

## **TRABAJO FINAL DE CARRERA**

**Efecto de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en el cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum*).**



**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y FORESTALES  
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA**

**Área temática: Microbiología Agrícola  
Modalidad: Trabajo de investigación**

Alumna: Daniela Boiardi

Legajo 27339/1

D.N.I: 38 865 457

Mail: daniboiardi@gmail.com

Tel: 221 618 65 09

Director: Virginia Martínez Alcántara

Codirector: Pedro Alberto Balatti

Fecha de presentación: 02/10/2022

## INDICE:

Resumen:.....	3
Introducción:.....	3
Colonización bacteriana de la rizósfera:.....	5
Interacción entre plantas y microorganismos:.....	5
Poblaciones endófitas:.....	7
Coinoculación:.....	7
Características de las bacterias estudiadas:.....	8
<i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i> :.....	8
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> :.....	9
<i>Bacillus subtilis</i> :.....	9
<i>Pseudomonas fluorescens</i> :.....	9
Objetivo:.....	10
Objetivos específicos:.....	10
Materiales y métodos:.....	10
Material biológico e inoculantes:.....	10
Diseño experimental y parámetros a evaluar:.....	11
Análisis estadístico.....	13
Resultados:.....	13
Parámetros de crecimiento vegetativo:.....	13
Altura de la planta:.....	13
Diámetro del tallo de las plantas:.....	14
Producción de frutos:.....	16
Rendimiento:.....	16
Discusión:.....	18
Conclusiones y consideraciones finales:.....	20
Bibliografía: .....	21
Anexo 1: análisis estadístico:.....	26

## RESUMEN

Se realizaron ensayos en el cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) con el objetivo de conocer la respuesta a la inoculación con PGPB en las condiciones de manejo habituales que realiza un productor hortícola de la zona del Gran La Plata. Con este fin plantas de tomate, se inocularon con monocultivos o cultivos combinados de las siguientes especies bacterianas: *Pseudomonas fluorescens*, *Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas* sp.

Las raíces de los plantines de tomate se inocularon en el momento del trasplante y a los 15 días del mismo, en una concentración de  $1 \times 10^8$  cél.ml<sup>-1</sup>. Se evaluaron variables de crecimiento y rendimiento, cuyos resultados fueron analizados estadísticamente. El estudio mostró que el 70% de los tratamientos, 40% correspondientes a formulaciones conteniendo 2 bacterias y un 30% con una bacteria, condujeron a obtener plantas de mayor altura, en las primeras etapas del desarrollo vegetativo (a 28 días del trasplante), efecto que se observó en todos los tratamientos hacia el final del ensayo (a 63 días del trasplante); mientras que el efecto de las bacterias medido en base a las variaciones del diámetro del tallo, solo se observaron al inicio del ensayo en solo el 40% de los tratamientos, que corresponden en su totalidad a los formulados con combinaciones bacterianas. Los resultados de este estudio muestran que la inoculación de plantas de tomate con bacterias promotoras del crecimiento conduce a obtener plantas que desarrollan más tempranamente con mayor vigor. El efecto de la inoculación se diluye a lo largo del cultivo esto fue tan así que solo las plantas inoculadas con la mezcla de *P. fluorescens* y *B. amyloliquefaciens* (tratamiento 6), produjeron una mayor biomasa y que la inoculación con *P. fluorescens* (tratamiento 2) condujo a obtener plantas con un mayor tamaño del fruto.

## INTRODUCCIÓN

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es uno de los cultivos más importantes de la producción hortícola Argentina. Su consumo ronda los 16 kg/persona/año (Dirección de Producción Agrícola, 2020).

Esta planta herbácea es mundialmente cultivada para el consumo de su fruto tanto fresco como procesado de distintas maneras como salsas, puré, jugos,

deshidratados, enlatados, etc. Los principales países productores son China, India y Turquía. La producción mundial total de tomate fresco alcanzó 180.766.329 t que se produjeron en un área de 5.030.545 ha en el año 2017 (FAOSTAT, 2019).

El mercado de tomate se divide en tomate fresco y para la industria. En Argentina, la producción promedio anual de tomate de los últimos años se ubica en torno a 1.100.000 t y 17.000 ha productivas. Aproximadamente un 60-70 % se destina al mercado para el consumo en fresco y un 30-40 % para la industria (Dirección de Producción Agrícola, 2020).

Las principales regiones productivas son: el NOA (Salta, Jujuy y Santiago del Estero), el NEA (Corrientes), Buenos Aires (La Plata, Mar del Plata, Florencio Varela, etc.), Cuyo (Mendoza y San Juan) y el Alto Valle de Río Negro, bajo distintos sistemas productivos. La producción de tomate es estacional y por eso, la incorporación de la producción bajo cubierta condujo a una producción más estable en el tiempo en las distintas regiones permitiendo una oferta sostenida durante todo el año (Argerich & Troilo, 2011).

El modelo de producción bajo cubierta, y la permanente búsqueda de alcanzar mayores rendimientos generan un aumento en el uso de insumos entre los que se encuentran los fertilizantes y plaguicidas (Bashan et al., 2014).

Por otro lado, el monocultivo y la producción intensiva de tomate llevaron al deterioro del suelo y a la propagación de enfermedades causadas por hongos y bacterias, siendo importante el surgimiento de alternativas para el tratamiento de dichas adversidades como la solarización, el uso de portainjertos resistentes y/o tolerantes a enfermedades y el uso de bioestimulantes del crecimiento vegetal. Además, en los últimos años, la actividad agrícola muestra una tendencia en la adopción de nuevas tecnologías de producción, en busca de reducir el impacto ambiental, disminuir los costos de producción y aumentar o mantener los rendimientos en sistemas agropecuarios sustentables. Dentro de esta tendencia, los bioinsumos surgen como herramientas alternativas a la fertilización convencional, apuntando a sustituir parcial o totalmente la aplicación de fertilizantes sintéticos. Los bioinsumos son productos biológicos que contienen microorganismos o macroorganismos, extractos o compuestos bioactivos derivados de ellos, destinado a ser aplicados para la producción agraria, agroalimentaria, agroindustrial, agroenergética (SENASA, 2020). A

diferencia de los fertilizantes, los bioinsumos formulados con Bacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (conocidas como PGPB, por su sigla en inglés de “Plant Growth Promoting Bacteria”), no suministran elementos nutritivos sino que promueven el crecimiento de las plantas, a través de las moléculas que generan o dinamizando los nutrientes del suelo, de manera que estén disponibles para las plantas (Mishra & Dash, 2014).

### **La colonización bacteriana de la rizósfera:**

Podemos definir a la rizósfera como la parte de suelo más cercana a las raíces de las plantas (1-5 mm) que está bajo la influencia directa de estas. Se considera un ecosistema constituido por tres componentes: planta, suelo y microorganismos, con un funcionamiento muy complejo (INTAGRI, 2017). El sistema radical de la planta modifica la estructura del suelo, pero además las raíces liberan cantidades apreciables de materia orgánica que inciden sobre la población y actividad microbiana. Los microorganismos no sólo se nutren de estos exudados radiculares, sino que además éstos son una fuente de humedad, sostén e incluso (en el caso de las bacterias endófitas) de protección frente a otros microorganismos, es decir, conforman un nicho con características propias y particulares. En contraparte, los microorganismos desarrollan en la rizósfera actividades metabólicas que benefician las plantas. La mayoría de los bioinsumos influyen directamente en la rizósfera de las plantas, enriqueciéndola o estimulándola, mejorando el rendimiento de las plantas y su resistencia a estrés biótico (enfermedades y plagas) y abiótico (heladas, exceso de sal, sequía, etc.). Así, el manejo de la rizósfera es un factor más en el manejo de los cultivos (INTAGRI, 2017).

### **Interacción entre plantas y microorganismos:**

Las bacterias más utilizadas en prácticas agrícolas por su capacidad de establecer una simbiosis planta-microorganismo con leguminosas y fijar nitrógeno atmosférico, son las conocidas genéricamente como rizobios que incluye los géneros *Rhizobium*, *Sinorhizobium*, *Bradyrhizobium* y *Mesorhizobium*, entre otros. Pero además existe un número importante de microorganismos de vida libre que, aun cuando no desarrollan asociaciones simbióticas, ejercen efectos beneficiosos sobre las plantas. Estas bacterias que

se conocen como PGPB, colonizan no sólo la rizósfera y la superficie radical, sino que algunas también penetran en las plantas y establecen una relación endofítica sin causar daños al hospedador (Compant et al., 2005; Compant et al., 2010).

Los microbios PGPB promueven el crecimiento mediante una serie de mecanismos directos y/o indirectos. Como mecanismos directos se pueden mencionar: la fijación de nitrógeno (N) atmosférico; la síntesis de fitohormonas, vitaminas y enzimas; la solubilización de fósforo (P) inorgánico y potasio (K); la mineralización de fosfato orgánico; la oxidación de sulfuros; el incremento en la permeabilidad de la raíz; la producción de nitritos; la acumulación de nitratos; la reducción de la toxicidad por metales pesados y de la actividad de la enzima desaminasa del ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC); la secreción de sideróforos y la reducción de los niveles de etileno en los suelos (Esquivel-Cote et al., 2013).

