la cantidad de luz solar durante su crecimiento es la responsable de la respuesta observada.

Por otro lado, no existió diferencia significativa entre el peso fresco de la planta y los diferentes factores según la prueba de Tukey a un 95% de confidencialidad, es decir que ningún factor influyó en una alteración en cuanto al peso de la biomasa fresca.

De acuerdo con el un análisis de varianza (**Anexo 10.4**) se encontró que se acepta la hipótesis nula para los bloques, es decir que las posiciones de los tratamientos generan un efecto estadísticamente significativo en el peso seco de la parte aérea de la planta y realizando la prueba de Tukey con un 95% de confidencialidad, se puede observar cuales bloques tienen diferentes medias (**Cuadro 19**).

Cuadro 19. Medias del peso seco de la parte aérea. Los bloques que no comparten letra son significativamente diferentes entre sí.

Bloque	n	Media (g)	Grupo
2	18	0.03995	A
3	18	0.03802	AB
1	18	0.03718	AB
4	18	0.03016	ABC
5	18	0.02714	BC
6	18	0.02339	C

Al secar el tejido se excluye el contenido de agua y compuestos orgánicos volátiles, por lo tanto, se realizó un análisis de la relación para calcular el contenido de materia seca (%) tal que:

$$\%Materia\ seca = \frac{Peso\ fresco}{Peso\ seco} \times 100.... Ec. [4]$$

Al realizar un análisis de varianza (**Anexo 10.5**) para el porcentaje de materia seca, los bloques son el único factor que generan un efecto significativo en la respuesta (**Cuadro 20**) siendo diferentes solamente el bloque 3 del 1. No existe diferencia significativa entre tratamientos.

Cuadro 20. Prueba de Tukey para las medias del porcentaje de materia seca por bloque. Los bloques que no comparten letra son significativamente diferentes entre sí.

Bloque	n	Media (%)	Grupo
3	18	93.981	A
4	18	92.518	AB
5	18	90.313	AB
2	18	90.173	AB
6	18	88.42	B
1	18	88.29	B

7.8.2.4. Peso de la raíz

Según el análisis de varianza ANOVA (**Anexo 10.7**) ningún factor o interacción genera algún efecto significativo en el peso fresco de la raíz. La prueba de Tukey a un 95% de confidencialidad, demostró que no existe diferencia significativa entre tratamientos o bloques para el peso fresco de la raíz.

Por otro lado, después de secar las raíces en el horno y que algunos elementos orgánicos se volatilizaran, se pesaron y se analizaron los datos con un análisis de varianza (**Anexo 10.8**). El análisis estadístico dictó que se acepta la hipótesis nula de que los bloques podrían generar un efecto estadísticamente significativo, por ello se realizó una prueba Tukey con el 95% de confidencialidad para conocer cuales bloques provocan una diferencia en cuanto al peso de la raíz seca (**Cuadro 21**). Para este caso, los primeros bloques (B1, B2 y B3) son estadísticamente diferentes al último bloque (B6). Estudios demuestran que periodos de sombra o de energía solar limitada en las fases tempranas de desarrollo del trigo impactan negativamente en contraste con aquellos que no son afectados por esta limitante energética siendo uno de sus efectos la reducción del peso de la materia seca y también el número de granos (Beed et al., 2007).

Cuadro 21. Prueba de Tukey para las medias del peso seco de la raíz. Los bloques que no comparten letra son significativamente diferentes entre sí, según la prueba de Tukey con un 95% de confidencialidad.

Bloque	n	Media (g)	Grupo
2	18	0.03995	A
3	18	0.03802	AB
1	18	0.03718	AB
4	18	0.03016	ABC
5	18	0.02714	ABC
6	18	0.02339	C

Como se realizó anteriormente para la parte aérea seca de la planta, se realizó un análisis de varianza para el porcentaje de materia seca (relación entre el peso fresco y peso seco de la raíz). El análisis de varianza indicó que los bloques sí generan un efecto en la materia seca contenida en el tejido radical (**Anexo 10.8**) específicamente entre el B3 y el B1 y esto se puede observar en el **Cuadro 22**.

Cuadro 22. Prueba de Tukey de las medias de la materia seca de la raíz. Los bloques que no comparten letra son significativamente diferentes entre sí, según la prueba Tukey con un 95% de confidencialidad.

Bloque	n	Media (%)	Grupo
3	18	90.83	A
2	18	86.31	AB
4	18	85.28	AB
5	18	85.01	AB
6	18	80.55	AB
1	18	73.50	B

7.8.2.5. Número de granos

Se comparó la cantidad de granos por tratamiento, el análisis de varianza (**Anexo 10.9**), sustenta que el único factor que repercute en la cantidad de granos es el bloque donde se encuentran los tratamientos. Se realizó una prueba de Tukey para la media de los bloques (**Cuadro 23**), donde se puede observar que la posición de los tratamientos dentro del

invernadero provoca una diferencia entre la cantidad de granos desarrollados por los diferentes tratamientos.

Cuadro 23. Prueba de Tukey del del número de granos por bloque. Los bloques que no comparten letra son significativamente diferentes entre sí, según la prueba Tukey con un 95% de confidencialidad.

Bloque	n	Media (No. de granos)	Grupo
2	18	23.50	A
3	18	22.72	A
1	18	22.667	A
4	18	17.28	A
5	18	9.17	B
6	18	4.17	B

7.8.2.6. Peso de granos

El peso de grano fue también afectado por el bloque en el que se encontraban los tratamientos, según el análisis de varianza (**Anexo 10.9**), esto se puede ver reflejado en el

Cuadro 24. Según un análisis de correlación de Pearson, existe una correlación positiva del 0.915 entre el número de granos y la media de su peso.

Cuadro 24. Prueba de Tukey para el peso de los granos. Los bloques que no comparten letra son significativamente diferentes entre sí, según la prueba Tukey con un 95% de confidencialidad.

Bloque	n	Media (g)	Grupo
2	18	0.5742	A
3	18	0.5064	AB
1	18	0.4262	AB
4	18	0.3714	B
5	18	0.2031	C
6	18	0.0981	C

Para la mayoría de los análisis incluidos el número y peso de granos de los diferentes tratamientos, el efecto de la posición de las plantas es el único de los factores que afectó el desarrollo del trigo durante el experimento. Ningún factor del diseño de experimentos (fertilizante sintético o inóculo bacteriano) fue significativo en el desarrollo de la planta y su

fruto, en contraste con el impacto producido debido a la exposición a la luz solar. La diferencia entre la iluminancia (klux) a la que estuvieron expuestos los primeros tres bloques (B1, B2 y B3) fue de aproximadamente 10 veces más que las de los bloques restantes (B4, B5 y B6), según medidas diarias aleatorias a lo largo del experimento. Estudios han demostrado que los periodos de sombra, aunque cortos, afectan el desarrollo de las plantas de trigo en las etapas tempranas (Lunagaria y Patel, 2017). Específicamente en este caso de estudio se puede observar que, la diferencia de luz fue esencial para el desarrollo general de la planta y la ausencia y fluctuaciones de luminiscencia durante su desarrollo tuvo una respuesta negativa para los diferentes tratamientos. Las plantas de trigo de la región, por tanto, son sensibles a condiciones de luz limitadas, aunque sea por periodos cortos y no restringidos totalmente de esta. El papel de la luz afectó el crecimiento, radical, del tallo, peso y cantidad de fruto. Estudios demuestran que el trigo en diferentes responde negativamente ante la ausencia de luz debido a los fotorreceptores que regulan la arquitectura, adaptaciones morfológicas y desarrollo de la planta para la producción de energía durante su crecimiento, por ello se han encontrado respuestas adaptativas de *Triticum aestivum* de invierno cuando por debido a las condiciones climáticas la exposición a la luz solar disminuye; sin embargo, en el estudio no se encontraron los mecanismos específicos de estas respuestas (Ghersa et al., 1994).

7.8.2.7. Análisis microbiológico del suelo rizosférico

Se realizó un análisis de varianza (**Anexo 10.10**) y pruebas de Tukey para comparar los resultados de acuerdo a la cantidad de UFC g⁻¹ de suelo rizosférico de los diferentes tratamientos. Los resultados indican que ningún factor o interacción genera algún efecto estadísticamente significativo para la densidad microbiana en la rizósfera. Sin embargo, en

la **Fig. 20**, se observan los efectos principales sobre las medias para los tratamientos respecto a la concentración microbiana de la rizósfera. En el caso de *Triticum aestivum*, aquellos tratamientos suplementados con el aislado *Bacillus Megatenum* a cualquiera de sus concentraciones (1×10^7 y 1×10^9 UFC ml^{-1}) presentan una mayor densidad microbiana en la zona rizosférica comparado con aquellos tratamientos sin inocular con el aislado. También se puede observar en la **Fig. 20** que la adición del fertilizante disminuye la densidad microbiana en el suelo rizosférico.

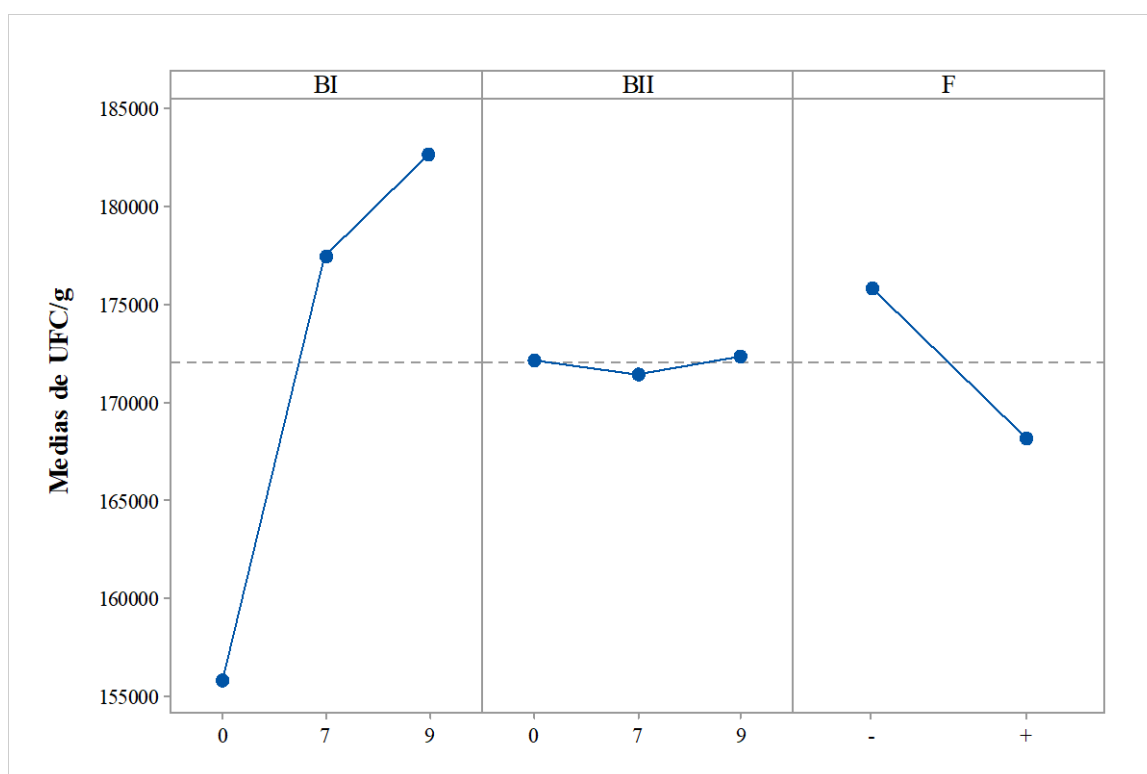


Fig. 20. Efectos principales para las UFC g^{-1} .