Mientras que, los mecanismos indirectos, se caracterizan porque las PGPB provocan una disminución o eliminan a microorganismos fitopatógenos a través de: la producción de sustancias antimicrobianas, como antibióticos o enzimas líticas; por competencia por los nutrientes o por el espacio en el nicho ecológico; así como por la estimulación de las defensas naturales de la planta mediante mecanismos de biocontrol; la inducción de resistencia sistémica (IRS) a un amplio espectro de organismos patógenos y la producción de sideróforos, como mecanismo para secuestrar el hierro (Fe) disponible en los suelos y con esto limitar el desarrollo y la presencia de dichos fitopatógenos (Esquivel-Cote et al., 2013).

Durante mucho tiempo se consideró que una planta saludable era aquella libre de microorganismos, pero en las últimas décadas las investigaciones han demostrado que las plantas están también colonizadas en su interior por microorganismos que en su mayoría provienen de la rizósfera (Compant et al., 2010), pudiendo ser éstos benéficos, patógenos, o no causar ningún efecto en las plantas que colonizan.

Diferentes géneros de bacterias han sido reportados como PGPB, entre las que se pueden mencionar: *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Azoarcus*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Caulobacter*, *Chromobacterium*, *Gluconacetobacter*, *Herbaspirillum*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*,

*Klebsiella*, *Micrococcous*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* y *Serratia* entre otros (Ahemad & Kibret, 2013).

El uso efectivo de PGPB, tanto rizosféricas como endófitas, es una herramienta para mejorar el rendimiento de los cultivos y reducir el uso de fertilizantes químicos contribuyendo a la sanidad de las plantas en el marco de una agricultura sustentable (Lata Rana et al., 2020).

### **Poblaciones endófitas:**

El término “endófito” deriva de las palabras griegas “endon” que significa dentro, y “phyton” que significa planta y se refiere a la entrada, crecimiento y multiplicación de poblaciones de microorganismos dentro de la planta huésped (Kandel et al., 2017). Hardoim et al. (2015) definieron a los endófitos como microbios que incluyen a bacterias, arqueas, hongos y protistas que colonizan el interior de la planta independientemente del resultado de la asociación. Convencionalmente, los endófitos se aislaron de tejido vegetal esterilizado superficialmente y cultivados en medios ricos en nutrientes.

La penetración en la planta puede ocurrir por aberturas naturales como estomas, o a través de heridas, áreas de emergencia de raíces laterales, o inclusive a través de la producción de enzimas hidrolíticas capaces de degradar la pared celular de los vegetales (Kuklinsky et al., 2004).

Las bacterias endófitas presentan ciertas ventajas ecológicas frente a las rizosféricas en lo que hace a su rol como PGPB, debido a que: establecen un intercambio más directo de metabolitos con la planta; no compiten por nutrientes con la gran diversidad de microorganismos del suelo; están protegidos de los cambios ambientales y expuestos a una baja presión parcial de O<sub>2</sub>, que favorece la fijación biológica de N<sub>2</sub> (Kandel et al., 2017).

Es por estas características que el estudio de las PGPB con carácter endofítico ha tomado un gran impulso en las últimas dos décadas.

### **Coinoculación:**

Diversas investigaciones han demostrado que la inoculación con mezclas de PGPB (coinoculación) tiene un efecto aditivo de promoción del crecimiento en las plantas. Por ejemplo, la aplicación conjunta de *Bacillus megaterium* y *Paenibacillus polymyxa* aumentó la nodulación en poroto común (*Phaseolus*

*vulgaris* L.) en comparación con la inoculación solo con rizobios (Korir et al., 2017). La inoculación combinada de *Bradyrhizobium japonicum* con *Pseudomonas putida* en soja (*Glycine max* L.) mejoró la tolerancia a la salinidad ya que los microorganismos alteraron la arquitectura del sistema radical y mejoró la nutrición, así como la formación de nódulos (Egamberdieva et al., 2017). La coinoculación de soja con *Bradyrhizobium* y una mezcla de *Methylobacterium oryzae*, *Azospirillum brasilense* y *Burkholderia pyrrocinia* provocó un aumento de la actividad de las enzimas nitrogenasa, ureasa y fosfatasa del suelo en comparación con el control no coinoculado (Madhaiyan et al., 2010). La coinoculación de *Bacillus* sp. y *Pseudomonas putida* en diferentes etapas de desarrollo del tomate estimuló el crecimiento, el rendimiento y la absorción de nutrientes del cultivo (He et al., 2019). La literatura sugiere que la combinación de diferentes géneros de PGPB es directamente proporcional al grado de bioactividad conferido a la planta (Liddycoat et al., 2009).

#### **Características de las bacterias estudiadas:**

*-Gluconacetobacter diazotrophicus*: es una especie fijadora de N<sub>2</sub> (Holt et al., 1994) que coloniza del apoplasto de la caña de azúcar en donde vive saprofiticamente (Döbereiner et al., 1995; James & Olivares, 1997). Además, se la ha encontrado asociada a otras plantas como ser: batata y sorgo (Paula et al., 1991; 1992), hierba camerunesa (Döbereiner et al., 1993), café (Jiménez-Salgado et al., 1997) y piña (Tapia-Hernández et al., 2000). Excepto por el café, el resto de los hospedantes son plantas herbáceas, ricas en sacarosa y que se propagan vegetativamente; esto último constituye la principal vía natural de diseminación bacteriana.

Esta especie tiene múltiples mecanismos para promover el crecimiento vegetal, como por ejemplo la producción de fitohormonas como el ácido indol acético (IAA) y el ácido giberélico (GA) en el interior de las plantas; la solubilización de micro y macronutrientes para la planta como fósforo (P) y zinc (Zn) y el biocontrol de fitopatógenos como *Colletotrichum falcatum*, *Xanthomonas ibilineans* y nematodos como *Meloidogyne incognita* (Saravanan et al., 2007). Por todas estas características se considera a *G. diazotrophicus* una de las

bacterias endofíticas más estudiadas y un microorganismo modelo para evaluar la interacción planta-bacteria.

-*Bacillus amyloliquefaciens*: bacteria Gram positiva que mostró varios mecanismos de promoción del crecimiento vegetal, como: la fijación de N; la solubilización de P, K y Zn; la producción de las fitohormonas IAA; la inducción de la resistencia de las plantas a enfermedades; y la producción de sideróforos (Verma et al., 2015). Mejora la translocación de Zn hacia los granos y genera un aumento en el rendimiento del cultivo de arroz (Shakeel et al., 2015).

-*Bacillus subtilis*: es una bacteria Gram positiva habitante natural del suelo, que coloniza las raíces, compitiendo con los patógenos por el espacio y sitios de infección. Las mayores poblaciones de *Bacillus* en suelos se localizan entre los 2,5 y 5 cm de profundidad. Se ha documentado que produce antibióticos naturales que debilitan la pared celular e inhiben el crecimiento de patógenos mediante la producción de sustancias como Bacilomycina, Fengimycina y Micoceryna, los cuales son considerados antibióticos inhibidores del crecimiento de hongos. Otro antibiótico es Bacilysina, que ha sido citado como inhibidor de bacterias y levaduras (Guerrero & Salcido Real, 2014).

A diferencia de otras PGPB, las bacterias del género *Bacillus* forman endosporas que les permiten sobrevivir por períodos prolongados en condiciones ambientales desfavorables. Este rasgo es relevante de la viabilidad es clave considerando el almacenamiento de un producto biológico durante un período relativamente largo.

-*Pseudomonas fluorescens*: posee mecanismos que directa o indirectamente suprimen enfermedades vegetales y/o promueven el crecimiento. Se encuentra ampliamente distribuida en la rizósfera de las plantas y cuando se introduce en semillas o plantines controla las enfermedades de las plantas ya que compite agresivamente con otros organismos presentes en la rizósfera y por ello previene la proliferación de fitopatógenos por exclusión de nicho, producción de antibióticos y sideróforos, o la inducción de resistencia sistémica. Además de los mecanismos indirectos antes mencionados, esta especie estimula el crecimiento de las plantas mediante la producción de hormonas promotoras del crecimiento de las plantas, como auxinas, giberelinas y citoquininas, facilitando

la absorción de nutrientes del suelo y también expresando una alta capacidad de solubilización de P.

Por ello, en el mundo se han desarrollado una gran cantidad de productos comerciales formulados con diferentes especies de *Pseudomonas*, principalmente *fluorescens*, aconsejados para su utilización como promotores de crecimiento y biocontrol de enfermedades (Bouizgarne, 2013)

## **OBJETIVO**

Conocer el crecimiento y el rendimiento de plantas de tomate inoculadas con bacterias promotoras del crecimiento vegetal.

### Objetivos específicos

- Conocer el efecto de la inoculación de plantas de tomate con cultivos estabilizados con un alto número de células bacterianas de: a) *P. fluorescens* b) *G. diazotrophicus* c) *B. amyloliquefaciens* d) *B. subtilis* y e) *Pseudomonas* sp.
- Conocer el efecto de la coinoculación de bacterias promotoras del crecimiento en las siguientes combinaciones: a) *P. fluorescens* y *B. amyloliquefaciens* b) *P. fluorescens* y *B. subtilis* c) *G. diazotrophicus* y *B. amyloquifaciens* d) *G. diazotrophicus* y *B. subtilis* y e) *P. fluorescens* y *G. diazotrophicus*.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Material biológico e inoculantes.**

Los microorganismos utilizados se indican en la Tabla 1.

Los inoculantes se obtuvieron creciendo los microorganismos en frascos tipo Erlenmeyer conteniendo medios de cultivo líquidos específicos para cada uno de ellos (Tabla 1). Estos frascos fueron sembrados a partir de cultivos stock agarizados (sólidos). Los cultivos se desarrollaron a 30°C, en agitador rotatorio a 180 rpm durante 48/72 horas.

En cuanto al material vegetal para realizar los ensayos se utilizó el cultivar de tomate Elpida, que es un híbrido de tomate redondo de crecimiento indeterminado. Las plantas a inocular se obtuvieron mediante su siembra en

speeldings y permanecieron en invernáculo hasta alcanzar el tamaño adecuado para el trasplante a campo.

La inoculación de las bacterias se realizó en el momento del trasplante, sumergiendo los speelding durante 30 minutos en bandejas plásticas en las suspensiones bacterianas con una concentración de  $1 \times 10^8$  bacterias.ml<sup>-1</sup> y se reinocularon a los 15 días, adicionando 45 ml de una suspensión bacteriana sobre la raíz de cada planta a igual concentración. En el caso de las coinoculaciones se aplicó una concentración de  $5 \times 10^7$  bacterias.ml<sup>-1</sup> de cada una, de manera que la suma de ambas bacterias rinda  $1 \times 10^8$  bacterias.ml<sup>-1</sup>.

Tabla 1. Cepas bacterianas utilizadas, medios de cultivo, pH, concentración en unidades formadoras de colonias (UFC) y procedencia de las bacterias.

Cepa	Medio de cultivo	pH inicial/final	UFC mL-1	Procedencia
<i>Bacillus subtilis</i>	LB	7,0 / 7,3	~1 x 10 <sup>9</sup>	Cátedra de Microbiología Agrícola (UNLP)
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	LB	7,0 / 7,3	~ 1x 10 <sup>9</sup>	Laboratorios ARBO SRL
<i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i> PAL5	LGI	5,5 / 5,0	~ 5 x 10 <sup>9</sup>	INTA
<i>Pseudomonas fluorescens</i> Pf5	LB	7,0 / 7,2	~ 5 x 10 <sup>9</sup>	INTA
<i>Pseudomnas</i> sp.	LB	7,0 / 7,2	~5 x 10 <sup>9</sup>	Laboratorios ARBO SRL

LB: Luria Bertani (Sambrook et al., 1989), LGI: LGI con glicerol 15 g/l y 1 g/l de extracto de levadura (pH6,0) (Stephan et al., 1991).

### Diseño experimental y parámetros a evaluar.

El trabajo experimental se llevó a cabo en una quinta de producción en invernáculo ubicada en la calle 625 y 159 (35°06'00"S 57°55'48"W) de la localidad de Arana (Partido de La Plata, Bs. As.), donde se cultiva tomate desde hace muchos años.

Se realizó un ensayo con un diseño en bloques al azar con tres repeticiones, con un total de 11 tratamientos que se dispusieron en dos camellones del invernáculo de un productor de tomate, en donde se demarcaron las parcelas

correspondientes a los tratamientos (T): T1: Control sin inocular; T2: Inoculado con *P. fluorescens* (Pf); T3: Inoculado con *G. diazotrophicus* (Gd); T4: Inoculado con *B. amyloliquefaciens* (Ba); T5: Inoculado con *B. subtilis* (Bs); T6: Inoculado con una mezcla de *P. fluorescens* y *B. amyloliquefaciens*; T7: Inoculado con una mezcla *P. fluorescens* y *B. subtilis*; T8: Inoculado con una mezcla de *G. diazotrophicus* y *B. amyloquifaciens*; T9: Inoculado con una mezcla de *G. diazotrophicus* y *B. subtilis*; T10: Inoculado con una mezcla de *P. fluorescens* y *G. diazotrophicus*; T11: Inoculado con *Pseudomonas* sp.

A lo largo del cultivo de tomate se realizaron las siguientes determinaciones:

- Grosor de tallo, medido por debajo de la segunda hoja de la planta, de abajo hacia arriba, utilizando un calibre.
- Altura de planta, mediante el uso de cinta métrica.

Las determinaciones se realizaron en cinco momentos distintos del cultivo: a los 28 días postrasplante (t1), a los 34 días postrasplante (t2), a los 49 días postrasplante (t3), a los 55 días postrasplante (t4) y a los 63 días postrasplante (t5).

Luego, se procedió a evaluar el rendimiento, relevándose los siguientes parámetros:

- Número de frutos
- Peso de frutos

La determinación del rendimiento se realizó con el peso de los tomates de la primera y segunda corona de las plantas mediante una balanza gravimétrica. Estas determinaciones se hicieron una sola vez, a los 80 días postrasplante.

Durante todo el ensayo, el fertirriego y las prácticas de manejo estuvieron sujetas al manejo convencional del productor.

### **Análisis estadístico**

Los datos se analizaron utilizando el análisis de varianza (ANOVA) estableciéndose las diferencias significativas entre los tratamientos con el test LSD Fisher ( $p < 0,05$ ), utilizando el programa estadístico InfoStat versión 2015 (Di Rienzo et al., 2015).

## RESULTADOS

### ➤ Parámetros de crecimiento vegetativo:

-Altura de las plantas

A los 28 días del trasplante (t1), crecieron más los tratamientos con mezcla de *G. diazotrophicus* y *B. subtilis* (T9); *B. subtilis* sin combinar (T5); mezcla de *P. fluorescens* y *G. diazotrophicus* (T10); *G. diazotrophicus* sin combinar (T3); mezcla de *G. diazotrophicus* y *B. amyloquifaciens* (T8); mezcla de *P. fluorescens* y *B. amyloliquefaciens* (T6) y *B. amyloliquefaciens* sin combinar (T4) con respecto a los restantes (Gráfico1).

En la segunda determinación (transcurridos 34 días, t2), no hubo diferencias significativas entre los tratamientos (incluido el testigo), sugiriendo que el efecto de la adición de bacterias se diluye en la medida que las plantas crecen (Gráfico1). En momentos más avanzados del cultivo, tercera determinación (49 días del trasplante o t3), sólo las plantas inoculadas con una mezcla de *G. diazotrophicus* y *B. subtilis* (T9) crecieron más que el testigo (T1); el resto de los tratamientos (T5, T10, T3, T8, T6, T4) presentaron una mayor altura respecto del resto de los tratamientos y el testigo (T1). Luego, cuando se realizó el cuarto muestreo (t4, al cabo de 55 días del trasplante), todas las plantas inoculadas mostraron una mayor altura que las plantas del tratamiento testigo (T1), aunque sin diferencias significativas entre los tratamientos. En la última determinación, a los 63 días del trasplante (t5) las plantas inoculadas con *Pseudomonas* sp. (T11) fueron las que alcanzaron la mayor altura respecto de las plantas inoculadas con *B. subtilis* (T5), con la mezcla de *P. fluorescens* y *B. amyloliquefaciens* (T6) y el testigo (T1), aunque nuevamente las diferencias no fueron significativas (Gráfico 1)

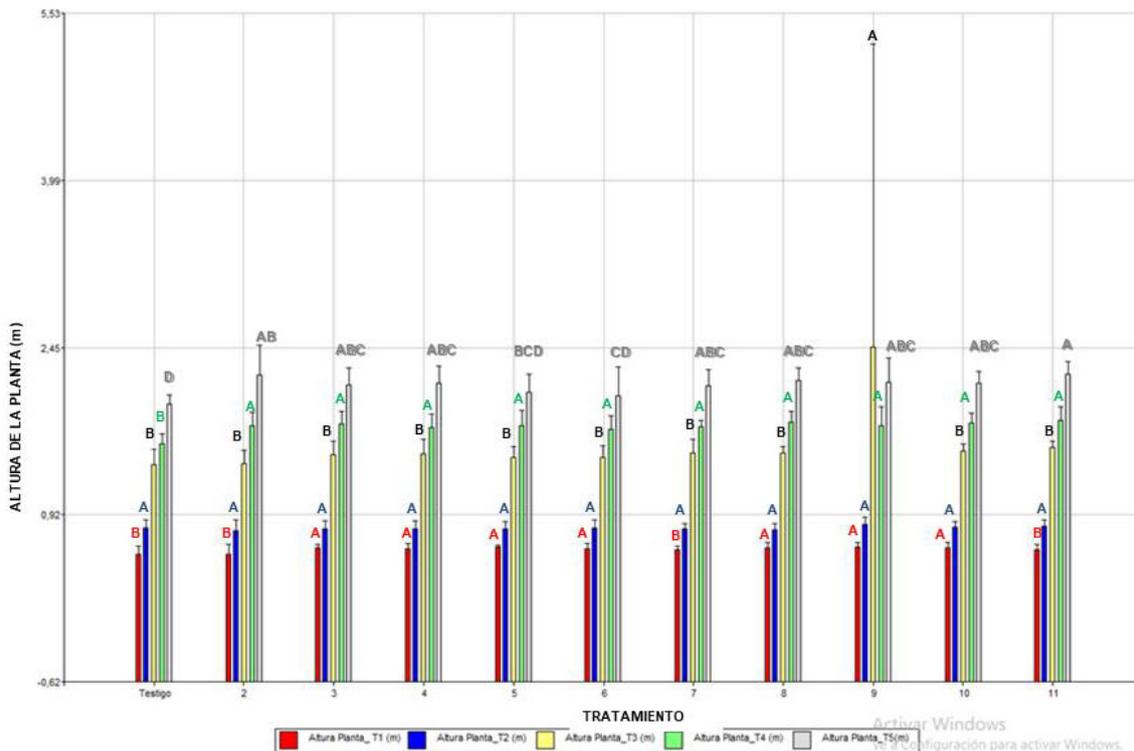


Gráfico 1. Altura de las plantas (m) para los tratamientos 1 a 11 en los tiempos t1 a t5. Las barras representan las medias aritméticas (n=9) Las barras de error representan el desvío estándar de la media. Las diferencias significativas entre las medias se establecieron al ser comparadas mediante el análisis de la varianza y el test de Fisher ( $p < 0,05$ ).