Por tanto, aunque la respuesta no sea estadísticamente significativa, se puede observar como de forma general para los tratamientos independientemente del bloque, al suplementar el suelo con UAN 32, un común fertilizante nitrogenado sintético, ocurre una ligera disminución del microbioma bacteriano. Debido al importante papel del N en el desarrollo de las plantas, se suelen adicionar fertilizantes sintéticos para reponer las consecuencias del

nutriente en concentraciones limitadas; sin embargo, la biota del suelo disminuye considerablemente al utilizar solamente fertilizantes inorgánicos por ello, se sugiere utilizar fertilizantes orgánicos que aprovechen la biota nativa y los procesos naturales de mineralización (Ikoyi et al., 2020).

7.8.2.8. Análisis físicos y químicos del suelo post-cosecha

En el **cuadro 25**, se muestran los valores para porcentaje de saturación (PS), CE, pH, MO, nitrógeno (N-NO₃⁻) y fosforo (P-PO₄⁻³) en el suelo, que fueron analizados justo después de la obtención de la parte radical de la planta para cada uno de los tratamientos. Es de importancia conocer las características del suelo, ya que comúnmente en las parcelas agrícolas, se intercalan y rotan los cultivos inmediatamente después de la cosecha. En todos los casos el suelo después de la cosecha respecto a su CE, es moderadamente salino, en el caso de la MO esta se elevó de un contenido bajo del suelo inicial hasta muy alto en el caso del T17. Finalmente, los minerales de N y P también incrementaron en cierta medida su concentración en el suelo.

Cuadro 25. Características físicas y químicas del suelo previas y posteriores al experimento de *Triticum aestivum*.

Tratamiento	Análisis químicos (Salinidad)			Análisis químicos (Fertilidad)		
	PS (%)	CE (dS m ⁻¹)	pH	MO (%)	N-NO ₃ ⁻ (ppm)	P-PO ₄ ⁻³ (%)
Parcela INIFAP*	58.0	6.53	7.96	0.92	3.91	0.67
T1 (control)	57.5	3.43	8.15	4.90	16.3	0.69
T2	60	3.41	8.03	3.82	8.66	0.61
T3	60.5	3.32	8.21	1.61	7.46	0.72
T4	58.5	3.48	8.18	0.74	11.6	0.72
T5	57.5	3.45	8.12	2.87	8.21	0.62
T6	60	3.24	8.19	2.71	5.18	0.81
T7	62	3.45	8.3	2.77	11.6	0.61
T8	61	3.42	8.17	2.68	5.66	0.72
T9	62.5	3.55	8.1	5.55	13.20	0.78
T10	60	3.52	8.1	2.31	17.9	0.73

T11	62.5	3.52	8.08	1.29	13.6	0.68
T12	62	3.89	7.99	0.71	10.3	0.63
T13	61.5	3.52	8.09	3.09	13.70	0.71
T14	62.5	3.34	8.22	2.39	12.90	0.66
T15	60.5	3.34	8.18	4.17	18.9	0.68
T16	63.5	3.27	8.07	3.46	15.10	0.73
T17	60	3.73	8.18	8.68	15.9	0.76
T18	62.5	3.53	8.13	2.57	14.14	0.70

*= Características del suelo previo al experimento.

La disminución de la CE pudo deberse a la naturaleza del experimento, ya que se llevó a cabo en macetas, por lo que el constante riego pudo provocar un lavado de las sales. El aumento del contenido de materia orgánica en el T17 indica una interacción positiva entre la adición del fertilizante nitrogenado y la adición del inoculante bacteriano de *Bacillus megaterium* (1×10^9 UFC ml⁻¹) y *Kokuria rhizophila* (1×10^7 UFC ml⁻¹). Sin embargo, el aumento de materia orgánica no produjo algún cambio significativo en el desarrollo del trigo de las variables analizadas o en el contenido de algún otro componente del suelo en este trabajo de estudio (cuadro 25). Los tratamientos con más cantidad de No₃⁻ en el suelo corresponde al T15, que durante el experimento se adicionó UAN 32, *Bacillus megaterium* (1×10^7 UFC ml⁻¹) y *Kokuria rhizophila* (1×10^7 UFC ml⁻¹). Sin embargo, el aumento en el contenido de nitratos no produjo una diferencia significativa con los otros tratamientos en ninguna de las respuestas analizadas.

7.9. Experimento en condiciones de invernadero para *Lactuca sativa*

La siembra de *Lactuca sativa* se realizó el día 03 de diciembre de 2019 y las plantas fueron cosechadas el día 22 de marzo de 2020. El periodo de desarrollo de la planta hasta su cosecha fue bajo las condiciones ambientales de la región. En el **Cuadro 26** se enlistan las condiciones climáticas históricas, según la estación meteorológica más cercana al lugar donde se llevaron a cabo las pruebas: *Aeropuerto General Rodolfo Sánchez Taboada INTL (MMML)* Lat.32,630669 Long.-115,242439. La información sobre la duración del día a lo

largo del experimento se obtuvo a partir de un sitio web llamado *Dateandtime.info* a partir de la base de datos geográfica: <https://www.geonames.org/>.

Cuadro 26. Características climáticas del invernadero durante el crecimiento de *Lactuca sativa*: <https://www.meteored.mx/mexicali/historico>.

Temperatura (°C)			Duración del día (h)	
Mínima	Media	Máxima	Mínima	Máximo
2	15.5	28	10:07:26	12:13:29

7.9.1. Características de los tratamientos previo a la fertilización

Los primeros brotes se dieron 10 días después de la siembra (13 de diciembre de 2020). Para este experimento los 18 tratamientos también se evaluaron con réplicas de n=6. En el **Cuadro 27** se observa el porcentaje macetas que por tratamiento presentaron brotes en 10 días posteriores a la siembra. El único tratamiento con brote en todas sus réplicas fue el T12. Por otro lado, los tratamientos T11 y T13 contaron solamente con el desarrollo de brotes en una de las réplicas. Los resultados en ese momento fueron altamente heterogéneos que no se podría asumir que la respuesta de crecimiento es debido a alguna diferencia entre los factores que se comparan en este estudio.

Cuadro 27. Porcentaje de macetas con presencia de brote(s) de *Lactuca sativa* pasados 10 días de la siembra.

Tratamiento	Macetas con desarrollo de brote (s) (%)
T1 (control)	66.66
T2	33.33
T3	49.99
T4	49.99
T5	86.33
T6	49.99
T7	86.33
T8	86.33
T9	66.66
T10	33.33

T11	16.66
T12	100
T13	16.66
T14	66.66
T15	49.99
T16	33.33
T17	49.99
T18	49.99

Pasados 40 días de la siembra, todos los tratamientos en cada una de las macetas tenían al menos 3 brotes. Se dejó solamente uno por maceta que representara el tamaño promedio de cada tratamiento según sea el caso.

7.9.2. Características de los tratamientos posterior a la fertilización y biofertilización

La *California Fertilization Guidelines* de la CDFA sugiere que *Lactuca sativa* en la fase temprana de su crecimiento no requiere un alto contenido de N. Previo a la siembra se suministró la dosis recomendada de 20 ppm ya que la concentración de N en el suelo estaba por debajo del nivel recomendado. Después de 55 días de la siembra, se agregó el fertilizante (UAN 32) y el inóculo bacteriano (*Bacillus megaterium* y *Kokuria rhizophila*), ya que la recomendación para un óptimo rendimiento, es que el fertilizante se añada durante la etapa de crecimiento en la etapa de desarrollo de la cabeza de la lechuga.

A partir de la fertilización y biofertilización se realizaron 6 mediciones semanales del ICC desde el día 62 hasta el fin de la cosecha (110 días después de la siembra). Los resultados de la primera y segunda medición del ICC se muestran en la **Fig. 21**, y **Fig. 22** realizando la prueba Tukey con un nivel de confianza del 95% todos los valores de ICC tienen estadísticamente la misma media en ambas fechas.

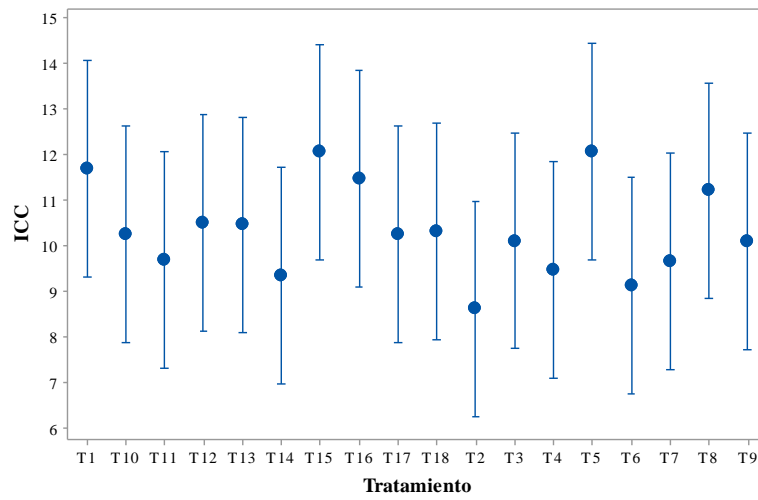


Fig. 21. Intervalos de las medias de los tratamientos para la primera medición del ICC de *Lactuca sativa*.

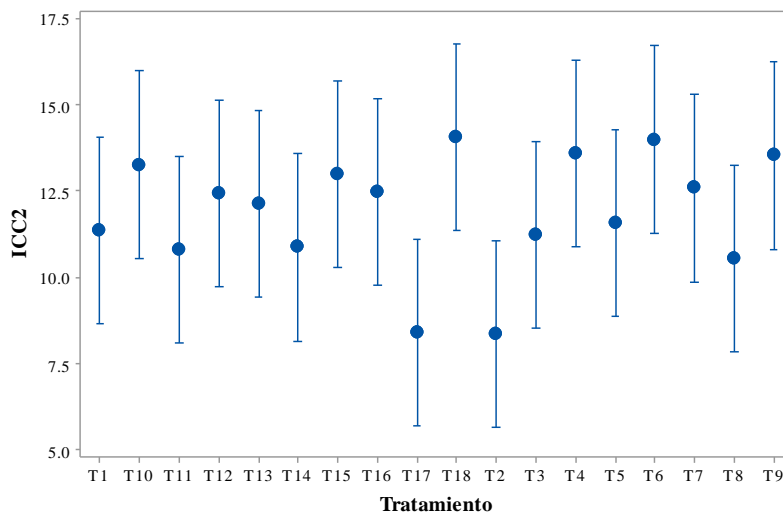


Fig. 22. Intervalos de las medias de los tratamientos para la segunda medición del ICC de *Lactuca sativa*.

Para la tercera medición se comparó la media de cada tratamiento respecto al ICC con la media del tratamiento control (T1) tratamiento que no contiene ninguno de los suplementos (fertilizante sintético o inóculo bacteriano).

Las últimas dos mediciones del ICC indicaron que las respuestas en los tratamientos fueron estadísticamente iguales entre sí, por lo tanto, hasta ese momento ninguno de los factores influyó positiva o negativamente para el ICC de las hojas de la lechuga a lo largo del experimento.

7.9.3. Características de *Lactuca sativa* después de la cosecha

La cosecha se realizó el día 22 de marzo de 2020, 109 días después de la siembra. Se desprendió con una navaja la parte aérea de la planta para realizar las mediciones que se mostrarán en los siguientes apartados. En condiciones asépticas se recolectaron 10 g de suelo rizosférico de cada maceta para los análisis microbiológicos y posteriormente 166.66 g para los análisis físicos y químicos. La parte restante de suelo se sumergió en agua y se realizaron filtrados para recuperar la mayor parte de raíz posible. Se realizó de ese modo por la saturación de raíz en las masetas (**Fig. 23**). Debido al exceso de raíces y la adhesión de éstas en las paredes de la maceta, en el experimento de *Lactuca sativa* no fue posible evaluar la longitud de la raíz.

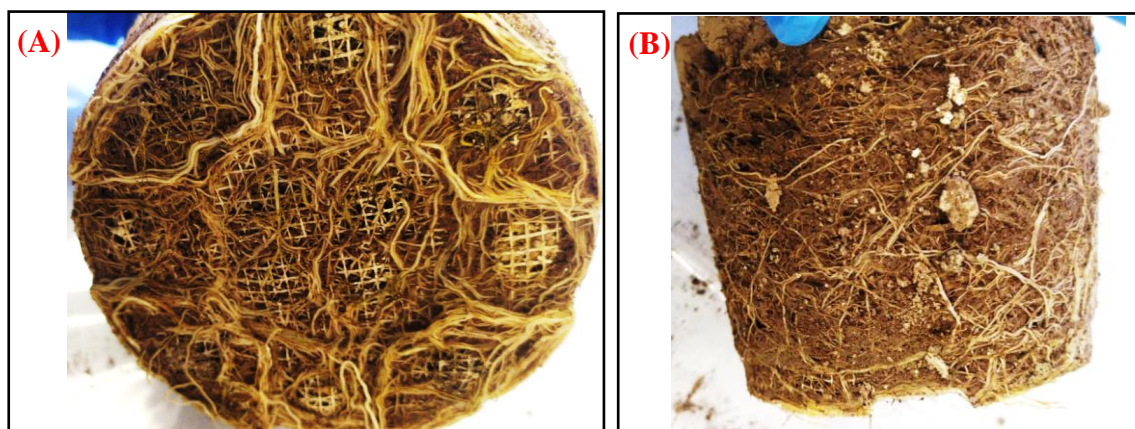


Fig. 23 (A) Parte inferior del suelo saturado de raíz. (B) Zona lateral del suelo.

7.9.3.1. Longitud de la parte aérea

La parte aérea de la planta se midió desde el inicio del tallo cilíndrico (**Fig. 24**) hasta el término de las hojas y se promedió (n=6). Para su medición, se colocaron individualmente sobre una superficie y se midieron con una cinta métrica.



Fig. 24. Especificación de punto para determinar la longitud de *Lactuca sativa*. Fotografía del T18.

Los factores o sus combinaciones no influyeron estadísticamente para el desarrollo de las plantas de lechuga, específicamente la longitud de sus hojas. Sin embargo, se puede observar la tendencia y el ligero efecto negativo al añadir el inóculo bacteriano (**Fig. 25**).

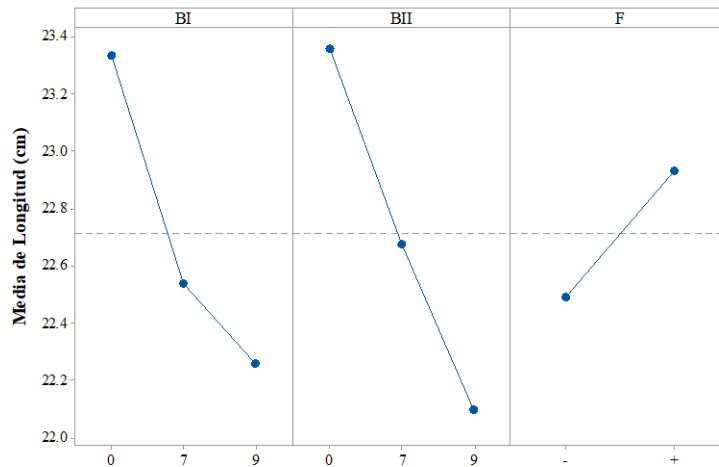


Fig. 25. Efectos principales para longitud de la parte aérea. Según un análisis de correlación de Pearson, existe una correlación positiva del 0.528 entre la longitud de las hojas y el peso fresco de la planta.

7.9.3.2. Peso de la parte aérea

El análisis de varianza mostró que ningún factor o interacción de factores causa algún efecto en cuanto al peso fresco de la parte aérea de las plantas de lechuga. Se realizó un análisis de comparación de Fisher con un nivel de confianza del 95%, y se encontró que los tratamientos T12 y T13 produjeron una cantidad de biomasa estadísticamente mayor que los tratamientos T9 y T15 (**Cuadro 28**).

Cuadro 28. Agrupación utilizando el método Fisher para el peso fresco.

Tratamiento	Media (g)	Grupo
T12	205.1557	A
T13	201.2548	A
T1	194.9331	AB
T7	169.9884	AB
T10	167.6214	AB
T8	158.2740	AB
T6	152.7618	AB
T5	150.6566	AB
T18	150.3259	AB
T11	131.4583	AB
T2	131.2775	AB
T17	130.8313	AB
T16	130.0250	AB

T14	129.0819	AB
T4	127.7050	AB
T3	124.3432	AB
T9	114.4609	B
T15	112.6039	B

Los tratamientos que no comparten letra son estadísticamente diferentes entre sí.

En cuanto al peso seco de la parte aérea, el análisis de varianza ANOVA mostró que no existe efecto de ninguno de los factores o interacciones de los factores. El análisis de Fisher (95% de confidencialidad) indicó una diferencia estadística entre la media más alta perteneciente al tratamiento T12 y las medias del tratamiento T11 y T14. (**Cuadro 29**).

Cuadro 29. Agrupación utilizando el método Fisher para el peso seco de parte aérea.

Tratamiento	Media	Grupo
T12	10.14	A
T10	9.125	AB
T17	8.936	AB
T1	8.787	AB
T13	8.69	AB
T3	8.607	AB
T5	8.48	AB
T7	8.37	AB
T2	8.198	AB
T6	8.06	AB
T8	7.92	AB
T9	7.421	AB
T18	7.19	AB
T4	6.929	AB
T15	6.58	AB
T16	6.55	AB
T11	5.32	B
T14	5.07	B

Los tratamientos que no comparten letra son estadísticamente diferentes entre sí.

Mediante la ecuación 4 se calculó el contenido de materia seca (%) de los tratamientos. El porcentaje de materia seca de la parte aérea global fue de 5.44%. La U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA) reporta que el porcentaje de agua en las plantas de lechuga es del 95.5%.

7.9.3.3. Peso de la raíz

Al igual que en los análisis anteriores, ningún factor o interacción entre factores, provocó según el análisis de varianza ANOVA, algún efecto significativo en la densidad de biomasa de la zona radical, que en este caso se midió en función de su peso fresco en gramos. Un análisis de Fisher con un 95% de confiabilidad (**Cuadro 30**) muestra las diferencias entre los tratamientos, que se dividen en 5 grupos. Los tratamientos con las medias más altas son los que pertenecen a la agrupación A, de ellos el 71% no fue suplementado con fertilizante sintético.

Cuadro 30. Agrupación utilizando el método Fisher para peso fresco de la raíz.

Tratamiento	Media	Grupo
T2	2.133	A
T1 (control)	2.000	AB
T5	1.839	ABC
T3	1.691	ABCD
T12	1.233	ABCDE
T17	1.150	ABCDE
T9	1.007	ABCDE
T13	0.901	BCDE
T15	0.899	BCDE
T7	0.874	BCDE
T8	0.844	CDE
T4	0.740	CDE
T14	0.720	CDE
T16	0.619	DE
T6	0.602	DE
T18	0.539	DE
T10	0.532	E
T11	0.521	E

Los tratamientos que no comparten letra son estadísticamente diferentes entre sí.

La respuesta en función de los diferentes métodos de fertilización, se puede observar en la **Fig. 26**. En ninguno de los casos el suplemento bacteriano o químico fue benéfico para el peso de la raíz (según su peso fresco); sin embargo, se puede observar una ligera disminución debido a la adición de fertilizante sintético a los tratamientos.

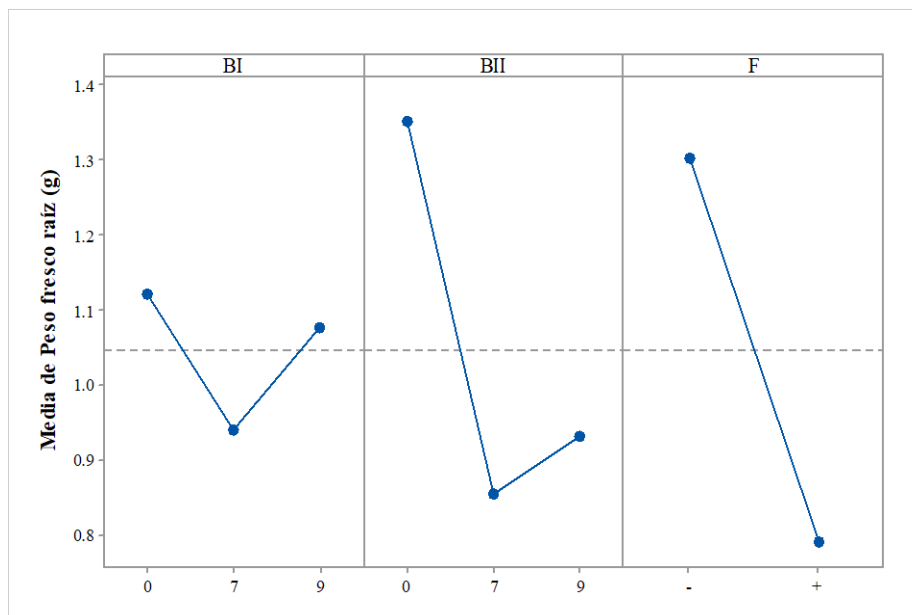


Fig. 26. Efectos principales para peso fresco de la raíz.