En síntesis, el análisis del Gráfico 1 indica que las plantas inoculadas con bacterias (ya sea solas o combinadas) crecieron más que el testigo (tiempos 4 y 5 y el t3?), excepto los tratamientos con *B. subtilis* (T5) y *P. fluorescens* y *B. amyloliquefaciens* (T6) en el tiempo 5. La inoculación con *Pseudomonas* sp. (T11) si bien no impactó en las etapas tempranas del cultivo de tomate, lo hizo marcadamente ya que se observó su efecto en periodos de cultivo avanzados como (t4 y t5), momento en el que las plantas mostraron ser significativamente más grandes que el testigo. En cambio, la inoculación con mezcla de *G. diazotrophicus* y *B. subtilis* (T9) tuvieron un impacto importante en el crecimiento y vigor de las plantas de tomate en los estadios iniciales del crecimiento del cultivo respecto del testigo.

#### -Diámetro del tallo de las plantas

En el primer muestreo (t1), las plantas tratadas con *P. fluorescens* y *B. subtilis* (T7), *P. fluorescens* y *B. amyloliquefaciens* (T6), *G. diazotrophicus* y *B. amyloquifaciens* (T8) y *G. diazotrophicus* (T3) presentaron grosores de tallo

mayores que el testigo, si bien no hubo diferencias significativas entre ellos (Gráfico2). En el segundo muestreo (t2), sólo las plantas inoculadas con *B. subtilis* (T5) presentaron tallos más gruesos que las del tratamiento testigo (T1) si bien no se observaron diferencias significativas con los otros tratamientos. En la tercera determinación (t3), todos los tratamientos presentaron tallos del mismo grosor, incluyendo al testigo, y si bien las diferencias no fueron significativas las plantas inoculadas con *G. diazotrophicus* (T3) y *P. fluorescens* y *B. subtilis* (T7) mostraron mayores valores de grosor de tallo. Luego en el cuarto muestreo (t4), las plantas inoculadas con *G. diazotrophicus* (T3) presentaron los tallos más gruesos respecto de otros tratamientos, si bien nuevamente no hubo diferencias significativas entre los tratamientos. Por último, en la 5ta. y última determinación no hubo diferencias significativas entre los tratamientos, incluyendo el testigo.

En relación al grosor de tallo como índice de crecimiento podemos decir que este no parece ser un buen índice que refleje el crecimiento de las plantas. Aun así, se observó que las plantas inoculadas con *P. fluorescens* y *B. subtilis* (T7) y *B. subtilis* (T5) crecieron más que el testigo en estadios tempranos del cultivo, sin embargo, con el transcurso del tiempo, el efecto de las bacterias en el crecimiento disminuyó. Es decir, que en el caso de un cultivo como el del tomate el efecto de inoculación bacteriana se hace visible preferentemente en los estadios tempranos del cultivo.

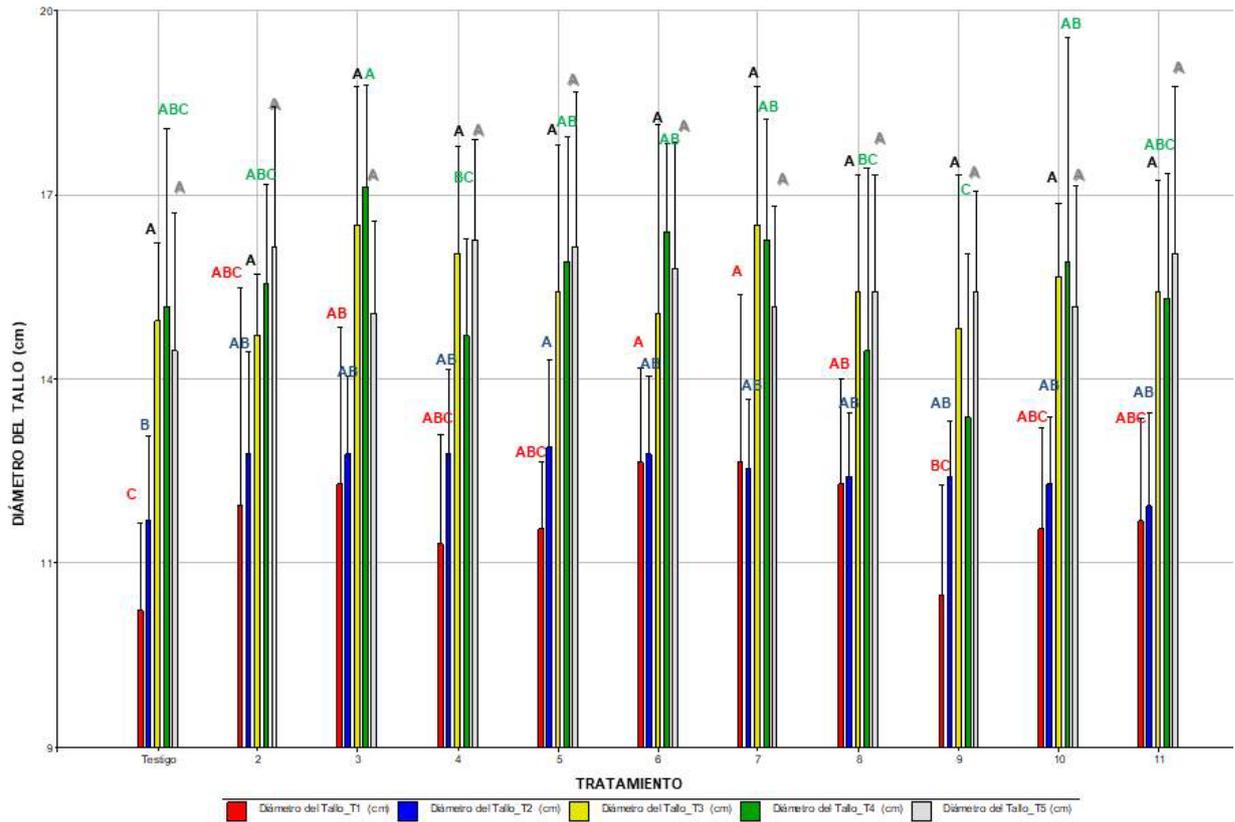


Gráfico 2. Diámetro de las plantas (cm) para los tratamientos, según el tiempo. Las barras representan las medias aritméticas (n=9) Las barras de error representan el desvío estándar de la media. Las diferencias significativas entre las medias se establecieron al ser comparadas mediante el análisis de la varianza y el test de Fisher ( $p < 0,05$ ).

## Producción de frutos

-Rendimiento:

En lo que hace a peso o biomasa total de frutos, la inoculación con *P. fluorescens* y *B. amyloliquefaciens* (T6) provocó un aumento del rendimiento de las plantas (Gráfico 3). Si bien el resto de las plantas inoculadas (excepto los tratamientos 3 y 11), presentaron una mayor biomasa de frutos que las plantas testigo, las diferencias no fueron estadísticamente significativas, como puede verse en el Gráfico 3.

Las diferencias en el número de frutos no fueron estadísticamente significativas lo que probablemente ocurrió debido a que el número de flores por corona está determinado genéticamente. Sin embargo, algunas de las flores de las coronas abortan debido a la competencia por fotosintatos, lo que puede limitar el

crecimiento de los frutos. Es de destacar que la inoculación con bacterias promotoras del crecimiento no modifica el patrón de aborto de las flores.

El peso/fruto, reflejó el impacto de la inoculación en el crecimiento de los grupos, ya que el número de frutos entre tratamientos fue el mismo. Solo las plantas inoculadas con *P. fluorescens* presentaron un tamaño de frutos significativamente superior al testigo. El número de frutos, que no fue estadísticamente significativo, fue mayor en las plantas inoculadas con *Bacillus subtilis* (T5), *P. fluorescens* y *B. amyloliquefaciens* (T6) e inoculadas con *P. fluorescens* y *B. subtilis* (T7). Es de destacar que el único tratamiento significativamente diferente correspondió a las plantas inoculadas con *P. fluorescens*, sugiriendo que en esas plantas la cantidad de fotosasimilados disponible para el crecimiento de los frutos fue mayor. Es importante destacar que nuevamente dos de los tratamientos que presentaron el mayor número de frutos fueron inoculados con *P. fluorescens*. El resto de los tratamientos presentaron valores similares a las plantas del tratamiento testigo. Es decir que el tratamiento 6, coinoculado con *P. fluorescens* y *B. amyloliquefaciens*, no sólo se destacó en el tamaño de los frutos obtenidos (peso/fruto) sino que fue el que mostró el mayor rendimiento en peso total de frutos (diferencia significativa respecto al testigo).

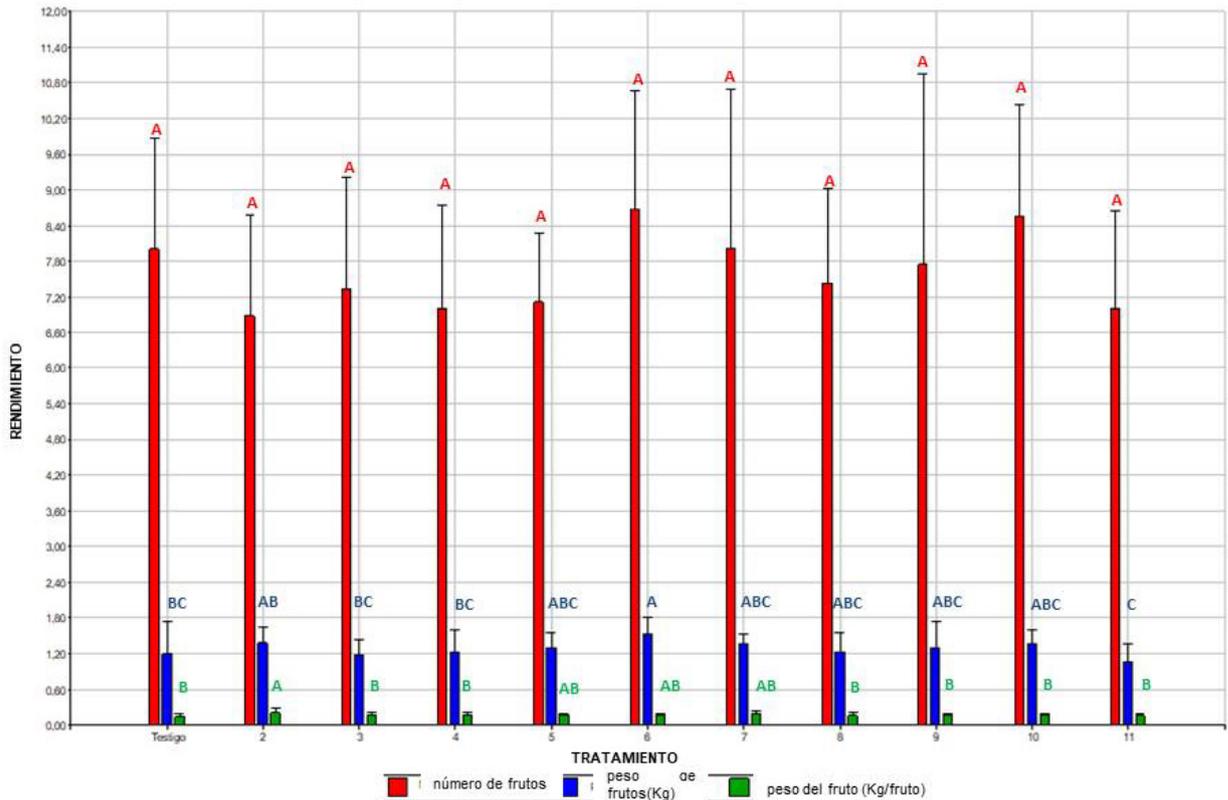


Gráfico 3. Rendimiento de las plantas (kg), Número de frutos y tamaño del fruto (Kg/fruto) en función del tiempo y tratamiento. Las barras representan las medias aritméticas (n=9) Las barras de error representan el desvío estándar de la media. Las diferencias significativas entre las medias se establecieron al ser comparadas mediante el análisis de la varianza y el test de Fisher ( $p < 0,05$ ).

## DISCUSIÓN

La altura de las plantas fue el parámetro que menos se correlacionó (correspondió? No determinaste correlación) con el otro parámetro de crecimiento (grosor de tallo) y con el rendimiento. Esto surge de analizar los resultados obtenidos en las plantas inoculadas con *Pseudomonas* sp. (T11) que, si bien mostraron una altura mayor en los últimos muestreos, mostraron un menor grosor de tallo y menor rendimiento que las plantas del tratamiento control no inoculado. En contraposición las plantas inoculadas con *P. fluorescens* y *Bacillus amyloliquefaciens* (T6) que presentaron un rendimiento significativamente superior tuvieron una menor altura de las plantas. Por tanto, al menos en este experimento, la altura de las plantas fue un parámetro que no reflejó el impacto positivo de la interacción beneficiosa bacteria-planta.

Otro de los parámetros determinados fue el grosor del tallo que tampoco se **correlacionó** estrechamente con el peso de frutos. Las plantas inoculadas con *P. fluorescens* y *B. amyloliquefaciens* (T6); *P. fluorescens* (T2); *P. fluorescens* y *B. subtilis* (T7) y *P. fluorescens* y *G. diazotrophicus* (T10), rindieron una mayor biomasa de frutos sin embargo solo las plantas inoculadas con *P. fluorescens* y *B. amyloliquefaciens* (T6) y con *P. fluorescens* y *B. subtilis* (T7) presentaron un mayor grosor de tallo sobre todo en las primeras etapas del cultivo. Es decir que el grosor de tallo y la altura de planta no se vieron relacionados con parámetros de rendimiento como la biomasa de frutos. Es claro que durante los primeros estadios del cultivo los tratamientos inoculados con bacterias *G. diazotrophicus* (T3); *B. subtilis* (T5); *P. fluorescens* y *B. amyloliquefaciens* (T6) y *P. fluorescens* y *B. subtilis* (T7), presentaron un tallo más grueso que las plantas testigo. En base a esto se especula que las inoculaciones, contribuirían a lograr plantas con mayor vigor. Sin embargo, en la etapa reproductiva, estas deberían ser reinoculadas con los microorganismos que mostraron un mejor comportamiento en lo referente a producción de frutos.

Dos bacterias como *P. fluorescens* y *B. amyloliquefaciens* (T6) se complementaron en su capacidad de promover el rendimiento ya que las plantas de este tratamiento coinoculadas fueron las únicas que rindieron significativamente más, siendo la diferencia del orden del 25 por ciento superior al testigo. Vale destacar que las plantas que presentaron mejores rendimientos fueron inoculadas con *P. fluorescens* aislada (T2) o consociada con otros microorganismos como *Bacillus* sp. (T6 y T7) o *G. diazotrophicus* (T10).

En cuanto al tamaño de frutos las plantas inoculadas con *P. fluorescens* (T2) también presentaron frutos de mayor tamaño. Estos datos coinciden con reportes previos que describen el efecto beneficioso de la inoculación de tomate con *P. fluorescens* (Kandan et al, 2005). Aun así, es claro que la coinoculación de microorganismos con capacidades distintas y complementarias promovieron el crecimiento de las plantas en relación a las plantas control no inoculadas (Liddycoat et al., 2009). Se han reportado resultados similares en plantas de tomate coinoculadas con diferentes microorganismos. En este sentido He et al. (2019) encontraron que la coinoculación de tomate con *Bacillus* sp. y *P. putida* promovió el crecimiento, rendimiento y la absorción de nutrientes (He et al., 2019). Recientemente

Pérez-Rodríguez et al. (2020) reportaron que la coinoculación de tomate con *Azospirillum brasilenses* y *P. fluorescens* en el momento del transplante fue beneficiosa para las plántulas mejorando no sólo el rendimiento sino también la calidad de la fruta (contenido total de sólidos solubles, pH y acidez titulable) con valores similares o mejores que las plántulas fertilizadas químicamente.

## **CONCLUSIONES Y CONSIDERACIONES FINALES**

La inoculación de plantas de tomate Elpida con las bacterias utilizadas en este estudio promueven el crecimiento de las plantas en las etapas tempranas del crecimiento. Por lo tanto, sería recomendable inocular las plantas de tomate con bacterias o combinaciones de ellas para generar plantas más vigorosas con mayor potencial de rendimiento en la etapa reproductiva.

La coinoculación de plantas de tomate con *P. fluorescens* y *B. amyloliquefaciens* (T6) resultó en el mayor rendimiento entre los tratamientos y es evidente que estos aislados bacterianos complementan su capacidad promotora del crecimiento.

Puede decirse entonces, que la inoculación de microorganismos combinados (coinoculación) es una alternativa superadora a la inoculación con un solo microorganismo.