En el caso del peso seco de la raíz, según un análisis de varianza ANOVA los factores no fueron causa de respuesta positiva o negativa estadísticamente significativa, sin embargo, según un análisis de Fisher, las diferencias de las medias se categorizan en cuatro diferentes agrupaciones (**Cuadro 31**), el grupo A el 62.5% de las medias son tratamientos a los que no se les suplemento con fertilizante sintético y cuentan con diferentes dosis de aislados bacterianos.

Cuadro 31. Comparación del peso seco de la raíz según un análisis de Fisher.

Tratamiento	Media	Grupo
T2	2.133	A
T1	2.000	AB
T5	1.839	ABC
T3	1.691	ABCD
T12	1.233	ABCDE
T17	1.150	ABCDE
T9	1.007	ABCDE
T13	0.901	BCDE
T15	0.899	BCDE
T7	0.874	BCDE
T8	0.844	CDE
T4	0.740	CDE
T14	0.720	CDE

T16	0.619	DE
T6	0.602	DE
T18	0.539	DE
T10	0.532	E
T11	0.521	E

7.9.3.4. Número de hojas

Estadísticamente según un análisis de varianza con un nivel de confianza de 95% ninguno de los factores sus niveles influyeron en la cantidad de hojas desarrolladas por el cultivo de lechuga. El análisis de Fisher para comparar medias (**Cuadro 32**), muestra que el promedio del número de hojas del T12 es estadísticamente diferente al tratamiento T10, T14 y T11.

Cuadro 32. Número de hojas según método Fisher con 95% de confidencialidad.

Tratamiento	Media	Grupo
T12	21.50	A
T1 (control)	21.00	AB
T8	19.83	AB
T5	19.50	ABC
T7	19.33	ABC
T9	19.33	ABC
T4	19.00	ABC
T13	19.00	ABC
T16	18.83	ABC
T6	18.50	ABC
T15	18.17	ABC
T2	18.00	ABC
T18	17.83	ABC
T17	17.83	ABC
T3	17.33	ABC
T10	16.66	BC
T14	15.00	C
T11	14.83	C

Los tratamientos que no comparten letra son estadísticamente diferentes entre sí.

El análisis de los efectos principales (**Fig. 27**), demuestra que aquellos tratamientos que durante todo el proceso fueron suplementados con fertilizante sintético mostraron un ligero efecto negativo (estadísticamente no significativo); sin embargo, es importante

recalcar que para este caso de estudios la fertilización sintética disminuyó en una ligera medida, el desarrollo de la lechuga.

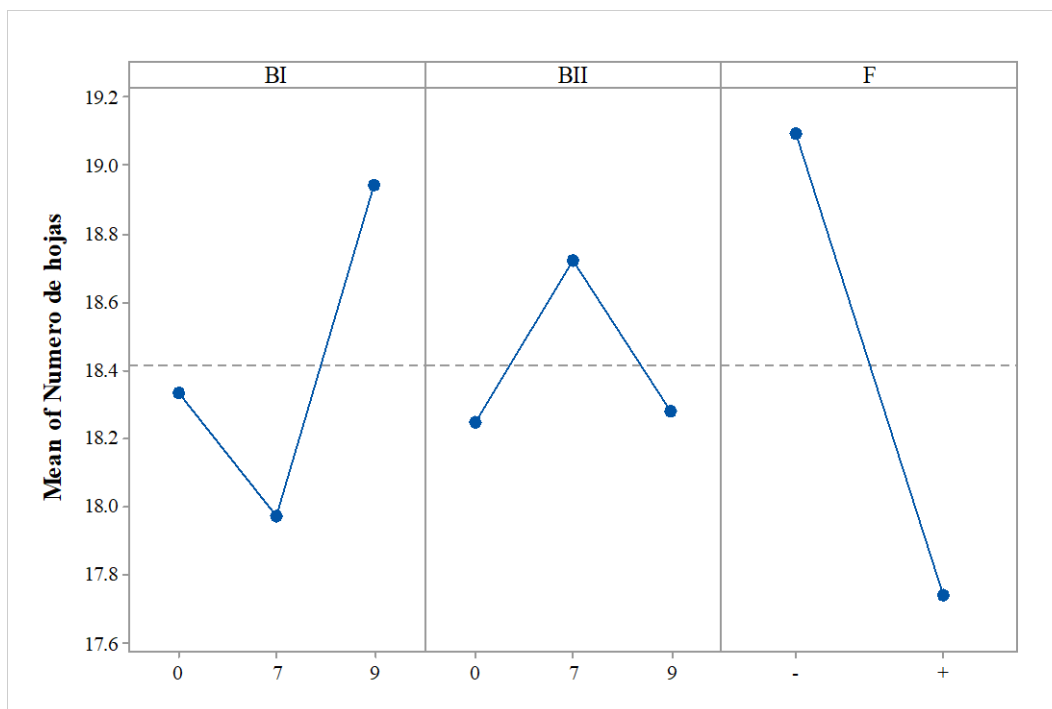


Fig. 27. Efectos principales para número de hojas de la planta.

Según el análisis de correlación de Pearson, existe una correlación positiva del 0.786 respecto al número de hojas y peso fresco.

7.9.3.5. Índice de contenido de clorofila

El análisis de varianza demostró que el índice de contenido de clorofila (ICC) no fue positiva o negativamente afectado por algún factor o interacción de factores de los diferentes tratamientos.

El 50% de los tratamientos mostró una media mayor que el control T1 y de ellos, el 33% fueron tratamientos que fueron suplementados con fertilizante sintético UAN 32.

7.9.3.6. Análisis microbiológico del suelo

El análisis de varianza ANOVA, mostró que ni los factores ni sus interacciones tienen efecto significativo en la cantidad de UFC g⁻¹ de suelo rizosférico. A pesar de ello, existen diferencias estadísticamente significativas entre las medias de distintos tratamientos (**Cuadro 33**). Esto se debe a que en todos los tratamientos las respuestas fueron heterogéneas que, a pesar de las medias más altas, no se puede estadísticamente, asegurar que es debido a uno de los factores del presente estudio (inoculo bacteriano o fertilizante sintético)

Cuadro 33. Agrupación utilizando el método Fisher para UFC g⁻¹.

Tratamiento	Media (UFC g ⁻¹)	Grupo
T15	2.3x10 ⁵	A
T7	2.2 x10 ⁵	AB
T16	2.0 x10 ⁵	ABC
T17	1.45 x10 ⁵	ABCD
T5	1.4x10 ⁵	BCD
T9	1.34 x10 ⁵	CD
T18	1.33 x10 ⁵	CD
T4	1.29 x10 ⁵	CD
T10	1.29 x10 ⁵	CD
T1	1.29 x10 ⁵	CD
T13	1.13 x10 ⁵	D
T6	1.10 x10 ⁵	D
T14	1.06 x10 ⁵	D
T11	1.05 x10 ⁵	D
T3	9.7 x10 ⁴	D
T12	9.6 x10 ⁴	D
T2	8.5 x10 ⁴	D
T8	6.2 x10 ⁴	D

Los tratamientos que no comparten letra son estadísticamente diferentes entre sí.

Según la gráfica de efectos principales la cantidad de UFC g⁻¹ se mira afectada negativamente por la adición de la BI (*Bacillus megaterium*) en su concentración alta (1x10⁹ UFC ml⁻¹), por el contrario, la adición del aislado bacteriano BII (*Kocuria rhizophila*), aumenta la concentración de UFC g⁻¹ de suelo rizosférico. El efecto menos significativo se observa con el fertilizante sintético, cuya concentración de UFC g⁻¹ de suelo rizosférico es ligeramente más elevado en su nivel alto (**Fig. 28**).

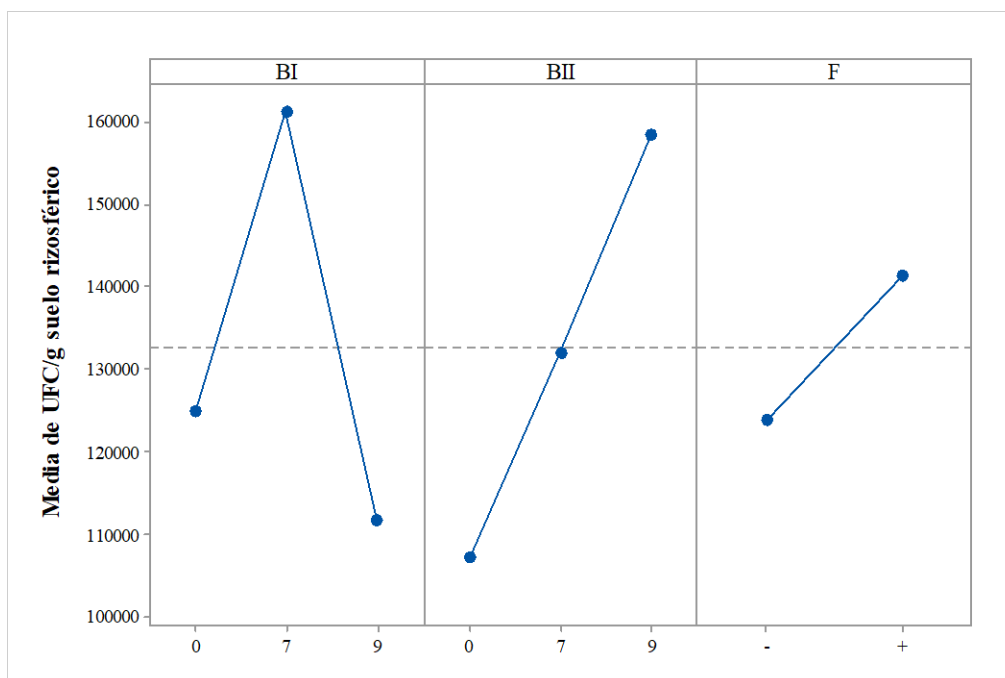


Fig. 28. Efectos principales para UFC g^{-1} de suelo rizosférico.

En general, en el experimento de *Lactuca sativa*, ningún factor (inoculo bacteriano y/o fertilizante sintético) y sus combinaciones impactaron negativa o positivamente en su desarrollo según las respuestas analizadas en el presente estudio. Diferentes estudios han tenido respuestas similares en cuanto al peso fresco de la lechuga como por ejemplo (Ayala et al., 2019), mientras que en otros experimentos con macetas y en invernadero, el desarrollo vegetal de la cabeza de *Lactuca sativa* alcanza los 600 g (Drăghici et al., 2016), siendo por tanto, competitivo para los productos comerciales actuales. Una de las principales diferencias entre ambos experimentos, es la suplementación de tres de los principales nutrientes N, P y K, y también varios micronutrientes Br, Cu, Zn, H. En este estudio, bajo las condiciones mencionadas en los apartados anteriores, se puede observar que, la tasa de fertilización de UAN 32 y/o el uso de organismos bacterianos no promovieron el desarrollo a escalas competitivas de *Lactuca sativa* (peso de la cabeza de lechuga).