## BIBLIOGRAFÍA

- **Ahemad, M y Kibret, M.** 2013. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. Journal of King Saud University. Science 26(1): 1-20.
- **Argerich, C y Troilo, L.** 2011. Diagnóstico socioeconómico del sector hortícola argentino. En: Manual de Buenas Prácticas Agrícolas en la cadena del tomate. FAO. Buenos Aires, Argentina. 262 pp. Disponible en [http://www.alimentosargentinos.gob.ar/bpa/bibliografia/Manual\\_BPA\\_tomate\\_FAO.pdf](http://www.alimentosargentinos.gob.ar/bpa/bibliografia/Manual_BPA_tomate_FAO.pdf)
- **Bashan, Y; de Bashan, LE; Prabhu, SR y Hernandez, JP.** 2014. Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998–2013). Plant and Soil 378(1-2):1-33.
- **Bouizgarne, B.** 2013. Bacteria for Plant Growth Promotion and Disease Management. En: D.K. Maheshwari (ed.), "Bacteria in Agrobiología". Cap.2, pag. 15-47
- **Compant S; Clément, C y Sessitsch, A.** 2010. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: Their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. Soil Biology & Biochemistry 42: 669-678
- **Compant, S; Duffy, B; Nowak, J; Clément, C y Barka, EA.** 2005. Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects. Applied and Environmental Microbiology 71: 4951-4959
- **Del Pino, M.** 2022. Guía didáctica: cultivo y manejo del cultivo de tomate fresco. Disponible en: <file:///C:/Users/Garba/Downloads/Gu%C3%ADa%20de%20Tomate%202022.pdf>
- **Dirección de Producción Agrícola.** 2020. La Producción de Tomate en Argentina. Disponible en: <https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/produccion-tomate-argentina-diciembre-2020.pdf>
- **Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., Gonzalez, L., Tablada, M & C. W. Robledo, C. W.** 2015. InfoStat versión 2015, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

- **Döbereiner J; Baldani VL y Reis VM.** 1995. Endophytic occurrence of diazotrophic bacteria in non-leguminous crop. En *Azospirillum* and Related Microorganisms, pp 3-14. Edited by Fendrik I, Del Gallo M., Vandrleyden J, Zamaroczy M. Berlin: Springer-Verlag.
- **Egamberdieva, D; Wirth, S; Jabborova, D; Rasanen, LA y Liao, H.** 2017. Coordination between *Bradyrhizobium* and *Pseudomonas* alleviates salt stress in soybean through altering root system architecture. *Journal of Plant Interactions* 12: 100– 107.
- **Esquivel-Cote, R; Gavilanes-Ruiz, M; Cruz-Ortega, R y Huante, P.** 2013. Importancia agrobiotecnológica de la enzima ACC desaminasa en rizobacterias, una revisión. *Revista Fitotecnia Mexicana* 36(3): 251-258.
- **FAOSTAT.** 2019. Disponible en: <https://www.fao.org/faostat/es/#data/TCL>
- **Guerrero, J.C. y Salcido Real, M.T.** 2014. Beneficios de *Bacillus subtilis* en tomate. Disponible en: <https://www.hortalizas.com/proteccion-de-cultivos/biorracional-organico/los-beneficios-de-b-subtilisen-tomates/>.
- **Hardoim, PR; van Overbeek LS; Berg, G; Pirttilä, AM; Compant, S; Campisano, A; Döring, M y Sessitsch, A.** 2015. The hidden world within Plants: Ecological and evolutionary considerations for defining functioning of microbial endophytes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 79(3): 293– 320
- **He, Y; Pantigoso, HA; Wu, Z y Vivanco JM.** 2019. Co-inoculation of *Bacillus* sp. and *Pseudomonas putida* at different development stages acts as a biostimulant to promote growth, yield and nutrient uptake of tomato. *Journal of Applied Microbiology* 127: 196-207
- **Holt JG; Krieg NR; Sneath PHA; Staley JT. y Williams ST.** 1994. Genus *Acetobacter* and *Gluconobacter*. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 19th edn. Williams and Wikens, MD, USA, pp. 71-84.
- **INTAGRI.** 2017. La Rizósfera de los Cultivos: la Clave Oculta para el Rendimiento Sostenible de la Agricultura. Serie Suelos Núm. 32. Artículos Técnicos de INTAGRI. México. Disponible en: <https://www.intagri.com/articulos/suelos/la-rizosfera-de-los-cultivos-la-clave-oculta-para-el-rendimiento>

- **Jiménez-Salgado T; Fuentes-Ramírez LE; Tapia-Hernández A; MascarúaEsparza MA; Martínez-Romero E y Caballero-Mellado J.** 1997. *Coffea arabica* L., a new host plant for *Acetobacter diazotrophicus*, and isolation of other nitrogen-fixing acetobacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 63: 3676-3683.
- **Kandan, A; Ramiah, M; Vasanthi, V; Radjacommare, R; Nandakumar, R; Ramanathan, A y Samiyappan, R.** 2005. Use of *Pseudomonas fluorescens*-based formulations for management of tomato spotted wilt virus (TSWV) and enhanced yield in tomato, *Biocontrol Science and Technology*, 15: 553-569
- **Kandel, SL; Joubert, PM y Doty, SL.** 2017. Bacterial Endophyte Colonization and Distribution within Plants. *Microorganisms* 5(4):77
- **Korir, H; Mungai, NW; Thuita, M; Hamba, Y y Masso, C.** 2017. Co-inoculation effect of rhizobia and plant growth promoting rhizobacteria on common bean growth in a low phosphorus soil. *Frontiers in Plant Science* 8: article 141.
- **Kuklinsky-Sobral, J; Araújo, WL; Mendes, R; Geraldi, IO; Pizzirani-Kleiner, AA y Azevedo, JL.** 2004. Isolation and characterization of soybean-associated bacteria and their potential for plant growth promotion. *Environmental Microbiology* 12: 1244–1251
- **Liddycoat, SM; Greenberg, B.M y Wolyn, D.J.** 2009. The effect of plant growth-promoting rhizobacteria on asparagus seedlings and germinating seeds subjected to water stress under greenhouse conditions. *Canadian Journal of Microbiology* 55: 388–394.
- **Lindow S y Andersen G.** 1996. Influence of immigration on epiphytic bacterial populations on navel orange leaves. *Applied and Environmental Microbiology* 62(8): 2978-2987.
- **Lindow S y Brandl MT.** 2003. Minireview: microbiology of the phyllosphere. *Applied and Environmental Microbiology* 69(4): 1875-1883.
- **Madhaiyan, M; Poonguzhali, S; Kang, BG; Lee, YJ; Chung, JB y Sa, TM.** 2010. Effect of co-inoculation of methylotrophic *Methylobacterium oryzae* with *Azospirillum brasilense* and *Burkholderia pyrrocinia* on the growth and nutrient uptake of tomato, red pepper and rice. *Plant Soil* 328: 71–82.

- **Mishra, P y Dash, D.** 2014. Rejuvenation of Biofertiliser for Sustainable Agriculture Economic Development Consilience. *Journal of Sustainable Development*, 11(1): 41-61.
- **Nihorimbere, V; Ongena, M; Smargiassi, M y Thonart, P.** 2011. Beneficial effect of the rhizosphere microbial community for plant growth and health. *Biotechnology, Agronomy and Society and Environment* 15(2): 327-337.
- Noumavo, PA; Agbodjato, NA; Baba-Moussa, F; Adjanohoun, A y Baba-Moussa, L.** 2016. Plant growth promoting rhizobacteria: Beneficial effects for healthy and sustainable agriculture. *African Journal of Biotechnology* 15(27):1452- 1463.
- **Olivares Pascual, J; García-Navarro, G; García, A; Mýndez, A. y Agulló-López, F.** 2006. Optical determination of three-dimensional nanotrack profiles generated by single swift-heavy ion impacts in lithium niobate. *Applied Physics Letters* 89:071923.
- Pérez-Rodríguez, MM; Pontin, M; Lipinski, VM; Bottini, AM; Piccoli, PN y Cohen, AC.** 2020. *Pseudomonas fluorescens* and *Azospirillum brasilense* Increase Yield and Fruit Quality of Tomato Under Field Conditions. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* **20**: 1614–1624.
- **Rana, KL; Kour D; Kaur T; Devi R; Nath Yadav A; Yadav N; Singh Dhaliwal H y Saxena AK.** 2020. Endophytic microbes: biodiversity, plant growth-promoting mechanisms and potential applications for agricultural sustainability. *Antonie van Leeuwenhoek* 113(8):1075-1107.
- **Saravanan VS; Madhaiyan M y Thangaraju M.** 2007. Solubilization of zinc compounds by the diazotrophic, plant growth promoting bacterium *Gluconacetobacter diazotrophicus*." *Chemosphere*, 66: 1794-1798.
- **Sambrook J; Fritsch ER y Maniatis T.** 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2nd ed.). Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- **SENASA.** 2020. Bioinsumo según SENASA. Disponible en: <https://www.agribio.com.ar/noticias/que-es-un-bio-insumo-para-el-senasa>
- **Shakeel M; Rais A; Hassan MN y Hafeez FY.** 2015. Root associated *Bacillus* sp. improves growth, yield and zinc translocation for basmati rice (*Oryza sativa*) varieties. *Front Microbiol* 6:1286

- **Stephan MP; Oliveira M; Teixeira KRS y Martinez-Drets G.** 1991. Döbereiner, Physiology and dinitrogen fixation of *Acetobacter diazotrophicus*, FEMS Microbiology Letters, Volume 77, Issue 1, January.
- **Tapia-Hernández A; Bustillos-Cristales MR; Jiménez-Salgado T; Caballero-Mellado J y Fuentes-Ramírez LE.** 2000. Natural endophytic occurrence of *Acetobacter diazotrophicus* in pineapple plants. Microbial Ecology, 39: 49-55.
- **Verma P; Yadav AN; Khannam KS; Panjjar N; Kumar S; Saxena AK y Suman A.** 2015. Assessment of genetic diversity and plant growth promoting attributes of psychrotolerant bacteria allied with wheat (*Triticum aestivum*) from the northern hills zone of India. Ann Microbiol 65:1885–1899

## ANEXO 1: ANÁLISIS ESTADÍSTICO

### ➤ ALTURA DE LAS PLANTAS:

#### **Análisis de la varianza**

#### **Altura Planta\_ T1 (m)**

<u>Variable</u>	<u>N</u>	<u>R<sup>2</sup></u>	<u>R<sup>2</sup></u>	<u>Aj</u>	<u>CV</u>
Altura Planta_ T1 (m)	99	0,27	0,16	7,96	

#### **Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo	0,07	12	0,01	2,61	0,0052
Parcela	0,02	2	0,01	4,87	0,0099
Tratamiento	0,05	10	4,9E-03	2,15	0,0286
Error	0,20	86	2,3E-03		
<u>Total</u>	<u>0,27</u>	<u>98</u>			

#### **Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,04481**

*Error: 0,0023 gl: 86*

#### Tratamiento Medias n E.E.

9	0,62	9	0,02	A
5	0,62	9	0,02	A
3	0,62	9	0,02	A
10	0,62	9	0,02	A
8	0,61	9	0,02	A
6	0,61	9	0,02	A
4	0,60	9	0,02	A
11	0,60	9	0,02	A B
7	0,60	9	0,02	A B
2	0,56	9	0,02	B
<u>Testigo</u>	<u>0,56</u>	<u>9</u>	<u>0,02</u>	<u>B</u>

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )*

### Altura Planta\_T2 (m)

<u>Variable</u>	<u>N</u>	<u>R<sup>2</sup></u>	<u>R<sup>2</sup> Aj</u>	<u>CV</u>
Altura Planta T2 (m)	99	0,10	0,00	8,59

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo	0,04	12	3,6E-03	0,79	0,6642
Parcela	0,02	2	0,01	2,13	0,1251
Tratamiento	0,02	10	2,4E-03	0,52	0,8745
Error	0,40	86	4,6E-03		
Total	0,44	98			

### Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,06387

Error: 0,0046 gl: 86

Tratamiento Medias n E.E.

9	0,82	9	0,02	A
11	0,81	9	0,02	A
10	0,81	9	0,02	A
6	0,80	9	0,02	A
Testigo	0,80	9	0,02	A
3	0,79	9	0,02	A
4	0,79	9	0,02	A
7	0,78	9	0,02	A
5	0,78	9	0,02	A
8	0,78	9	0,02	A
<u>2</u>	<u>0,77</u>	<u>9</u>	<u>0,02</u>	<u>A</u>

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

### Altura Planta\_T3 (m)

<u>Variable</u>	<u>N</u>	<u>R<sup>2</sup></u>	<u>R<sup>2</sup> Aj</u>	<u>CV</u>
Altura Planta T3 (m)	99	0,14	0,02	54,66

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo	9,79	12	0,82	1,13	0,3441
Parcela	1,52	2	0,76	1,05	0,3529
Tratamiento	8,27	10	0,83	1,15	0,3357
Error	61,85	86	0,72		
<u>Total</u>	<u>71,64</u>	<u>98</u>			

**Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,41504**

*Error: 0,7192 gl: 86*

**Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,79474**

*Error: 0,7192 gl: 86*

Tratamiento Medias n E.E.

9	2,45	9	0,28	A
11	1,53	9	0,28	B
10	1,51	9	0,28	B
7	1,49	9	0,28	B
8	1,48	9	0,28	B
4	1,48	9	0,28	B
3	1,47	9	0,28	B
5	1,45	9	0,28	B
6	1,45	9	0,28	B
2	1,38	9	0,28	B

Testigo 1,38 9 0,28 B

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )*

### Altura Planta\_T4 (m)

<u>Variable</u>	<u>N</u>	<u>R<sup>2</sup></u>	<u>R<sup>2</sup> Aj</u>	<u>CV</u>
<u>Altura Planta T4 (m)</u>	<u>99</u>	<u>0,24</u>	<u>0,13</u>	<u>6,79</u>

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo	0,37	12	0,03	2,23	0,0169
Parcela	0,08	2	0,04	2,85	0,0634
Tratamiento	0,29	10	0,03	2,10	0,0326
Error	1,18	86	0,01		
<u>Total</u>	<u>1,55</u>	<u>98</u>			

### Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,10976

Error: 0,0137 gl: 86

Tratamiento Medias n E.E.

11	1,79	9	0,04	A
8	1,77	9	0,04	A
10	1,76	9	0,04	A
3	1,75	9	0,04	A
5	1,74	9	0,04	A
2	1,74	9	0,04	A
9	1,73	9	0,04	A
7	1,72	9	0,04	A
4	1,72	9	0,04	A
6	1,70	9	0,04	A

Testigo 1,57 9 0,04 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

### Altura Planta\_T5(m)

<u>Variable</u>	<u>N</u>	<u>R<sup>2</sup></u>	<u>R<sup>2</sup> Aj</u>	<u>CV</u>
Altura Planta T5(m)	99	0,22	0,11	8,24

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo	0,73	12	0,06	2,03	0,0309
Parcela	0,14	2	0,07	2,25	0,1117
Tratamiento	0,60	10	0,06	1,99	0,0447
Error	2,58	86	0,03		
<u>Total</u>	<u>3,31</u>	<u>98</u>			

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

### Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,16241

Error: 0,0300 gl: 86

<u>Tratamiento</u>	<u>Medias</u>	<u>n</u>	<u>E.E.</u>	
11	2,21	9	0,06	A
2	2,20	9	0,06	A B
8	2,15	9	0,06	A B C
9	2,14	9	0,06	A B C
4	2,13	9	0,06	A B C
10	2,12	9	0,06	A B C
3	2,11	9	0,06	A B C
7	2,10	9	0,06	A B C
5	2,04	9	0,06	B C D
6	2,01	9	0,06	C D
<u>Testigo</u>	<u>1,93</u>	<u>9</u>	<u>0,06</u>	<u>D</u>

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

Tratamientos	Tiempo desde trasplante (días)				
	28	34	49	55	63
2 (Pf)	0,56 b	0,77 a	1,38 b	1,74 a	2,20 ab
3 (Gd)	0,62 a	0,79 a	1,47 b	1,75 a	2,11 abc
4 (Ba)	0,60 ab	0,79 a	1,48 b	1,72 a	2,13 abc
5 (Bs)	0,62 a	0,78 a	1,45 b	1,74 a	2,04 bcd
6 (Pf+Ba)	0,61 a	0,80 a	1,45 b	1,70 a	2,01 cd
7 (Pf+Bs)	0,60 ab	0,78 a	1,49 b	1,72 a	2,10 abc
8 (Gd+Ba)	0,61 a	0,78 a	1,48 b	1,77 a	2,15 abc
9 (Gd+Bs)	0,62 a	0,82 a	2,45 a	1,73 atABLA	2,14 abc
10 (Pf+Gd)	0,62 a	0,81 a	1,51 b	1,76 a	2,12 abc
11 (Ps)	0,60 ab	0,81 a	1,54 b	1,79 a	2,21 a
TESTIGO	0,56 b	0,80 a	1,38 b	1,57 b	1,93 d

Tabla 2. Altura promedio de las plantas (cm) en función del tiempo. Promedio de 9 determinaciones.

➤ DIÁMETRO DE TALLOS:

**Análisis de la varianza**

**Diámetro del Tallo\_T1 (cm)**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Diámetro del Tallo T1 (cm..	99	0,19	0,08	15,30

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	70,61	12	5,88	1,71	0,0785
Bloque	22,06	2	11,03	3,21	0,0454
Tratamiento	48,55	10	4,85	1,41	0,1893
Error	295,94	86	3,44		
<u>Total</u>	<u>366,55</u>	<u>98</u>			

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )*

**Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=1,73839**

*Error: 3,4412 gl: 86*

Tratamiento	Medias	n	E.E.
7	13,00	9	0,62 A
6	13,00	9	0,62 A
8	12,67	9	0,62 A B
3	12,67	9	0,62 A B
2	12,33	9	0,62 A B C
11	12,11	9	0,62 A B C
10	12,00	9	0,62 A B C
5	12,00	9	0,62 A B C
4	11,78	9	0,62 A B C
9	11,00	9	0,62 B C
<u>Testigo</u>	<u>10,78</u>	<u>9</u>	<u>0,62 C</u>

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )*

### Diámetro del Tallo\_T2 (cm)

<u>Variable</u>	<u>N</u>	<u>R<sup>2</sup></u>	<u>R<sup>2</sup> Aj</u>	<u>CV</u>
Diámetro del Tallo T2 (cm..	99	0,20	0,08	8,83

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo	26,83	12	2,24	1,74	0,0723
Bloque	15,41	2	7,71	5,99	0,0037
Tratamiento	11,41	10	1,14	0,89	0,5480
Error	110,59	86	1,29		
<u>Total</u>	<u>137,41</u>	<u>98</u>			

### Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=1,06266

Error: 1,2859 gl: 86

Tratamiento Medias n E.E.