8. Conclusión

El presente estudio muestra el desarrollo de cultivos agrícolas importantes de la región de Mexicali B.C. *Triticum aestivum* y *Lactuca sativa* en condiciones de invernadero bajo la suplementación de bacterias aisladas del suelo de la Laguna Salada B.C. *Bacillus megaterium* y *Kocuria rhizophila* en diferentes concentraciones, solas o en conjunto de UAN 32, un fertilizante nitrogenado comercial y común de la región. Las condiciones ambientales del experimento de *Triticum aestivum*, específicamente la luminancia a la que estuvieron expuestos los tratamientos, fue el único de los factores que influyó en su crecimiento. Por tanto, el trigo de la región es sensible a periodos de sombra que reducen su longitud, tamaño de espiga y número y peso de granos. Por otro lado, en el experimento de *Lactuca sativa* no se encontró diferencia entre la suplementación del inóculo bacteriano o el fertilizante sintético en cualquiera de sus combinaciones, demostrando entonces que se requiere un análisis más detallado a cerca de la tasa de fertilización y cuidado adecuado para *Lactuca sativa* en maceta en condiciones de invernadero.

9. REFERENCIAS

- Abbate, P. E., Andrade, F. H., Culot, J. P., & Bindraban, P. S. (1997). Grain yield in wheat: Effects of radiation during spike growth period. *Field Crops Research*, 54(2), 245–257. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(97\)00059-2](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0378-4290(97)00059-2)
- Acevedo, E., Silva, P., & Silva, H. (2002). Growth and wheat physiology, development. *Curtis, BC, Rajaram, S., and Gómez-Macpherson, H, June 2014*, 1–47. <http://www.agronomia.uchile.cl/centros/sap/publicaciones/finwheat.pdf>
- Ågren, G. I., Wetterstedt, J. Å. M., & Billberger, M. F. K. (2012). Nutrient limitation on terrestrial plant growth - modeling the interaction between nitrogen and phosphorus. *New Phytologist*, 194(4), 953–960. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2012.04116.x>
- Ahmadi, K., Razavi, B. S., Maharjan, M., Kuzyakov, Y., Kostka, S. J., Carminati, A., & Zarebanadkouki, M. (2018). Effects of rhizosphere wettability on microbial biomass, enzyme activities and localization to be published in: Rhizosphere. *Rhizosphere*, 7(July), 35–42. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2018.06.010>
- Ahmed, E., & Holmström, S. J. M. (2014). Siderophores in environmental research: Roles and applications. *Microbial Biotechnology*, 7(3), 196–208. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12117>
- Ansari, M. W., Tuteja, N., Mohanty, S., Sahoo, R. K., Pradhan, M., & Dangar, T. K. (2014). Phenotypic and molecular characterization of native Azospirillum strains from rice fields to improve crop productivity. *Protoplasma*, 251(4), 943–953. <https://doi.org/10.1007/s00709-013-0607-7>
- Asrar, G., Hipps, L. E., & Kanemasu, E. T. (1984). Assessing solar energy and water use efficiencies in winter wheat: A case study. *Agricultural and Forest Meteorology*, 31(1), 47–58. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0168-1923\(84\)90005-4](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0168-1923(84)90005-4)
- Ata-Ul-Karim, S. T., Cang, L., Wang, Y., & Zhou, D. (2019). Effects of soil properties, nitrogen application, plant phenology, and their interactions on plant uptake of cadmium in wheat. *Journal of Hazardous Materials*, August, 121452. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121452>

- Ayala, B., Huanca, C., & Fernández, C. (2019). Evaluation of lettuce (*Lactuca sativa*) crop in a hydroponic system under two levels of potassium chloride. *Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales*, 6, 66–71.
- Bai, C., Ge, Y., Ashton, R. W., Evans, J., Milne, A., Hawkesford, M. J., Whalley, W. R., Parry, M. A. J., Melichar, J., Feuerhelm, D., Basler, P. B., & Bartsch, M. (2019). The relationships between seedling root screens, root growth in the field and grain yield for wheat. *Plant and Soil*, 440(1), 311–326. <https://doi.org/10.1007/s11104-019-04088-9>
- Beed, F., Paveley, N., & Sylvester-Bradley, R. (2007). Predictability of wheat growth and yield in light-limited conditions. *The Journal of Agricultural Science*, 145. <https://doi.org/10.1017/S0021859606006678>
- Beneduzi, A., Ambrosini, A., & Passaglia, L. M. P. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Their potential as antagonists and biocontrol agents. *Genetics and Molecular Biology*, 35, 1044–1051. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572012000600020>
- Bhardwaj, D., Ansari, M. W., Sahoo, R. K., & Tuteja, N. (2014). Biofertilizers function as key player in sustainable agriculture by improving soil fertility, plant tolerance and crop productivity. *Microbial Cell Factories*, 13, 1–10. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-13-66>
- Byerlee, D., Stevenson, J., & Villoria, N. (2014). Does intensification slow crop land expansion or encourage deforestation? *Global Food Security*, 3(2), 92–98. <https://doi.org/10.1016/j.gfs.2014.04.001>
- Cantú, I., & Yañez, M. I. (2018). Efecto del cambio de uso de suelo en el contenido del carbono orgánico y nitrógeno del suelo. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 9(45), 122–151. <https://doi.org/10.29298/rmcf.v9i45.138>
- Carranza, C., Lancho, O., Miranda, D., & Chaves, B. (2009). Análisis del crecimiento de lechuga (*Lactuca sativa* L.) “Batavia” cultivada en un suelo salino de la Sabana de Bogotá. *Agronomía Colombiana*, 27, 41–48.
- Chandler, D., Bailey, A. S., Mark Tatchell, G., Davidson, G., Greaves, J., & Grant, W. P.

- (2011). The development, regulation and use of biopesticides for integrated pest management. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 366(1573), 1987–1998. <https://doi.org/10.1098/rstb.2010.0390>
- Chapin, F. S., Bloom, A. J., Field, C. B., & Waring, R. H. (1987). Multiple Environmental Factors to Responses Physiological ecology provides tools for studying how environmental interacting. *BioScience*, 37(1), 49–57. <http://www.jstor.org/stable/1310177?seq=2>
- Chen, W., Geng, Y., Hong, J., Yang, D., & Ma, X. (2018). Life cycle assessment of potash fertilizer production in China. *Resources, Conservation and Recycling*, 138(June), 238–245. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2018.07.028>
- Cheung, S., Suzuki, K., Saito, H., Umezawa, Y., Xia, X., & Liu, H. (2017). Highly heterogeneous diazotroph communities in the Kuroshio Current and the Tokara Strait, Japan. *PLoS ONE*, 12(10), 1–19. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0186875>
- Cocking, E. C. (2003). Endophytic colonization of plant roots by nitrogen-fixing bacteria. *Plant and Soil*, 252(1), 169–175. <https://doi.org/10.1023/A:1024106605806>
- de Souza, R., Ambrosini, A., & Passaglia, L. M. P. (2015). Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. *Genetics and Molecular Biology*, 38(4), 401–419. <https://doi.org/10.1590/S1415-475738420150053>
- Deknock, A., De Troyer, N., Houbraken, M., Dominguez-Granda, L., Nolivos, I., Van Echelpoel, W., Forio, M. A. E., Spanoghe, P., & Goethals, P. (2019). Distribution of agricultural pesticides in the freshwater environment of the Guayas river basin (Ecuador). *Science of the Total Environment*, 646, 996–1008. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.185>
- Dharma-wardana, M. W. C. (2018). Fertilizer usage and cadmium in soils, crops and food. *Environmental Geochemistry and Health*, 1–21. <https://doi.org/10.1007/s10653-018-0140-x>
- Drăghici, E. M., Dobrin, E., Jerca, I. O., Bărbulescu, I. M., Jurcoane, S., & Lagunovschi-Luchian, V. (2016). Organic fertilizer effect on Lettuce (*Lactuca sativa* L.) cultivated

- in nutrient film technology. *Romanian Biotechnological Letters*, 21(5), 11905–11913.
- Egamberdieva, D., Wirth, S. J., Alqarawi, A. A., Abd-Allah, E. F., & Hashem, A. (2017). Phytohormones and beneficial microbes: Essential components for plants to balance stress and fitness. *Frontiers in Microbiology*, 8(OCT), 1–14.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02104>
- Ellis, J. R., & McCalla, T. M. (1973). Effects of patulin and method of application on growth stages of wheat. *Applied Microbiology*, 25(4), 562–566.
- Espinoza, L., Slaton, N., & Mozaffari, M. (2006). Understanding the Numbers on Your Soil Test Report. *Agriculture and Natural Resources*, 4.
- Fang, X., Li, Y., Nie, J., Wang, C., Huang, K., Zhang, Y., Zhang, Y., She, H., Liu, X., Ruan, R., Yuan, X., & Yi, Z. (2018). Effects of nitrogen fertilizer and planting density on the leaf photosynthetic characteristics, agronomic traits and grain yield in common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* M.). *Field Crops Research*, 219(February), 160–168. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2018.02.001>
- Fields, S. (2004). Global Nitrogen: Cycling out of control. *Environmental Health Perspectives*, 112(10), 556–563. <https://doi.org/10.1289/ehp.112-a556>
- Fujita, H., Aoki, S., & Kawaguchi, M. (2014). Evolutionary dynamics of nitrogen fixation in the legume-rhizobia symbiosis. *PLoS ONE*, 9(4).
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093670>
- Fukuda, M., Matsuo, S., Kikuchi, K., Kawazu, Y., Fujiyama, R., & Honda, I. (2011). Isolation and functional characterization of the FLOWERING LOCUS T homolog, the LsFT gene, in lettuce. *Journal of Plant Physiology*, 168(13), 1602–1607.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jplph.2011.02.004>
- Gallagher, J. N., & Biscoe, P. V. (1978). Radiation absorption, growth and yield of cereals. *The Journal of Agricultural Science*, 91(1), 47–60. <https://doi.org/DOI:10.1017/S0021859600056616>
- Geisseler, D., & Scow, K. M. (2014). Long-term effects of mineral fertilizers on soil microorganisms - A review. *Soil Biology and Biochemistry*, 75, 54–63.

<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.03.023>

- Ghersa, C. M., Martinez-ghersa, M. A., Casal, J. J., Roush, M. L., Deregibus, V. A., Technology, S. W., Mar, J., Mar, N. J., Ghersa, C. M., Martinez-ghersa, M. A., Casal, J. J., Kaufman, M., Roush, M. L., & Deregibus, V. A. (1994). Effect of Light on Winter Wheat (*Triticum aestivum*) and Italian Ryegrass (*Lolium multiflorum*) Competition Published by : Cambridge University Press on behalf of the Weed Science Society of America Stable URL : <https://www.jstor.org/stable/3988263> (*Lo. Weed Science Society of America*, 8(1), 37–45.
- Giehl, R. F., Meda, A. R., & von Wirén, N. (2009). Moving up, down, and everywhere: signaling of micronutrients in plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 12(3), 320–327. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2009.04.006>
- Glick, B. R. (1995). The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Canadian Journal of Microbiology*, 41(2), 109–117. <https://doi.org/10.1139/m95-015>
- 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(2), 793–796. <https://doi.org/10.1111/1471-0528.12877>
- Goldstein, A. H. (1986). Bacterial solubilization of mineral phosphates: Historical perspective and future prospects. *American Journal of Alternative Agriculture*, 1(2), 51–57. <https://doi.org/10.1017/S0889189300000886>
- González-Acevedo, Z. I., García-Zarate, M. A., Núñez-Zarco, E. A., & Anda-Martín, B. I. (2018). Heavy metal sources and anthropogenic enrichment in the environment around the Cerro Prieto Geothermal Field, Mexico. *Geothermics*, 72(November 2017), 170–181. <https://doi.org/10.1016/j.geothermics.2017.11.004>
- Gopalakrishnan, S., Sathya, A., Vijayabharathi, R., Varshney, R. K., Gowda, C. L. L., & Krishnamurthy, L. (2015). Plant growth promoting rhizobia: challenges and opportunities. *3 Biotech*, 5(4), 355–377. <https://doi.org/10.1007/s13205-014-0241-x>
- Gourevitch, J. D., Keeler, B. L., & Ricketts, T. H. (2018). Determining socially optimal

- rates of nitrogen fertilizer application. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 254(November 2017), 292–299. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.12.002>
- Grijalva, A. (2014). Agroindustria y algodón en el valle de Mexicali. La compañía industrial jabonera del pacífico. *Estudios Fronterizos*, 15(30), 11–42. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-69612014000200001&lng=en&tlng=en&refineString=null&timeSpan=null&SID=T2sIFkoNWTTOizCIGHI
- Guo, W., Nazim, H., Liang, Z., & Yang, D. (2015). ScienceDirect Magnesium deficiency in plants : An urgent problem. *CJ*, 4(2), 83–91. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2015.11.003>
- Gupta, D. K., Chatterjee, S., Datta, S., Veer, V., & Walther, C. (2014). Role of phosphate fertilizers in heavy metal uptake and detoxification of toxic metals. *Chemosphere*, 108, 134–144. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.01.030>
- Hao, J.-H., Zhang, L.-L., Li, P.-P., Sun, Y.-C., Li, J.-K., Qin, X.-X., Wang, L., Qi, Z.-Y., Xiao, S., Han, Y.-Y., Liu, C.-J., & Fan, S.-X. (2018). Quantitative Proteomics Analysis of Lettuce (*Lactuca sativa* L.) Reveals Molecular Basis-Associated Auxin and Photosynthesis with Bolting Induced by High Temperature. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(10). <https://doi.org/10.3390/ijms19102967>
- Herrmann, L., & Lesueur, D. (2013). Challenges of formulation and quality of biofertilizers for successful inoculation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(20), 8859–8873. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-5228-8>
- Holford, I. C. R. (1997). Soil phosphorus: Its measurement, and its uptake by plants. *Australian Journal of Soil Research*. <https://doi.org/10.1071/S96047>
- Ikoyi, I., Egeter, B., Chaves, C., Ahmed, M., Fowler, A., & Schmalenberger, A. (2020). Responses of soil microbiota and nematodes to application of organic and inorganic fertilizers in grassland columns. *Biology and Fertility of Soils*, 56(5), 647–662. <https://doi.org/10.1007/s00374-020-01440-5>
- Judkins, G., & Myint, S. (2012). Spatial variation of soil salinity in the Mexicali Valley,

- Mexico: Application of a practical method for agricultural monitoring. *Environmental Management*, 50(3), 478–489. <https://doi.org/10.1007/s00267-012-9889-3>
- Kasahara, H. (2016). Current aspects of auxin biosynthesis in plants. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 80(1), 34–42. <https://doi.org/10.1080/09168451.2015.1086259>
- Kim, D., Shang, X., Assefa, A. D., Keum, Y., & Saini, R. K. (2020). *Metabolite profiling of green, green/red, and red lettuce cultivars: Variation in health beneficial compounds and antioxidant potential*. 3–5.
- Kraiser, T., Gras, D. E., Gutiérrez, A. G., González, B., & Gutiérrez, R. A. (2011). A holistic view of nitrogen acquisition in plants. *Journal of Experimental Botany*, 62(4), 1455–1466. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq425>
- Krulwich, Liu, J., Morino, M., Fujisawa, M., Ito, M., & Hicks, D. B. (2011). Adaptive Mechanisms of Extreme Alkaliphiles. In *Extremophiles Handbook* (Springer, Vol. 172, Issue October 2018, pp. 119–139). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2018.09.041>
- Krulwich, Terry, Morino, Fujisawa, M., & Terry, A. (2011). Adaptive Mechanisms of Extreme Alkaliphiles. In *Extremophiles Handbook*. https://doi.org/10.1007/978-4-431-53898-1_7
- Latifi, Z., & Jalali, M. (2018). Trace element contaminants in mineral fertilizers used in Iran. *Environmental Science and Pollution Research*, 1996, 1–12. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1810-z>
- Li, X., Sun, P., Zhang, Y., Jin, C., & Guan, C. (2020). A novel PGPR strain *Kocuria rhizophila* Y1 enhances salt stress tolerance in maize by regulating phytohormone levels, nutrient acquisition, redox potential, ion homeostasis, photosynthetic capacity and stress-responsive genes expression. *Environmental and Experimental Botany*, 174, 104023. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104023>
- Li, Y., Liu, X., Hao, T., & Chen, S. (2017). Colonization and maize growth promotion induced by phosphate solubilizing bacterial isolates. *International Journal of*

Molecular Sciences, 18(7). <https://doi.org/10.3390/ijms18071253>

- Li, Zhang, Y., Wang, W., Khan, M. R., Cong, R., & Lu, J. (2018). Establishing grading indices of available soil potassium on paddy soils in Hubei province, China. *Scientific Reports*, 8(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-33802-3>
- Liu, J., You, L., Amini, M., Obersteiner, M., Herrero, M., Zehnder, A. J. B., & Yang, H. (2010). A high-resolution assessment on global nitrogen flows in cropland. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(17), 8035–8040. <https://doi.org/10.1073/pnas.0913658107>
- Liu, Sung, Chen, & Lai. (2014). Effects of nitrogen fertilizers on the growth and nitrate content of lettuce (*Lactuca sativa* L.). *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 11(4), 4427–4440. <https://doi.org/10.3390/ijerph110404427>
- Lopéz, A. (2015). *BACTERIAS EXTREMÓFILAS Y SU POTENCIAL EN LA PRODUCCIÓN DE AUXINAS Y METABOLITOS CON ACTIVIDAD TENSOACTIVA*. Universidad Autónoma de Baja California.
- Lunagaria, M., Patel, H., & Pandey, V. (2015). Evaluation and calibration of noninvasive leaf chlorophyll meters for wheat. *Journal of Agrometeorology*, 17, 51–54.
- Lunagaria, M., & Patel, H. R. (2017). Changes in reflectance anisotropy of wheat crop during different phenophases. *International Agrophysics*, 31(2), 203–218. <https://doi.org/10.1515/intag-2016-0045>
- Macrae, R. J., Hill, S. B., Henning, J., & Mehuys, G. R. (1989). Agricultural Science and Sustainable Agriculture: a Review of the Existing Scientific Barriers to Sustainable Food Production and Potential Solutions*. *Biological Agriculture & Horticulture: An International Journal for Sustainable Production Systems*, 6(3), 173–219. <https://doi.org/10.1080/01448765.1989.9754518>
- Malusá, E., & Vassilev, N. (2014). A contribution to set a legal framework for biofertilisers. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(15), 6599–6607. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-5828-y>

- Marx, E. S., Hart, J., & Stevens, R. G. (1999). *Soil Test Interpretation Guide*. Oregon State University Extension Service.
- Mayer, A. M. (1958). Determination of Indole Acetic Acid by the Salkowsky Reaction. *Nature*, *182*(4650), 1670–1671. <https://doi.org/10.1038/1821670a0>
- McMaster, G. S., Wilhelm, W. W., Palic, D. B., Porter, J. R., & Jamieson, P. D. (2003). Spring wheat leaf appearance and temperature: Extending the paradigm? *Annals of Botany*, *91*(6), 697–705. <https://doi.org/10.1093/aob/mcg074>
- Meena, V. S., Maurya, B. R., Verma, J. P., Aeron, A., Kumar, A., Kim, K., & Bajpai, V. K. (2015). Potassium solubilizing rhizobacteria (KSR): Isolation, identification, and K-release dynamics from waste mica. *Ecological Engineering*, *81*, 340–347. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2015.04.065>
- Mehrabadi, J. F., Mirzaie, A., Ahangar, N., Rahimi, A., & Rokni-Zadeh, H. (2016). Draft Genome Sequence of *Kocuria rhizophila* RF, a Radiation-Resistant Soil Isolate. *Genome Announcements*, *4*(2). <https://doi.org/10.1128/genomeA.00095-16>
- Mena, J. A. M., Gema, M., & Limón, L. (2005). Desarrollo agrícola y uso de agroquímicos en el valle de Mexicali. *Estudios Fronterizos*, *6*, 119–153.
- Mesbah, N. M., & Wiegand, J. (2012). Life under multiple extreme conditions: Diversity and physiology of the Halophilic alkalithermophiles. *Applied and Environmental Microbiology*, *78*(12), 4074–4082. <https://doi.org/10.1128/AEM.00050-12>
- Munns, R., & Tester, M. (2008). Mechanisms of Salinity Tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, *59*(1), 651–681. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911>
- Nascimento, F. X., Hernández, A. G., Glick, B. R., & Rossi, M. J. (2020). Plant growth-promoting activities and genomic analysis of the stress-resistant *Bacillus megaterium* STB1, a bacterium of agricultural and biotechnological interest. *Biotechnology Reports (Amsterdam, Netherlands)*, *25*, e00406. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00406>
- Nascimento, F. X., Rossi, M. J., & Glick, B. R. (2018). Ethylene and 1-

- Aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) in Plant–Bacterial Interactions. *Frontiers in Plant Science*, 9(February), 1–17. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00114>
- Nicholson, W. L., Fajardo-Cavazos, P., Rebeil, R., Slieman, T. A., Riesenman, P. J., Law, J. F., & Xue, Y. (2002). Bacterial endospores and their significance in stress resistance. *Antonie van Leeuwenhoek*, 81(1–4), 27–32. <https://doi.org/10.1023/a:1020561122764>
- Nicolle, C., Cardinault, N., Gueux, E., Jaffrelo, L., Rock, E., Mazur, A., Amouroux, P., & Rémésy, C. (2004). Health effect of vegetable-based diet: lettuce consumption improves cholesterol metabolism and antioxidant status in the rat. *Clinical Nutrition (Edinburgh, Scotland)*, 23(4), 605–614. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2003.10.009>
- Novoa, R., & Loomis, R. S. (1981). Nitrogen and plant production. *Plant and Soil*. <https://doi.org/10.1007/BF02180053>
- Olsen, S. R., Cole, C. V., Watanabe, F. S., & Dean, L. a. (1954). Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. *Washington United States Departement of Agriculture USDA*. <https://doi.org/10.2307/302397>
- Onda, Y., Hashimoto, K., Yoshida, T., Sakurai, T., Sawada, Y., Hirai, M. Y., Toyooka, K., Mochida, K., & Shinozaki, K. (2015). Determination of growth stages and metabolic profiles in *Brachypodium distachyon* for comparison of developmental context with Triticeae crops. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 282(1811). <https://doi.org/10.1098/rspb.2015.0964>
- Orhan, F. (2016). Alleviation of salt stress by halotolerant and halophilic plant growth-promoting bacteria in wheat (*Triticum aestivum*). *Brazilian Journal of Microbiology*, 47(3), 621–627. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.04.001>
- Ortega, L., García, J. L., Fimbres, N. A., & Rojas, R. I. (2013). Caracterización del paisaje del Valle de Mexicali según sus habitantes Aproximaciones textuales a la topofilia. *Culturales*, 1(2), 55–90.
- Osborne, L. D., & Rengel, Z. (2002). Growth and P uptake by wheat genotypes supplied with phytate as the only P source. *Australian Journal of Agricultural Research*, 53(7),

845–850. <https://doi.org/10.1071/AR01102>

- Pantigoso, H. A., Manter, D. K., & Vivanco, J. M. (2018). Phosphorus addition shifts the microbial community in the rhizosphere of blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.). *Rhizosphere*, 7(May), 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2018.06.008>
- Ramírez, M. L., Mendoza, G. D., Duran, C. C., & Juarez, G. O. (2015). Molecular identification of phosphate-solubilizing native bacteria isolated from the rhizosphere of *Prosopis glandulosa* in Mexicali valley. *Genetics and Molecular Research*, 14(1), 2793–2798. <https://doi.org/10.4238/2015.March.31.9>
- Rasmann, S., & Turlings, T. C. J. (2016). Root signals that mediate mutualistic interactions in the rhizosphere. *Current Opinion in Plant Biology*, 32, 62–68. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2016.06.017>
- Ravishankara, A. R. (2013). *Nitrous Oxide (N₂O): The Dominant Ozone-Depleting Substance Emitted in the 21st Century* A. R. Ravishankara. 123(2009), 2007–2010. <https://doi.org/10.1126/science.1176985>
- Reséndiz, A. L. (2018). *BACTERIAS DE UN AMBIENTE EXTREMO, FIJADORAS DE NITRÓGENO Y SOLUBILIZADORAS DE FOSFATO DE CALCIO TOLERANTES A ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS Y RADIACIÓN U.V.* Universidad Autónoma de Baja California.
- Restrepo, S. (2017). Mecanismos de acción de hongos y bacterias empleados como biofertilizantes en suelos agrícolas: una revisión sistemática. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 18(2), 335. https://doi.org/10.21930/rcta.vol18_num2_art:635
- Richardson, A. E., & Simpson, R. J. (2011). Soil Microorganisms Mediating Phosphorus Availability Update on Microbial Phosphorus. *Plant Physiology*, 156(3), 989–996. <https://doi.org/10.1104/pp.111.175448>
- Sajjad, M., Yu, H., Tong, Y., Jiao, Y., Wang, X., Tian, C., Gao, C., & Wang, Y. (2017). Transcriptome association identifies regulators of wheat spike architecture. *Plant Physiology*, 175(October), pp.00694.2017. <https://doi.org/10.1104/pp.17.00694>

- Saldaña, R. (2016). *BACTERIAS ASOCIADAS A PLANTAS DE LA LAGUNA LA SALADA, BAJA CALIFORNIA Y POSIBLES APLICACIONES EN LA INDUSTRIA*. Universidad Autónoma de Baja California.
- Santi, C., Bogusz, D., & Franche, C. (2013). Biological nitrogen fixation in non-legume plants. *Annals of Botany*, *111*(5), 743–767. <https://doi.org/10.1093/aob/mct048>
- Savage, J. C., Lisowski, M., King, N. E., & Gross, W. K. (1994). Strain accumulation along the Laguna Salada fault, Baja California, Mexico. *Journal of Geophysical Research: Solid Earth*, *99*, 18109–18116. <https://doi.org/10.1029/94JB01471>
- Schachtman, D. P., Reid, R. J., & Ayling, S. M. (1998). Phosphorus Uptake by Plants: From Soil to Cell. *Plant Physiology*. <https://doi.org/10.1104/pp.116.2.447>
- Schlesinger, W. H. (2009). On the fate of anthropogenic nitrogen. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *106*(1), 203–208. <https://doi.org/10.1073/pnas.0810193105>
- Sharma, Sayyed, R. Z., Trivedi, M. H., & Gobi, T. A. (2013). Phosphate solubilizing microbes: Sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *SpringerPlus*, *2*(1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-587>
- Shewry, P. R., & Hey, S. J. (2015). The contribution of wheat to human diet and health. *Food and Energy Security*, *4*(3), 178–202. <https://doi.org/10.1002/FES3.64>
- Shin, R. (2014). *Strategies for Improving Potassium Use Efficiency in Plants*. *37*(8), 575–584. <https://doi.org/10.14348/molcells.2014.0141>
- Silva-Navas, J., Moreno-Risueno, M. A., Manzano, C., Pallero-Baena, M., Navarro-Neila, S., Téllez-Robledo, B., Garcia-Mina, J. M., Baigorri, R., Gallego, F. J., & Del Pozo, J. C. (2015). D-Root: A system for cultivating plants with the roots in darkness or under different light conditions. *Plant Journal*, *84*(1), 244–255. <https://doi.org/10.1111/tpj.12998>
- Singh, & Gabani, P. (2011). Extremophiles: Radiation resistance microbial reserves and therapeutic implications. *Journal of Applied Microbiology*, *110*(4), 851–861. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2011.04971.x>

- Singh, & Gupta. (2018). Soil microbial biomass: A key soil driver in management of ecosystem functioning. *Science of the Total Environment*, 634, 497–500.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.373>
- Singh, Pandey, V. C., & Singh, D. P. (2011). Efficient soil microorganisms: A new dimension for sustainable agriculture and environmental development. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 140(3–4), 339–353.
<https://doi.org/10.1016/j.agee.2011.01.017>
- Spalding, E. P., Hirsch, R. E., Lewis, D. R., Qi, Z., Sussman, M. R., & Lewis, B. D. (1999). Potassium Uptake Supporting Plant Growth in the Absence of AKT1 Channel Activity: Inhibition by Ammonium and Stimulation by Sodium. *The Journal of General Physiology*. <https://doi.org/10.1085/jgp.113.6.909>
- Stoessel, F., Sonderegger, T., Bayer, P., & Hellweg, S. (2018). Assessing the environmental impacts of soil compaction in Life Cycle Assessment. *Science of the Total Environment*, 630, 913–921. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.02.222>
- Suyal, D. C., Soni, R., Sai, S., & Goel, R. (2016). Microbial Inoculants as Biofertilizer. In D. P. Singh, H. B. Singh, & R. Prabha (Eds.), *Microbial Inoculants in Sustainable Agricultural Productivity: Vol. 1: Research Perspectives* (pp. 311–318). Springer India. https://doi.org/10.1007/978-81-322-2647-5_18
- Tayefeh, M., Sadeghi, S. M., Noorhosseini, S. A., Bacenetti, J., & Damalas, C. A. (2018). Environmental impact of rice production based on nitrogen fertilizer use. *Environmental Science and Pollution Research*, 15885–15895.
<https://doi.org/10.1007/s11356-018-1788-6>
- Theodorou, M. E., & Plaxton, W. C. (1993). Metabolic Adaptations. *Plant Physiology*, 101(2), 339–344.
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=160576&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Tilman, D. (1999). Global environmental impacts of agricultural expansion: The need for sustainable and efficient practices. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(11), 5995–6000. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.11.5995>

- Tilman, D., Fargione, J., Wolff, M., Dobson, A., Howarth, R., Schindler, D., Schlesinger, W. H., Simberloff, D., & Swackhamer, D. (2001). Forecasting Agriculturally Driven Environmental Change. *American Association For the Advancement of Science*.
 File:///C:/Users/Livia/OneDrive/DOCUMENTOS/Doutorado/Artigos/Cabellos 2015.Pdf of Science, 292(5515), 281–284. <https://doi.org/10.1126/science.1057544>
- Tomar, N., & Agarwal, R. (2013). Influence of Treatment of *Jatropha curcas* L. Leachates and Potassium on Growth and Phytochemical Constituents of Wheat (*Triticum aestivum* L.). *American Journal of Plant Sciences*, 04, 1134–1150.
<https://doi.org/10.4236/ajps.2013.45140>
- Trevizan, L. C., Santos, D., Samad, R. E., Vieira, N. D., Nomura, C. S., Nunes, L. C., Rufini, I. A., & Krug, F. J. (2008). Evaluation of laser induced breakdown spectroscopy for the determination of macronutrients in plant materials. *Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy*, 63(10), 1151–1158.
<https://doi.org/10.1016/j.sab.2008.08.005>
- Umadevi, P., Anandaraj, M., Srivastav, V., & Benjamin, S. (2018). *Trichoderma harzianum* MTCC 5179 impacts the population and functional dynamics of microbial community in the rhizosphere of black pepper (*Piper nigrum* L.). *Brazilian Journal of Microbiology*, 49(3), 463–470. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.05.011>
- Van Kauwenbergh, S. J. (2010). World Phosphate Rock Reserves and Resources Technical Bulletin IFDC-T-75. *Ifdc-T-75*. <https://doi.org/ISBN 978-9-88999-167-3>
- Vance, C. P., Uhde-Stone, C., & Allan, D. L. (2003). Phosphorus acquisition and use: Critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. In *New Phytologist*. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00695.x>
- Vejan, P., Abdullah, R., Khadiran, T., Ismail, S., & Nasrulhaq Boyce, A. (2016). Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability-A review. *Molecules*, 21(5), 1–17. <https://doi.org/10.3390/molecules21050573>
- Velázquez, N., Schorr, M., García Cueto, O. R., Santillán Soto, N., Ojeda Benítez, S., & Quintero Núñez, M. (2015). Greenhouse gases mitigation against climate change: United States-Mexico border study case. *Atmósfera*, 26(4), 499–507.