5	13,22	9	0,38	A
6	13,11	9	0,38	A B
4	13,11	9	0,38	A B
3	13,11	9	0,38	A B
2	13,11	9	0,38	A B
7	12,89	9	0,38	A B
9	12,78	9	0,38	A B
8	12,78	9	0,38	A B
10	12,67	9	0,38	A B
11	12,33	9	0,38	A B
<u>Testigo</u>	<u>12,11</u>	<u>9</u>	<u>0,38</u>	<u>B</u>

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

### Diámetro del Tallo\_T3 (cm)

<u>Variable</u>	<u>N</u>	<u>R<sup>2</sup></u>	<u>R<sup>2</sup> Aj</u>	<u>CV</u>
Diámetro del Tallo T3 (cm..	99	0,12	0,00	11,90

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo	39,76	12	3,31	0,96	0,4947
Bloque	9,47	2	4,74	1,37	0,2596
Tratamiento	30,28	10	3,03	0,88	0,5589
Error	297,41	86	3,46		
<u>Total</u>	<u>337,17</u>	<u>98</u>			

### Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=1,74272

Error: 3,4583 gl: 86

tratamiento Medias n E.E.

3	16,56	9	0,62	A
7	16,56	9	0,62	A
4	16,11	9	0,62	A
10	15,78	9	0,62	A
8	15,56	9	0,62	A
5	15,56	9	0,62	A
11	15,56	9	0,62	A
6	15,22	9	0,62	A
Testigo	15,11	9	0,62	A
9	15,00	9	0,62	A
<u>2</u>	<u>14,89</u>	<u>9</u>	<u>0,62</u>	<u>A</u>

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

### Diámetro del Tallo\_T4 (cm)

<u>Variable</u>	<u>N</u>	<u>R<sup>2</sup></u>	<u>R<sup>2</sup> Aj</u>	<u>CV</u>
<u>Diámetro del Tallo T4 (cm..</u>	<u>99</u>	<u>0,18</u>	<u>0,07</u>	<u>13,77</u>

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo	88,97	12	7,41	1,61	0,1047
Bloque	7,35	2	3,68	0,80	0,4541
Tratamiento	81,62	10	8,16	1,77	0,0786
Error	396,87	86	4,61		
<u>Total</u>	<u>485,84</u>	<u>98</u>			

### Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=2,01312

Error: 4,6148 gl: 86

Tratamiento Medias n E.E.

3	17,11	9	0,72	A
6	16,44	9	0,72	A B
7	16,33	9	0,72	A B
5	16,00	9	0,72	A B
10	16,00	9	0,72	A B
2	15,67	9	0,72	A B C
11	15,44	9	0,72	A B C

**Testigo 15,33 9 0,72 A B C**

4	14,89	9	0,72	B C
8	14,67	9	0,72	B C
<u>9</u>	<u>13,67</u>	<u>9</u>	<u>0,72</u>	<u>C</u>

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )*

### Diámetro del Tallo\_T5 (cm)

<u>Variable</u>	<u>N</u>	<u>R<sup>2</sup></u>	<u>R<sup>2</sup> Aj</u>	<u>CV</u>
<u>Diámetro del Tallo T5 (cm)..</u>	<u>99</u>	<u>0,14</u>	<u>0,01</u>	<u>11,75</u>

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo	45,70	12	3,81	1,12	0,3536
Bloque	20,93	2	10,46	3,08	0,0509
Tratamiento	24,77	10	2,48	0,73	0,6947
Error	291,96	86	3,39		

Total 337,66 98

**Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=1,72666**

Error: 3,3949 gl: 86

Tratamiento Medias n E.E.

4 16,33 9 0,61 A  
5 16,22 9 0,61 A  
2 16,22 9 0,61 A  
11 16,11 9 0,61 A  
6 15,89 9 0,61 A  
9 15,56 9 0,61 A  
8 15,56 9 0,61 A  
7 15,33 9 0,61 A  
10 15,33 9 0,61 A  
3 15,22 9 0,61 A

Testigo 14,67 9 0,61 A

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )*

Tratamientos	Tiempo desde inoculación trasplante (días)				
	28	34	49	55	63
2 (Pf)	12,33 abc	13,11 ab	14,89 a	15,67 abc	16,22 a
3 (Gd)	12,67 ab	13,11 ab	16,56 a	17,11 a	15,22 a
4 (Ba)	11,78 abc	13,11 ab	16,11 a	14,89 bc	16,33 a
5 (Bs)	12,00 abc	13,22 a	15,56 a	16,00 ab	16,22 a
6 (Pf+Ba)	13,00 a	13,12 ab	15,22 a	16,44 ab	15,89 a
7 (Pf+Bs)	13,01 a	12,89 ab	16,56 a	16,33 ab	15,33 a
8 (Gd+Ba)	12,67 ab	12,78 ab	15,56 a	14,67 bc	15,56 a
9 (Gd+Bs)	11,00 bc	12,78 ab	15,00 a	13,67 c	15,56 a
10 (Pf+Gd)	12,00 abc	12,67 ab	15,78 a	16,00 ab	15,33 a
11 (Ps)	12,11 abc	12,33 ab	15,50 a	15,44 abc	16,11 a
TESTIGO	10,78 c	12,11 ab	15,11 a	15,33 abc	14,67 a

Tabla 3. Diámetro de las plantas (cm) en función del tiempo. Promedio de 9 determinaciones.

➤ RENDIMIENTO FRUTOS:

**Análisis de la varianza**

**Peso (Kg)\_30-3\_C1+C2**

<u>Variable</u>	<u>N</u>	<u>R<sup>2</sup></u>	<u>R<sup>2</sup> Aj</u>	<u>CV</u>
Peso (Kg) 30-3	C2+C2	98	0,13	0,01 26,05

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo	1,46	12	0,12	1,09	0,3786
Tratamiento	1,45	10	0,15	1,30	0,2447
Parcela	0,01	2	0,01	0,05	0,9465
Error	9,51	85	0,11		
<u>Total</u>	<u>10,98</u>	<u>97</u>			

**Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,31530**

Error: 0,1119 gl: 85

<u>Tratamiento</u>	<u>Medias</u>	<u>n</u>	<u>E.E.</u>
6	1,53	9	0,11 A
2	1,39	9	0,11 A B
7	1,37	9	0,11 A B C
10	1,37	9	0,11 A B C
9	1,31	8	0,12 A B C
5	1,30	9	0,11 A B C
8	1,23	9	0,11 A B C
4	1,21	9	0,11 B C
Testigo	1,21	9	0,11 B C
3	1,16	9	0,11 B C
<u>11</u>	<u>1,07</u>	<u>9</u>	<u>0,11 C</u>

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**Peso/fruto (tamaño)(Kg/fruto) C1+C2**

<u>Variable</u>	<u>N</u>	<u>R<sup>2</sup></u>	<u>R<sup>2</sup> Aj</u>	<u>CV</u>
Peso/fruto (Kg/fruto)	C1+C..	98	0,16	0,04 25,34

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo	0,03	12	2,5E-03	1,30	0,2335
Tratamiento	0,03	10	2,9E-03	1,49	0,1566
Parcela	1,3E-03	2	6,6E-04	0,34	0,7119
Error	0,17	85	1,9E-03		
<u>Total</u>	<u>0,20</u>	<u>97</u>			

### Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,04158

Error: 0,0019 gl: 85

#### Tratamiento Medias n E.E.

2	0,22	9	0,01	A
7	0,19	9	0,01	A B
5	0,18	9	0,01	A B
6	0,18	9	0,01	A B
9	0,17	8	0,02	B
4	0,17	9	0,01	B
8	0,17	9	0,01	B
3	0,17	9	0,01	B
10	0,16	9	0,01	B
11	0,16	9	0,01	B
<u>Testigo</u>	<u>0,15</u>	<u>9</u>	<u>0,01</u>	<u>B</u>

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

### Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,02170

Error: 0,0019 gl: 85

#### parcela Medias n E.E.

1	0,18	32	0,01	A
2	0,17	33	0,01	A
<u>3</u>	<u>0,17</u>	<u>33</u>	<u>0,01</u>	<u>A</u>

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

Trata- miento	2 Pf	3 Gd	4 Ba	5 Bs	6 Pf Ba	7 Pf Bs	8 Gd Ba	9 Gd Bs	10 Gd Pf	11 Ps	T
Peso total frutos	1,39 ab	1,16 bc	1,21 bc	1,30 abc	1,53 a	1,37 abc	1,23 bc	1,31 abc	1,37 abc	1,07 C	1,20 bc
Peso cada fruto	0,22 a	0,17 b	0,17 b	0,18 ab	0,18 ab	0,19 ab	0,17 b	0,17 b	0,16 b	0,16 b	0,15 b

Tabla 4. Rendimiento (kg) en función del tiempo. Promedio de 9 determinaciones.