[https://doi.org/10.1016/s0187-6236\(13\)71091-9](https://doi.org/10.1016/s0187-6236(13)71091-9)

- Venturi, V., & Keel, C. (2016). Signaling in the Rhizosphere. *Trends in Plant Science*, 21(3), 187–198. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.01.005>
- Verma, P., Yadav, A. N., Kumar, V., Singh, D. P., & Saxena, A. K. (2017). Beneficial Plant-Microbes Interactions: Biodiversity of Microbes from Diverse Extreme Environments and Its Impact for Crop Improvement. In D. P. Singh, H. B. Singh, & R. Prabha (Eds.), *Plant-Microbe Interactions in Agro-Ecological Perspectives: Volume 2: Microbial Interactions and Agro-Ecological Impacts* (pp. 543–580). Springer Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-10-6593-4_22
- Vessey, J. K. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*, 255(2), 571–586. <https://doi.org/10.1023/A:1026037216893>
- Vitousek, P. M., Mooney, H. a, Lubchenco, J., & Melillo, J. M. (1997). Human Domination of Earth' s Ecosystems. *Science*, 277(5325), 494–499. <https://doi.org/10.1126/science.277.5325.494>
- Wang, Chu, J., Yu, T., Xu, Q., Sun, X., Yuan, J., Xiong, G., Wang, G., Wang, Y., & Li, J. (2015). Tryptophan-independent auxin biosynthesis contributes to early embryogenesis in Arabidopsis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(15), 4821–4826. <https://doi.org/10.1073/pnas.1503998112>
- Wang, M., Zheng, Q., Shen, Q., & Guo, S. (2013). The critical role of potassium in plant stress response. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(4), 7370–7390. <https://doi.org/10.3390/ijms14047370>
- Wollenweber, Porter, & Schellberg. (2003). Lack of interaction between extreme high-temperature events at vegetative and reproductive growth stages in wheat. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 189, 142–150.
- Young, J. L. M., Kanashiro, S., Jocys, T., & Tavares, A. R. (2018). Silver vase bromeliad: Plant growth and mineral nutrition under macronutrients omission. *Scientia Horticulturae*, 234(February), 318–322. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.02.002>

- Zeng, M., Zhong, Y., Cai, S., & Diao, Y. (2018). Deciphering the bacterial composition in the rhizosphere of *Baphicacanthus cusia* (NeeS) Bremek. *Sci Rep.*, *1*, 1–11.
<https://doi.org/10.1038/s41598-018-34177-1>
- Zheng, Y., Mai, B., Wu, R., Feng, Y., Sofu, A., Ni, Y., Sun, J., Li, J., & Xu, J. (2011). Acclimation of winter wheat (*Triticum aestivum*, cv. Yangmai 13) to low levels of solar irradiance. *Photosynthetica*, *49*(3), 426. <https://doi.org/10.1007/s11099-011-0055-6>
- Zörb, C., Senbayram, M., & Peiter, E. (2014). Potassium in agriculture - Status and perspectives. *Journal of Plant Physiology*, *171*(9), 656–669.
<https://doi.org/10.1016/j.jplph.2013.08.008>

10. ANEXOS

10.1. ANOVA de ICC segunda medición

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value	
Model	22	2220.49	100.93	1.96	0.015	
Blocks	5	988.32	197.66	3.83	0.004	se apoya h0
Linear	5	368.50	73.70	1.43	0.223	
BI	2	88.03	44.01	0.85	0.430	
BII	2	123.99	62.00	1.20	0.306	
F	1	156.48	156.48	3.03	0.085	
2-Way Interactions	8	676.68	84.59	1.64	0.126	
BI*BII	4	230.76	57.69	1.12	0.354	
BI*F	2	207.93	103.97	2.01	0.140	
BII*F	2	237.99	119.00	2.31	0.106	
3-Way Interactions	4	186.97	46.74	0.91	0.465	
BI*BII*F	4	186.97	46.74	0.91	0.465	
Error	85	4387.44	51.62			
Total	107	6607.93				

10.2. ANOVA para longitud de raíz

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value	
Model	22	3473.2	157.87	2.01	0.012	
Blocks	5	2438.3	487.65	6.22	0.000	Se apoya h0
Linear	5	358.4	71.69	0.91	0.476	
BI	2	173.7	86.85	1.11	0.335	
BII	2	150.3	75.14	0.96	0.388	
F	1	34.5	34.45	0.44	0.509	
2-Way Interactions	8	330.0	41.24	0.53	0.834	
BI*BII	4	167.5	41.88	0.53	0.711	
BI*F	2	50.5	25.25	0.32	0.726	
BII*F	2	111.9	55.97	0.71	0.493	
3-Way Interactions	4	346.6	86.65	1.10	0.360	
BI*BII*F	4	346.6	86.65	1.10	0.360	
Error	85	6665.7	78.42			
Total	107	10138.9				

10.3. ANOVA para peso fresco de la parte aérea de la planta

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value	
Model	22	1.21783	0.055356	1.66	0.052	
Blocks	5	0.65763	0.131526	3.94	0.003	se apoya h0
Linear	5	0.23286	0.046572	1.39	0.234	
BI	2	0.03330	0.016650	0.50	0.609	
BII	2	0.09351	0.046754	1.40	0.252	
F	1	0.10605	0.106051	3.18	0.078	
2-Way Interactions	8	0.20327	0.025409	0.76	0.638	
BI*BII	4	0.13782	0.034455	1.03	0.396	
BI*F	2	0.01679	0.008393	0.25	0.778	
BII*F	2	0.04866	0.024331	0.73	0.486	
3-Way Interactions	4	0.12408	0.031019	0.93	0.451	
BI*BII*F	4	0.12408	0.031019	0.93	0.451	
Error	85	2.83799	0.033388			
Total	107	4.05582				

10.4. ANOVA para peso seco de la parte aérea de la planta

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Model	22	1.01031	0.04592	1.64	0.057
Blocks	5	0.55431	0.11086	3.95	0.003 se apoya h0
Linear	5	0.19533	0.03907	1.39	0.235
BI	2	0.02690	0.01345	0.48	0.621
BII	2	0.09277	0.04639	1.65	0.197
F	1	0.07565	0.07565	2.70	0.104
2-Way Interactions	8	0.19316	0.02414	0.86	0.553
BI*BII	4	0.12614	0.03154	1.12	0.350
BI*F	2	0.02738	0.01369	0.49	0.615
BII*F	2	0.03964	0.01982	0.71	0.496
3-Way Interactions	4	0.06751	0.01688	0.60	0.662
BI*BII*F	4	0.06751	0.01688	0.60	0.662
Error	85	2.38368	0.02804		
Total	107	3.39399			

10.5. ANOVA para materia seca parte aérea (%)

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Model	22	850.46	38.657	1.39	0.141
Blocks	5	455.76	91.151	3.29	0.009 se apoya h0
Linear	5	83.94	16.788	0.61	0.696
BI	2	26.33	13.163	0.47	0.624
BII	2	51.76	25.880	0.93	0.397
F	1	5.02	5.023	0.18	0.671
2-Way Interactions	8	184.00	23.000	0.83	0.579
BI*BII	4	62.41	15.603	0.56	0.690
BI*F	2	98.60	49.299	1.78	0.175
BII*F	2	20.46	10.229	0.37	0.692
3-Way Interactions	4	125.27	31.316	1.13	0.348
BI*BII*F	4	125.27	31.316	1.13	0.348
Error	84	2328.01	27.714		
Total	106	3178.47			

10.6. ANOVA para peso fresco de la raíz

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Model	22	0.018217	0.000828	1.28	0.208
Blocks	5	0.006450	0.001290	2.00	0.087
Linear	5	0.005373	0.001075	1.66	0.152
BI	2	0.003436	0.001718	2.66	0.076
BII	2	0.001879	0.000940	1.45	0.239
F	1	0.000058	0.000058	0.09	0.766
2-Way Interactions	8	0.004444	0.000556	0.86	0.553
BI*BII	4	0.003837	0.000959	1.49	0.214
BI*F	2	0.000160	0.000080	0.12	0.883
BII*F	2	0.000447	0.000223	0.35	0.709
3-Way Interactions	4	0.001949	0.000487	0.75	0.558
BI*BII*F	4	0.001949	0.000487	0.75	0.558
Error	85	0.054897	0.000646		
Total	107	0.073114			

10.7. ANOVA para peso seco de la raíz

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Model	22	0.006905	0.000314	2.12	0.007
Blocks	5	0.004049	0.000810	5.48	0.000 se apoya h0
Linear	5	0.001346	0.000269	1.82	0.117
BI	2	0.000656	0.000328	2.22	0.115
BII	2	0.000269	0.000135	0.91	0.406
F	1	0.000421	0.000421	2.85	0.095
2-Way Interactions	8	0.000950	0.000119	0.80	0.602
BI*BII	4	0.000833	0.000208	1.41	0.238
BI*F	2	0.000078	0.000039	0.26	0.768
BII*F	2	0.000039	0.000019	0.13	0.878
3-Way Interactions	4	0.000561	0.000140	0.95	0.440
BI*BII*F	4	0.000561	0.000140	0.95	0.440
Error	85	0.012568	0.000148		
Total	107	0.019474			

10.8. ANOVA para materia seca de la raíz (%)

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Model	22	850.46	38.657	1.39	0.141
Blocks	5	455.76	91.151	3.29	0.009
Linear	5	83.94	16.788	0.61	0.696
BI	2	26.33	13.163	0.47	0.624
BII	2	51.76	25.880	0.93	0.397
F	1	5.02	5.023	0.18	0.671
2-Way Interactions	8	184.00	23.000	0.83	0.579
BI*BII	4	62.41	15.603	0.56	0.690
BI*F	2	98.60	49.299	1.78	0.175
BII*F	2	20.46	10.229	0.37	0.692
3-Way Interactions	4	125.27	31.316	1.13	0.348
BI*BII*F	4	125.27	31.316	1.13	0.348
Error	84	2328.01	27.714		

10.9. ANOVA para peso de granos

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Model	22	3.62609	0.16482	7.64	0.000
Blocks	5	2.96982	0.59396	27.54	0.000 se apoya h0
Linear	5	0.17646	0.03529	1.64	0.159
BI	2	0.07683	0.03841	1.78	0.175
BII	2	0.03984	0.01992	0.92	0.401
F	1	0.05980	0.05980	2.77	0.100
2-Way Interactions	8	0.24345	0.03043	1.41	0.204
BI*BII	4	0.15323	0.03831	1.78	0.141
BI*F	2	0.03597	0.01798	0.83	0.438
BII*F	2	0.05426	0.02713	1.26	0.290
3-Way Interactions	4	0.23635	0.05909	2.74	0.034
BI*BII*F	4	0.23635	0.05909	2.74	0.034 se apoya h0
Error	85	1.83330	0.02157		
Total	107	5.45939			

10.10. ANOVA para UFC gr⁻¹

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Model	22	1.48834E+11	6765172736	1.28	0.207
Blocks	5	61111188173	12222237635	2.32	0.050
Linear	5	16324391188	3264878238	0.62	0.685
BI	2	14724599240	7362299620	1.40	0.253
BII	2	17143627	8571813	0.00	0.998
F	1	1582648321	1582648321	0.30	0.585
2-Way Interactions	8	60646845723	7580855715	1.44	0.193
BI*BII	4	33113534390	8278383597	1.57	0.190
BI*F	2	2551229489	1275614745	0.24	0.786
BII*F	2	24982081844	12491040922	2.37	0.100
3-Way Interactions	4	10751375102	2687843776	0.51	0.729
BI*BII*F	4	10751375102	2687843776	0.51	0.729
Error	85	4.47997E+11	5270554084		
Total	107	5.96831E+11			